



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

**ANTONIO HONÓRIO DE SOUSA**

**ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON LIMAE* A. P. S. GOMES, M. F. SALES & P. E.  
BERRY (EUPHORBIACEAE)**

**FORTALEZA - CEARÁ**  
**2014**

ANTONIO HONÓRIO DE SOUSA

ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON LIMAE* A. P. S. GOMES, M. F. SALES & P. E. BERRY  
(EUPHORBIACEAE)

Trabalho apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química. Área de Concentração - Química Orgânica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Mary Anne Sousa Lima  
Coorientador: Prof. Dr. José Nunes da Silva Junior

FORTALEZA - CEARÁ  
2014

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

---

S696e Sousa, Antonio Honório de.  
Estudo Químico de *Croton Limae* A. P. S. Gomes, M. F. Sales & P. E. Berry (*Euphorbiaceae*)  
/ Antonio Honório de Sousa. – 2014.  
278 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de  
Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2014.  
Área de Concentração: Química Orgânica.  
Orientação: Profa. Dra. Mary Anne Sousa Lima.  
Coorientação: Prof. Dr. José Nunes da Silva Júnior.

1. Química vegetal. 2. Diterpenos de Caurano. 3. Diterpenos de Clerodano. I. Título.

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química, área de concentração Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

*Antonio Honório de Sousa*

Antonio Honório de Sousa

Tese aprovada em: 22/08/2014

*Mary Anne Sousa Lima*

Dra. Mary Anne Sousa Lima  
(Orientadora - UFC)

*Francisco Geraldo Barbosa*

Dr. Francisco Geraldo Barbosa  
(UFC)

*Francisco José Queiroz Monte*

Dr. Francisco José Queiroz Monte  
(UFC)

*Maria Rose Jane R. Albuquerque*

Dra. Maria Rose Jane Ribeiro Albuquerque  
(UVA)

*Selene Maia de Moraes*

Dra. Selene Maia de Moraes  
(UECE)

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por tudo de maravilhoso que nela colocou.

Aos meus pais, José Aauto Gomes de Sousa e Antonia Honório de Sousa, pelos ensinamentos e sacrifícios que por mim fizeram para que me tornasse a pessoa que sou e aos meus irmãos Messias, Edmilson, Marcos e Sandra pelo apoio e estímulo.

À minha esposa Cristiana (Ninha), por ser uma pessoa especial que a muito vem me acompanhando e apoiando nesta caminhada.

A professora Mary Anne, por ter me recebido em seu grupo de pesquisa, pela orientação e dedicação na realização deste trabalho.

Ao professor José Nunes da Silva Junior, pelas orientações concedidas nas modificações estruturais realizadas.

Ao professor Manoel Andrade, pela oportunidade de ingressado no curso superior e por sua amizade.

Aos colegas e amigos de laboratório e departamento Antonia, Chaguinha, João Vito, Mariano, Natália, Paula Karina, Paulo Riceli e Regivaldo, do LAFIPLAM pela amizade, apoio e descontração.

Ao PRECE, que modificou minha vida, pessoal e profissional, e que tem dado esperanças para muitas pessoas onde atua.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química pelos ensinamentos e amizade, em especial, ao professor Edilberto, as professoras Conceição, Otilia e Nilce,

Aos funcionários Lana, Célia, Orlando pessoas importantes para a realização deste trabalho.

A UFC, esta instituição que me acolheu e modificou minha vida.

Aos órgãos financiadores CAPES, CNPq, FUNCAP e PRONEX pelo suporte financeiro.

## RESUMO

O presente trabalho relata o estudo químico do caule e das raízes de *Croton limae*, coletado no município de Andaraí-BA. A investigação fitoquímica do extrato etanólico do caule levou ao isolamento de dois diterpenos do tipo caurano, ácido *ent-caur-16-en-18-oico* e ácido *ent-caur-16-en-15-oxo-18-oico*, dois diterpenos do tipo clerodano, 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno e ácido 3-oxo-4 $\alpha$ -hidroxi-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oico, e do flavonoide 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosilquercetina. A investigação do extrato hexânico das raízes levou ao isolamento de um triterpeno, ácido acetilaleuritólico, do dímero inédito ácido *ent-17*( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico, de dois novos diterpenos clerodanos, 3-oxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ ,12-dihidroxicleroda-13(16),14-dieno e 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno, um diterpeno do tipo halimano, 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,12-dihidroxi-13(16),14-trieno, e da mistura dos esteroides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol. Do extrato etanólico das raízes foram isolados dois flavonoides, 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosilcanferol e ombuina-3-*O*- $\beta$ -rutinosídeo, e três diterpenos clerodanos inéditos, 3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahidroxicleroda-13-eno, 6-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno e ácido 3-oxo-4 $\alpha$ ,12-dihidroxi-14,15,16-trinorclerodan-13-oico. Foram preparadas quatro amidas aromáticas derivadas do ácido *ent-caur-16-en-18-oico* e os respectivos ésteres metílicos dos ácidos *ent-caur-16-en-18-oico* e *ent-caur-16-en-15-oxo-18-oico*. Foram preparados dois derivados reacionais obtidos através de reações de redução do diterpeno clerodano 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno e outro através da biotransformação deste diterpeno pelo fungo *Rhizopus stolonifer*. Alguns compostos isolados e derivados foram submetidos a testes de atividade citotóxica, utilizando linhagens de células tumorais de ovário (OVCAR-8), glioblastoma (SF-295) e colón (HCT-116), onde testes preliminares indicaram que os compostos *ent-caur-16-en-15-oxo-18-oico* e ácido *ent-17*( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico apresentaram atividade. Os metabólitos secundários foram isolados através de técnicas cromatográficas usuais, utilizando cromatografia em camada delgada, cromatografia em coluna, cromatografia por exclusão molecular 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 espectroscópicas e espectrométricas como infravermelho (IV), espectrometria de massas de alta resolução e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), incluindo experimentos bidimensionais, além de comparação com dados da literatura.

**Palavras-chave:** Diterpenos cauranos. Diterpenos clerodanos. Atividade citotóxica.

## ABSTRACT

The present work reports the chemical study related to the stem and the roots of *Croton limae*, collected in Andaraí/BA. The phytochemical investigation of ethanol extract from the stem lead to the isolation of two kaurane-type diterpenes, *ent*-kaur-16-en-18-oic acid and *ent*-kaur-16-en-15-oxo-18-oic acid, two clerodane-type diterpenes, 3,12-dioxo-15,16-epoxy-4 $\alpha$ -hydroxycleroda-13(16),14-diene and 3-oxo-4 $\alpha$ -hydroxy-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oic acid, and the flavonoid quercetin 3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside. The investigation of the hexane extract from the roots lead to the isolation of one triterpene, acetyl aleuritolic acid, the new dimer *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-yl)-15-oxokauran-18-oic acid, two news clerodane diterpenes, 3-oxo-15,16-epoxy-4 $\alpha$ ,12-dihydroxycleroda-13(16),14-diene and 15,16-epoxy-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihydroxycleroda-13(16),14-diene, one halimane-type diterpene, 15,16-epoxy-3 $\alpha$ ,12-dihydroxyhalima-5(10),13(16),14-triene and the mixture of steroids  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol. From the ethanol extract of the roots, it was possible to isolate the flavonoids kaempferol 3-*O*- $\beta$ -glucopyranoside and ombuine 3-*O*- $\beta$ -rutinoside and the three new clerodane diterpenes 3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahydroxyclerod-13-ene, 6-( $\beta$ -D-glucopyranosyl)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hydroxycleroda-13(16),14-dieno and 3-oxo-4 $\alpha$ ,12-dihydroxy-14,15,16-trinorclerodan-13-oic acid. Four aromatic derivatives amides from *ent*-kaur-16-en-18-oic acid were prepared through nucleophilic substitutive reactions. The corresponding methyl esters from the *ent*-kaur-16-en-18-oic acid and *ent*-kaur-16-en-15-oxo-18-oic acid were also obtained. Two new derivatives from 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno were prepared through reduction reaction and another one by the biotransformation of diterpene, made by the fungus *Rhizopus stolonifer*. Some isolated compounds and derivatives were submitted to cytotoxic activity using ovarian (OVCAR-8), glioblastoma (SF-295) and colon (HCT-116) cell lines, and the compounds *ent*-kaur-16-en-15-oxo-18-oic acid and *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-yl)-15-oxokauran-18-oic acid registered activity during preliminaries assays. The secondary metabolites were isolated through usual chromatography techniques, using thin layer chromatography, column chromatography, size exclusion chromatography and high performance liquid chromatography. The determination of the structure of the isolated compounds was performed through physical (melting point and optical rotation) and spectrometric techniques, such infrared (IR), high resolution mass spectrometry and nuclear magnetic resonance (NMR), including bidimensional experiments, and comparison with literature data.

**Keywords:** Kaurane diterpenes. Clerodane diterpenes. Cytotoxic activity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b> -	Fotografias de um espécime de <i>Croton limae</i> com destaque para folhas e frutos	28
<b>Figura 02</b> -	Metabólitos isolados de <i>Croton limae</i>	29
<b>Figura 03</b> -	Esqueleto básico de um diterpeno com esqueleto <i>ent</i> -caurano	30
<b>Figura 04</b> -	Esqueleto básico de um diterpeno com esqueleto clerodano e da (-)-clerodina	31
<b>Figura 05</b> -	Esquema da formação de diterpenos do tipo clerodano	31
<b>Figura 06</b> -	Posições onde foram observadas hidroxilações no esqueleto básico dos cauranos e fungos utilizados	34
<b>Figura 07</b> -	Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-1</b> para o posicionamento da ligação dupla	76
<b>Figura 08</b> -	Correlações dos hidrogênios metílicos observadas no espectro de HMBC de <b>CA-1</b>	76
<b>Figura 09</b> -	Diferença nos valores de deslocamento químico dos carbonos metílicos em sistema decalina	77
<b>Figura 10</b> -	Estrutura de <b>CA-1</b> (ácido <i>ent</i> -caur-16-en-18-oico)	77
<b>Figura 11</b> -	Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-1</b>	79
<b>Figura 12</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-1</b>	79
<b>Figura 13</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-1</b>	80
<b>Figura 14</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) (INVERTIDO) de <b>CA-1</b>	80
<b>Figura 15</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-1</b>	81
<b>Figura 16</b> -	Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-1</b>	81
<b>Figura 17</b> -	Esquema reacional geral para a preparação de amidas a partir de <b>CA-1</b>	82
<b>Figura 18</b> -	Proposta mecanística para formação do haleto de acila através da Reação de Appel	82
<b>Figura 19</b> -	Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>R1CA1</b>	85
<b>Figura 20</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R1CA1</b>	85
<b>Figura 21</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R1CA1</b>	86
<b>Figura 22</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R1CA1</b>	86
<b>Figura 23</b> -	Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>R2CA1</b>	89
<b>Figura 24</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R2CA1</b>	89
<b>Figura 25</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R2CA1</b>	90
<b>Figura 26</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação $^1\text{H}$ ,	



	$^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R2CA1</b>	90
<b>Figura 27</b> -	Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>R3CA1</b>	93
<b>Figura 28</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R3CA1</b>	93
<b>Figura 29</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R3CA1</b>	94
<b>Figura 30</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R3CA1</b>	94
<b>Figura 31</b> -	Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>R4CA1</b>	97
<b>Figura 32</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R4CA1</b>	97
<b>Figura 33</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R4CA1</b>	98
<b>Figura 34</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R4CA1</b>	98
<b>Figura 35</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA1-ME</b>	101
<b>Figura 36</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA1-ME</b>	101
<b>Figura 37</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA1-ME</b>	102
<b>Figura 38</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA1-ME</b>	102
<b>Figura 39</b> -	Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-2</b> para o posicionamento da carbonila no carbono C-15	104
<b>Figura 40</b> -	Estrutura de <b>CA-2</b> (ácido <i>ent</i> -caur-16-en-15-oxo-18-oico)	104
<b>Figura 41</b> -	Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-2</b>	106
<b>Figura 42</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-2</b>	106
<b>Figura 43</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-2</b>	107
<b>Figura 44</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-2</b>	107
<b>Figura 45</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-2</b>	108
<b>Figura 46</b> -	Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-2</b>	108
<b>Figura 47</b> -	Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA2-ME</b>	111
<b>Figura 48</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA2-ME</b>	111
<b>Figura 49</b> -	Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT $135^\circ$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA2-ME</b>	112
<b>Figura 50</b> -	Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA2-ME</b>	112
<b>Figura 51</b> -	Modelos estruturais de esqueletos clerodanos encontrados no gênero <i>Croton</i>	114
<b>Figura 52</b> -	Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-3</b>	114
<b>Figura 53</b> -	Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-3</b> para o	

posicionamento da carbonila em C-12	115
<b>Figura 54</b> - Correlações observadas no espectro de HMBC de <b>CA-3</b> envolvendo o anel furânico	115
<b>Figura 55</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-3</b> , evidenciando a posição axial para a metila C-18	116
<b>Figura 56</b> - Estrutura de <b>CA-3</b> (3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno)	116
<b>Figura 57</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-3</b>	118
<b>Figura 58</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	118
<b>Figura 59</b> - Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	119
<b>Figura 60</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	119
<b>Figura 61</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 $^\circ$ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	120
<b>Figura 62</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	120
<b>Figura 63</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	121
<b>Figura 64</b> - Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b>	121
<b>Figura 65</b> - Esquema reacional das reduções das carbonilas de <b>CA-3</b>	122
<b>Figura 66</b> - Esquema da reação de biotransformação de <b>CA-3</b> por <i>Rhizopus stolonifer</i>	122
<b>Figura 67</b> - Estrutura de <b>CA3RED(A)</b> (12-oxo-15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno)	123
<b>Figura 68</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(A)</b>	125
<b>Figura 69</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(A)</b>	125
<b>Figura 70</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135 $^\circ$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(A)</b>	126
<b>Figura 71</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(A)</b>	126
<b>Figura 72</b> - Estrutura de <b>CA3RED(B)</b> (15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno)	127
<b>Figura 73</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(B)</b>	129
<b>Figura 74</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(B)</b>	129
<b>Figura 75</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135 $^\circ$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(B)</b>	130
<b>Figura 76</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3RED(B)</b>	130
<b>Figura 77</b> - Estrutura de <b>CA3-BIO</b> (12-oxo-15,16-epoxi-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno)	131
<b>Figura 78</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3-BIO</b>	133

<b>Figura 79</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3-BIO</b>	133
<b>Figura 80</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ - DEPT 135° (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3-BIO</b>	134
<b>Figura 81</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3-BIO</b>	134
<b>Figura 82</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC que auxiliaram a confirmar o sistema decalinado <b>CA-4</b>	136
<b>Figura 83</b> - Correlações relevantes no espectro de HMBC de <b>CA-4</b>	136
<b>Figura 84</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-4</b> para o posicionamento da metila C-18 na posição axial	137
<b>Figura 85</b> - Estrutura de <b>CA-4</b> (ácido 3-oxo-4 $\alpha$ -hidroxi-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oico)	137
<b>Figura 86</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-4</b>	139
<b>Figura 87</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	139
<b>Figura 88</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	140
<b>Figura 89</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	140
<b>Figura 90</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	141
<b>Figura 91</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	141
<b>Figura 92</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	142
<b>Figura 93</b> - Expansões do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	142
<b>Figura 94</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (500 x 500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-4</b>	143
<b>Figura 95</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-4</b>	143
<b>Figura 96</b> - Correlação do hidrogênio anomérico da porção glicosídica com o carbono C-3 da aglicona	145
<b>Figura 97</b> - Correlações relevantes para o posicionamento dos hidrogênios no anel A	145
<b>Figura 98</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-5</b>	146
<b>Figura 99</b> - Estrutura de <b>CA-5</b> (3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glicopiranosilquercetina)	146
<b>Figura 100</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-5</b>	148
<b>Figura 101</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-5</b>	148
<b>Figura 102</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-5</b>	149
<b>Figura 103</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-5</b>	149
<b>Figura 104</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-5</b>	150

<b>Figura 105</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-5</b>	150
<b>Figura 106</b> - Esqueleto básico de triterpenos do tipo oleanano	151
<b>Figura 107</b> - Correlações relevantes para o posicionamento do grupo funcional éster em C-3 observadas no espectro de HMBC de <b>CA-6</b> .	152
<b>Figura 108</b> - Correlações relevantes para o posicionamento da carboxila em C-28	152
<b>Figura 109</b> - Estrutura de <b>CA-6</b> (ácido 3-acetil-olean-14-en-28-oico ou ácido acetilaleurítico - AAA)	153
<b>Figura 110</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-6</b>	155
<b>Figura 111</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-6</b>	155
<b>Figura 112</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-6</b>	156
<b>Figura 113</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-6</b>	156
<b>Figura 114</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-6</b>	157
<b>Figura 115</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-7</b> para a confirmação do esqueleto diterpênico do tipo caurano	159
<b>Figura 116</b> - Estrutura do $\alpha$ -pineno e correlações observadas no espectro de HMBC para o fragmento de <b>CA-7</b> semelhante a esta molécula	160
<b>Figura 117</b> - Proposição estrutural de <b>CA-7</b>	160
<b>Figura 118</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-7</b> para a confirmação da ligação entre os carbonos C-17 e C-10'	161
<b>Figura 119</b> - Correlação observada no espectro de NOESY relevante para orientação do carbono C-17	161
<b>Figura 120</b> - Modelo tridimensional da estrutura de <b>CA-7</b>	161
<b>Figura 121</b> - Estrutura de <b>CA-7</b> (ácido <i>ent</i> -17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico	162
<b>Figura 122</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-7</b>	164
<b>Figura 123</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	164
<b>Figura 124</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-7</b>	165
<b>Figura 125</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	165
<b>Figura 126</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	166
<b>Figura 127</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	166
<b>Figura 128</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	167
<b>Figura 129</b> - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	167

<b>Figura 130</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	168
<b>Figura 131</b> - Expansão do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	168
<b>Figura 132</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-7</b>	169
<b>Figura 133</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-8</b>	171
<b>Figura 134</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-8</b> para o posicionamento da carbonila em C-12	172
<b>Figura 135</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-8</b>	172
<b>Figura 136</b> - Acoplamentos relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-8</b>	173
<b>Figura 137</b> - Estrutura de <b>CA-8</b> (3-oxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ ,12-dihidroxicleroda-13(16),14-dieno)	173
<b>Figura 138</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-8</b>	175
<b>Figura 139</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-8</b>	175
<b>Figura 140</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	176
<b>Figura 141</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	176
<b>Figura 142</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	177
<b>Figura 143</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	177
<b>Figura 144</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	178
<b>Figura 145</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	178
<b>Figura 146</b> - Expansão do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	179
<b>Figura 147</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-8</b>	179
<b>Figura 148</b> - Proposição estrutural de <b>CA-9</b> em comparação com <b>CA-3</b> e <b>CA-8</b>	181
<b>Figura 149</b> - Correlações relevantes para o posicionamento da hidroxila no carbono C-3	181
<b>Figura 150</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-9</b> para determinação da posição da hidroxila no carbono C-12	182
<b>Figura 151</b> - Acoplamentos relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-9</b>	182
<b>Figura 152</b> - Estrutura de <b>CA-9</b> (15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno)	183
<b>Figura 153</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-9</b>	185
<b>Figura 154</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-9</b>	185
<b>Figura 155</b> - Expansão do espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-9</b>	185
<b>Figura 156</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	186

<b>Figura 157</b> - Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	186
<b>Figura 158</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	187
<b>Figura 159</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	187
<b>Figura 160</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	188
<b>Figura 161</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	188
<b>Figura 162</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-9</b>	189
<b>Figura 163</b> - Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-9</b>	189
<b>Figura 164</b> - Correlações relevantes na determinação das posições das metilas C-18 e C-19, da ligação dupla entre os carbonos C-5 e C-10 e da hidroxila no carbono C-3	191
<b>Figura 165</b> - Correlações relevantes no espectro de HMBC para o posicionamento das metilas C-17 e C-20	191
<b>Figura 166</b> - Correlações relevantes para o posicionamento da hidroxila em C-12	192
<b>Figura 167</b> - Esqueleto halimano proposto para <b>CA-10</b>	192
<b>Figura 168</b> - Estrutura dos diterpenos halimanos 1 e 2 (GU <i>et al.</i> , 2013) em comparação com a estrutura proposta de <b>CA-10</b>	193
<b>Figura 169</b> - Estrutura de <b>CA-10</b> (15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,12-dihidroxi-halima-5(10),13(16),14-trieno)	194
<b>Figura 170</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	196
<b>Figura 171</b> - Espectro de $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	196
<b>Figura 172</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	197
<b>Figura 173</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	197
<b>Figura 174</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	198
<b>Figura 175</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	198
<b>Figura 176</b> - Expansões do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-10</b>	199
<b>Figura 177</b> - Correlações relevantes para o posicionamento dos hidrogênios no anel A e da unidade de glicose no carbono C-3 da aglicona	201
<b>Figura 178</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-11</b>	201
<b>Figura 179</b> - Estrutura de <b>CA-11</b> (3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glicopiranosilcanferol)	202
<b>Figura 180</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-11</b>	203
<b>Figura 181</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-11</b>	203

<b>Figura 182</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-11</b>	204
<b>Figura 183</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-11</b>	204
<b>Figura 184</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-11</b>	205
<b>Figura 185</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-11</b>	205
<b>Figura 186</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-12</b>	207
<b>Figura 187</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-12</b>	207
<b>Figura 188</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-12</b> para os hidrogênios posicionados nos anéis A e B	208
<b>Figura 189</b> - Estrutura de <b>CA-12</b> (ombuina-3-O- $\beta$ -rutinosideo)	208
<b>Figura 190</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-12</b>	210
<b>Figura 191</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de <b>CA-12</b>	210
<b>Figura 192</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de <b>CA-12</b>	211
<b>Figura 193</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de <b>CA-12</b>	211
<b>Figura 194</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de <b>CA-12</b>	212
<b>Figura 195</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de <b>CA-12</b>	212
<b>Figura 196</b> - Expansões do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de <b>CA-12</b>	213
<b>Figura 197</b> - Proposição estrutural de <b>CA-13</b> em comparação com <b>CA-3</b> , <b>CA-8</b> e <b>CA-9</b>	215
<b>Figura 198</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de <b>CA-13</b>	215
<b>Figura 199</b> - Correlações relevantes para o posicionamento da ligação dupla entre os carbonos C-13 e C-14	216
<b>Figura 200</b> - Correlações apresentadas pelos hidrogênios olefínicos oxigenados ligados aos carbonos C-15 e C-16	216
<b>Figura 201</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-13</b>	217
<b>Figura 202</b> - Estrutura de <b>CA-13</b> (3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahidroxicleroda-13-eno)	217
<b>Figura 203</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-13</b>	219
<b>Figura 204</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-13</b>	219
<b>Figura 205</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-13</b>	220
<b>Figura 206</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-13</b>	220
<b>Figura 207</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-13</b>	221
<b>Figura 208</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC	

(500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-13</b>	221
<b>Figura 209</b> - Espectro de correlação heteronuclear <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-13</b>	222
<b>Figura 210</b> - Expansão do espectro de correlação heteronuclear <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-13</b>	222
<b>Figura 211</b> - Espectro de <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-13</b>	223
<b>Figura 212</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-13</b>	223
<b>Figura 213</b> - Correlações relevantes para o posicionamento da unidade de β-glicose no carbono C-6 em <b>CA-14</b>	225
<b>Figura 214</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-14</b>	226
<b>Figura 215</b> - Estrutura de <b>CA-14</b> (6-(β-D-glicopiranosil)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4α-hidroxicleroda-13(16),14-dieno)	226
<b>Figura 216</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-14</b>	228
<b>Figura 217</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	228
<b>Figura 218</b> - Espectro de <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-COSY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	229
<b>Figura 219</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-14</b>	229
<b>Figura 220</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-BB (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	230
<b>Figura 221</b> - Espectro de RMN <sup>13</sup> C-DEPT 135° (125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	230
<b>Figura 222</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	231
<b>Figura 223</b> - Espectro de correlação heteronuclear <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	231
<b>Figura 224</b> - Expansão do espectro de correlação heteronuclear <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	232
<b>Figura 225</b> - Espectro de <sup>1</sup> H, <sup>1</sup> H-NOESY (500 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b>	232
<b>Figura 226</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC que auxiliaram a confirmar o sistema decalina em <b>CA-15</b>	234
<b>Figura 227</b> - Correlações relevantes no espectro de HMBC de <b>CA-15</b>	234
<b>Figura 228</b> - Correlação entre o hidrogênio da hidroxila e o carbono carbonílico em C-13	235
<b>Figura 229</b> - Interação proposta entre os hidrogênios presentes na hidroxilas em C-12 e C-13	235
<b>Figura 230</b> - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de <b>CA-15</b>	235
<b>Figura 231</b> - Estrutura de <b>CA-15</b> (ácido 3-oxo-4α,12-dihidroxi-14,15,16-trinorclerodan-13-oico)	235
<b>Figura 232</b> - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de <b>CA-15</b>	236



<b>Figura 233</b> - Espectro de absorção na região do infravermelho de <b>CA-15</b>	237
<b>Figura 234</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	237
<b>Figura 235</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	238
<b>Figura 236</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	238
<b>Figura 237</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	239
<b>Figura 238</b> - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	239
<b>Figura 239</b> - Expansão do Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	240
<b>Figura 240</b> - Espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	240
<b>Figura 241</b> - Expansões do espectro de correlação heteronuclear $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	241
<b>Figura 242</b> - Espectro de $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de <b>CA-15</b>	241
<b>Figura 243</b> - Estrutura de <b>CA-16</b> ( $\beta$ -sitosterol e estigmasterol)	242
<b>Figura 244</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-16</b>	244
<b>Figura 245</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-16</b>	244
<b>Figura 246</b> - Fluxograma de isolamento para <b>CA-1</b> , <b>CA-2</b> , <b>CA-3</b> , <b>CA-4</b> e <b>CA-5</b>	254
<b>Figura 247</b> - Fluxograma de isolamento para <b>CA-6</b> , <b>CA-7</b> , <b>CA-8</b> , <b>CA-9</b> , <b>CA-10</b> e <b>CA-16</b>	259
<b>Figura 248</b> - Fluxograma de isolamento para <b>CA-11</b> , <b>CA-12</b> , <b>CA-13</b> , <b>CA-14</b> e <b>CA-15</b>	263
<b>Figura 249</b> - Estruturas de <b>CA-2</b> e <b>CA-7</b>	268

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> - Diterpenos clerodanos e cauranos biotransformados, fungos utilizados e produtos obtidos	35
<b>Tabela 02</b> - Diterpenos clerodanos e cauranos biotransformados e seus produtos de biotransformação	67
<b>Tabela 03</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-1</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ da literatura para o ácido <i>ent-caur-16-en-18-oico</i> (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988)	78
<b>Tabela 04</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R1CA1</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ para <b>CA-1</b>	84
<b>Tabela 05</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R2CA1</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ para <b>CA-1</b>	88
<b>Tabela 06</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R3CA1</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ para <b>CA-1</b>	92
<b>Tabela 07</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>R4CA1</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ para <b>CA-1</b>	96
<b>Tabela 08</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC e HMBC (300 x 75 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA1-ME</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ para <b>CA-1</b>	100
<b>Tabela 09</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-2</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ da literatura para o ácido <i>ent-caur-16-en-15-oxo-18-oico</i> (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988)	105
<b>Tabela 10</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA2-ME</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>CA-2</b>	110
<b>Tabela 11</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA-3</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ da literatura para o 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988)	117
<b>Tabela 12</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>CA3RED(A)</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>CA-3</b>	124
<b>Tabela 13</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC (300 x 75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de <b>CA3RED(B)</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>CA-3</b>	128
<b>Tabela 14</b> - Dados de RMN $^{13}\text{C}$ (1250 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de <b>CA3-BIO</b> e comparação com dados de RMN $^{13}\text{C}$ de <b>CA-3</b>	132
<b>Tabela 15</b> - Dados de RMN $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ - HSQC e HMBC (500 x 125	

	MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>CA-4</b> e comparação com os valores obtidos para <b>CA-3</b>	138
<b>Tabela 16</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC de <b>CA-5</b> (500 x 125 MHz, MeOD) e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C da literatura para a 3- <i>O</i> -β-D-glicopiranosilquercetina (ROSA <i>et al.</i> , 2010)	147
<b>Tabela 17</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C -HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>CA-6</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C da literatura para o AAA (MCCLEAN; DUMONT; REYNOLDS, 1987)	154
<b>Tabela 18</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>CA-7</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de <b>CA-2</b> e do α-pineno descritos na literatura (LEE, 2002)	163
<b>Tabela 19</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (300 x 75 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>CA-8</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de <b>CA-3</b>	174
<b>Tabela 20</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-9</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de <b>CA-3</b>	184
<b>Tabela 21</b>	- Comparação entre os valores de deslocamentos químicos de carbonos e hidrogênios entre os diterpenos halimanos 1 e 2 (GU <i>et al.</i> , 2013) e a molécula de <b>CA-10</b>	193
<b>Tabela 22</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>CA-10</b>	195
<b>Tabela 23</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC de <b>CA-11</b> (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C da literatura (DEMIREZER <i>et al.</i> , 2006)	202
<b>Tabela 24</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, C <sub>5</sub> D <sub>5</sub> N) de <b>CA-12</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C da literatura para a ombuina-3- <i>O</i> -β-rutinosídeo (MITROCOTSA <i>et al.</i> , 1999)	209
<b>Tabela 25</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-13</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de <b>CA-3</b>	218
<b>Tabela 26</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-14</b> e comparação com dados de RMN <sup>13</sup> C de <b>CA-3</b>	227
<b>Tabela 27</b>	- Dados de RMN <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C e correlações de <sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz, CD <sub>3</sub> OD) de <b>CA-15</b>	236
<b>Tabela 28</b>	- Dados de RMN <sup>13</sup> C (125 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) de <b>CA-16</b> , comparado com os valores na literatura (GOAD, 1991) para a mistura dos esteroides β-sitosterol e estigmasterol	243
<b>Tabela 29</b>	- Fracionamento, por partição líquido-líquido, do extrato etanólico do caule de <i>Croton limae</i> ( <b>CLCE</b> )	249
<b>Tabela 30</b>	- Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>CLCEH</b>	249

<b>Tabela 31</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>CLH-4</b>	250
<b>Tabela 32</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração <b>CLH4(27-34)</b>	251
<b>Tabela 33</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração <b>CLH4(35-39)</b>	251
<b>Tabela 34</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração <b>(35-60)</b> , proveniente da fração <b>CLH4(35-39)</b>	252
<b>Tabela 35</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração <b>13-30</b>	252
<b>Tabela 36</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>CLCEA</b>	253
<b>Tabela 37</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>7</b> , oriunda do fracionamento de <b>CLCEA</b>	253
<b>Tabela 38</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>CLRH</b>	255
<b>Tabela 39</b> - Fracionamento cromatográfico da fração hexano/diclorometano (12,11 g) oriunda de <b>CLRH</b>	255
<b>Tabela 40</b> - Fracionamento cromatográfico do precipitado obtido a partir da fração <b>f63-73</b> oriunda do fracionamento de <b>CLRH</b>	256
<b>Tabela 41</b> - Fracionamento cromatográfico da fração <b>f(53-62)</b> oriunda do fracionamento de <b>CLRH</b>	256
<b>Tabela 42</b> - Fracionamento cromatográfico da fração resultante da união das frações Diclorometano/Acetato de etila e Acetato de etila, provenientes de <b>CLRH</b>	257
<b>Tabela 43</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>F3(D/A)</b>	257
<b>Tabela 44</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>F2(D/A)</b>	258
<b>Tabela 45</b> - Dados do fracionamento cromatográfico da fração <b>F2(D/A)-(41-55)</b>	258
<b>Tabela 46</b> - Partição líquido-líquido de uma alíquota de 30,0 g de <b>CLRE</b>	260
<b>Tabela 47</b> - Dados do fracionamento cromatográfico, em Sephadex LH-20, da fração acetato de etila proveniente de <b>CLRE</b>	260
<b>Tabela 48</b> - Dados do fracionamento cromatográfico, em Cartucho C-18, de <b>Fr5</b>	261
<b>Tabela 49</b> - Dados referentes o fracionamento cromatográfico, em Cartucho C-18, de <b>Fr5</b>	261
<b>Tabela 50</b> - Dados do fracionamento cromatográfico, em Cartucho C-18, de <b>Fr4</b>	262
<b>Tabela 51</b> - Aminas reagentes e rendimento das reações com <b>CA-1</b>	264
<b>Tabela 52</b> - Rendimento das reações de metilação de <b>CA-1</b> e <b>CA-2</b>	265
<b>Tabela 53</b> - Rendimento dos produtos das reduções das carbonilas de <b>CA-3</b>	265
<b>Tabela 54</b> - Valores de $CI_{50}$ com um intervalo de confiança de 95% obtido por regressão não-linear a partir de três experimentos independentes, feitos em duplicata em 3 linhagens tumorais testadas na dose máxima de 10 $\mu\text{g/mL}$	268

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALCA	Herbário Alexandre Leal Costa
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
BB	Broad band
BD	Batata-Dextrose
BDA	Batata-Dextrose-Agar
<i>c</i>	Concentração
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CENAUREMN	Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLCE	Extrato Etanólico do Caule de <i>Croton limae</i>
CLRE	Extrato Etanólico das Raízes de <i>Croton limae</i>
CLRH	Extrato Haxânico das Raízes de <i>Croton limae</i>
cm	Centímetro
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Dupleto
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPM	Desvio padrão da média
dq	Duplo quarteto
dt	Duplo tripleto
EAC	Herbário Prisco Bezerra
EMAR-IES	Espectrometria de Massas de Alta Resolução com Ionização por Electrospray
g	Grama
HMBC	Heteronuclear Multiple Band Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantun Correlation
Hz	Hertz
IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
kg	Quilograma
L	Litro
LEMANOR	Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste
m	Multiplete

mg	Miligrama
mg/mL	Miligrama por mililitro
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
mmol	Milimol
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-brometo tetrazolina
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
p.f	Ponto de fusão
ppm	Partes por milhão
q	Quadrupletto
qd	Quadrupletto de dupletto
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
rpm	Rotações por minuto
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
SPE	Extração em Fase Sólida
t	Tripletto
td	Tripletto de dupletto
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFC	Universidade Federal do Ceará
UV	Ultravioleta
V	Volt
δ	Deslocamento químico
nm	Nanômetro
μL	Microlitro
μL/h	Microlitro por hora
μm	Micrometro
1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
°C	Grau Celsius
°C/min	Grau Celsius por Minuto
∅	Diâmetro

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
2	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	25
2.1	Família Euphorbiaceae	25
2.2	O Gênero <i>Croton</i>	26
2.3	<i>Croton limae</i> A. P. S. GOMES, M. F. SALES & P. E. BERRY	27
3	LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	30
3.1	Diterpenos cauranos e clerodanos	30
3.2	Biotransformações de diterpenos clerodanos e cauranos utilizando fungos	32
4	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	75
4.1	Determinação Estrutural de CA-1	75
4.1.1	Derivados Reacionais de CA-1	82
4.1.1.1	Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a <i>p</i> -toluidina - Determinação Estrutural de R1CA1	83
4.1.1.2	Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a <i>p</i> -cloroanilina - Determinação Estrutural de de R2CA1	87
4.1.1.3	Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a anilina - Determinação Estrutural de R3CA1	91
4.1.1.4	Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a <i>p</i> -anisidina - Determinação Estrutural de R4CA1	95
4.1.1.5	Reação de Metilação de CA-1 - Determinação Estrutural de CA1-ME	99
4.2	Determinação Estrutural de CA-2	103
4.2.1	Reação de Metilação de CA-2 - Determinação Estrutural de CA2-ME	109
4.3	Determinação Estrutural de CA-3	113
4.3.1	Derivados Reacionais e Biotransformação de CA-3	122
4.3.1.1	Determinação Estrutural de CA3RED(A)	123
4.3.1.2	Determinação Estrutural de CA3RED(B)	127
4.3.1.3	Determinação Estrutural de CA3-BIO	131
4.4	Determinação Estrutural de CA-4	135
4.5	Determinação Estrutural de CA-5	144

<b>4.6</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-6</b>	<b>151</b>
<b>4.7</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-7</b>	<b>158</b>
<b>4.8</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-8</b>	<b>170</b>
<b>4.9</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-9</b>	<b>180</b>
<b>4.10</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-10</b>	<b>190</b>
<b>4.11</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-11</b>	<b>200</b>
<b>4.12</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-12</b>	<b>206</b>
<b>4.13</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-13</b>	<b>214</b>
<b>4.14</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-14</b>	<b>224</b>
<b>4.15</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-15</b>	<b>233</b>
<b>4.16</b>	<b>Determinação Estrutural de CA-16</b>	<b>242</b>
<b>5</b>	<b>EXPERIMENTAL</b>	<b>245</b>
<b>5.1</b>	<b>Material Botânico</b>	<b>245</b>
<b>5.2</b>	<b>Métodos Cromatográficos</b>	<b>245</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Cromatografia de Adsorção</b>	<b>245</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)</b>	<b>246</b>
<b>5.3</b>	<b>Métodos Físicos</b>	<b>246</b>
<b>5.3.1</b>	<b>Ponto de Fusão</b>	<b>246</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Rotação Óptica <math>[\alpha]_D</math></b>	<b>247</b>
<b>5.4</b>	<b>Métodos Espectroscópicos e Espectrométricos</b>	<b>247</b>
<b>5.4.1</b>	<b>Espectroscopia na Região de Absorção do Infravermelho (IV)</b>	<b>247</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <math>^1\text{H}</math>) e de Carbono-13 (RMN <math>^{13}\text{C}</math>)</b>	<b>247</b>
<b>5.4.3</b>	<b>Espectrometria de Massas de Alta Resolução (EMAR)</b>	<b>248</b>
<b>5.5</b>	<b>Estudo Fitoquímico de <i>Croton limae</i></b>	<b>248</b>
<b>5.5.1</b>	<b>Obtenção dos Extratos do Caule e Raiz</b>	<b>248</b>
<b>5.5.2</b>	<b>Partição Líquido-Líquido do Extrato Etanólico do Caule (CLCE)</b>	<b>249</b>
<b>5.5.2.1</b>	<b>Fracionamento Cromatográfico de CLCEH</b>	<b>249</b>
<b>5.5.2.2</b>	<b>Fracionamento de CLH-4 e isolamento de CA-1, CA-2, CA-3 e CA-4</b>	<b>250</b>



5.5.2.3	Isolamento de CA-5	252
5.5.3	Fracionamento de CLRH	255
5.5.3.1	Isolamento de CA-6, CA-7 e CA-16	255
5.5.3.2	Isolamento de CA-8, CA-9 e CA-10	257
5.5.4	Partição Líquido-Líquido do Extrato Etanólico das Raízes (CLRE)	260
5.5.4.1	Isolamento de CA-11, CA-12, CA-13, CA-14 e CA-15	260
5.6	Derivados Reacionais	264
5.6.1	Obtenção de Amidas Aromáticas a partir de CA-1	264
5.6.2	Reação de Metilação de CA-1 e CA-2	264
5.6.3	Reação de Redução de CA-3	265
6	BIOTRANSFORMAÇÃO	266
7	ATIVIDADES BIOLÓGICAS	267
7.1	Ensaio de atividade citotóxica <i>in vitro</i> frente à linhagem de células cancerígenas	267
8	CONCLUSÕES	269
	REFERÊNCIAS	271

## 1 INTRODUÇÃO

O conhecimento do homem sobre as propriedades tóxicas ou curativas das plantas confunde-se com sua própria história. Certamente foi descobrindo à medida que buscava sua sobrevivência, através de tentativas e casualidades, uma vez que dependia, basicamente, das plantas medicinais para tratar-se.

As pesquisas com plantas que apresentam algum emprego medicinal apresenta-se como um caminho para a descoberta de novas drogas, orientando os estudos de laboratório no direcionamento de uma determinada ação terapêutica, o que pode reduzir significativamente os investimentos em tempo e dinheiro (ALMEIDA, 2011).

Apesar do potencial para a busca de novos fitofármacos ser inegável, estima-se que menos de 10% da flora nacional foi estudada com fins fitoquímicos e farmacológicos, visando a avaliação das propriedades terapêuticas (ALMEIDA, 2011).

Além do estudo de plantas já utilizadas na medicina popular, é interessante o estudo de outras espécies dos gêneros que já desempenham algum papel nos usos tradicionais como, por exemplo, as representantes do gênero *Croton*.

O gênero *Croton* é representado por espécimes que desempenham papel importante na medicina tradicional em diferentes partes do mundo. Algumas de suas espécies são utilizadas no tratamento de câncer, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos, diabetes, feridas externas, febre, hipertensão, malária, úlceras e obesidade. Desta forma, as plantas do gênero *Croton* ocupam papel de destaque nos sistemas tradicionais de plantas medicinais, particularmente das Américas, África e Ásia (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

Os estudos relatam que a química do gênero *Croton* é diversificada. Na literatura, estão descritos o isolamento de alcaloides, flavonoides, terpenoides, lignanas, benzenoides, poliprenoides, quinoides e um grande número de diterpenoides (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

Assim, o gênero *Croton* constitui um gênero altamente promissor para estudos de prospecção de metabólitos farmacologicamente ativos, sendo, por este motivo, alvo de pesquisas em estudos fitoquímicos.

Diante deste contexto, o nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo ao longo dos anos estudos fitoquímicos relacionados a espécies de *Croton*, objetivando contribuir para a

ampliação do conhecimento do potencial químico e biológico dessas espécies na região Nordeste do Brasil.

Desta forma, o presente trabalho descreve a investigação química de *Croton limae* A. P. Gomes, M. F. Sales e P. E. Berry (GOMES; SALES; BERRY, 2010), uma espécie ainda sem estudos descritos na literatura, e tem como objetivo principal o isolamento e a caracterização estrutural de novos metabólitos secundários, bem como a realização de reações de modificações estruturais e biotransformações nos compostos isolados, na busca de moléculas bioativas.

## 2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

### 2.1 Família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae é uma das mais complexas e diversificadas dentre as Angiospermae, sendo classificada como a sexta maior família depois das Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Orchidaceae e Rubiaceae (LIMA; PIRANI, 2008).

Os representantes desta família distribuem-se amplamente nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente nos continentes americano e africano, com poucos representantes extratropicais (OLIVEIRA, 2013).

Devido ao grande número de espécies, essa família pode ainda ser subdividida em cinco subfamílias - *Phyllanthoideae*, *Oldfieldioideae*, *Acalyphoideae*, *Crotonoideae* e *Euphorbioideae*. De acordo com dados da literatura, a família é constituída por cerca de 300 gêneros e 7500 espécies com ampla distribuição em regiões tropicais e temperadas, caracterizando grande parte da flora brasileira (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009; MATOS, 2011).

Algumas espécies de Euphorbiaceae apresentam destacada importância econômica, compreendendo desde plantas ornamentais como *Euphorbia milii* (coroa-de-cristo) até espécies de valor histórico e econômico na cultura brasileira como *Manihot esculenta* (mandioca) e *Hevea brasiliensis* (seringueira). Outras espécies são conhecidas, em diferentes partes do mundo, como tóxicas e/ou medicinais, onde a grande diversidade destes efeitos pode ser considerada um reflexo da alta diversidade química desse grupo de plantas (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

Apesar de ser objeto de vários estudos envolvendo pesquisas em taxonomia, morfologia, anatomia, fitoquímica, filogenia e botânica, o conhecimento da família ainda apresenta lacunas consideráveis (LIMA; PIRANI, 2008).

## 2.2 O Gênero *Croton*

O gênero *Croton*, pertencente à família Euphorbiaceae, é subdividido em 40 secções possuindo mais de 1300 espécies de distribuição, principalmente, pantropical. No Brasil, é o gênero com maior número de espécies da família, com 350 espécies distribuídas em 29 secções. Na região Nordeste estima-se um total de 52 espécies distribuídas em 18 secções (PÔRTO, 2007).

Os metabólitos secundários predominantes no gênero *Croton* são os diterpenos, principalmente clerodanos, neoclerodanos, cembranoides, halimanos, cauranos, isopimaranos, traquilobanos e labdanos. Outros metabólitos frequentemente relatados são os triterpenos pentacíclicos, alcaloides, flavonoides, saponinas e fenilpropanoides (BARRETO, 2013).

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

Muitas espécies de *Croton* crescem em locais como beira de estradas, margem de rios e clareiras de matas. Essas e outras características ecológicas, como a produção massiva de flores e frutos durante a maior parte do ano, fazem dos membros do gênero candidatos ideais para a restauração de florestas degradadas. A madeira de várias espécies é utilizada na construção de casas e botes, como lenha e em diversos trabalhos de carpintaria (LIMA; PIRANI, 2008).

### 2.3 *Croton limae* A. P. S. GOMES, M. F. SALES & P. E. BERRY

*Croton limae* (fig. 01, p. 28) pertence à subfamília *Crotonoideae*, tribo *Crotoneae*. A espécie apresenta hábito que varia entre arbustivo e arbóreo com 1-8 m de altura e ramificação monopodial (GOMES; SALES; BERRY, 2010).

Gomes, Sales e Berry (2010) expõe a seguinte descrição botânica de *Croton limae*:

O indumento é do tipo dentado lepidoto a lepidoto, prateado a amarelo-alaranjado, recobrando ramos, estípulas, pecíolos, superfícies foliares adaxial, inflorescências, sépalas e, por vezes as pétalas, ovário e frutos. Folhas alternas, dispostas ao longo dos ramos; estípulas geralmente decíduas, estreitamente triangulares. Limbo foliar oblongo-elíptico a oblongo, membranáceo com nervação broquidódroma. Racemos terminal e subterminal, relaxado; 1-3 brácteas por flor, inteiro ou trifurcada, forma oval a triangular, botões estaminados globosos, levemente estriadas; botões pistilados ovoides a subglobosos. Flores estaminadas, com cinco sépalas, livres, triangulares, cinco pétalas, estreitamente elípticas a oblongo-elípticas, 10-15 estames, anteras elípticas; disco nectarífero elipsoide, com uma sutura horizontal no vértice. As flores pistiladas são sésseis ou subsésseis com cinco sépalas, lobos triangulares ligeiramente valvares reduplicados, geralmente não abrangendo o ovário; as pétalas geralmente são ausentes ou rudimentares, quando presentes são filiformes; disco nectarífero glabro com segmentos elipsoides, achatados dorsalmente; ovário globoso, amarelo-claro a dourado; pistilos multífido. Frutos do tipo cápsulas globosas, indumento amarelo-alaranjado, com sépalas persistentes; sementes obovada, lisa, castanha a cinza, com pequena carúncula apical.

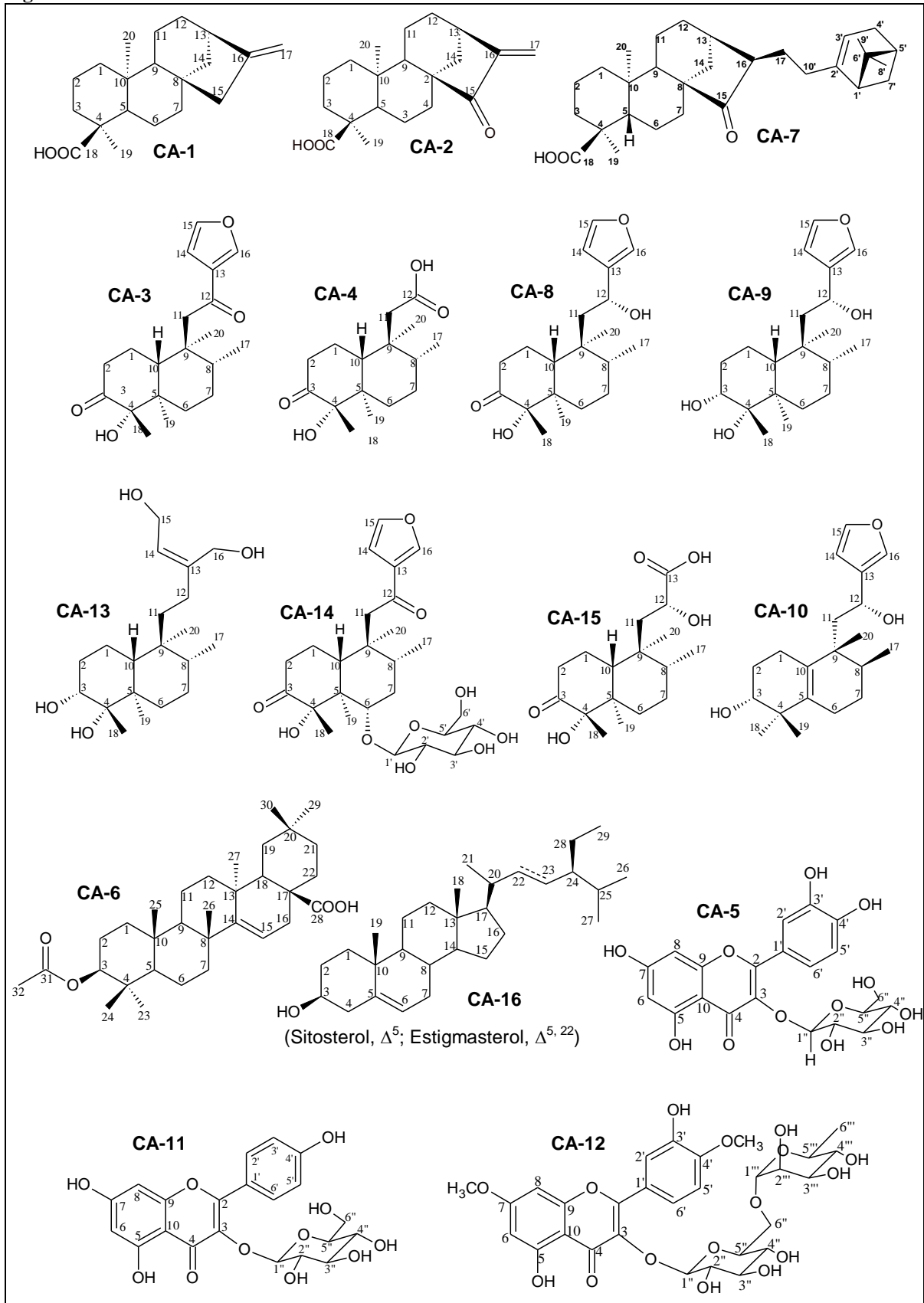
Aparentemente *Croton limae* está limitado às montanhas de arenito, cordilheiras e planaltos, geralmente em áreas acima de 700 m de altitude, na região Nordeste do Brasil, ocorrendo nos estados da Bahia (Chapada Diamantina), Ceará (Aiuaba, Planalto da Ibiapaba, Serra do Araripe), Paraíba (Pico do Jabre), Pernambuco (complexo de montanhas da Bacia do Jatobá) e Piauí (Serra das Confusões) (GOMES; SALES; BERRY, 2010).

Ocorre em solos arenosos profundos, associado com os tipos de vegetação de Caatinga-de-areia (vegetação sazonal espinhosa decídua na areia) e carrasco (vegetação sazonal decídua não-espinhosa). As plantas florescem de novembro a maio e frutifica de janeiro a julho (GOMES; SALES; BERRY, 2010).

**Figura 01** - Fotografias de um espécime de *Croton limae* com destaque para folhas e frutos



**Figura 02** - Metabólitos isolados de *Croton limae*



### 3 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

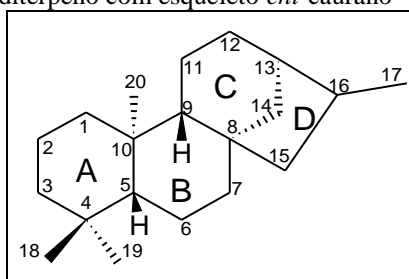
#### 3.1 Diterpenos cauranos e clerodanos

O presente trabalho levou ao isolamento de vários diterpenos com esqueleto caurano e clerodano. Devido ao grande número de revisões bibliográficas na literatura acerca da ocorrência destas classes de diterpenos no gênero *Croton*, e ainda baseados no grande interesse dentro do nosso grupo de pesquisas na biotransformação destes diterpenos abundantes na espécie, o presente levantamento bibliográfico apresenta um panorama das reações de biotransformações em diterpenos clerodanos e cauranos em trabalhos envolvendo a ação de fungos.

Os diterpenos caurânicos apresentam-se como alvos interessantes para biotransformações, uma vez que estes constituem uma classe de substâncias ricas em atividades biológicas reportadas, tais como: antimicrobiana, antitumoral, tripanossomicida, antiinflamatória, analgésica e anti-HIV (GARCÍA; OLIVEIRA; BATISTA, 2007).

Os diterpenos cauranos representam um importante grupo de diterpenos tetracíclicos, cujas estruturas apresentam uma unidade de 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. 03).

**Figura 03** - Esqueleto básico de um diterpeno com esqueleto *ent*-caurano

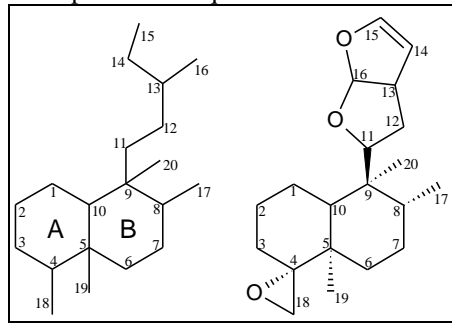


A maioria dos diterpenos cauranos encontrados na natureza pertencem à série *enantio*, exceto em alguns poucos casos (presença de dupla ligação entre C-9 e C-11). Os diterpenos pertencentes à série *ent* (*ent*-cauranos) são caracterizados por apresentarem valores negativos de rotação óptica (GARCÍA; OLIVEIRA; BATISTA, 2007).

Os diterpenos com esqueleto do tipo clerodano tem seu nome derivado da (-)-clerodina, primeiro diterpeno desta classe isolado a partir de *Clerodendron infortunatum* (Lamiaceae) (fig. 04, p. 31) (MACIEL; CORTEZ; GOMES, 2006).

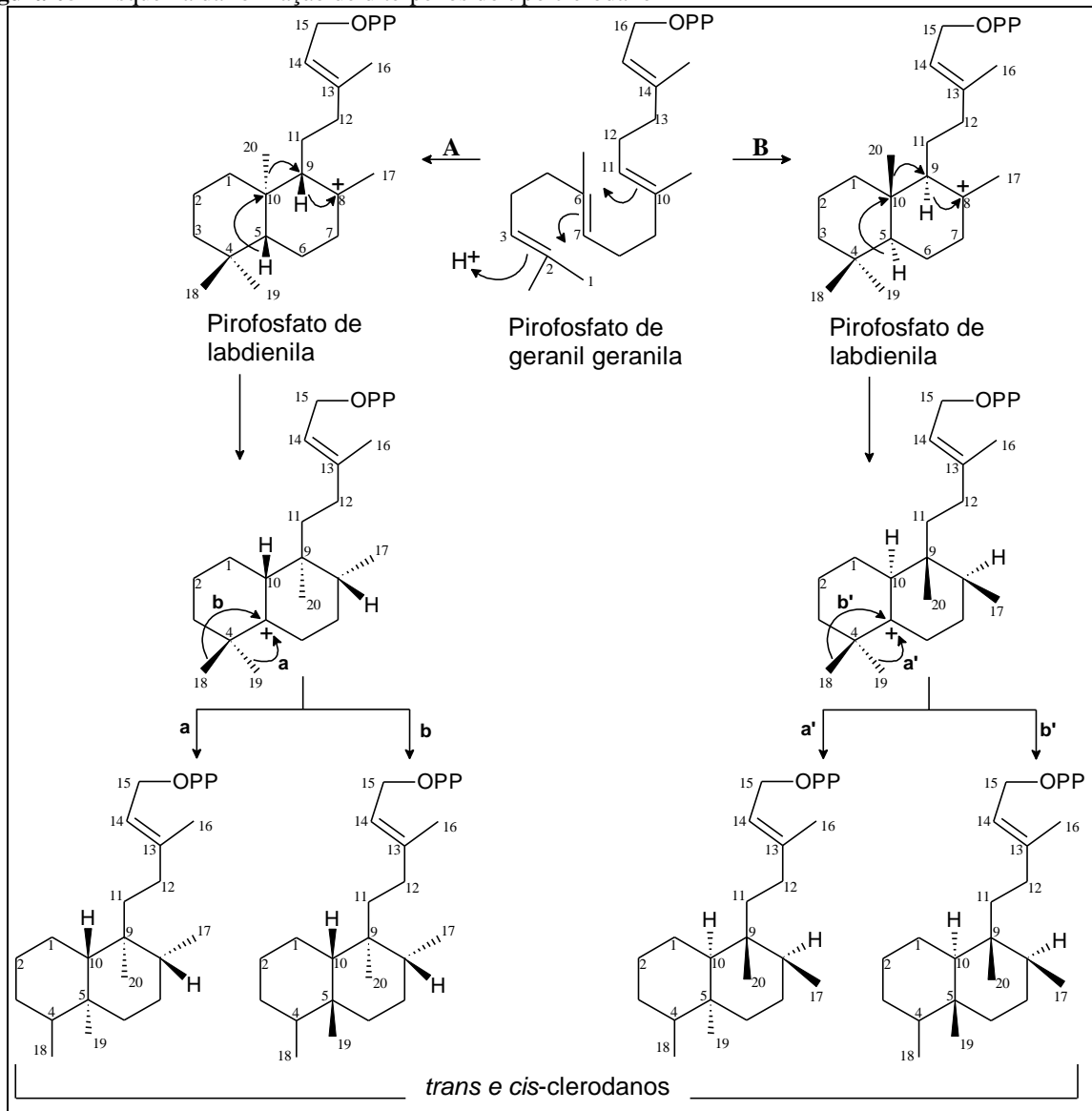


**Figura 04** - Esqueleto básico de um diterpeno com esqueleto clerodano e da (-)-clerodina



Os clerodanos são originados do esqueleto labdano por rearranjo concertado, envolvendo migrações consecutivas de hidreto e metila (MACIEL; CORTEZ; GOMES, 2006). Podem ser classificados em *trans* e *cis*, com relação à configuração da fusão dos anéis A e B. Os *trans*-clerodanos são obtidos por migração da metila 19 e os *cis* por migração da metila 18 (fig. 05).

**Figura 05** - Esquema da formação de diterpenos do tipo clerodano



A maioria dos diterpenos com esqueleto clerodano apresenta junção *trans* entre os anéis A e B ( $5\alpha, 10\beta$ ), com configuração relativa *cis* para os substituintes nos carbonos C-5, C-8 e C-9. Existem poucos relatos para diterpenos clerodanos com junção A/B *cis* ( $5, 10\alpha$ ) que apresentam orientação  $\beta$  para os substituintes das posições C-8 e C-9. Em adição, os *trans* e *cis*-clerodanos que possuem configuração relativa diferente nos carbonos C-8 e C-9 são raros. Praticamente, todos os *cis* e *trans* clerodanos reportados na literatura, possuem configuração relativa *trans* para os carbonos C-9 e C-10 (fig. 05, p. 31) (MACIEL; CORTEZ; GOMES, 2006).

Os *neo*-clerodanos estão relacionados com os *ent*-labdanos, nos quais a cadeia carbônica ligada a C-9 está  $\alpha$ -orientada, enquanto os *ent-neo*-clerodanos são biogeneticamente relacionados aos labdanos da série normal, os de maior ocorrência no reino vegetal, onde a cadeia carbônica ligada ao carbono C-9, encontra-se  $\beta$ -orientada (fig. 05, p. 31) (MACIEL; CORTEZ; GOMES, 2006).

### 3.2 Biotransformações de diterpenos clerodanos e cauranos utilizando fungos

A biotransformação pode ser definida como a utilização de sistemas biológicos para a produção de compostos químicos ou substratos não naturais, e atualmente apresenta-se como uma ferramenta alternativa de grande potencial, especialmente para o desenvolvimento de tecnologias sustentáveis e para a produção de novos produtos químicos e drogas (BORGES *et al.*, 2009).

Os fungos mostram-se como um dos sistemas mais estudados para as reações de biotransformação. A incidência de fungos nas plantas ocorre por infecção natural no ambiente, favorecido por climas úmidos, e seu isolamento pode ser considerado como um primeiro passo para a compreensão da origem de alguns metabólitos secundários em plantas (BORGES *et al.*, 2009).

A pesquisa realizada na literatura, na base de dados SciFinder (CAS – Chemical Abstract Service) abrangeu o período de 1968 até maio de 2014 e mostrou uma grande diversidade de diterpenos caurânicos biotransformados por fungos. A **Tabela 01** (p. 35) resume as reações de biotransformação utilizando estes diterpenos, os fungos utilizados e os produtos obtidos. A **Tabela 02** (p. 67) apresenta os nomes dos compostos descritos na **Tabela 01** (p. 35).

Nesta pesquisa foi contabilizado um total de 17 espécies de fungos, pertencentes a 12 gêneros diferentes, utilizados para a modificação estrutural de diterpenos com esqueletos do tipo caurano e clerodano. Os fungos reportados na literatura são: *Absidia blakesleeana*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Calonectria decora*, *Cephalosporium aphidicola*, *Cunninghamella blakesleeana*, *Curvularia lunata*, *Fusarium fujikuroi*, *Fusarium proliferatum*, *Gibberella fujikuroi*, *Mucor plumbeus*, *Mucor recurvatus*, *Psilocybe cubensis*, *Rhizopus nigricans*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus stolonifer* e *Verticillium lecanii*.

O gênero *Rhizopus* apresentou maior número de espécies utilizadas em processos de biotransformação (*R. nigricans*, *R. oligosporus* e *R. stolonifer*), seguido pelos gêneros *Aspergillus* (*A. niger* e *A. ochraceus*), *Fusarium* (*F. fujikuroi* e *F. proliferatum*) e *Mucor* (*M. plumbeus* e *M. recurvatus*) cada um com duas espécies utilizadas. No entanto, a espécie que apresentou maior potencial para realizar modificações estruturais em diterpenos de esqueleto caurano foi *Gibberella fujikuroi*, correspondendo a 53% dos experimentos relatados.

Diante dos dados obtidos foi ainda possível verificar que, apesar da grande variedade de diterpenos com esqueletos clerodanos, estes ainda são pouco utilizados em processos de biotransformação utilizando fungos. Apenas dois artigos apresentaram diterpenos com esqueleto do tipo clerodano como substrato (HOFFMANN; FRAGA, 1993; CHOUDHARY *et al.*, 2013). A maioria dos artigos relata modificações estruturais realizadas em diterpenos do tipo caurano.

Para as reações de biotransformação utilizando diterpenos de esqueleto clerodano foram utilizados os fungos *Mucor plumbeus* e *Rhizopus stolonifer*. Nestes processos foram observadas reações de hidroxilações nas posições 2, 3, 4, 13 e 18, bem como a clivagem de anéis furano e lactônico em sua estrutura (tab. 01, p. 35).

Com relação ao esqueleto caurano, os fungos utilizados na literatura foram capazes de realizar epoxidações, descarboxilações, formação de anidrido, formação de lactonas, hidrólise de grupos acetato, rearranjos de esqueleto e, principalmente, reações de hidroxilações. A **Figura 06** (p. 34) mostra as posições mais hidroxiladas em carbonos metilênicos e metínicos de quase toda a extensão da cadeia promovidas pelos diversos fungos, porém, não foram observadas hidroxilações nas posições C-5 e C-20.

**Figura 06** - Posições onde foram observadas hidroxilações no esqueleto básico dos cauranos e fungos utilizados

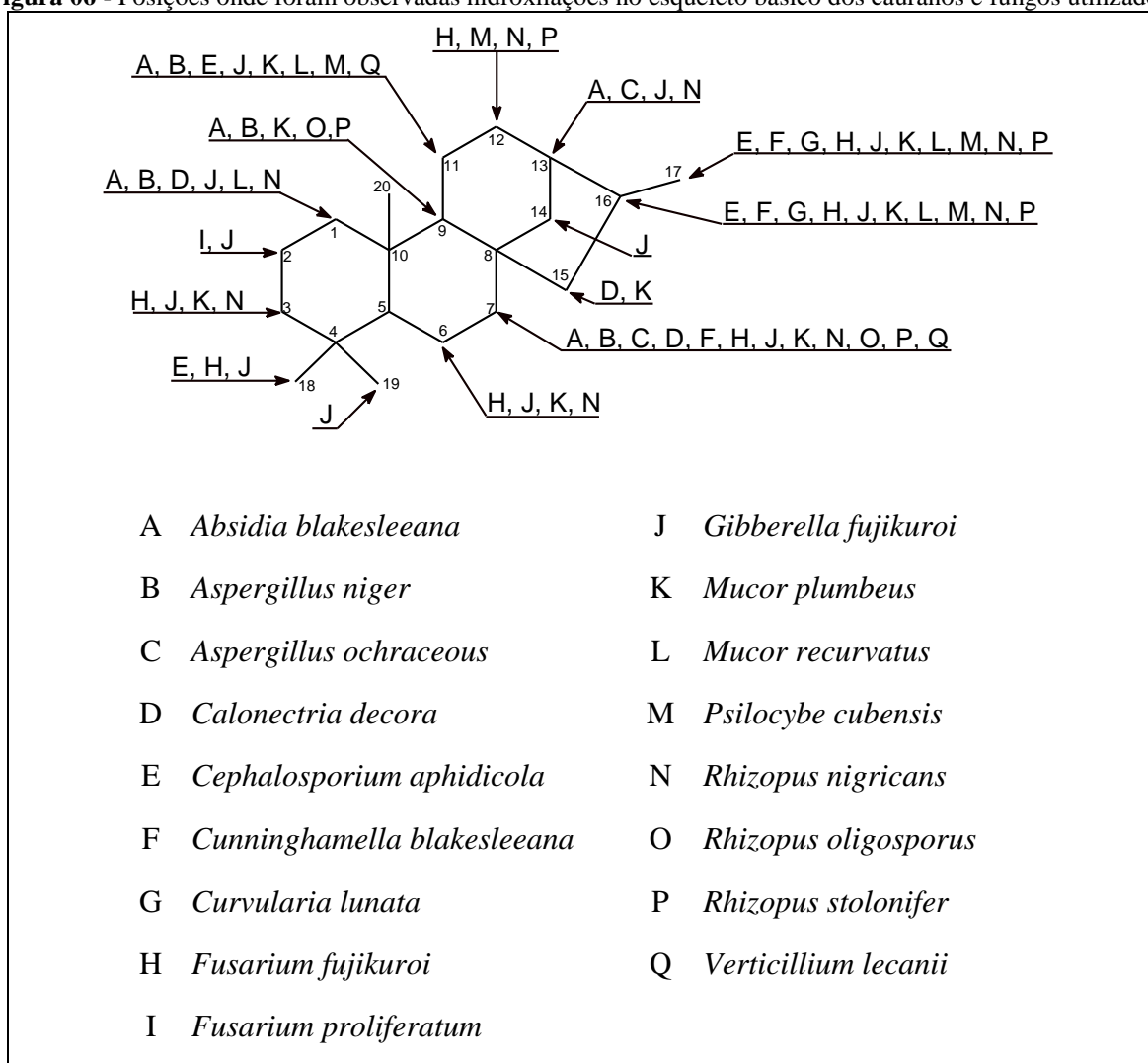
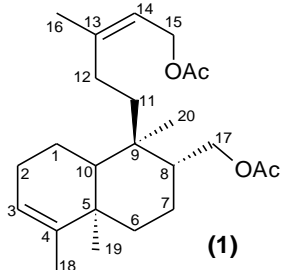
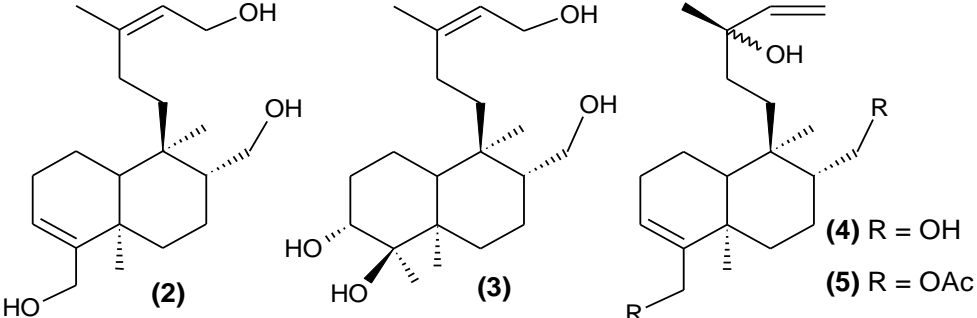
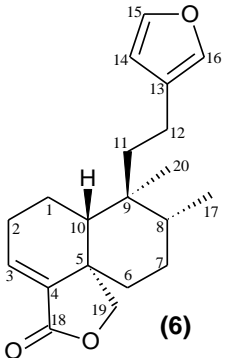
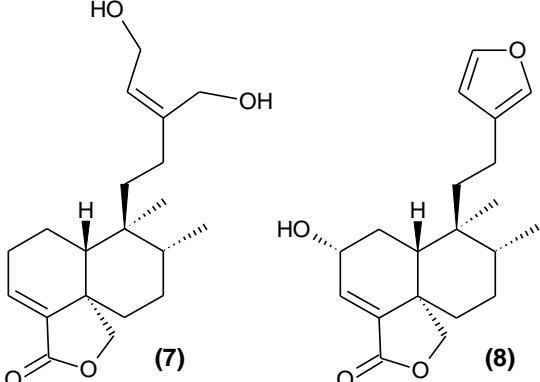
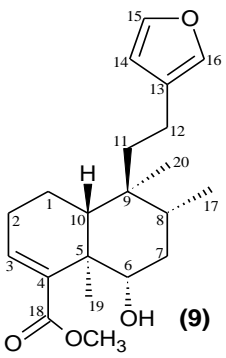
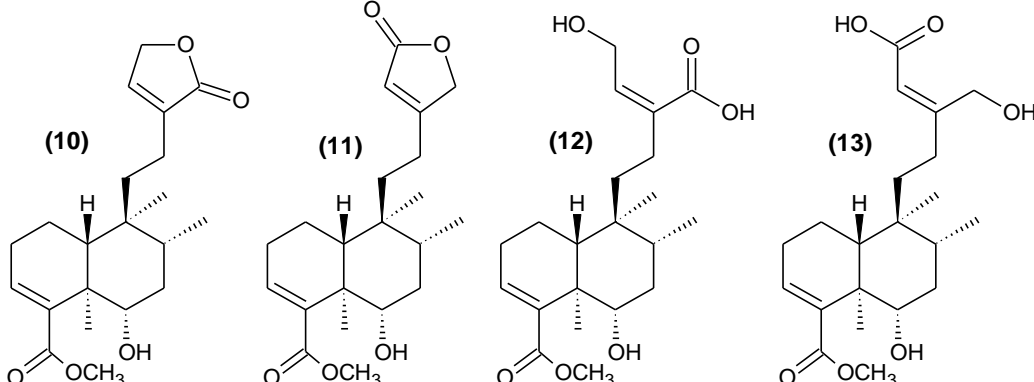
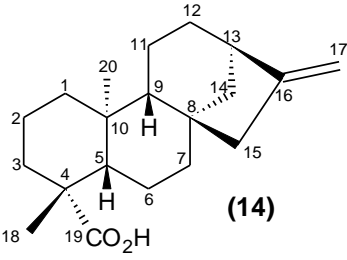
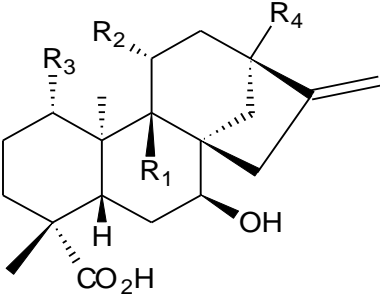
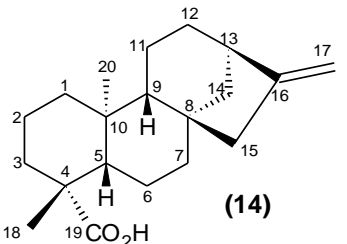
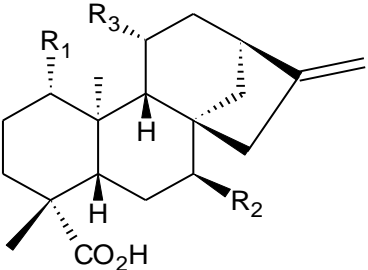
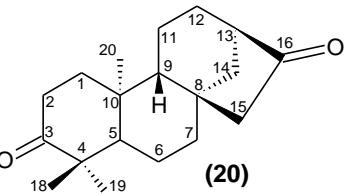
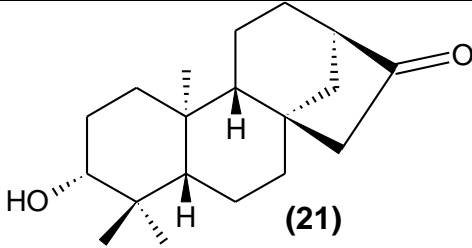
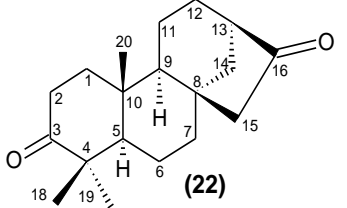
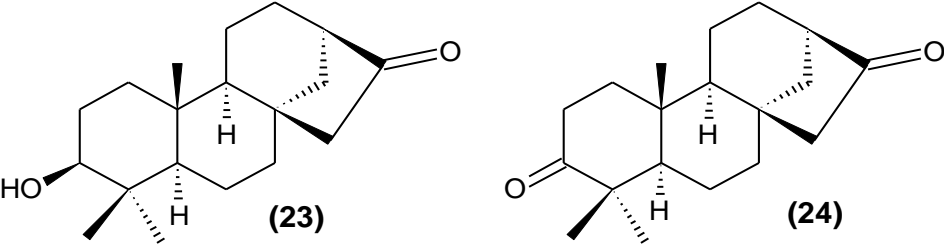
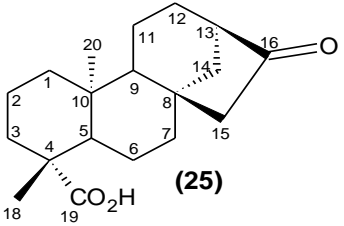
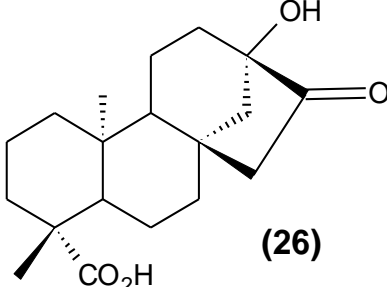
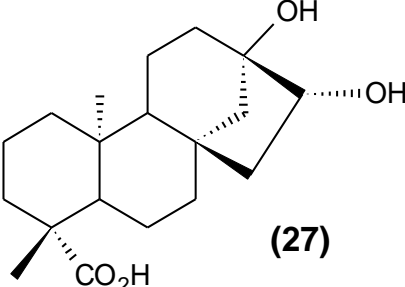
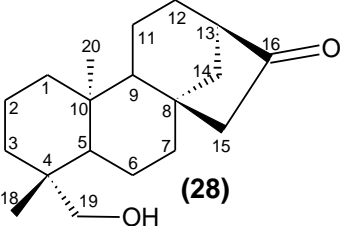
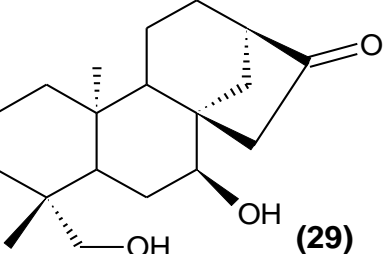
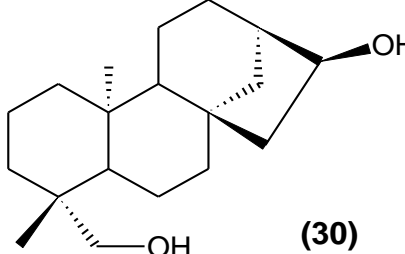
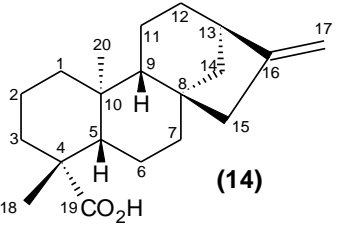
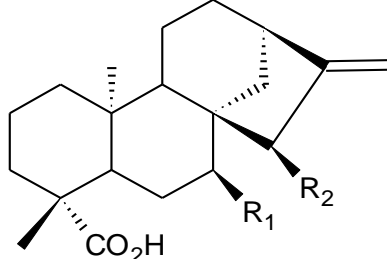
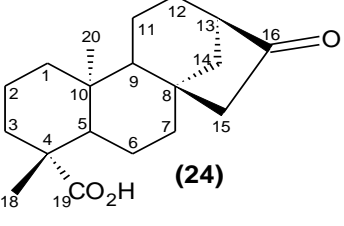
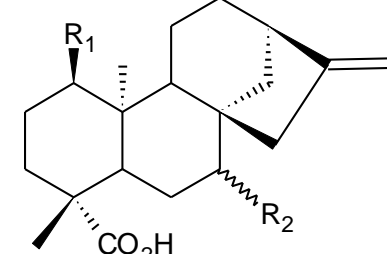
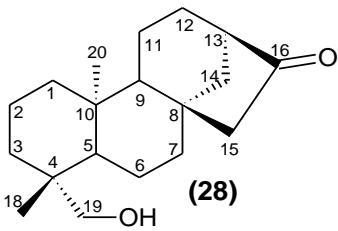
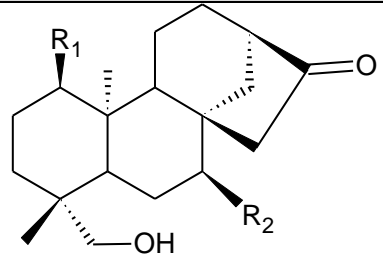
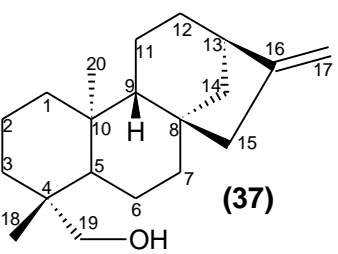
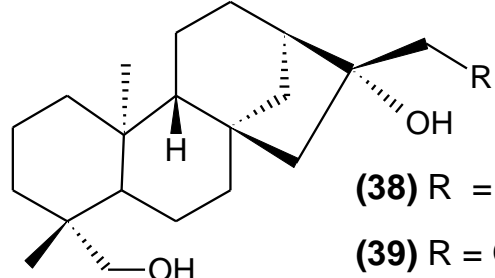
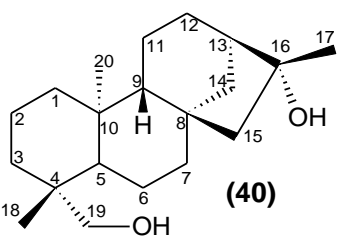
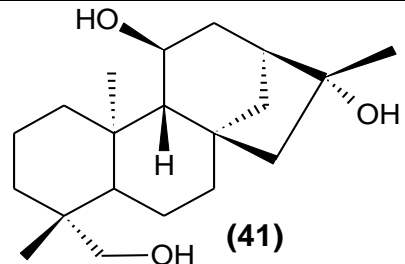
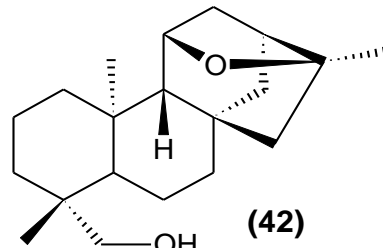
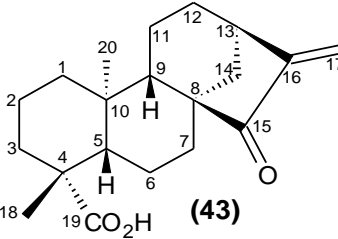
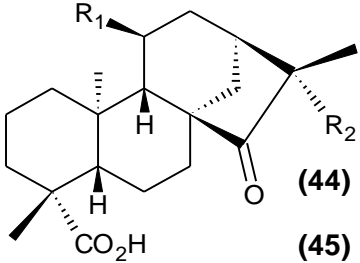
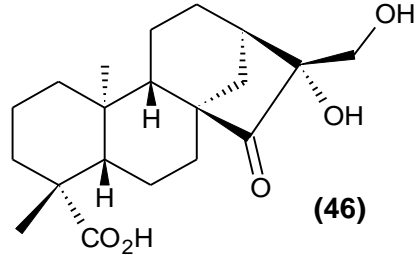


Tabela 01 - Diterpenos clerodanos e cauranos biotransformados, fungos utilizados e produtos obtidos.

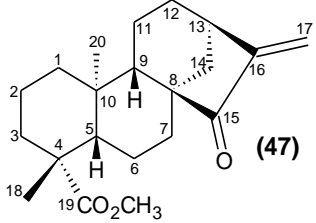
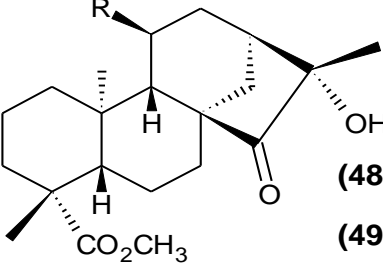
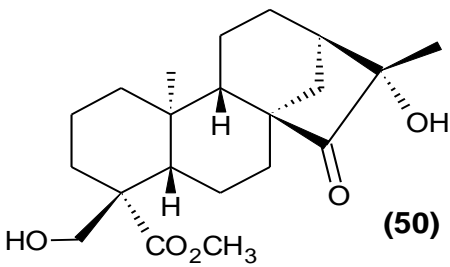
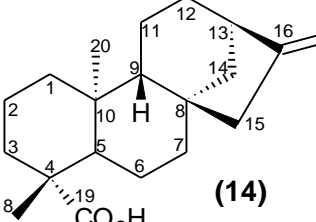
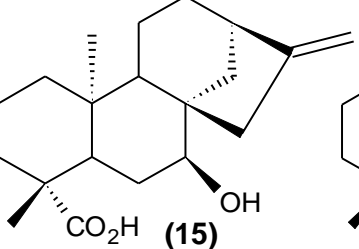
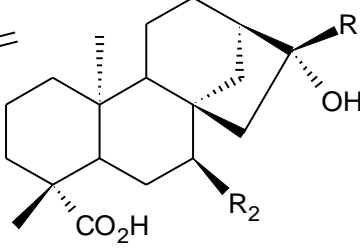
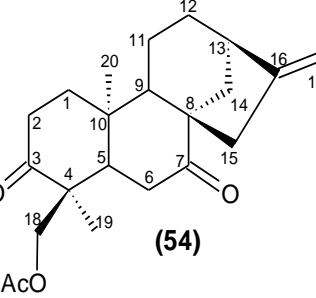
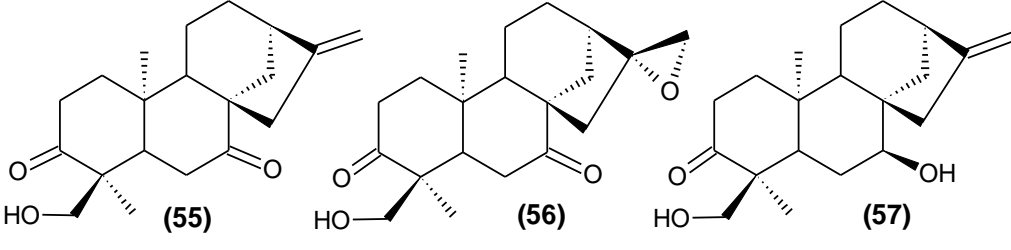
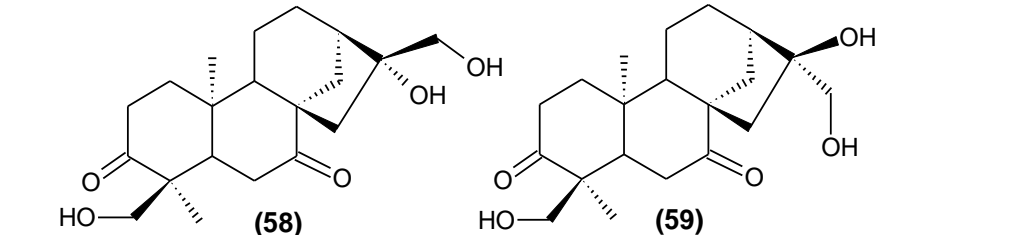
Diterpeno	Fungo	Produtos de Biotransformação	Referência
 <p>(1)</p>	<p><i>Mucor plumbeus</i></p>	 <p>(2) (3) (4) R = OH (5) R = OAc</p>	<p>HOFFMANN; FRAGA, 1993</p>
 <p>(6)</p>	<p><i>Rhizopus stolonifer</i></p>	 <p>(7) (8)</p>	<p>CHOUDHARY <i>et al.</i>, 2013</p>
 <p>(9)</p>	<p><i>Rhizopus stolonifer</i></p>	 <p>(10) (11) (12) (13)</p>	<p>CHOUDHARY <i>et al.</i>, 2013</p>

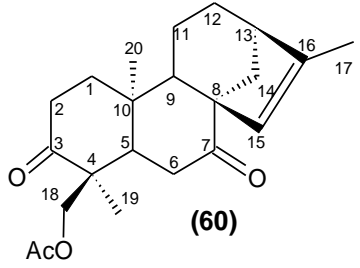
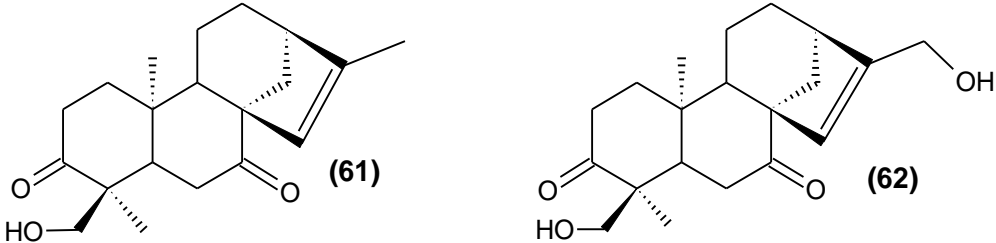
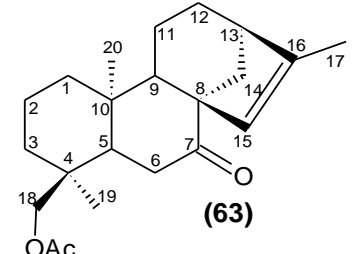
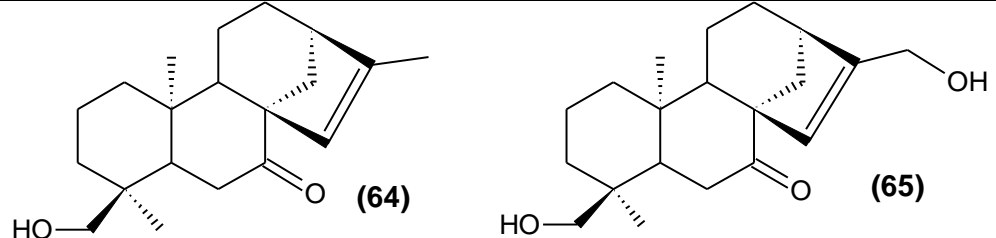
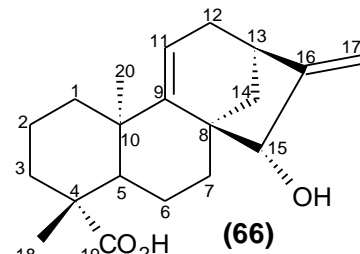
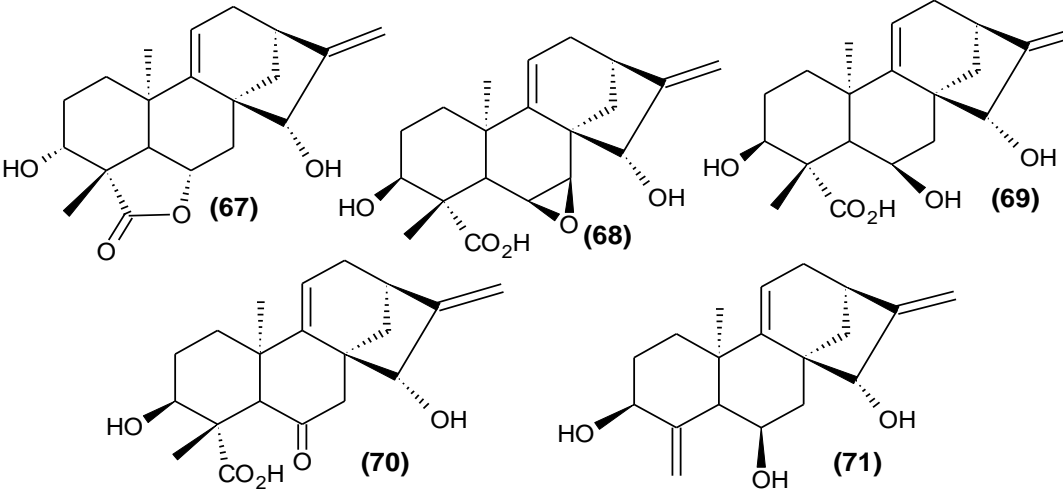
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(14)</p>	<p><i>Absidia blakesleeana</i></p>	 <p>(15) <math>R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H</math>  (16) <math>R_1 = OH; R_2 = R_3 = R_4 = H</math>  (17) <math>R_1 = H; R_2 = OH; R_3 = R_4 = H</math>  (18) <math>R_1 = R_2 = H; R_3 = OH; R_4 = H</math>  (19) <math>R_1 = R_2 = R_3 = H; R_4 = OH</math></p>	<p>TAVEEPANICH <i>et al.</i>, 2010</p>
 <p>(14)</p>	<p><i>Aspergillus niger</i></p>	 <p>(17) <math>R_1 = H; R_2 = OH; R_3 = OH</math>  (18) <math>R_1 = OH; R_2 = OH; R_3 = H</math></p>	<p>MARQUINA <i>et al.</i>, 2009</p>
 <p>(20)</p>	<p><i>Aspergillus niger</i></p>	 <p>(21)</p>	<p>ANDERSON; MCCRINDLE; TURNBULL, 1973</p>
 <p>(22)</p>	<p><i>Aspergillus niger</i></p>	 <p>(23) (24)</p>	<p>ANDERSON; MCCRINDLE; TURNBULL, 1973</p>

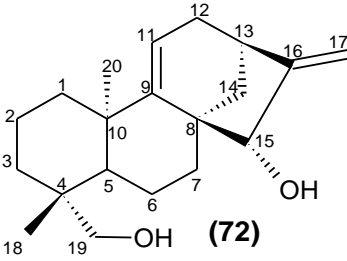
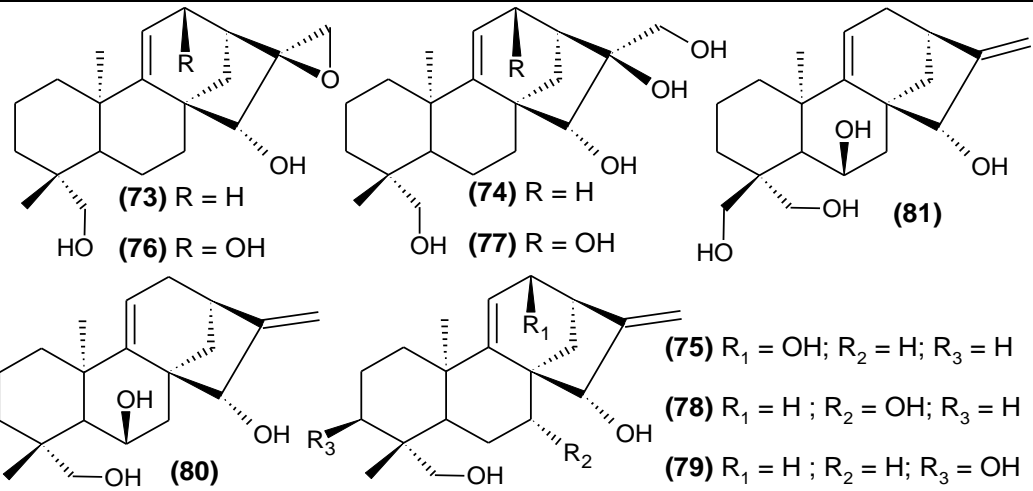
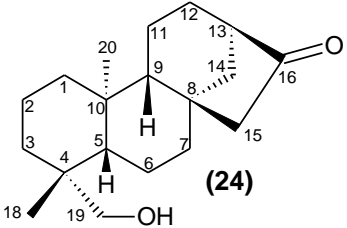
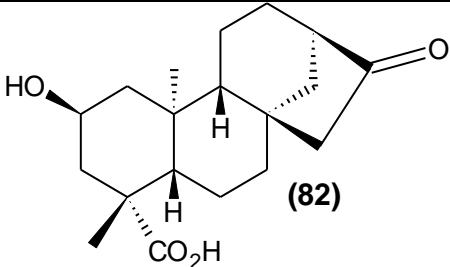
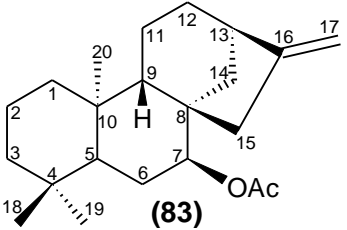
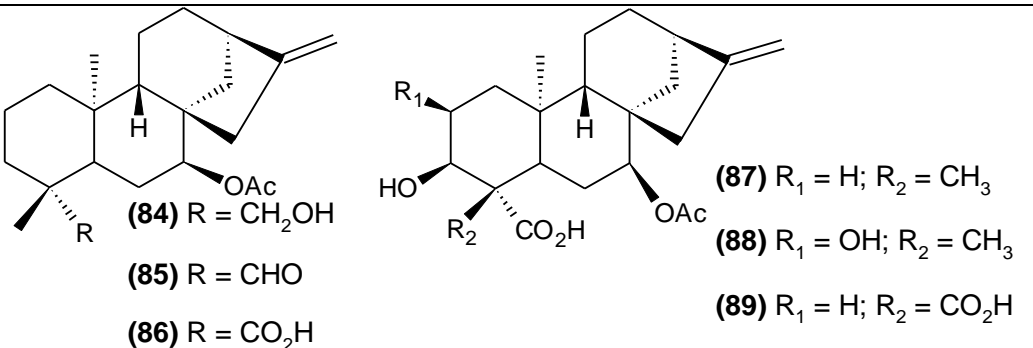
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(25)</p>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	 <p>(26)</p>  <p>(27)</p>	GHISALBERTI <i>et al.</i> , 1977
 <p>(28)</p>	<i>Aspergillus ochraceus</i>	 <p>(29)</p>  <p>(30)</p>	GHISALBERTI <i>et al.</i> , 1977
 <p>(14)</p>	<i>Calonectria decora</i>	 <p>(15) <math>R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}</math></p> <p>(31) <math>R_1 = \text{H}; R_2 = \text{OH}</math></p> <p>(32) <math>R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{OH}</math></p>	GHISALBERTI <i>et al.</i> , 1977
 <p>(24)</p>	<i>Calonectria decora</i>	 <p>(33) <math>R_1 = \text{H}; R_2 = \alpha\text{-OH}</math></p> <p>(34) <math>R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}</math></p> <p>(35) <math>R_1 = \text{H}; R_2 = \beta\text{-OH}</math></p>	GHISALBERTI <i>et al.</i> , 1977

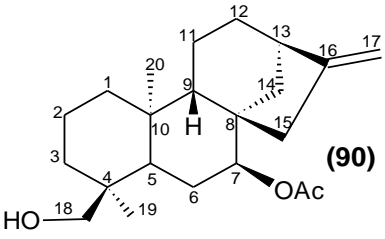
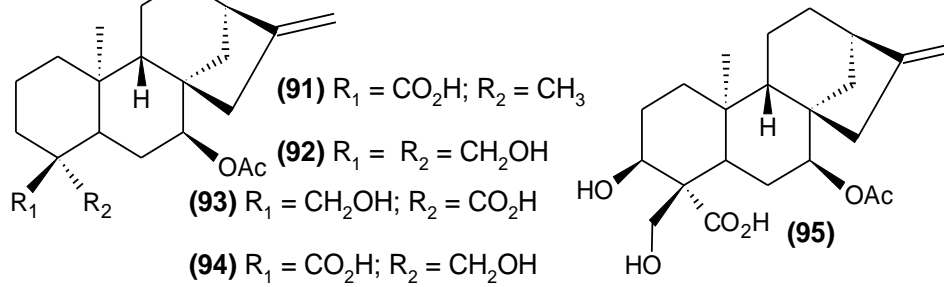
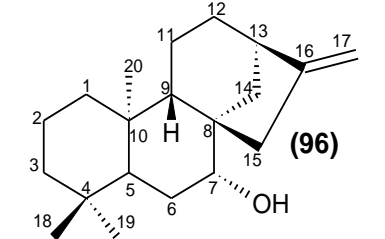
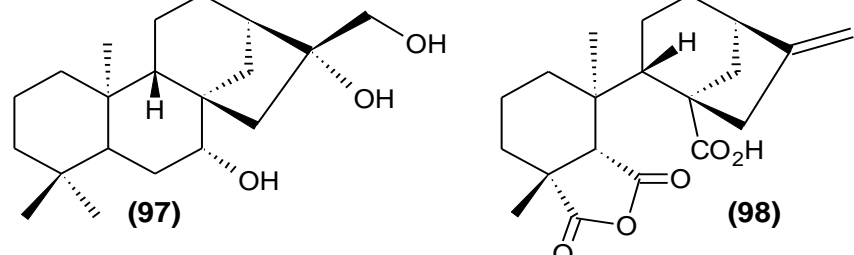
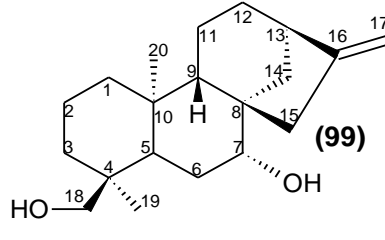
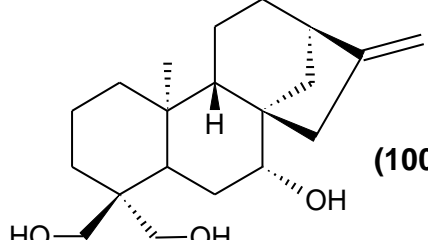
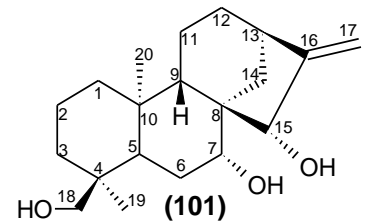
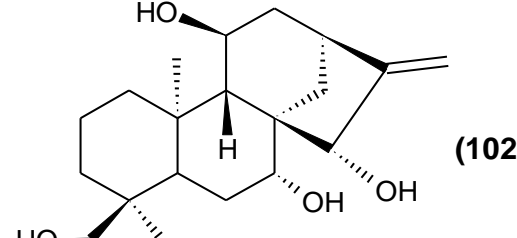
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(28)</p>	<p><i>Calonectria decora</i></p>	 <p>(29) <math>R_1 = H</math>; <math>R_2 = OH</math>  (36) <math>R_1 = OH</math>; <math>R_2 = H</math></p>	<p>GHISALBERTI <i>et al.</i>, 1977</p>
 <p>(37)</p>	<p><i>Cephalosporium aphidicola</i></p>	 <p>(38) <math>R = H</math>  (39) <math>R = OH</math></p>	<p>ROCHA; TAKAHASHI; BOAVENTURA, 2009</p>
 <p>(40)</p>	<p><i>Cephalosporium aphidicola</i></p>	 <p>(41)</p>  <p>(42)</p>	<p>HANSON; HITCHCOCK; TAKAHASHI, 1995</p>
 <p>(43)</p>	<p><i>Cephalosporium aphidicola</i></p>	 <p>(44) <math>R_1 = H</math>; <math>R_2 = OH</math>  (45) <math>R_1 = OH</math>; <math>R_2 = H</math></p>  <p>(46)</p>	<p>OLIVEIRA; HANSON; TAKAHASHI, 1995</p>

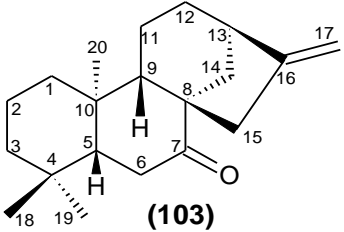
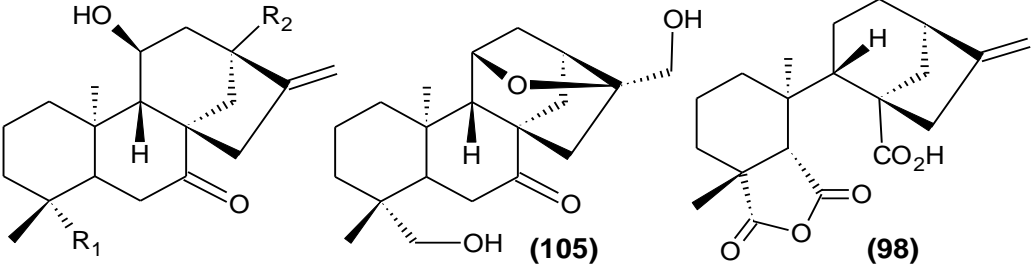
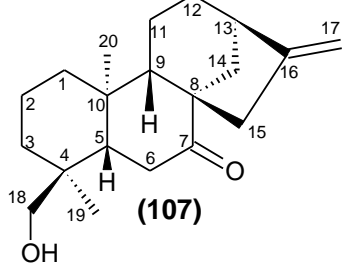
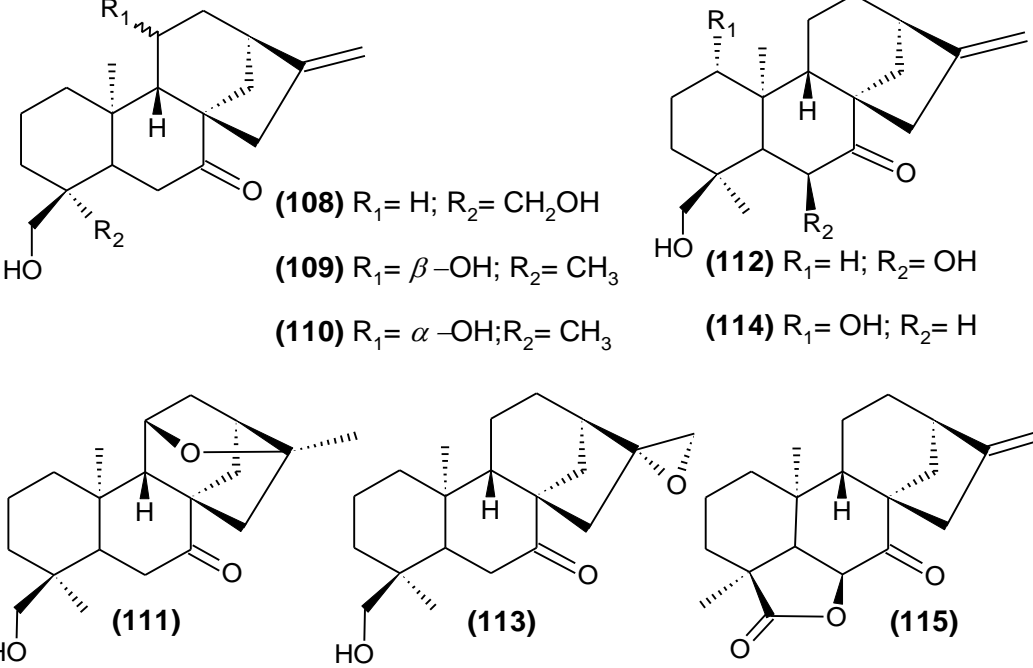


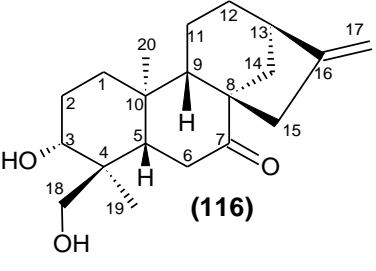
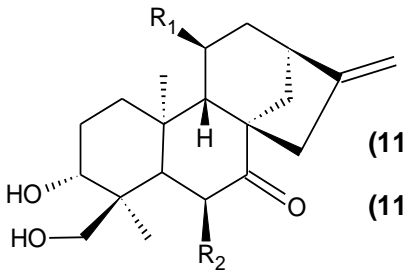
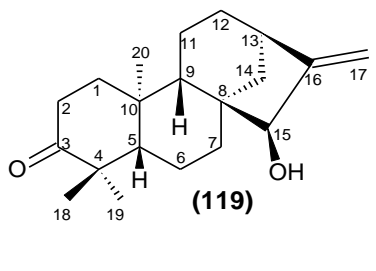
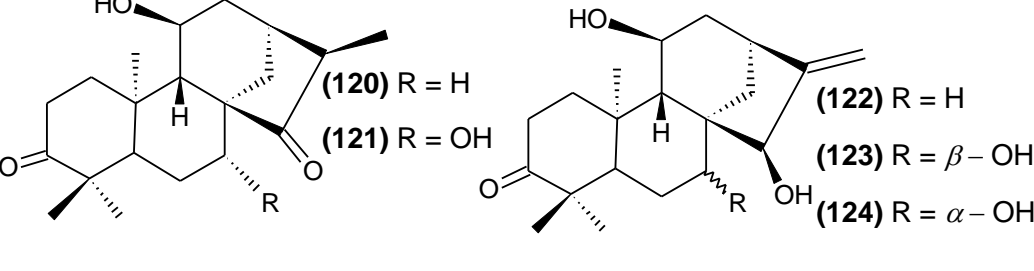
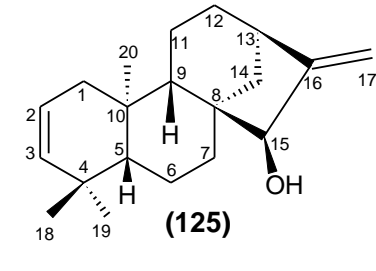
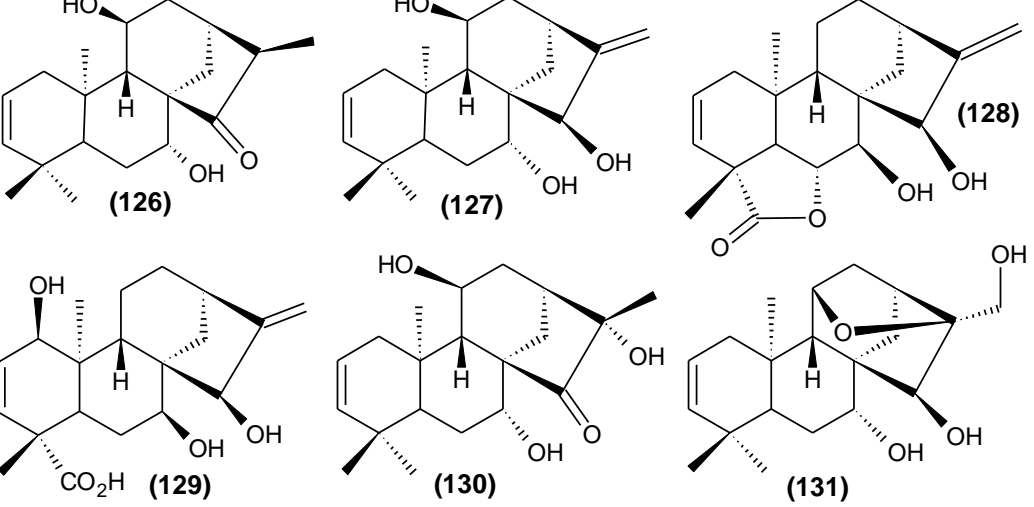
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(47)</p>	<p><i>Cephalosporium aphidicola</i></p>	 <p>(48) R = H (49) R = OH</p>  <p>(50)</p>	<p>OLIVEIRA; HANSON; TAKAHASHI, 1995</p>
 <p>(14)</p>	<p><i>Cunninghamella blakesleeana</i></p>	 <p>(15)</p>  <p>(51) R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = H (52) R<sub>1</sub> = CH<sub>2</sub>OH; R<sub>2</sub> = H (53) R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = OH</p>	<p>EL-EMARY; KUSANO; TAKEMOTO, 1976</p>
 <p>(54)</p>	<p><i>Curvularia lunata</i></p>	 <p>(55) (56) (57)</p>  <p>(58) (59)</p>	<p>GARCIA- GRANADOS <i>et al.</i>, 1990b</p>

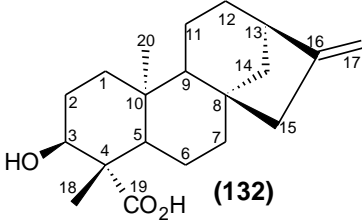
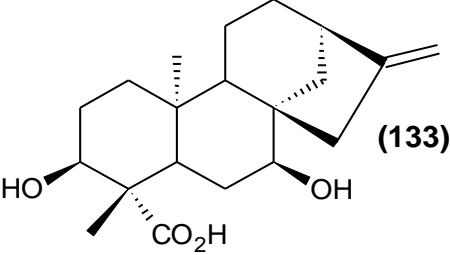
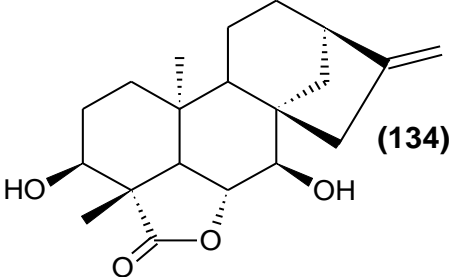
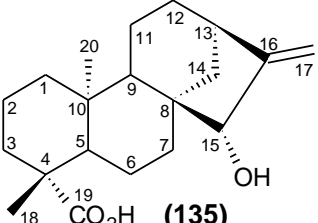
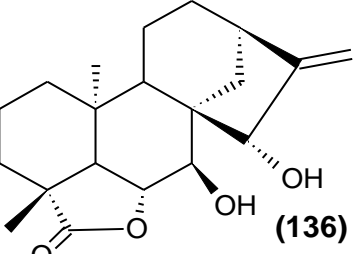
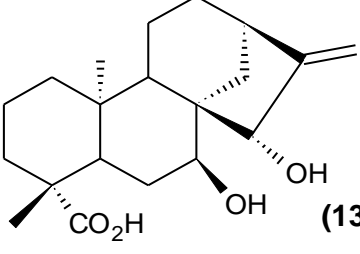
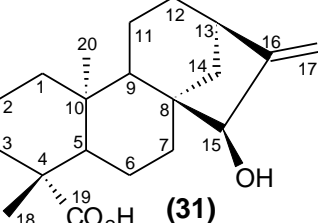
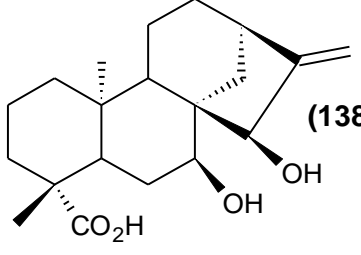
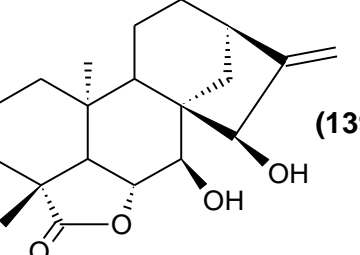
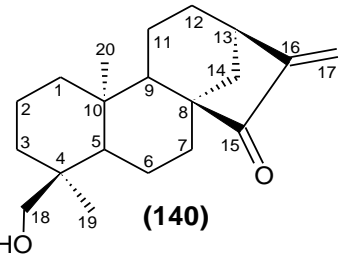
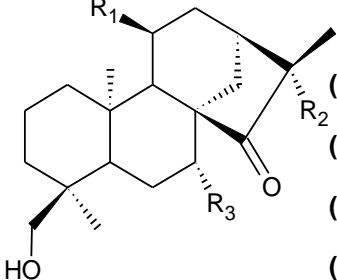
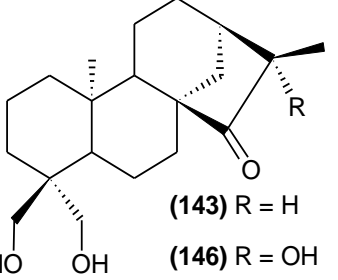
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(60)</p>	<p><i>Curvularia lunata</i></p>	 <p>(61) (62)</p>	<p>GARCIA-GRANADOS <i>et al.</i>, 1990b</p>
 <p>(63)</p>	<p><i>Curvularia lunata</i></p>	 <p>(64) (65)</p>	<p>GARCIA-GRANADOS <i>et al.</i>, 1990b</p>
 <p>(66)</p>	<p><i>Fusarium fujikuroi</i></p>	 <p>(67) (68) (69) (70) (71)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2013</p>

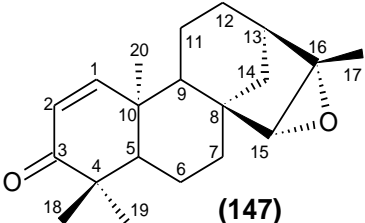
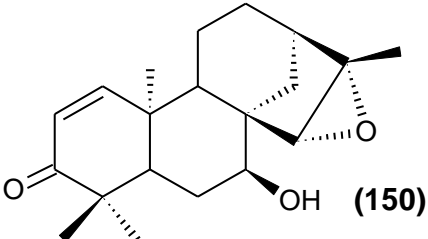
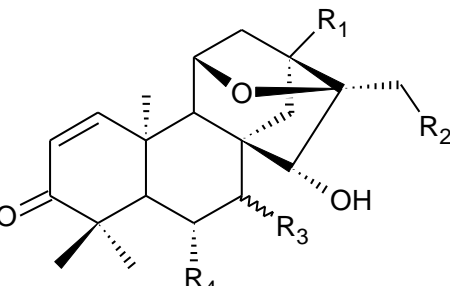
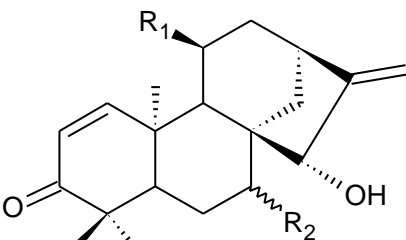
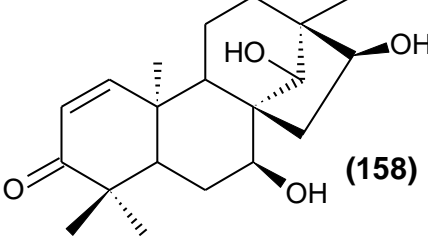
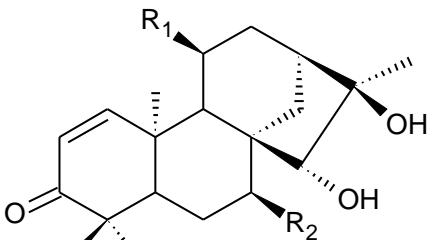
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(72)</p>	<p><i>Fusarium fujikuroi</i></p>	 <p>(73) R = H (74) R = H (76) R = OH (77) R = OH (80) (81) (75) R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = H (78) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH; R<sub>3</sub> = H (79) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = H; R<sub>3</sub> = OH</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2013</p>
 <p>(24)</p>	<p><i>Fusarium proliferatum</i></p>	 <p>(82)</p>	<p>ROCHA <i>et al.</i>, 2010</p>
 <p>(83)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(84) R = CH<sub>2</sub>OH (85) R = CHO (86) R = CO<sub>2</sub>H (87) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub> (88) R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub> (89) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = CO<sub>2</sub>H</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2012</p>

Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(90)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(91) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}; R_2 = \text{CH}_3</math>  (92) <math>R_1 = R_2 = \text{CH}_2\text{OH}</math>  (93) <math>R_1 = \text{CH}_2\text{OH}; R_2 = \text{CO}_2\text{H}</math>  (94) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}; R_2 = \text{CH}_2\text{OH}</math>  (95)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2012</p>
 <p>(96)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(97) (98)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2007</p>
 <p>(99)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(100)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2007</p>
 <p>(101)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(102)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 2007</p>

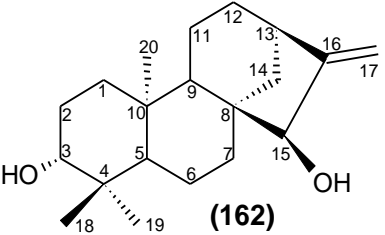
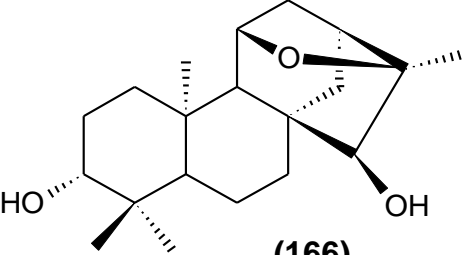
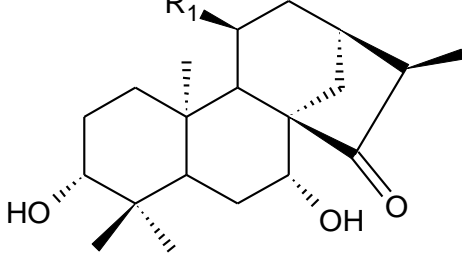
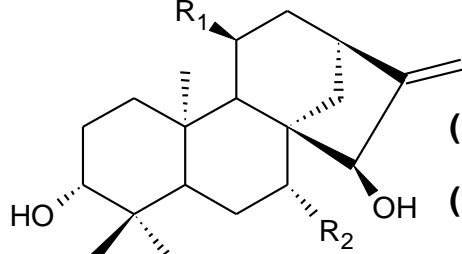
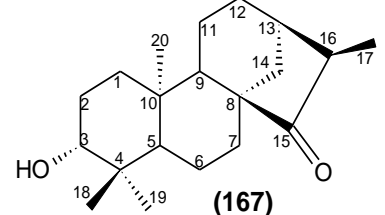
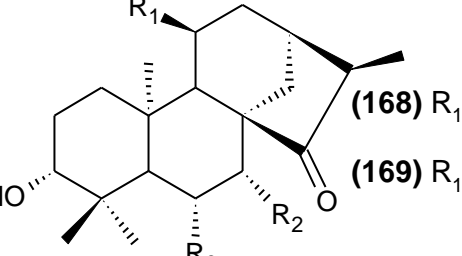
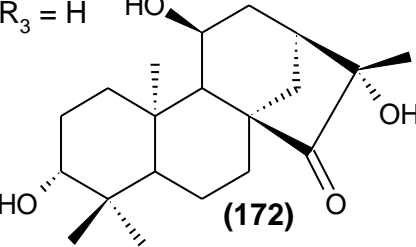
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p><b>(103)</b></p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p><b>(104)</b> R<sub>1</sub> = CH<sub>2</sub>OH; R<sub>2</sub> = H  <b>(105)</b> R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>; R<sub>2</sub> = OH  <b>(98)</b></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 2005</p>
 <p><b>(107)</b></p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p><b>(108)</b> R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = CH<sub>2</sub>OH  <b>(109)</b> R<sub>1</sub> = β-OH; R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>  <b>(110)</b> R<sub>1</sub> = α-OH; R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>  <b>(111)</b>  <b>(112)</b> R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH  <b>(113)</b>  <b>(114)</b> R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = H  <b>(115)</b></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 2005</p>

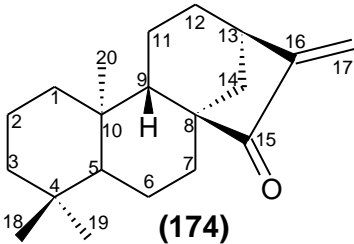
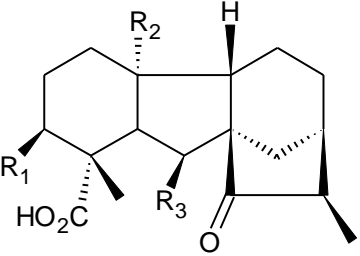
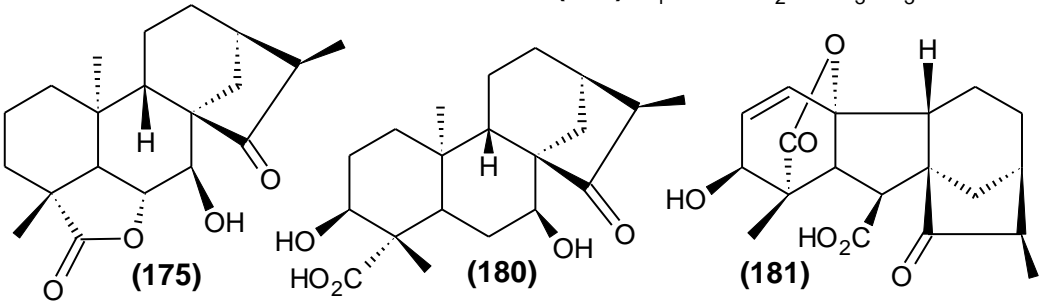
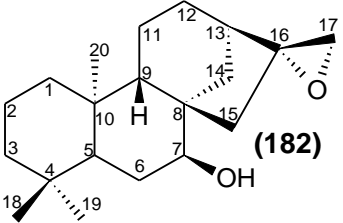
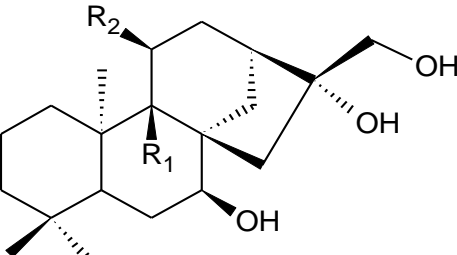
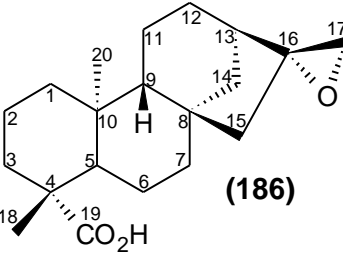
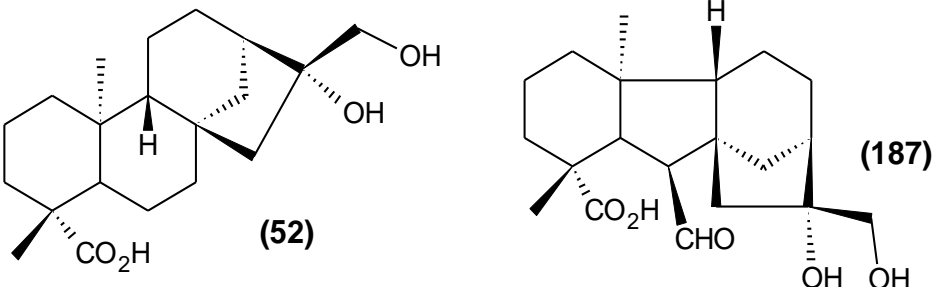
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(116)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(117) <math>R_1 = H</math>; <math>R_2 = OH</math>  (118) <math>R_1 = OH</math>; <math>R_2 = H</math></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 2005</p>
 <p>(119)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(120) <math>R = H</math>  (121) <math>R = OH</math>  (122) <math>R = H</math>  (123) <math>R = \beta - OH</math>  (124) <math>R = \alpha - OH</math></p>	<p>FRAGA; GUILLERMO; HERNANDEZ, 2004</p>
 <p>(125)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(126) (127) (128)  (129) (130) (131)</p>	<p>FRAGA; GUILLERMO; HERNANDEZ, 2004</p>

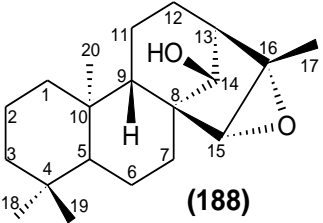
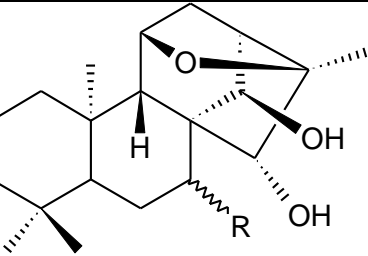
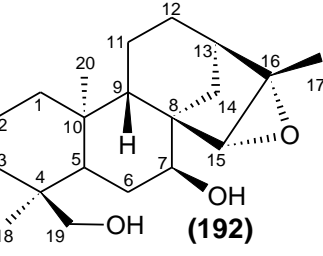
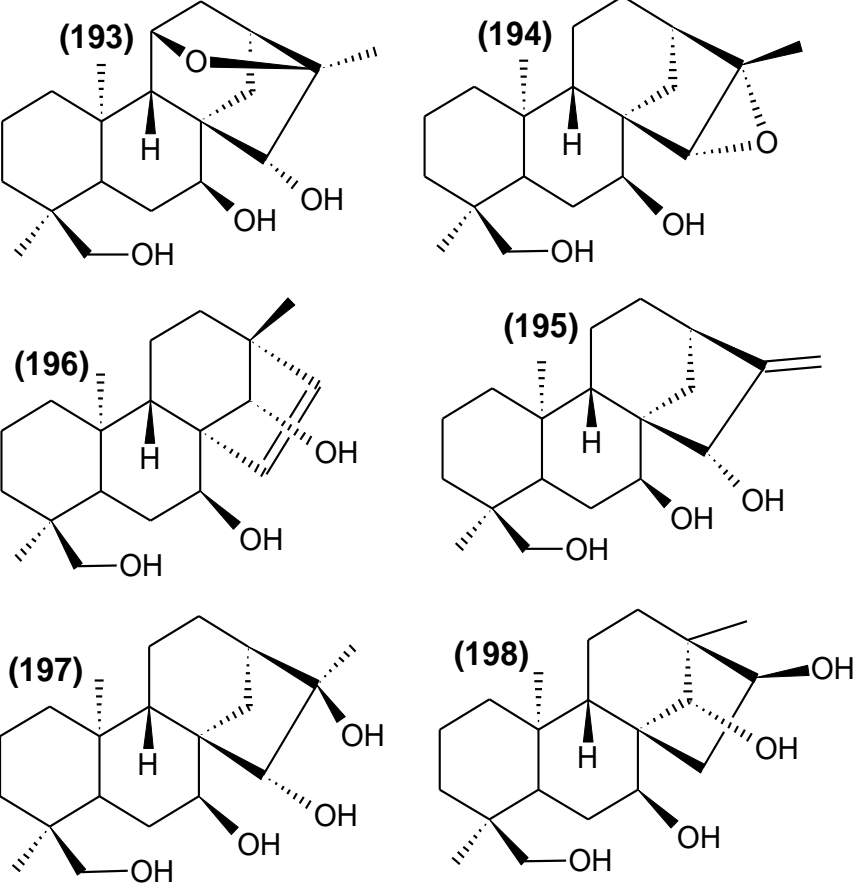
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados		Referência
 <p>(132)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(133)</p>	 <p>(134)</p>	BARRERO <i>et al.</i> , 1999
 <p>(135)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(136)</p>	 <p>(137)</p>	BARRERO <i>et al.</i> , 2001
 <p>(31)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(138)</p>	 <p>(139)</p>	BARRERO <i>et al.</i> , 2001
 <p>(140)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(141) <math>R_1 = R_2 = R_3 = H</math>  (142) <math>R_1 = OH; R_2 = OH</math>  (144) <math>R_1 = R_2 = H; R_3 = OH</math>  (145) <math>R_1 = R_2 = OH; R_3 = H</math></p>	 <p>(143) <math>R = H</math>  (146) <math>R = OH</math></p>	FRAGA <i>et al.</i> , 1996

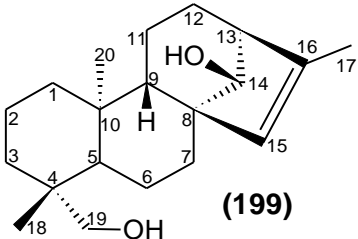
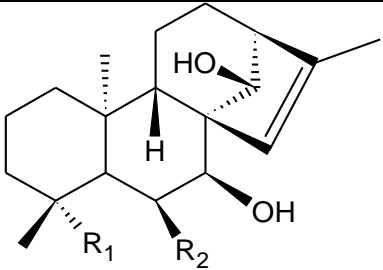
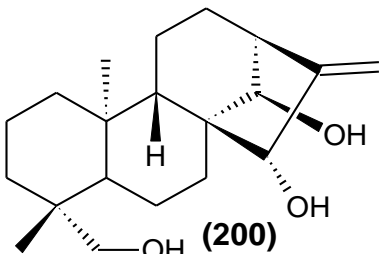
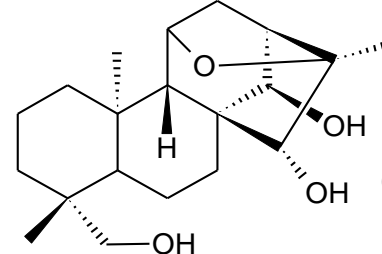
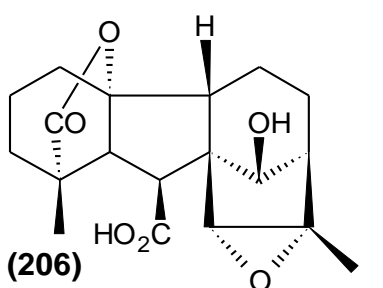
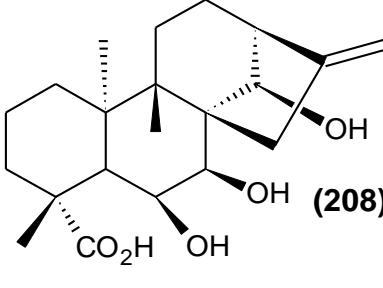
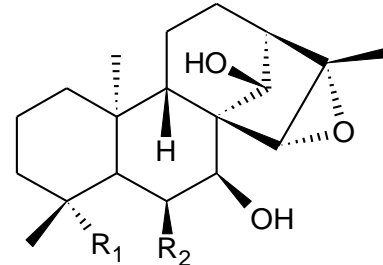
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados		Referência
 <p>(147)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(150)</p>  <p>(149) <math>R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H</math></p> <p>(153) <math>R_1 = R_2 = R_3 = H; R_4 = OH</math></p> <p>(155) <math>R_1 = R_2 = H; R_3 = \alpha - OH; R_4 = H</math></p> <p>(156) <math>R_1 = R_2 = H; R_3 = \beta - OH; R_4 = H</math></p> <p>(157) <math>R_1 = OH; R_2 = R_3 = H; R_4 = H</math></p> <p>(159) <math>R_1 = H; R_2 = OH; R_3 = H; R_4 = H</math></p>  <p>(148) <math>R_1 = H; R_2 = \beta - OH</math></p> <p>(151) <math>R_1 = H; R_2 = \alpha - OH</math></p> <p>(154) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math></p>	 <p>(158)</p>  <p>(152) <math>R_1 = R_2 = H</math></p> <p>(160) <math>R_1 = H; R_2 = OH</math></p> <p>(161) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1996</p>

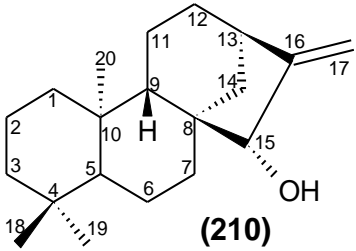
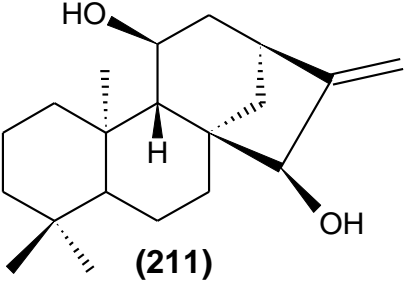
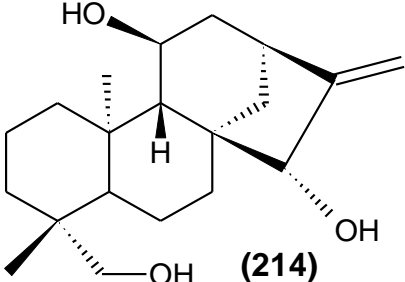
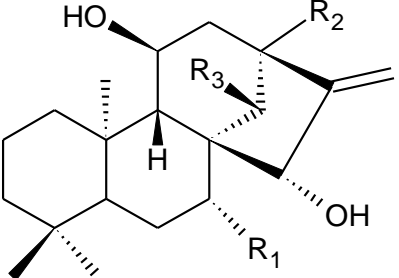
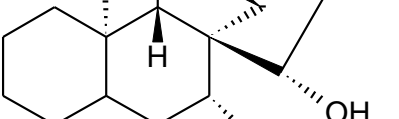
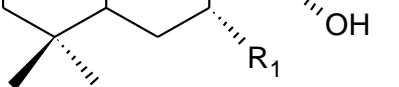
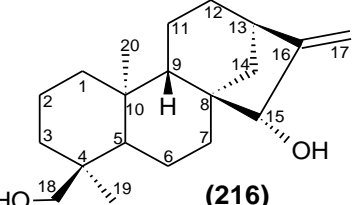
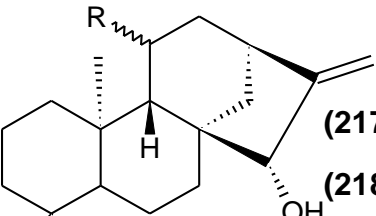
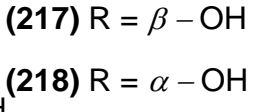
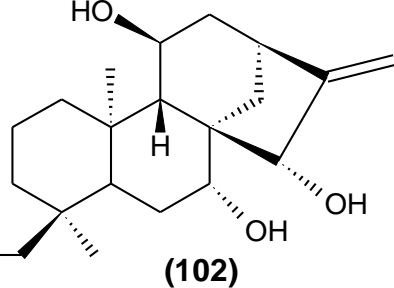
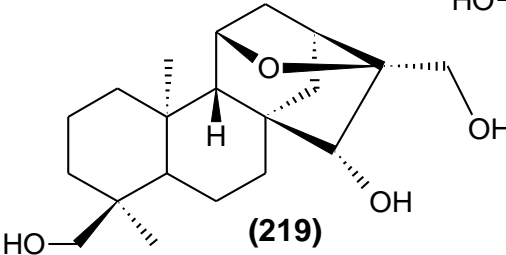


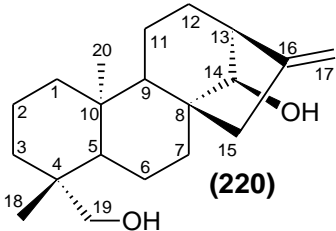
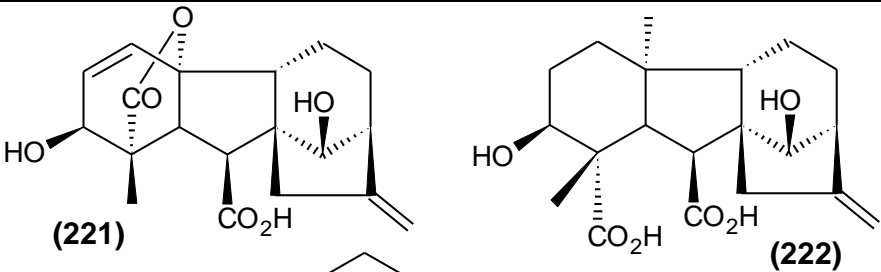
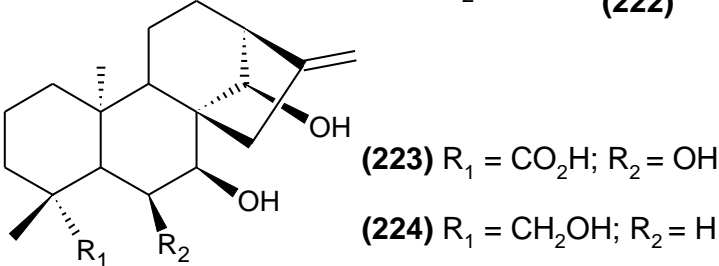
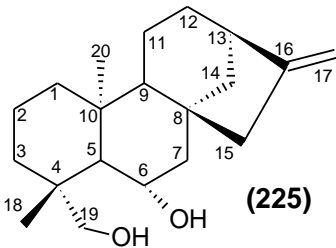
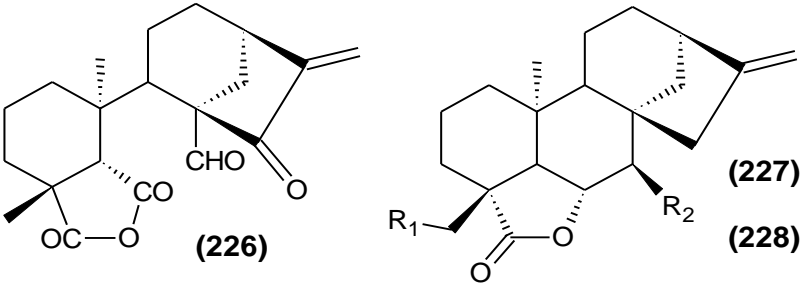
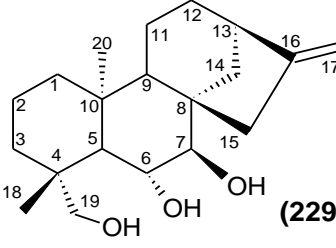
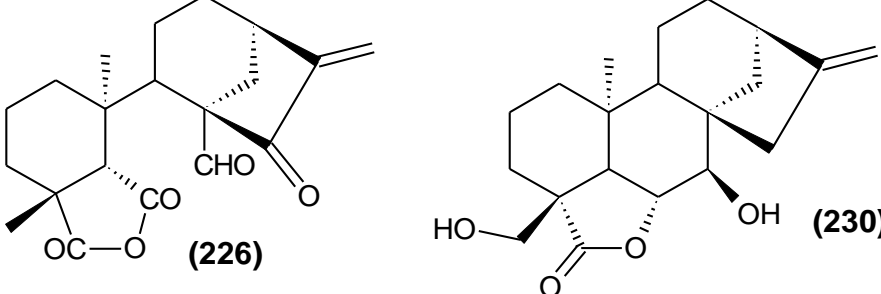
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(162)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(166)</p>  <p>(168) <math>R_1 = H</math> (173) <math>R_1 = OH</math></p>  <p>(163) <math>R_1 = H; R_2 = OH</math> (164) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math> (165) <math>R_1 = R_2 = OH</math></p>	<p>FRAGA; HERNANDEZ; GUILLERMO, 1996</p>
 <p>(167)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(168) <math>R_1 = R_3 = H; R_2 = OH</math> (169) <math>R_1 = OH; R_2 = R_3 = H</math> (170) <math>R_1 = R_3 = OH; R_2 = H</math> (171) <math>R_1 = H; R_2 = R_3 = OH</math> (173) <math>R_1 = R_2 = OH; R_3 = H</math></p>  <p>(172)</p>	<p>FRAGA; HERNANDEZ; GUILLERMO, 1996</p>

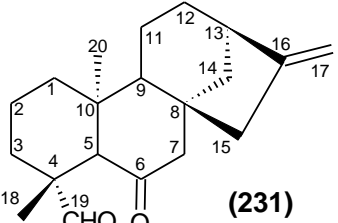
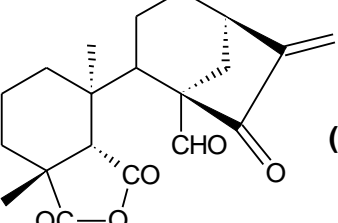
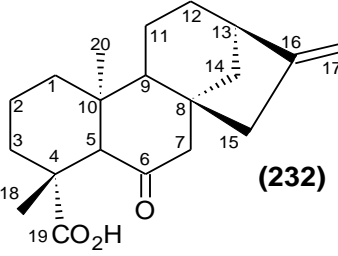
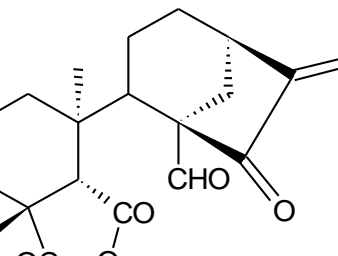
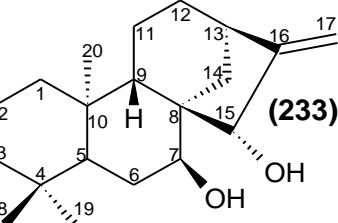
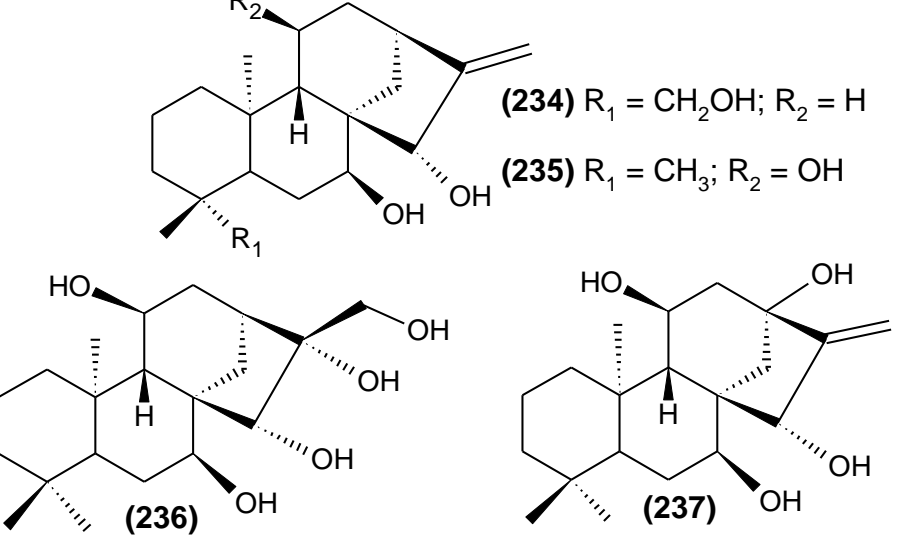
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(174)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(176) <math>R_1 = H; R_2 = CH_3; R_3 = CO_2H</math>  (177) <math>R_1 = H; R_2 = CO_2H; R_3 = CO_2H</math>  (178) <math>R_1 = H; R_2 = CHO; R_3 = CO_2H</math>  (179) <math>R_1 = OH; R_2 = CH_3; R_3 = CHO</math></p>  <p>(175) (180) (181)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1995</p>
 <p>(182)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(183) <math>R_1 = H; R_2 = H</math>  (184) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math>  (185) <math>R_1 = H; R_2 = OH</math></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1994</p>
 <p>(186)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(52) (187)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1994</p>

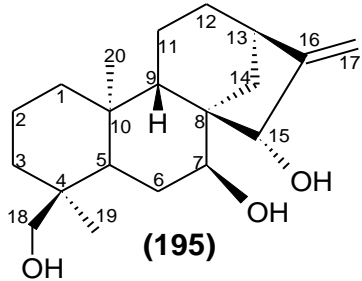
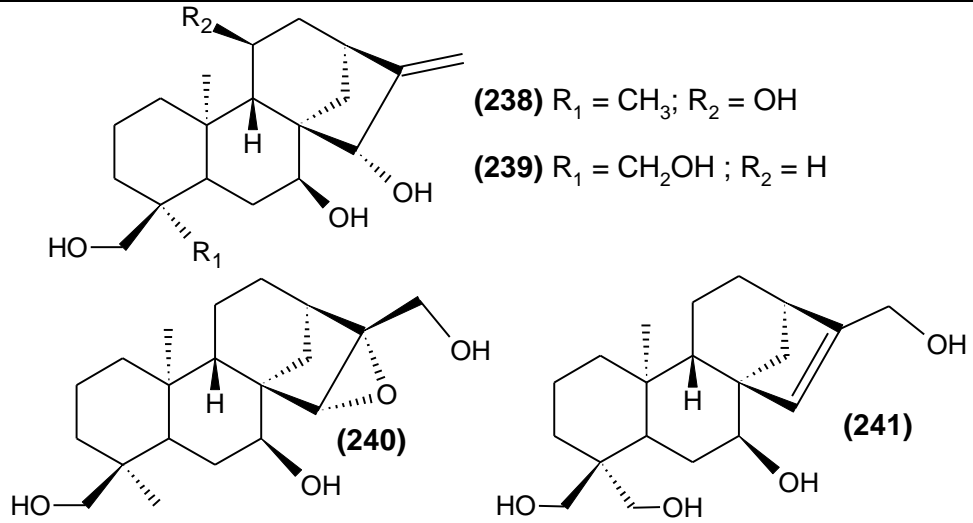
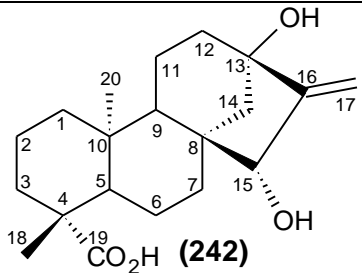
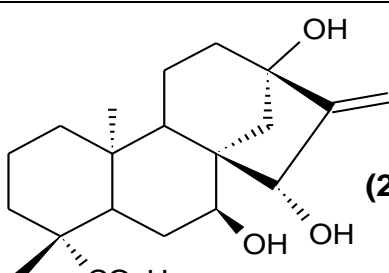
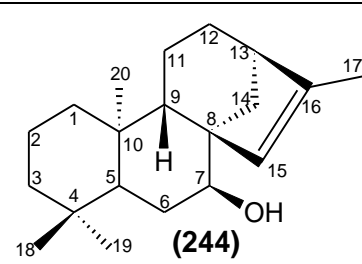
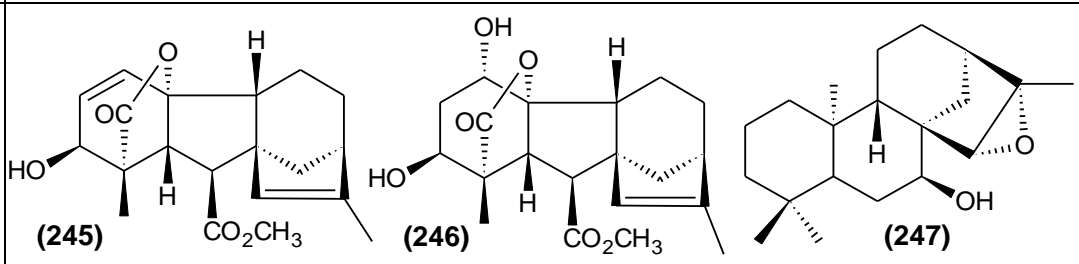
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(188)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(189) R = H  (190) R = <math>\beta</math>-OH  (191) R = <math>\alpha</math>-OH</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 1993b</p>
 <p>(192)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(193) (194)  (195) (196)  (197) (198)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 1993b</p>

Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(199)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: flex-start;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 10px;">  <div style="margin-left: 10px;"> <p>(203) <math>R_1 = \text{CH}_2\text{OH}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math></p> <p>(205) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math></p> <p>(207) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}</math>; <math>R_2 = \text{OH}</math></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-bottom: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p>(200)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(201)</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-bottom: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p>(206)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(208)</p> </div> </div> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 10px;"> <p>(202) <math>R_1 = \text{CH}_2\text{OH}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math></p> <p>(204) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math></p> <p>(209) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}</math>; <math>R_2 = \text{OH}</math></p> </div> </div> </div>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1993a</p>

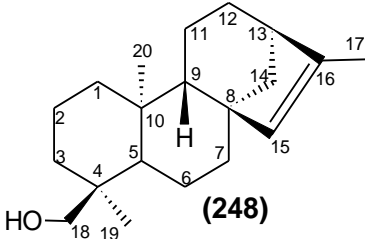
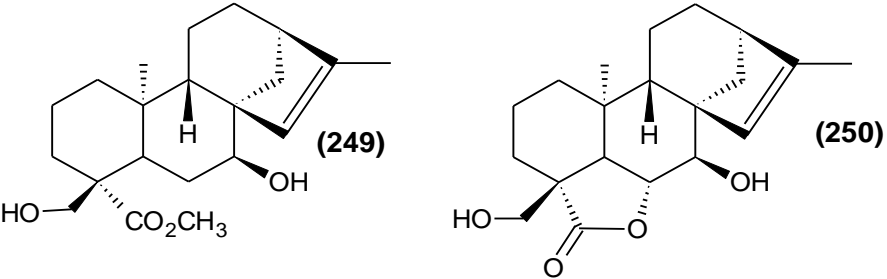
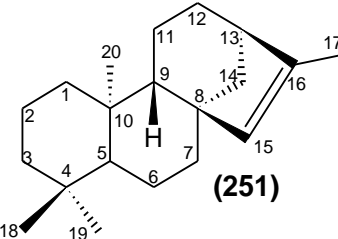
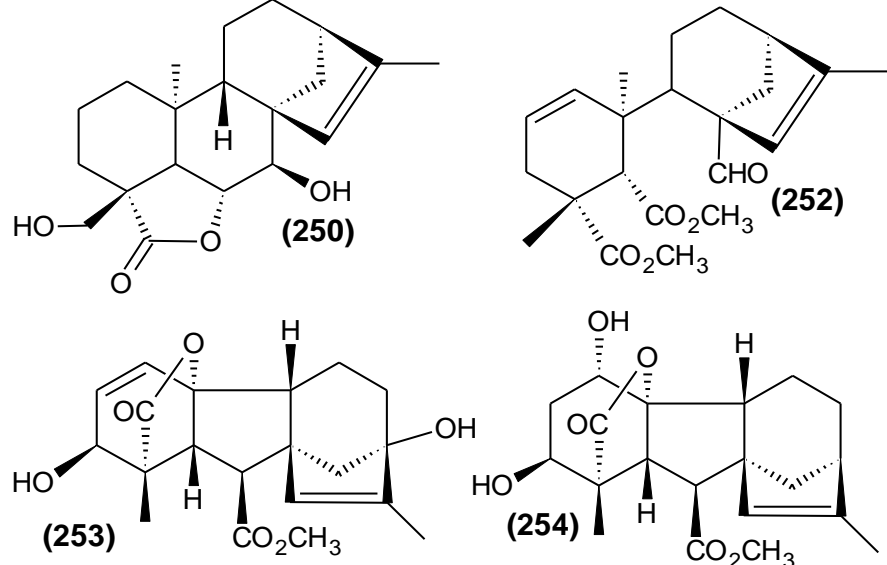
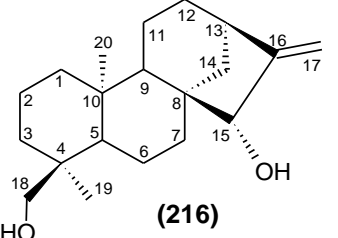
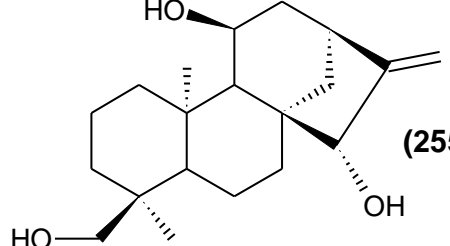
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(210)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>(211)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(214)</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <p>(212) <math>R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}; R_3 = \text{H}</math></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(213) <math>R = \text{H}; R_2 = \text{OH}; R_3 = \text{H}</math></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(215) <math>R = \text{H}; R_2 = \text{H}; R_3 = \text{OH}</math></p> </div> </div>	<p>FRAGA; HERNANDEZ; GONZALEZ, 1992</p>
 <p>(216)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>(217) <math>R = \beta\text{-OH}</math></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(218) <math>R = \alpha\text{-OH}</math></p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(102)</p> </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  <p>(219)</p> </div>	<p>FRAGA; HERNANDEZ; GONZALEZ, 1992</p>

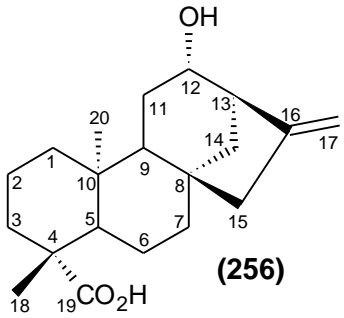
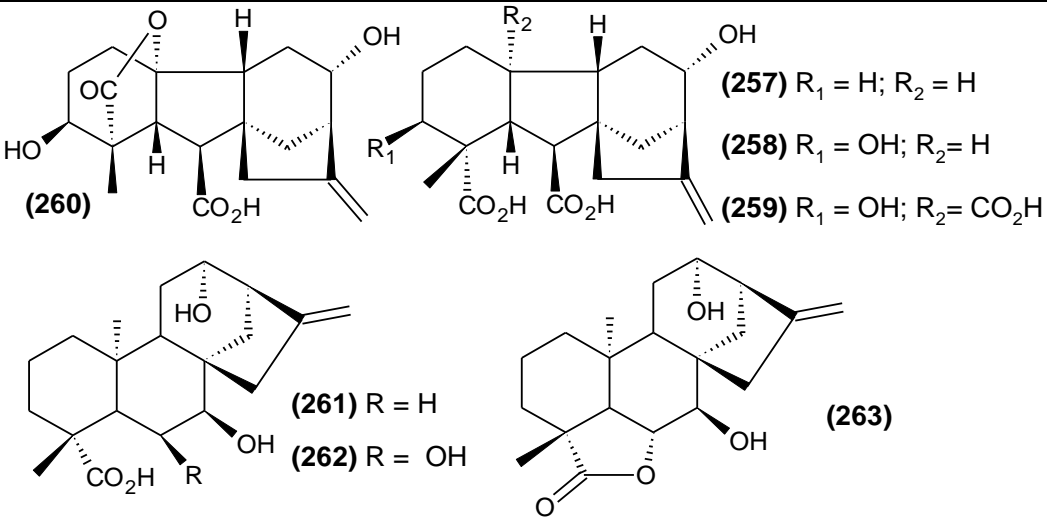
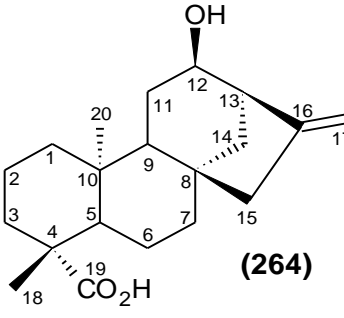
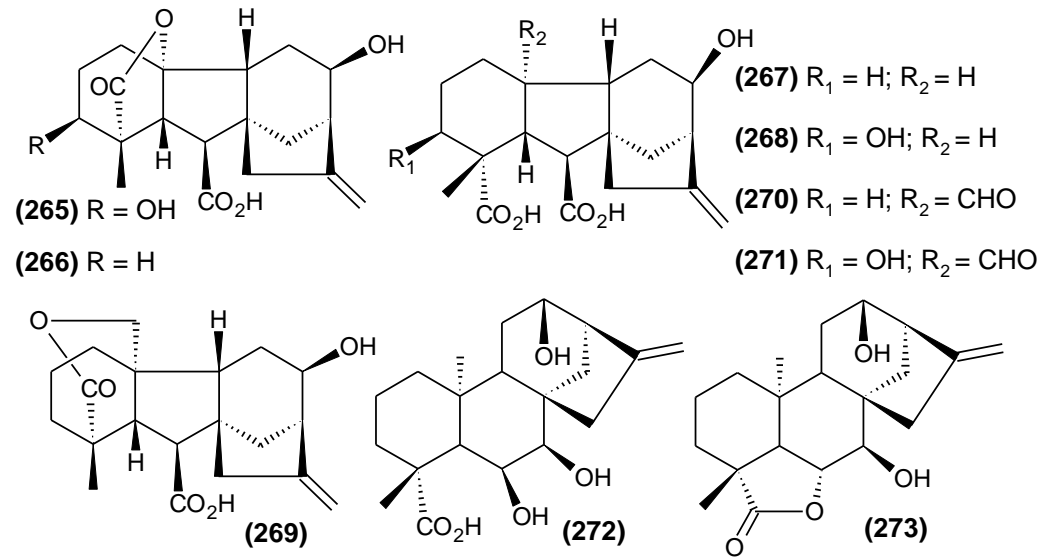
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(220)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(221) (222)</p>  <p>(223) <math>R_1 = \text{CO}_2\text{H}</math>; <math>R_2 = \text{OH}</math>  (224) <math>R_1 = \text{CH}_2\text{OH}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1992</p>
 <p>(225)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(226) (227) <math>R_1 = R_2 = \text{H}</math>  (228) <math>R_1 = \text{H}</math>; <math>R_2 = \text{OH}</math></p>	<p>ALAM; HANSON; SARAH,1991</p>
 <p>(229)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(226) (230)</p>	<p>ALAM; HANSON; SARAH,1991</p>

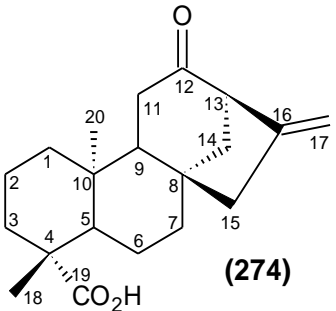
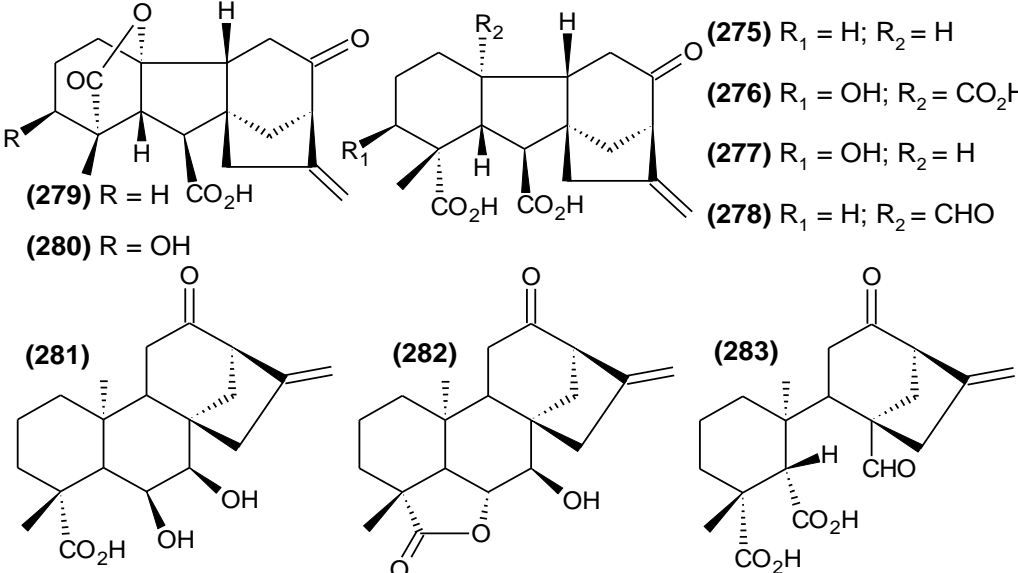
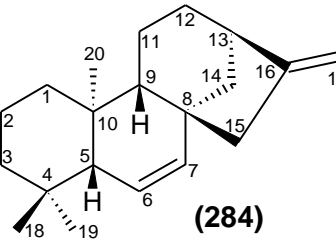
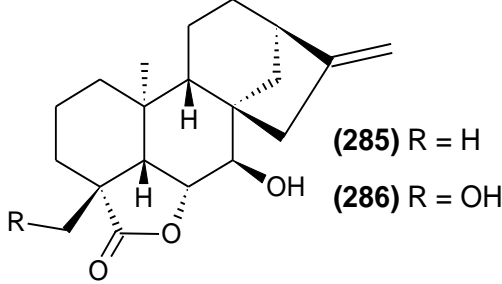
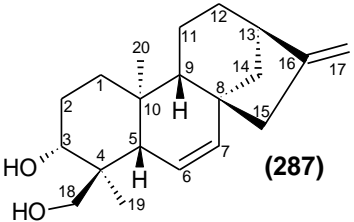
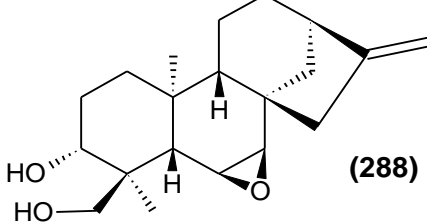
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(231)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(226)</p>	<p>ALAM; HANSON; SARAH,1991</p>
 <p>(232)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(226)</p>	<p>ALAM; HANSON; SARAH,1991</p>
 <p>(233)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(234) <math>R_1 = \text{CH}_2\text{OH}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math>  (235) <math>R_1 = \text{CH}_3</math>; <math>R_2 = \text{OH}</math>  (236)  (237)</p>	<p>FRAGA; HERNANDEZ; GONZALEZ, 1991</p>

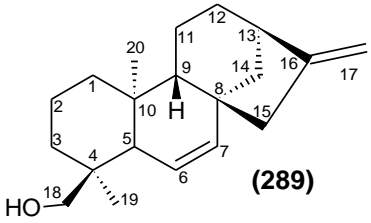
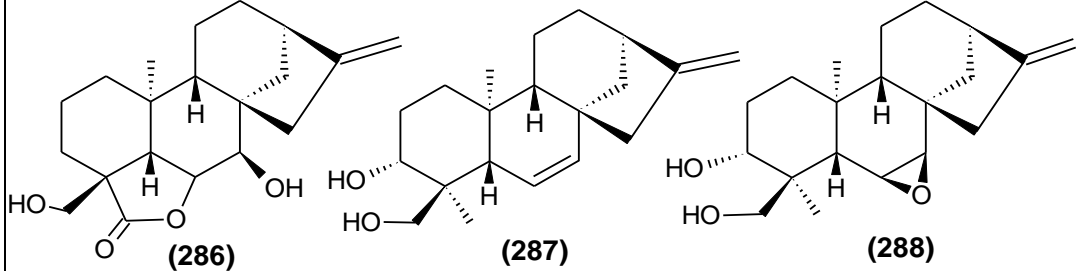
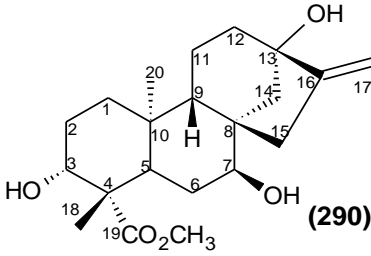
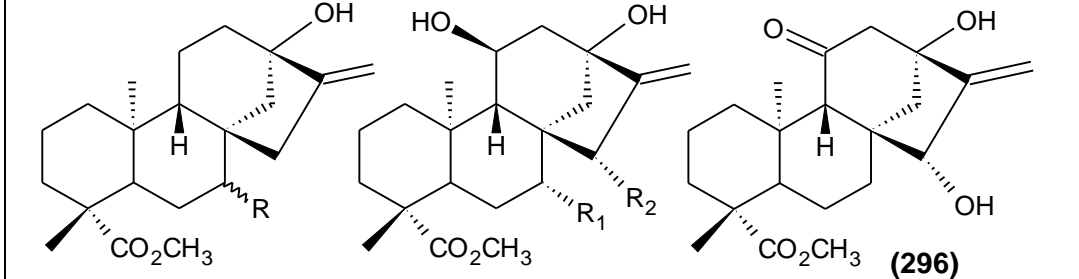
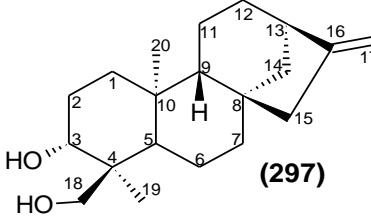
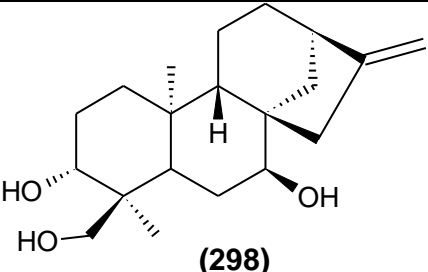
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(195)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(238) <math>R_1 = \text{CH}_3</math>; <math>R_2 = \text{OH}</math>  (239) <math>R_1 = \text{CH}_2\text{OH}</math>; <math>R_2 = \text{H}</math>  (240)  (241)</p>	<p>FRAGA;  HERNANDEZ;  GONZALEZ,  1991</p>
 <p>(242)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(243)</p>	<p>HANSON;  OLIVEIRA,  1990</p>
 <p>(244)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(245) <math>\text{CO}_2\text{CH}_3</math>  (246) <math>\text{CO}_2\text{CH}_3</math>  (247)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>;  1987</p>

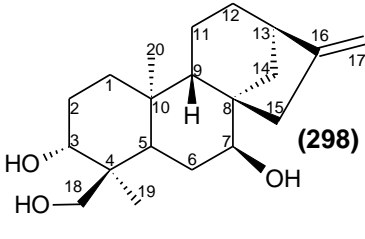
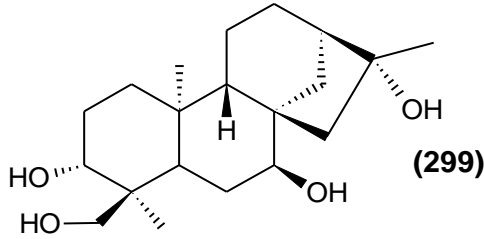
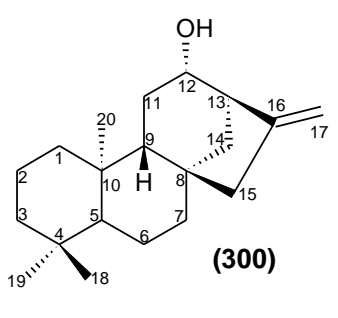
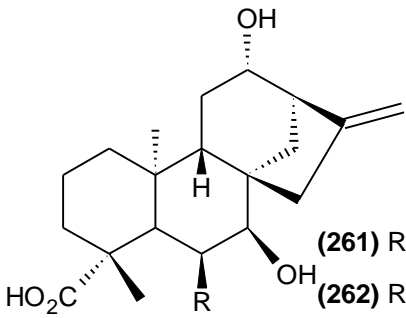
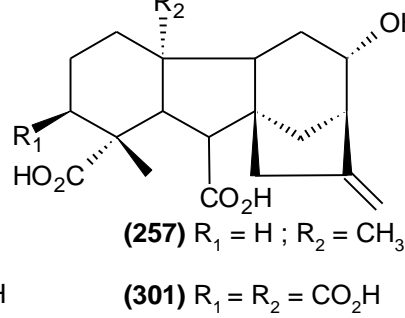
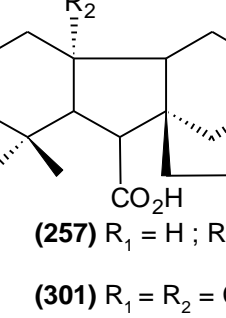
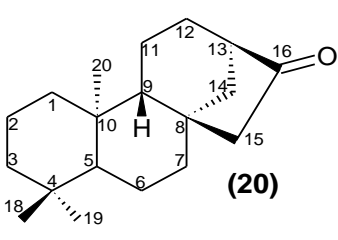
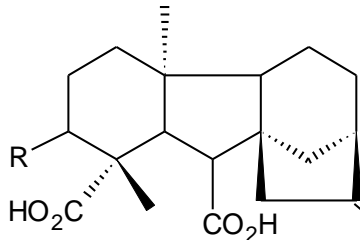
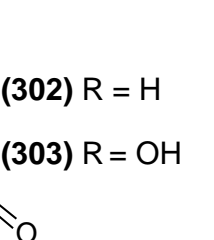
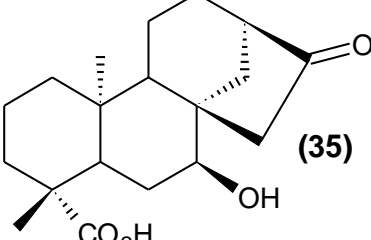
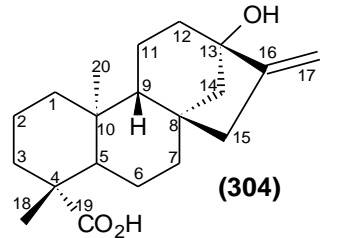
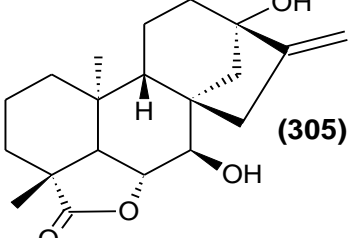


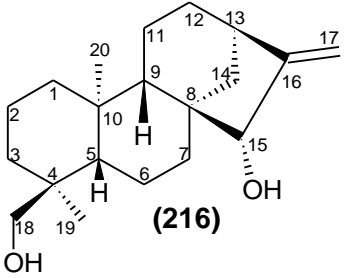
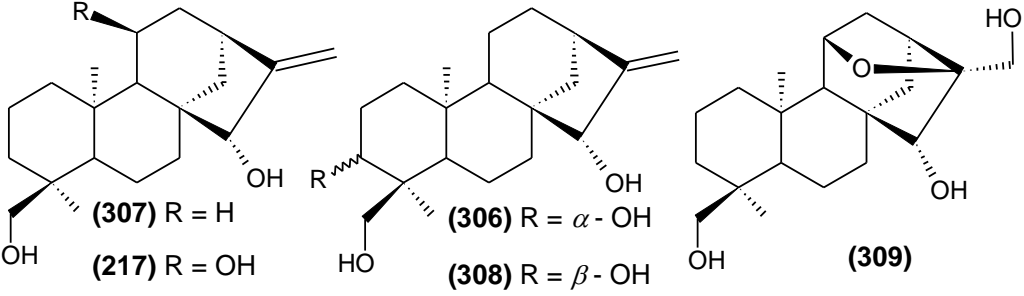
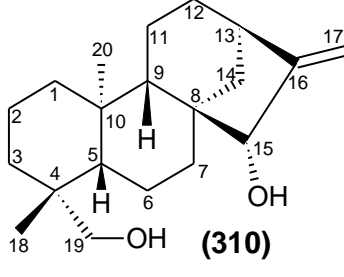
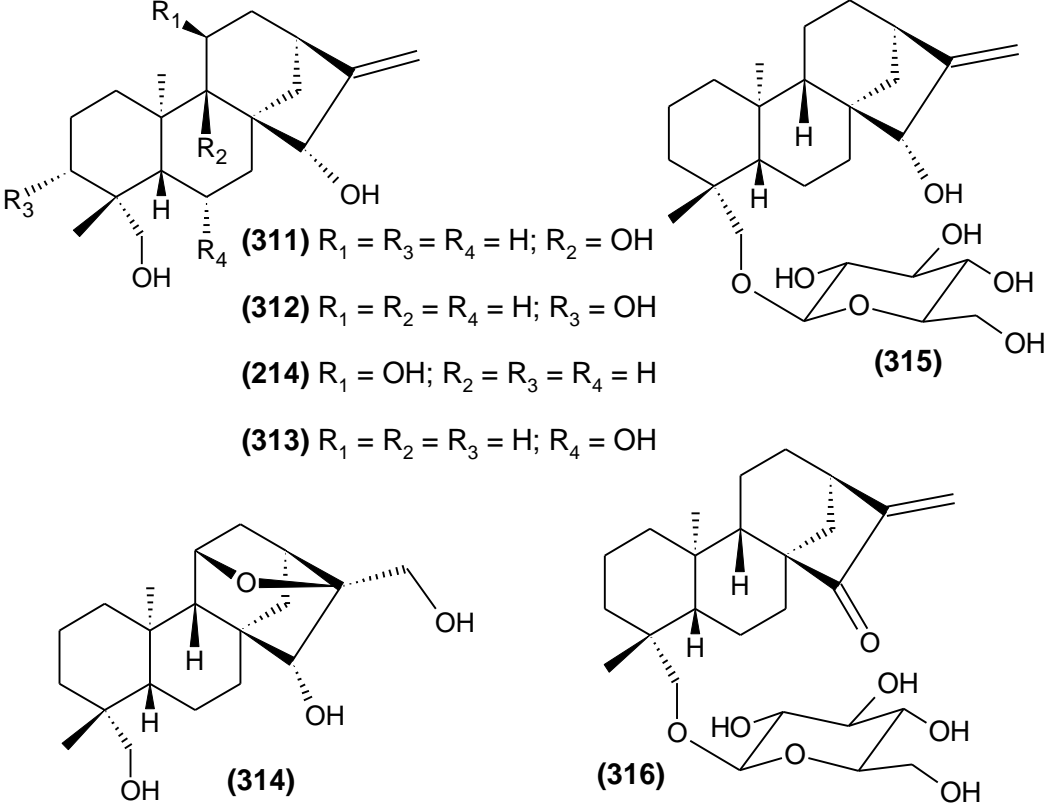
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(248)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(249) (250)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 1987</p>
 <p>(251)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(250) (252) (253) (254)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 1987</p>
 <p>(216)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(255)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1986</p>

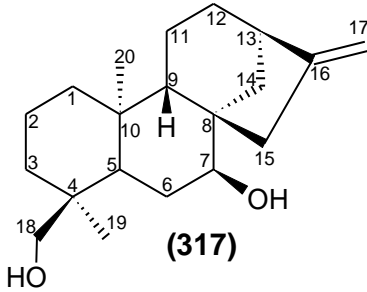
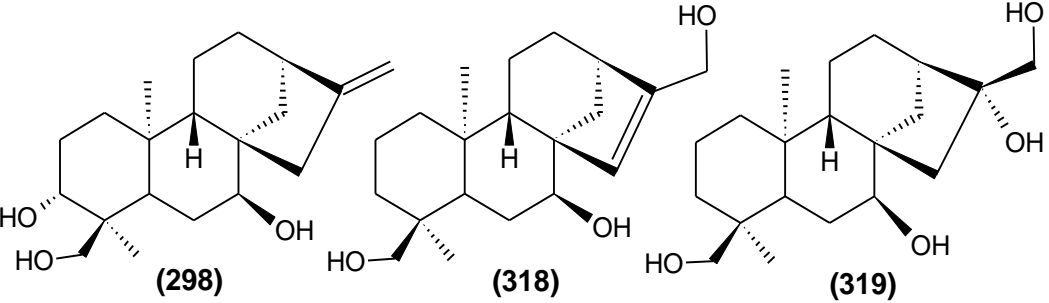
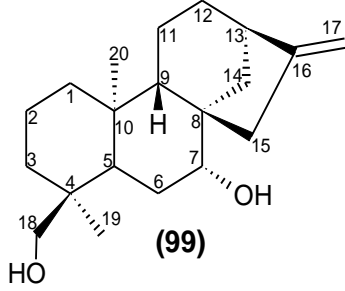
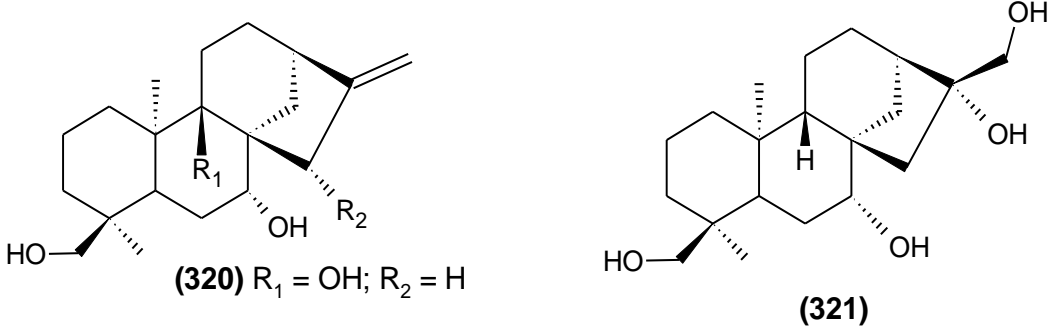
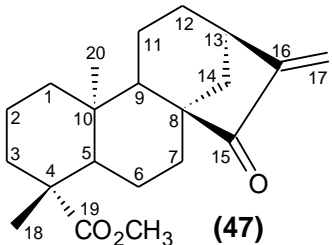
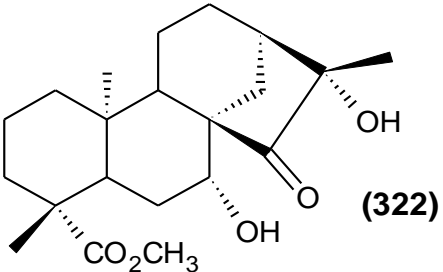
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(256)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(260) <math>R_1 = H; R_2 = H</math>  (257) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math>  (258) <math>R_1 = OH; R_2 = CO_2H</math>  (259) <math>R_1 = OH; R_2 = CO_2H</math>  (261) <math>R = H</math>  (262) <math>R = OH</math>  (263)</p>	<p>GASKIN <i>et al.</i>, 1984</p>
 <p>(264)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(265) <math>R = OH; R_2 = H</math>  (266) <math>R = H</math>  (267) <math>R_1 = H; R_2 = H</math>  (268) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math>  (270) <math>R_1 = H; R_2 = CHO</math>  (271) <math>R_1 = OH; R_2 = CHO</math>  (269)  (272)  (273)</p>	<p>GASKIN <i>et al.</i>, 1984</p>

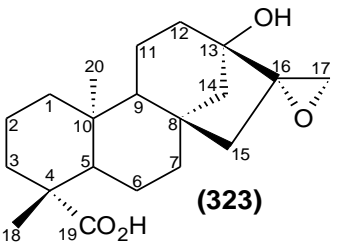
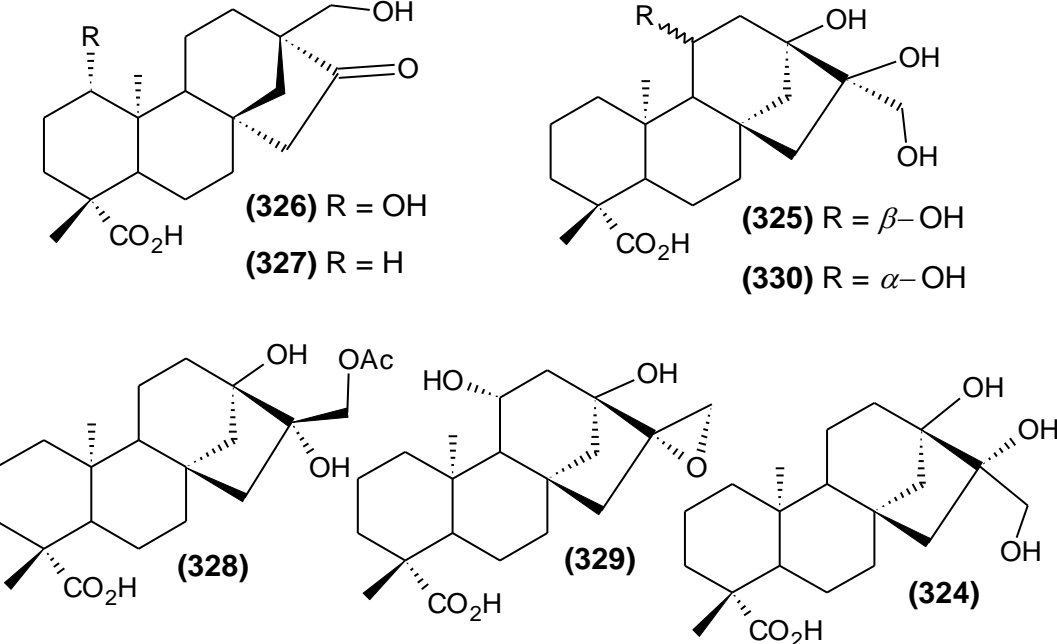
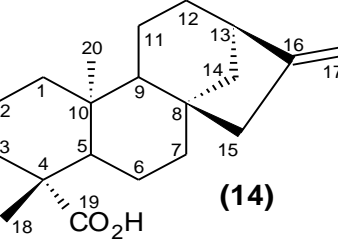
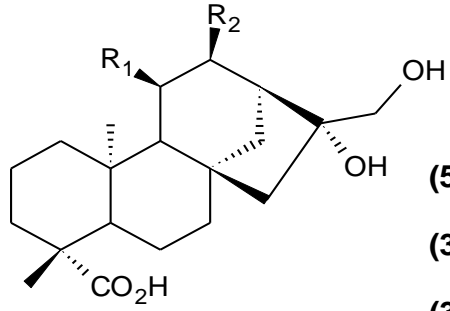
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(274)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(275) <math>R_1 = H; R_2 = H</math>  (276) <math>R_1 = OH; R_2 = CO_2H</math>  (277) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math>  (278) <math>R_1 = H; R_2 = CHO</math>  (279) <math>R = H; CO_2H</math>  (280) <math>R = OH</math>  (281) <math>CO_2H, OH</math>  (282) <math>CO_2H, OH</math>  (283) <math>CHO, CO_2H</math></p>	<p>GASKIN <i>et al.</i>, 1984</p>
 <p>(284)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(285) <math>R = H</math>  (286) <math>R = OH</math></p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 1983</p>
 <p>(287)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(288)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 1983</p>

Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(289)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(286) (287) (288)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1983</p>
 <p>(290)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(291) R = <math>\alpha</math>-OH  (292) R = <math>\beta</math>-OH  (293) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = H  (294) R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = H  (295) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH  (296)</p>	<p>SHIGEMATSU; MUROFUSHI; TAKAHASHI, 1982</p>
 <p>(297)</p>	<p><i>Gibberella fujikuroi</i></p>	 <p>(298)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>, 1981</p>

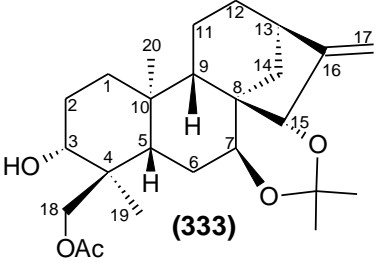
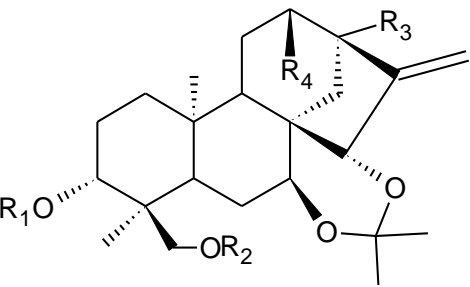
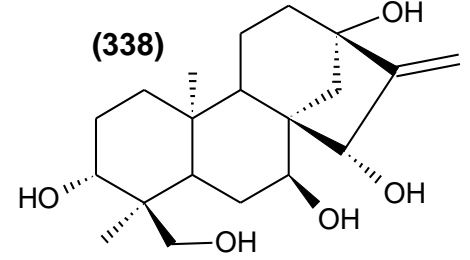
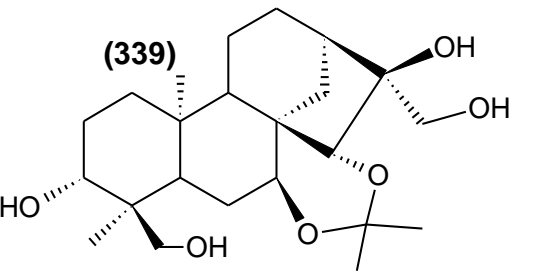
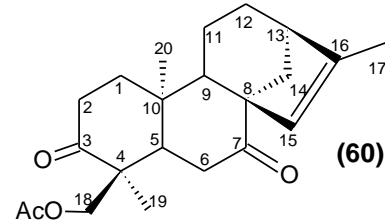
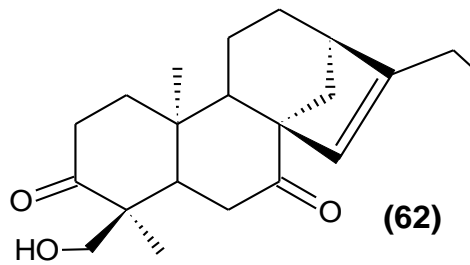
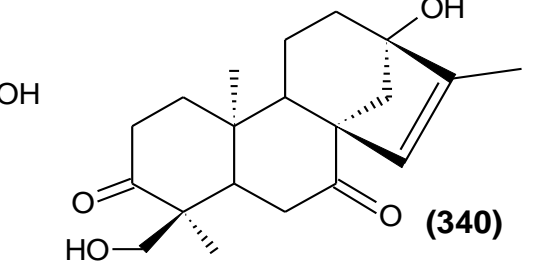
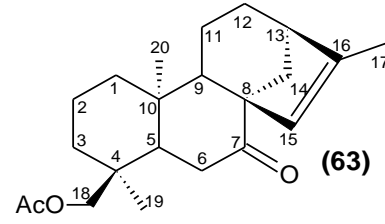
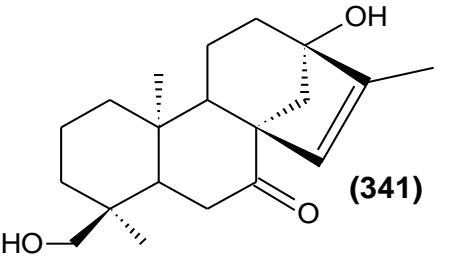
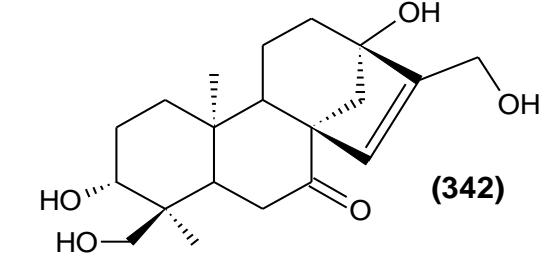
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(298)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(299)</p>	FRAGA <i>et al.</i> , 1981
 <p>(300)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(261) R = H ; (262) R = OH</p>  <p>(257) R<sub>1</sub> = H ; R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub></p>  <p>(301) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = CO<sub>2</sub>H</p>	WADA; YAMASHITA, 1980
 <p>(20)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(302) R = H</p>  <p>(303) R = OH</p>  <p>(35)</p>	WADA; IMAI; SHIBATA, 1970
 <p>(304)</p>	<i>Gibberella fujikuroi</i>	 <p>(305)</p>	HANSON; WHITE, 1968

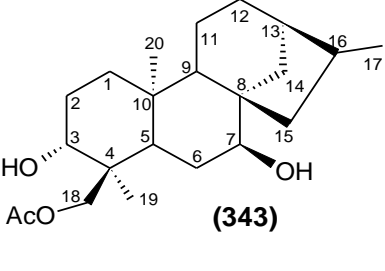
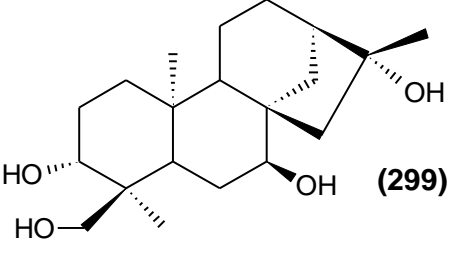
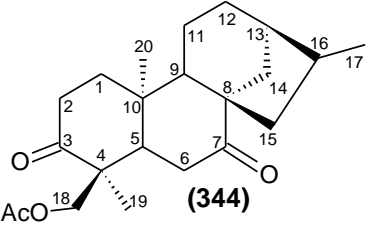
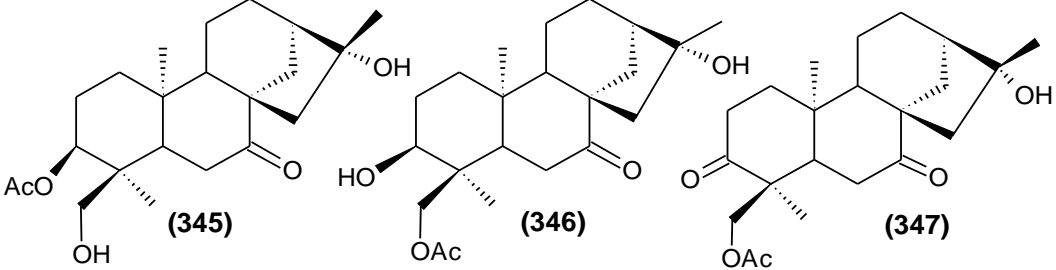
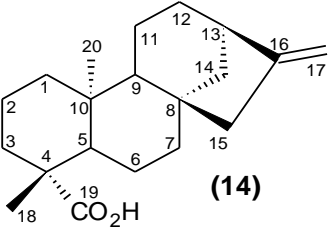
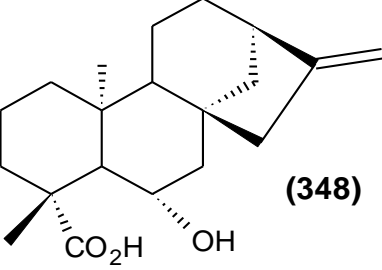
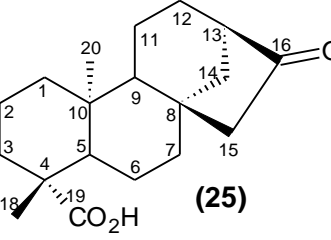
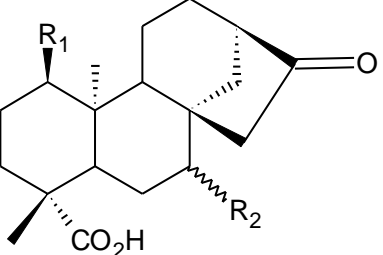
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(216)</p>	<p><i>Mucor plumbeus</i></p>	 <p>(217) R = OH  (218) R = H  (219) R = <math>\alpha</math>-OH  (220) R = <math>\beta</math>-OH  (221)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 2010</p>
 <p>(310)</p>	<p><i>Mucor plumbeus</i></p>	 <p>(311) R<sub>1</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH  (312) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>4</sub> = H; R<sub>3</sub> = OH  (313) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = H; R<sub>4</sub> = OH  (314)  (315)  (316)</p>	<p>FRAGA <i>et al.</i>; 2010</p>

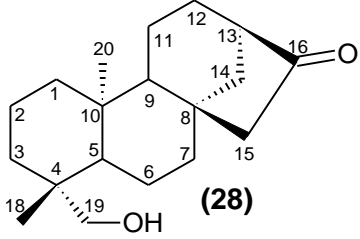
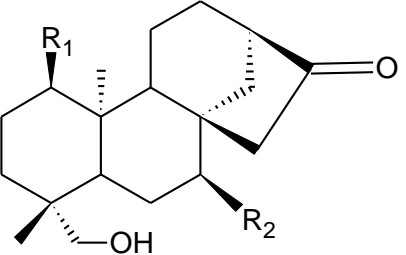
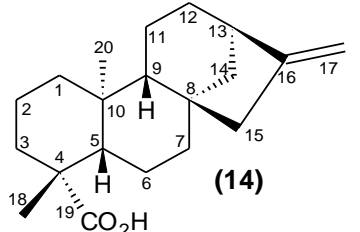
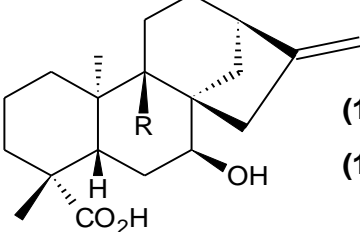
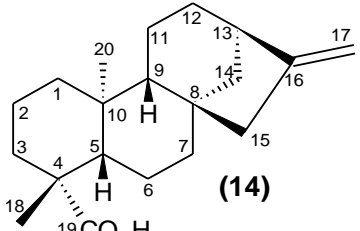
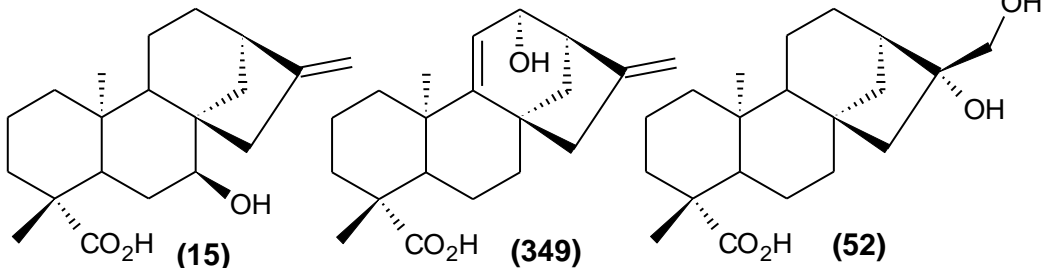
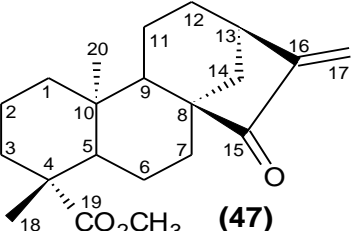
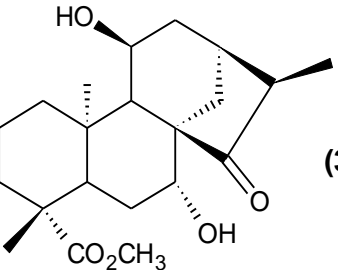
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(317)</p>	<p><i>Mucor plumbeus</i></p>	 <p>(298) (318) (319)</p>	<p>FRAGA; ALVAREZ; SUAREZ, 2003</p>
 <p>(99)</p>	<p><i>Mucor plumbeus</i></p>	 <p>(320) <math>R_1 = OH; R_2 = H</math> (101) <math>R_1 = H; R_2 = OH</math> (321)</p>	<p>FRAGA; ALVAREZ; SUAREZ, 2003</p>
 <p>(47)</p>	<p><i>Mucor plumbeus</i></p>	 <p>(322)</p>	<p>BOAVENTURA <i>et al.</i>, 1995</p>

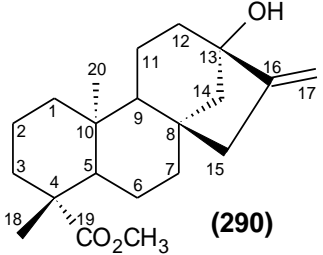
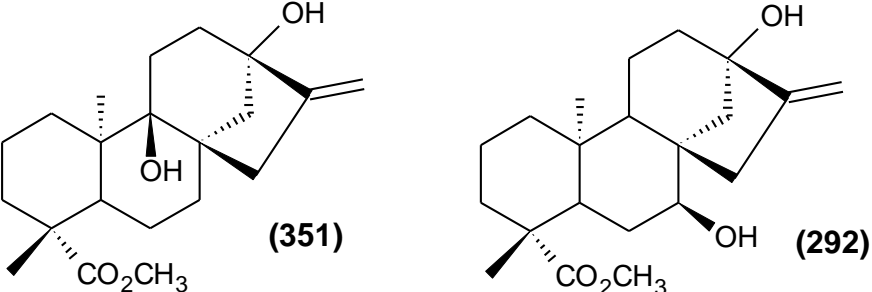
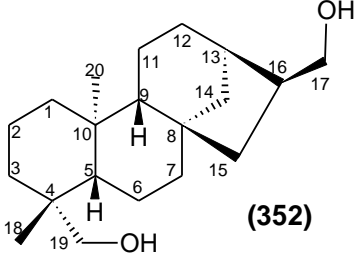
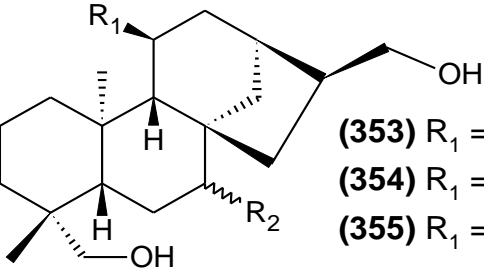
Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(323)</p>	<p><i>Mucor recurvatus</i></p>	 <p>(326) R = OH (327) R = H</p> <p>(325) R = <math>\beta</math>-OH (330) R = <math>\alpha</math>-OH</p> <p>(328) (329) (324)</p>	<p>YANG <i>et al.</i>, 2007</p>
 <p>(14)</p>	<p><i>Psilocybe cubensis</i></p>	 <p>(52) R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H (331) R<sub>1</sub> = H; R<sub>2</sub> = OH (332) R<sub>1</sub> = OH; R<sub>2</sub> = H</p>	<p>PECHWANG <i>et al.</i>, 2010</p>



Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados		Referência
 <p>(333)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(334) <math>R_1 = H; R_2 = Ac; R_3 = OH; R_4 = H</math>  (335) <math>R_1 = Ac; R_2 = H; R_3 = OH; R_4 = H</math>  (336) <math>R_1 = H; R_2 = H; R_3 = H; R_4 = H</math>  (337) <math>R_1 = H; R_2 = H; R_3 = H; R_4 = OH</math></p>  <p>(338)</p>	 <p>(339)</p>	GARCIA-GRANADOS <i>et al.</i> , 1990a
 <p>(60)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(62)</p>	 <p>(340)</p>	GARCIA-GRANADOS <i>et al.</i> , 1990a
 <p>(63)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(341)</p>	 <p>(342)</p>	GARCIA-GRANADOS <i>et al.</i> , 1990a

Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(343)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(299)</p>	ARIAS <i>et al.</i> , 1984
 <p>(344)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(345) (346) (347)</p>	ARIAS <i>et al.</i> , 1984
 <p>(14)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(348)</p>	GHISALBERTI <i>et al.</i> , 1977
 <p>(25)</p>	<i>Rhizopus nigricans</i>	 <p>(33) <math>R_1 = H; R_2 = \alpha-OH</math>  (34) <math>R_1 = \alpha-OH; R_2 = H</math>  (35) <math>R_1 = H; R_2 = \beta-OH</math></p>	GHISALBERTI <i>et al.</i> , 1977

Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(28)</p>	<p><i>Rhizopus nigricans</i></p>	 <p>(29) <math>R_1 = H</math>; <math>R_2 = OH</math>  (36) <math>R_1 = OH</math>; <math>R_2 = H</math></p>	<p>GHISALBERTI  <i>et al.</i>, 1977</p>
 <p>(14)</p>	<p><i>Rhizopus oligosporus</i></p>	 <p>(15) <math>R = H</math>  (16) <math>R = OH</math></p>	<p>TAVEEPANICH  <i>et al.</i>, 2010</p>
 <p>(14)</p>	<p><i>Rhizopus stolonifer</i></p>	 <p>(15) (349) (52)</p>	<p>SILVA <i>et al.</i>,  1999</p>
 <p>(47)</p>	<p><i>Rhizopus stolonifer</i></p>	 <p>(350)</p>	<p>BOAVENTURA  <i>et al.</i>, 1995</p>

Diterpeno	Fungo	Produtos Biotransformados	Referência
 <p>(290)</p>	<p><i>Rhizopus stolonifer</i></p>	 <p>(351) (292)</p>	<p>HANSON; OLIVEIRA, 1990</p>
 <p>(352)</p>	<p><i>Verticillium lecanii</i></p>	 <p>(353) <math>R_1 = \text{OH}; R_2 = \text{H}</math>  (354) <math>R_1 = \text{H}; R_2 = \beta\text{-OH}</math>  (355) <math>R_1 = \text{H}; R_2 = \alpha\text{-OH}</math></p>	<p>VIEIRA; TAKAHASHI; BOAVENTURA, 2002</p>

**Tabela 02** - Diterpenos clerodanos e cauranos biotransformados e seus produtos de biotransformação

<b>Diterpenos</b>	<b>Produtos</b>
(1) 17-hidroxi-kolavenol	(2) 17,18-dihidroxi-kolavenol (3) 3 $\alpha$ ,4 $\beta$ ,17-trihidroxi-kolavenol (4) 13,17,18-trihidroxicleroda-14,15-eno (5) 17,18-diacetoxi-13-hidroxicleroda-14,15-eno
(6) clerodano lactona	(7) 15,16-dihidroxiclerodano lactona (8) 2 $\alpha$ -hidroxiclerodano lactona
(9) 15,16-epoxi-6-hidroxicleroda-3,13(16),14-trien-18-oato de metila	(10) 6-hidroxicleroda-3,13-dien-15,16-epoxi-16-oxo-18-oato de metila (11) 6-hidroxicleroda-3,13-dien-15,16-epoxi-15-oxo-18-oato de metila (12) ácido 6,15-dihidroxicleroda-3,13-dien-18-metoxi-18-oxo-16-oico (13) ácido 6,15-dihidroxicleroda-3,13-dien-18-metoxi-18-oxo-15-oico
(14) ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico	(15) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -hidroxicaur-16-en-19-oico (16) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,9 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico (17) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,11 $\alpha$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico (18) ácido <i>ent</i> -1 $\alpha$ ,7 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico (19) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,13-dihidroxicaur-16-en-19-oico
(14) ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico	(17) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,11 $\alpha$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico (18) ácido <i>ent</i> -1 $\alpha$ ,7 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico
(20) (-)-17-nor-cauran-16-ona	(21) 3 $\alpha$ -hidroxi-17-nor-cauran-16-ona
(22) (+)-17-nor-filocladan-16-ona	(23) 3 $\beta$ -hidroxi-17-nor-filocladan-16-ona (24) 17-nor-filocladan-3,16-diona
(25) ácido <i>ent</i> -16-oxo-17-nor-cauran-19-oico	(26) ácido <i>ent</i> -13-hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico (27) ácido <i>ent</i> -13,16 $\alpha$ -dihidroxi-17-nor-cauran-19-oico
(28) <i>ent</i> -19-hidroxi-16-oxo-17-nor-caurano	(29) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,19-dihidroxi-16-oxo-17-nor-caurano (30) <i>ent</i> -16 $\beta$ ,19-dihidroxi-17-nor-caurano
(14) ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico	(15) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -hidroxicaur-16-en-19-oico (31) ácido <i>ent</i> -15 $\beta$ -hidroxicaur-16-en-19-oico (32) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico
(24) ácido <i>ent</i> -16-oxo-17-nor-cauran-19-oico	(33) ácido <i>ent</i> -7 $\alpha$ -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico (34) ácido <i>ent</i> -1 $\beta$ -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico (35) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico
(27) <i>ent</i> -19-hidroxi-16-oxo-17-nor-caurano	(29) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,19-dihidroxi-16-oxo-17-nor-caurano (36) <i>ent</i> -1 $\beta$ ,19-dihidroxi-16-oxo-17-nor-caurano
(37) <i>ent</i> -caur-16-en-19-ol	(38) <i>ent</i> -cauran-16 $\alpha$ ,19-diol (39) <i>ent</i> -cauran-16 $\alpha$ ,17,19-triol
(40) <i>ent</i> -16 $\alpha$ ,19-dihidroxicaurano	(41) <i>ent</i> -11 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,19-trihidroxicaurano (42) <i>ent</i> -19-hidroxi-11 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxicaurano
(43) ácido <i>ent</i> -15-oxocaur-16-en-19-oico	(44) ácido <i>ent</i> -16 $\alpha$ -hidroxi-15-oxocauran-19-oico (45) ácido <i>ent</i> -11 $\beta$ -hidroxi-15-oxocauran-19-oico (46) ácido <i>ent</i> -16 $\alpha$ ,17-hidroxi-15-oxocauran-19-oico

(47) <i>ent</i> -15-oxocaur-16-en-19-oato de metila	(48) <i>ent</i> -16 $\alpha$ -hidroxi-15-oxocauran-19-oato de metila (49) <i>ent</i> -11 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihidroxi-15-oxocauran-19-oato de metila (50) <i>ent</i> -16 $\alpha$ ,18-dihidroxi-15-oxocauran-19-oato de metila
(14) ácido <i>ent</i> -caur-16-en-19-oico	(15) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -hidroxicaur-16-en-19-oico (51) ácido <i>ent</i> -16 $\alpha$ -hidroxicauran-19-oico (52) ácido <i>ent</i> -16 $\alpha$ ,17-dihidroxicauran-19-oico (53) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihidroxicauran-19-oico
(54) <i>ent</i> -18-acetoxicaur-16-en-3,7-diona	(55) <i>ent</i> -18-hidroxicaur-16-en-3,7-diona (56) <i>ent</i> -18-hidroxi-16 $\alpha$ ,17-epoxicaur-3,7-diona (57) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-16-en-3-ona (58) <i>ent</i> -16 $\alpha$ ,17,18-trihidroxicaur-3,7-diona (59) <i>ent</i> -16 $\beta$ ,17,18-trihidroxicaur-3,7-diona
(60) <i>ent</i> -18-acetoxicaur-15-en-3,7-diona	(61) <i>ent</i> -18-hidroxicaur-15-en-3,7-diona (62) <i>ent</i> -17,18-dihidroxicaur-15-en-3,7-diona
(63) <i>ent</i> -18-acetoxicaur-15-en-7-ona	(64) <i>ent</i> -18-hidroxicaur-15-en-7-ona (65) <i>ent</i> -17,18-dihidroxicaur-15-en-7-ona
(66) ácido <i>ent</i> -15 $\alpha$ -hidroxicaur-9(11),16-dien-19-oico	(67) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,15 $\alpha$ -dihidroxicaur-9(11),16-dien-19,6-olídeo (68) ácido <i>ent</i> -3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihidroxi-6 $\beta$ ,7 $\beta$ -epoxicaur-9(11),16-dien-19-oico (69) ácido <i>ent</i> -3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,15 $\alpha$ -trihidroxicaur-9(11),16-dien-19-oico (70) ácido <i>ent</i> -3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihidroxi-6-oxocaur-9(11),16-dien-19-oico (71) <i>ent</i> -3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,15 $\alpha$ -trihidroxi-19-nor-caur-(18),9(11),16-trieno
(72) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,19-dihidroxicaur-9(11),16-dieno	(73) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,19-dihidroxi-16 $\beta$ ,17-epoxicaur-9(11)-eno (74) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17,19-tetrahidroxicaur-9(11)-eno (75) <i>ent</i> -12 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-9(11),16-dieno (76) <i>ent</i> -12 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxi-16 $\beta$ ,17-epoxicaur-9(11)-eno (77) <i>ent</i> -12 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17,19-pentahidroxicaur-9(11)-eno (78) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-9(11),16-dieno (79) <i>ent</i> -3 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-9(11),16-dieno (80) <i>ent</i> -6 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-9(11),16-dieno (81) <i>ent</i> -6 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,18,19-tetrahidroxicaur-9(11),16-dieno
(24) ácido <i>ent</i> -16-oxo-17-nor-cauran-19-oico	(82) ácido <i>ent</i> -2 $\beta$ -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico
(83) <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxicaur-16-eno	(84) <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-19-hidroxicaur-16-eno (85) <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxicaur-16-en-19-al (86) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxicaur-16-en-19-oico (87) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-3 $\beta$ -hidroxicaur-16-en-19-oico (88) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-2 $\beta$ ,3 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico (89) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-3 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-16-en-19-oico
(90) <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-18-hidroxicaur-16-eno.	(91) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxicaur-16-en-18-oico (92) <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-18,19-dihidroxicaur-16-eno (93) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-18-hidroxicaur-16-en-19-oico (94) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-19-hidroxicaur-16-en-18-oico (95) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -acetoxi-3 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-16-en-19-oico
(96) <i>ent</i> -7 $\alpha$ -hidroxicaur-16-	(97) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17-trihidroxicaurano

eno	(98) ácido fujenoico
(99) <i>ent-7<math>\alpha</math>,18</i> -dihidroxicaur-16-eno	(100) <i>ent-7<math>\alpha</math>,18,19</i> -trihidroxicaur-16-eno
(101) <i>ent-7<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>,18</i> -trihidroxicaur-16-eno	(102) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18</i> -tetrahidroxicaur-16-eno
(103) <i>ent-7</i> -oxocaur-16-eno	(104) <i>ent-11<math>\beta</math>,19</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (105) <i>ent-17,19</i> -dihidroxi-11 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxi-7-oxocaurano (106) <i>ent-11<math>\beta</math>,13</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (98) ácido fujenoico
(107) <i>ent-18</i> -hidroxi-7-oxocaur-16-eno	(108) <i>ent-18,19</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (109) <i>ent-11<math>\beta</math>,18</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (110) <i>ent-11<math>\alpha</math>,18</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (111) <i>ent-18</i> -hidroxi-11 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxi-7-oxocaur-16-eno (112) <i>ent-6<math>\beta</math>,18</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (113) <i>ent-18</i> -hidroxi-16 $\alpha$ ,17-epoxi-7-oxocaurano (114) <i>ent-1<math>\alpha</math>,18</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno (115) 7-oxocaur-16-en-18,6 $\beta$ -olídeo
(116) <i>ent-3<math>\beta</math>,18</i> -dihidroxi-7-oxocaur-16-eno	(117) <i>ent-3<math>\alpha</math>,6<math>\beta</math>,18</i> -trihidroxi-7-oxocaur-16-eno (118) <i>ent-3<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,18</i> -trihidroxi-7-oxocaur-16-eno
(119) <i>ent-15<math>\beta</math></i> -hidroxi-3-oxocaur-16-eno	(120) <i>ent-11<math>\beta</math></i> -hidroxi-3,15-dioxocaurano (121) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math></i> -dihidroxi-3,15-dioxocaurano (122) <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\beta</math></i> -dihidroxi-3-oxocaur-16-eno (123) <i>ent-7<math>\beta</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\beta</math></i> -trihidroxi-3-oxocaur-16-eno (124) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\beta</math></i> -trihidroxi-3-oxocaur-16-eno
(125) <i>ent-15<math>\beta</math></i> -hidroxicaur-2,16-dieno	(126) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math></i> -dihidroxi-15-oxocaur-2-eno (127) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\beta</math></i> -trihidroxicaur-2,16-dieno (128) 7 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihidroxicaur-2,16-dien-19,6-olídeo (129) ácido <i>ent-1<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,15<math>\beta</math></i> -trihidroxicaur-2,16-dien-19-oico (130) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,16<math>\alpha</math></i> -trihidroxi-15-oxocaur-2-eno (131) <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,17</i> -trihidroxi-11 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxicaur-2-eno
(132) ácido <i>ent-3<math>\beta</math></i> -hidroxicaur-16-en-19-oico	(133) ácido <i>ent-3<math>\beta</math>,7<math>\beta</math></i> -dihidroxicaur-16-en-19-oico (134) 3 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19,6-olídeo
(135) ácido <i>ent-15<math>\alpha</math></i> -hidroxicaur-16-en-19-oico	(136) 7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihidroxicaur-16-en-19,6-olídeo (137) ácido <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math></i> -dihidroxicaur-16-en-19-oico
(31) ácido <i>ent-15<math>\beta</math></i> -hidroxicaur-16-en-19-oico	(138) ácido <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\beta</math></i> -dihidroxicaur-16-en-19-oico (139) 7 $\beta$ ,15 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19,6-olídeo
(140) <i>ent-18</i> -hidroxi-15-oxocaur-16-eno	(141) <i>ent-18</i> -hidroxi-15-oxocaurano (142) <i>ent-11<math>\beta</math>,18</i> -dihidroxi-15-oxocaurano (143) <i>ent-18,19</i> -dihidroxi-15-oxocaurano (144) <i>ent-7<math>\alpha</math>,18</i> -dihidroxi-15-oxocaurano (145) <i>ent-11<math>\beta</math>,16<math>\alpha</math>,18</i> -trihidroxi-15-oxocaurano (146) <i>ent-16<math>\beta</math>,18,19</i> -trihidroxi-15-oxocaurano

<p>(147) <i>ent-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i></p>	<p>(148) <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-3-oxocaur-1,16-dieno</i>  (149) <i>ent-15<math>\alpha</math>-hidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (150) <i>ent-7<math>\beta</math>-hidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (151) <i>ent-7<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-3-oxocaur-1,16-dieno</i>  (152) <i>ent-15<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>-dihidroxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (153) <i>ent-6<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (154) <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-3-oxocaur-1,16-dieno</i>  (155) <i>ent-7<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (156) <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (157) <i>ent-13,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (158) <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>-trihidroxi-3-oxobeier-1-eno</i>  (159) <i>ent-15<math>\alpha</math>,17-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (160) <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-16<math>\beta</math>-hidroxi-3-oxocaur-1-eno</i>  (161) <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-16<math>\beta</math>-hidroxi-3-oxocaur-1-eno</i></p>
<p>(162) <i>ent-3<math>\alpha</math>,15<math>\beta</math>-dihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p>(163) <i>ent-3<math>\alpha</math>,7<math>\alpha</math>,15<math>\beta</math>-trihidroxicaur-16-eno</i>  (164) <i>ent-3<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\beta</math>-trihidroxicaur-16-eno</i>  (165) <i>ent-3<math>\alpha</math>,7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\beta</math>-tetrahidroxicaur-16-eno</i>  (166) <i>ent-3<math>\alpha</math>,15<math>\beta</math>-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxicaurano</i>  (168) <i>ent-3<math>\alpha</math>,7<math>\alpha</math>-dihidroxi-15-oxocaurano</i>  (173) <i>ent-3<math>\alpha</math>,7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-trihidroxi-15-oxocaurano</i></p>
<p>(167) <i>ent-3<math>\alpha</math>-hidroxi-15-oxocaurano</i></p>	<p>(168) <i>ent-3<math>\alpha</math>,7<math>\alpha</math>-dihidroxi-15-oxocaurano</i>  (169) <i>ent-3<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-dihidroxi-15-oxocaurano</i>  (170) <i>ent-3<math>\alpha</math>,6<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-trihidroxi-15-oxocaurano</i>  (171) <i>ent-3<math>\alpha</math>,6<math>\beta</math>,7<math>\alpha</math>-trihidroxi-15-oxocaurano</i>  (172) <i>ent-3<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,16<math>\alpha</math>-trihidroxi-15-oxocaurano</i>  (173) <i>ent-3<math>\alpha</math>,7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>-trihidroxi-15-oxocaurano</i></p>
<p>(174) <i>ent-15-oxocaur-16-eno</i></p>	<p>(175) <i>16<math>\alpha</math>,17-dihidro-7<math>\beta</math>-hidroxi-15-oxocauran-19,6-olídeo</i>  (176) <i>16<math>\alpha</math>,17-dihidro-15-oxo-GA<sub>12</sub></i>  (177) <i>16<math>\alpha</math>,17-dihidro-15-oxo-GA<sub>25</sub></i>  (178) <i>16<math>\alpha</math>,17-dihidro-15-oxo-GA<sub>24</sub></i>  (179) <i>7-formil-16<math>\alpha</math>,17-dihidro-15-oxo-GA<sub>14</sub></i>  (180) <i>ácido ent-3<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>-dihidroxi-15-oxocauran-19-oico</i>  (181) <i>16<math>\alpha</math>,17-dihidro-15-oxo-GA<sub>7</sub></i></p>
<p>(182) <i>ent-7<math>\beta</math>-hidroxi-16<math>\alpha</math>,17-epoxicaurano</i></p>	<p>(183) <i>ent-7<math>\beta</math>,16<math>\alpha</math>,17-trihidroxicaurano</i>  (184) <i>ent-7<math>\beta</math>,9<math>\beta</math>,16<math>\alpha</math>,17-tetrahidroxicaurano</i>  (185) <i>ent-7<math>\beta</math>,11<math>\beta</math>,16<math>\alpha</math>,17-tetrahidroxicaurano</i></p>
<p>(186) <i>ácido ent-16<math>\alpha</math>,17-epoxicauran-19-oico</i></p>	<p>(52) <i>ácido ent-16<math>\alpha</math>,17-dihidroxicauran-19-oico</i>  (187) <i>7-formil-16<math>\alpha</math>,17-dihidroxigiberelina A<sub>12</sub></i></p>
<p>(188) <i>ent-14<math>\beta</math>-hidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicaurano</i></p>	<p>(189) <i>ent-14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxicaurano</i>  (190) <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-trihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxicaurano</i>  (191) <i>ent-7<math>\alpha</math>,14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-trihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxicaurano</i></p>



<p><b>(192)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,18-dihidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicaurano</i></p>	<p><b>(193)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18-trihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxicaurano</i>  <b>(194)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,13,18-trihidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicaurano</i>  <b>(195)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18-trihidroxicaur-16-eno</i> (eubotriol)  <b>(196)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\alpha</math>,18-trihidroxicaur-15-eno</i> (pusilatriol)  <b>(197)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,16<math>\beta</math>,18-tetrahidroxicaurano</i>  <b>(198)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\alpha</math>,16,18-tetrahidroxibeieran</i></p>
<p><b>(199)</b> <i>ent-14<math>\beta</math>,19-dihidroxicaur-15-eno</i></p>	<p><b>(200)</b> <i>ent-14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,19-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(201)</b> <i>ent-14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,19-trihidroxi-11<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxicaurano</i>  <b>(202)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>,19-trihidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicaurano</i>  <b>(203)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>,19-trihidroxicaur-15-eno</i>  <b>(204)</b> ácido <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>-dihidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicauran-19-oico</i>  <b>(205)</b> ácido <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>-dihidroxicaur-15-en-19-oico</i>  <b>(206)</b> 14<math>\alpha</math>-hidroxi-15<math>\beta</math>,16<math>\beta</math>-epoxi-GA<sub>15</sub>  <b>(207)</b> ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>-trihidroxicaur-15-en-19-oico</i>  <b>(208)</b> ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-tetrahidroxicaur-16-en-19-oico</i>  <b>(209)</b> ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>-trihidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicauran-19-oico</i></p>
<p><b>(210)</b> <i>ent-15<math>\alpha</math>-hidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(211)</b> <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(212)</b> <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(213)</b> <i>ent-11<math>\beta</math>,13,15<math>\alpha</math>-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(214)</b> <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,19-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(215)</b> <i>ent-11<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-trihidroxicaur-16-eno</i></p>
<p><b>(216)</b> <i>ent-15<math>\alpha</math>,18-dihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(217)</b> <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(218)</b> <i>ent-11<math>\alpha</math>,15<math>\alpha</math>,18-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(102)</b> <i>ent-7<math>\alpha</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18-tetrahidroxicaur-16-eno</i>  <b>(219)</b> <i>ent-15<math>\alpha</math>,17,18-trihidroxicaur-11<math>\beta</math>,1<math>\beta</math>-epoxicaurano</i></p>
<p><b>(220)</b> <i>ent-14<math>\beta</math>,19-dihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(221)</b> 14<math>\alpha</math>-hidroxi-GA<sub>7</sub>  <b>(222)</b> 14<math>\alpha</math>-hidroxi-GA<sub>14</sub>  <b>(223)</b> ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>-trihidroxicaur-16-en-19-oico</i>  <b>(224)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,14<math>\beta</math>,19-trihidroxicaur-16-eno</i></p>
<p><b>(225)</b> <i>ent-6<math>\alpha</math>,19-dihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(226)</b> Fujenal  <b>(227)</b> caur-16-en-19,6<math>\alpha</math>-olídeo  <b>(228)</b> 7<math>\beta</math>-hidroxicauren-19,6-olídeo</p>
<p><b>(229)</b> <i>ent-6<math>\alpha</math>,7<math>\beta</math>,19-trihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(226)</b> Fujenal  <b>(230)</b> 7<math>\beta</math>,18-dihidroxicaur-16-en-19,6<math>\alpha</math>-olídeo</p>
<p><b>(231)</b> <i>ent-6,19-dioxocaur-16-eno</i></p>	<p><b>(226)</b> Fujenal</p>
<p><b>(232)</b> ácido <i>ent-6-oxocaur-16-en-19-oico</i></p>	<p><b>(226)</b> Fujenal</p>
<p><b>(233)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-dihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(234)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,19-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(235)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>-trihidroxicaur-16-eno</i>  <b>(236)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>,17-pentahidroxicaurano</i>  <b>(237)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,11<math>\beta</math>,13,15<math>\alpha</math>-tetrahidroxicaur-16-eno</i></p>
<p><b>(195)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18-trihidroxicaur-16-eno</i></p>	<p><b>(238)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18-tetrahidroxicaur-16-eno</i>  <b>(239)</b> <i>ent-7<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18,19-tetrahidroxicaur-16-eno</i></p>

	(240) <i>ent-7<math>\beta</math>,17,18</i> -trihidroxi-15 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -epoxicaurano (241) <i>ent-7<math>\beta</math>,17,18,19</i> -tetrahidroxicaur-15-eno
(242) ácido <i>ent-13,15<math>\alpha</math>-dihidroxicaur-16-en-19-oico</i>	(243) ácido <i>ent-7<math>\beta</math>,13,15<math>\alpha</math>-trihidroxicaur-16-en-19-oico</i>
(244) <i>ent-7<math>\beta</math>-hidroxicaur-15-eno</i>	(245) isogiberelina A <sub>7</sub> metil éster (246) isogiberelina A <sub>13</sub> (247) <i>ent-7<math>\beta</math>-hidroxi-15<math>\alpha</math>,16<math>\alpha</math>-epoxicaurano</i>
(248) <i>ent-18-hidroxicaur-15-eno</i>	(249) <i>ent-7<math>\beta</math>,18</i> -dihidroxicaur-15-en-19-oato de metila (250) 7 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-15-en-19,6 $\alpha$ -olídeo
(251) <i>ent-caur-15-eno</i>	(252) isofujenal metil éster (253) isogiberelina A <sub>3</sub> (254) isogiberelina A <sub>16</sub> (250) 7 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-15-en-19,6 $\alpha$ -olídeo
(216) <i>ent-15<math>\alpha</math>,18-dihidroxicaur-16-eno</i>	(255) <i>ent-11<math>\beta</math>,15<math>\alpha</math>,18</i> -dihidroxicaur-16-eno
(256) ácido <i>ent-12<math>\alpha</math>-hidroxicaur-16-en-19-oico</i>	(257) 12 $\alpha$ -hidroxi-GA <sub>12</sub> (258) 12 $\alpha$ -hidroxi-GA <sub>14</sub> (259) GA <sub>39</sub> (260) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>4</sub> (261) ácido <i>ent-7<math>\beta</math>,12<math>\alpha</math>-dihidroxicaur-16-en-19-oico</i> (262) ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,12<math>\alpha</math>-trihidroxicaur-16-en-19-oico</i> (263) 7 $\alpha$ ,12 $\beta$ -dihidroxicauren-19,6 $\alpha$ -olídeo
(264) ácido <i>ent-12<math>\beta</math>-hidroxicaur-16-en-19-oico</i>	(265) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>4</sub> (266) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>9</sub> (267) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>12</sub> (268) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>14</sub> (269) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>15</sub> (270) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>24</sub> (271) 12 $\beta$ -hidroxi-GA <sub>36</sub> (272) ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>,12<math>\beta</math>-trihidroxicaur-16-en-19-oico</i> (273) 7 $\beta$ ,12 $\beta$ -dihidroxicauren-19,6 $\alpha$ -olídeo
(274) ácido <i>ent-12-oxocaur-16-en-19-oico</i>	(275) 12-oxo-GA <sub>12</sub> (276) 12-oxo-GA <sub>13</sub> (277) 12-oxo-GA <sub>14</sub> (278) 12-oxo-GA <sub>24</sub> (279) 12-oxo-GA <sub>9</sub> (280) 12-oxo-GA <sub>4</sub> (281) ácido <i>ent-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>-dihidroxi-12-oxocaur-16-en-19-oico</i> (282) 7 $\beta$ -hidroxi-12-oxocaur-19,6 $\alpha$ -olídeo (283) ácido <i>ent-7-formil-12-oxocaur-16-en-6,19-dioico</i>
(284) <i>ent-caur-6,16-dieno</i>	(285) 7 $\beta$ -hidroxicauren-19,6 $\alpha$ -olídeo (286) 7 $\beta$ ,18-dihidroxicauren-19,6 $\alpha$ -olídeo
(287) <i>ent-3<math>\alpha</math>,18-dihidroxicaur-6,16-dieno</i>	(288) <i>ent-3<math>\alpha</math>,18-dihidroxi-6<math>\beta</math>,7<math>\beta</math>-epoxicaur-16-eno</i>

(289) <i>ent</i> -18-hidroxicaur-6,16-dieno	(286) 7 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-19,6 $\alpha$ -olídeo (287) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,18-dihidroxicaur-6,16-dieno (288) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,18-dihidroxi-6 $\beta$ ,7 $\beta$ -epoxicaur-16-eno
(290) <i>ent</i> -13-hidroxicaur-16-en-19-oato de metila	(291) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,13-dihidroxicaur-16-en-19-oato de metila (292) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,13-dihidroxicaur-16-en-19-oato de metila (293) <i>ent</i> -11 $\beta$ ,13-dihidroxicaur-16-en-19-oato de metila (294) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,13-trihidroxicaur-16-en-19-oato de metila (295) <i>ent</i> -11 $\beta$ ,13,15 $\alpha$ -trihidroxicaur-16-en-19-oato de metila (296) <i>ent</i> -13,15 $\alpha$ -dihidroxi-11-oxocaur-16-en-19-oato de metila
(297) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,18-dihidroxicaur-16-eno	(298) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,18-trihidroxicaur-16-eno
(298) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,18-trihidroxicaur-16-eno	(299) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,18-tetrahidroxicaurano
(300) <i>ent</i> -12 $\alpha$ -hidroxicaur-16-eno	(257) 12 $\alpha$ -hidroxi-GA <sub>12</sub> (301) 12 $\alpha$ -hidroxi-GA <sub>25</sub> (261) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ ,12 $\alpha$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico (262) ácido <i>ent</i> -6 $\beta$ ,7 $\beta$ ,12 $\alpha$ -trihidroxicaur-16-en-19-oico
(20) (-)-17-nor-cauran-16-ona	(302) 16-oxo-17-nor-GA <sub>12</sub> (303) 16-oxo-17-nor-GA <sub>14</sub> (35) ácido <i>ent</i> -7 $\beta$ -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico
(304) ácido <i>ent</i> -13-hidroxicaur-16-en-19-oico	(305) 7 $\beta$ ,13-dihidroxicaur-16-en-19,6 $\alpha$ -olídeo
(216) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,18-dihidroxicaur-16-eno	(306) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (307) <i>ent</i> -6 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (308) <i>ent</i> -3 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (217) <i>ent</i> -11 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (309) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,17,18-trihidroxi-11 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxicaurano
(310) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,19-dihidroxicaur-16-eno	(311) <i>ent</i> -9 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-16-eno (312) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-16-eno (214) <i>ent</i> -11 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-16-eno (313) <i>ent</i> -6 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,19-trihidroxicaur-16-eno (314) <i>ent</i> -15 $\alpha$ ,17,19-trihidroxi-11 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxicaurano (315) <i>ent</i> -19-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-15 $\alpha$ -hidroxicaur-16-eno (316) <i>ent</i> -19-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-15-oxocaur-16-eno
(317) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,18-dihidroxicaur-16-eno	(298) <i>ent</i> -3 $\alpha$ ,7 $\beta$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (317) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,17-dihidroxicaur-15-eno (319) <i>ent</i> -7 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17,18-tetrahidroxicaurano
(99) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,18-dihidroxicaur-16-eno candicandiol	(320) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,9 $\beta$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (101) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,15 $\alpha$ ,18-trihidroxicaur-16-eno (321) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17,18-tetrahidroxicaurano
(47) <i>ent</i> -15-oxocaur-16-en-19-oato de metila	(322) <i>ent</i> -7 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihidroxi-15-oxocauran-19-oato de metila
(323) ácido <i>ent</i> -13-hidroxi-16 $\alpha$ ,17-epoxicauran-19-oico	(324) ácido <i>ent</i> -13,16 $\alpha$ ,17-trihidroxicauran-19-oico (325) ácido <i>ent</i> -11 $\beta$ ,13,16 $\beta$ ,17-tetrahidroxicauran-19-oico (326) ácido <i>ent</i> -1 $\alpha$ ,17-dihidroxi-16-cetobeieran-19-oico

	(327) ácido <i>ent-7<math>\beta</math></i> ,17-dihidroxi-16-cetobeieran-19-oico (328) ácido <i>ent-17</i> -acetoxi-13,16 $\alpha$ -dihidroxicauran-19-oico (329) ácido <i>ent-11<math>\alpha</math></i> ,13-dihidroxi-16 $\alpha$ ,17-epoxicauran-19-oico (330) ácido <i>ent-11<math>\alpha</math></i> ,13,16 $\alpha$ ,17-tetrahidroxicauran-19-oico
(14) ácido <i>ent-caur-16-en-19-oico</i>	(52) ácido <i>ent-16<math>\alpha</math></i> ,17-dihidroxicauran-19-oico (331) ácido <i>ent-12<math>\beta</math></i> ,16 $\alpha$ ,17-trihidroxicauran-19-oico (332) ácido <i>ent-11<math>\beta</math></i> ,16 $\alpha$ ,17-trihidroxicauran-19-oico
(333) <i>ent-18</i> -acetoxi-3 $\alpha$ -hidroxi-7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -isopropilidenodioxicaur-16-ene	(334) <i>ent-18</i> -acetoxi-3 $\alpha$ ,13-dihidroxi-7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -isopropilidenodioxicaur-16-eno (335) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> -acetoxi-13,18-dihidroxi-7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -isopropilidenodioxicaur-16-eno (336) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> ,18-dihidroxi-7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -isopropilidenodioxicaur-16-eno (337) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> ,12 $\beta$ ,18-trihidroxi-7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -isopropilidenodioxicaur-16-eno (338) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> ,7 $\beta$ ,13,15 $\alpha$ ,18-pentahidroxicaur-16-eno (339) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> ,16 $\beta$ ,17,18-dihidroxi-7 $\beta$ ,15 $\alpha$ -isopropilidenodioxicaur-16-eno
(60) <i>ent-18</i> -acetoxicaur-15-en-3,7-diona	(62) <i>ent-17</i> ,18-dihidroxicaur-15-en-3,7-diona (340) <i>ent-13</i> ,18-dihidroxicaur-15-en-3,7-diona
(63) <i>ent-18</i> -acetoxicaur-15-en-7-ona	(341) <i>ent-13</i> ,18-dihidroxicaur-15-en-7-ona (342) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> ,13,18-trihidroxicaur-15-en-7-ona
(343) <i>ent-18</i> -acetoxi-3 $\alpha$ ,7 $\beta$ -dihidroxicaurano	(299) <i>ent-3<math>\alpha</math></i> ,7 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,18-tetrahidroxicaurano
(344) <i>ent-18</i> -acetoxicauran-3,7-diona	(345) <i>ent-3<math>\beta</math></i> -acetoxi-16 $\alpha$ ,18-dihidroxicauran-7-ona (346) <i>ent-18</i> -acetoxi-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihidroxicauran-7-ona (347) <i>ent-18</i> -acetoxi-16 $\alpha$ -hidroxicauran-3,7-diona
(14) ácido <i>ent-caur-16-en-19-oico</i>	(348) ácido <i>ent-6<math>\alpha</math></i> -hidroxicaur-16-en-19-oico
(25) ácido <i>ent-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico</i>	(33) ácido <i>ent-7<math>\alpha</math></i> -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico (34) ácido <i>ent-1<math>\beta</math></i> -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico (35) ácido <i>ent-7<math>\beta</math></i> -hidroxi-16-oxo-17-nor-cauran-19-oico
(28) <i>ent-19</i> -hidroxi-16-oxo-17-nor-caurano	(29) <i>ent-7<math>\beta</math></i> ,19-dihidroxi-16-oxo-17-nor-caurano (36) <i>ent-1<math>\beta</math></i> ,19-dihidroxi-16-oxo-17-nor-caurano
(14) ácido <i>ent-caur-16-en-19-oico</i>	(15) ácido <i>ent-7<math>\beta</math></i> -hidroxicaur-16-en-19-oico (16) ácido <i>ent-7<math>\beta</math></i> ,9 $\beta$ -dihidroxicaur-16-en-19-oico
(14) ácido <i>ent-caur-16-en-19-oico</i>	(15) ácido <i>ent-7<math>\beta</math></i> -hidroxicaur-16-en-19-oico (349) ácido <i>ent-12<math>\alpha</math></i> -hidroxicaur-9(11),16-dien-19-oico (52) ácido <i>ent-16<math>\alpha</math></i> ,17-dihidroxicauran-19-oico
(47) <i>ent-15</i> -oxocaur-16-en-19-oato de metila	(350) <i>ent-7<math>\alpha</math></i> ,11 $\beta$ -dihidroxi-15-oxocauran-19-oato de metila
(290) <i>ent-13</i> -hidroxicaur-16-en-19-oato de metila	(351) <i>ent-9<math>\beta</math></i> ,13-dihidroxicaur-16-en-19-oato de metila (292) <i>ent-7<math>\beta</math></i> ,13-dihidroxicaur-16-en-19-oato de metila
(352) <i>ent-17</i> ,19-dihidroxicaurano	(353) <i>ent-11<math>\beta</math></i> ,17,19-trihidroxicaurano (354) <i>ent-7<math>\beta</math></i> ,17,19-trihidroxicaurano (355) <i>ent-7<math>\alpha</math></i> ,17,19-trihidroxicaurano

## 4 DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

### 4.1 Determinação Estrutural de CA-1

O fracionamento cromatográfico da fração **CLH-4**, utilizando-se gel de sílica ( $\phi_{\text{int}}$  63 – 200  $\mu\text{m}$ ) possibilitou o isolamento de um sólido cristalino,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -105,0^{\circ}$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), p.f = 178,6 – 179,6  $^{\circ}\text{C}$ , denominado de **CA-1** (item 5.5.2.2, p. 250).

O espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-1** (fig. 11, p. 79) apresentou uma banda larga de deformação axial de ligação O-H compreendida entre 3200 e 2800  $\text{cm}^{-1}$ , característica de ácido carboxílico, superposta à banda de deformação axial de ligação C–H de alcanos, além de absorção intensa referente a deformação axial de ligação C=O em 1686  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-1** (fig. 12, p. 79) mostrou dois sinais referentes a grupos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados em  $\delta_{\text{H}}$  1,17 (3H-19, s) e 1,06 (3H-20, s), além de sinais atribuídos a dois hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  4,80 (1H-17, sl) e 4,75 (1H-17, sl), característicos de dupla ligação exocíclica, e outros sinais referentes a hidrogênio ligados a carbonos saturados na faixa entre  $\delta_{\text{H}}$  0,80 a 2,30.

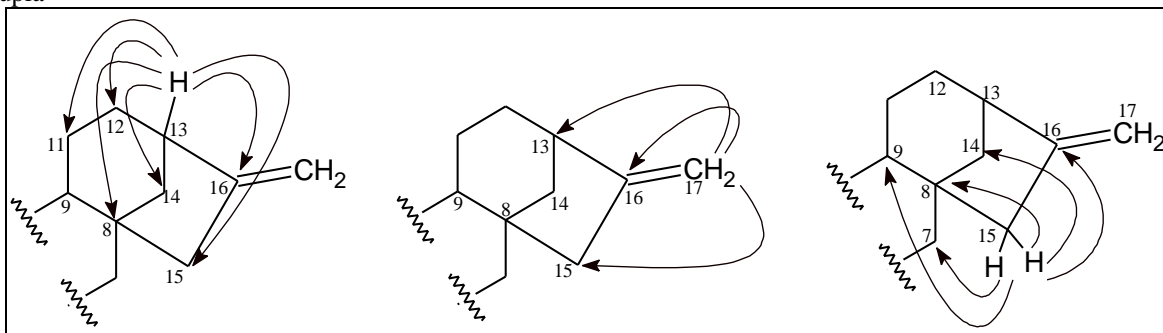
O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-1** (fig. 13, p. 80) apresentou 20 linhas espectrais, sugerindo uma possível estrutura diterpênica. A comparação com as informações fornecidas pelo espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 $^{\circ}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 14, p. 80), indicou a presença de dois carbonos metílicos, dez carbonos metilênicos, três carbonos metínicos e cinco carbonos não-hidrogenados, dentre os quais foi possível assinalar a presença de uma carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  186,1.

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-1** (fig. 15, p. 81), permitiu correlacionar, inequivocamente, os deslocamentos químicos dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ) (tab. 03, p. 78). A análise mostrou ainda as correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,80 e 4,75 (2H-17) com o carbono metilênico com hibridação  $\text{sp}^2$  em  $\delta_{\text{C}}$  103,3 (C-17), confirmando a presença de uma dupla ligação exocíclica e a sugestão de um esqueleto diterpênico do tipo caureno.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 16, p. 81) foram observados as correlações do hidrogênio metínico em  $\delta_{\text{H}}$  2,65 (H-13) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  155,9 (C-16), 49,2 (C-15), 40,0 (C-14), 33,4 (C-12), 18,0 (C-11) e 44,5 (C-8), dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,11 e 2,03 (2H-15) com os carbonos em

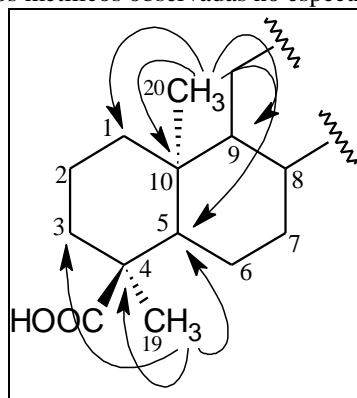
$\delta_C$  155,9 (C-16), 40,0 (C-14), 56,2 (C-9), 44,5 (C-8) e 40,8 (C-7), bem como as correlações dos hidrogênios vinílicos em  $\delta_H$  4,80 e 4,75 (2H-17) com os carbonos em  $\delta_C$  155,9 (C-16), 44,1 (C-13) e 49,2 (C-15) (fig. 07).

**Figura 07** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de CA-1 para o posicionamento da ligação dupla



Neste espectro, foram ainda observadas as correlações entre os hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  1,06 (3H-20) com os sinais em  $\delta_C$  38,8 (C-10), 56,2 (C-9), 50,3 (C-5) e 39,7 (C-1), e dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  1,17 (3H-19) com os sinais em  $\delta_C$  37,2 (C-3), 47,8 (C-4) e 50,3 (C-5) (fig. 08).

**Figura 08** - Correlações dos hidrogênios metílicos observadas no espectro de HMBC de CA-1

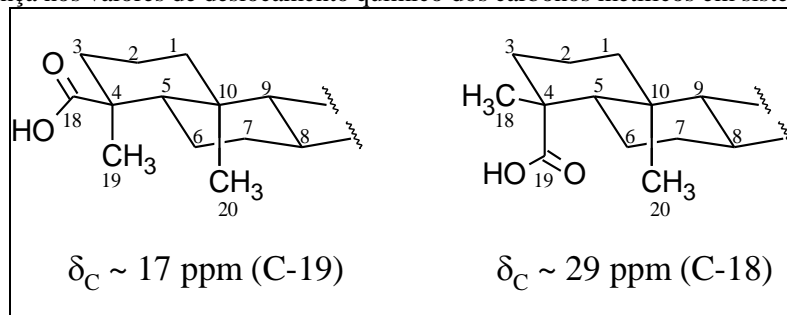


A análise dos dados discutidos, aliada a comparação com dados da literatura, permitiu identificar CA-1 como sendo o ácido caurenico (fig. 10, p. 77) (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988).

O ácido caurenico possui ocorrência natural em duas formas isoméricas ácido *ent*-caur-16-en-19-oico e ácido *ent*-caur-16-en-18-oico, que podem ser caracterizadas através dos deslocamentos químicos referentes aos carbonos C-18 e C-19 no espectro de RMN  $^{13}C$ . Dados da literatura revelam que quando o grupo carboxila está na posição equatorial (C-18) e grupo metila na axial (C-19), o grupo metil passa a absorver em aproximadamente em  $\delta_H$  18,0. Por outro lado, quando o grupo carboxila se encontra na posição axial (C-19), e o metila

na posição equatorial (C-18), os valores de deslocamentos químicos para o grupamento metila se apresentam próximos de  $\delta_H$  29,0 (ATTA-UR-RAHMAN; AHMAD, 1992a). Esse efeito é observado devido à interação do tipo  $\gamma$ -gauche de proteção, que é consideravelmente maior sobre a metila na posição axial (fig. 09) (ABRAHAM; LOFTUS, 1985).

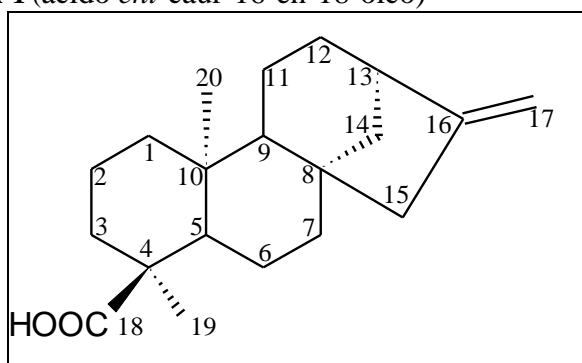
**Figura 09** - Diferença nos valores de deslocamento químico dos carbonos metílicos em sistema decalina



O valor de deslocamento químico da metila observado no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  em  $\delta_C$  17,9 no espectro de **CA-1**, determinou o grupo carboxila na posição equatorial (C-18).

Grande parte dos diterpenos cauranos encontrados na natureza pertencem à série *enantio*. Com poucas exceções (presença de dupla ligação entre C-9 e C-11), os *ent*-cauranos são caracterizados por apresentarem valores negativos de rotação óptica  $[\alpha]_D$ , desviam a luz plano-polarizada para a esquerda (GARCÍA; OLIVEIRA; BATISTA, 2007). Desta forma, **CA-1** foi classificado como pertencente a série *enantio*, devido o valor negativo de sua rotação óptica em  $[\alpha]_D^{20} = -105,0^\circ$ , sendo caracterizado como o ácido *ent*-caur-16-en-18-oico (fig. 10).

**Figura 10** - Estrutura de **CA-1** (ácido *ent*-caur-16-en-18-oico)



Apesar da larga ocorrência no reino vegetal do ácido caurenico nas duas formas isoméricas, o ácido *ent*-caur-16-en-18-oico foi isolado no gênero *Croton* apenas em espécie *Croton argyrophylloides* (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988) e *Croton antisiphiliticus* (PEREIRA *et al.*, 2012).

**Tabela 03** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-1** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura para o ácido *ent*-caur-16-en-18-oico (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988)

C	HSQC		HMBC		MONTE; DANTAS; BRAZ- FILHO, 1988*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	39,7	1,84 (d; 12,8; 1H) 0,86 (m)	1H-2a	3H-20; 1H-3a	39,9
2	18,2	1,65 (m; 1H) 1,56 (m; 1H)	1H-3a	-	18,0
3	37,2	1,75 (m; 1H) 1,57 (m; 1H)	-	1H-1a; 1H-5; 3H-19	37,0
4	47,8	-	1H-3a; H-5; 3H-19	-	47,6
5	50,3	1,66 (m; 1H)	-	3H-20; 3H-19; 1H-1a; 1H-3a	50,0
6	23,5	1,52 (m; 1H) 1,15 (m; 1H)	1H-7b; 1H-5	-	23,3
7	40,8	1,62 (m; 1H) 1,45 (m; 1H)	1H-6a	1H-15b; 1H-5	40,7
8	44,5	-	1H-15b; 1H-7b	1H-6b; 1H-13	44,4
9	56,2	1,17 (m; 1H)	1H-11b	2H-15; 2H-14; 3H-20; 1H-7b; 1H-5	56,2
10	38,8	-	1H-5; 1H-20	1H-2b	39,8
11	18,0	1,73 (m; 1H) 1,52 (m; 1H)	-	-	18,0
12	33,4	1,64 (m; 1H) 1,57 (m; 1H)	1H-13; 2H-11	1H-14a	33,3
13	44,1	2,65 (sl; 1H)	1H-14b	2H-17; 1H-11b	44,0
14	40,0	1,96 (d; 11,3; 1H) 1,11 (dd; 11,4 e 4,7; 1H)	1H-13	1H-15a	39,5
15	49,2	2,11 (m; 1H) 2,03 (m; 1H)	-	1H-14a; 1H-13; 2H-17	49,1
16	155,9	-	2H-17; 1H-13; 1H-15a	1H-14a	155,3
17	103,3	4,80 (sl; 1H) 4,75 (sl; 1H)	-	-	103,2
18	186,1	-	-	1H-3a; 1H-5; 3H-19	185,0
19	16,3	1,17 (s; 3H)	-	1H-3a; 1H-5	17,8
20	18,1	1,06 (s; 3H)	-	-	16,1

\* $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz



Figura 11 - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-1

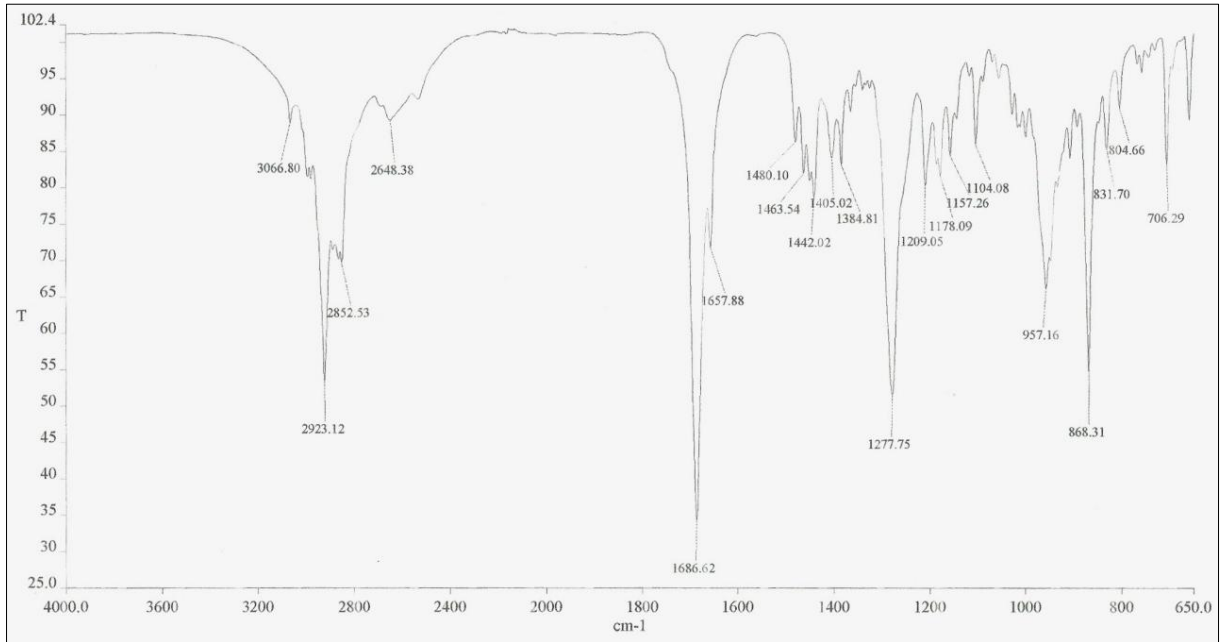
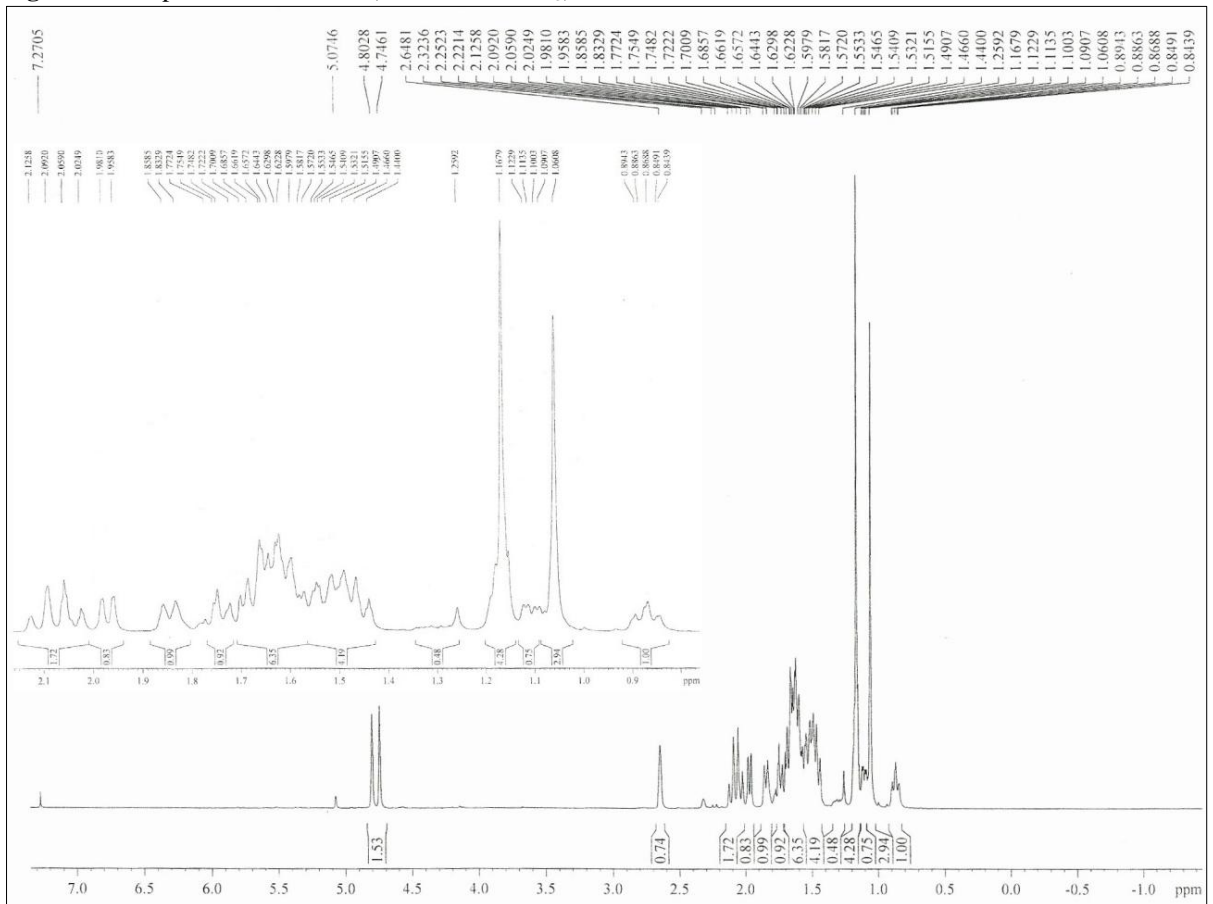
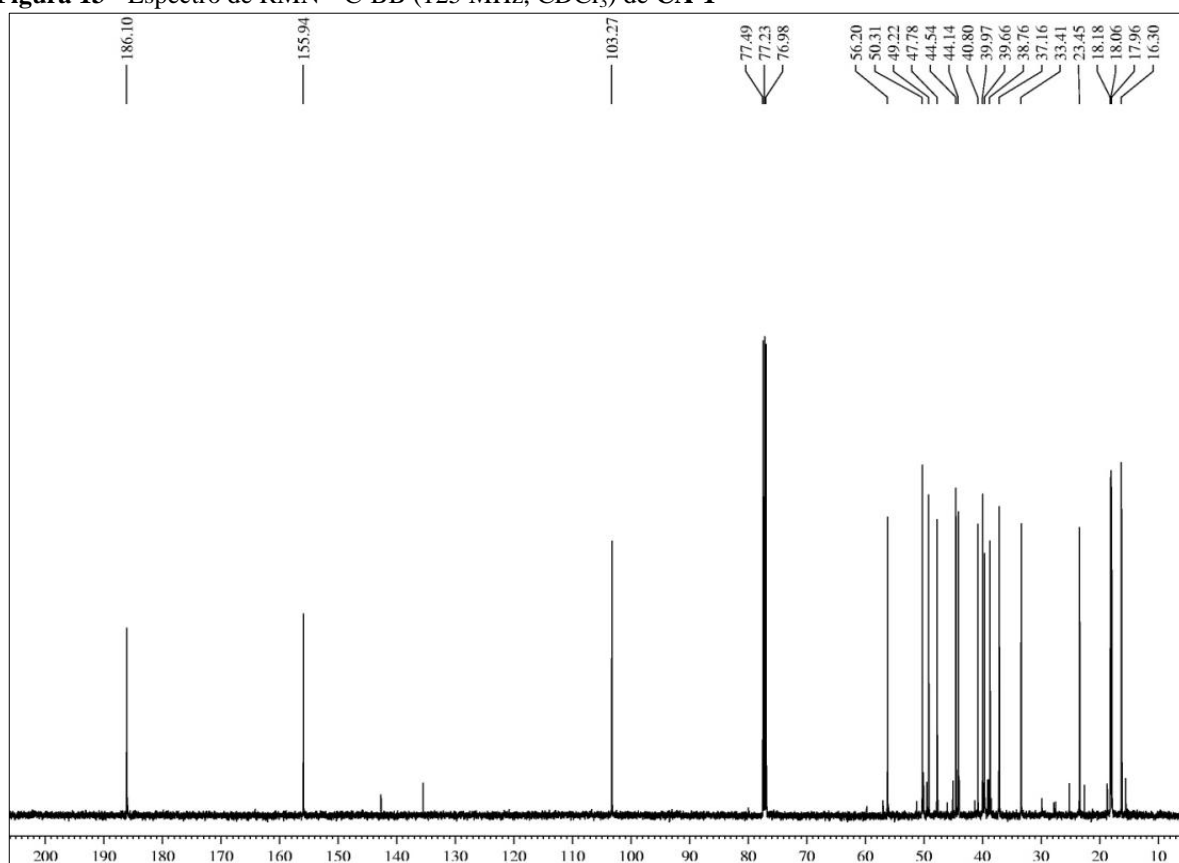


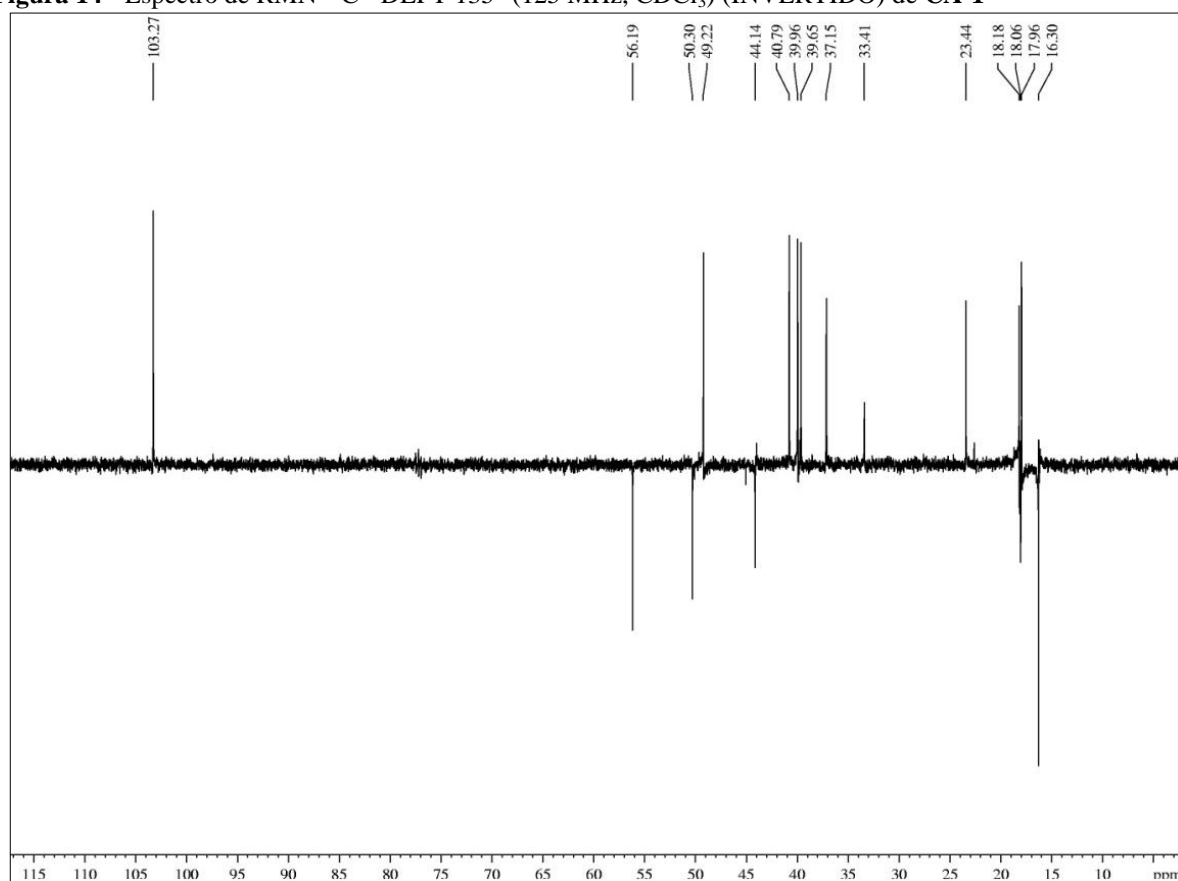
Figura 12 - Espectro de RMN 1H (500 MHz, CDCl3) de CA-1



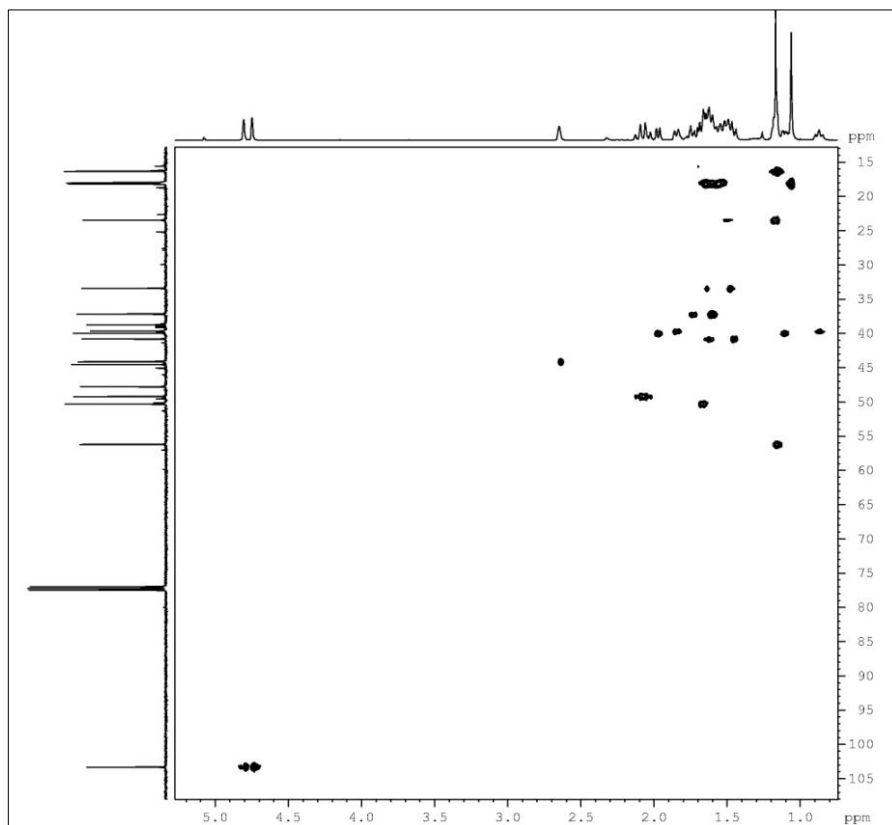
**Figura 13** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-1



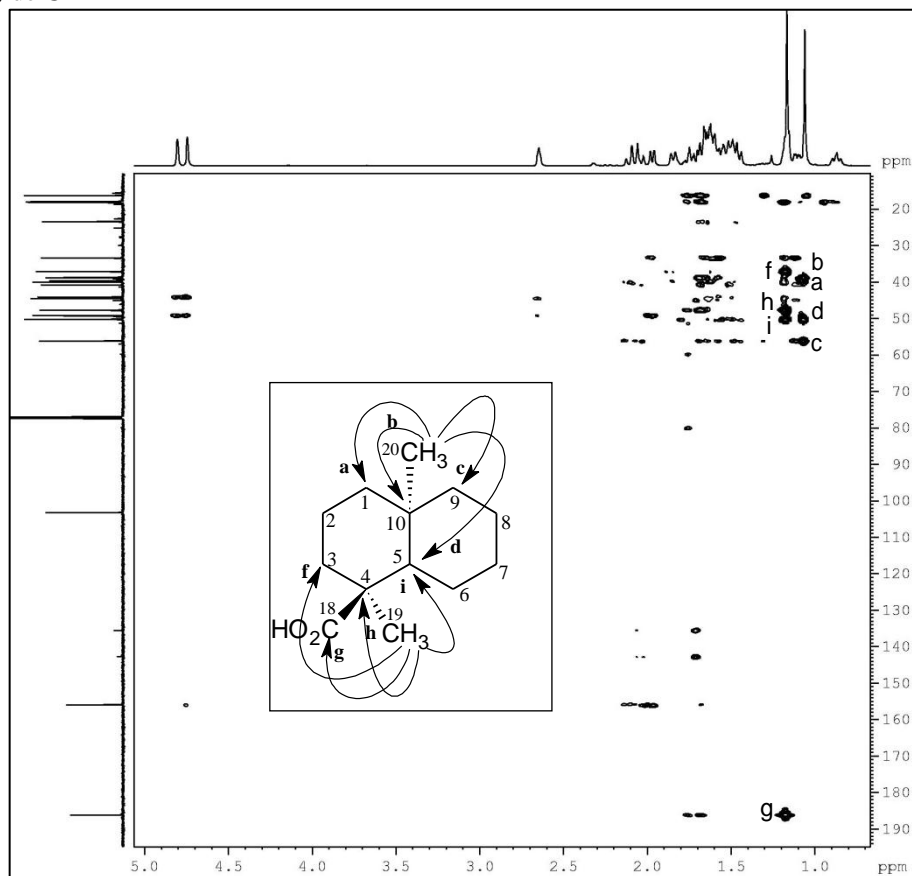
**Figura 14** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (INVERTIDO) de CA-1



**Figura 15** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-1



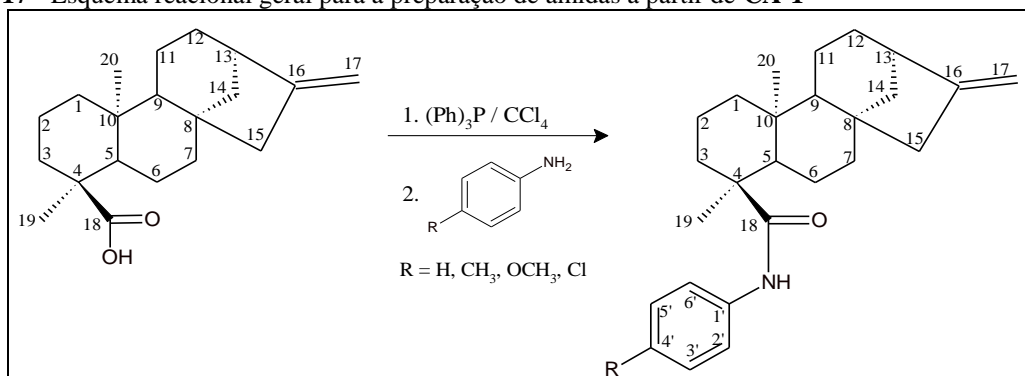
**Figura 16** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-1  $\text{CDCl}_3$  de CA



#### 4.1.1 Derivados Reacionais de CA-1

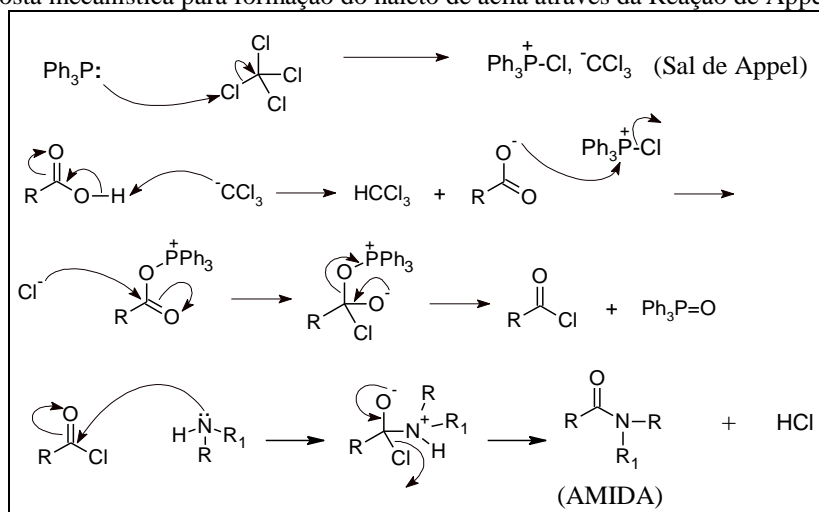
**CA-1** foi utilizado como substrato em reações de substituição nucleofílica para a preparação de amidas, através do uso de uma série de aminas aromáticas para posteriores estudos farmacológicos e avaliação da relação estrutura-atividade. Foram utilizadas as aminas *p*-toluidina (*p*-metilanilina), *p*-cloroanilina, anilina e *p*-anisidina (*p*-metoxianilina) (fig. 17) (item 5.6.1, p. 264). O procedimento empregado foi a reação de Appel que utiliza trifenilfosfina e tetracloreto de carbono (VIEIRA *et al.*, 2002).

**Figura 17** - Esquema reacional geral para a preparação de amidas a partir de **CA-1**



O mecanismo da reação envolve, primeiramente, a formação do sal de Appel através da reação entre trifenilfosfina e tetracloreto de carbono. O tratamento de álcoois e ácidos carboxílicos com o sal de Appel dá origem aos haletos correspondentes. Os cloretos de acila reagem com aminas mono ou dissustituídas, através de uma reação de substituição nucleofílica acíclica, obtendo-se amidas (fig. 18).

**Figura 18** - Proposta mecanística para formação do haleto de acila através da Reação de Appel



O ácido *ent*-caur-16-en-18-oico (**CA-1**) também foi submetido a reação de metilação para a obtenção de seu respectivo éster metílico (**CA1-ME**) (item 5.6.2, p. 264).

#### 4.1.1.1 Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a *p*-toluidina - Determinação Estrutural de **R1CA1**

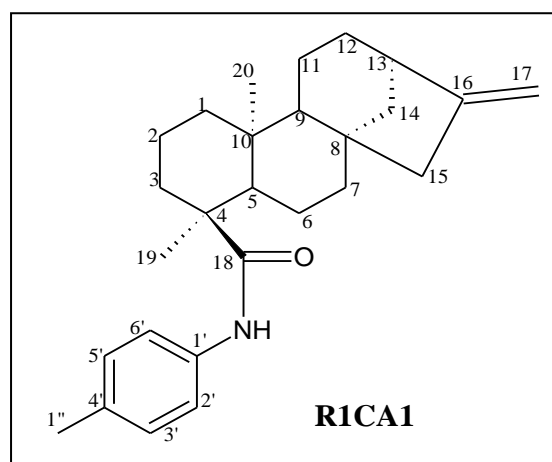
A análise do espectro de absorção na região de infravermelho de **R1CA1** (fig. 19, p. 85), quando comparado ao de **CA-1** (fig. 11, p. 79), não apresentou a absorção referente a deformação axial de ligação O-H de ácido carboxílico entre 3200 e 2800  $\text{cm}^{-1}$ . No entanto, o espectro revelou uma absorção em 3266  $\text{cm}^{-1}$ , de deformação axial da ligação N-H de amidas, além de uma banda em 1516  $\text{cm}^{-1}$  de deformação angular da ligação N-H, bem como bandas entre 900  $\text{cm}^{-1}$  e 700  $\text{cm}^{-1}$  referentes a deformação angular fora do plano das ligações C-H de anel aromático.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R1CA1** (fig. 20, p. 85), foram observados os sinais referentes a hidrogênios ligados a carbonos aromáticos centrados em  $\delta_{\text{H}}$  7,52 (H-2' e H-6') e em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (H-3' e H-5'), relacionados a hidrogênios de anéis aromáticos *para* substituídos, além de um simpleto largo em  $\delta_{\text{H}}$  8,53 relacionado a hidrogênio ligado a nitrogênio. O espectro apresentou ainda um sinal simples em  $\delta_{\text{H}}$  2,25 (3H-1'', s), relacionado aos hidrogênios da metila ligada ao anel aromático.

A análise conjunta dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R1CA1** (fig. 21, p. 86) e de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de **CA-1** (fig. 13, p. 80) mostrou os sinais adicionais, referentes aos carbonos pertencentes ao anel aromático, em  $\delta_{\text{C}}$  121,5 (C-2' e C-6'), 129,8 (C-3' e C-5'), 133,5 (C-4') e 138,0 (C-1'), além de um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  20,9 (C-1''), associado ao grupo metila ligado diretamente ao anel aromático.

A atribuição dos sinais de hidrogênios aos respectivos carbonos de **R1CA1** foi realizada através da comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-1** e da análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **R1CA1** (fig. 22, p. 86), conforme a **Tabela 04** (p. 84).

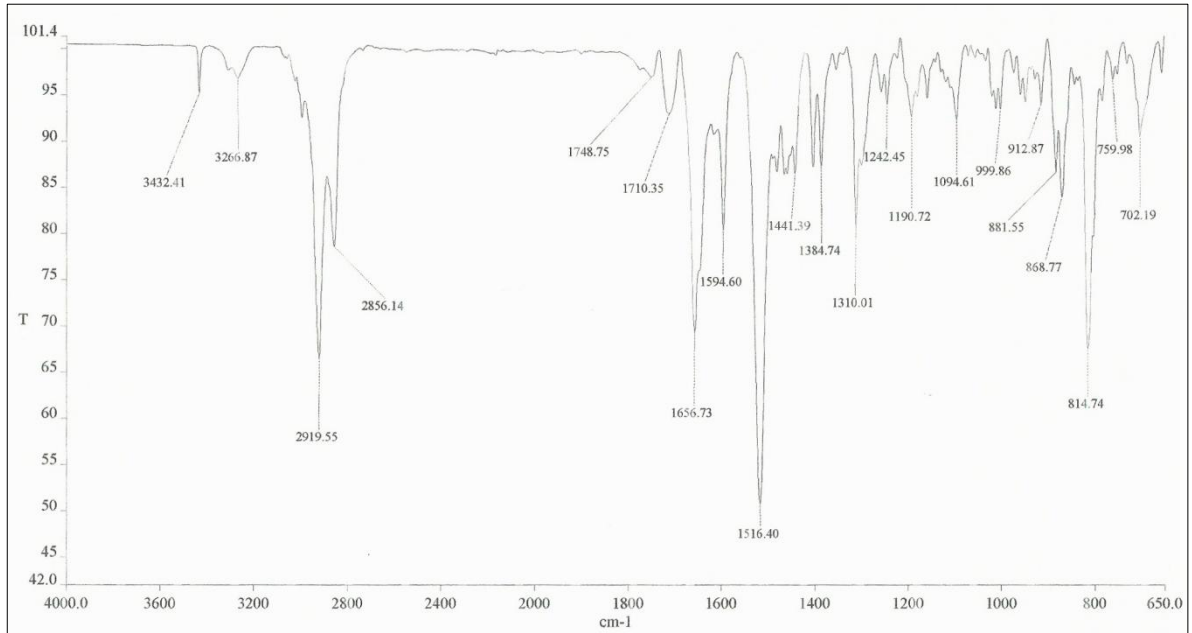
O produto da reação denominado **R1CA1**, foi então caracterizado como sendo o *ent*-caur-16-en-18-*N*-(4-metilfenil)amida, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.



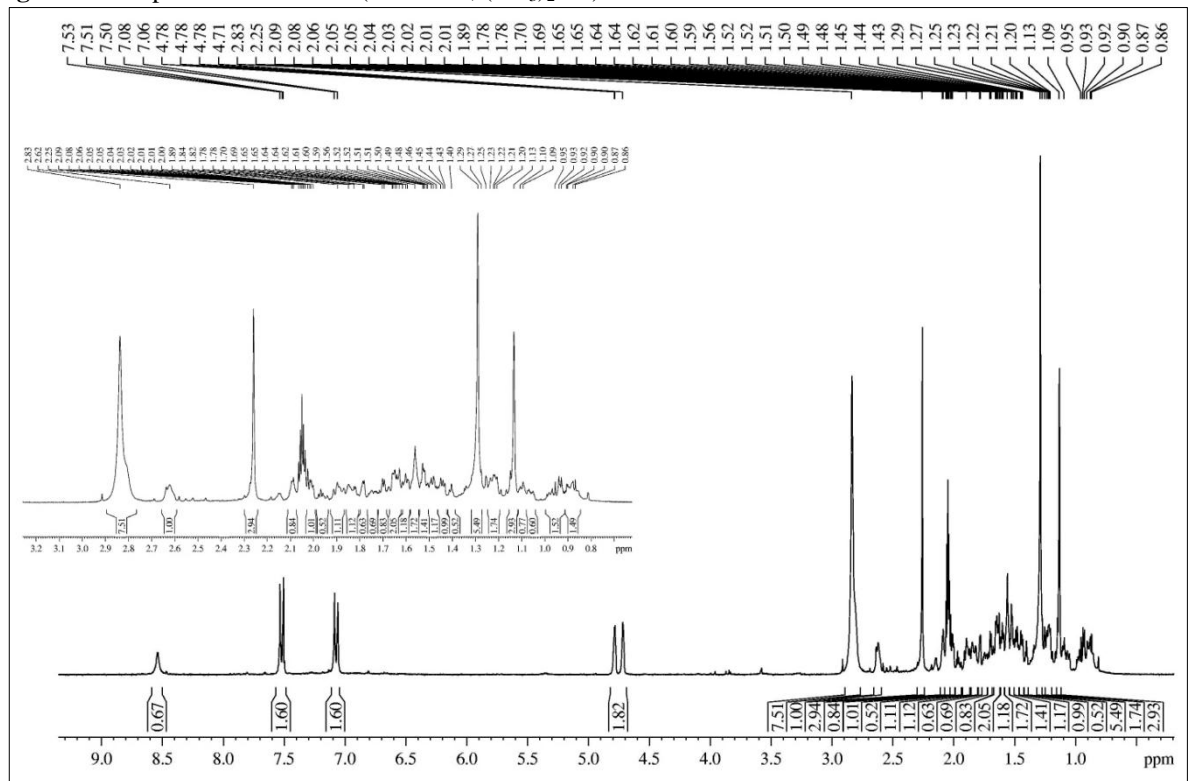
**Tabela 04** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R1CA1** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para **CA-1**

C	HSQC de <b>R1CA1</b>		<b>CA-1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	
1	40,3	1,85 0,94	39,7
2	18,9	1,64 1,56	18,2
3	37,8	1,92 1,54	37,2
4	49,0	-	47,8
5	51,7	1,80	50,3
6	23,5	1,53 1,24	23,5
7	41,7	1,58 1,42	40,8
8	45,2	-	44,5
9	57,1	1,23	56,2
10	39,8	-	38,8
11	18,8	1,64 1,60	18,0
12	34,1	1,70 1,47	33,4
13	45,0	2,62 (sl)	44,1
14	40,5	2,03 1,08	40,0
15	50,0	2,10 1,98	49,2
16	156,4	-	155,9
17	103,7	4,78 (sl) 4,71 (sl)	103,3
18	177,5	-	186,1
19	17,1	1,29 (s)	16,3
20	18,6	1,13 (s)	18,1
1'	138,0	-	-
2'	121,5	7,52	-
3'	129,8	7,07	-
4'	133,5	-	-
5'	129,8	7,07	-
6'	121,5	7,52	-
1''	20,9	2,25	-

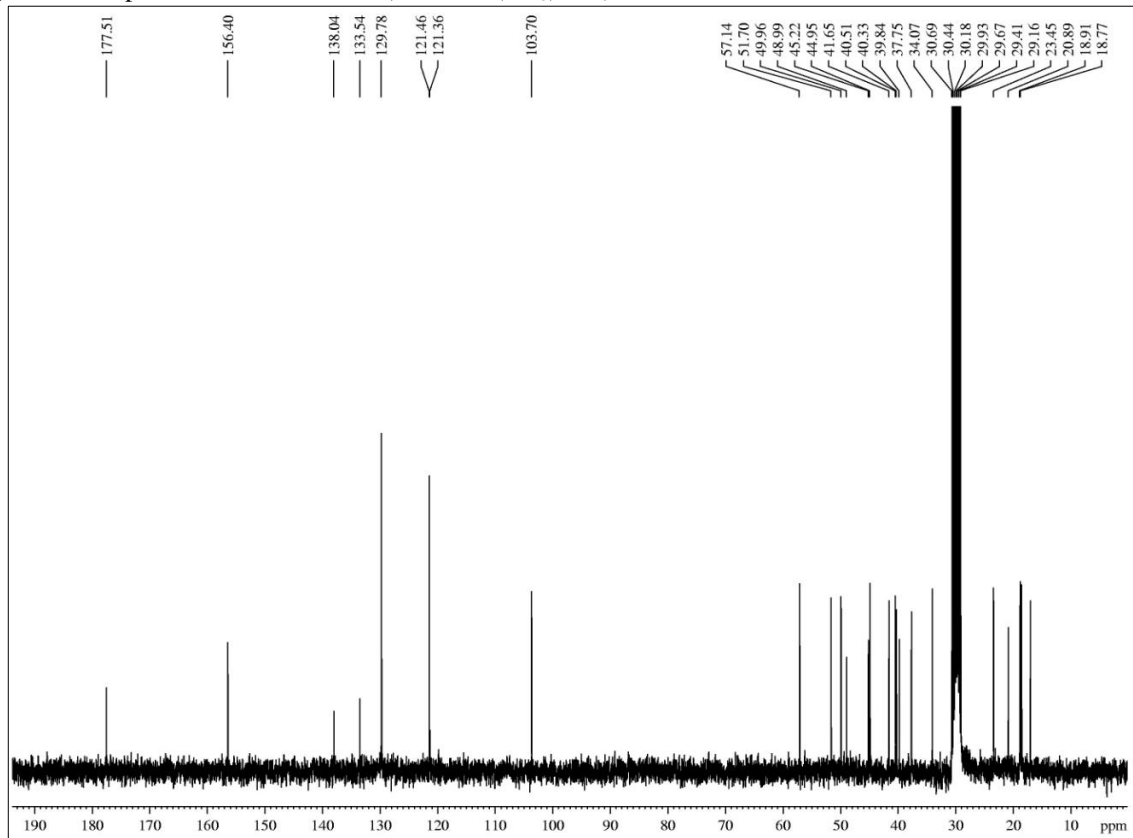
**Figura 19** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **R1CA1**



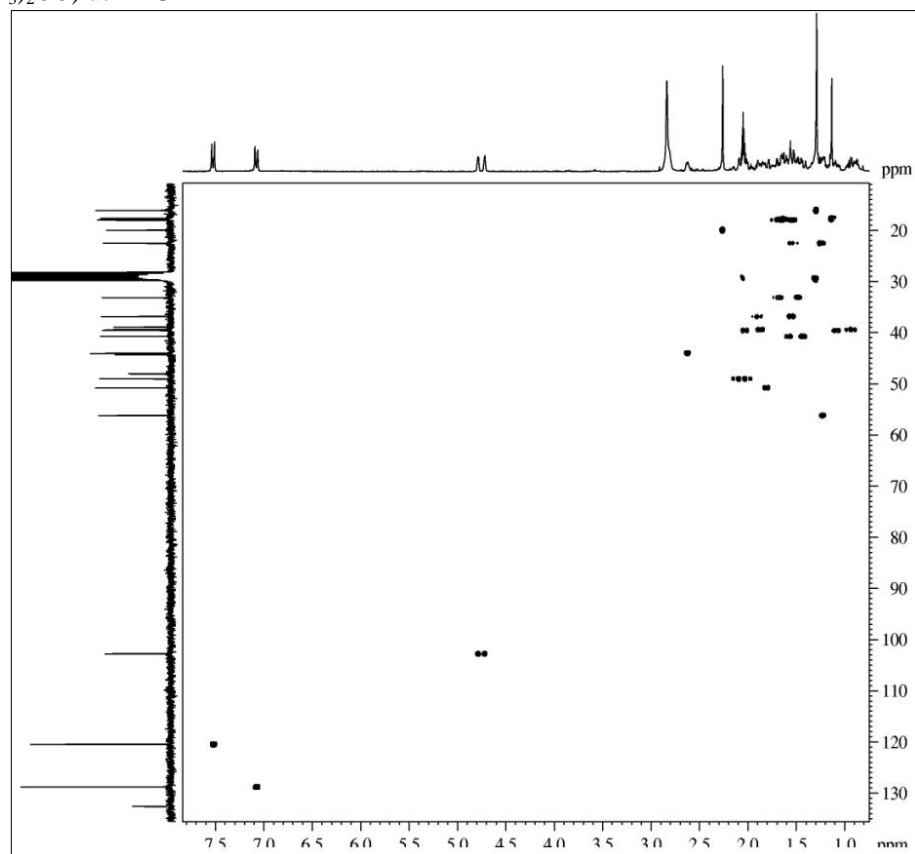
**Figura 20** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R1CA1**



**Figura 21** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R1CA1**



**Figura 22** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R1CA1**





#### 4.1.1.2 Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a *p*-cloroanilina - Determinação Estrutural de **R2CA1**

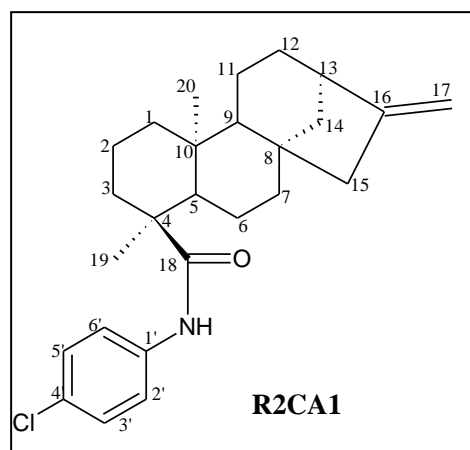
O espectro de absorção na região de infravermelho de **R2CA1** (fig. 23, p. 89), quando comparado ao de **CA-1** (fig. 11, p. 79), não apresentou a absorção entre 3200 e 2800 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação O-H de ácido carboxílico. No entanto, esse espectro revelou uma absorção adicional em 3264 cm<sup>-1</sup>, de deformação axial da ligação N-H de amidas, além de uma banda em 1514 cm<sup>-1</sup> de deformação angular da ligação N-H, bem como bandas entre 900 cm<sup>-1</sup> e 680 cm<sup>-1</sup> referentes a deformação angular fora do plano das ligações C-H de anel aromático.

No espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) de **R2CA1** (fig. 24, p. 89), foram observados sinais em δ<sub>H</sub> 7,28 (H-3' e H-5') e 7,68 (H-2' e H-6'), característicos de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos de anéis *para* substituídos, além de um sinal em δ<sub>H</sub> 8,76 (sl), associado a hidrogênio ligado a nitrogênio.

A análise comparativa dos espectros de RMN <sup>13</sup>C-BB (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) de **R2CA1** (fig. 25, p. 90) e de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **CA-1** (fig. 13, p. 80), revelou a presença dos sinais referentes aos carbonos pertencentes ao anel aromático, em δ<sub>C</sub> 122,8 (C-2' e C-6') e 129,3 (C-3' e 5'), ambos associados a dois carbonos magneticamente equivalentes, além dos sinais de carbonos não-hidrogenados em δ<sub>H</sub> 139,4 (C-1') e δ<sub>C</sub> 128,6 (C-4') totalizando, juntamente com os outros sinais, 26 átomos de carbono.

A atribuição dos sinais referentes aos hidrogênios a cada carbono de **R2CA1** foi realizada pela comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-1** e da análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) a uma ligação (HSQC) de **R2CA1** (fig. 26, p. 90), conforme a **Tabela 05** (p. 88).

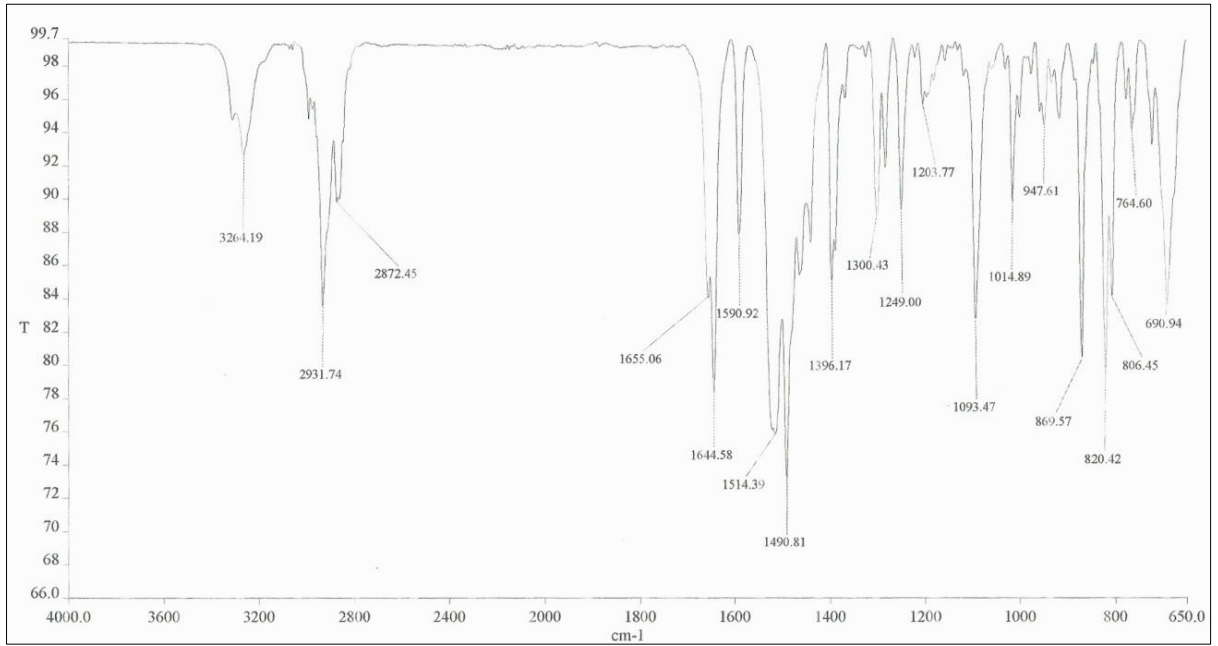
O produto obtido denominado de **R2CA1**, foi caracterizado como sendo o *ent*-caur-16-en-18-*N*-(4-clorofenil)amida, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.



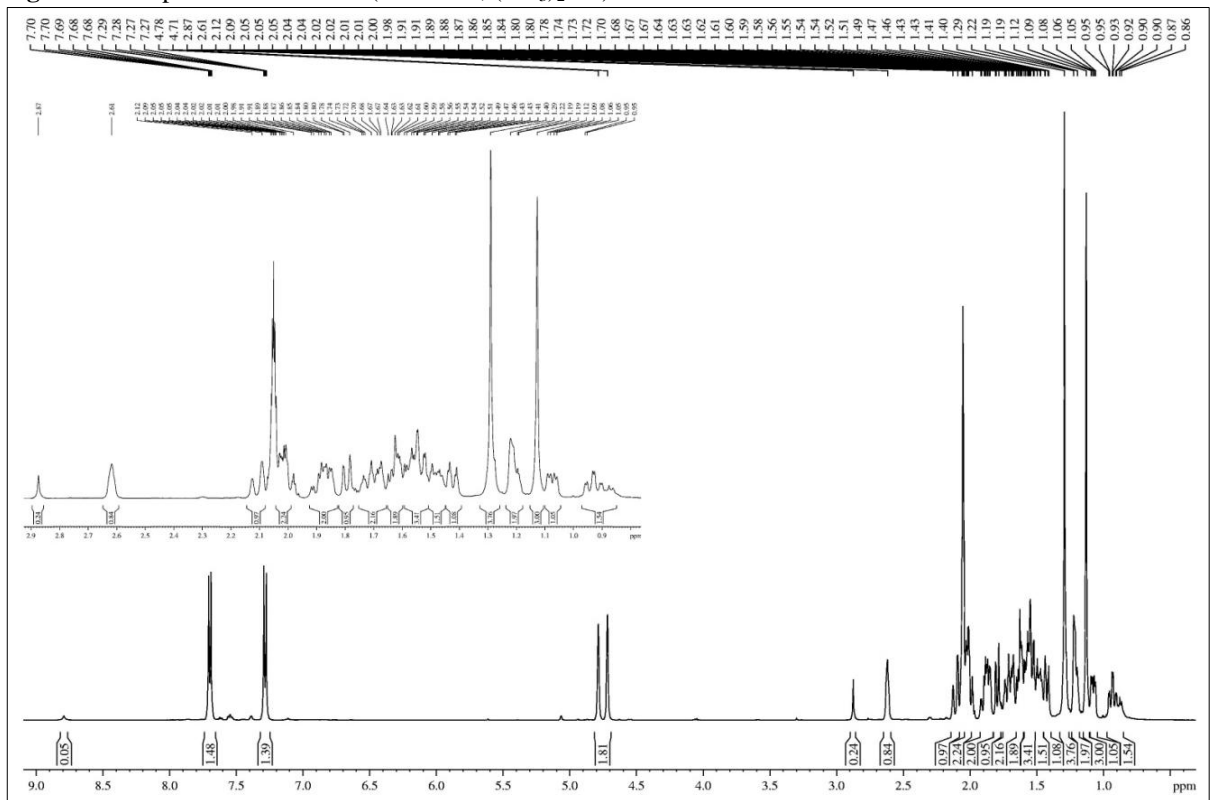
**Tabela 05** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R2CA1** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para **CA-1**

C	HSQC de <b>R2CA1</b>		CA-1 ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	
1	40,2	1,84 0,95	39,7
2	18,8	1,64 1,56	18,2
3	37,7	1,92 1,54	37,2
4	49,1	-	47,8
5	51,6	1,80	50,3
6	23,5	1,54 1,24	23,5
7	41,6	1,59 1,44	40,8
8	45,2	-	44,5
9	57,1	1,22	56,2
10	39,8	-	38,8
11	18,7	1,62 1,60	18,0
12	34,0	1,69 1,46	33,4
13	44,9	2,61 (sl)	44,1
14	41,0	2,03 1,08	40,0
15	49,9	2,11 1,98	49,2
16	156,3	-	155,9
17	103,7	4,78 (sl) 4,71 (sl)	103,3
18	177,9	-	186,1
19	17,0	1,29 (s)	16,3
20	18,6	1,12 (s)	18,1
1'	139,4	-	-
2'	122,8	7,68	-
3'	129,3	7,28	-
4'	128,6	-	-
5'	129,3	7,28	-
6'	122,8	7,68	-

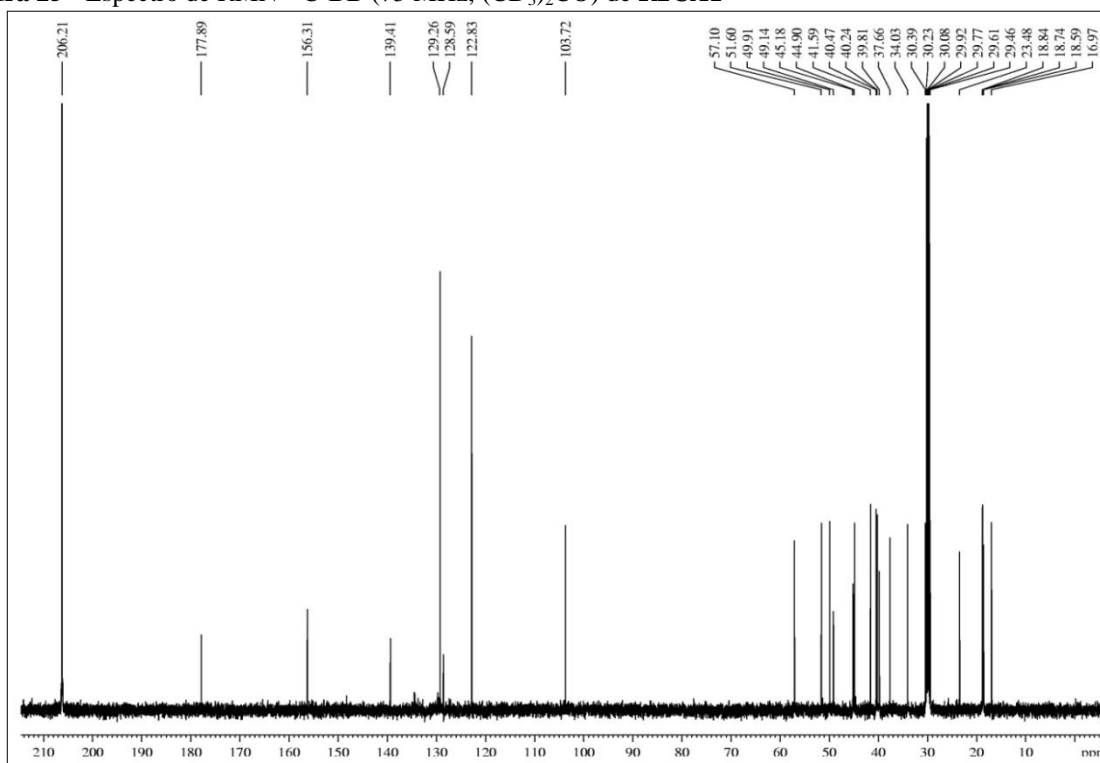
**Figura 23** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **R2CA1**



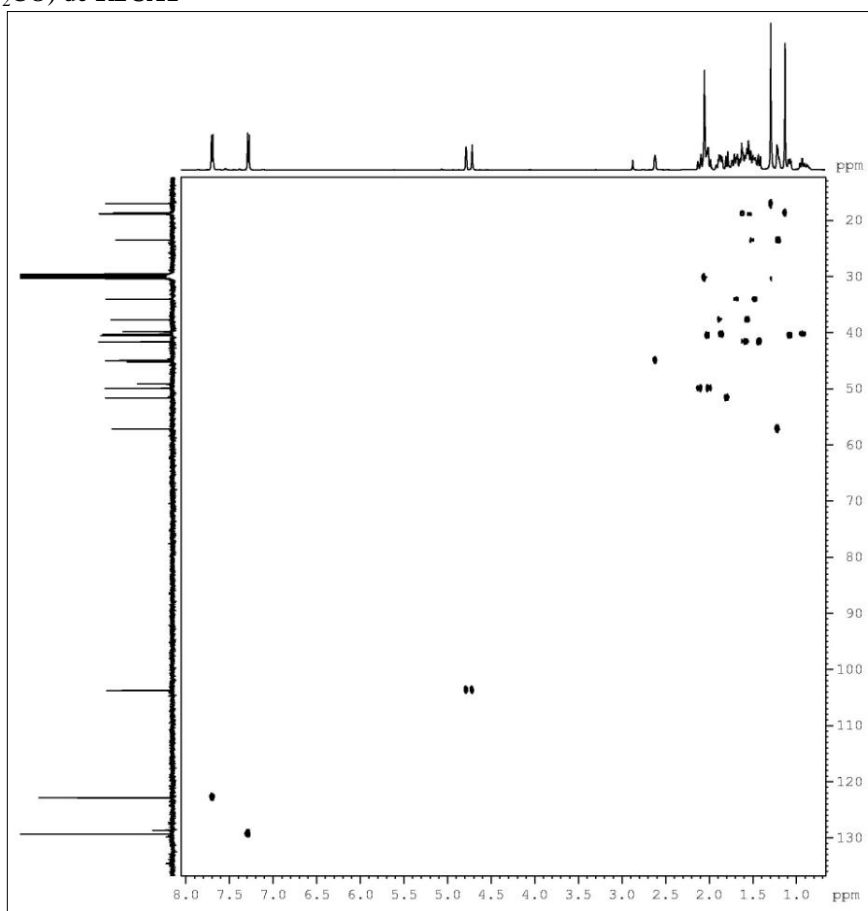
**Figura 24** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R2CA1**



**Figura 25** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R2CA1**



**Figura 26** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R2CA1**



#### 4.1.1.3 Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a anilina - Determinação Estrutural de R3CA1

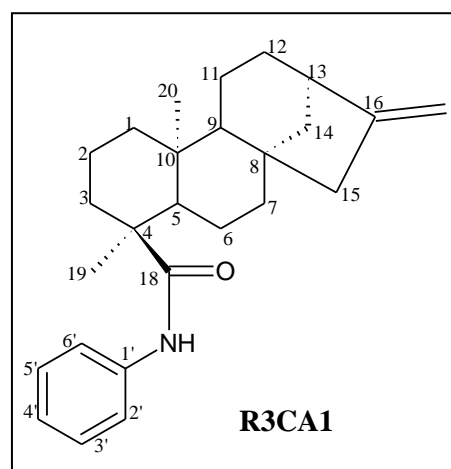
O espectro de absorção na região de infravermelho de **R3CA1** (fig. 27, p. 93), assim como **R1CA1** e **R2CA1**, não apresentou a absorção referente a deformação axial de ligação O-H de ácido carboxílico. Este espectro revelou ainda uma absorção em  $3267\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial da ligação N-H de amidas, além de uma banda em  $1526\text{ cm}^{-1}$  de deformação angular da ligação N-H, bem como o surgimento de bandas entre  $900\text{ cm}^{-1}$  e  $680\text{ cm}^{-1}$  referentes a deformação angular fora do plano das ligações C-H de anel aromático.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R3CA1** (fig. 28, p. 93), mostrou sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,67 (H-2' e H-6'), 7,27 (H-3' e H-5') e 7,03 (H-4'), característicos de hidrogênios ligados a anel aromático monossustituído, além de um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  8,61 (1H, sl), associado a hidrogênio ligado a nitrogênio.

A comparação realizada entre os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R3CA1** (fig. 29, p. 94) e RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-1** (fig. 13, p. 80), revelou a presença dos sinais referentes aos carbonos pertencentes ao anel aromático em  $\delta_{\text{C}}$  121,4 (C-2' e C-6'), 124,3 (C-4'), 129,3 (C-3' e C-5') e em  $\delta_{\text{H}}$  140,6 (C-1').

A análise detalhada do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **R3CA1** (fig. 30, p. 94), juntamente com a comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-1**, possibilitou realizar a inequívoca correlação dos deslocamentos químicos dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) aos seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ) conforme mostrado na **Tabela 06** (p. 92).

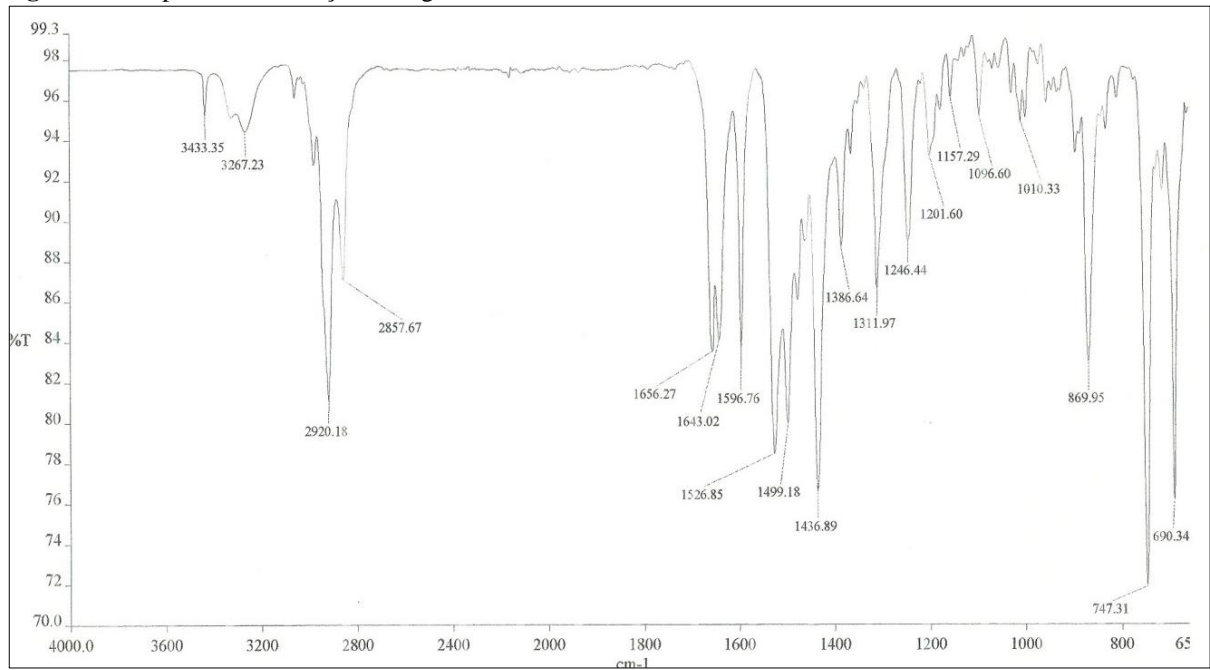
O produto da reação de substituição nucleofílica denominado **R3CA1**, foi caracterizado como sendo o *ent*-caur-16-en-18-*N*-fenilamida, que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.



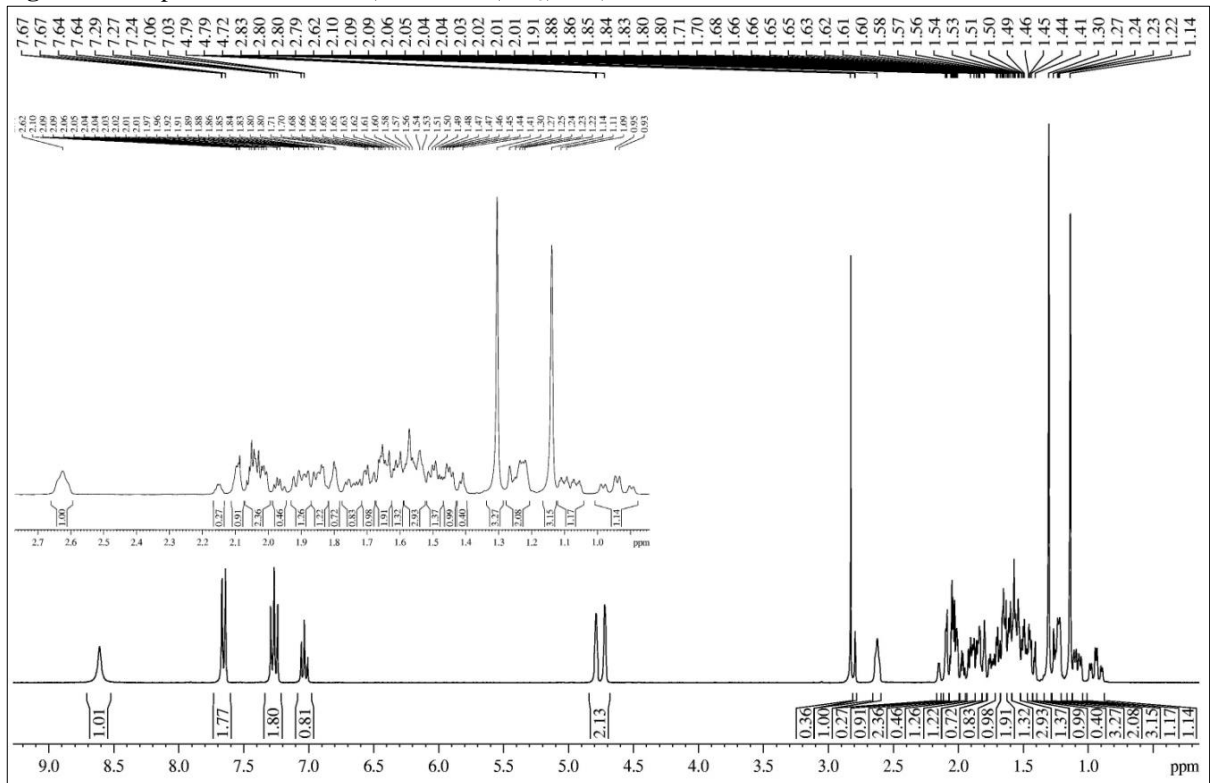
**Tabela 06** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R3CA1** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para **CA-1**

C	HSQC de <b>R3CA1</b>		<b>CA-1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	
1	40,3	1,87 0,94	39,7
2	18,9	1,64 1,54	18,2
3	37,8	1,91 1,55	37,2
4	49,1	-	47,8
5	51,7	1,82	50,3
6	23,5	1,56 1,25	23,5
7	41,6	1,62 1,45	40,8
8	45,2	-	44,5
9	57,1	1,23	56,2
10	39,9	-	38,8
11	18,8	1,62 1,59	18,0
12	34,1	1,69 1,48	33,4
13	45,0	2,62 (sl)	44,1
14	40,5	2,01 1,08	40,0
15	50,0	2,12 1,98	49,2
16	156,4	-	155,9
17	103,7	4,79 (sl) 4,72 (sl)	103,3
18	177,7	-	186,1
19	17,1	1,30 (s)	16,3
20	18,6	1,14 (s)	18,1
1'	140,6	-	-
2'	121,4	7,67	-
3'	129,3	7,27	-
4'	124,3	7,03	-
5'	129,3	7,27	-
6'	121,4	7,67	-

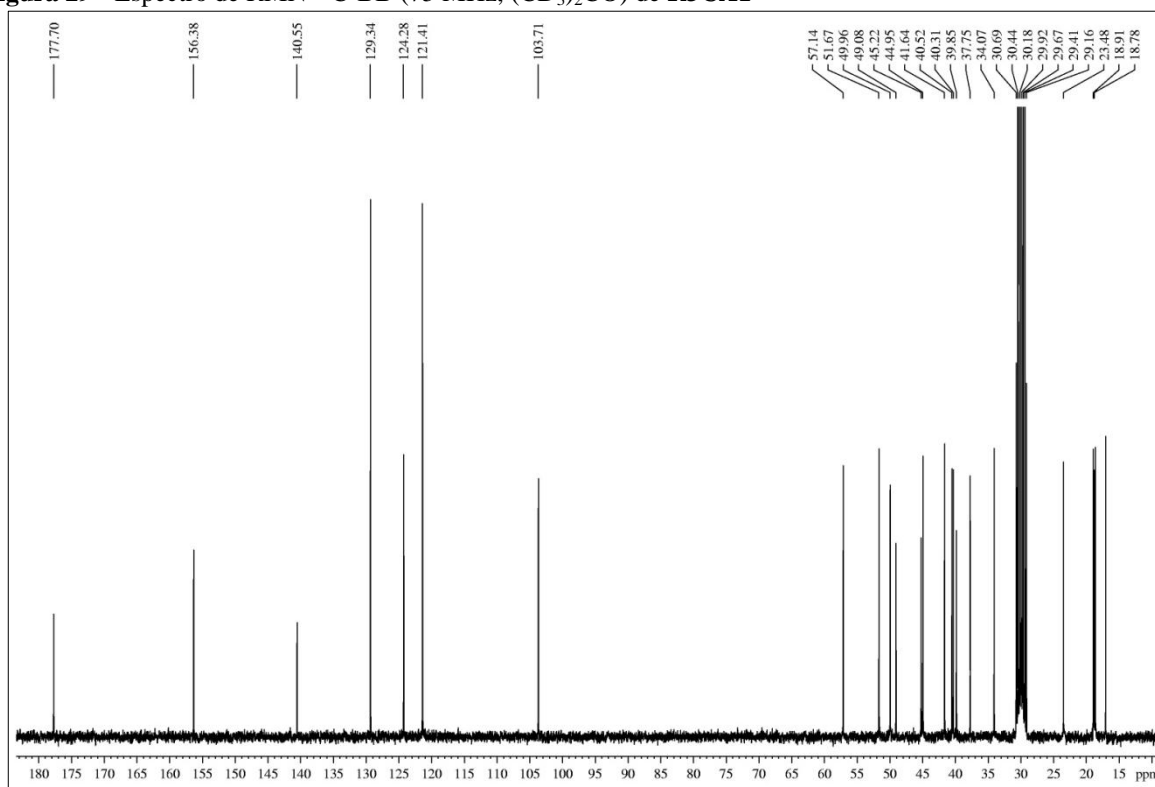
**Figura 27** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **R3CA1**



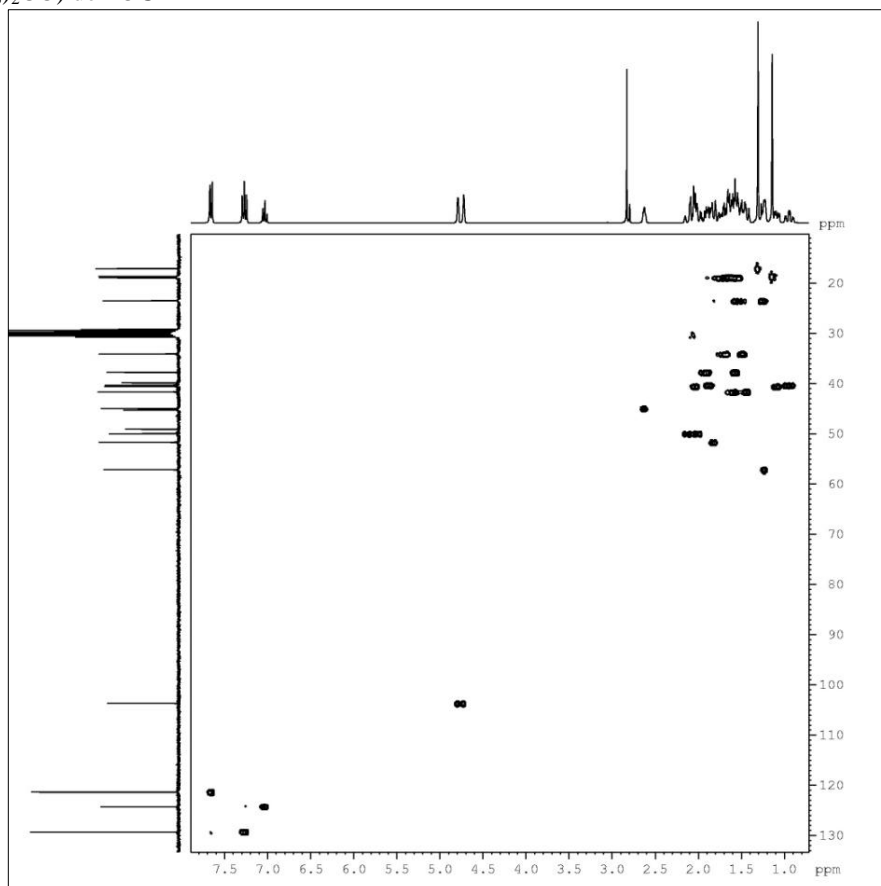
**Figura 28** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) de **R3CA1**



**Figura 29** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R3CA1**



**Figura 30** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R3CA1**





#### 4.1.1.4 Reação de Substituição Nucleofílica utilizando a *p*-anisidina - Determinação Estrutural de **R4CA1**

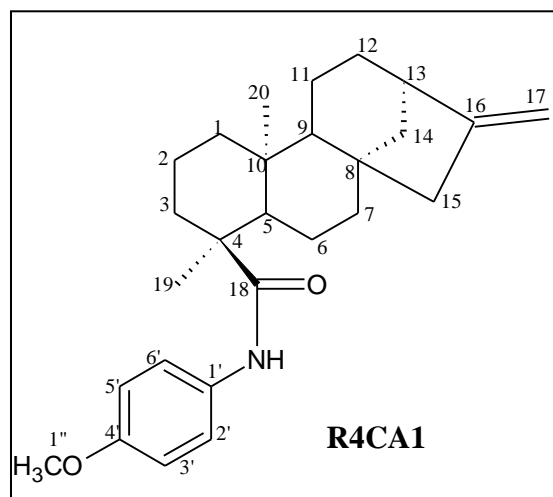
O espectro de absorção na região de infravermelho de **R4CA1** (fig. 31, p. 97) não apresentou a absorção referente a deformação axial de ligação O-H de ácido carboxílico, porém, apresentou absorção em  $3277\text{ cm}^{-1}$  de deformação axial da ligação N-H de amidas. De maneira análoga aos outros derivados, foram observadas bandas em  $1509\text{ cm}^{-1}$  de deformação angular da ligação N-H, e entre  $900\text{ cm}^{-1}$  e  $680\text{ cm}^{-1}$  referentes a deformação angular fora do plano das ligações C-H de anel aromático.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R4CA1** (fig. 32, p. 97), revelou a presença dos sinais característicos de hidrogênios ligados a anel aromático *para* substituído em  $\delta_{\text{H}}$  7,53 (H-2' e H-6') e 6,84 (H-3' e H-5'). O espectro apresentou ainda um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  8,51 (sl), associado a hidrogênio ligado a nitrogênio, além de um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,75 (3H-1'', s), relacionado a hidrogênios de um grupo metoxila.

A comparação entre o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R4CA1** (fig. 33, p. 98), com os dados de carbono-13 de **CA-1**, revelou a presença dos sinais adicionais referentes aos carbonos pertencentes ao anel aromático em  $\delta_{\text{C}}$  113,5 (C-3' e C-5'), 122,2 (C-2' e C-6'), 132,6 (C-1') e 156,0 (C-1'). O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB mostrou ainda um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  54,76, referente a carbono metílico oxigenado.

Através da análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a uma ligação (HSQC) de **R4CA1** (fig. 34, p. 98), em conjunto com os dados obtidos para **CA-1**, foi possível realizar os assinalamentos inequívocos de cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 07** (p. 96).

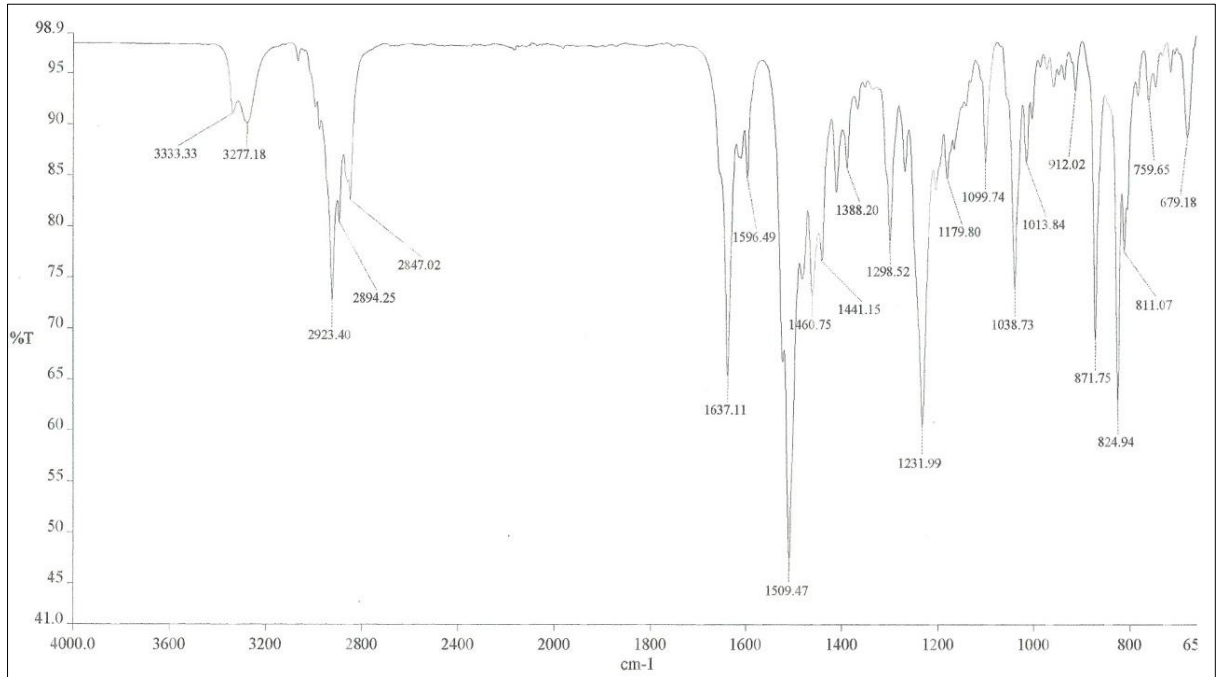
A amida obtida denominada **R4CA1**, foi caracterizada como sendo o *ent*-caur-16-en-18-*N*-(4-metoxifenil)amida, que está sendo relatada pela primeira vez na literatura



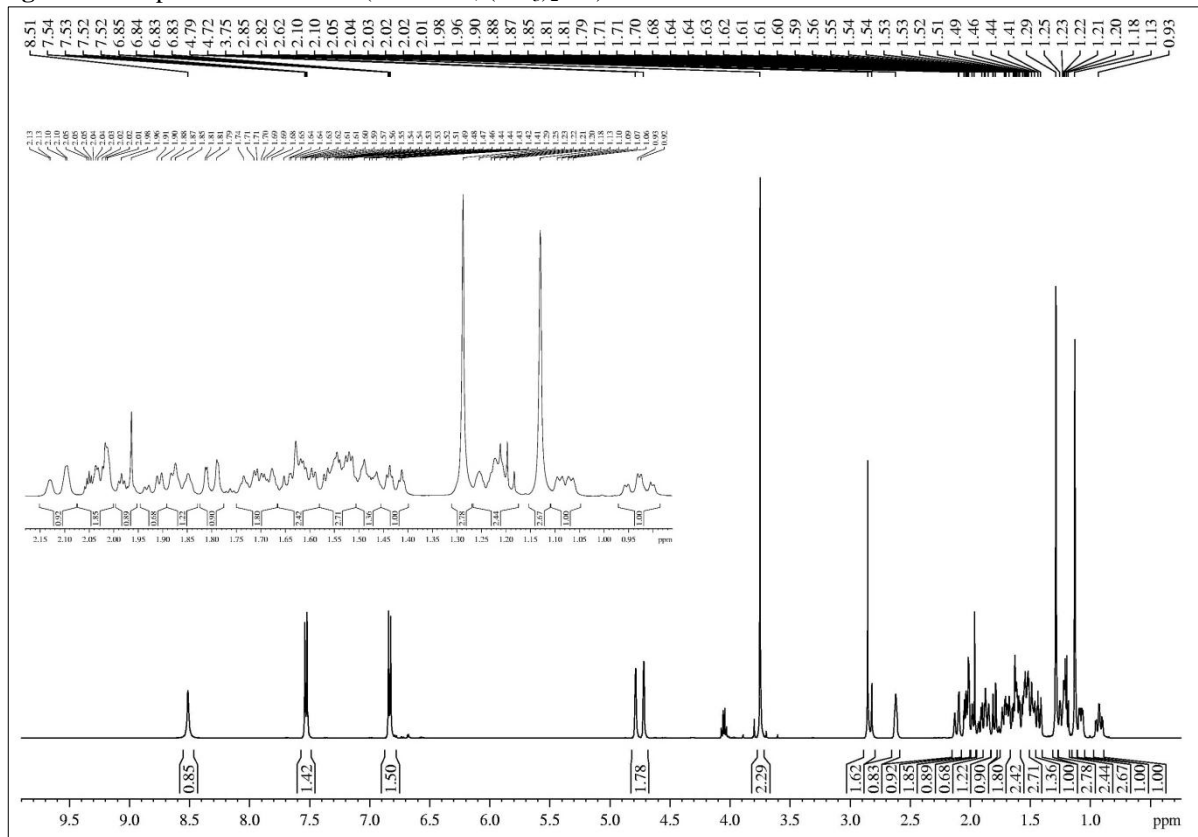
**Tabela 07** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R4CA1** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para **CA-1**

C	HSQC de <b>R4CA1</b>		<b>CA-1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm)	
1	39,4	1,86 0,92	39,7
2	17,9	1,65 1,56	18,2
3	36,8	1,91 1,53	37,2
4	47,9	-	47,8
5	50,7	1,80	50,3
6	22,5	1,52 1,24	23,5
7	40,7	1,58 1,43	40,8
8	44,2	-	44,5
9	56,2	1,22	56,2
10	35,9	-	38,8
11	17,8	1,62 1,60	18,0
12	33,1	1,70 1,46	33,4
13	44,0	2,62 (sl)	44,1
14	39,5	2,02 1,08	40,0
15	49,0	2,11 1,98	49,2
16	155,4	-	155,9
17	102,7	4,79 (sl) 4,72 (sl)	103,3
18	176,4	-	186,1
19	16,1	1,29 (s)	16,3
20	17,6	1,13 (s)	18,1
1'	132,6	-	-
2'	122,2	7,53	-
3'	113,5	6,84	-
4'	156,0	-	-
5'	113,5	6,84	-
6'	122,2	7,53	-
1''	54,8	3,75 (s)	-

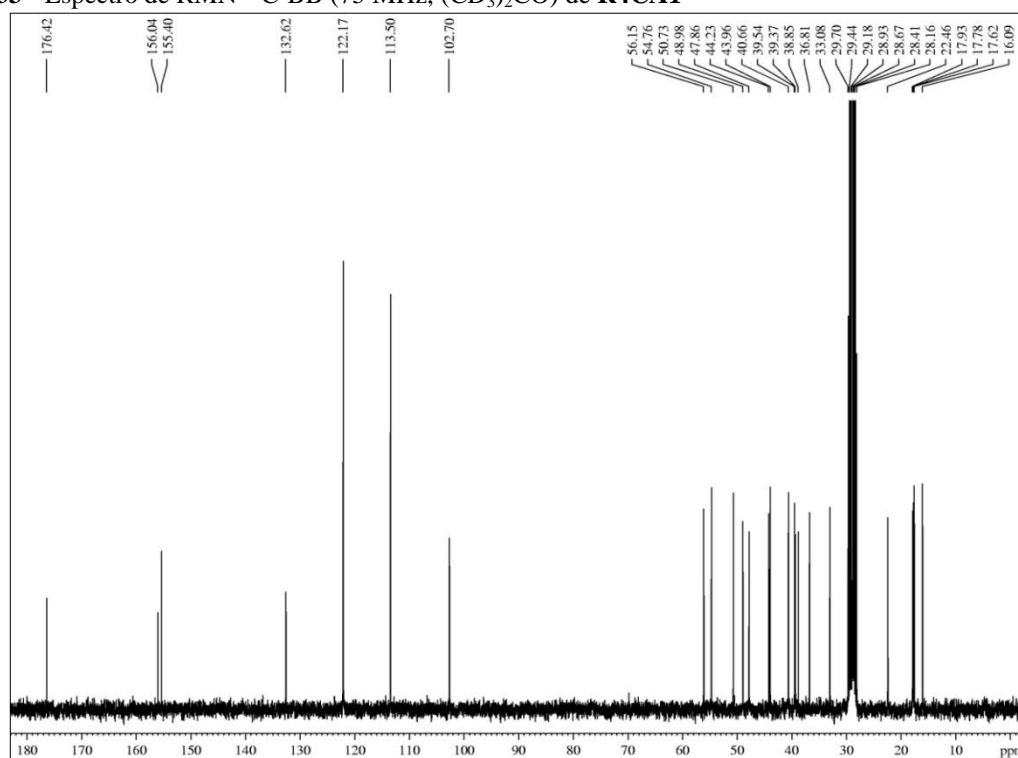
**Figura 31** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **R4CA1**



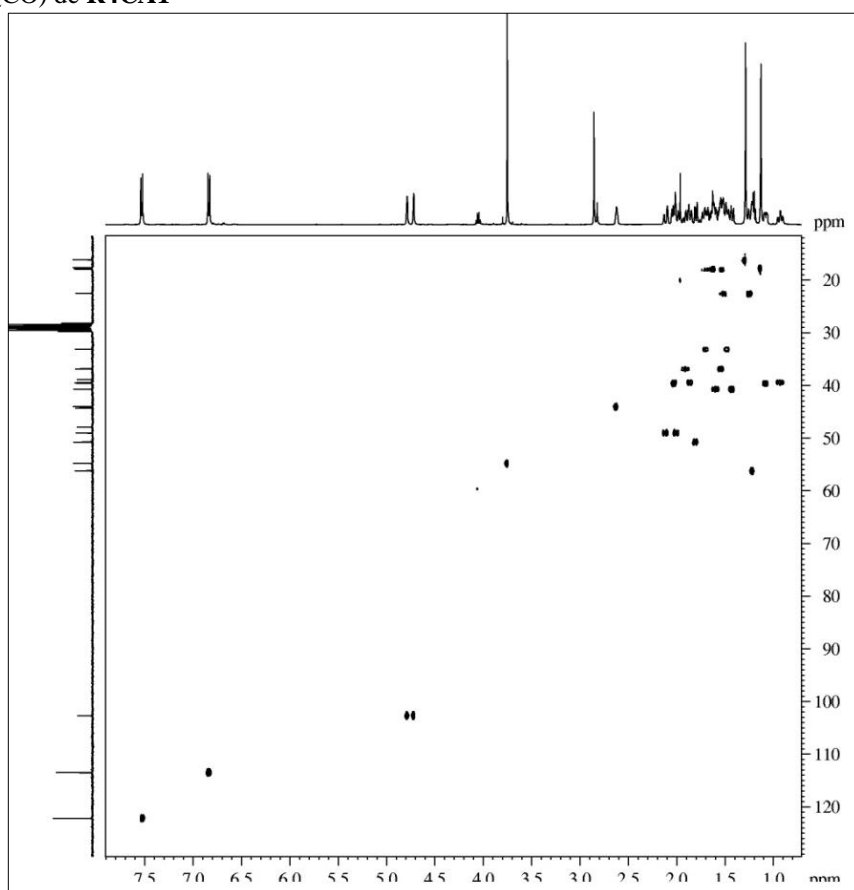
**Figura 32** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R4CA1**



**Figura 33** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R4CA1**



**Figura 34** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **R4CA1**



#### 4.1.1.5 Reação de Metilação de CA-1 - Determinação Estrutural de CA1-ME

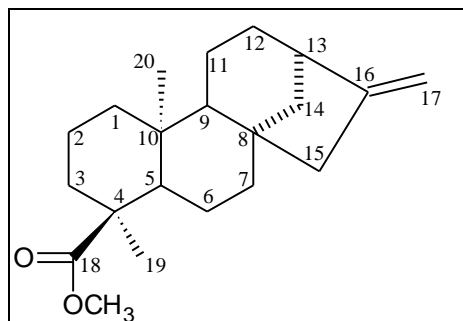
A reação de metilação de **CA-1** levou a obtenção de um sólido cristalino com p.f = 126,0 – 128,1 °C, denominado de **CA1-ME** (item 5.6.2, p. 264).

Comparação dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA1-ME** (fig. 35, p. 101) e **CA-1** (fig. 12, p. 79), revelou um sinal intenso em  $\delta_{\text{H}}$  3,65 (3H, s) associado aos hidrogênios de grupo metoxila. Os demais sinais apresentaram similaridade com os deslocamentos químicos obtidos para **CA-1**.

A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  - BB ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) (fig. 36 p. 101) e DEPT 135° de **CA1-ME** (fig. 37 p. 102) com os de **CA-1**, revelou a presença do sinal adicional, referente ao carbono  $\text{sp}^3$  ligado a oxigênio de grupo metoxila, em  $\delta_{\text{C}}$  52,0. Os demais sinais apresentaram similaridade com os deslocamentos químicos obtidos para o espectro de **CA-1**.

A atribuição dos sinais referentes a cada carbono de **CA1-ME** foi realizada pela comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-1** com os de **CA1-ME**, além da análise dos espectros de HSQC (fig. 38, p. 102) conforme **Tabela 08** (p. 100).

O produto da reação de metilação de **CA-1**, denominado **CA1-ME**, foi caracterizado como sendo o *ent*-caur-16-en-18-oato de metila.

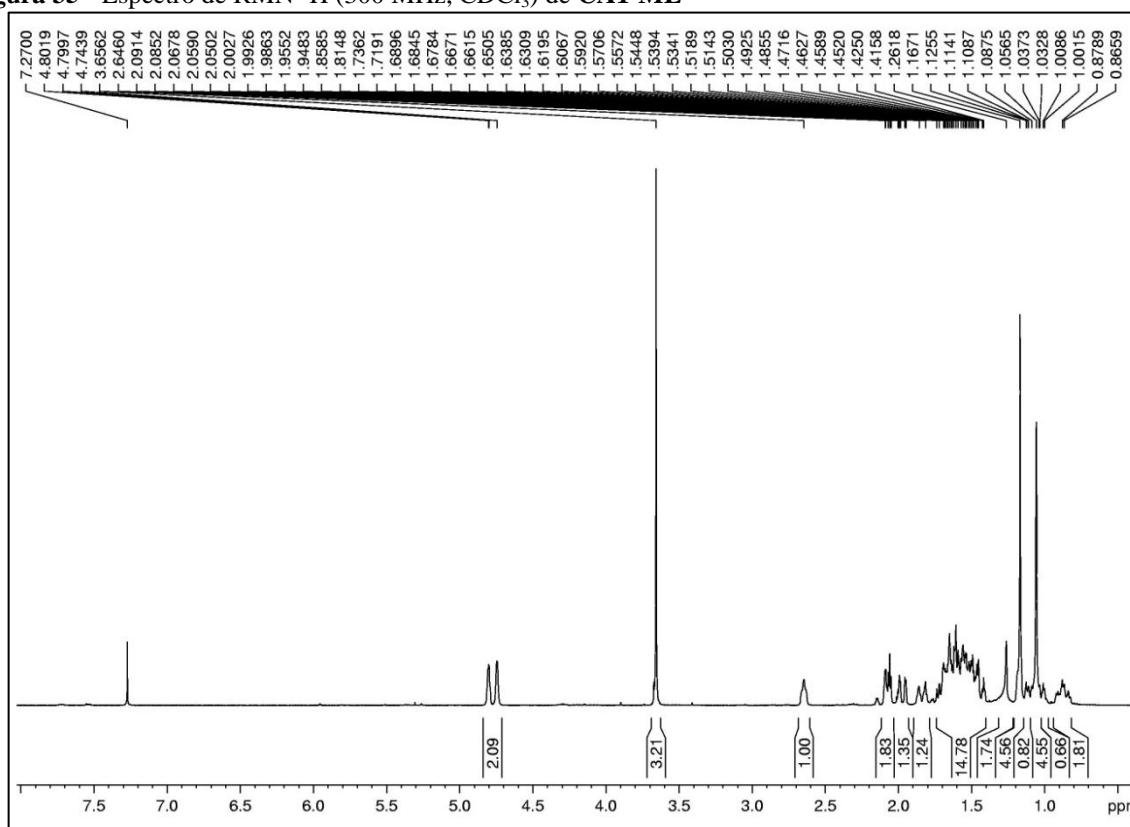


**Tabela 08** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA1-ME** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  para **CA-1**

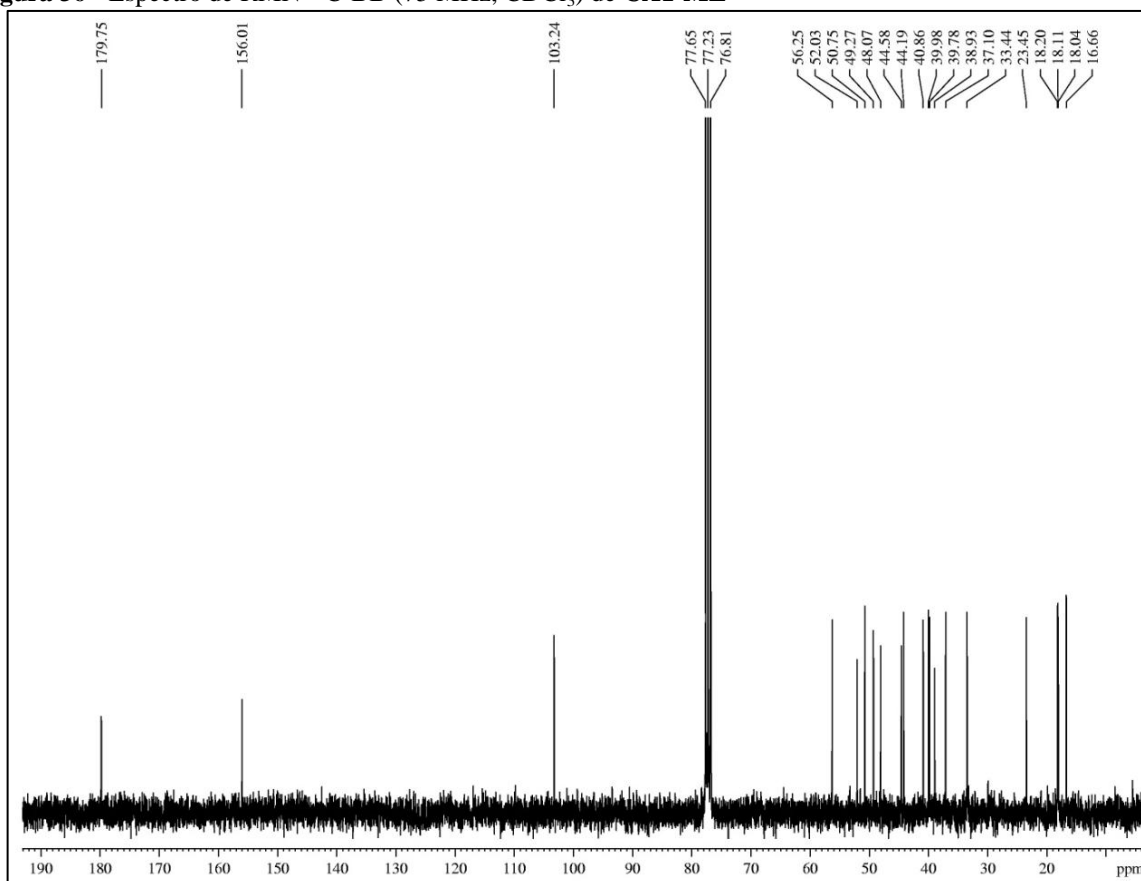
C	HSQC de <b>CA1-ME</b>		<b>CA-1</b> ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	
1	39,8	1,83 (m; 1H)	39,7
		0,87 (m; 1H)	
2	18,2	1,62 (m; 1H)	18,2
		1,58 (m; 1H)	
3	37,1	1,71 (m; 1H)	37,2
		1,53 (m; 1H)	
4	48,1	-	47,8
5	50,8	1,68 (m; 1H)	50,3
6	23,5	1,51 (m; 1H)	23,5
		1,02 (m; 1H)	
7	40,9	1,58 (m; 1H)	40,8
		1,44 (m; 1H)	
8	44,6	-	44,5
9	56,3	1,18 (m; 1H)	56,2
10	38,9	-	38,8
11	18,0	1,64 (m; 1H)	18,0
		1,55 (m; 1H)	
12	33,4	1,66 (m; 1H)	33,4
		1,48 (m; 1H)	
13	44,2	2,64 (sl; 1H)	44,1
14	40,0	1,97 (m; 1H)	40,0
		1,10 (m; 1H)	
15	49,3	2,09 (m; 1H)	49,2
		2,05 (m; 1H)	
16	156,0	-	155,9
17	103,2	4,80 (sl; 1H)	103,3
		4,74 (sl; 1H)	
18	179,8	-	186,1
19	16,7	1,17 (s; 3H)	16,3
20	18,1	1,06 (s; 3H)	18,1
$\text{H}_3\text{CO}-$	52,0	3,65 (s; 3H)	-

\* $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz

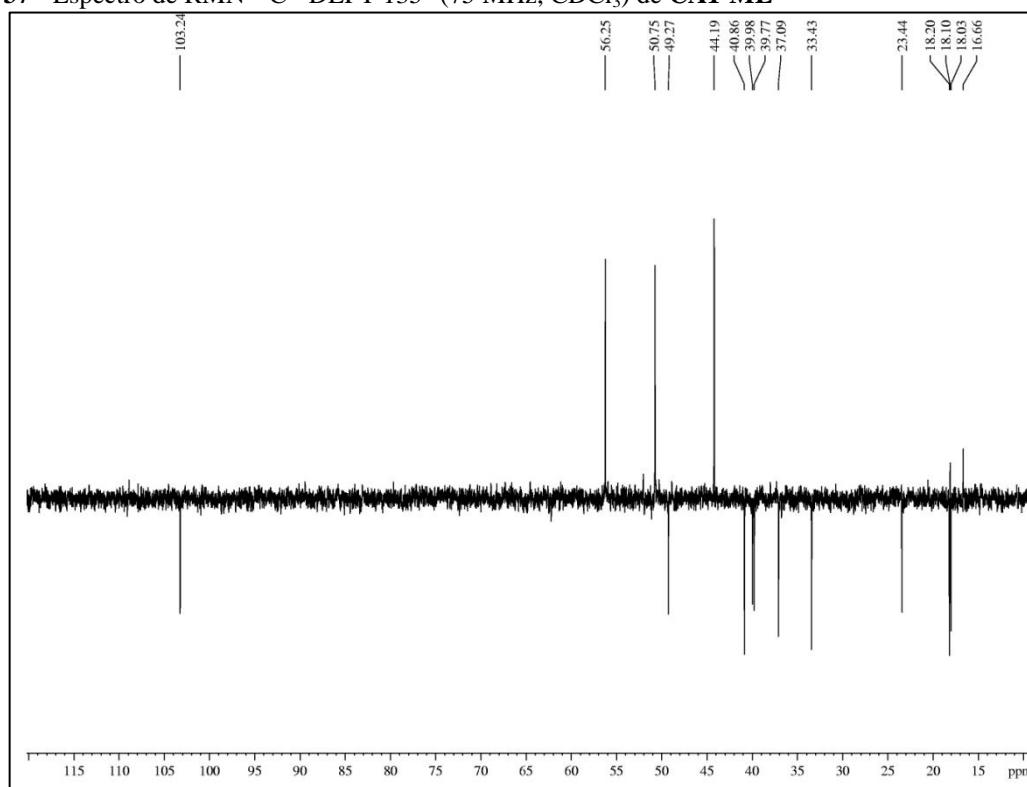
**Figura 35** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA1-ME



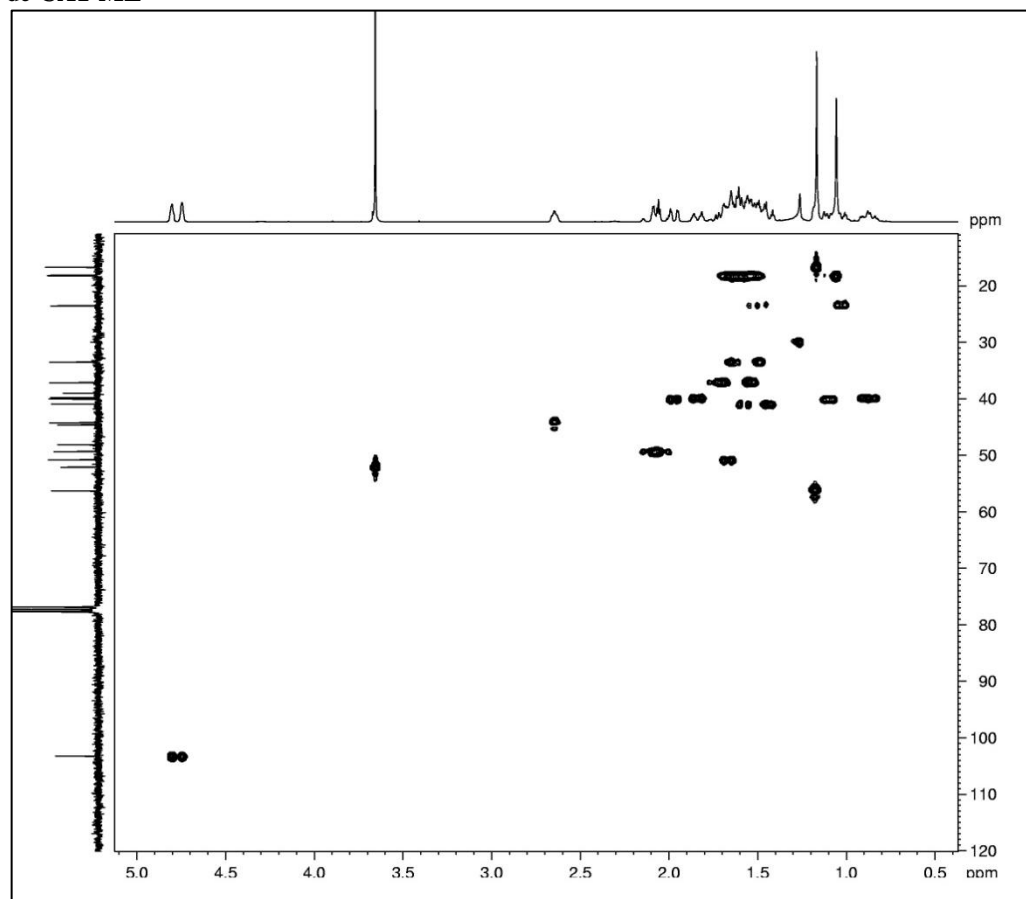
**Figura 36** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA1-ME



**Figura 37** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA1-ME



**Figura 38** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA1-ME





## 4.2 Determinação Estrutural de CA-2

O fracionamento cromatográfico da fração **CLH-4**, utilizando-se gel de sílica ( $\phi_{\text{int}}$  63-200  $\mu\text{m}$ ), possibilitou o isolamento de um sólido cristalino incolor, com  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -87,0^\circ$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), p.f = 202,3 – 204,5  $^\circ\text{C}$ , denominado **CA-2** (item 5.5.2.2, p. 250).

O espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-2** (fig. 41, p. 106) apresentou absorções em 1696  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{C=O}}$ ), 1277  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{C-O}}$ ) e bandas compreendida entre 3200 e 2800  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{O-H}}$  e  $\nu_{\text{Csp}^3\text{-H}}$ ) indicando a presença de um ácido carboxílico.

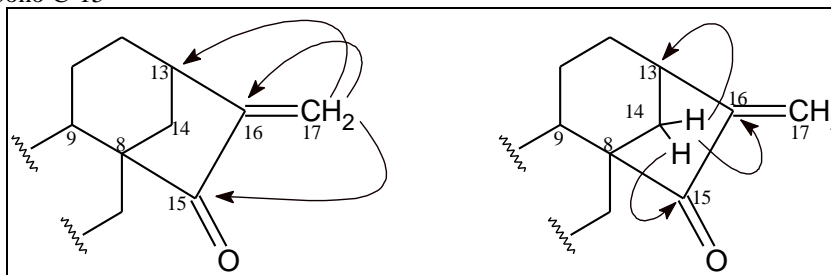
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-2** (fig. 42, p. 106) mostrou dois sinais referentes a grupos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados em  $\delta_{\text{H}}$  1,15 (3H-19, s) e 1,11 (3H-20, s), além de sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,94 (1H-17, sl) e 5,24 (1H-17, sl) na região de hidrogênios olefínicos de uma dupla ligação dissubstituída, e hidrogênios ligados a carbonos saturados na faixa de  $\delta_{\text{H}}$  0,79 a 3,05.

De maneira análoga a **CA-1**, o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-2** (fig. 43, p. 107) também apresentou 20 linhas espectrais, sugerindo um esqueleto diterpênico para este composto. Os deslocamentos químicos dos sinais relativos a estes dois compostos também foram semelhantes, onde a principal diferença observada no espectro de **CA-2** foi a ausência de um grupo metilênico e a presença de um grupo carbonila adicional em  $\delta_{\text{C}}$  210,5, de acordo com as informações fornecidas pelo espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 $^\circ$  de **CA-2** (fig. 44, p. 107).

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-2** (fig. 45, p. 108), possibilitou correlacionar, inequivocamente, os deslocamentos químicos dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ) (tab. 09, p. 105). Nesta análise observou-se as correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,94 e 5,25 (2H-17) com o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  114,2 (C-17), confirmando a presença de uma dupla ligação exocíclica, característica de certos esqueletos cauranos, já observado para **CA-1**.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 46, p. 108), destacaram-se as correlações dos hidrogênios vinílicos em  $\delta_{\text{H}}$  5,94 e 5,24 (2H-17) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  149,5 (C-16), 210,5 (C-15) e 38,2 (C-13) e dos hidrogênios metilênicos centrados em  $\delta_{\text{H}}$  2,38 e 1,36 com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  210,5 (C-15), 149,5 (C-16) e 38,2 (C-13), o que determinou a posição da carbonila cetônica em  $\delta_{\text{C}}$  210,5 no carbono C-15 (fig. 39, p. 104).

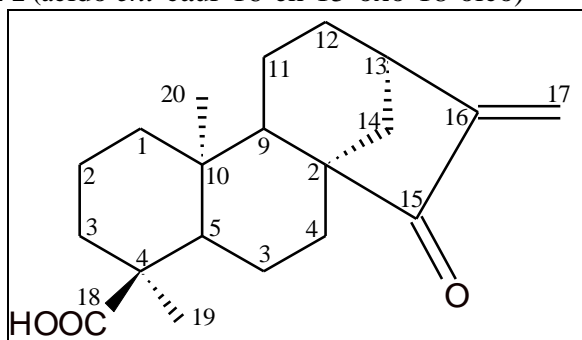
**Figura 39** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-2** para o posicionamento da carbonila no carbono C-15



As diferenças observadas nos deslocamentos químicos dos carbonos da dupla ligação C16-C17, quando comparados às respectivas posições de **CA-1**, puderam ser justificadas pela conjugação desta ligação com a carbonila em C-15 presente em **CA-2**. Em **CA-1** os carbonos C-16 e C-17 apresentaram deslocamentos químicos de  $\delta_C$  155,9 e 103,3, respectivamente, enquanto que em **CA-2** estes carbonos passaram a absorver em  $\delta_C$  149,5 e 114,9, respectivamente.

A análise de todos os dados espectroscópicos obtidos de **CA-2**, bem como a comparação com dados da literatura, possibilitou identificar **CA-2** como o ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico (fig. 40), já isolado de *C. argyrophylloides* (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988) e *C. tonkinensis* (GIANG *et al.*, 2005) para o gênero. De forma análoga a **CA-1**, **CA-2** também apresentou valor negativo de rotação óptica em  $[\alpha]_D^{20} = -87,0^\circ$  e, desta forma, também foi classificado na série *enantio*.

**Figura 40** - Estrutura de **CA-2** (ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico)



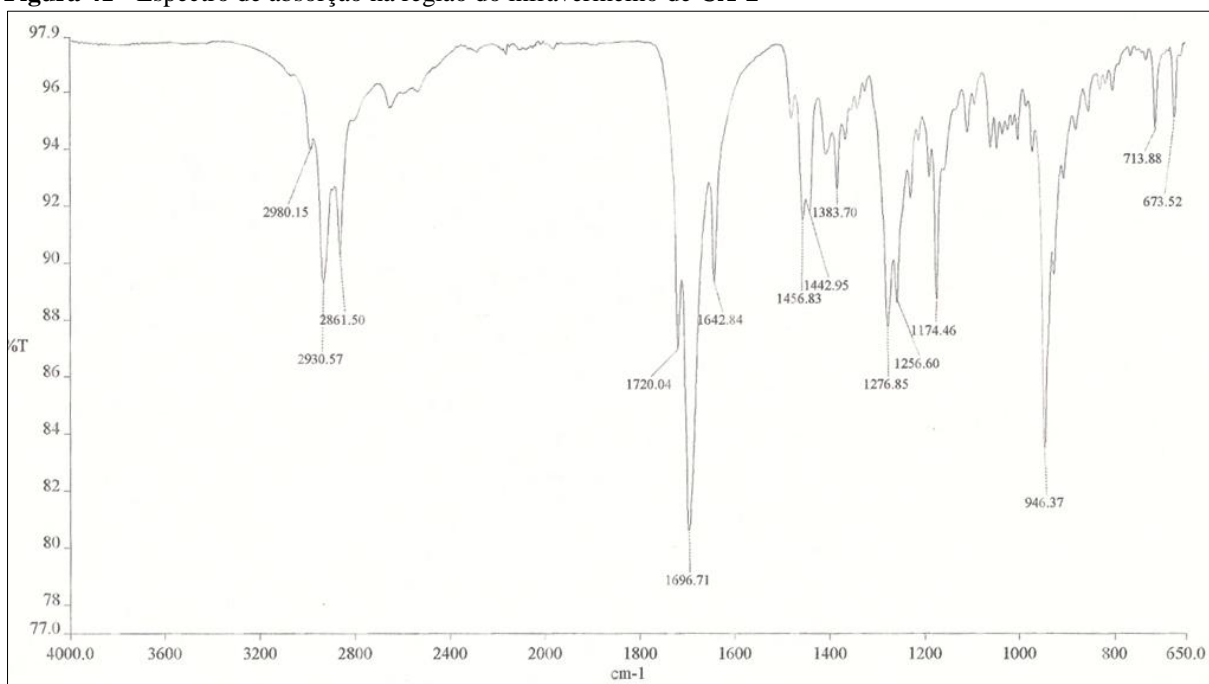
A literatura relata para o ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico atividade citotóxica frente às células HL-60 (leucemia), MDA-MB-435 (melanoma), SF-295 (glioblastoma), e HCT-8 (carcinoma) (SANTOS *et al.*, 2009).

**Tabela 09** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-2** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura para o ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988)

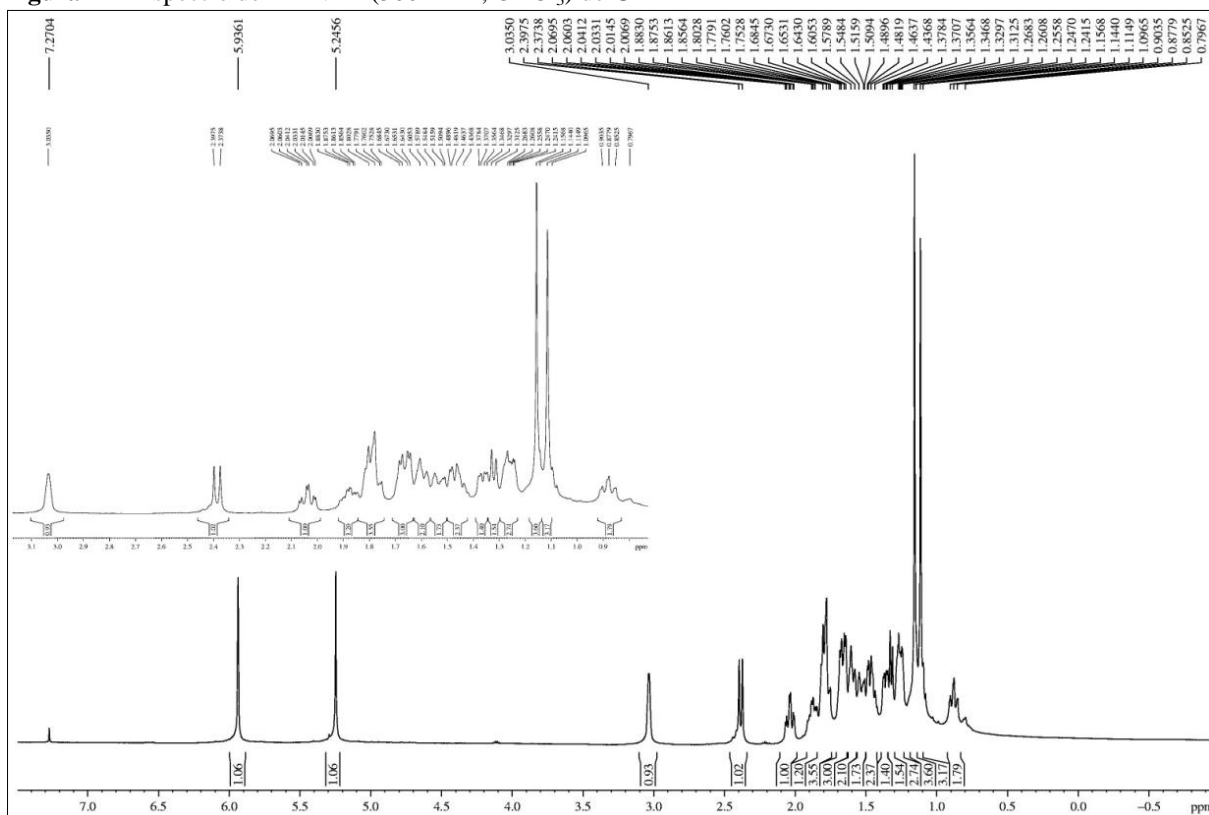
C	HSQC		HMBC		MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	38,9	1,80 (m; 1H) 0,88 (m; 1H)	1H-2b	3H-20	38,7
2	18,2	1,66 (m; 1H) 1,48 (m; 1H)	2H-1; 1H-3b	-	18,0
3	36,9	1,79 (m; 1H) 1,58 (m; 1H)	-	3H-19	36,8
4	47,6	-	1H-5	-	47,6
5	49,5	1,78 (m; 1H)	-	-	49,3
6	21,7	1,44 (m; 1H) 1,27 (m; 1H)	1H-7a; 1H-5	-	21,7
7	33,2	2,05 (td; 14,15 e 4,6; 1H) 1,24 (m; 1H)	-	1H-9; 1H-5	33,0
8	52,7	-	2H-14	1H-11a	52,7
9	52,6	1,33 (m; 1H)	1H-11a	2H-14	52,4
10	39,5	-	1H-9	-	39,5
11	17,8	1,64 (m; 1H) 1,53 (m; 1H)	-	-	17,8
12	32,5	1,88 (m; 1H) 1,67 (m; 1H)	-	1H-14b	32,3
13	38,3	3,03 (sl; 1H)	1H-14	2H-17; 1H-11b	38,1
14	36,8	2,38 (d; 11,8; 1H) 1,36 (dd; 11,0 e 3,85; 1H)	-	-	36,6
15	210,6	-	-	2H-14a; 2H-17	210,4
16	149,5	-	2H-17	1H-14b; 1H-12a	149,3
17	114,9	5,94 (sl; 1H) 5,25 (sl; 1H)	-	-	114,8
18	185,2	-	-	3H-19	185,0
19	16,3	1,15 (s; 3H)	-	1H-5	17,5
20	18,0	1,11 (s; 3H)	-	-	16,1

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

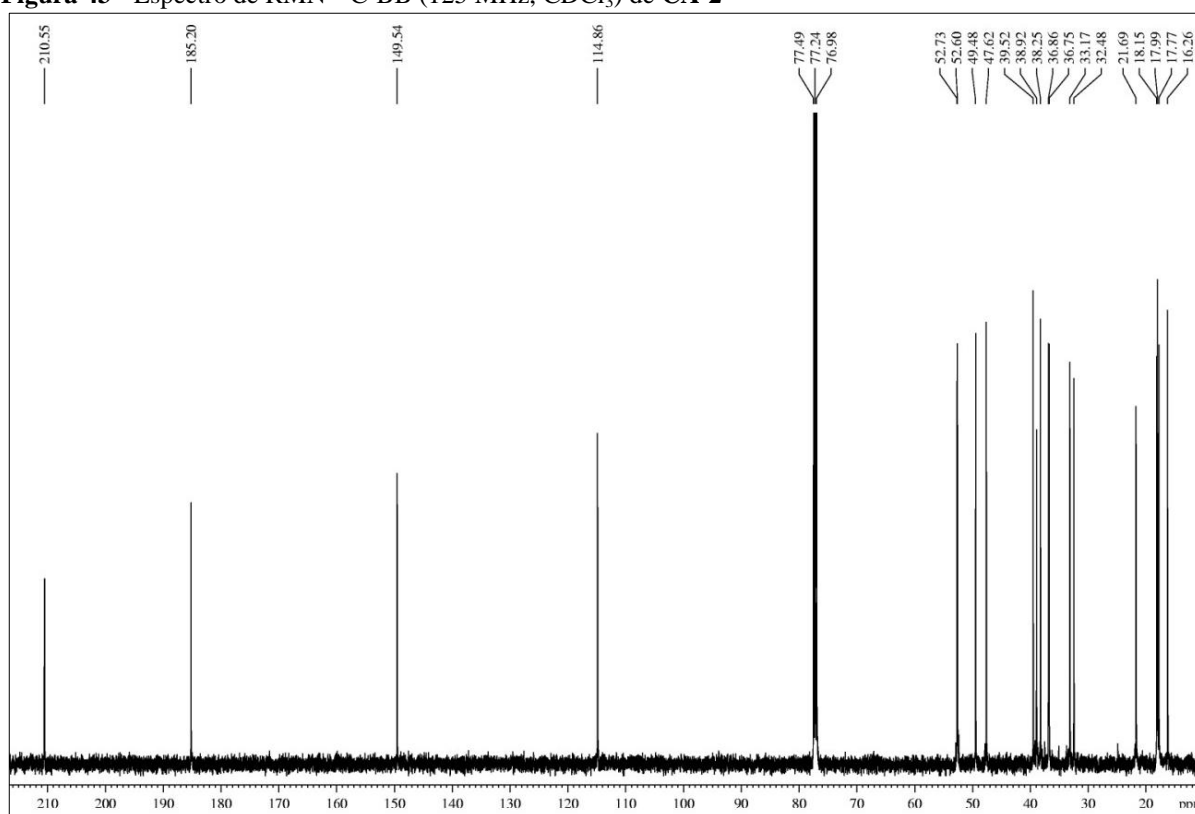
**Figura 41** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-2**



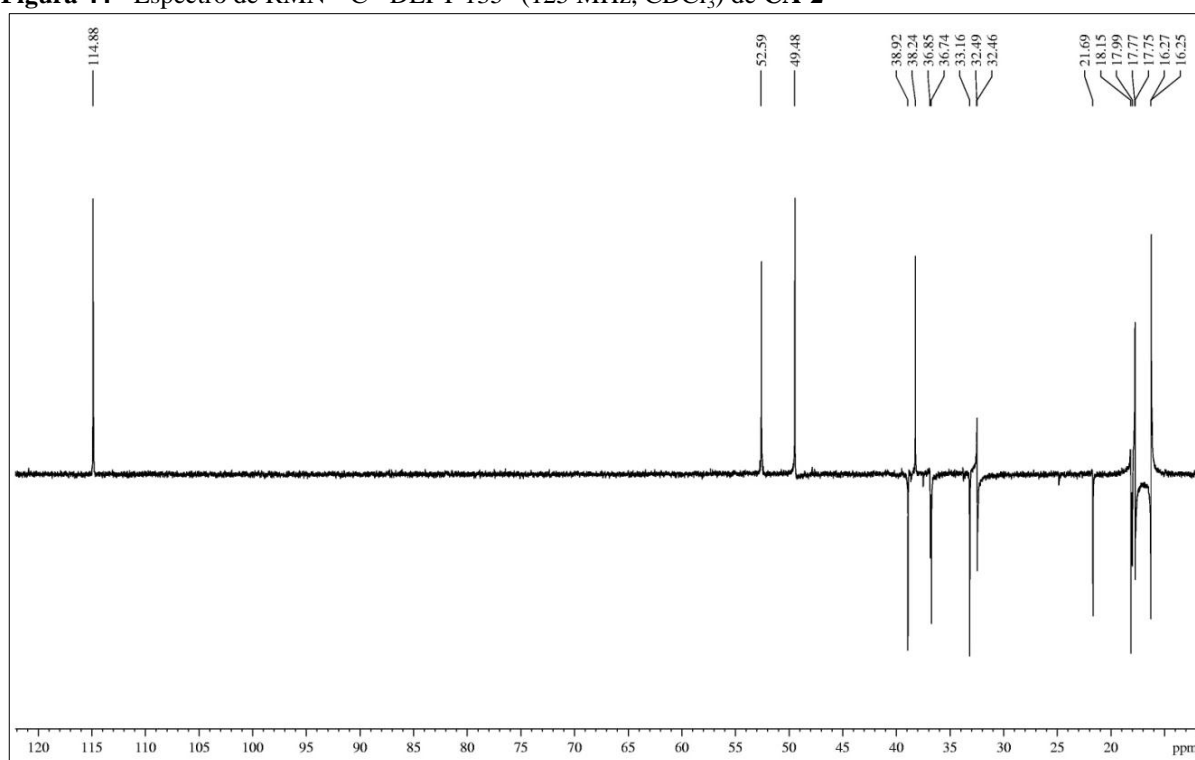
**Figura 42** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-2**



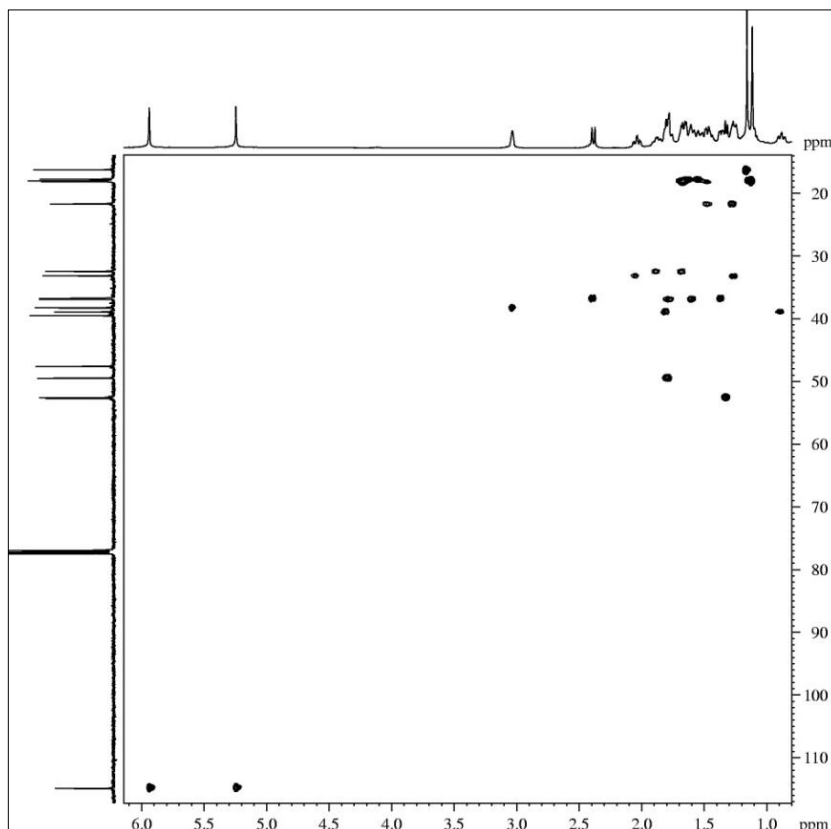
**Figura 43** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-2



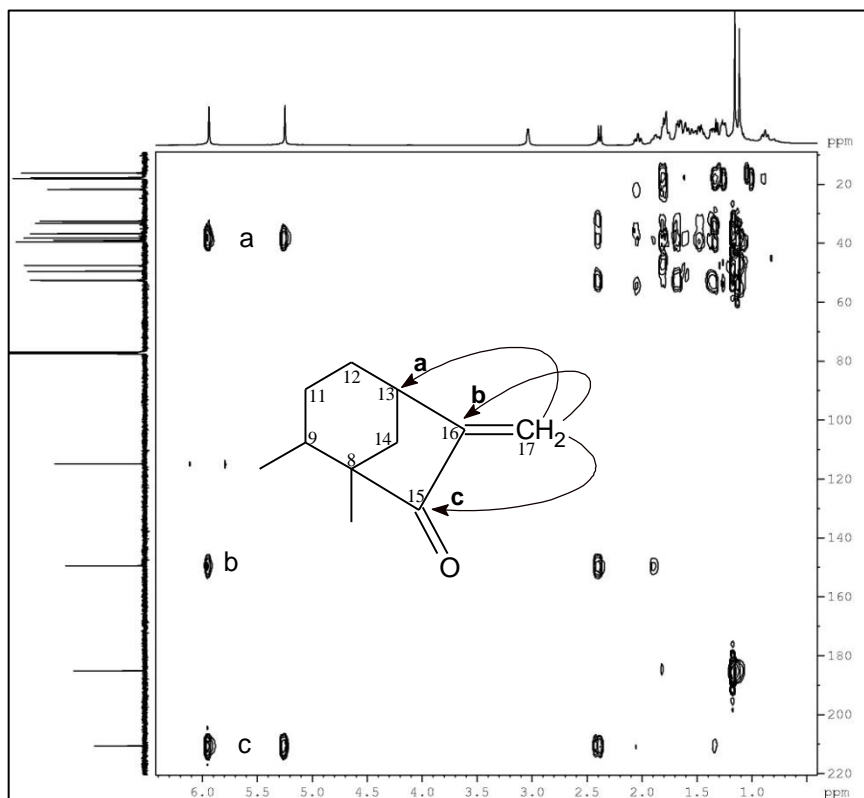
**Figura 44** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-2



**Figura 45** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-2



**Figura 46** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-2



#### 4.2.1 Reação de Metilação de CA-2 - Determinação Estrutural de CA2-ME

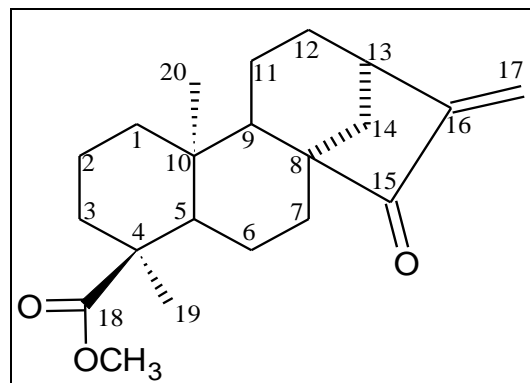
A reação de metilação do composto **CA-2**, utilizando iodometano e carbonato de potássio em propanona, levou a obtenção do derivado metilado **CA2-ME** na forma de um sólido cristalino (item 5.6.2, p. 264).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA2-ME** (fig. 47, p. 111), quando comparado ao espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-2** (fig. 42, p. 106), apresentou um sinal adicional intenso em  $\delta_{\text{H}}$  3,67 (3H, s) associado aos hidrogênios de grupo metoxila. Os demais sinais apresentaram similaridade com os deslocamentos químicos obtidos para **CA-2**.

A análise comparativa dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  - BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 48, p. 111) e DEPT 135° de **CA2-ME** (fig. 49, p. 112) com os de **CA-2**, revelou a presença do sinal adicional, referente ao carbono  $\text{sp}^3$  ligado a oxigênio de grupo metoxila, em  $\delta_{\text{C}}$  52,5. Os demais sinais apresentaram similaridade com os deslocamentos químicos obtidos para o espectro de **CA-2**.

A atribuição dos sinais referentes a cada carbono de **CA2-ME** foi realizada pela comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-2** com os de **CA2-ME**, além da análise dos espectros de HSQC (fig. 50, p. 112) conforme **Tabela 10** (p. 110).

O produto da reação de metilação de **CA-2**, denominado **CA2-ME**, foi caracterizado como sendo o *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oato de metila.



**Tabela 10** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA2-ME e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de CA-2

C	HSQC		CA-2 ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	
1	39,0	1,84 (m; 1H)	38,9
		0,88 (m; 1H)	
2	18,2	1,65 (m; 1H)	18,2
		1,55 (m; 1H)	
3	36,8	1,73 (m; 1H)	36,9
		1,53 (m; 1H)	
4	47,9	-	47,6
5	49,7	1,81 (m; 1H)	49,5
6	21,7	1,46 (m; 1H)	21,7
		1,05 (m; 1H)	
7	33,2	2,02 (td; 13,5 e 4,4; 1H)	33,2
		1,26 (m; 1H)	
8	52,7	-	52,7
9	52,7	1,33 (m; 1H)	52,6
10	39,6	-	39,5
11	17,8	1,61 (m; 1H)	17,8
		1,51 (m; 1H)	
12	32,5	1,89 (m; 1H)	32,5
		1,70 (m; 1H)	
13	38,3	3,05 (sl; 1H)	38,3
14	36,8	2,39 (d; 11,9; 1H)	36,8
		1,37 (m; 1H)	
15	210,5	-	210,6
16	149,6	-	149,5
17	114,8	5,95 (sl; 1H); 5,26 (sl; 1H)	114,9
18	179,2	-	185,2
19	16,6	1,17 (s; 3H)	16,3
20	18,0	1,15 (s; 3H)	18,0
H <sub>3</sub> C-	52,5	3,67 (s; 3H)	-



Figura 47 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA2-ME

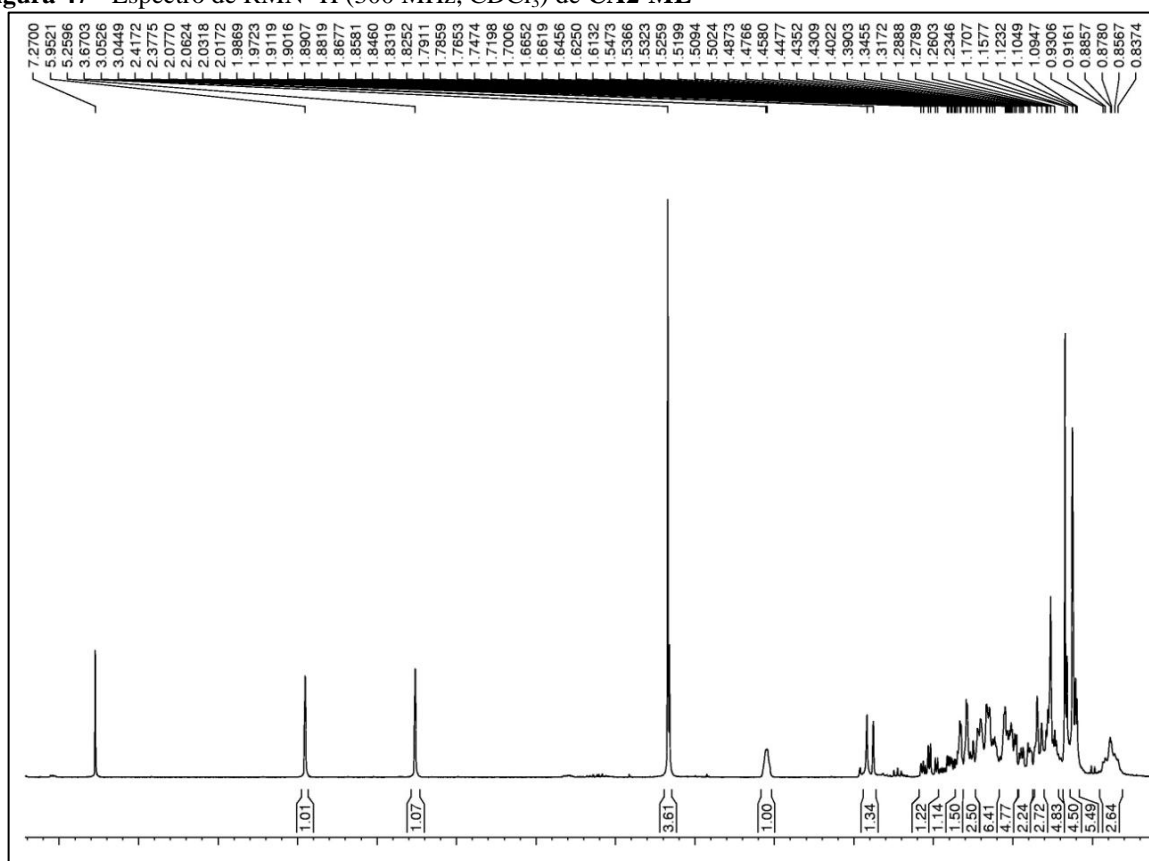
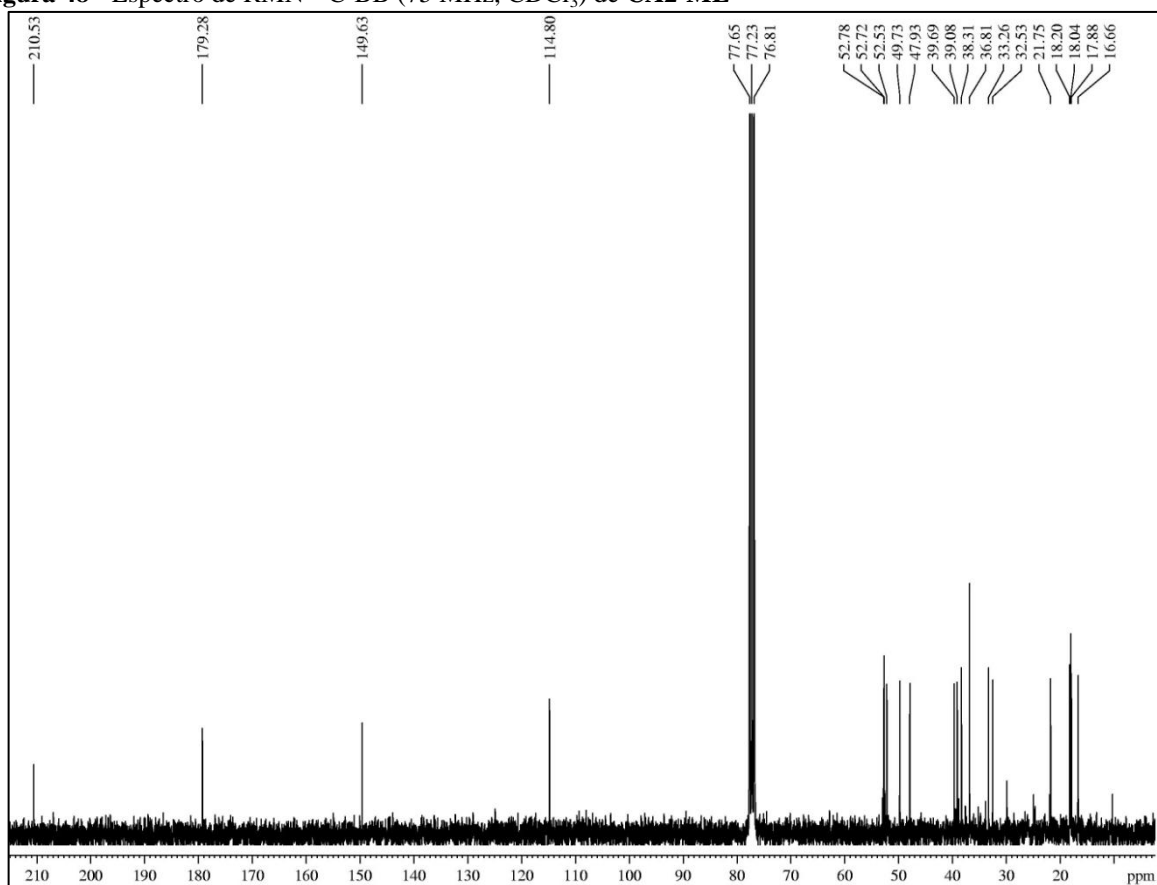
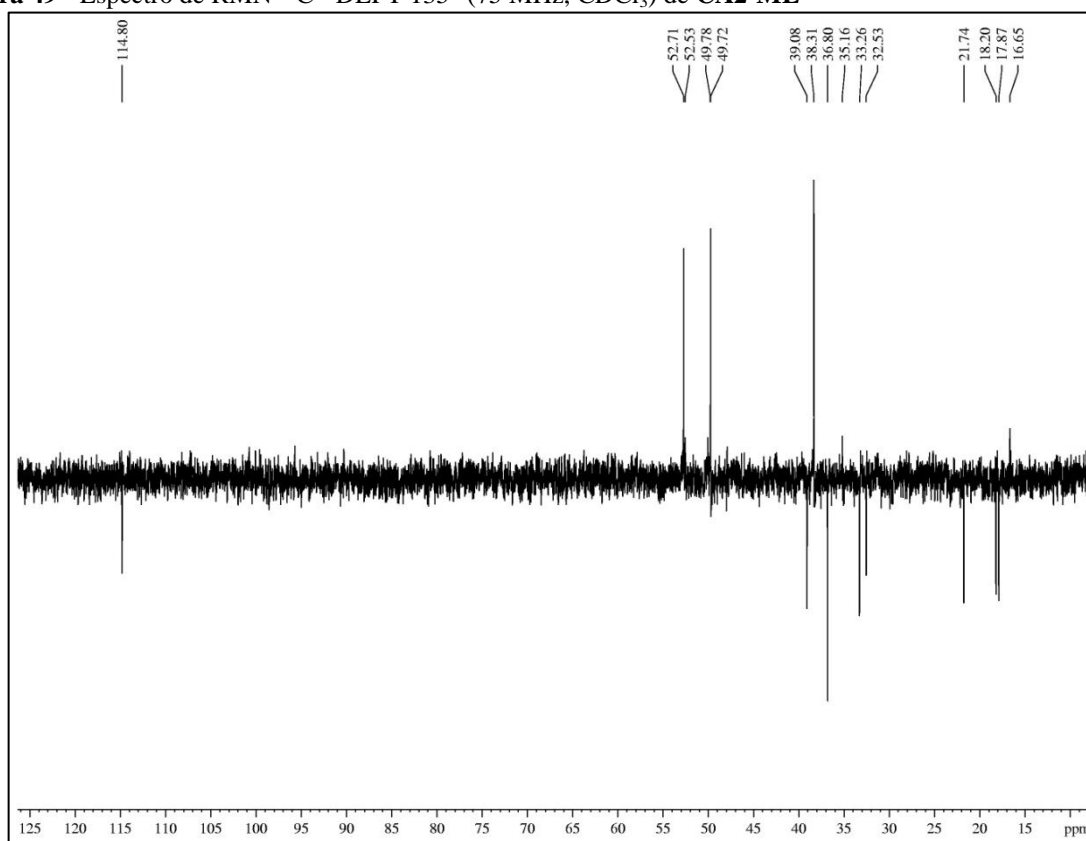


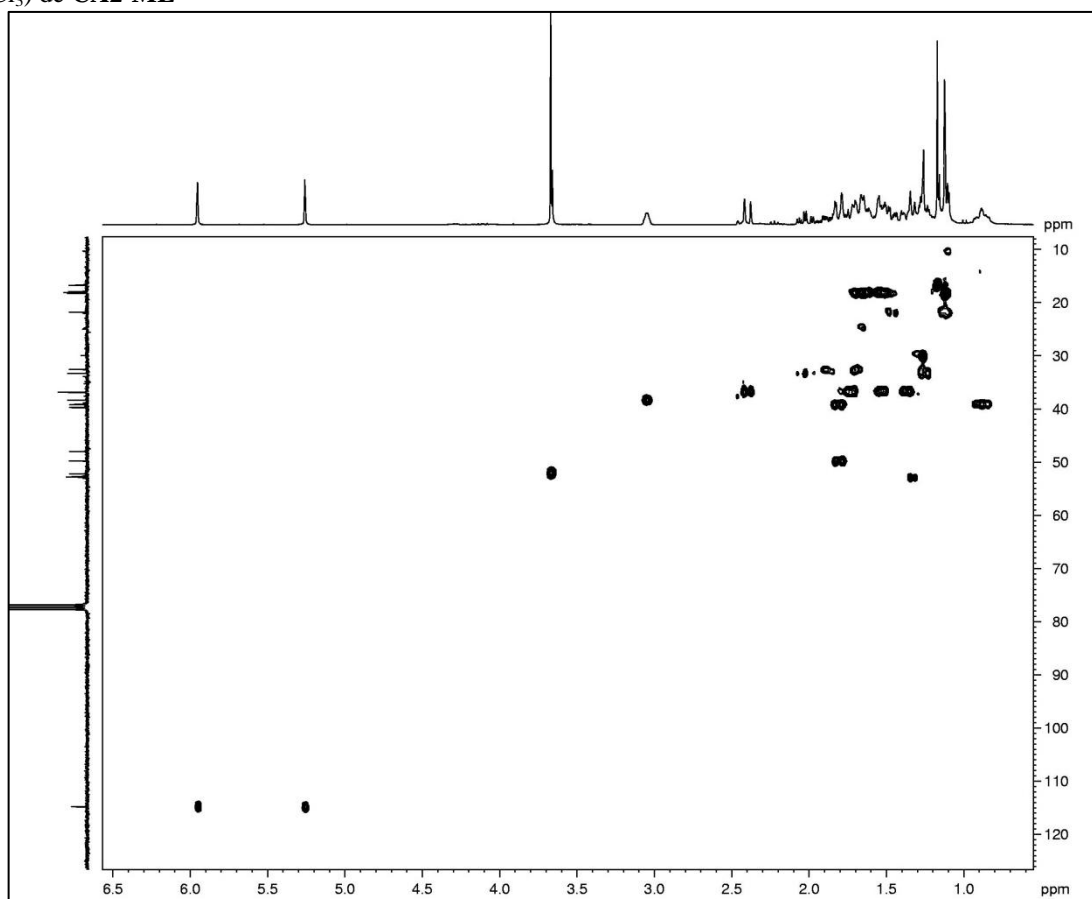
Figura 48 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA2-ME



**Figura 49** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA2-ME



**Figura 50** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA2-ME



### 4.3 Determinação Estrutural de CA-3

O tratamento cromatográfico da fração **CLH-4**, proveniente do extrato hexânico do caule de *Croton limae*, forneceu um composto na forma de um sólido cristalino incolor, com  $[\alpha]_D^{20} = + 51,3^\circ$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), p.f = 122,5 – 124,1 °C, denominado **CA-3** (item 5.5.2.2, p. 250).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-3** (fig. 57, p. 118) revelou absorções em  $1663\text{ cm}^{-1}$  e em  $1701\text{ cm}^{-1}$ , referentes as deformações axiais das ligações C=O, além de uma banda de deformação axial de ligação O–H em  $3469\text{ cm}^{-1}$ . Este espectro também apresentou outras bandas em  $1164$  e  $1153\text{ cm}^{-1}$  relativas as deformações axiais de ligações C–O, além de bandas fracas em  $3146$  e  $3126\text{ cm}^{-1}$ , referentes à deformação axial de ligação =C–H.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-3** (fig. 58, p. 118) revelou absorções em  $\delta_{\text{H}}$  0,80 (3H-19, s), 0,82 (3H-20, s) e 1,35 (3H-18, s) de hidrogênios de grupos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados, além de um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (3H-17, d,  $J = 6,7$  Hz) referente a um grupo metila ligado a carbono mono-hidrogenado. Foram observados ainda sinais em  $\delta_{\text{H}}$  8,02 (1H-16, sl), 7,42 (1H-15, d,  $J = 1,2$  Hz) e 6,75 (1H-14, sl), típicos de um anel furânico monossustituído, e uma série de sinais na região de  $\delta_{\text{H}}$  1,30 - 3,00, relativos a hidrogênios de grupos metínicos e metilênicos.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-3** (fig. 60, p. 119), foram observadas 20 linhas espectrais, o que sugeriu um esqueleto diterpênico para o composto. Neste espectro foram observados sinais em  $\delta_{\text{C}}$  215,3 (C-3) e 195,2 (C-12) referentes a dois grupos carbonílas, um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  81,7 (C-4) referente a um carbono oxigenado, além dos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  147,0 (C-16), 144,5 (C-15), 129,7 (C-13) e 108,8 (C-14) relativos aos carbonos  $\text{sp}^2$  do anel furânico, como já sugerido no espectro de RMN  $^1\text{H}$ .

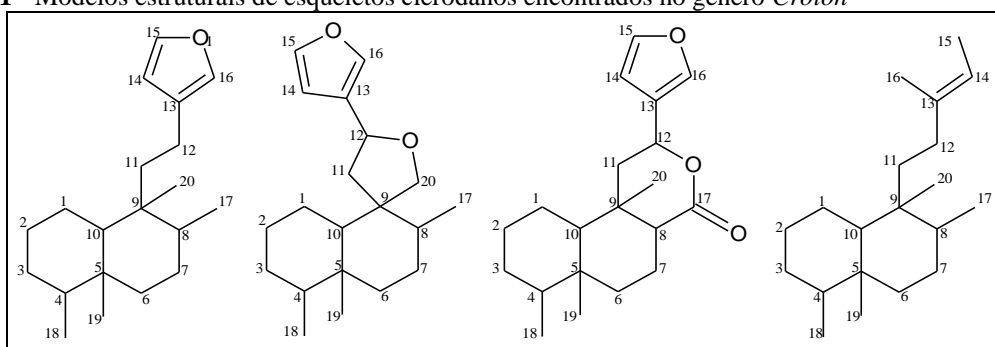
A comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (fig. 61, p. 120), permitiu correlacionar os carbonos na estrutura de **CA-3** com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 5 carbonos metínicos e 6 carbonos não-hidrogenados, sugerindo a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$  (IDH = 7) para o composto.

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-3** (fig. 62, p. 120) permitiu assinalar de forma inequívoca cada

absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 11** (p. 117).

A análise dos dados até então apresentados sugeriu que **CA-3** poderia trata-se de diterpeno com esqueleto do tipo clerodano, de larga ocorrência em espécies de *Croton*. Segundo Palmeira-Junior, Conserva e Barbosa Filho (2006) existem mais de uma centena de diterpenos clerodanos relatados na literatura para o gênero, porém estes compostos apresentam-se em pelo menos quatro tipos esqueléticos, distinguidos através da cadeia ligada ao carbono C-9 (fig. 51).

**Figura 51** - Modelos estruturais de esqueletos clerodanos encontrados no gênero *Croton*

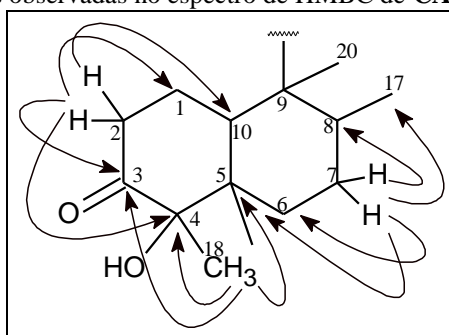


Fonte: PALMEIRA-JUNIOR; CONSERVA; BARBOSA FILHO, 2006

Com base nesses dados, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca da estrutura de **CA-3**, através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 63, p. 121).

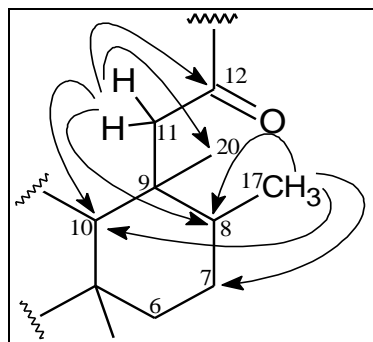
Esta análise revelou as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,35 (H-18) com o carbono oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  81,7 (C-4), o carbono não-hidrogenado em  $\delta_{\text{C}}$  45,3 (C-5) e o carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  215,3, determinando sua posição no carbono C-3. O espectro revelou as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,51 e 2,38 (2H-2) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  23,8 (C-1), 41,6 (C-10), 81,7 (C-4) e 215,3 (C-3), e dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,38 e 1,35 (2H-7) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  45,3 (C-5), 31,2 (C-6), 37,5 (C-8) e 16,7 (C-17), respectivamente. Tais dados possibilitaram posicionar a hidroxila no carbono C-4 (fig. 52).

**Figura 52** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-3**



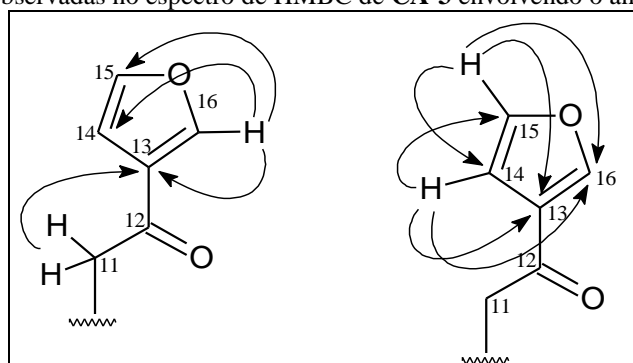
O posicionamento da carbonila em  $\delta_C$  195,2, no carbono C-12, foi confirmada pelas correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  2,81 e 2,70 (2H-11) com os carbonos em  $\delta_C$  17,7 (C-20), 37,4 (C-8), 41,6 (C-10) e 195,2 (C-12) e das correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,88 (3H-17) com os carbonos em  $\delta_C$  26,8 (C-7), 37,4 (C-8) e 41,6 (C-10) (fig. 53).

**Figura 53** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-3** para o posicionamento da carbonila em C-12



Em adição, a posição do anel furânico, ligado ao carbono carbonílico (C-12), foi confirmado pelas correlações entre os sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  2,81 e 2,70 (2H-11) com o carbono em  $\delta_C$  129,7 (C-13). O espectro de HMBC apresentou também as correlações entre o hidrogênio em  $\delta_H$  6,75 (H-14) com os carbonos em  $\delta_C$  129,7 (C-13), 144,5 (C-15) e 147,0 (C-16), correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  7,42 (H-15) com os carbonos em  $\delta_C$  108,8 (C-14), 129,7 (C-13) e 147,0 (C-16) e do hidrogênio em  $\delta_H$  8,02 (H-16) com os carbonos em  $\delta_C$  108,8 (C-14), 129,7 (C-13) e 144,5 (C-15) (fig. 54).

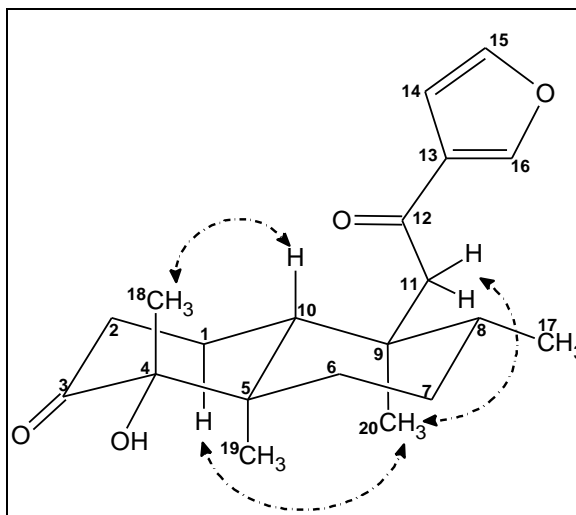
**Figura 54** - Correlações observadas no espectro de HMBC de **CA-3** envolvendo o anel furânico



A análise do espectro bidimensional de NOESY de **CA-3** (fig. 64, p. 121) apresentou correlações espaciais entre o hidrogênio H-10 ( $\delta_H$  2,69) com os hidrogênios H-18 ( $\delta_H$  1,35), confirmando a posição axial para a metila C-18. O espectro revelou ainda o acoplamento homonuclear dipolar entre os hidrogênios H-20 ( $\delta_H$  0,82) com o hidrogênio H-1<sub>ax</sub> ( $\delta_H$  1,72) e com os hidrogênios H-11 ( $\delta_H$  2,81 e 2,70). Desta forma, foi possível propor, em comparação

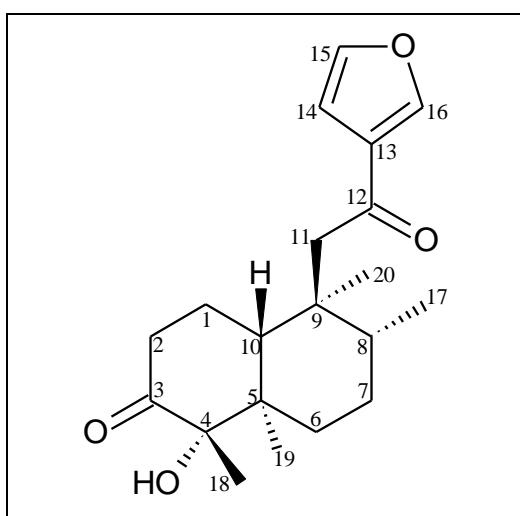
com os dados de outros diterpenos clerodanos já isolados (PALMEIRA-JUNIOR; CONSERVA; BARBOSA FILHO, 2006), a estereoquímica relativa da molécula de **CA-3**, representada na **Figura 55**.

**Figura 55** - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-3**, evidenciando a posição axial para a metila C-18



A reunião de todos os dados espectroscópicos discutidos e a comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  descritos na literatura (tab. 11, p. 117), possibilitou identificar **CA-3** como sendo o 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 56), um *ent-neo*-clerodano cujo o epímero, 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\beta$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno, já foi isolado de *Croton argyrophyloides* (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988) e *Croton hovarum* (KREBS; RAMIARANTSOA, 1996).

**Figura 56** - Estrutura de **CA-3** (3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno)

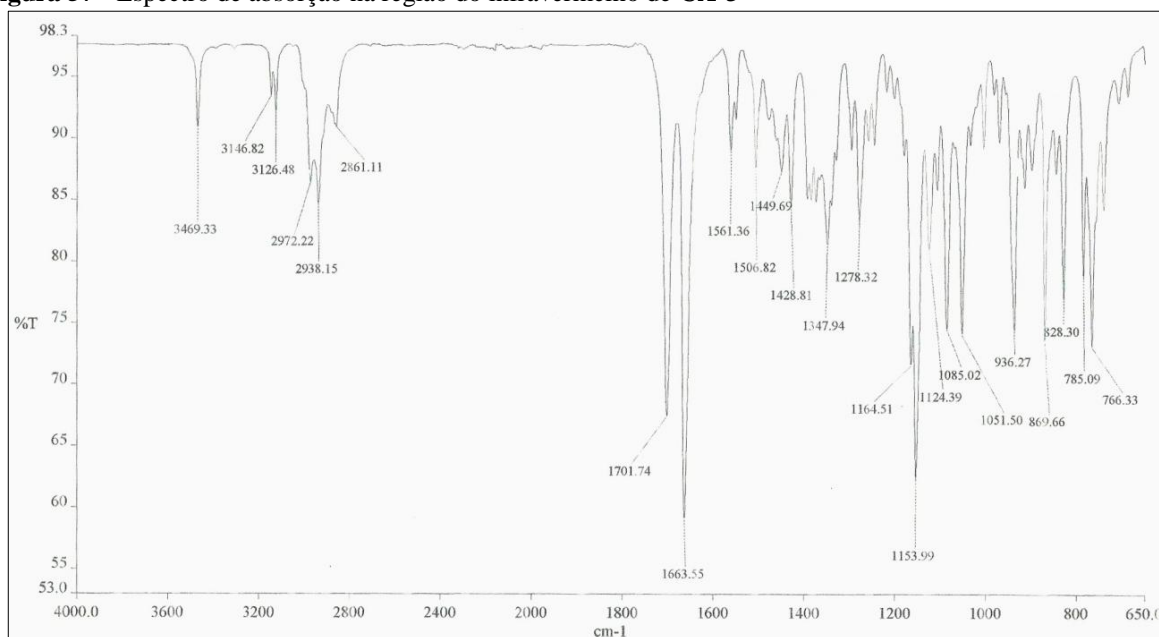


**Tabela 11** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-3** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura para o 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno (MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988)

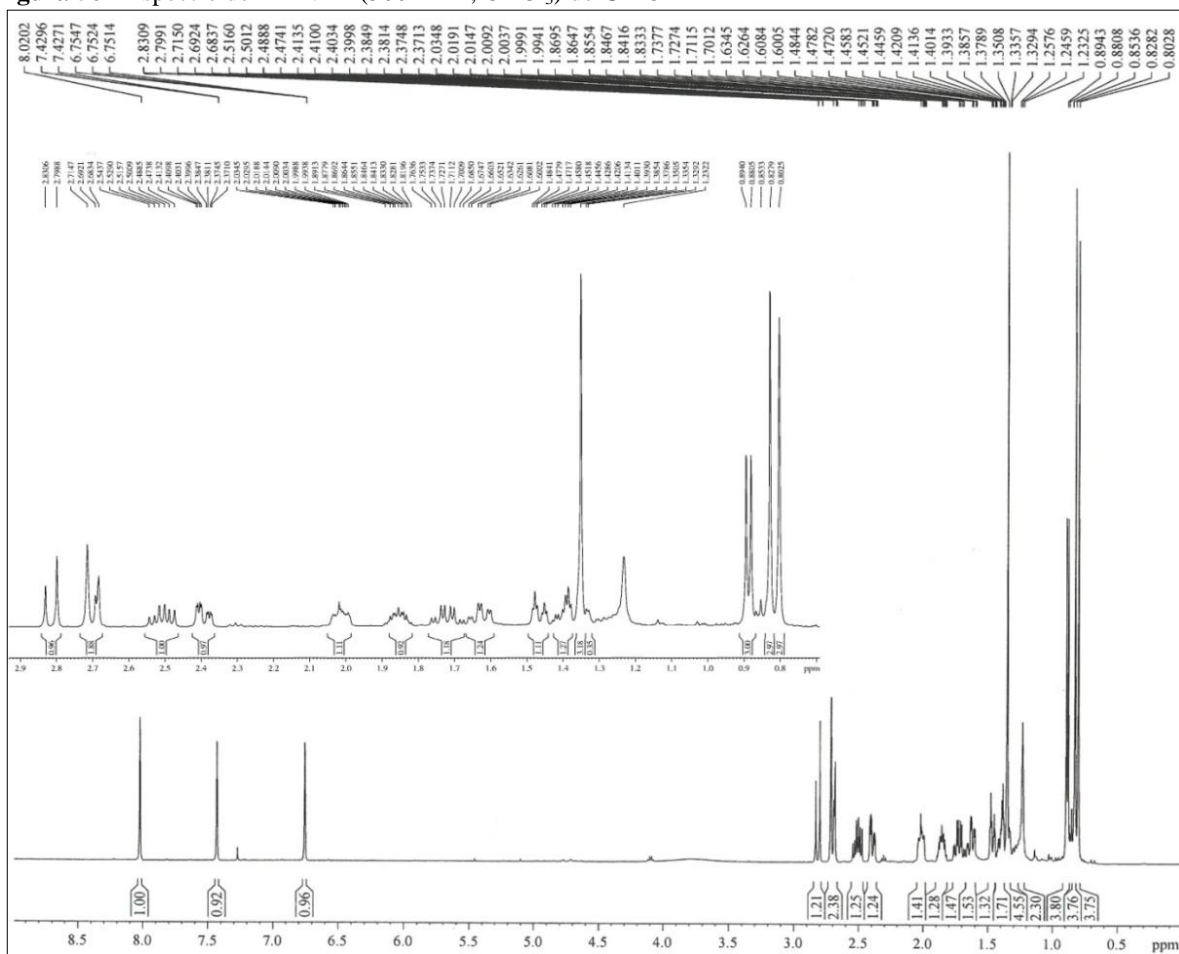
C	HSQC		HMBC		MONTE; DANTAS; BRAZ-FILHO, 1988*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	23,8	2,00 (m; 1H) 1,72 (qd; 13,1 e 5,2; 1H)	2H-2; 1H-10		23,7
2	36,2	2,51 (td; 14,0 e 7,3; 1H) 2,38 (ddd; 14,2 e 5,0 e 1,7; 1H)	2H-1		36,1
3	215,3	-	2H-2	2H-1; 3H-18	215,0
4	81,7	-	3H-18	1H-2b; H-10; 3H-18	81,5
5	45,3	-	2H-6	2H-6; 1H-7a	45,2
6	31,2	1,63 (td; 13,0 e 4,1; 1H) 1,46 (dt; 13,0 e 3,1; 1H)	1H-7a	3H-19	31,1
7	26,9	1,38 (m; 1H) 1,35 (m; 1H)	2H-6; 1H-8	3H-17	26,8
8	37,5	1,85 (m; 1H)	1H-7a; 3H-17	2H-6; 3H-20	37,4
9	42,0	-		1H-1b; 3H-17	42,0
10	41,6	2,69 (m; 1H)	2H-1	1H-2b; 1H-8; 2H-11	42,5
11	47,3	2,81 (d; 15,9; 1H) 2,70 (d, 15,7; 1H)		3H-20	47,0
12	195,2	-	2H-11		195,0
13	129,7	-	1H-14; 1H-16	2H-11; 1H-15	129,7
14	108,8	6,75 (sl; 1H)		1H-16	108,7
15	144,5	7,42 (d; 1,2; 1H)	1H-14	1H-16	144,4
16	147,0	8,02 (sl; 1H)		1H-15; 1H-14	146,8
17	16,7	0,88 (d; 6,7; 3H)			14,9
18	21,9	1,35 (s; 3H)			21,8
19	15,0	0,80 (s; 3H)	1H-6a		16,5
20	17,8	0,82 (s; 3H)	1H-8		17,8

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

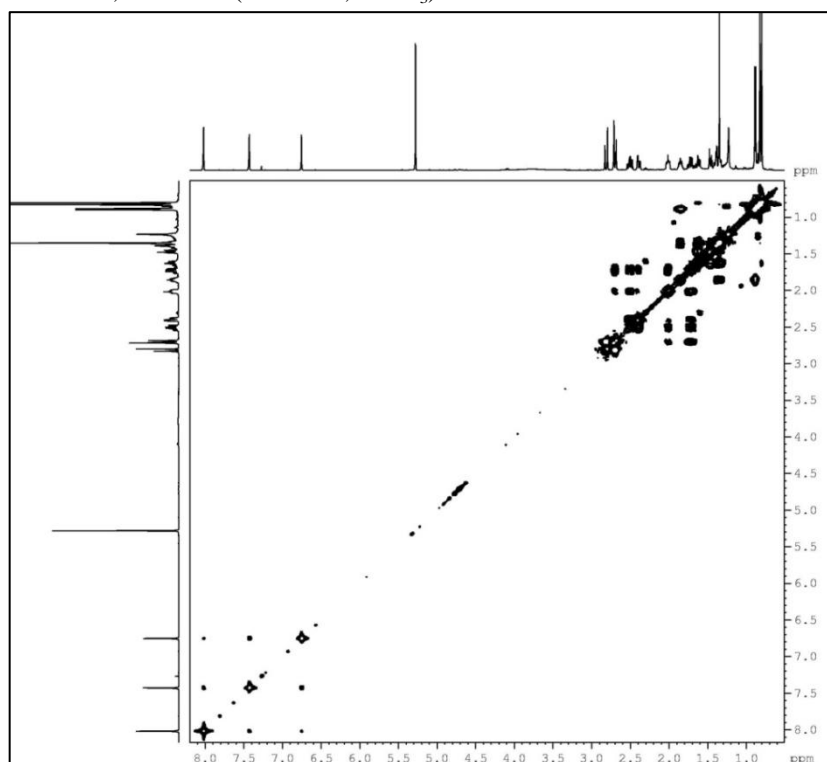
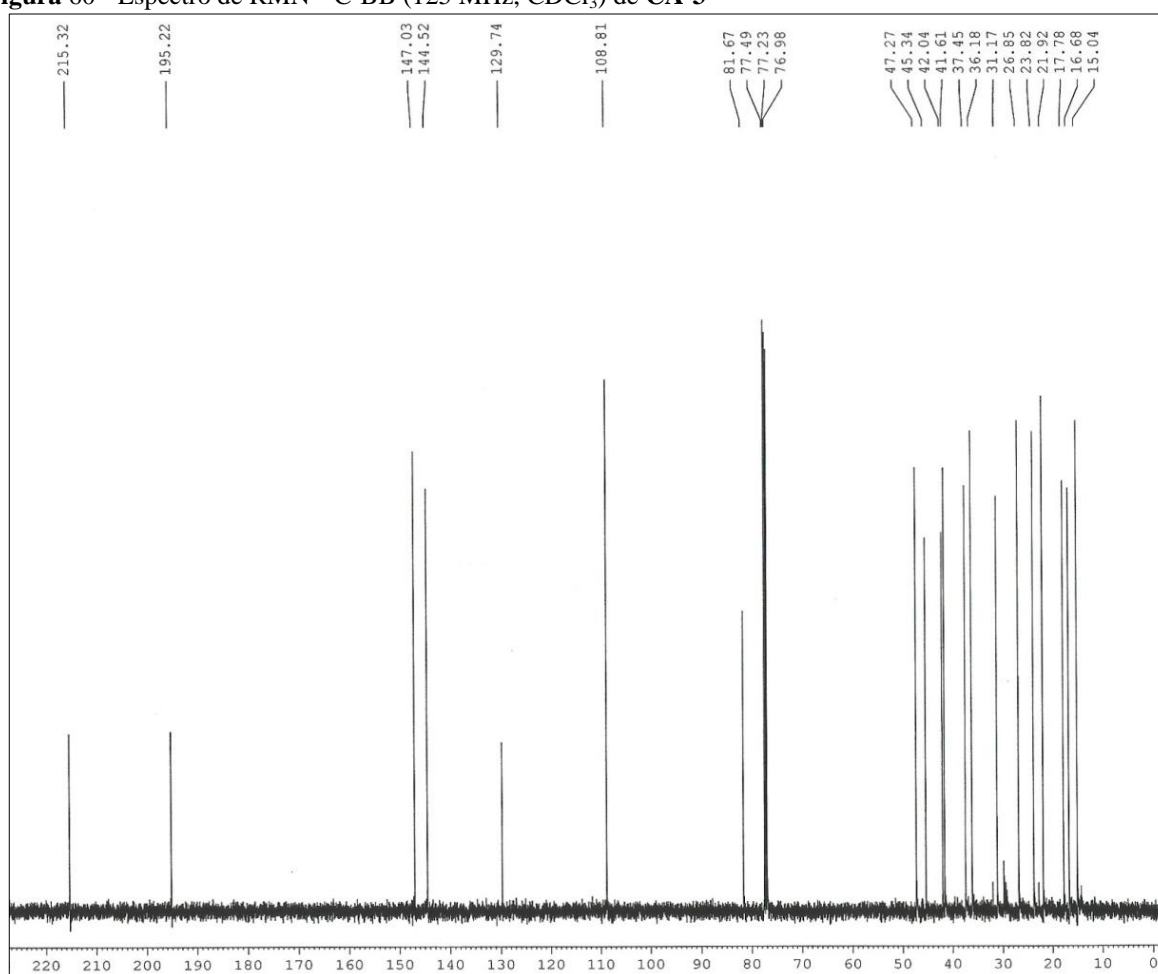
**Figura 57** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-3**



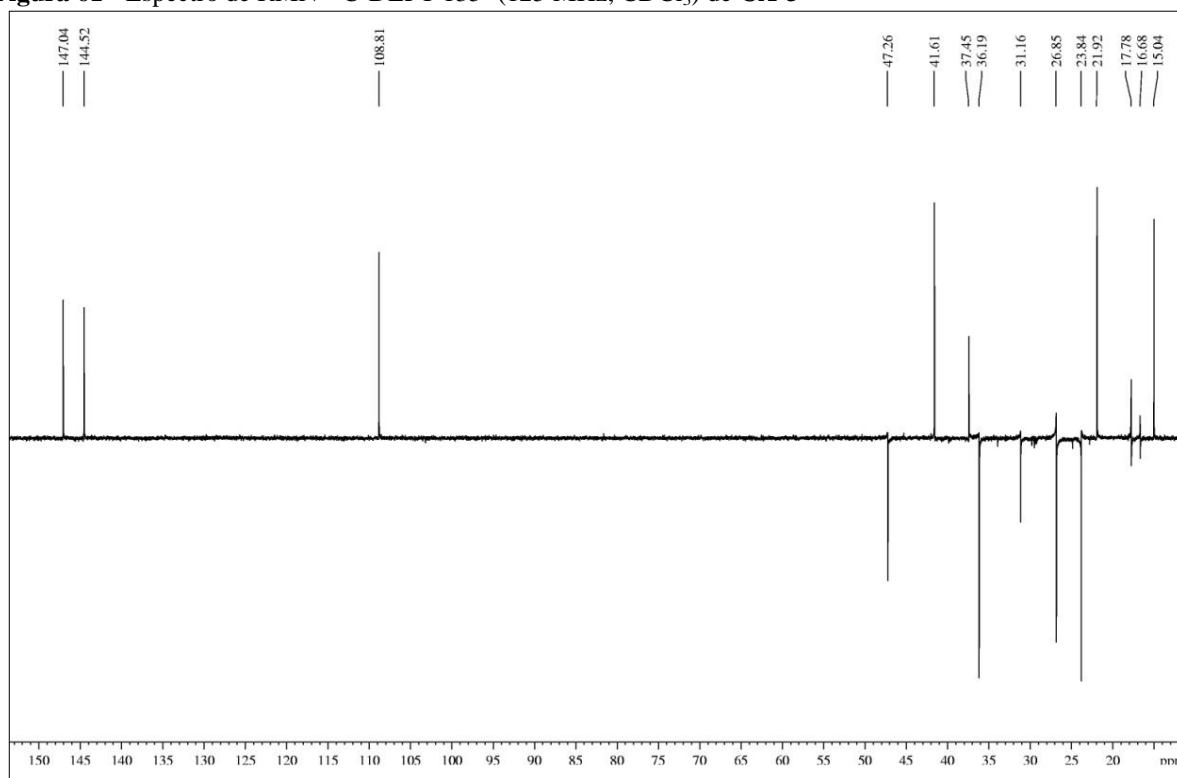
**Figura 58** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **CA-3**



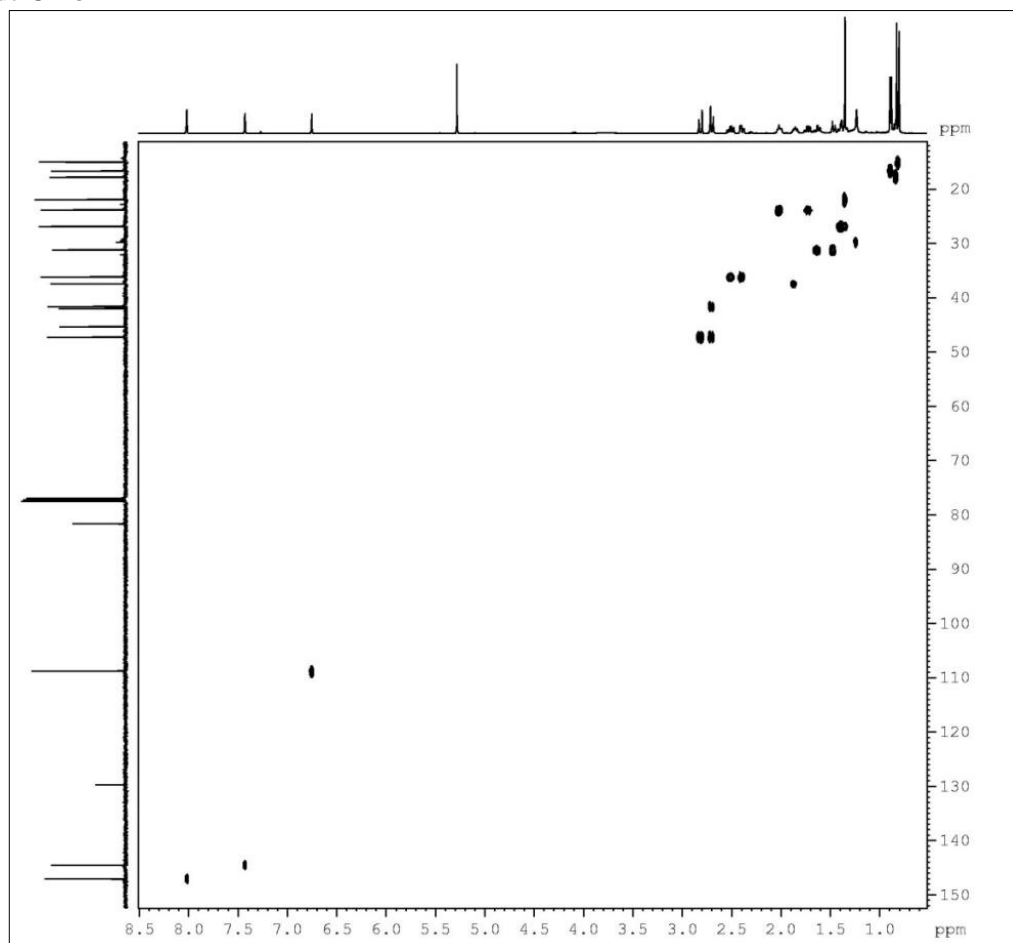


**Figura 59** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-3**Figura 60** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-3

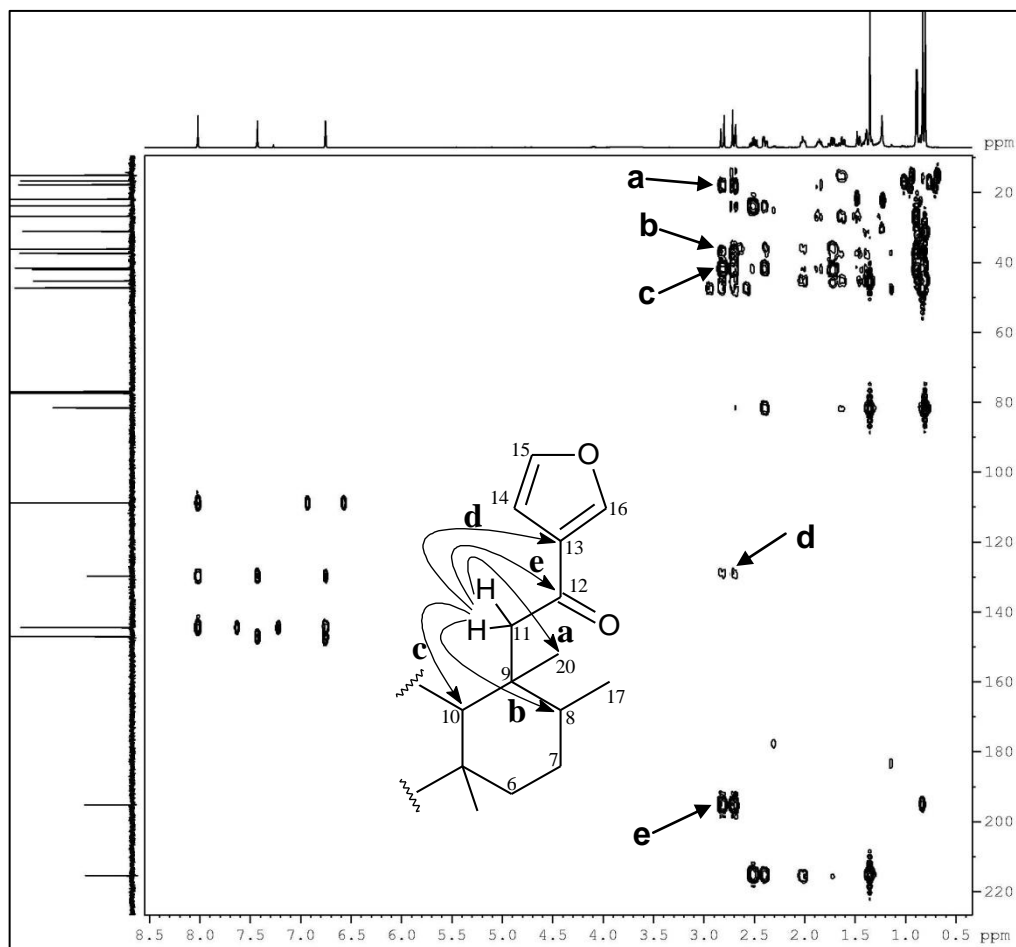
**Figura 61** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-3



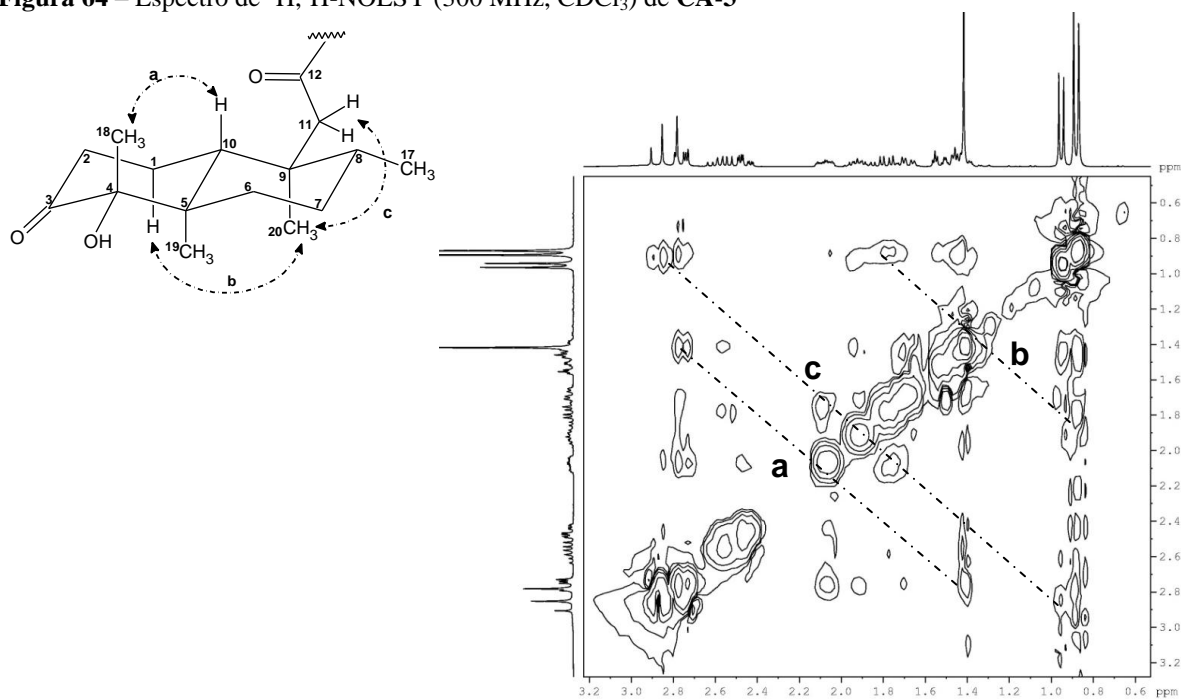
**Figura 62** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-3



**Figura 63** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-3



**Figura 64** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-3

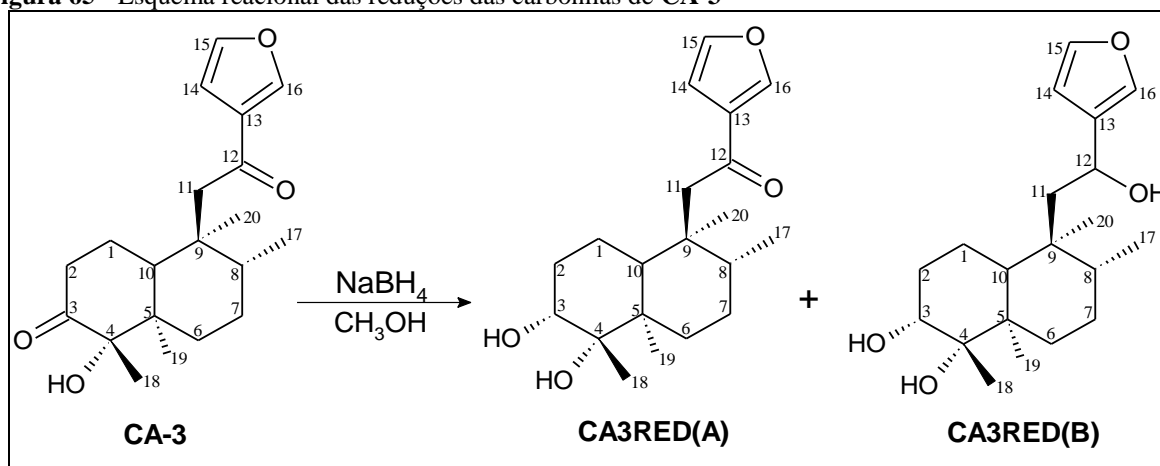


### 4.3.1 Derivados Reacionais e Biotransformação de CA-3

A reação de redução de **CA-3**, utilizando boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) em metanol (item 5.6.3, p. 265), levou a obtenção de dois derivados reacionais denominados **CA3RED(A)** e **CA3RED(B)** (fig. 65).

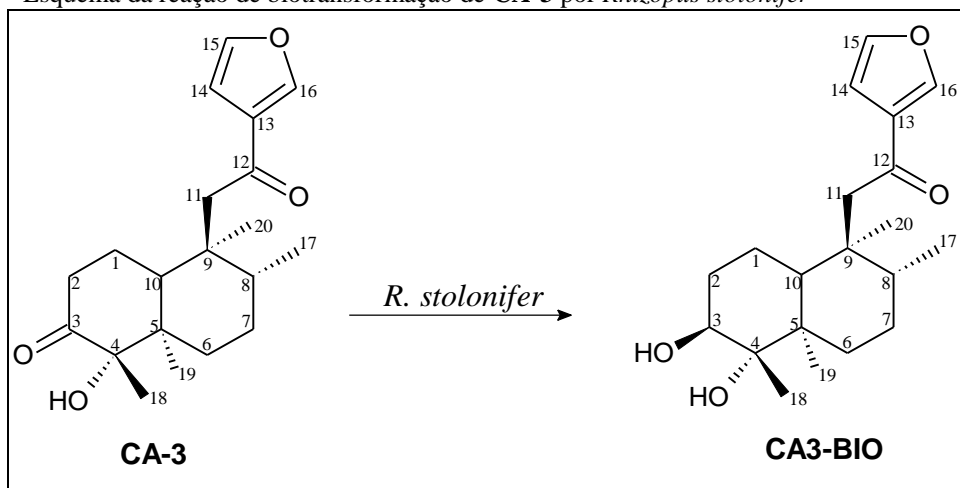
O acompanhamento da reação em CCD revelou **CA3RED(A)** como o único produto gerado durante os primeiros 40 minutos de reação. O segundo produto formado, **CA3RED(B)**, é observado decorridos este tempo reacional. Após 80 minutos de reação o “spot” associado a **CA3RED(B)** vai aumentando a intensidade de sua coloração em detrimento do “spot” associado a **CA3RED(A)**.

**Figura 65** - Esquema reacional das reduções das carbonilas de **CA-3**



O composto **CA-3** também foi submetido a um processo de biotransformação, utilizando o fungo *Rhizopus stolonifer* (item 6, p. 266), o que levou a obtenção de um produto denominado de **CA3-BIO** (fig. 66).

**Figura 66** – Esquema da reação de biotransformação de **CA-3** por *Rhizopus stolonifer*



#### 4.3.1.1 Determinação Estrutural de CA3RED(A)

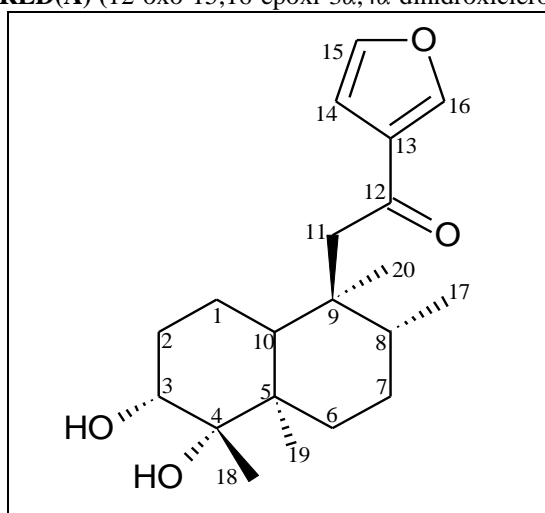
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3RED(A)** (fig. 68, p. 125), diferente do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-3** (fig. 58, p. 118), mostrou um sinal referente ao hidrogênio carbinólico em  $\delta_{\text{H}}$  3,63 (1H-3, m). A multiplicidade observada para este sinal foi associada ao acoplamento entre hidrogênios equatorial-equatorial e equatorial-axial. Desta forma, foram fixadas a posição equatorial para o hidrogênio H-3 e a posição axial para a hidroxila resultante da redução da carbonila C-3 (fig. 67) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

A análise conjunta dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 69, p. 125) e DEPT 135 (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3RED(A)** (fig. 70, p. 126) em comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-3** (fig. 60, p. 119) mostrou o sinal referente ao carbono carbinólico em  $\delta_{\text{C}}$  77,2 (C-3) em detrimento do sinal do carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  215,3 (C-3) presente em **CA-3**.

A atribuição dos sinais de hidrogênios aos respectivos carbonos de **CA3RED(A)** foi realizada através da comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-3** e análise do espectro de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  (HSQC) de **CA3RED(A)** (fig. 71, p. 126), conforme a **Tabela 12** (p. 124).

O produto da reação de redução de **CA-3**, denominado **CA3RED(A)**, foi caracterizado como sendo o 12-oxo-15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 67).

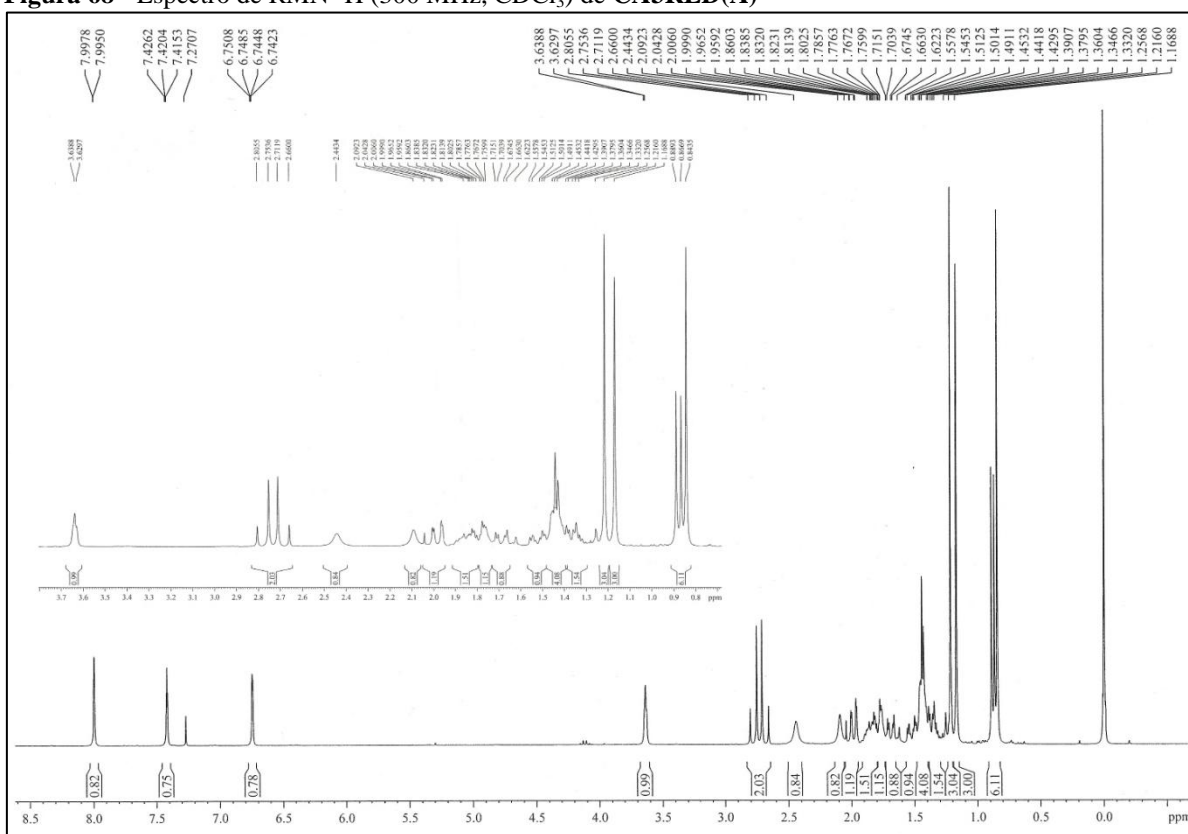
**Figura 67** - Estrutura de **CA3RED(A)** (12-oxo-15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno)



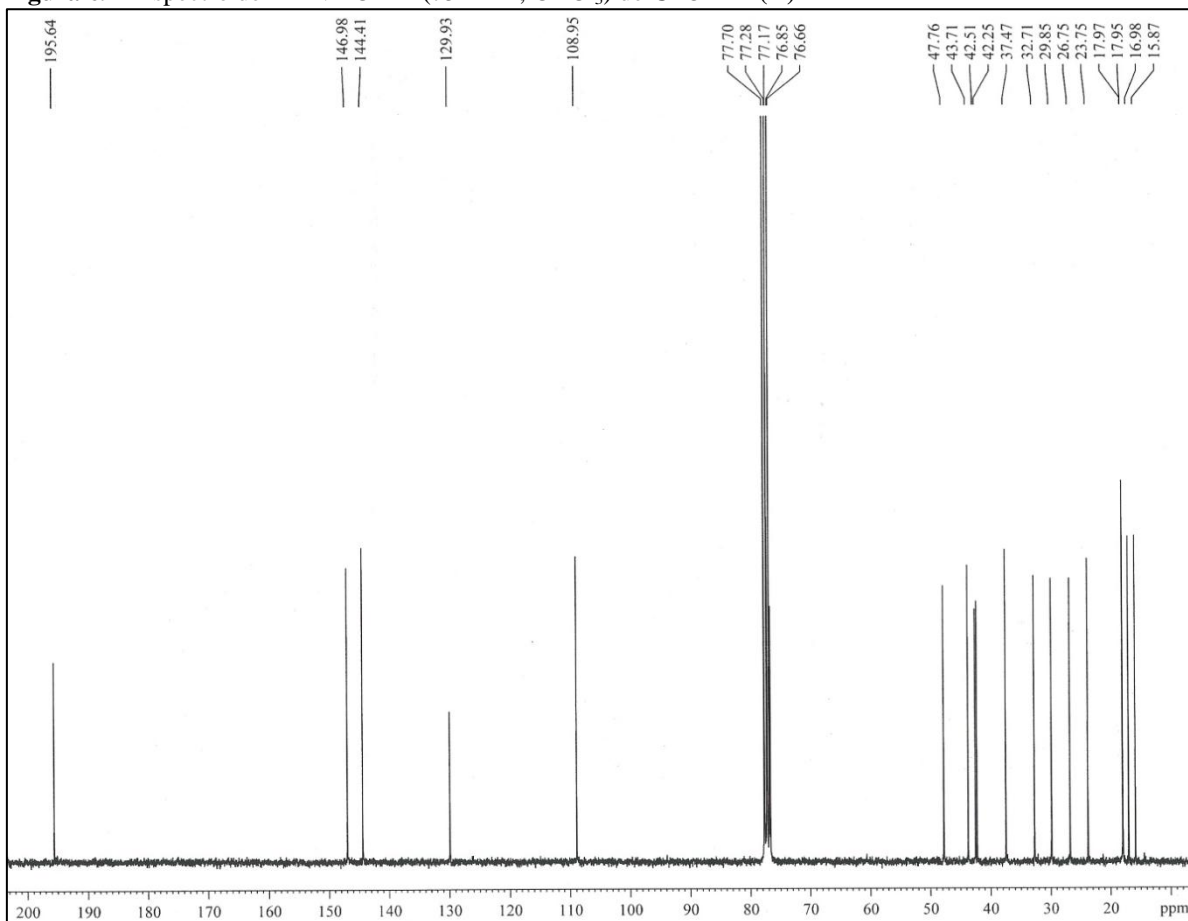
**Tabela 12** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3RED(A)** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

C	HSQC		CA-3 ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	
1	17,9	1,69 (dd; 8,8 e 3,4; 1H)	23,8
		1,44 (m; 1H)	
2	29,8	1,80 (m; 1H)	36,2
		1,52 (m; 1H)	
3	77,2	3,63 (m; 1H)	215,3
4	76,6	-	81,7
5	42,5	-	45,3
6	32,7	1,42 (m; 2H)	31,2
7	26,7	1,40 (m; 2H)	26,9
8	37,4	1,87 (m; 1H)	37,5
9	42,2	-	42,0
10	43,7	1,98 (dd; 12,2 e 2,0; 1H)	41,6
11	47,7	2,78 (d; 15,5; 1H)	47,3
		2,68 (d; 15,5; 1H)	
12	195,6	-	195,2
13	129,9	-	129,7
14	108,9	6,74 (dd; 1,8 e 0,7; 1H)	108,8
15	144,4	7,42 (m; 1H)	144,5
16	146,9	7,99 (d; 0,8; 1H)	147,0
17	16,9	0,87 (d; 6,7; 3H)	16,7
18	23,7	1,21 (s; 3H)	21,9
19	15,8	1,17 (s; 3H)	15,0
20	17,9	0,84 (s; 3H)	17,8

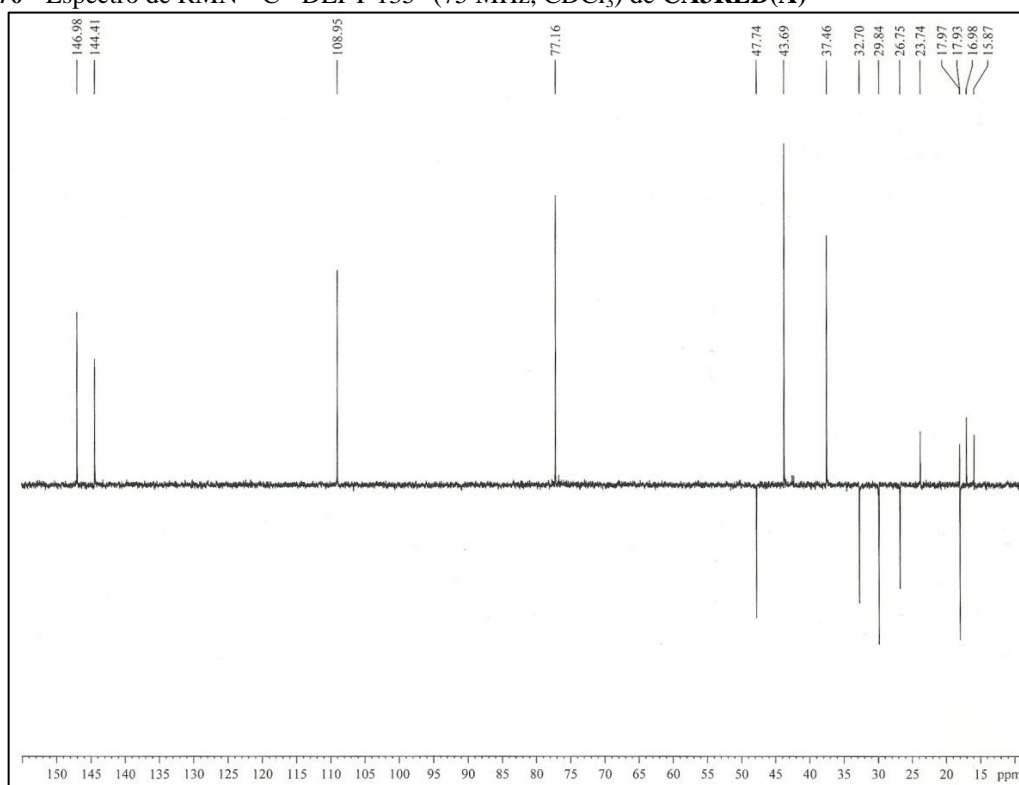
**Figura 68** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3RED(A)



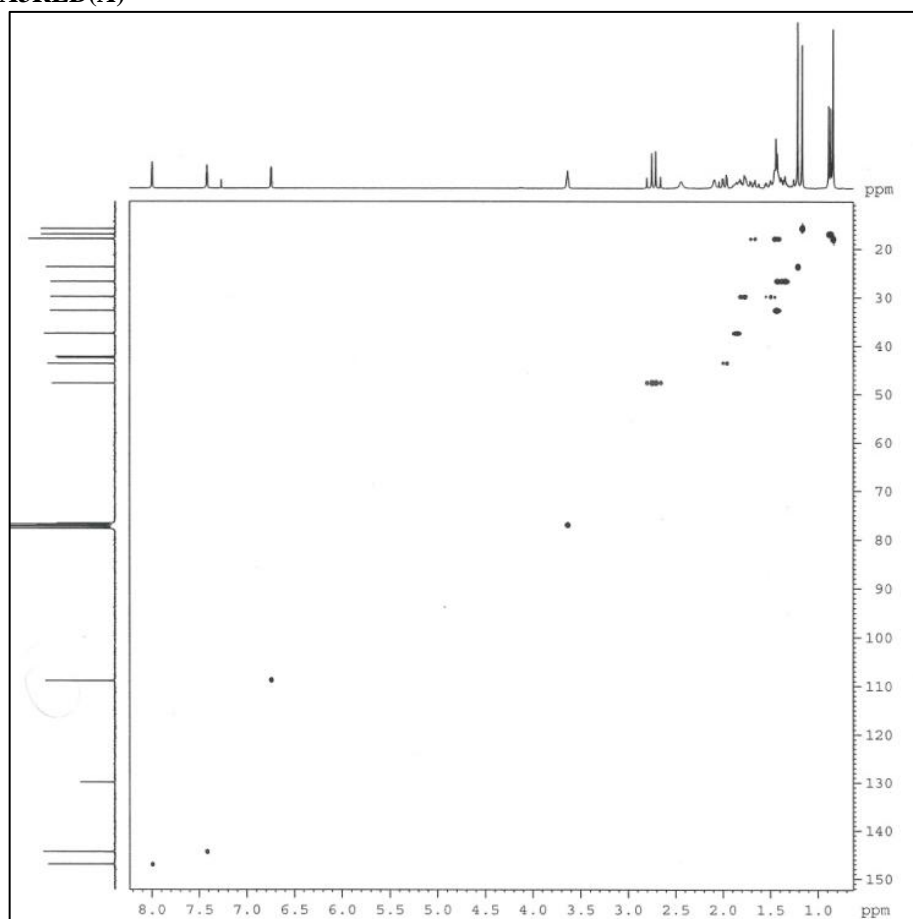
**Figura 69** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3RED(A)



**Figura 70** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3RED(A)



**Figura 71** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3RED(A)





#### 4.3.1.2 Determinação Estrutural de CA3RED(B)

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3RED(B)** (fig. 73, p. 129) em comparação com o espectro de RMN  $^1\text{H}$  de **CA3RED(A)**, apresentou dois sinais adicionais referentes a hidrogênio carbinólicos em  $\delta_{\text{H}}$  3,69 (H-3, m) e  $\delta_{\text{H}}$  4,82 (H-12; dd;  $J = 8,1$  e  $2,5$  Hz) resultado da redução das duas carbonilas presentes em **CA-3**.

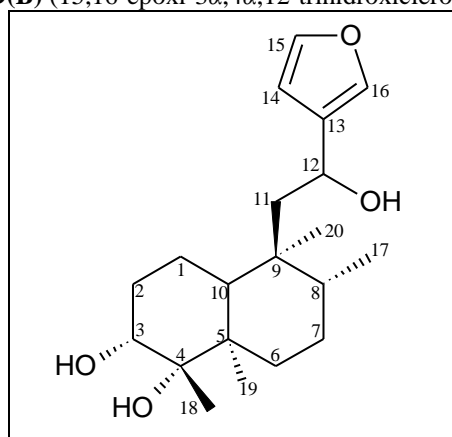
Assim como observado em **CA3RED(A)**, a multiplicidade observada para o sinal referente ao hidrogênio H-3 foi atribuída ao acoplamento entre hidrogênios equatorial-equatorial e equatorial-axial. Desta forma, foram fixadas a posição equatorial para o hidrogênio H-3 e a posição axial para a hidroxila resultante da redução da carbonila C-3 (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

A análise conjunta dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) (fig. 74, p. 129) e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) de **CA3RED(B)** (fig. 75, p. 130) e de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) de **CA-3** (fig. 60, p. 119) mostrou os sinais referentes aos novos carbonos oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  77,3 (C-3) e em  $\delta_{\text{C}}$  63,7 (C-12) em substituição aos sinais dos carbonos carbonílicos presentes no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB **CA-3**.

A atribuição dos sinais de hidrogênios aos respectivos carbonos de **CA3RED(B)** foi realizada através da comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **CA-3** e análise do espectro de correlação heteronuclear a uma ligação  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  (HSQC) de **CA3RED(B)** (fig. 76, p. 130), conforme a **Tabela 13** (p. 128).

O segundo produto obtido da reação de redução de **CA-3**, denominado **CA3RED(B)**, foi caracterizado como sendo o 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 72).

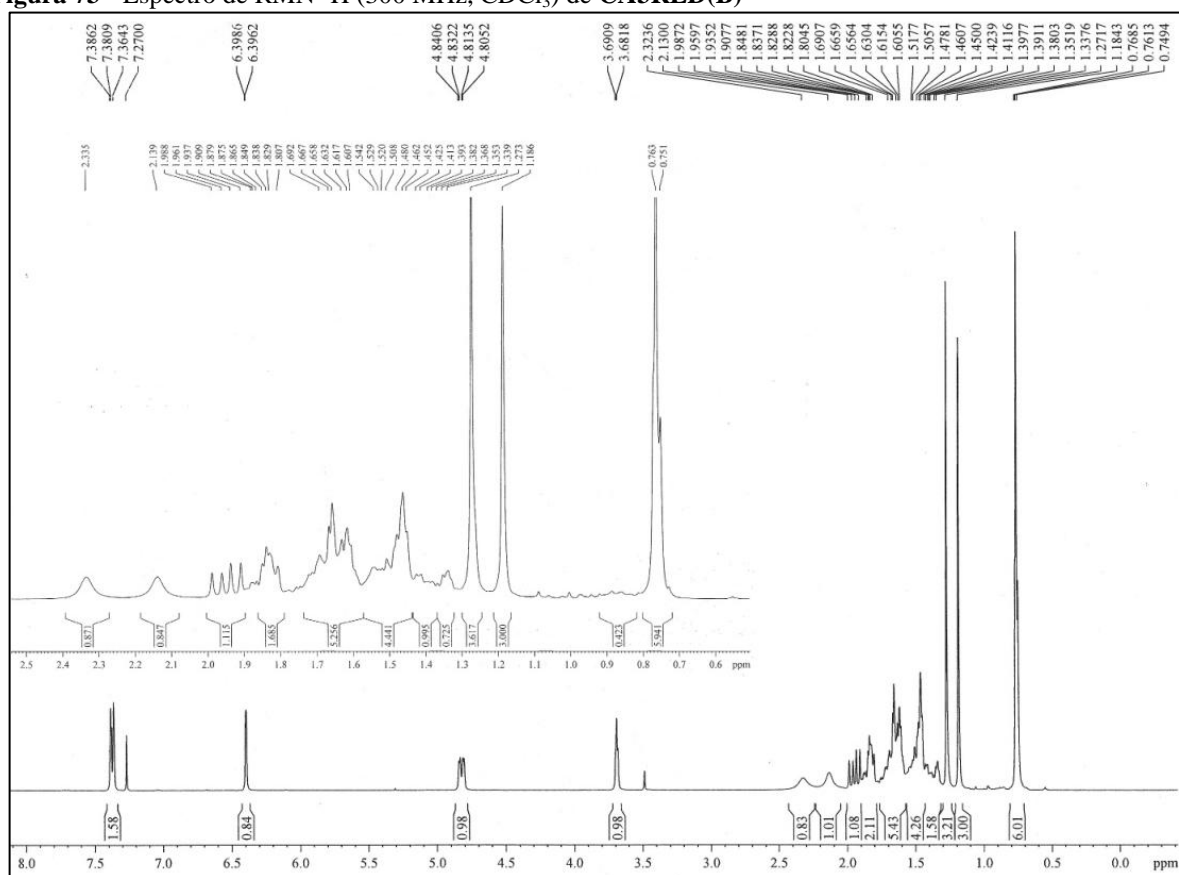
**Figura 72** - Estrutura de **CA3RED(B)** (15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno)



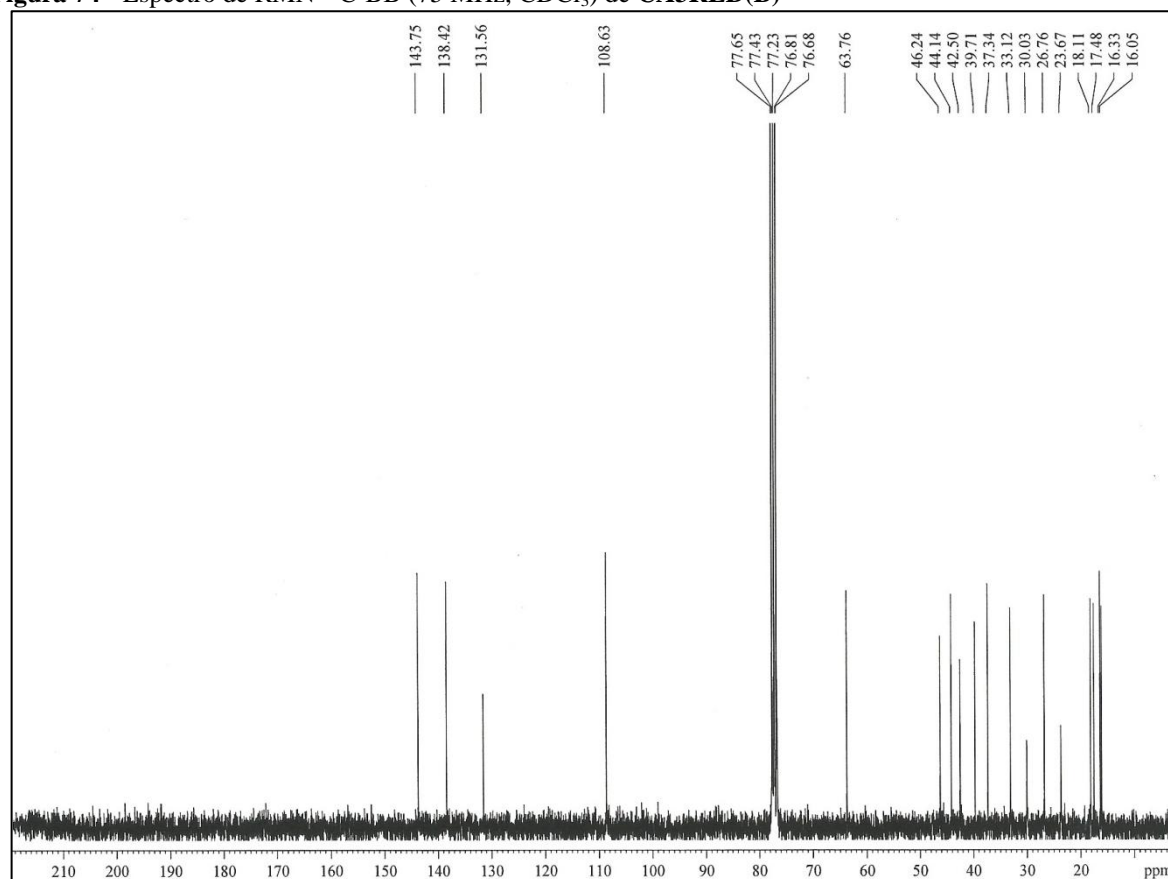
**Tabela 13** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) de **CA3RED(B)** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

C	HSQC		CA-3 ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	
1	17,4	1,64 (m; 2H)	23,8
2	30,0	1,84 (m; 1H)	36,2
		1,66 (m; 1H)	
3	77,3	3,69 (m; 1H)	215,3
4	76,6	-	81,7
5	42,5	-	45,3
6	33,1	1,46 (m; 2H)	31,2
7	26,7	1,45 (m; 1H)	26,9
		1,35 (m; 1H)	
8	37,3	1,48 (m; 1H)	37,5
9	39,7	-	42,0
10	44,1	1,81 (m; 1H)	41,6
11	46,2	1,95 (dd; 15,6 e 8,2; 1H);	47,3
		1,63 (m; 1H)	
12	63,7	4,82 (dd; 8,1 e 2,5; 1H)	195,2
13	131,5	-	129,7
14	108,6	6,39 (m; 1H)	108,8
15	143,7	7,38 (m; 1H)	144,5
16	138,4	7,36 (m; 1H)	147,0
17	16,3	0,76 (m; 3H)	16,7
18	23,6	1,27 (s; 3H)	21,9
19	16,0	1,18 (s; 3H)	15,0
20	18,1	0,76 (s; 3H)	17,8

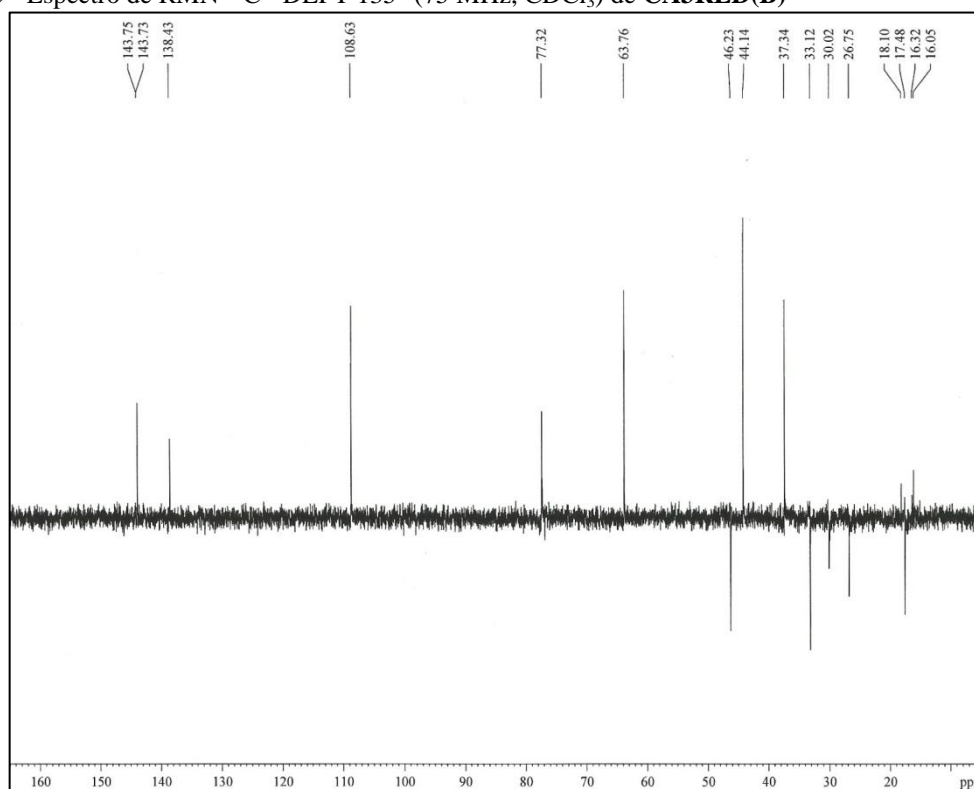
**Figura 73** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3RED(B)**



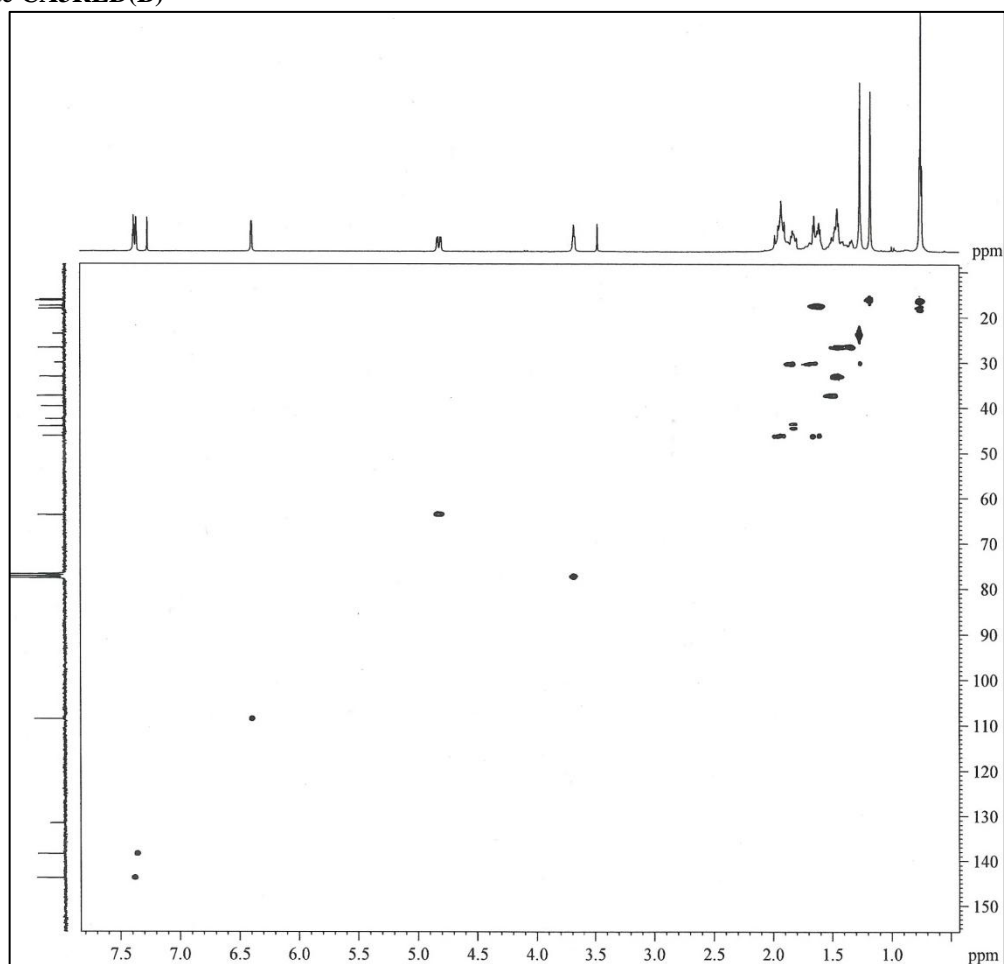
**Figura 74** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3RED(B)**



**Figura 75** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3RED(B)



**Figura 76** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3RED(B)



#### 4.3.1.3 Determinação Estrutural de CA3-BIO

A biotransformação do substrato **CA-3** pelo fungo *Rhizopus stolonifer* resultou no isolamento de um composto na forma de um sólido branco denominado **CA3-BIO** (item 6, p. 266).

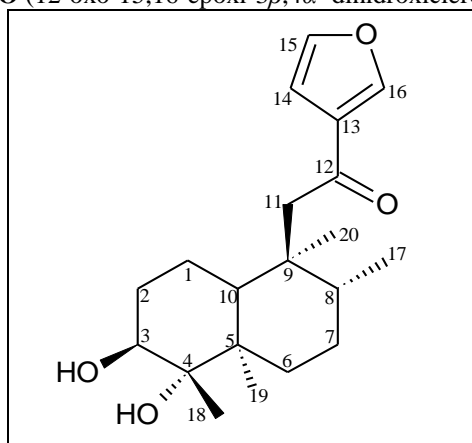
A comparação dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3-BIO** (fig. 78, p. 133), e de **CA-3** (fig. 58, p. 118), revelou um sinal adicional referente ao hidrogênio carbinólico centrado em  $\delta_{\text{H}}$  3,82 (1H-3, dd,  $J = 12$  e 4,9 Hz), resultado da redução da carbonila presente no carbono C-3 do substrato inicial.

De acordo com a multiplicidade observada para o hidrogênio H-3, foi possível sugerir o acoplamento entre hidrogênios nas posições axial-axial e axial-equatorial. Desta forma, foram fixadas a posição axial para o hidrogênio H-3 e equatorial para a hidroxila resultante da redução da carbonila C-3 (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

A análise conjunta dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 79, p. 133) e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz) (fig. 80, p. 134) de **CA3-BIO** em comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-3** (fig. 60, p. 119) mostrou o sinal referente ao carbono carbinólico em  $\delta_{\text{C}}$  72,4 (C-3) em detrimento do sinal do carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  215,3 (C-3) presente em **CA-3**. Os demais sinais se mostraram semelhantes ao substrato original, conforme mostra a **Tabela 14** (p. 132).

O produto da biotransformação de **CA-3** pelo fungo *R. stolonifer* foi caracterizado como o composto 12-oxo-15,16-epoxi-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 77). Curiosamente foi observado que o produto de redução da carbonila do carbono C-3 de **CA-3** por métodos químicos apresentou uma estereoquímica diferente do produto reduzido via biotransformação pelo fungo *R. stolonifer*.

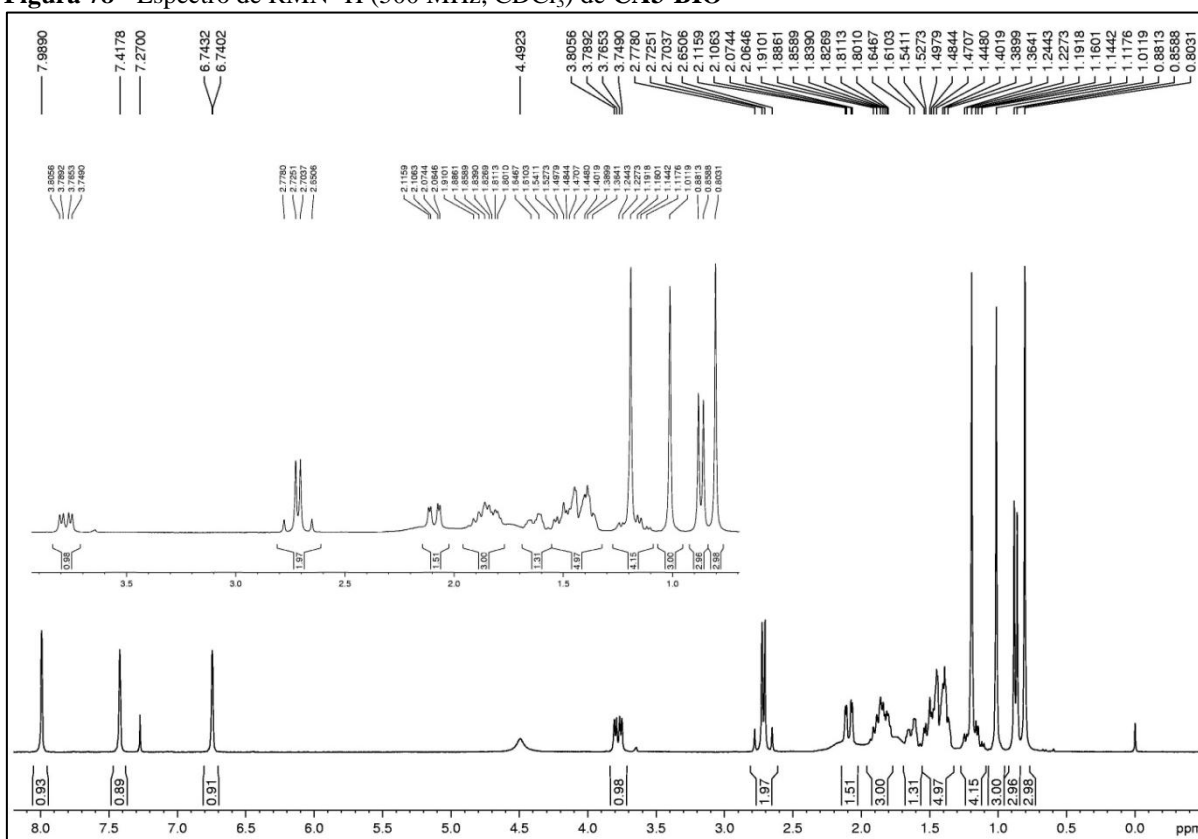
**Figura 77** - Estrutura de **CA3-BIO** (12-oxo-15,16-epoxi-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno)



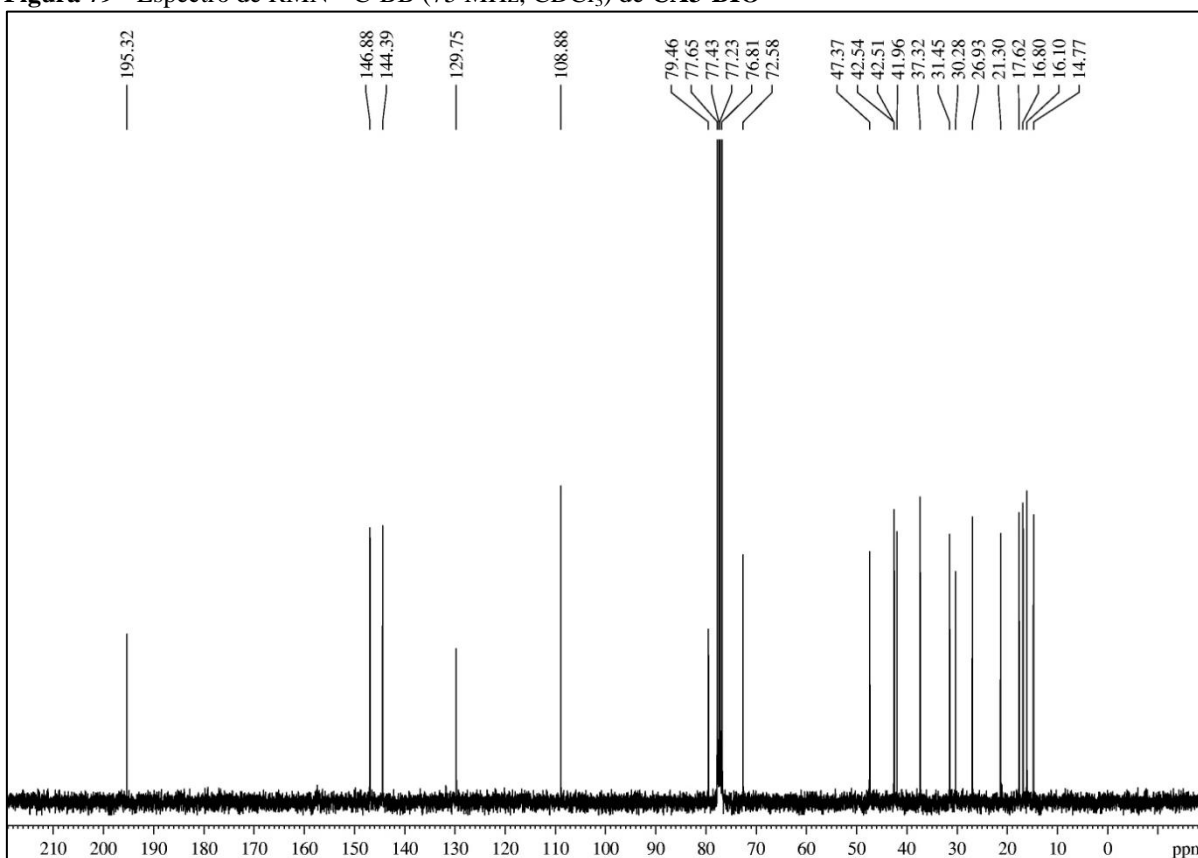
**Tabela 14** - Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA3-BIO** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

C	HSQC		CA-3 ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	
1	21,3	1,63 (m; 1H)	23,8
		1,48 (m; 1H)	
2	30,2	1,82 (m; 1H)	36,2
		1,16 (m; 1H)	
3	72,5	3,77 (dd; 12,1 e 4,9; 1H)	215,3
4	79,4	-	81,7
5	42,5	-	45,3
6	31,4	1,48 (m; 2H)	31,2
7	26,9	1,42 (m; 2H)	26,9
8	37,3	1,89 (m; 1H)	37,5
9	41,9	-	42,0
10	42,5	2,10 (dd; 12,5 e 2,9; 1H)	41,6
11	47,3	2,74 (d; 15,9; 1H)	47,3
		2,68 (d; 15,9; 1H)	
12	195,3	-	195,2
13	129,7	-	129,7
14	108,8	6,74 (sl; 1H)	108,8
15	144,4	7,42 (sl; 1H)	144,5
16	146,8	7,99 (sl; 1H)	147,0
17	16,8	0,87 (d; 6,7; 3H)	16,7
18	16,1	1,1 (s; 3H)	21,9
19	14,7	1,0 (s; 3H)	15,0
20	17,6	0,87 (s; 3H)	17,8

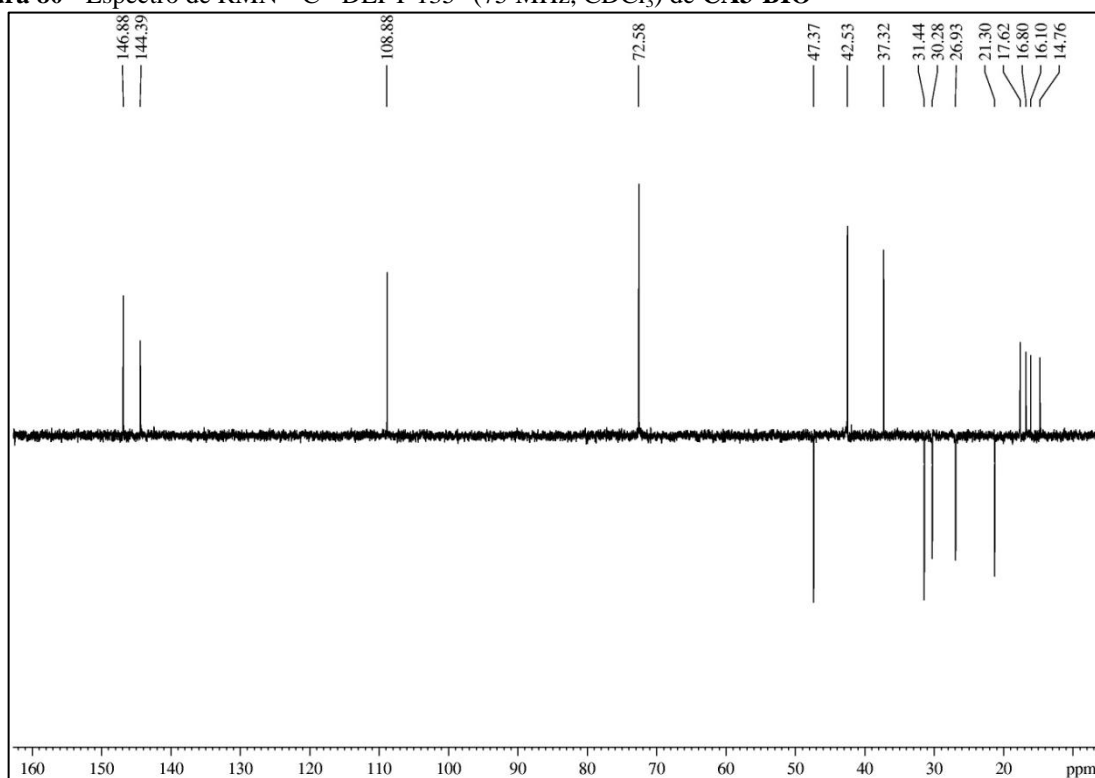
**Figura 78** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3-BIO



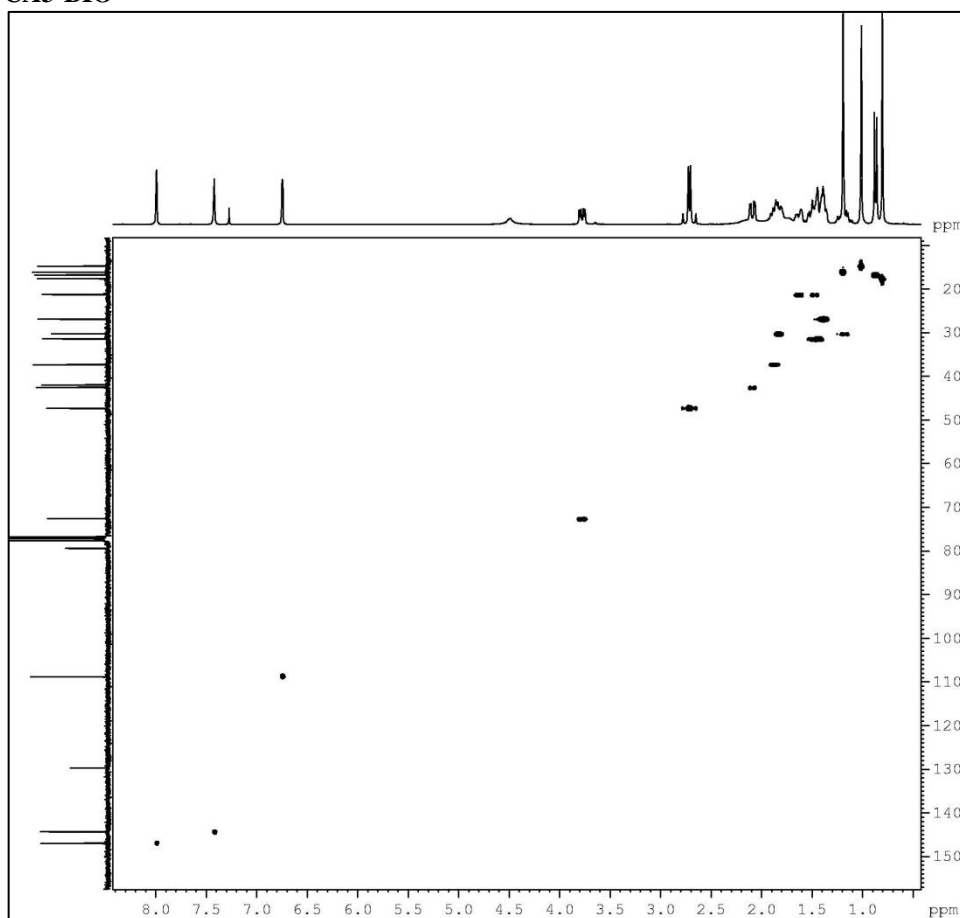
**Figura 79** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3-BIO



**Figura 80** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - DEPT  $135^\circ$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3-BIO



**Figura 81** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA3-BIO





#### 4.4 Determinação Estrutural de CA-4

O tratamento cromatográfico da fração **CLH-4**, proveniente do extrato hexânico do caule de *Croton limae*, forneceu um composto na forma de um sólido cristalino incolor, com  $[\alpha]_D^{20} = + 2,8^\circ$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ), com p.f 104,2 – 105,4 °C, que foi denominado **CA-4** (item 5.5.2.2, p. 250).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-4** (fig. 86, p. 139) revelou absorções em  $1696\text{ cm}^{-1}$  e em  $1727\text{ cm}^{-1}$  relativas a deformação axial de ligações C=O e em  $1228\text{ cm}^{-1}$  referente a deformação axial da ligação C-O. Foi observada ainda uma absorção larga compreendida entre  $3407$  e  $2600\text{ cm}^{-1}$  resultante da superposição das absorções de deformação axial de ligação O-H de grupo hidroxila de ácido carboxílico e de grupos C-H de grupos metil, metileno e metino.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-4** (fig. 87, p. 139) revelou uma absorção intensa em  $\delta_{\text{H}} 0,82$  (3H-20 e 3H-19, s) referente a dois grupamentos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados, além de outros dois sinais em  $\delta_{\text{H}} 1,34$  (3H-18, s) e  $0,93$  (3H-17, d,  $J = 6,6$  Hz). Foram observados ainda sinais na região de  $\delta_{\text{H}} 1,30$  a  $2,70$  relativos a hidrogênios de grupos CH e  $\text{CH}_2$ .

Observou-se uma grande similaridade nos valores de deslocamentos químicos entre os sinais dos compostos **CA-3** e **CA-4** nos respectivos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) (fig. 89, p. 140). A principal diferença observada foi à ausência dos quatro sinais de carbonos insaturados relativos ao anel furânico de **CA-3**, em adição a 16 linhas espectrais, destacando-se os sinais referentes a duas carbonilas em  $\delta_{\text{C}} 215,2$  (C-3) e  $177,7$  (C-12) e um sinal em  $\delta_{\text{C}} 81,7$  (C-4) referente a um carbono oxigenado. A comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (fig. 90, p. 141) permitiu correlacionar os carbonos com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 2 carbonos metínicos e 5 carbonos não-hidrogenados.

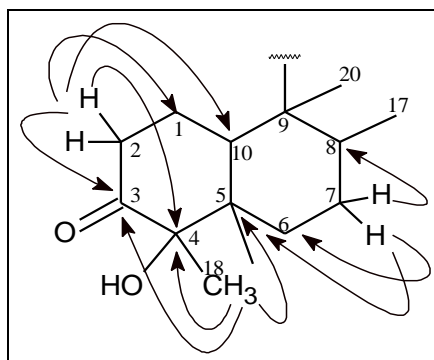
O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) de **CA-4** (fig. 95, p. 143) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$  305.1696, relativo ao aduto de sódio ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_4$ , com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 4, para **CA-4**.

A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-4** (fig. 91, p. 141) permitiu assinalar, de forma inequívoca, cada

absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 15** (p. 138).

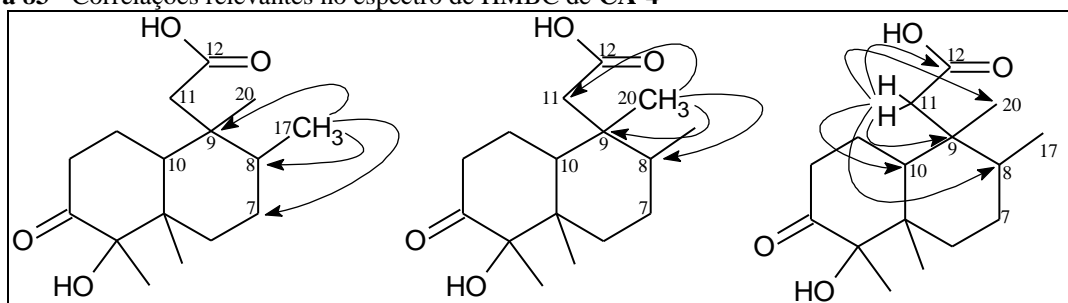
Com base nesses dados, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca da estrutura de **CA-4**, através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 92 e 93, p. 142). A análise confirmou a estrutura de um sistema decalina contendo um grupo carbonila em C-3 e hidroxila em C-4 através das correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,34 (H-18) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  81,7 (C-4), 45,4 (C-5) e 215,2 (C-3). O espectro mostrou ainda as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,59 e 2,47 (2H-2) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  23,6 (C-1), 215,2 (C-3), 81,7 (C-4) e 42,9 (C-10), além das correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,44 e 1,39 (2H-7) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  45,4 (C-5), 31,3 (C-6) e 38,3 (C-8) (fig. 82).

**Figura 82** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC que auxiliaram a confirmar o sistema decalina de **CA-4**



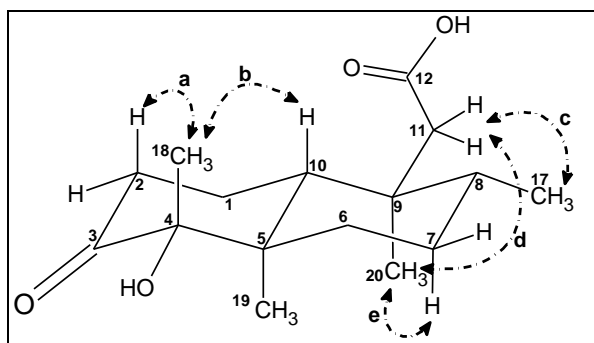
O espectro de HMBC apresentou também correlações entre os hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  0,93 (3H-17) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  26,7 (C-7), 38,3 (C-8) e 41,2 (C-9) e dos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  0,82 (3H-20) com os carbonos em 38,3 (C-8), 41,2 (C-9) e 43,2 (C-11). O posicionamento da carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  177,7 (C-12) foi confirmada através das correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  2,43 (2H-11) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  17,4 (C-20), 38,3 (C-8), 41,2 (C-9), 42,9 (C-10) e com a carboxila em 177,7 (C-12) (fig. 83).

**Figura 83** - Correlações relevantes no espectro de HMBC de **CA-4**



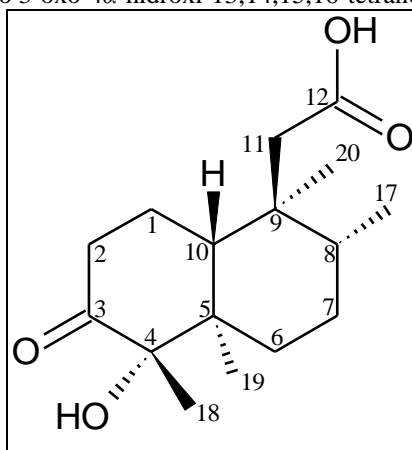
O espectro bidimensional de NOESY de **CA-4** (fig. 94, p. 143) apresentou correlações espaciais entre os hidrogênios H-18 ( $\delta_H$  1,34) com o hidrogênio H-10 ( $\delta_H$  2,26) e com hidrogênio H-2<sub>ax</sub> ( $\delta_H$  2,59), entre os hidrogênios H-20 ( $\delta_H$  0,82) com os hidrogênios H-11 ( $\delta_H$  2,43) e H-7<sub>ax</sub> ( $\delta_H$  1,39), os hidrogênios H-11 ( $\delta_H$  2,43) também apresentaram correlação com os hidrogênios H-17 ( $\delta_H$  0,93). Desta forma, foi possível propor, a estereoquímica relativa da molécula, representada na **Figura 84**.

**Figura 84** - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-4** para o posicionamento da metila C-18 na posição axial



A análise de todos os dados espectroscópicos obtidos, bem como a comparação com dados obtidos para **CA-3**, permitiu caracterizar **CA-4** como o ácido 3-oxo-4 $\alpha$ -hidroxi-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oico (fig. 85), que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.

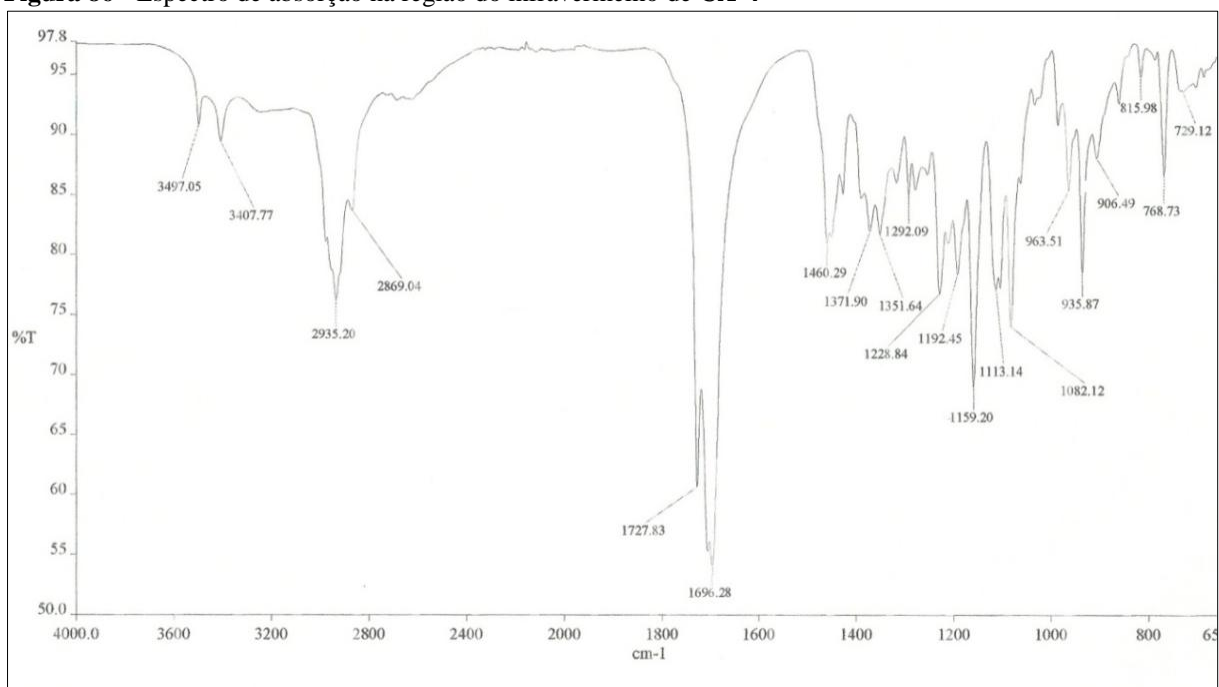
**Figura 85** - Estrutura de **CA-4** (ácido 3-oxo-4 $\alpha$ -hidroxi-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oico)



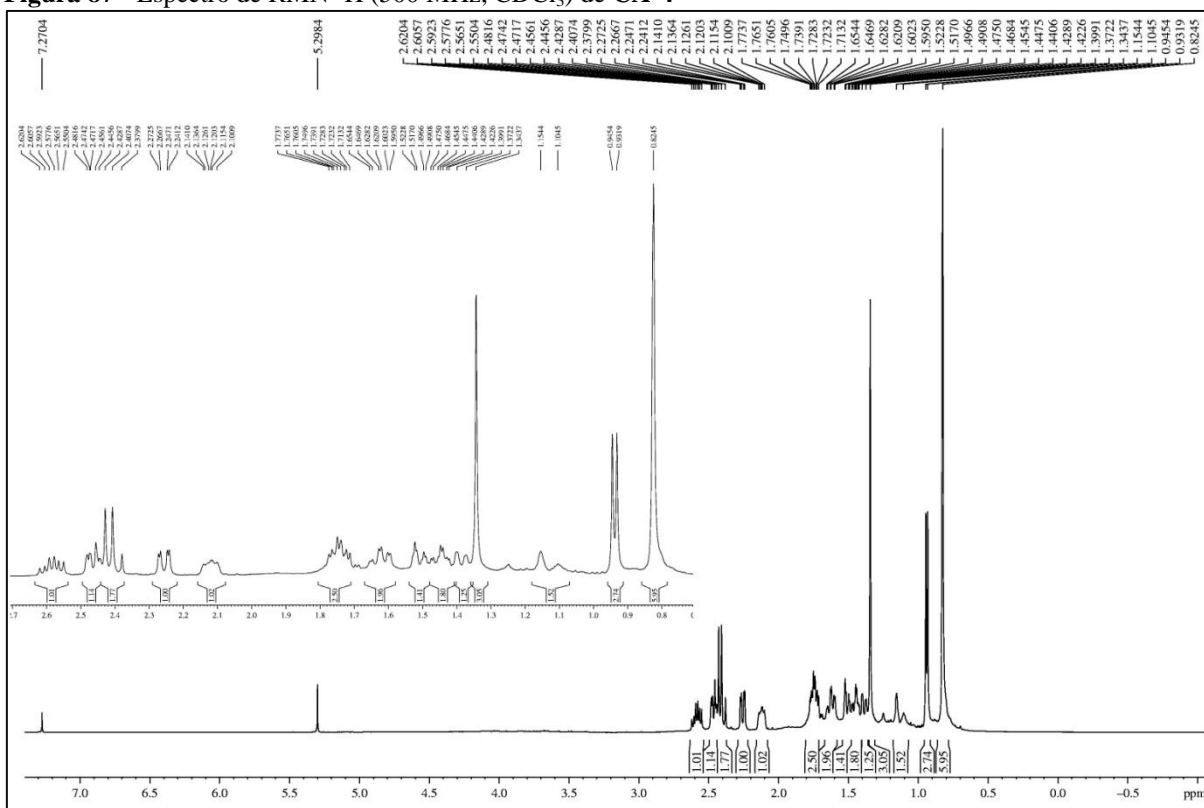
**Tabela 15** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-4** e comparação com os valores obtidos para **CA-3**

C	HSQC		HMBC		CA-3
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	23,6	2,13 (m; 1H) 1,74 (m; 1H)	2H-2; 1H-10		23,8
2	36,2	2,59 (td; 14,0 e 7,3; 1H) 2,47 (m; 1H)	2H-1		36,2
3	215,2	-	2H-2	1H-1a; 3H-18	215,3
4	81,7	-	3H-18	1H-2b; H-10	81,7
5	45,4	-	3H-19; 1H-10	2H-1; 3H-18	45,3
6	31,3	1,62 (td; 13,0 e 3,7; 1H) 1,51 (m; 1H)	2H-7	3H-19; 1H-8	31,2
7	26,7	1,44 (td; 13,8 e 3,2; 1H) 1,39 (d; 13,4; 1H)	2H-6; 1H-8	3H-17	26,9
8	38,3	1,74 (m; 1H)	3H-17	2H-11; 3H-20	37,5
9	41,2	-	1H-10; 2H-11	3H-17	42,0
10	42,9	2,26 (dd; 12,8 e 3,1; 1H)	2H-1	2H-2; 2H-11; 3H-20	41,6
11	43,2	2,43 (q; 13,7; 2H)		3H-20	47,3
12	177,7	-	2H-11		195,2
17	16,3	0,93 (d; 6,6; 3H)	1H-8		16,7
18	21,8	1,34 (s; 3H)			21,9
19	15,0	0,82 (s; 3H)		1H-6a; 1H-10	15,0
20	17,4	0,82 (s; 3H)		1H-8; 1H-10; 2H-11	17,8

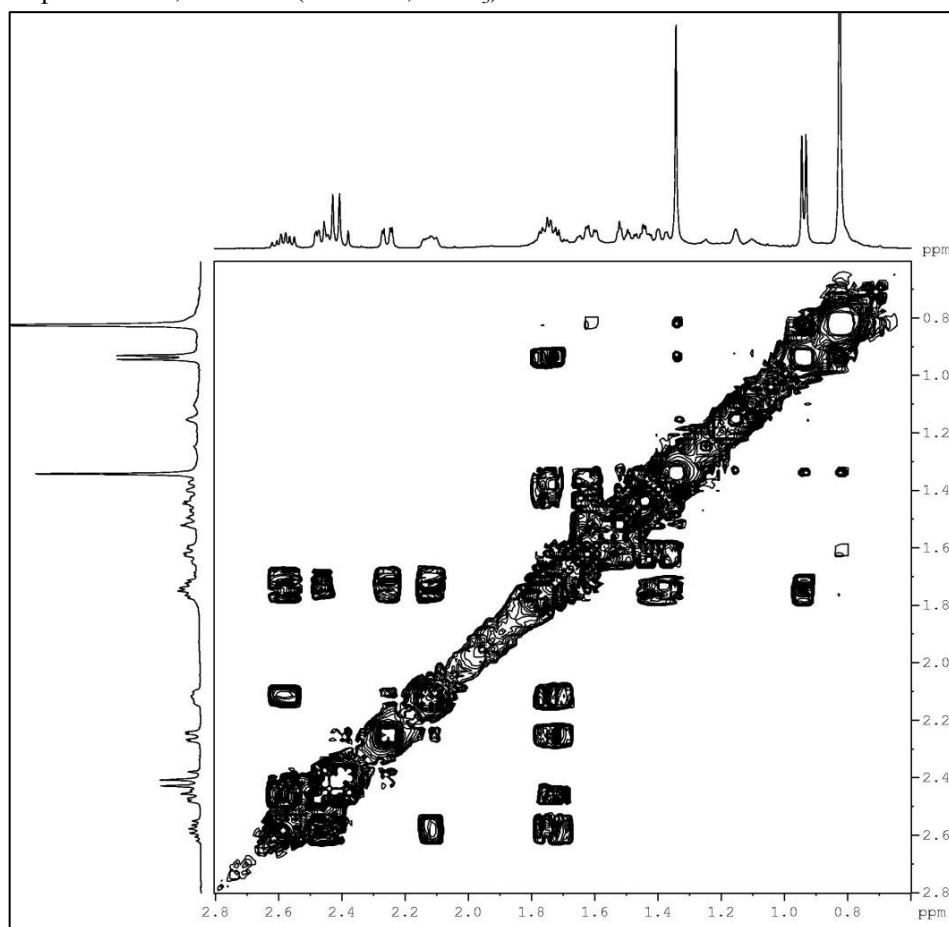
**Figura 86** - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-4



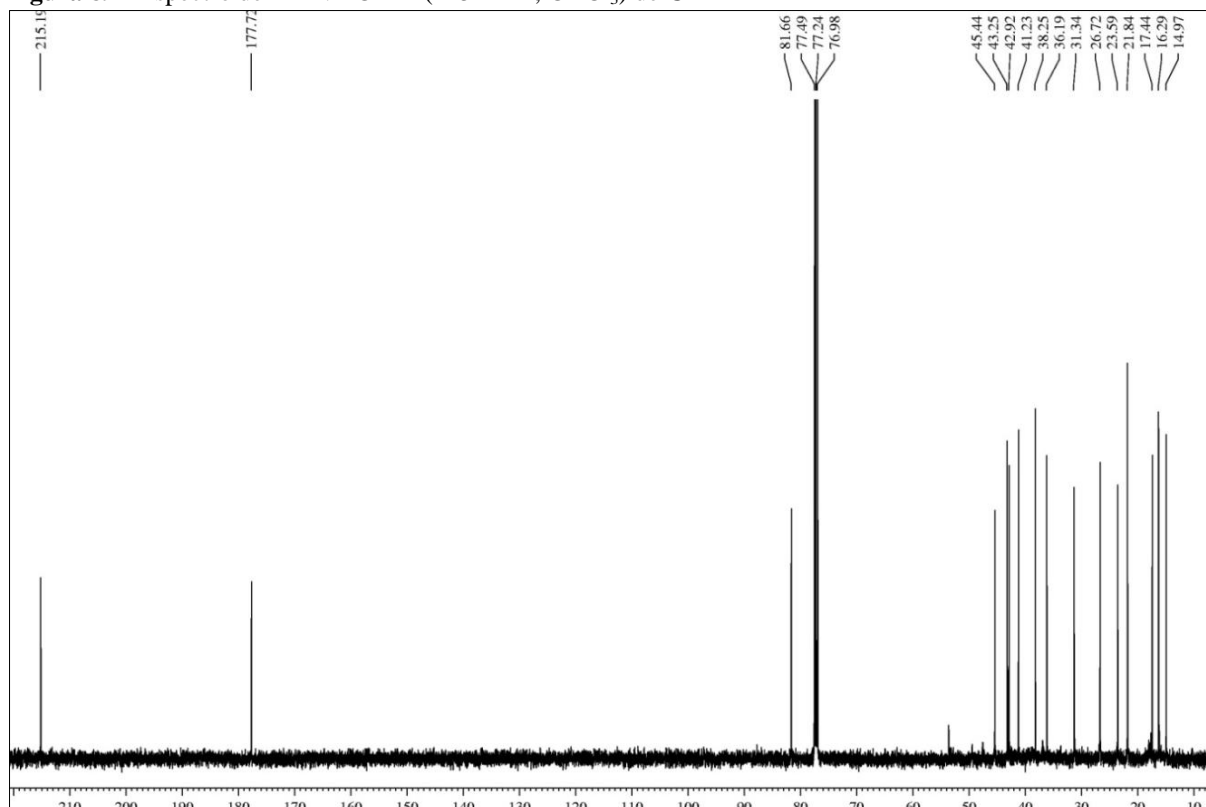
**Figura 87** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CA-4



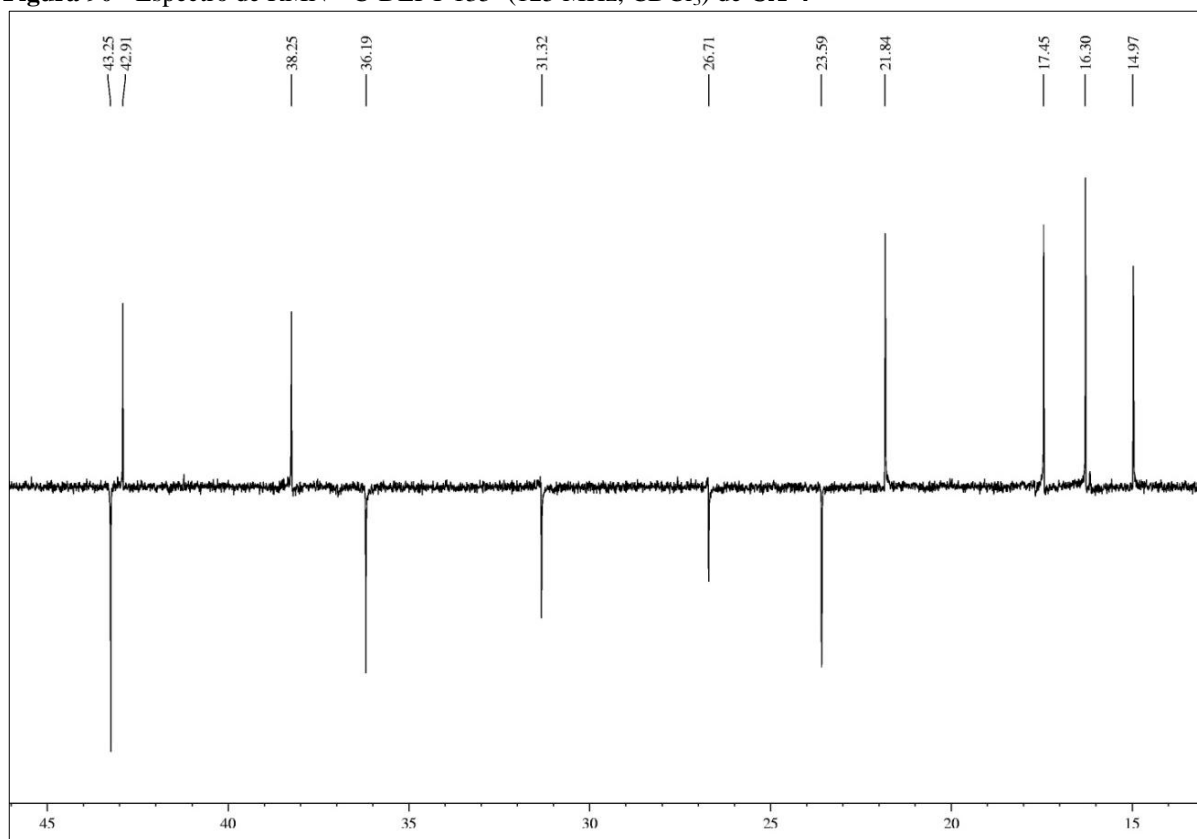
**Figura 88** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4



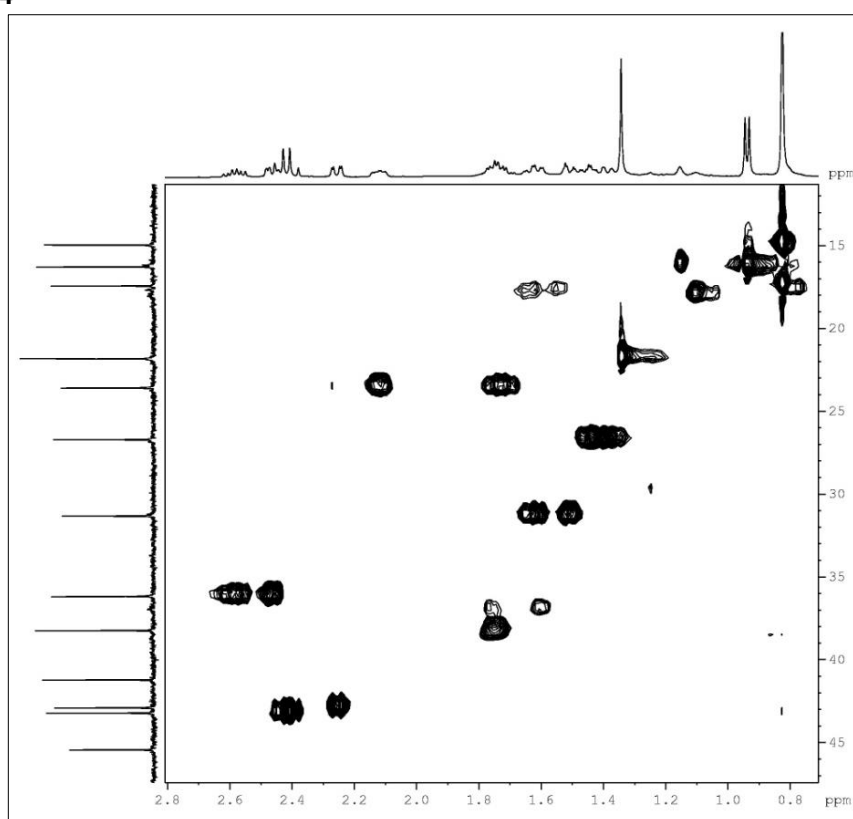
**Figura 89** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4



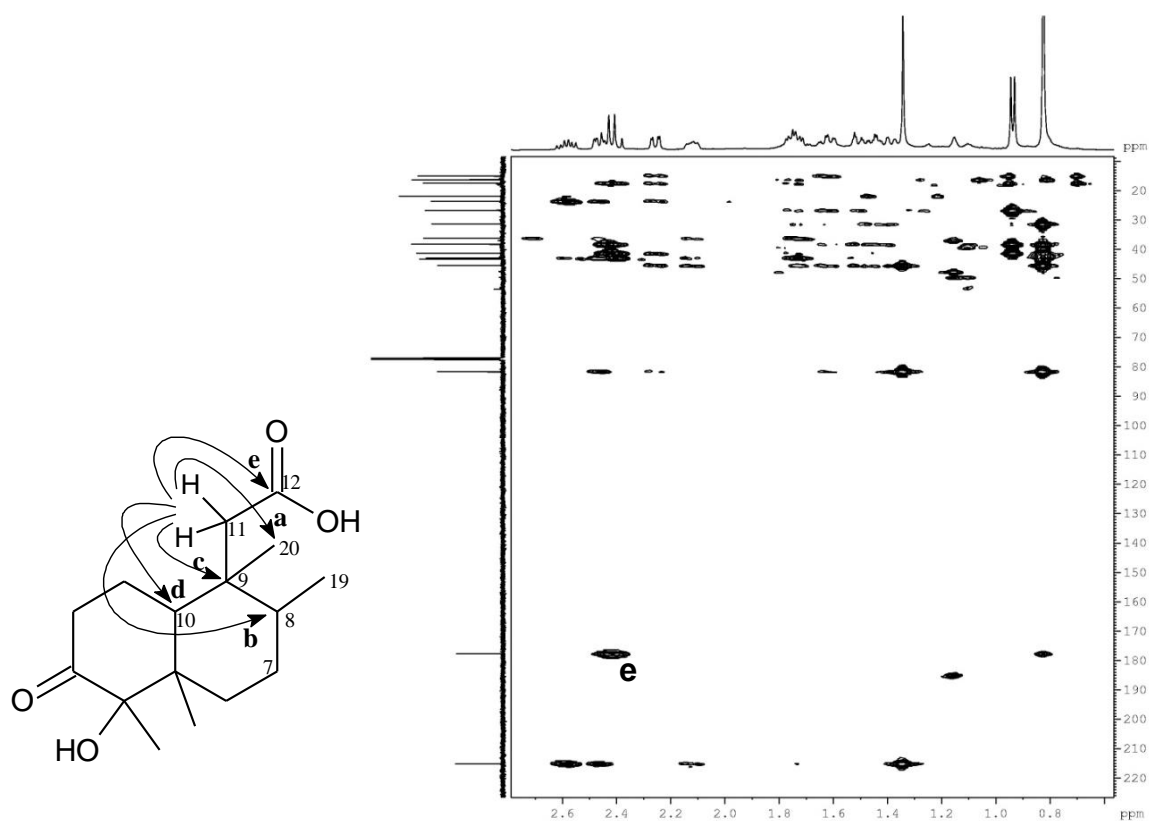
**Figura 90** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4



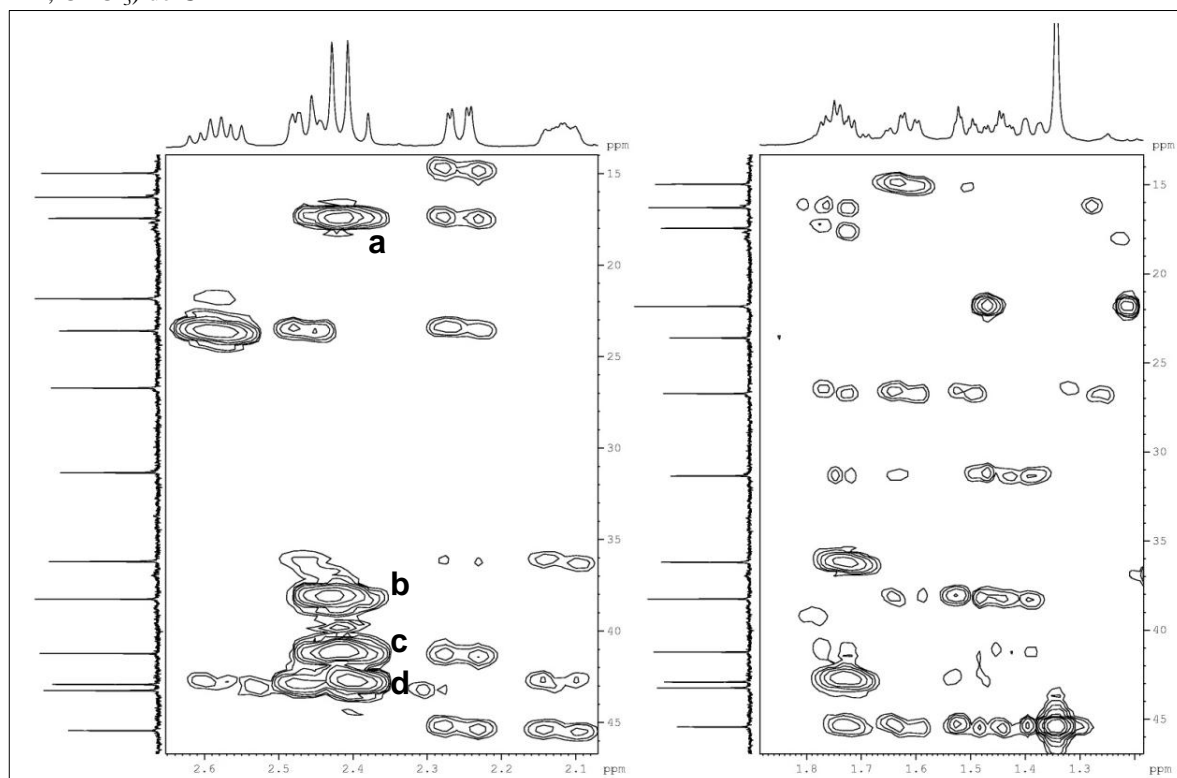
**Figura 91** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4



**Figura 92** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4

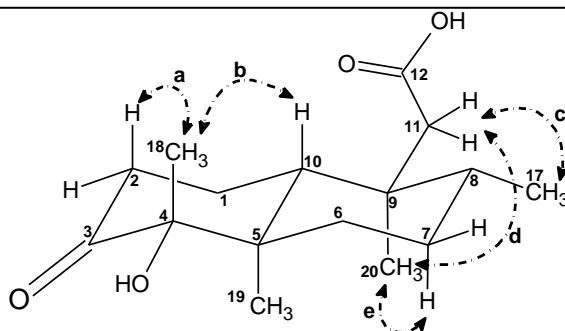
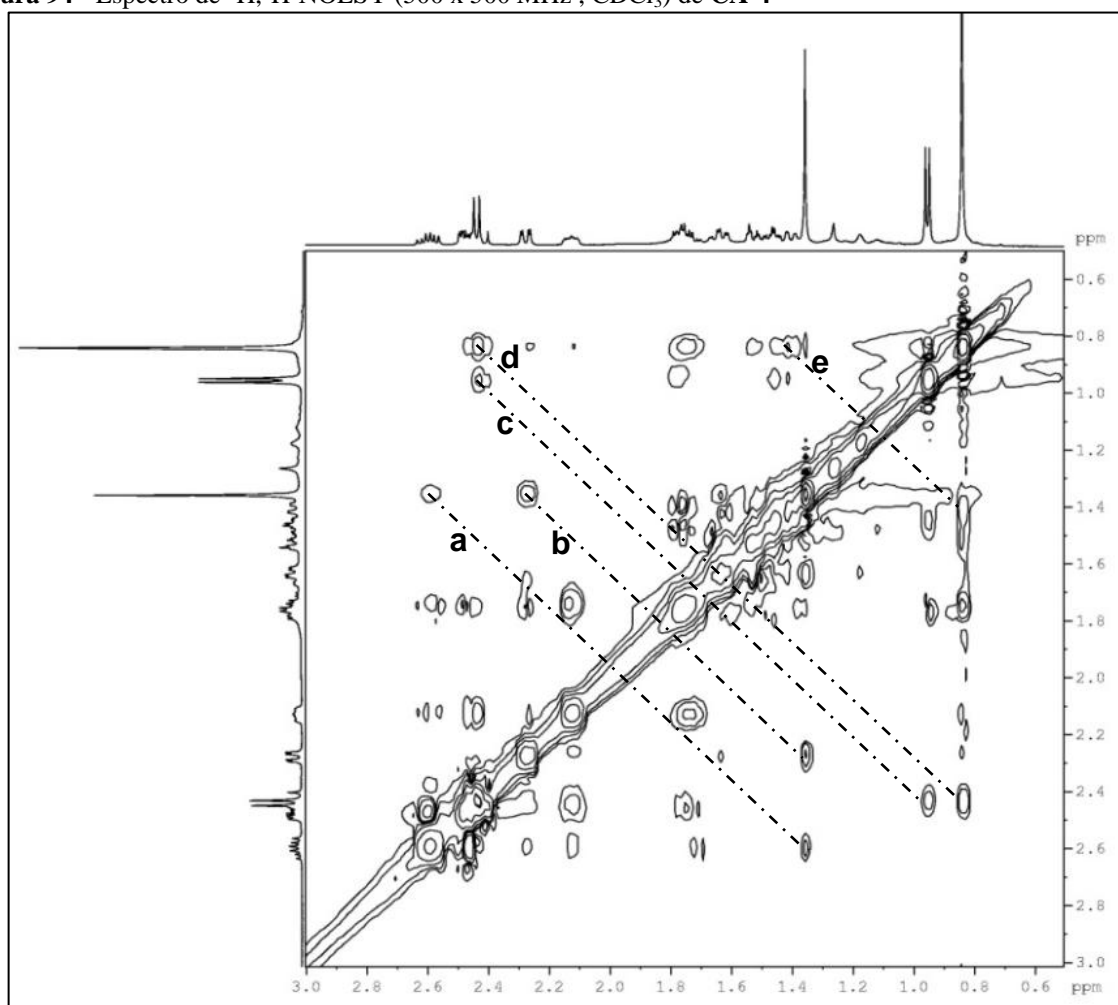


**Figura 93** - Expansões do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4

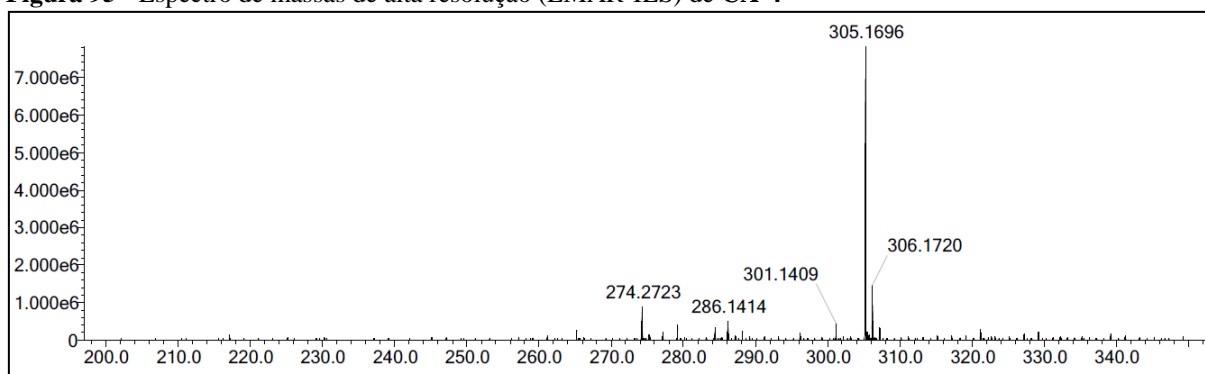




**Figura 94** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (500 x 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-4



**Figura 95** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CA-4



#### 4.5 Determinação Estrutural de CA-5

O tratamento cromatográfico da fração **CLH-4**, proveniente do extrato hexânico do caule de *Croton limae*, forneceu um composto na forma de um sólido amarelo, com p. f. 233,5 – 235,1 °C, que foi denominado **CA-5** (item 5.5.2.3, p. 252).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-5** (fig. 100, p. 148) mostrou uma banda larga em 3353 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação O-H ( $\nu_{\text{OH}}$ ), uma banda de absorção em 1657 cm<sup>-1</sup> relacionada a deformação axial da ligação C=O de carbonila, além de uma banda de intensidade média em 1615 cm<sup>-1</sup> correspondente a deformação axial da ligação C=C de alqueno.

A análise do espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-5** (fig. 101, p. 148) mostrou a presença de doze sinais, dos quais cinco encontram-se na região de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  6,19 (1H, d,  $J = 1,2$  Hz), 6,38 (1H, s), 6,86 (1H, d,  $J = 8,4$  Hz), 7,58 (1H, dd,  $J = 8,5$  e 2,1 Hz) e 7,71 (1H, d,  $J = 2,1$  Hz). Os sete sinais na região de hidrogênios ligados a carbonos carbinólicos foram sugestivos da presença de uma unidade de  $\beta$ -glicose, confirmada pela presença de um duplete em  $\delta_{\text{H}}$  5,24 (H-1'', d,  $J = 7,6$  Hz), característico de hidrogênio ligado a carbono anomérico em posição axial.

A análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-5** (fig. 102, p. 149) mostrou a presença de 21 linhas espectrais. A absorção em  $\delta_{\text{C}}$  179,5 (C-4) foi associada à carbonila de cetona conjugada. A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (fig. 103, p. 149), permitiu correlacionar os carbonos com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados um carbono metilênico, 10 carbonos metínicos e 10 carbonos não-hidrogenados.

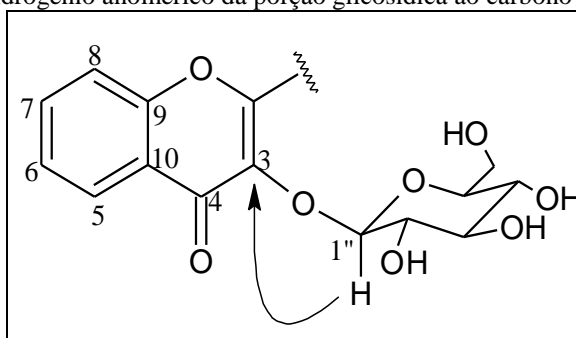
Pôde-se propor ainda que os sete sinais em  $\delta_{\text{C}}$  166,5 (C-7), 163,1 (C-5), 159,1 (C-2), 158,6 (C-9), 150,0 (C-4'), 146,1 (C-3') e 135,8 (C-3) tratavam-se de carbonos insaturados e oxigenados. Após a união destes dados, aliados ao número de carbonos insaturados presentes na estrutura do composto, pôde-se concluir que **CA-5** tratava-se de um composto de esqueleto flavonoídico do tipo flavonol (AGRAWAL, 1989).

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) a uma ligação (HSQC) de **CA-5** (fig. 104, p. 150), permitiu correlacionar, inequivocamente, os deslocamentos químicos dos hidrogênios (<sup>1</sup>H) a seus respectivos carbonos (<sup>13</sup>C) (tab. 16, p. 147). A análise permitiu associar os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,38 e 6,19 com os sinais de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  95,0 (C-8) e 99,9 (C-6) respectivamente. Os sinais dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 (H-5'), 7,58

(H-6') e 7,71 (H-2') foram correlacionados com os carbonos em  $\delta_C$  116,2 (C-5'), 123,3 (C-6') e 117,7 (C-2'), respectivamente.

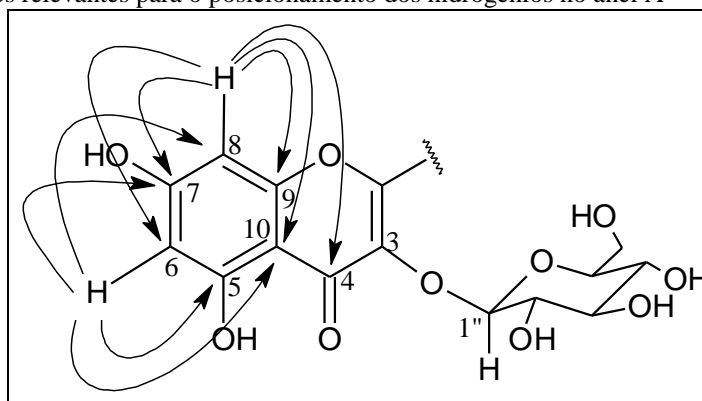
A porção  $\beta$ -piranosídica da glicose localizada no carbono C-3 ( $\delta_C$  135,8), foi confirmada através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1H$ ,  $^{13}C$  (HMBC) (fig. 105, p. 150), que mostrou a correlação, entre o hidrogênio H-1'' com C-3 da aglicona (fig. 96).

**Figura 96** - Correlação do hidrogênio anomérico da porção glicosídica ao carbono C-3 da aglicona



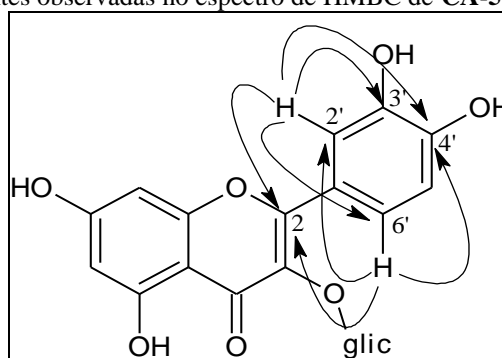
O espectro de HMBC mostrou também as correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  6,19 (H-6) com os carbonos em  $\delta_C$  95,0 (C-8), 163,1 (C-5), 166,5 (C-7) e 105,7 (C-10) e do sinal de hidrogênio em  $\delta_H$  6,38 (H-8) com os carbonos em  $\delta_C$  99,9 (C-6), 105,7 (C-10), 158,6 (C-9), 166,5 (C-7) e a quatro ligações com a carbonila em  $\delta_C$  179,6 (C-4). Estes dados permitiram atribuir para estes hidrogênios as posições 6 e 8 no anel A, respectivamente (fig. 97).

**Figura 97** - Correlações relevantes para o posicionamento dos hidrogênios no anel A



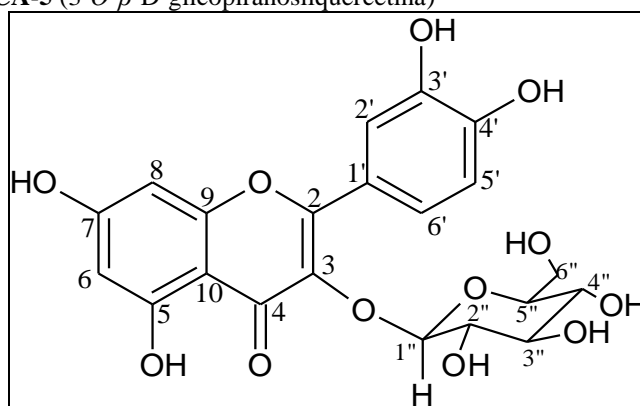
O padrão de hidrogenação do anel B foi determinado pelas correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  7,58 (H-6') com os carbonos em  $\delta_C$  117,7 (C-2'), 159,1 (C-2) e 150,0 (C-4'), e do hidrogênio em  $\delta_H$  7,71 (H-2') com os carbonos em  $\delta_C$  123,3 (C-6'), 159,1 (C-2), 146,1 (C-3') e 150,0 (C-4') (fig. 98, p. 146).

**Figura 98** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-5**



De acordo com a discussão apresentada e análise com dados da literatura (ROSA *et al.*, 2010) foi possível identificar **CA-5** como sendo a 3-*O*-β-D-glicopiranosilquercetina (fig. 98), também conhecida como isoquercitrina, já isolada anteriormente de *C. pedicellatus* (LOPES *et al.*, 2012) e *C. antisiphiliticus* (REIS *et al.*, 2014).

**Figura 98** - Estrutura de **CA-5** (3-*O*-β-D-glicopiranosilquercetina)

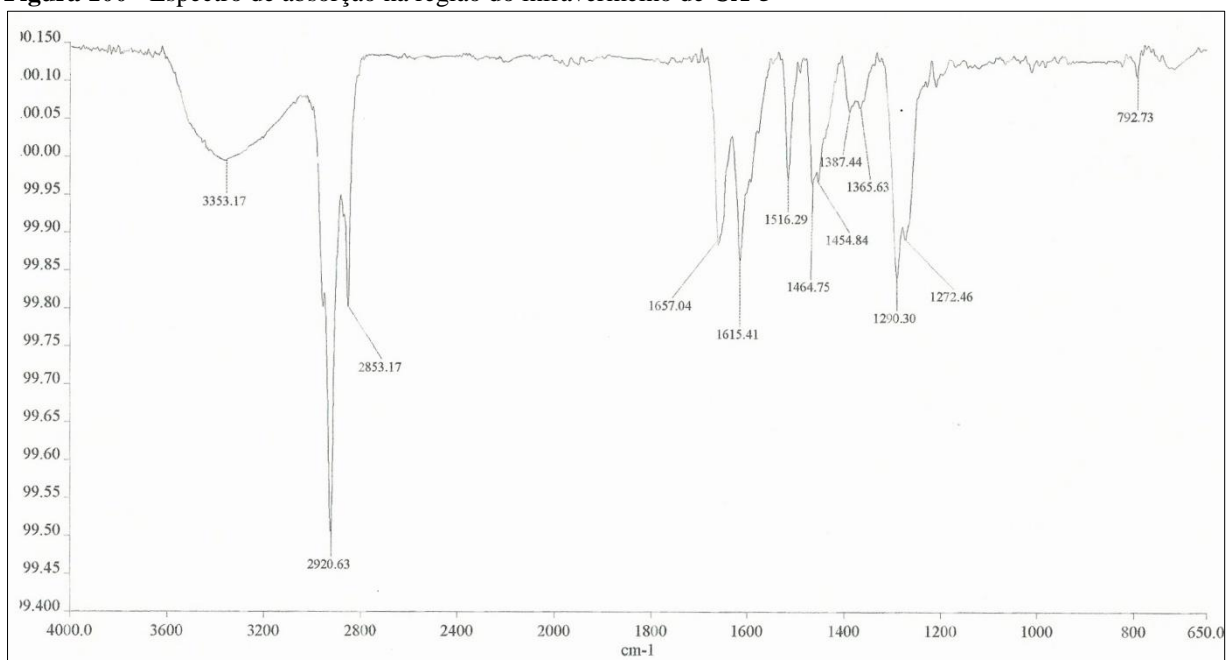


**Tabela 16** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC de CA-5 (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura para a 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosilquercetina (ROSA *et al.*, 2010)

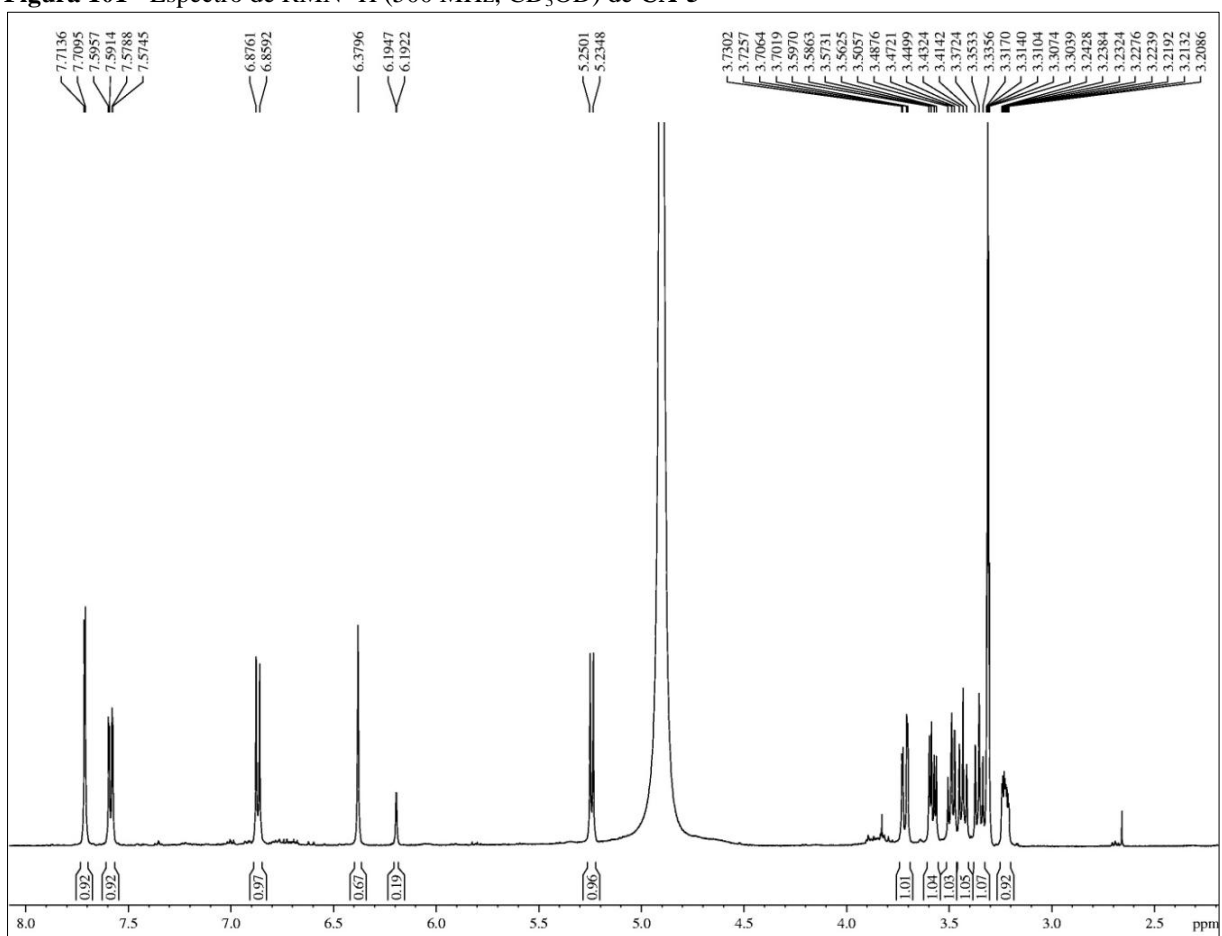
C	HSQC		HMBC			ROSA <i>et al.</i> , 2010*
	$\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{H}}(\text{ppm}; J = \text{Hz})$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$^4J_{\text{CH}}$	
2	159,1	-		1H-2'; 1H-6'		158,4
3	135,8	-		1H-1''		135,6
4	179,6	-			1H-8	179,5
5	163,1	-	1H-6			163,0
6	99,9	6,19 (d; 1,2; 1H)		1H-8		99,8
7	166,5	-	1H-6; 1H-8			166,0
8	95,0	6,38 (s; 1H)		1H-6		94,7
9	158,6	-	1H-8			159,0
10	105,7	-		1H-6; 1H-8		105,7
1'	123,2		1H-6'			123,2
2'	117,7	7,71 (d; 2,1; 1H)		H-6'		117,5
3'	146,1	-	1H-2'	1H-5'		145,9
4'	150,0	-	1H-5'	1H-2'; 1H-6'		149,8
5'	116,2	6,86 (d; 8,4; 1H)				115,9
6'	123,3	7,58 (dd; 8,4 e 2,1; 1H)	1H-5'	1H-2'		123,2
1''	104,5	5,24 (d; 7,6; 1H)	1H-2''			104,2
2''	75,9	3,48 (m; 1H)	1H-3''			75,7
3''	78,3	3,43 (m; 1H)	1H-2''; 1H-4''			78,4
4''	71,4	3,35 (m; 1H)	1H-3''	1H-5''; 1H-6''a		71,2
5''	78,5	3,22 (m; 1H)	2H-6''			78,1
6''	62,7	3,71(dd; 11,9 e 2,2; 1H) 3,58 (dd; 11,9 e 5,3; 1H)		1H-4''		62,5

\* (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

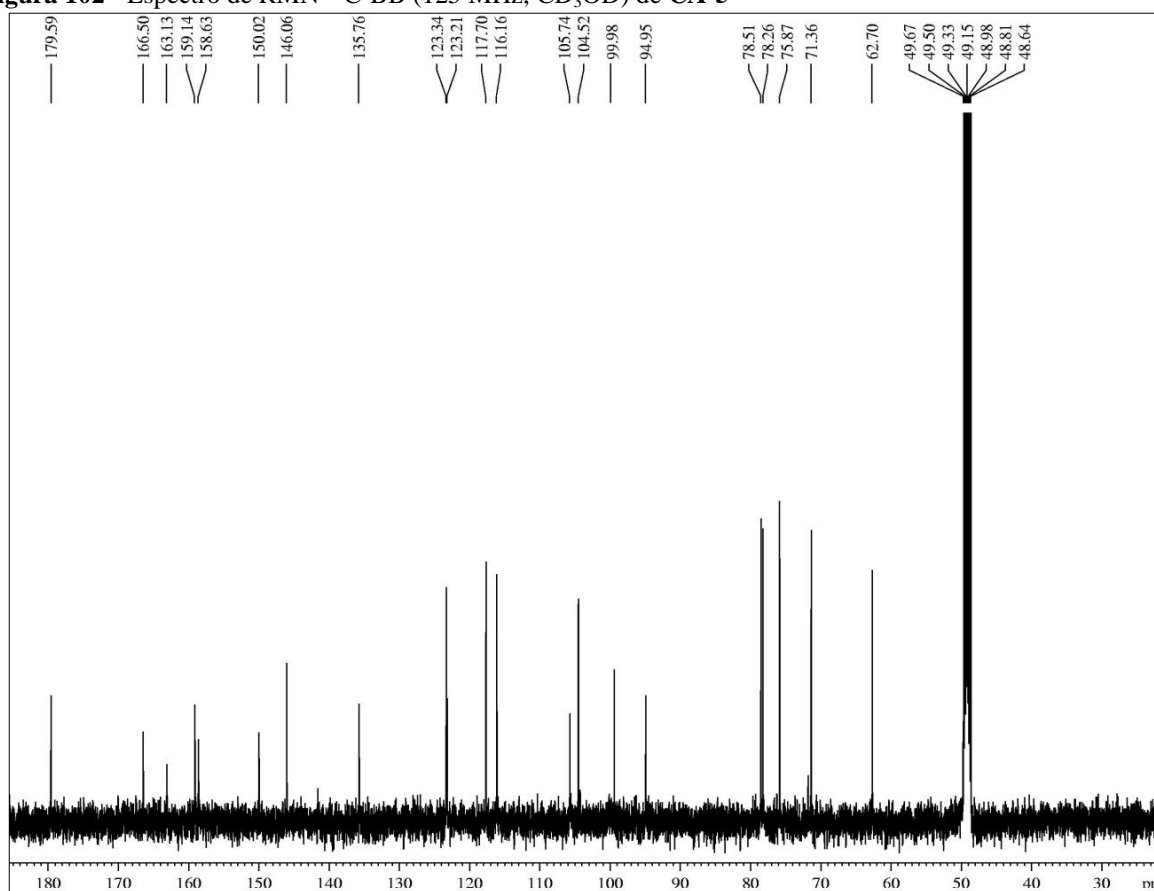
**Figura 100** - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-5



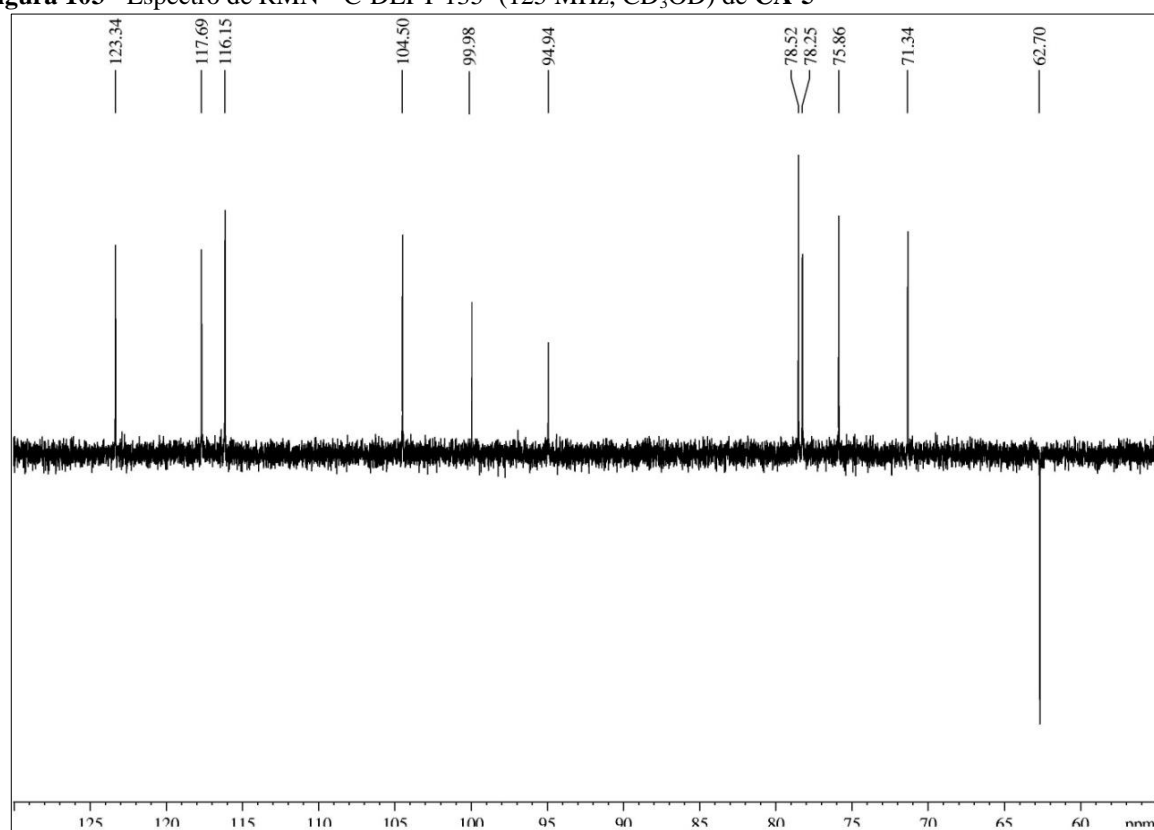
**Figura 101** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-5



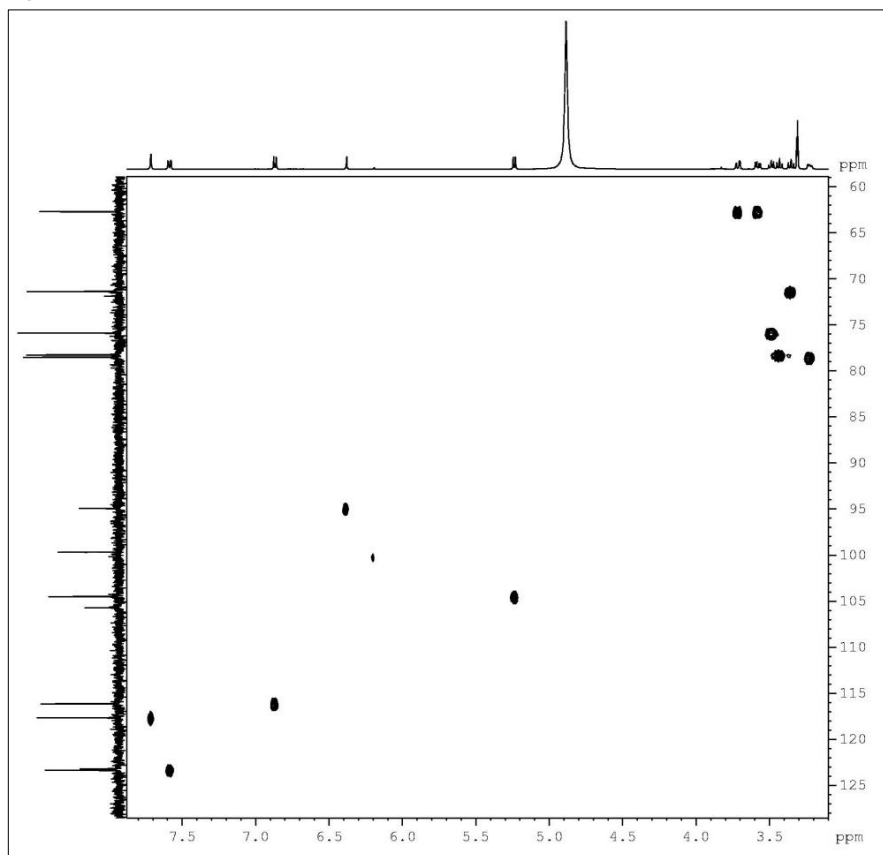
**Figura 102** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-5



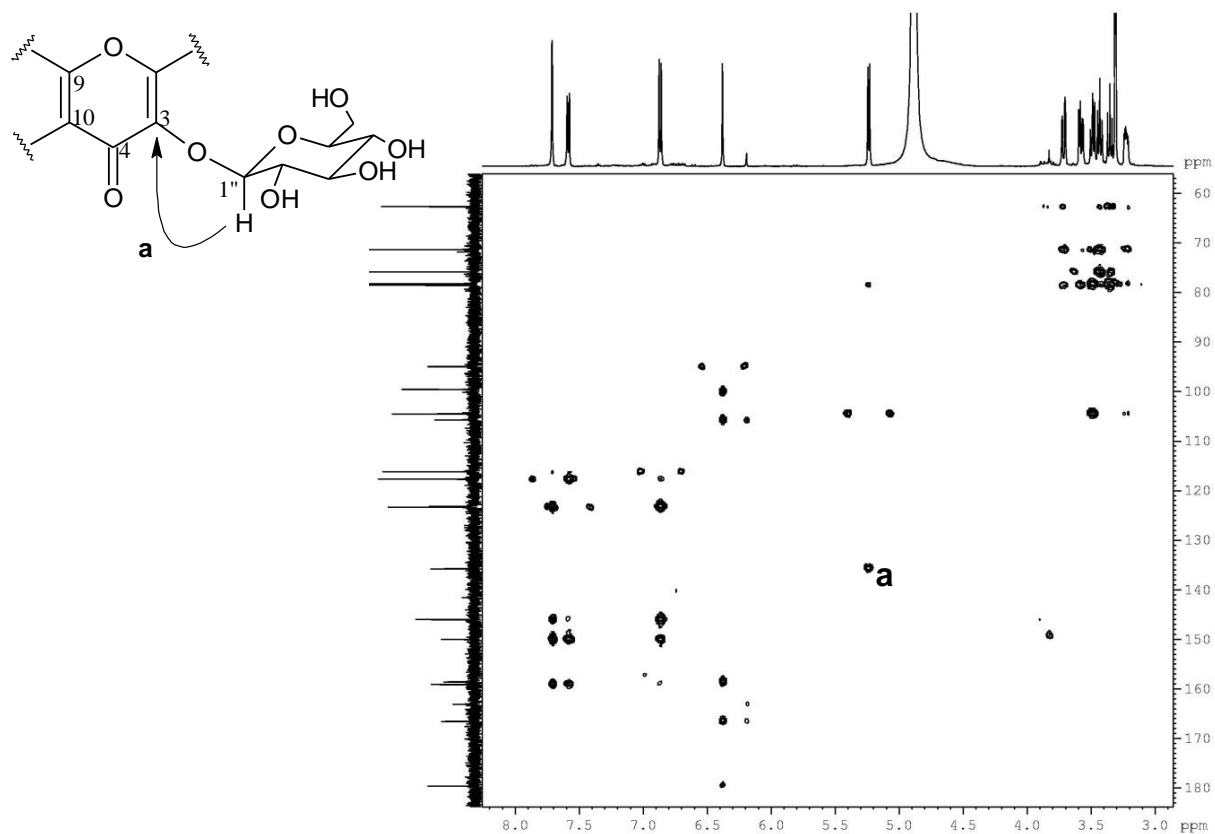
**Figura 103** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-5



**Figura 104** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-5



**Figura 105** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-5





#### 4.6 Determinação Estrutural de CA-6

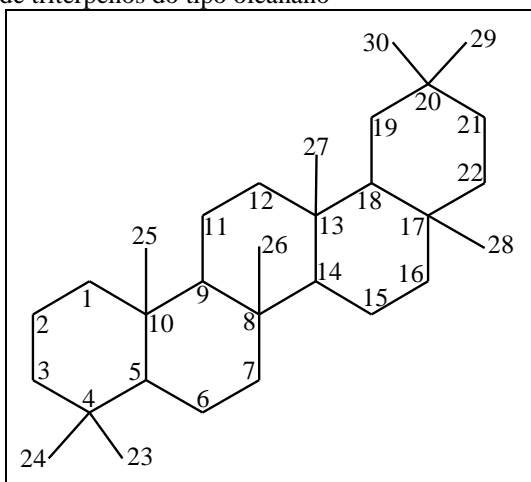
O tratamento cromatográfico da fração hexano/diclorometano, oriunda do extrato hexânico das raízes **CLRH** (item 5.5.3, p. 255), resultou no isolamento de um sólido branco cristalino, com p.f. = 298,8 -300,6 °C, que foi denominado de **CA-6** (item 5.5.3.1, p. 255).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-6** (fig. 110, p. 155) apresentou seis sinais referentes a sete grupos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados em  $\delta_{\text{H}}$  0,86 (3H-23), 0,89 (3H-24), 0,92 (3H-30), 0,93 (3H-27), 0,94 (3H-29) e 0,96 (3H-25 e 3H-26), além de um outro sinal referente a um metila de grupo acetila em  $\delta_{\text{H}}$  2,05 (s, 3H-32). Foram observados também sinais correspondentes a um hidrogênio olefínico em  $\delta_{\text{H}}$  5,52 (dd,  $J = 7,8$  e 3,3; H-15) e um hidrogênio ligado a carbono oxigenado em  $\delta_{\text{H}}$  4,47 (m; H-3).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-6** (fig. 111, p. 155) apresentou 32 linhas espectrais, condizente com um esqueleto triterpênico acetilado. A análise em conjunto dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB e RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135 (fig. 112, p. 156) permitiu identificar a presença de 8 carbonos metílicos, 10 metilênicos, 5 metínicos e 9 carbonos não-hidrogenados. Observou-se também a presença de um carbono oximetínico em  $\delta_{\text{C}}$  81,1 e de duas carbonilas em  $\delta_{\text{C}}$  184,5 e 171,2.

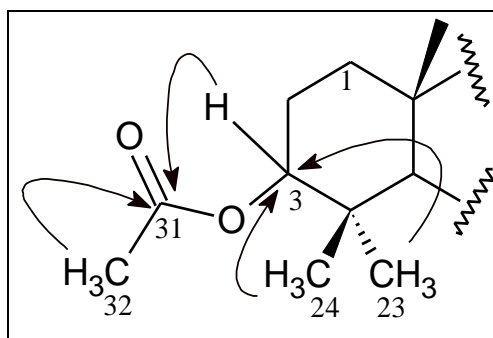
Os dados até então discutidos permitiram relacionar a estrutura da amostra com o esqueleto básico de um triterpeno pentacíclico do tipo oleanano para **CA-6** (fig. 106), cujo diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-6** (fig. 113, p.156) permitiu associar, de forma inequívoca, os sinais dos hidrogênios a seus respectivos carbonos (tab. 17, p. 154).

**Figura 106** - Esqueleto básico de triterpenos do tipo oleanano



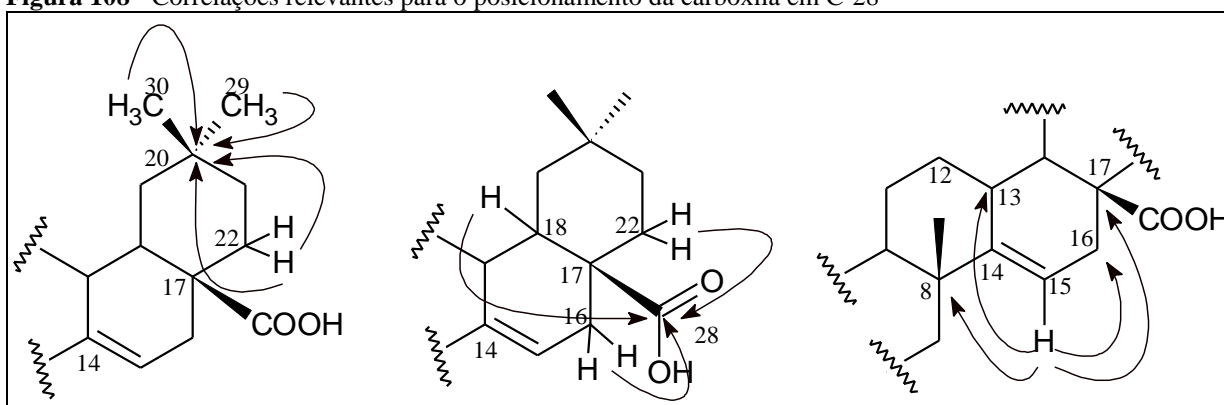
O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear a longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  (HMBC) de **CA-6** (fig. 114, p. 157) determinou a posição relativa do grupo acetila em C-3 através das correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{C}}$  2,05 (H-32) e 4,47 (H-3) com sinal do carbono carbonílico em  $\delta_{\text{C}}$  171,2 (C-31). O espectro apresentou ainda as correlações dos hidrogênios dos dois grupamentos metilas em  $\delta_{\text{H}}$  0,86 e 0,89 (H-23 e H-24) com o carbono oxigenado em  $\delta_{\text{C}}$  81,1 (C-3) (fig. 107).

**Figura 107** - Correlações relevantes para o posicionamento do grupo funcional éster em C-3 observadas no espectro de HMBC de **CA-6**.



O espectro de HMBC mostrou também as correlações entre os hidrogênios do grupos metilas em  $\delta_{\text{H}}$  0,94 e 0,92 (H-29 e H-30), dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,69 e 1,42 (2H-22) com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  29,5 (C-20). Em adição, observaram-se as correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  2,28 (H-18), 2,38 e 1,93 (2H-16), 1,69 e 1,42 (2H-22) com a carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  184,5 (C-28), e as correlações do hidrogênio olefínico em  $\delta_{\text{H}}$  5,52 (H-15) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  31,5 (C-16), 38,2 (C-13), 39,3 (C-8) e 51,7 (C-17) (fig. 108), permitindo determinar as posições da carboxila em C-17.

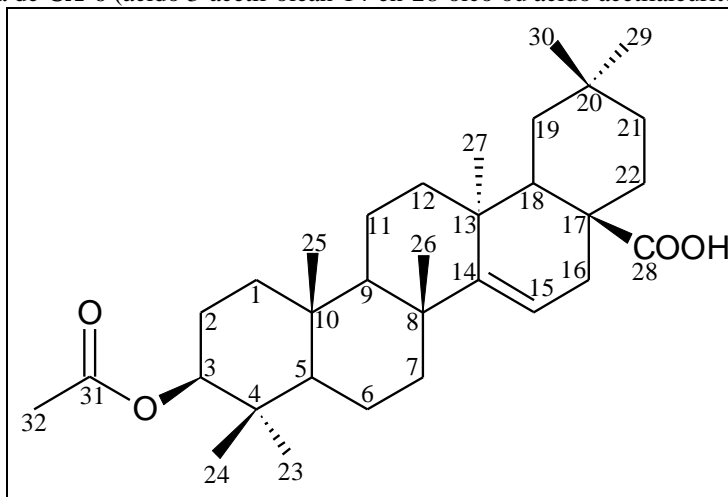
**Figura 108** - Correlações relevantes para o posicionamento da carboxila em C-28



A análise de todos os dados espectroscópicos obtidos, bem como a comparação com dados da literatura para triterpenos de esqueleto oleanano (MCCLEAN; DUMONT; REYNOLDS, 1987) possibilitou identificar **CA-6** como o ácido 3-acetil-olean-14-en-28-oico

(ácido acetilaleuritólico - AAA) (fig. 109), já isolado em outras espécies de *Croton* como *C. urucurana* (PERES *et al.*, 1997), *C. cajucara* (PERAZZO *et al.*, 2007), *C. rhamnifolius* (SILVA, 2008) e *C. argyrophyllus* (SILVA-FILHO, 2010).

**Figura 109** - Estrutura de **CA-6** (ácido 3-acetil-olean-14-en-28-oico ou ácido acetilaleuritólico – AAA)



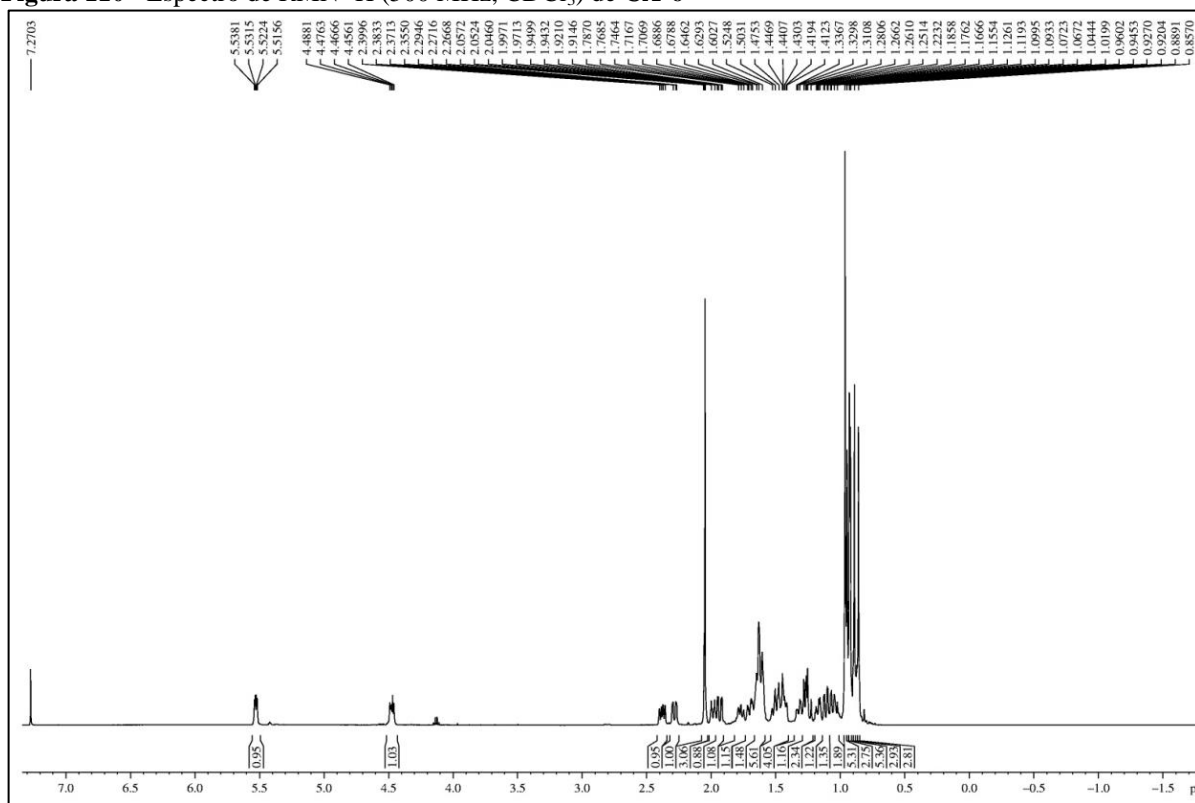
Dados da literatura relatam para o ácido acetilaleuritólico atividades antimicrobiana (PERES *et al.*, 1997), antibacteriana e analgésica (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007).

**Tabela 17** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  -HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-6** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura para o AAA (MCCLEAN; DUMONT; REYNOLDS, 1987)\*

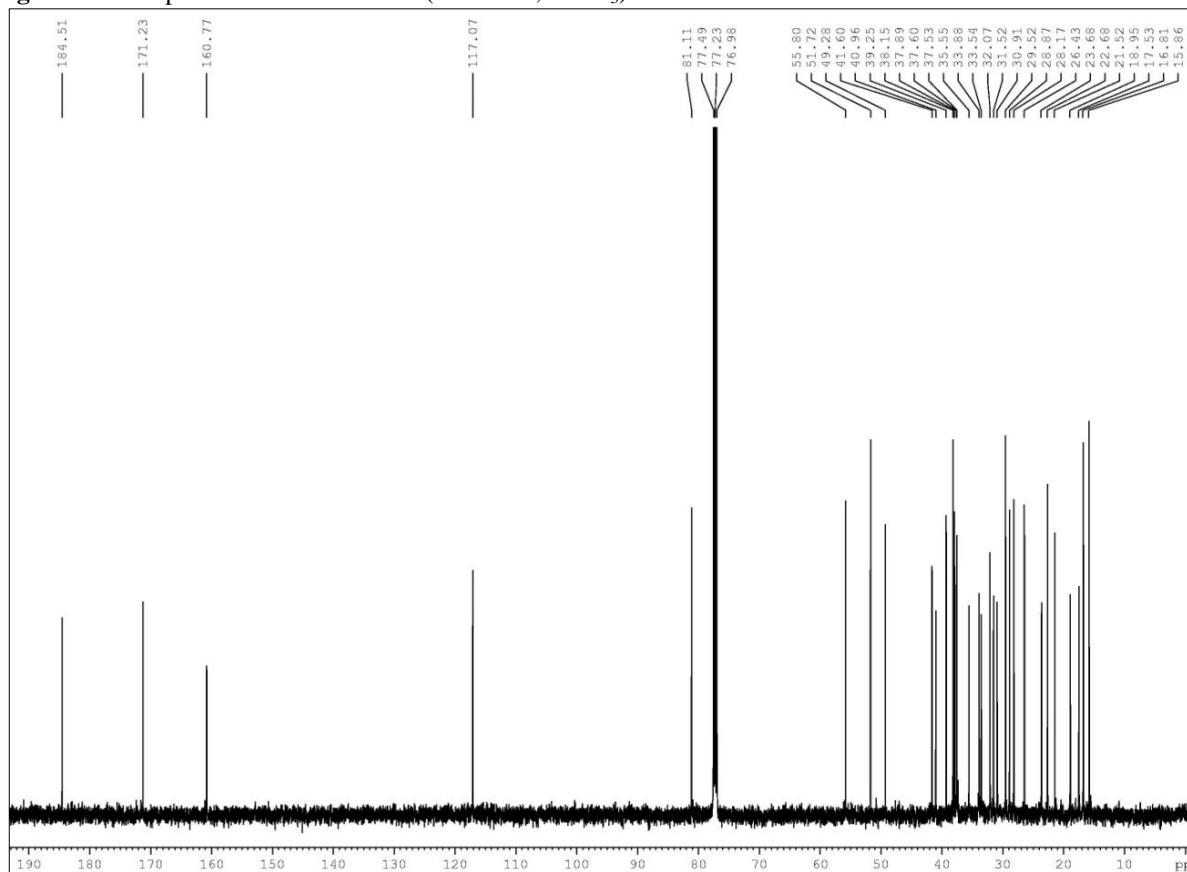
C	HSQC		HMBC		$\delta_{\text{C(ppm)}}^*$
	$\delta_{\text{C(ppm)}}$	$\delta_{\text{H(ppm)}} (J = \text{Hz})$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	37,6	1,61 (m; 1H) 1,04 (m; 1H)	2H-2		37,3
2	23,7	1,63 (m; 2H)	2H-1	1H-3	23,3
3	81,1	4,47 (m; 1H)		3H-23, 3H-24	80,7
4	37,5	-	H-3; 3H-24; 3H-23	1H-6b	37,6
5	55,8	0,87 (m)	2H-6	1H-3; 3H-24; 3H-23	55,5
6	18,9	1,60 (m; 1H) 1,51 (m; 1H)	H-5		18,7
7	41,0	1,98 (m; 1H) 1,32 (m; 1H)	2H-6	1H-9; 1H-5	40,6
8	39,3	-	1H-7a; 3H-26	1H-6b; 1H-15	38,9
9	49,3	1,45 (m)	2H-11	2H-12; 2H-1	48,9
10	37,9	-	2H-1; H-5	2H-2	37,8
11	17,5	1,64 (m) 1,47 (m)	2H-12; 1H-9		17,2
12	33,5	1,76 (m) 1,63 (m)	1H-11b	1H-18; 1H-9	33,2
13	38,2	-	1H-18; 1H-12b; 3H-27	1H-15; 1H-11a	37,2
14	160,8	-		1H-18, 1H-7a; 1H-12b; 3H-27	160,5
15	117,1	5,52 (dd; 7,8 e 3,3)	2H-16		116,8
16	31,5	2,38 (dd; 14,1 e 8,1) 1,93 (dd; 14,4 e 3,2)	1H-15	1H-22b	31,2
17	51,7	-	1H-16b; 1H-22b	1H-15; 1H-19a	51,4
18	41,6	2,28 (dd, 13,9 e 2,4)	2H-19	2H-16; 1H-22a	41,3
19	35,6	1,25 (m) 1,08 (dd; 13,6 e 3,1)	1H-18	1H-21a; 3H-29; 3H-30	35,2
20	29,5	-	2H-19; 3H-29; 3H-30	H-22a	29,2
21	33,9	1,16 (m) 1,05 (m)	2H-22	1H-19a; 3H-29; 3H-30	33,6
22	30,9	1,69 (m) 1,42 (m)	2H-21	2H-16	30,6
23	28,2	0,86 (s)		1H-3; 1H-5; 3H-24	27,8
24	16,8	0,89 (s)		1H-3; 1H-5; 3H-23	16,5
25	15,9	0,96 (s)		1H-9; 1H-5	15,6
26	26,4	0,96 (s)		1H-7a; 1H-9	26,1
27	22,7	0,93 (s)		1H-12a	22,4
28	184,5	-		2H-16; 1H-18; 1H-22b	184,2
29	32,1	0,94 (s)		1H-19b; 2H-21; 3H-29	31,8
30	28,9	0,92 (s)		1H-19b; 2H-21; 3H-30	28,6
31	171,2	-	3H-32	1H-3	170,9
32	21,5	2,05 (s)			21,2

\* (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

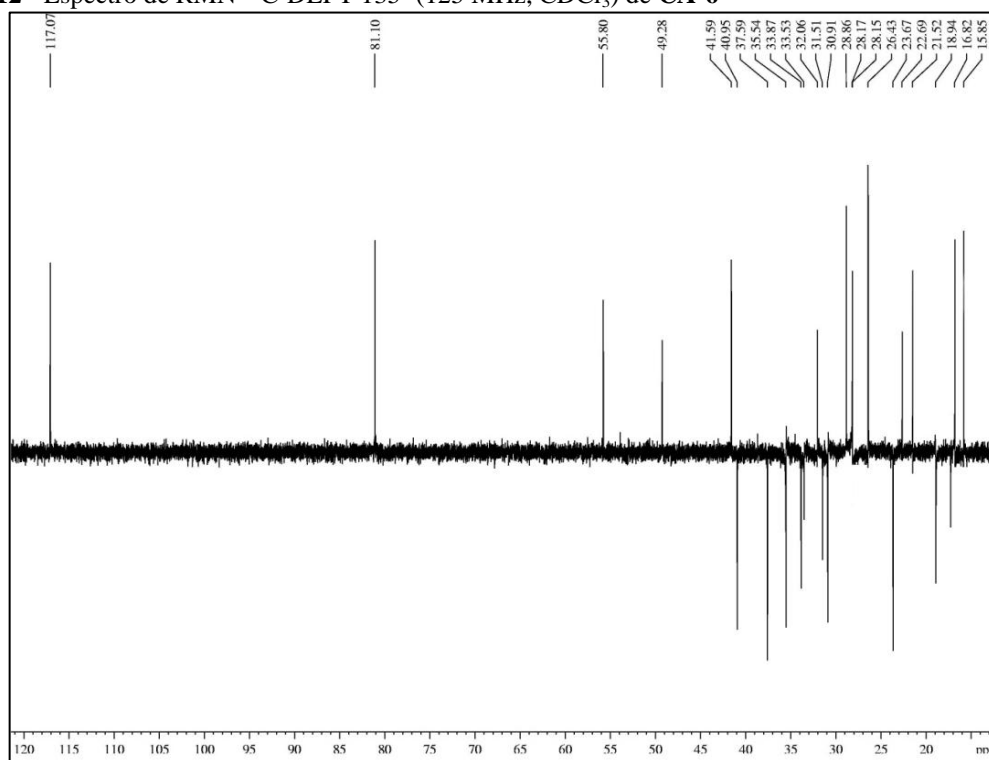
**Figura 110** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-6



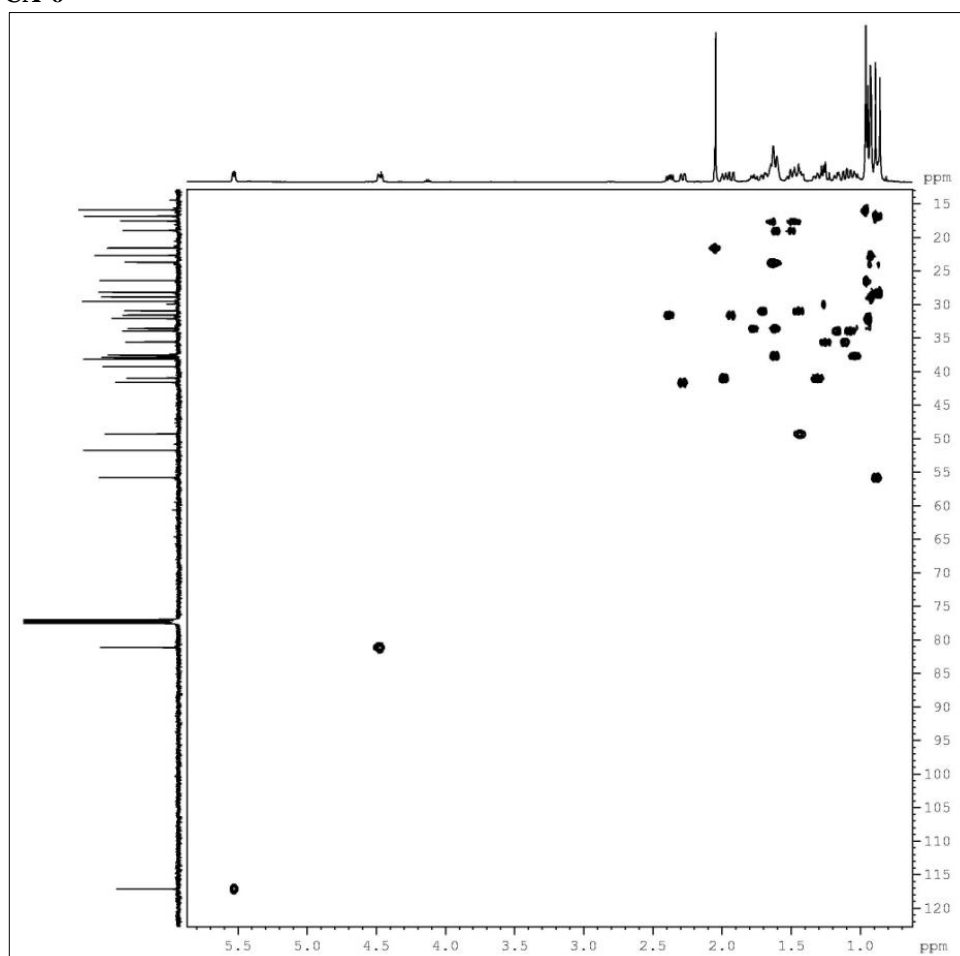
**Figura 111** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-6



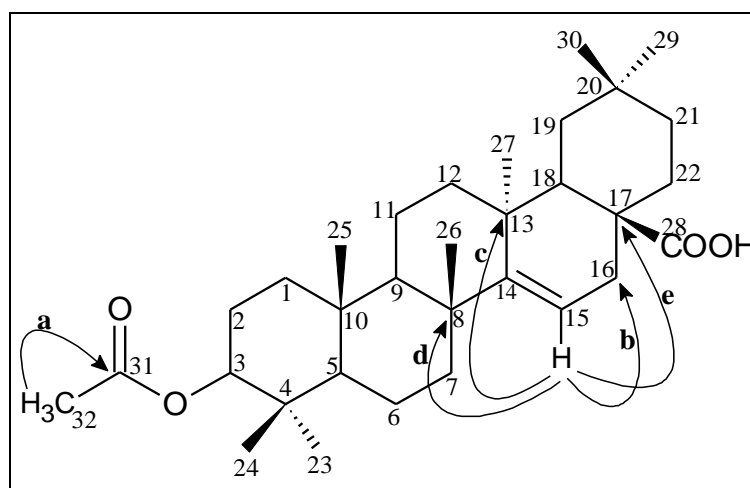
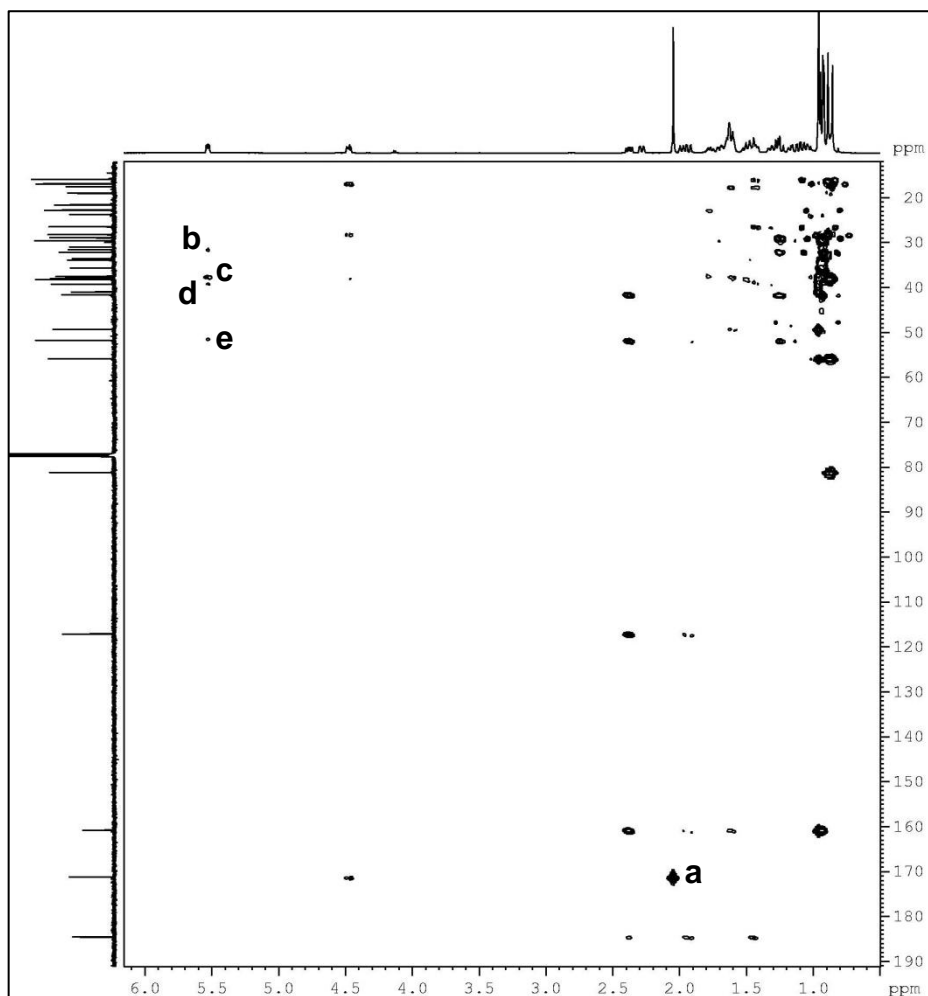
**Figura 112** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-6



**Figura 113** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-6



**Figura 114** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-6



#### 4.7 Determinação Estrutural de CA-7

O tratamento cromatográfico da fração hexano/diclorometano, oriunda do extrato hexânico das raízes **CLRH** (item 5.5.3, p. 255), possibilitou o isolamento de um sólido cristalino incolor, com  $[\alpha]_D^{20} = -56,1^\circ$  ( $c = 0,1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ) e p.f. = 122,3 – 123,9 °C, denominado **CA-7** (item 5.5.3.1, p. 255).

O espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-7** (fig. 122, p. 164) apresentou uma banda larga de deformação axial de ligação O-H compreendida entre 3600 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ , associada a presença de ácido carboxílico e absorções em 1725 e 1701  $\text{cm}^{-1}$  relativas a deformação axial de ligações C=O.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-7** (fig. 123, p. 164) mostrou quatro sinais referentes a hidrogênios de grupos metilas ligados a carbonos não-hidrogenados em  $\delta_{\text{H}}$  0,82 (3H-9'; s), 1,10 (3H-20; s), 1,15 (3H-19; s) e 1,26 (3H-8'; s). Foi observado também um sinal na região de hidrogênios olefínicos em  $\delta_{\text{H}}$  5,21 (1H-3'; sl), além de sinais na região de hidrogênios ligados a carbonos saturados na faixa de  $\delta_{\text{H}}$  0,80 a 2,50.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-7** (fig. 126, p. 166) apresentou 30 linhas espectrais sendo dois sinais referentes a carbonos carbonílicos em  $\delta_{\text{C}}$  184,9 (C-18) e 224,1 (C-15), dois referentes a carbonos olefínicos em  $\delta_{\text{C}}$  116,6 (C-3') e 148,0 (C-2'), enquanto os demais sinais apresentaram deslocamentos químicos na faixa entre  $\delta_{\text{C}}$  16,0 e 54,0. Comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (fig. 127, p. 166), permitiu deduzir a presença de quatro carbonos metílicos, doze carbonos metilênicos, sete carbonos metínicos e sete carbonos não-hidrogenados.

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) (fig. 124, p. 165) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$  475,3289, relativo ao aduto de sódio ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_3$ , com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 9, para **CA-7**.

O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-7** (fig. 128 e 129, p. 167), possibilitou correlacionar, inequivocamente, os deslocamentos químicos dos hidrogênios ( $^1\text{H}$ ) a seus respectivos carbonos ( $^{13}\text{C}$ ) (tab. 18, p. 163).

Foi observada similaridade entre os valores de deslocamentos químicos, no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB, de grande parte dos sinais de **CA-7** com os dados obtidos para **CA-2**. As principais diferenças observadas foram a ausência dos sinais dos carbonos da ligação dupla

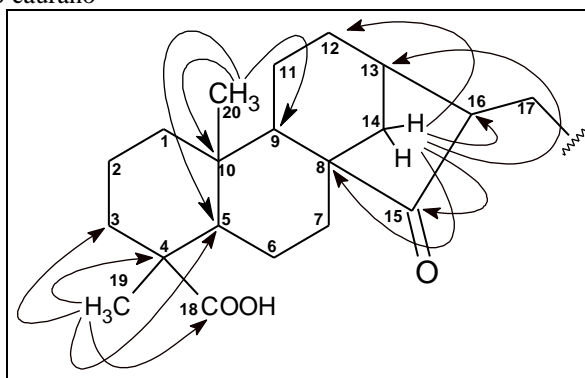


terminal entre os carbonos C-16 e C-17, presente em **CA-2**, bem como o maior valor de deslocamento químico do sinal referente a carbono carbonílico em C-15, sugerindo que parte da estrutura de **CA-7** correspondia a um esqueleto diterpênico do tipo caurano semelhante a **CA-2**. Diferente de **CA-2**, os carbonos  $sp^2$  de **CA-7** foram associados a carbonos de uma ligação dupla trissubstituída.

Com base nesses dados, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca da estrutura de **CA-7** através de seu espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1H$ ,  $^{13}C$  - HMBC (fig. 130 e 131, p. 168).

O espectro apresentou as correlações entre os hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  1,10 (3H-20) com os sinais em  $\delta_C$  39,2 (C-10), 52,4 (C-9) e 49,6 (C-5) e dos hidrogênios em  $\delta_H$  1,15 (3H-19) com os carbonos em  $\delta_C$  36,9 (C-3), 47,6 (C-4), 49,6 (C-5) e com o carbono carbonílico em  $\delta_C$  184,9 (C-18). O espectro revelou também as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,30 e 2,43 (2H-14) com os carbonos em  $\delta_C$  24,9 (C-12), 33,0 (C-13), 53,0 (C-16), 53,3 (C-8) e com o carbono carbonílico em 224,1 (C-15) (fig. 115). Estas correlações, e a comparação dos dados obtidos para **CA-2**, auxiliaram na confirmação do esqueleto diterpênico do tipo caurano como parte da estrutura de **CA-7**.

**Figura 115** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-7** para a confirmação do esqueleto diterpênico do tipo caurano



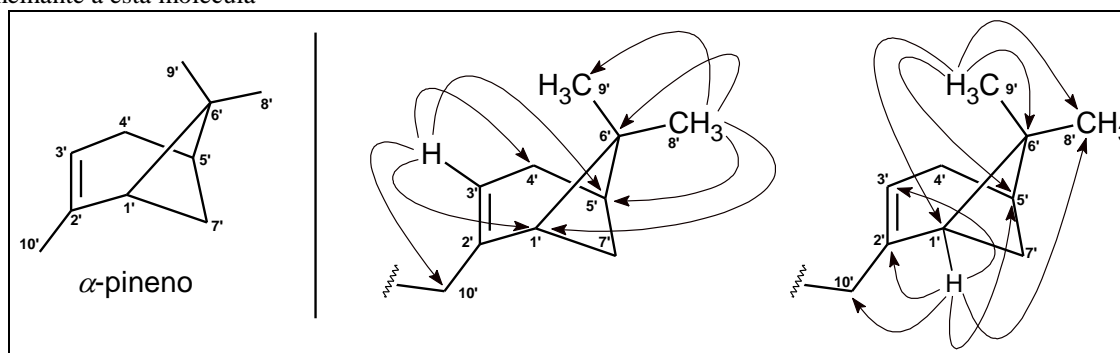
Perante a confirmação que parte da estrutura do composto tratava-se de um diterpeno caurano, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca do outro segmento presente na estrutura de **CA-7**.

A análise revelou correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,82 (3H-9') com os sinais em  $\delta_C$  26,5 (C-8'), 38,2 (C-6'), 41,1 (C-5') e 45,8 (C-1') e dos hidrogênios em  $\delta_H$  1,26 (3H-8') com os carbonos em  $\delta_C$  21,3 (C-9'), 38,2 (C-6'), 41,1 (C-5') e 45,8 (C-1'). O espectro mostrou ainda as correlações do hidrogênio olefínico em  $\delta_H$  5,21 (H-3') com os carbonos em  $\delta_C$  31,5 (C-4'), 35,5 (C-10'), 41,1 (C-5') e 45,8 (C-1') e do hidrogênio em  $\delta_H$  2,03 (H-1') com

os carbonos em  $\delta_C$  26,5 (C-8'), 35,5 (C-10'), 41,1 (C-5'), 116,6 (C-3') e 148,0 (C-2') (fig. 116).

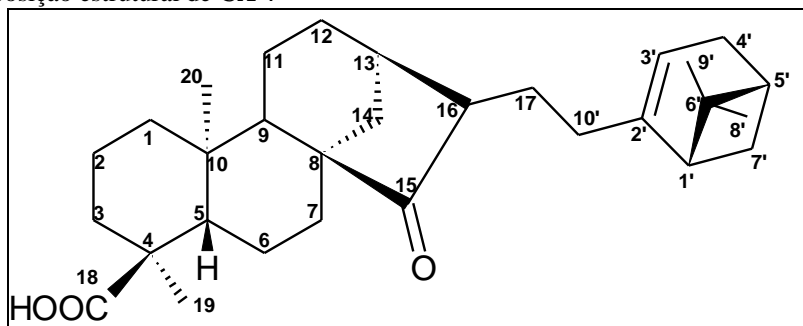
A presença de dez átomos de carbonos neste fragmento da molécula de **CA-7**, as correlações observadas no espectro de HMBC descritas anteriormente, os valores de deslocamento químico dos átomos de carbono e a comparação com dados da literatura para monoterpenos (LEE, 2002; ATTA-UR-RAHMAN; AHMAD, 1992b) permitiram relacionar este segmento de **CA-7** ao monoterpeno  $\alpha$ -pineno, apresentando um carbono metilênico em C-10', em detrimento do grupo metila presente no monoterpeno (fig. 116).

**Figura 116** – Estrutura do  $\alpha$ -pineno e correlações observadas no espectro de HMBC para o fragmento de **CA-7** semelhante a esta molécula



Assim, foi proposto que **CA-7** tratava-se de um composto resultante da união entre um diterpeno de esqueleto caurano e o monoterpeno  $\alpha$ -pineno através da ligação entre o carbono C-17 do fragmento referente ao esqueleto caurano e o carbono C-10' do monoterpeno (fig. 117).

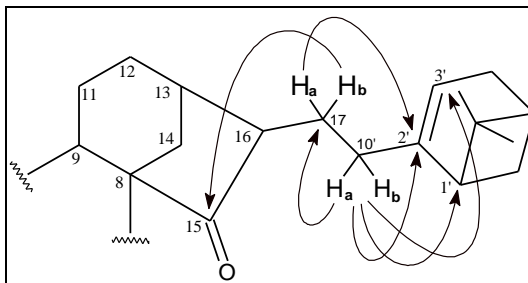
**Figura 117** - Proposição estrutural de **CA-7**



O espectro de HMBC mostrou as correlações entre os hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,28 (1H-17a) e 1,94 (1H-17b) com os carbonos em  $\delta_C$  148,0 (C-2') e 224,1 (C-15), respectivamente, bem como a correlação do hidrogênio em  $\delta_H$  1,98 (1H-10a') com o carbono em  $\delta_C$  23,5 (C-17), confirmando assim a ligação entre o carbono C-17 do esqueleto caurano e o carbono C-10' do monoterpeno. Foram observadas ainda as correlações entre os hidrogênios

metilênicos em  $\delta_H$  1,98 (1H-10a') e 2,02 (1H-10b') com os carbonos em  $\delta_C$  45,8 (C-1'), 148,0 (C-2') e 116,6 (C-3') (fig. 118).

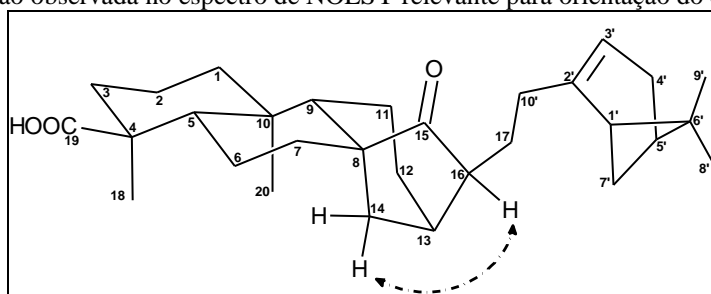
**Figura 118** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-7** para a confirmação da ligação entre os carbonos C-17 e C-10'



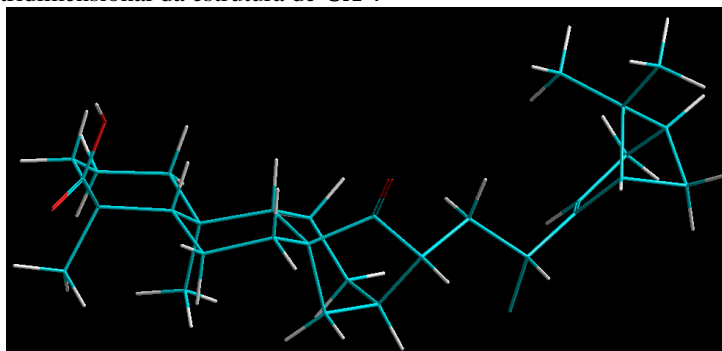
A diferença observada entre o valor do deslocamento químico do carbono carbonílico C-15 ( $\delta_C$  224,1) de **CA-7**, em relação ao carbono de mesma posição em **CA-2** ( $\delta_C$  210,6), deve-se ao fato da inexistência da ligação dupla entre os carbonos C-16 e C-17, resultando na ausência de conjugação da ligação dupla com o carbono carbonílico em C-15, presente em **CA-2**.

A correlação espacial entre o hidrogênio H-16 ( $\delta_H$  2,10) com um dos hidrogênios H-14 ( $\delta_H$  1,30), observado no espectro bidimensional de NOESY de **CA-7** (fig. 132, p. 169), permitiu confirmar a orientação  $\beta$  (beta) para o átomo de carbono metilênico C-17 (fig. 119), de modo similar as conformações observadas para o carbono C-16 por Han *et al.* (2004) e Saepou *et al.* (2010) para dímeros de esqueleto caurano.

**Figura 119** - Correlação observada no espectro de NOESY relevante para orientação do carbono C-17



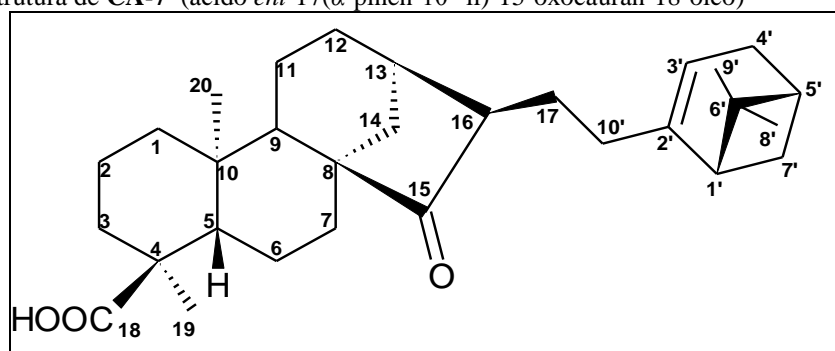
**Figura 120** - Modelo tridimensional da estrutura de **CA-7**



A diminuição no valor de deslocamento químico observado para o carbono C-12 de **CA-7**, quando comparado com a estrutura de **CA-2** (tab. 18, p. 163), foi associada devido à interação do tipo  $\gamma$ -gauche de proteção devido a orientação do grupo metileno (C-17) no carbono C-16 (16 $\beta$ -metileno) (HAN *et al.*, 2004).

A análise de todos os dados espectroscópicos obtidos de **CA-7**, a comparação com dados de **CA-2** e dados da literatura (HAN *et al.*, 2004; SAEPOU *et al.*, 2010; LEE, 2002), possibilitaram identificar **CA-7** como o ácido *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico (fig. 121), que está sendo relatado pela primeira vez na literatura.

**Figura 121** - Estrutura de **CA-7** (ácido *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico)



O isolamento de dímeros diterpênicos é relatado em diversas espécies, de diferentes gêneros, como sendo compostos simétricos de esqueletos abietano, labdano e caurano (NI *et al.*, 2011; TATSUHIKO, MASAO, YOSHINORI, 1997; HAN *et al.*, 2004; SAEPOU *et al.*, 2010; LEE, 2002). A ocorrência de dímeros assimétricos é mais restrita e, geralmente, envolve a junção de dois monômeros de diterpenos. A estrutura de um dímero assimétrico formado pela junção entre um diterpeno e um monoterpene é uma característica não relatada anteriormente na literatura.

**Tabela 18** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-7** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-2** e do  $\alpha$ -pineno descritos na literatura (LEE, 2002)

C	HSQC		HMBC		CA-2* LEE, 2002**
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; J = Hz)	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	38,7	1,76 (m; 1H) 0,86 (td; 12,8 e 3,30; 1H)			38,9*
2	18,4	1,63 (m; 2H)			18,1*
3	36,9	1,79 (m; 1H) 1,60 (m; 1H)		3H-19	36,8*
4	47,6	–	1H-3b; 1H-5; 3H-19	1H-6a	47,6*
5	49,6	1,77 (m; 1H)		3H-20; 3H-19	49,4*
6	21,9	1,76 (m; 1H) 1,25 (m; 1H)	1H-5; 1H-7b		21,6*
7	33,7	1,92 (m; 1H) 1,24 (m; 1H)		1H-5	33,1*
8	53,3	–	1H-7b; 1H-14b		52,7*
9	52,4	1,20 (s; 1H)		1H-1b; 3H-20	52,6*
10	39,2	–	1H-1b ; 1H-5; 3H-20	2H-2	39,5*
11	17,7	1,53 (m; 1H)			17,7*
12	24,9	1,67 (m; 1H) 1,65 (m; 1H)		1H-14b	32,4*
13	33,0	2,48 (m; 1H)	2H-14		38,2*
14	37,5	2,43 (m; 1H) 1,30 (m; 1H)			36,7*
15	224,1	–	1H-16	1H-7b; 1H-9; 2H-14; 2H-17	210,5*
16	53,0	2,10 (m; 1H)		1H-14b	149,5*
17	23,5	1,94 (m; 1H) 1,28 (m; 1H)	1H-10a'		114,8*
18	184,9	–		3H-19	185,2*
19	16,2	1,15 (s; 3H)		1H-5	16,2*
20	18,1	1,10 (s; 3H)		1H-1b; 1H-5; 1H-9	17,9*
1'	45,8	2,03 (m; 1H)	1H-7b'	1H-3'; 3H-8'; 3H-9'; 2H-10'	46,9**
2'	148,0	–	1H-1'; 2H-10'	1H-17a	144,5**
3'	116,6	5,21 (sl; 1H)		1H-1'; 2H-10'	116,0**
4'	31,5	2,24 (d; 17,4; 1H) 2,18 (d; 17,4; 1H)	1H-3'	2H-7'	31,2**
5'	41,1	2,08 (m; 1H)	1H-7b'	1H-1'; 1H-3'; 3H-8'; 3H-9'	40,6**
6'	38,2	–	3H-8'; 3H-9'	1H-7a'	37,9**
7'	32,0	2,35 (m; 1H) 1,12 (m; 1H)			31,4**
8'	26,5	1,26 (s; 3H)		1H-1'; 3H-9'	26,3**
9'	21,3	0,82 (s; 3H)		3H-8'	20,8**
10'	35,5	2,05 (m; 1H) 1,98 (m; 1H)		1H-1'; 1H-3'	23,0**

\*( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) \*\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

Figura 122 - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-7

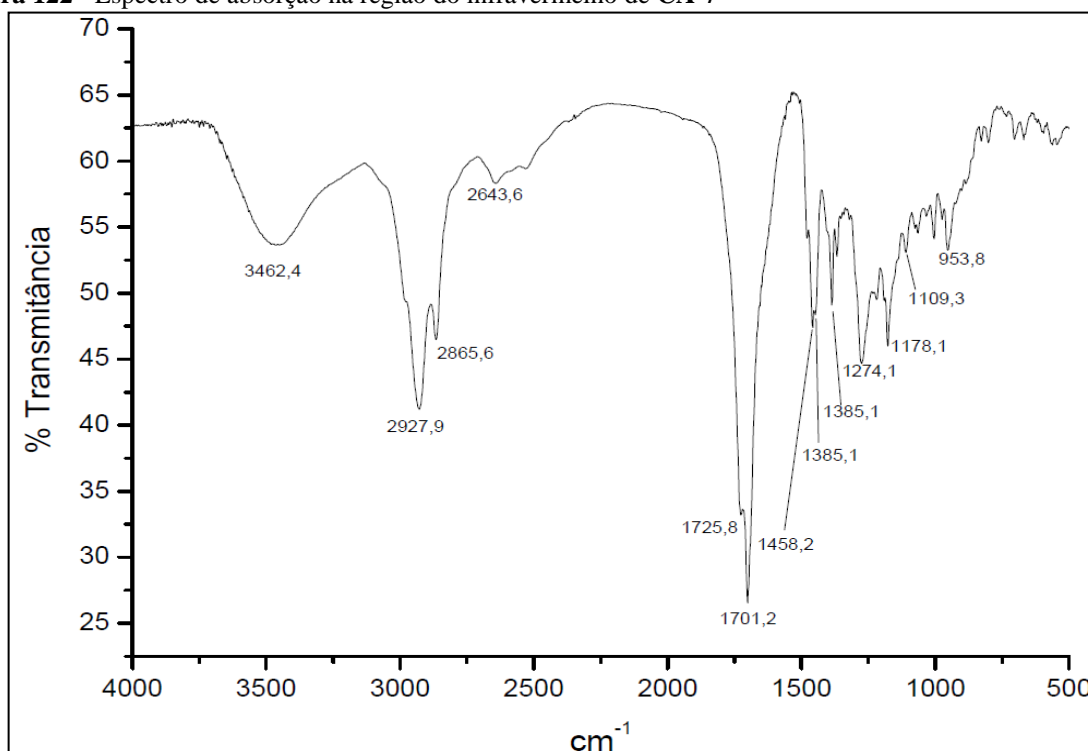
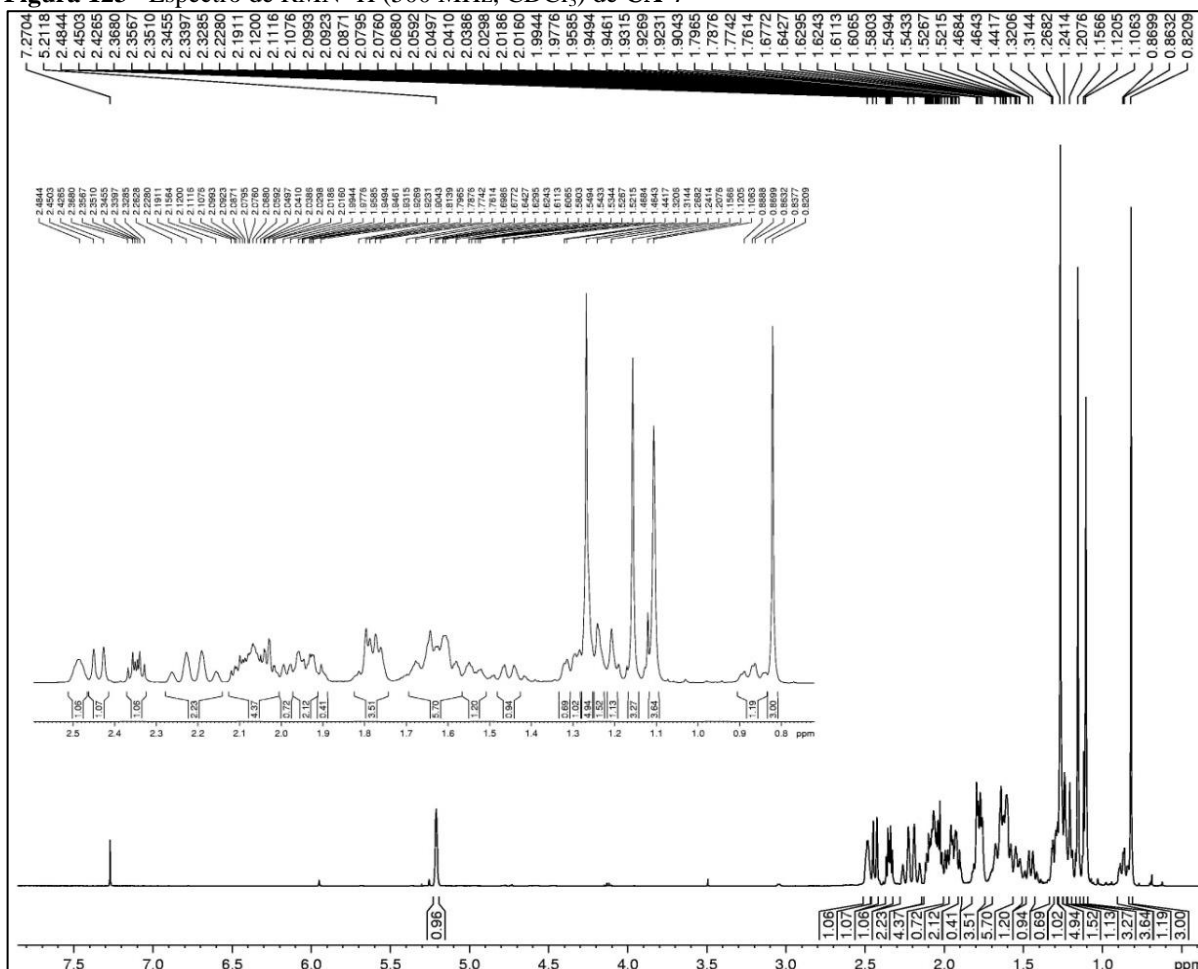
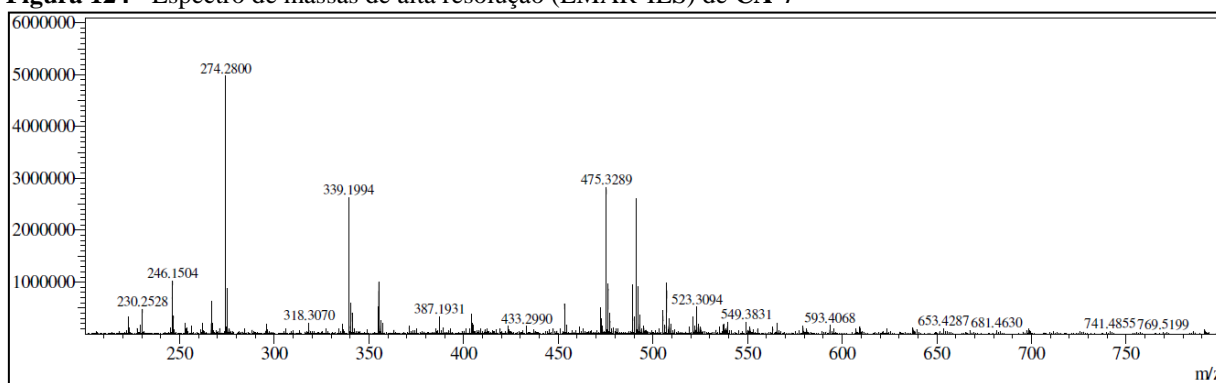
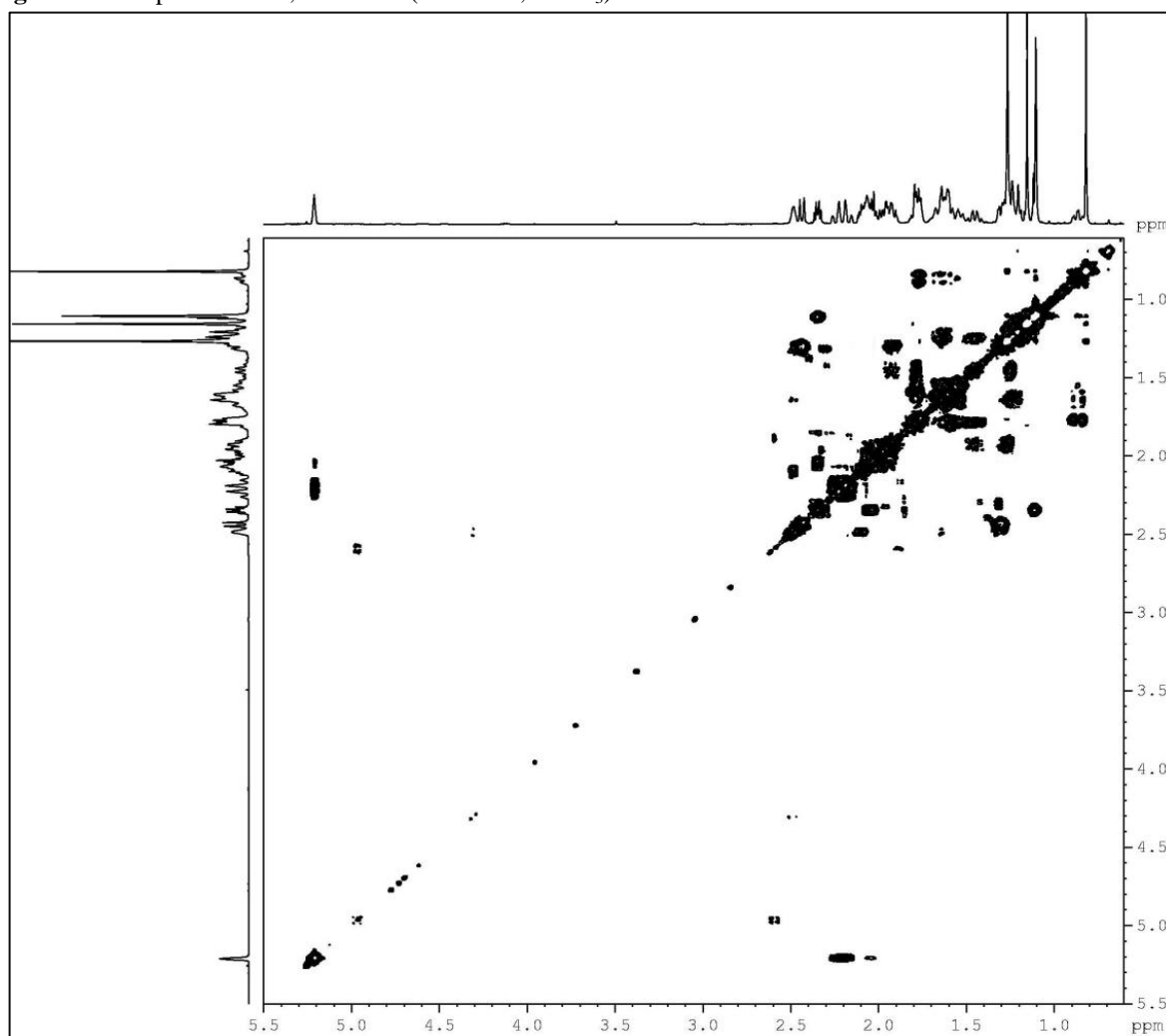
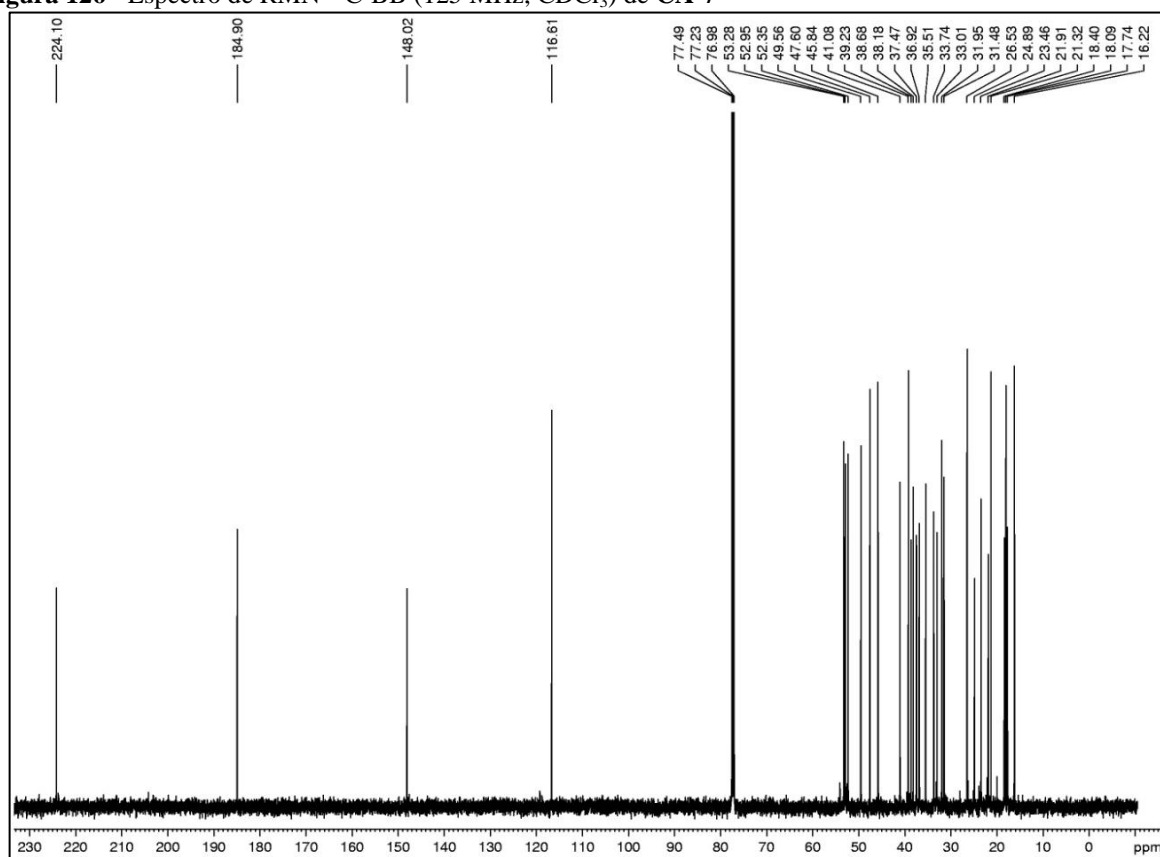


Figura 123 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CA-7

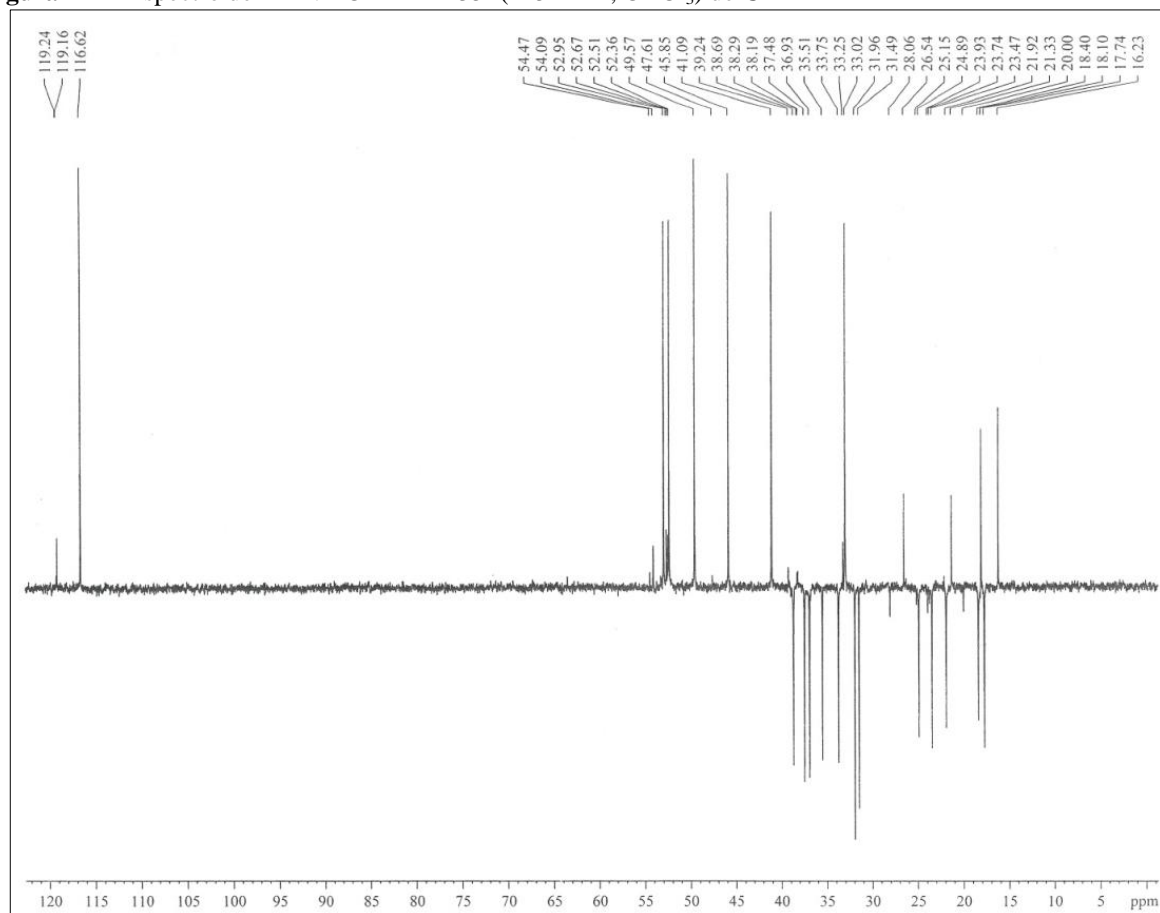


**Figura 124** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CA-7**Figura 125**- Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7

**Figura 126** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7

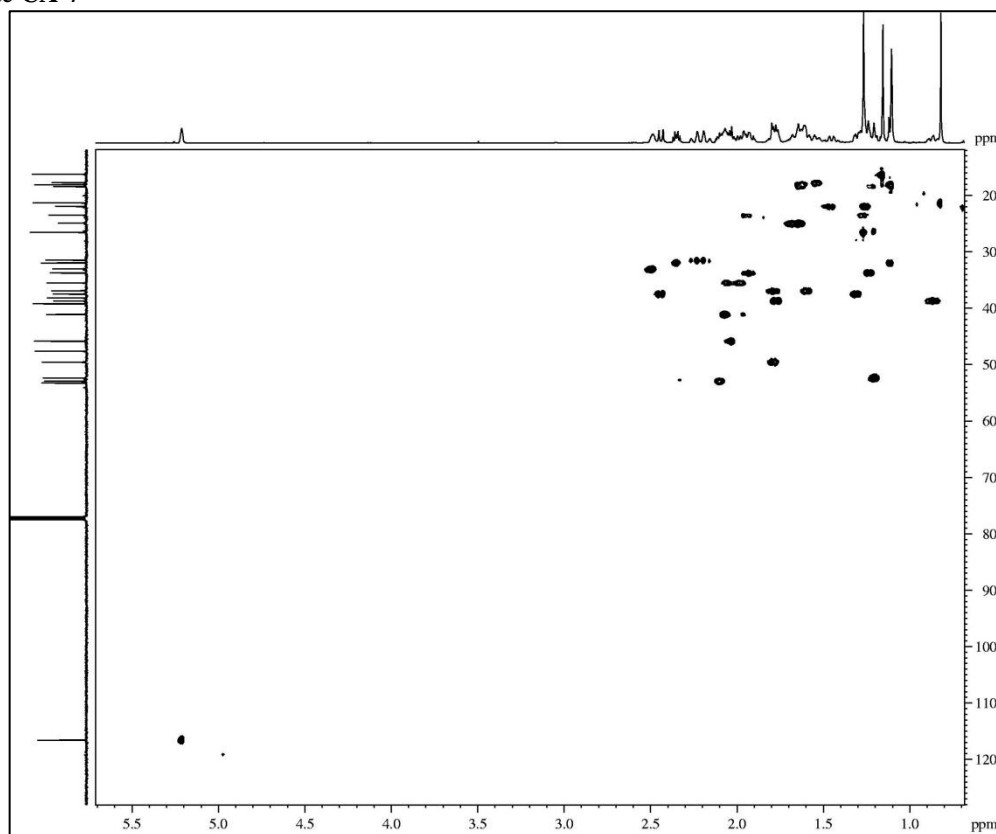


**Figura 127** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7

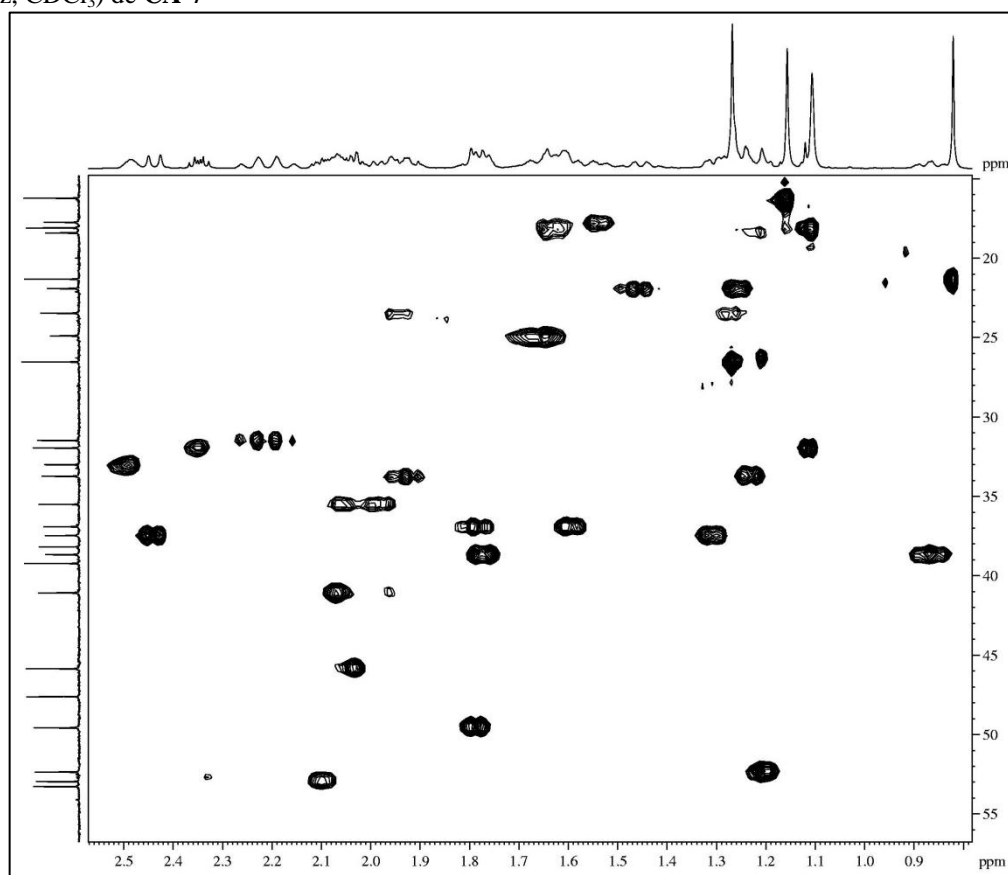




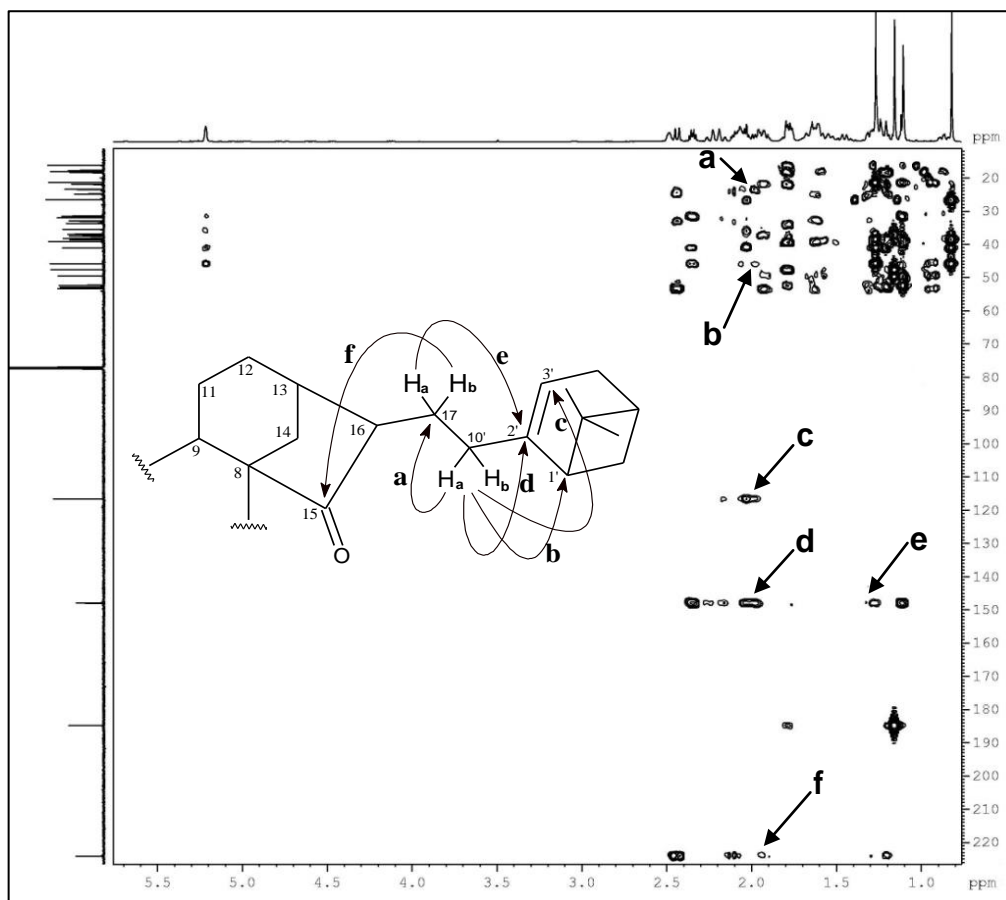
**Figura 128** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7



**Figura 129** - Expansão do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7



**Figura 130-** Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7



**Figura 131 -** Expansão do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7

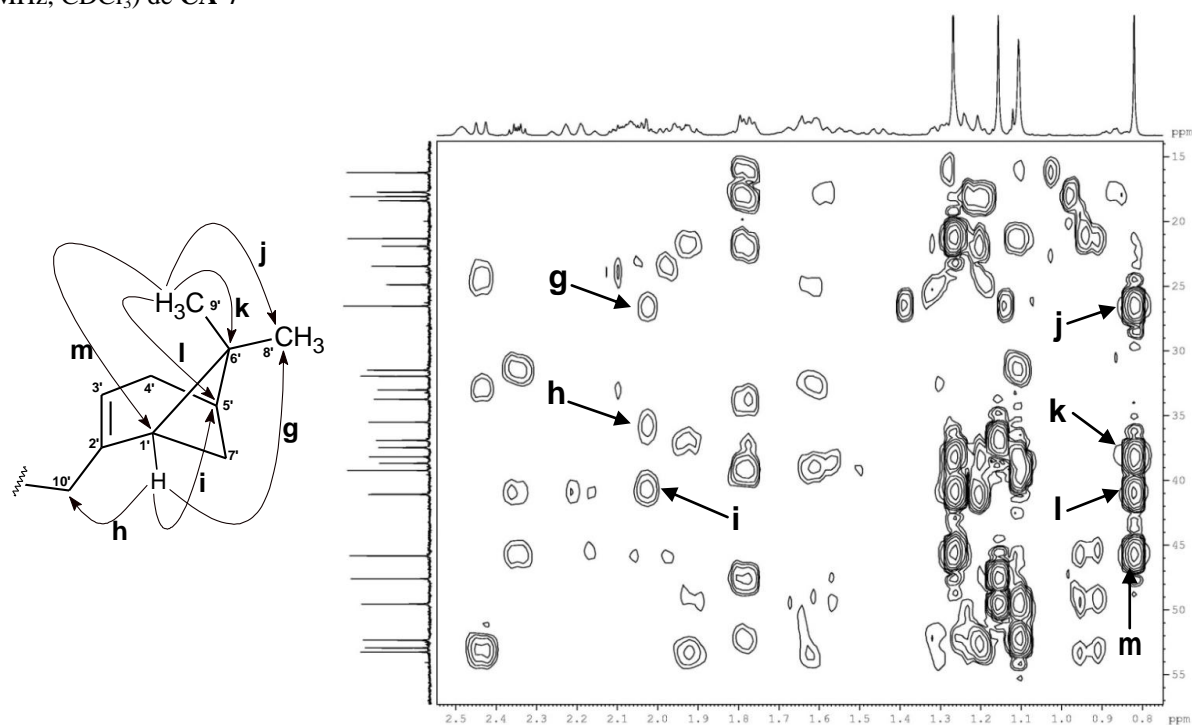
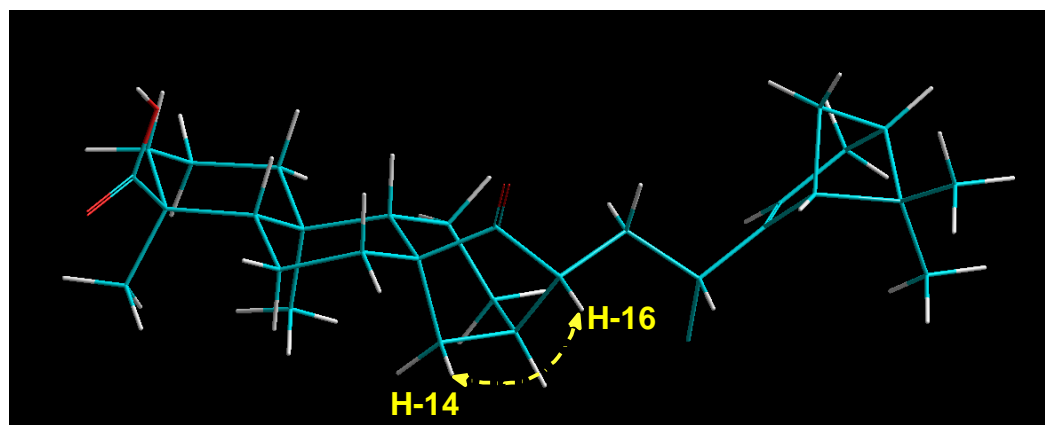
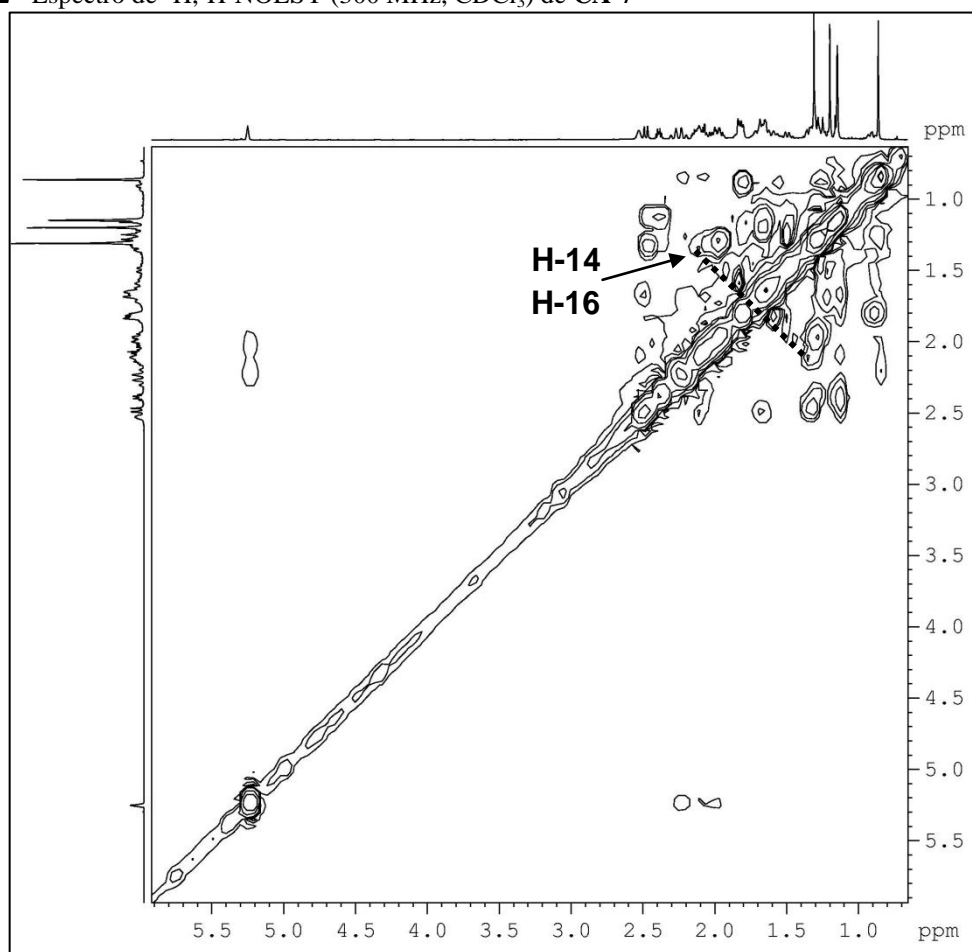


Figura 132 - Espectro de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-7



#### 4.8 Determinação Estrutural de CA-8

O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes de *Croton limae* (CLRH) possibilitou o isolamento de um sólido de coloração amarelo, com  $[\alpha]_D^{20} = -3,1^\circ$  ( $c = 0,1$ ; CH<sub>3</sub>OH) e p.f. = 115,5 - 117,0 °C, denominado de **CA-8** (item 5.5.3.2, p. 257).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-8** (fig. 139, p. 175) revelou um absorção em 1707 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação C=O, uma banda de deformação axial de ligação O-H em 3447 cm<sup>-1</sup> e bandas em 2869 e 2935 cm<sup>-1</sup>, referentes a deformação axial de ligação C-H.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de **CA-8** (fig. 140, p. 176) mostrou semelhanças com o espectro de **CA-3** (fig. 58, p. 118), principalmente com relação às absorções intensas em  $\delta_H$  0,74 (3H-20; s), 0,81 (3H-19; s) e 1,37 (3H-18; s) referentes a carbonos metílicos ligados a carbonos não-hidrogenados, e outra em  $\delta_H$  0,79 (3H-17; d,  $J = 6,8$  Hz) referente a um hidrogênios metílicos ligado a um carbono mono-hidrogenado. Foram observados ainda sinais em região de desproteção em  $\delta_H$  6,38 (1H-14; sl) e 7,38 (1H-15; 1H-16; m), associados a hidrogênios de um anel furânico monossustituído. O espectro apresentou ainda um sinal em  $\delta_H$  4,92 (1H-12; dd,  $J = 5,0$  e 1,5 Hz) associado a hidrogênio ligado a carbono oxigenado, além de uma série de sinais na região de  $\delta_H$  1,30 – 2,8, relativos a hidrogênios de grupos CH e CH<sub>2</sub>.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>), confirmou o caráter diterpênico de **CA-8** (fig. 142, p. 177) através de 20 linhas espectrais. As principais diferenças observadas entre os espectros de RMN <sup>13</sup>C-BB de **CA-8** e **CA-3** foi à ausência de um sinal referente a carbono carbonílico e o surgimento de um sinal em  $\delta_C$  63,5 (C-12), referente a carbono oxigenado. Assim, foi proposto que **CA-8** apresentava esqueleto similar a **CA-3**, com a substituição da carbonila por uma hidroxila no carbono C-12. Os sinais em  $\delta_C$  108,5 (C-14), 131,5 (C-13), 138,5 (C-16) e 143,8 (C-15), foram associados aos carbonos híbridos sp<sup>2</sup> do anel furânico, e o sinal em  $\delta_C$  216,0 (C-3) foi associado um carbono carbonílico de cetona.

A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (fig. 143, p. 177), permitiu correlacionar os carbonos na estrutura de **CA-8** com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 6 carbonos metínicos e 5 carbonos não-hidrogenados.

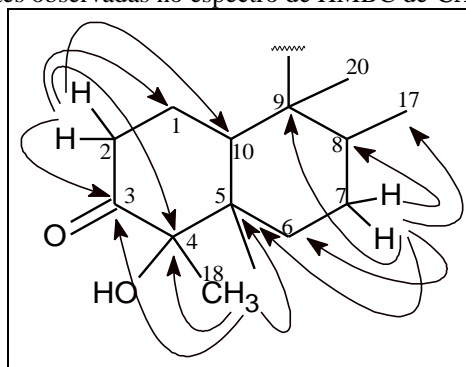
O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) de **CA-8** (fig. 138, p. 175) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$

357,2038, relativo ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O_4$ , com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 6, para **CA-8**.

A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1H$ ,  $^{13}C$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-8** (fig. 144, p. 178) permitiu assinalar, de forma inequívoca, cada absorção de carbono com seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 19** (p. 174).

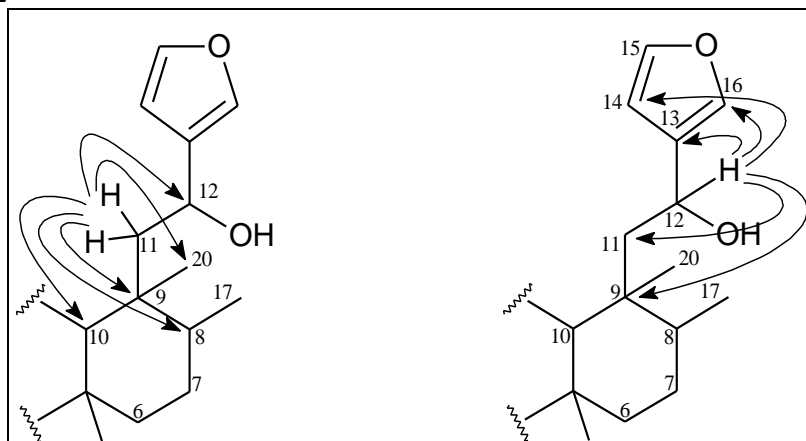
Com base nesses dados, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca da estrutura de **CA-8** através de seu espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1H$ ,  $^{13}C$  - HMBC (fig. 145 e 146, p. 178 e 179). Esta análise revelou as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  1,37 (3H-18) com o carbono oxigenado em  $\delta_C$  81,9 (C-4), o carbono não-hidrogenado em  $\delta_C$  45,4 (C-5) e com o carbono carbonílico em  $\delta_C$  216,0 (C-3). O espectro mostrou também as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  2,39 e 2,56 (2H-2) com os carbonos em  $\delta_C$  23,8 (C-1), 42,2 (C-10), 81,9 (C-4) e 216,0 (C-3), bem como as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,44 (2H-7) com os carbonos em  $\delta_C$  31,7 (C-6), 37,3 (C-8), 39,9 (C-9) e 45,4 (C-5) (fig. 133).

**Figura 133** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-8**



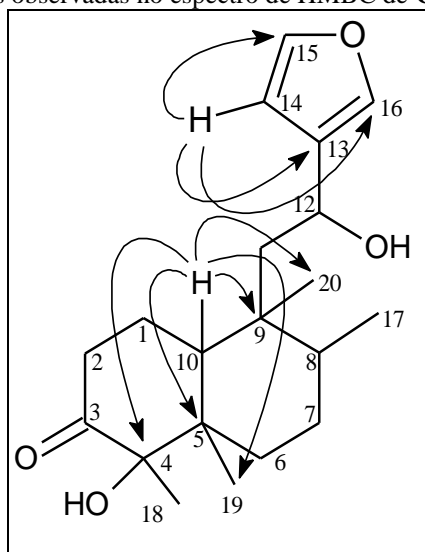
O posicionamento da hidroxila no carbono C-12 ( $\delta_C$  63,5) foi confirmado pelas correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,59 e 1,95 (2H-11) com os carbonos em  $\delta_C$  18,0 (C-20), 37,3 (C-8), 39,9 (C-9), 42,2 (C-10), 63,5 (C-12) e 131,5 (C-13), bem como das correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  4,92 (1H-12) com os carbonos em  $\delta_C$  39,9 (C-9), 46,0 (C-11), 108,5 (C-14), 131,5 (C-13) e 138,5 (C-16) (fig. 134, p. 172).

**Figura 134** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-8** para o posicionamento da carbonila em C-12



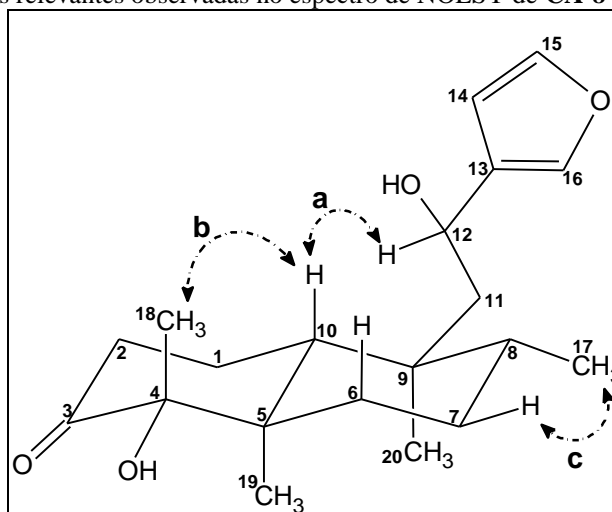
O espectro de HMBC apresentou também as correlações entre o hidrogênio em  $\delta_H$  6,38 (H-14), do anel furânico, com os carbonos em  $\delta_C$  131,5 (C-13), 138,5 (C-16) e 143,8 (C-15), e do hidrogênio em  $\delta_H$  2,51 (1H-10) com os carbonos em  $\delta_C$  15,3 (C-19), 18,0 (C-20), 39,9 (C-9), 45,4 (C-5) e 81,9 (C-4) (fig. 135).

**Figura 135** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-8**



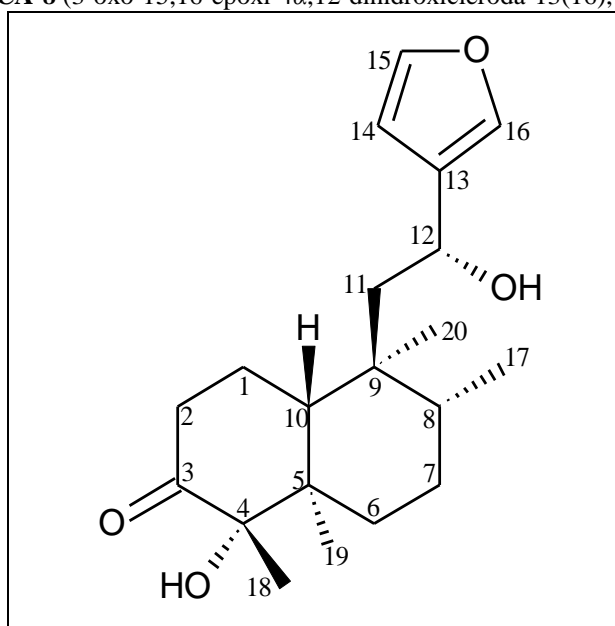
O espectro bidimensional de NOESY de **CA-8** (fig. 147, p. 179) mostrou o acoplamento homonuclear dipolar entre o hidrogênio H-10 ( $\delta_H$  2,51) com os hidrogênios H-18 ( $\delta_H$  1,37) e com o hidrogênio H-12 ( $\delta_H$  4,92), além do acoplamento dos hidrogênios metílicos H-17 ( $\delta_H$  0,79) com o hidrogênios H-7 ( $\delta_H$  1,44). Desta forma, foi possível propor, em comparação com os dados de outros metabólitos já isolados, a estereoquímica relativa da molécula de **CA-8**, como representada na **Figura 136** (p. 173).

**Figura 136** - Acoplamentos relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-8**



A reunião de todos os dados espectroscópicos discutidos possibilitou identificar **CA-8** como sendo diterpeno 3-oxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ ,12-dihidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 137), um *ent-neo*-clerodano que está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

**Figura 137** - Estrutura de **CA-8** (3-oxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ ,12-dihidroxicleroda-13(16),14-dieno)

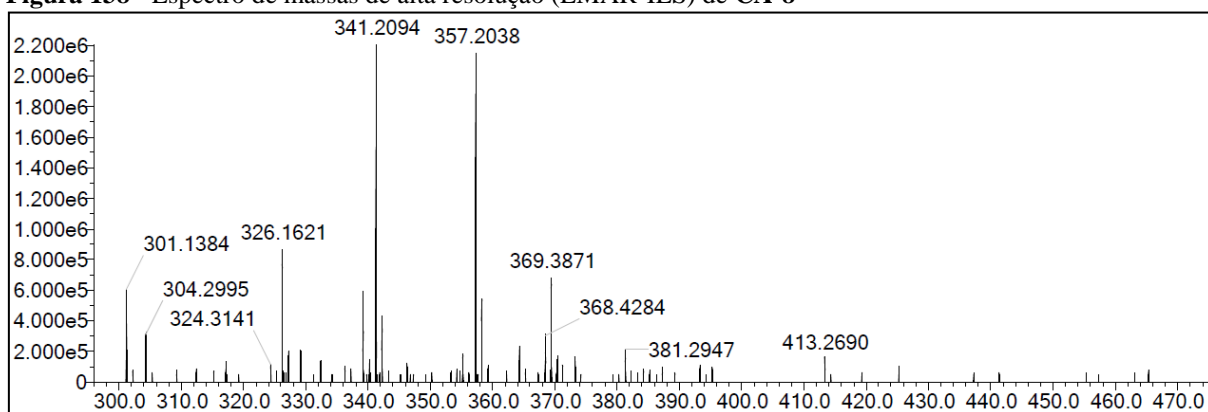
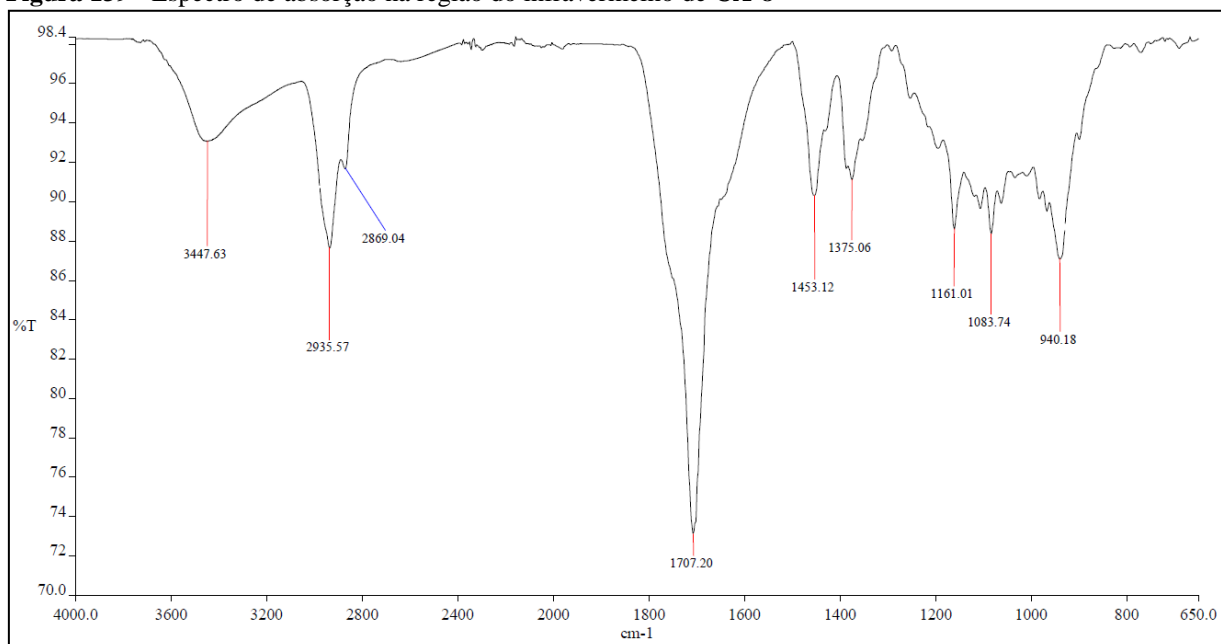


**Tabela 19** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (300 x 75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-8** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

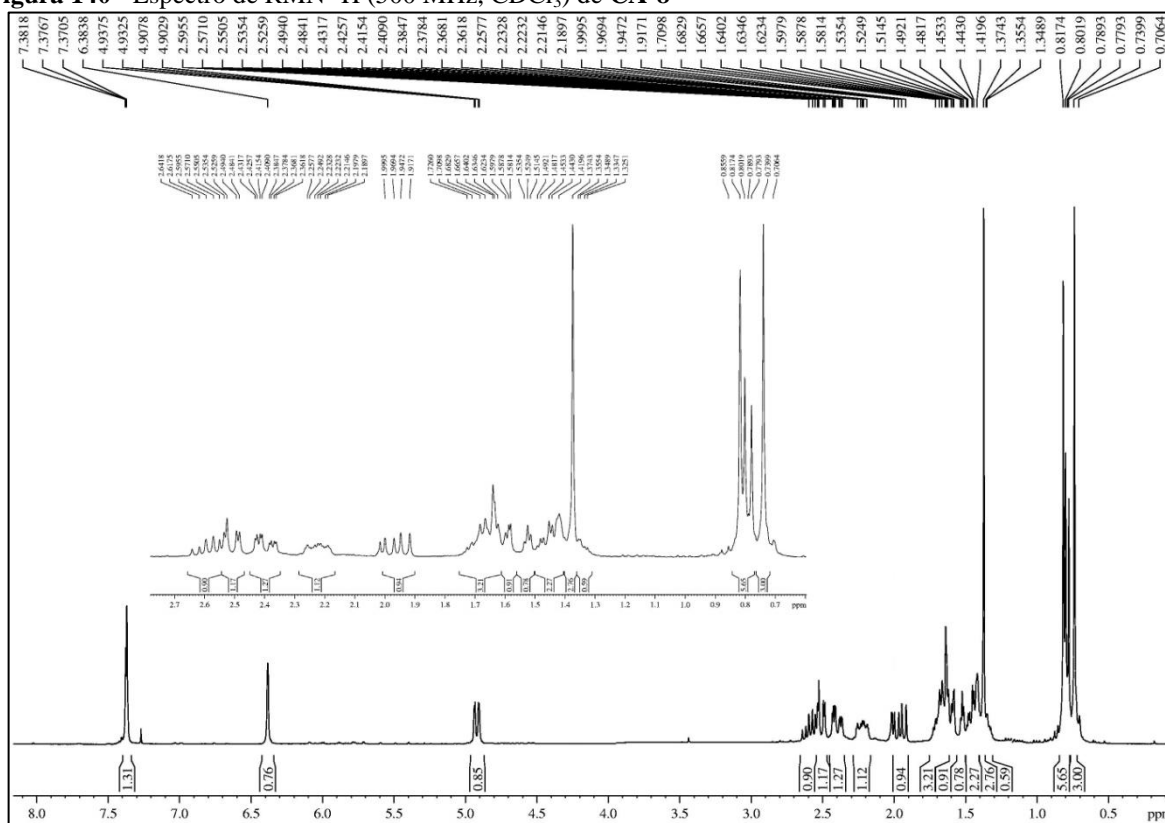
C	HSQC		HMBC		CA-3*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	23,8	2,22 (m; 1H) 1,68 (m; 1H)	2H-2; 1H-10		23,8
2	36,4	2,56 (td; 13,5 e 7,3; 1H) 2,39 (ddd; 14,2 e 4,9 e 1,9; 1H)	2H-1		36,2
3	216,0	-	2H-2	2H-1; 3H-18	215,3
4	81,9	-	3H-18	1H-2b; 1H-10; 3H-19	81,7
5	45,5	-	1H-6b; 1H-10; 3H-19	2H-1; 1H-7; 3H-18	45,3
6	31,7	1,64 (m; 1H) 1,50 (m; 1H)	1H-7	3H-19	31,2
7	26,9	1,44 (m; 1H)	2H-6; 1H-8	3H-17	26,9
8	37,3	1,70 (m; 1H)	1H-7; 3H-17	2H-6; 2H-11; 3H-20	37,5
9	39,9	-	1H-10; 2H-11; 3H-20	1H-7; 1H-12; 3H-17	42,0
10	42,2	2,51 (dd; 12,4 e 2,9; 1H)	2H-1	2H-2; 2H-6; 2H-11; 3H-19; 3H-20	41,6
11	46,0	1,95 (dd; 15,7 e 9,0; 1H) 1,59 (m; 1H)	1H-12	3H-20	47,3
12	63,5	4,92 (dd; 5,0 e 1,5; 1H)	2H-11		195,2
13	131,5	-	1H-12; 1H-14 1H-16	2H-11; 1H-15	129,7
14	108,5	6,38 (sl; 1H)	1H-15	1H-12; 1H-16	108,8
15	143,8	7,38 (m; 1H)	1H-14	1H-16	144,5
16	138,5	7,38 (m; 1H)		1H-12; 1H-14; 1H-15	147,0
17	16,0	0,79 (d; 6,8; 3H)	1H-8		16,7
18	21,9	1,37 (s; 3H)			21,9
19	15,3	0,81 (s; 3H)		2H-6; 1H-10	15,0
20	18,0	0,74 (s; 3H)		1H-8; 2H-11; 1H-10	17,8

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

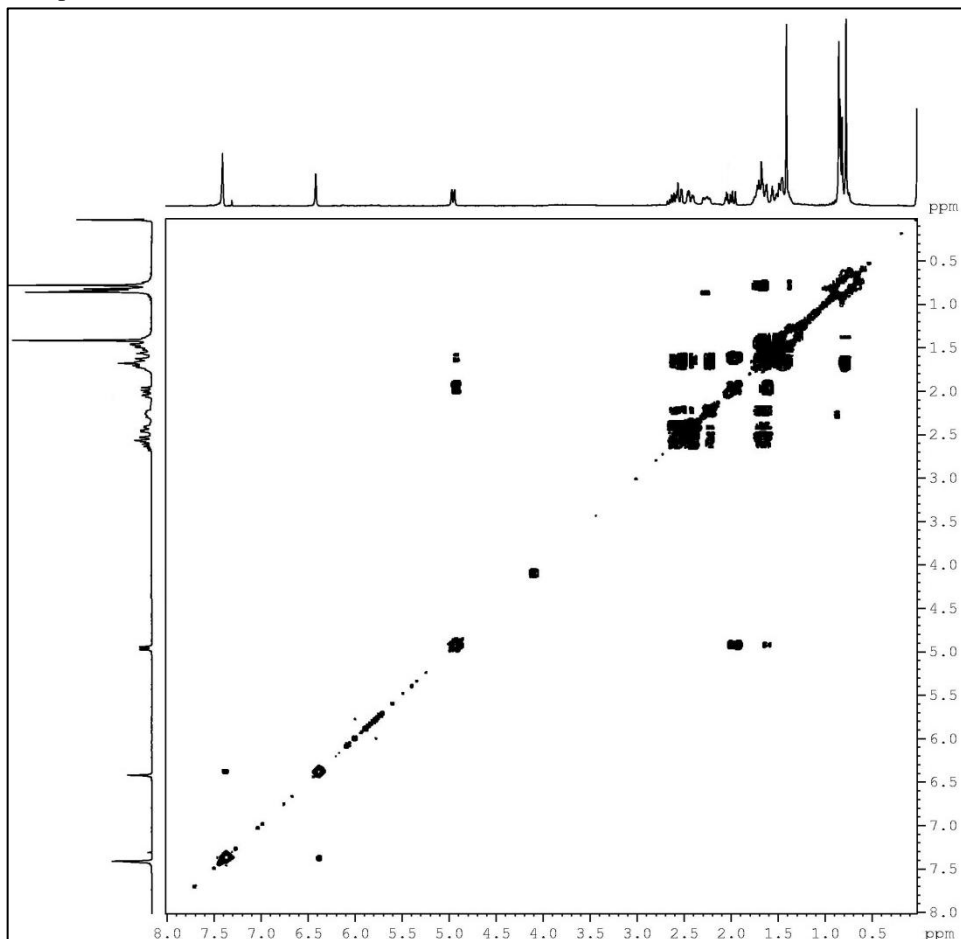


**Figura 138** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CA-8**Figura 139** - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-8

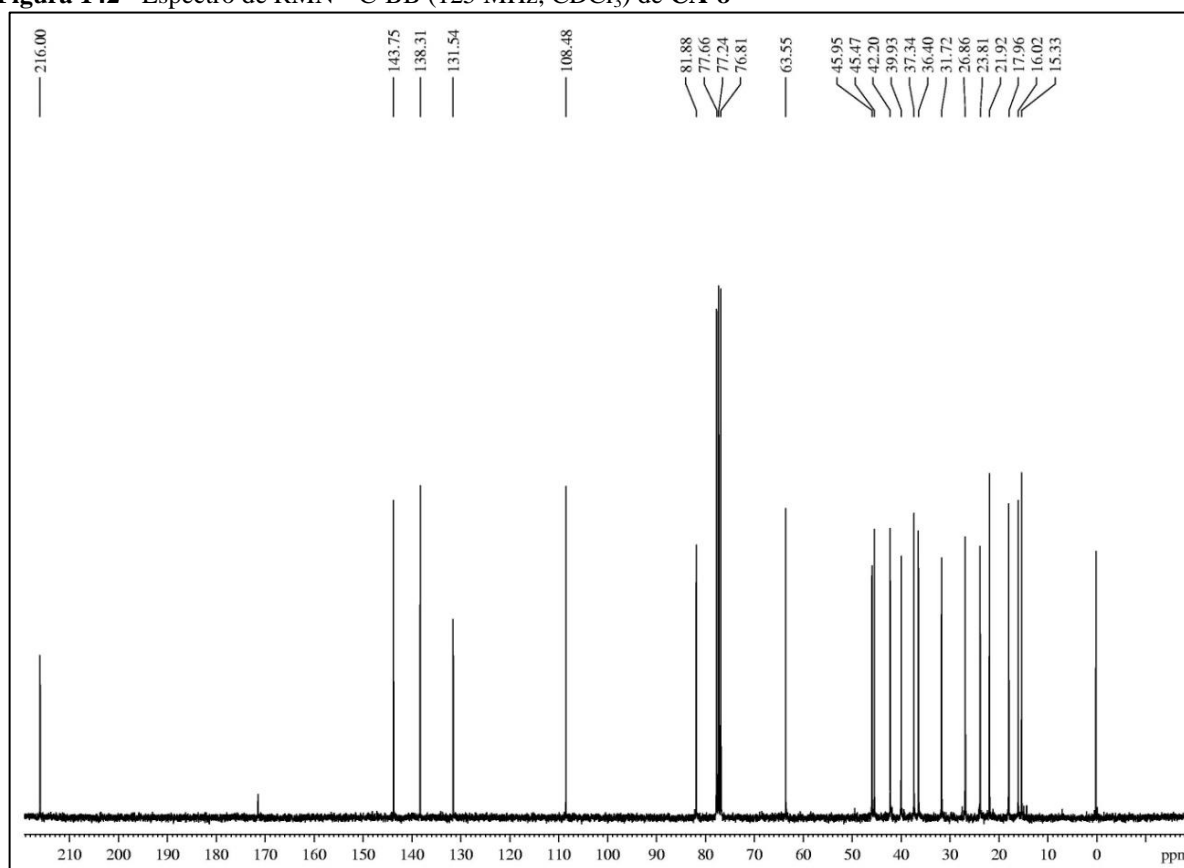
**Figura 140** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-8



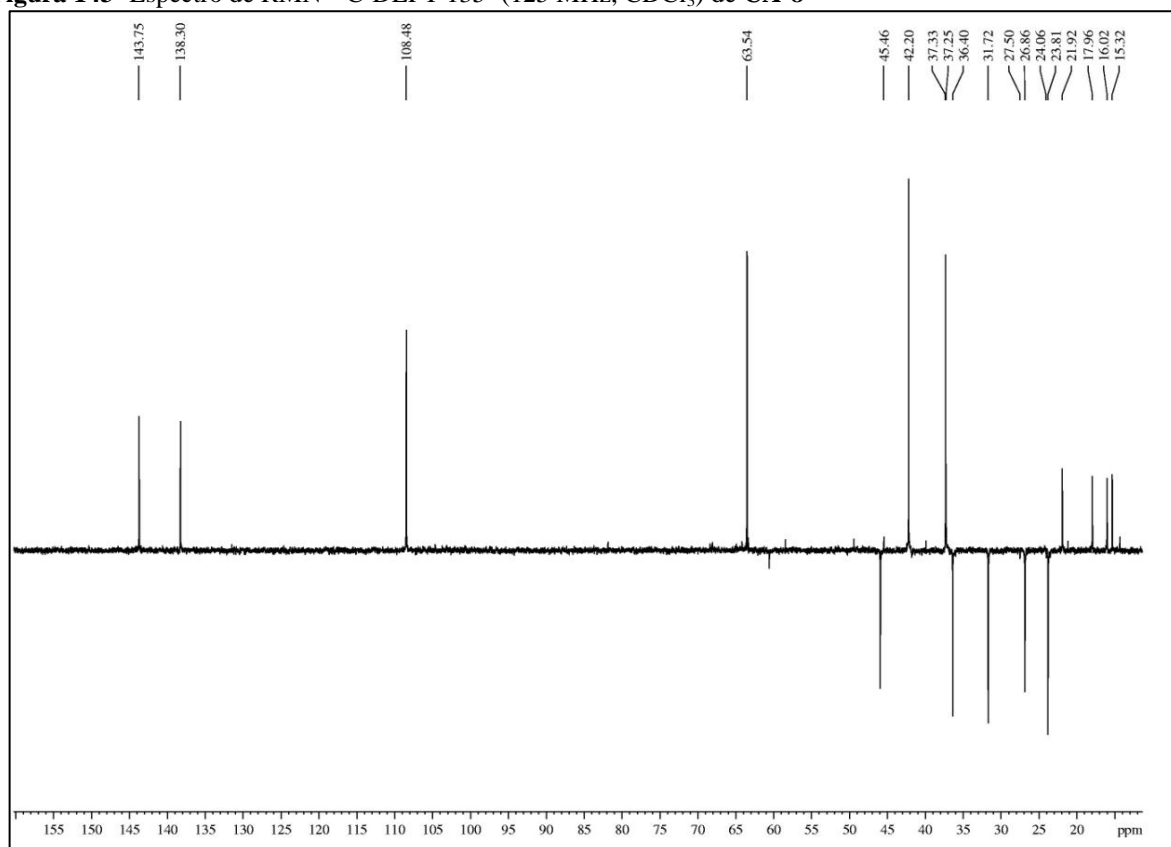
**Figura 141** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-8



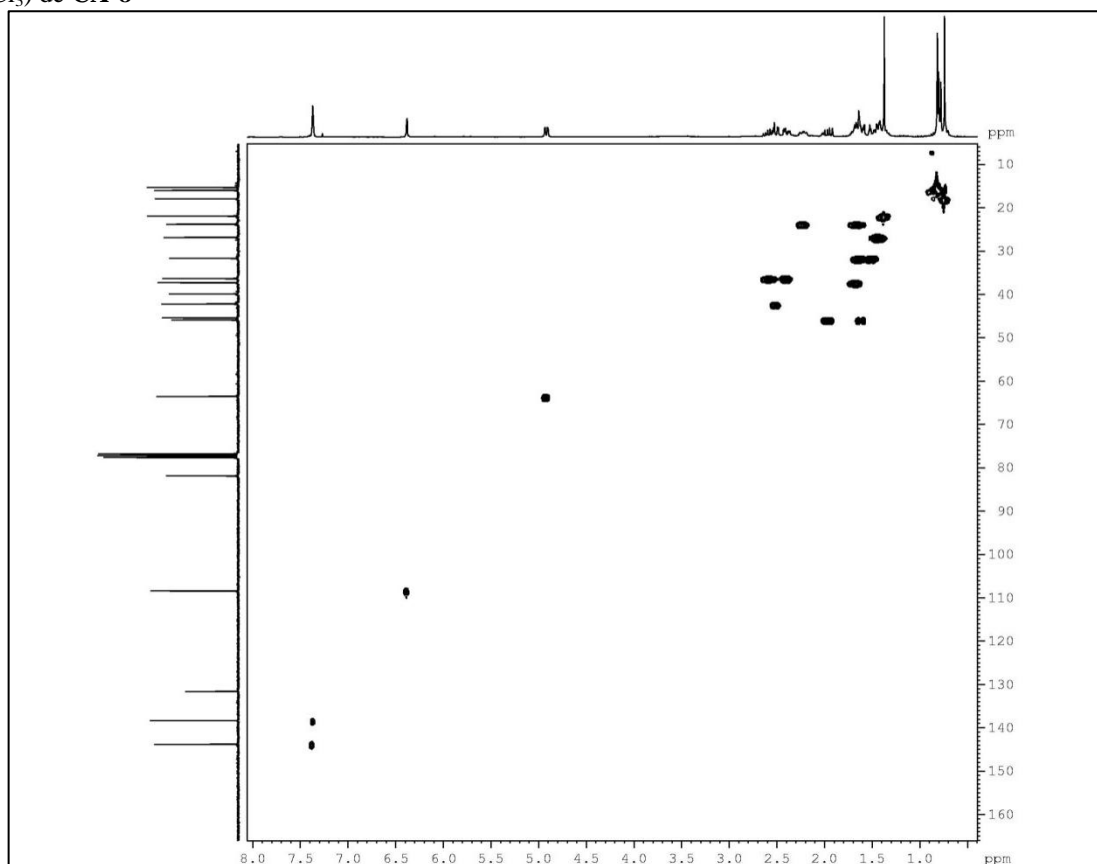
**Figura 142** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-8



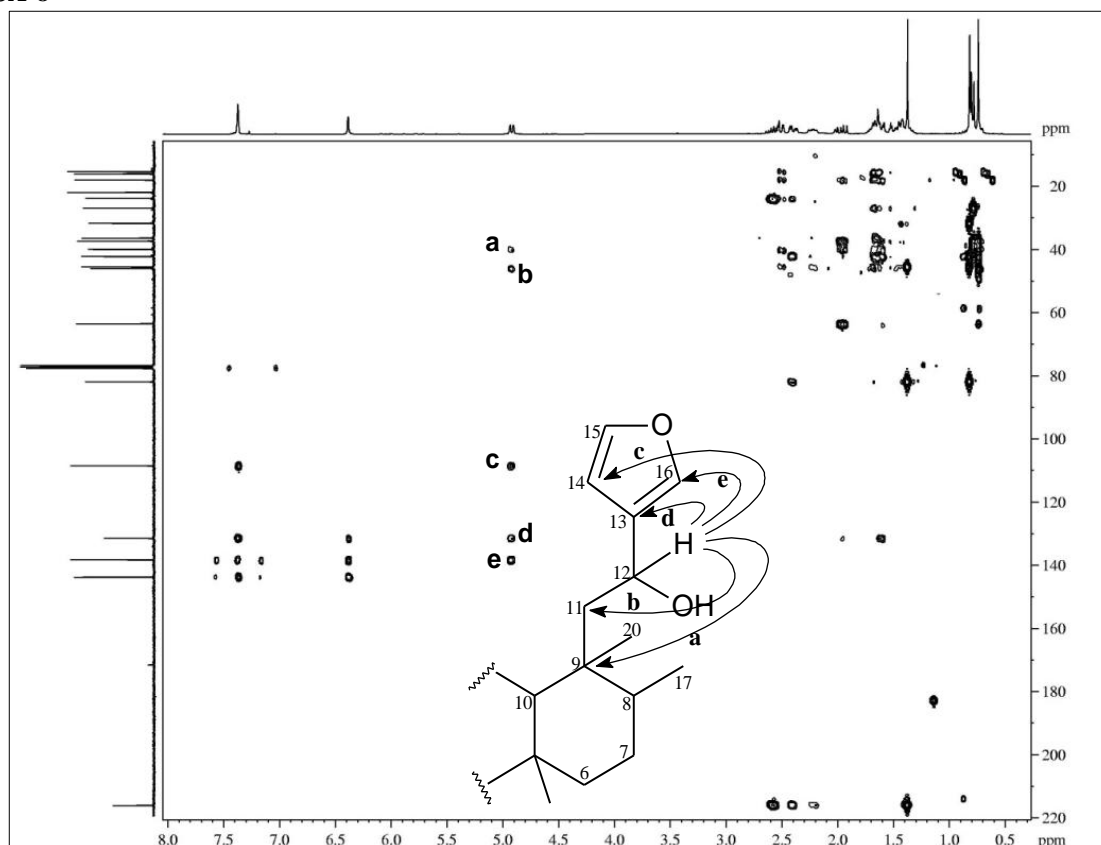
**Figura 143**- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-8



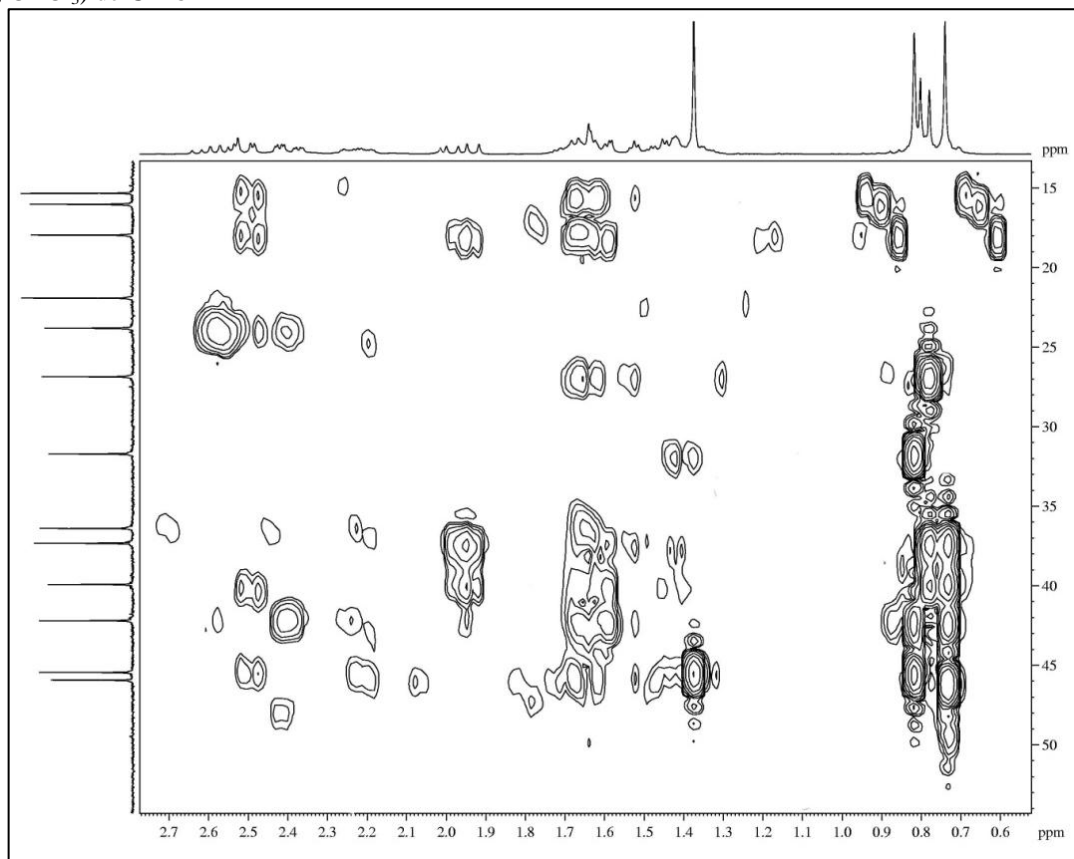
**Figura 144** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-8



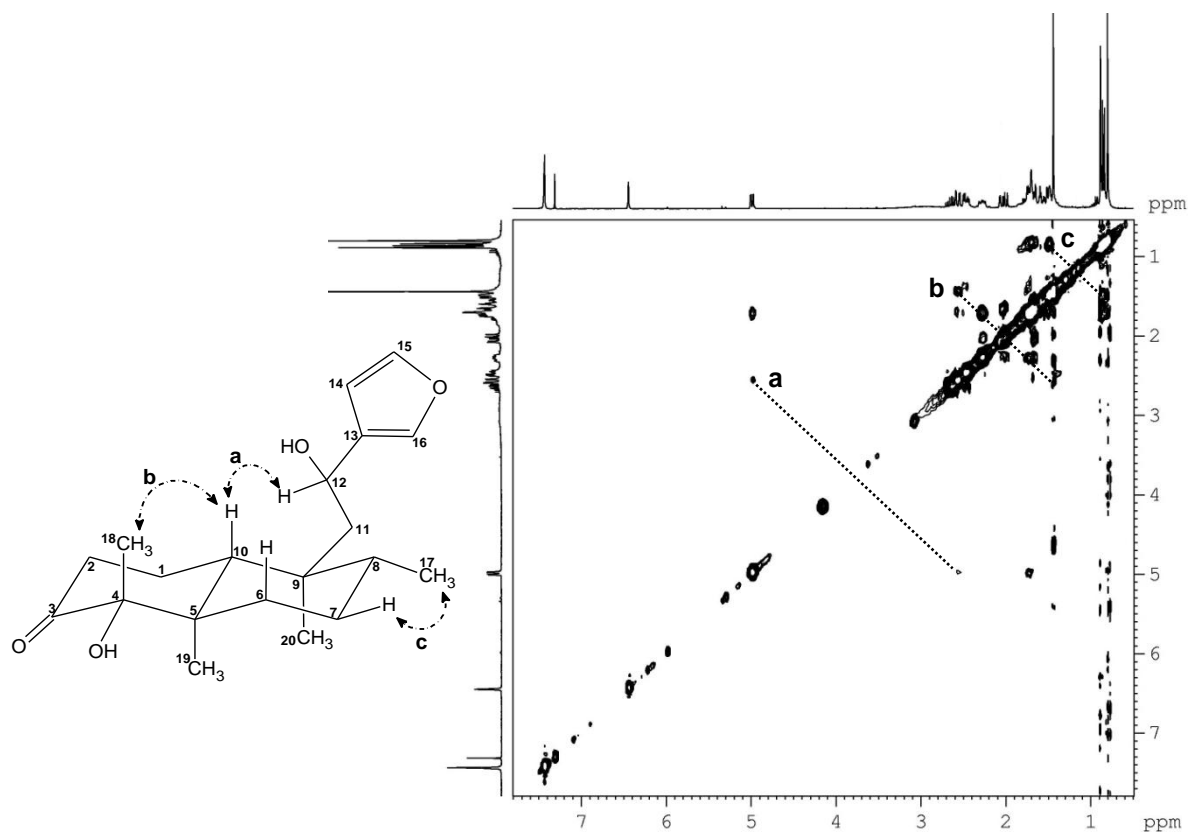
**Figura 145** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-8



**Figura 146** - Expansão do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-8**



**Figura 147** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-8**



#### 4.9 Determinação Estrutural de CA-9

O fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes de *Croton limae* (CLRH) possibilitou o isolamento de um material sólido, de aspecto cristalino, com  $[\alpha]_D^{20} = -2,0^\circ$  ( $c = 0,1$ ; CH<sub>3</sub>OH) e p.f. = 129,7 – 131,2 °C, denominado de **CA-9** (item 5.5.3.2, p. 257).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-9** (fig. 154, p. 185) revelou uma banda de deformação axial de ligação O–H em 3287 cm<sup>-1</sup> e bandas em 2865 e 2926 cm<sup>-1</sup>, referentes a deformação axial de ligação C–H.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-9** (fig. 156, p. 186) revelou absorções intensas em  $\delta_H$  0,76 (3H-20; s), 1,06 (3H-18; s) e 1,13 (3H-19; s), referentes a carbonos metílicos ligados a carbonos não-hidrogenados, e outra em  $\delta_H$  0,92 (3H-17; d,  $J = 6,7$  Hz) referente a um grupo metila ligado a carbono mono-hidrogenado, semelhante as absorções observadas para os carbonos metílicos de **CA-3**, **CA-4** e **CA-8**. Foram observados também sinais em  $\delta_H$  6,48 (1H-14; d,  $J = 0,9$  Hz), 7,46 (1H-15; t,  $J = 1,5$  Hz) e 7,48 (1H-16; s) associados a hidrogênios de anel furânico monossustituído. O espectro apresentou ainda dois sinais referentes a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em  $\delta_H$  3,48 (1H-3; t,  $J = 2,5$  Hz) e  $\delta_H$  4,74 (1H-12; t,  $J = 6,2$  Hz). Além destes, foram observados sinais na região entre  $\delta_H$  1,00 – 2,00, relativos a hidrogênios de grupos CH e CH<sub>2</sub>.

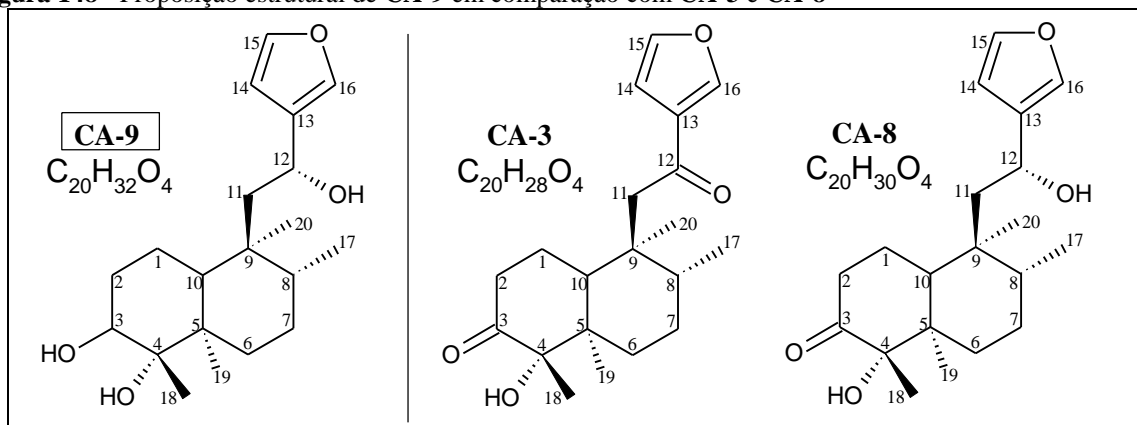
No espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-9** (fig. 158, p. 187) foram observadas 20 linhas espectrais, das quais três sinais relativos a carbonos oxigenados em  $\delta_C$  63,9 (C-12), 77,3 (C-4) e 77,9 (C-3) e, diferentemente de **CA-3** e **CA-8**, não apresentou sinal referente a carbono carbonílico. Verificou-se ainda a presença dos sinais relativos aos carbonos sp<sup>2</sup> associados a carbonos de anel furânico em  $\delta_C$  110,1 (C-14), 132,1 (C-13), 140,5 (C-16) e 144,8 (C-15).

A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (fig. 159, p. 187), permitiu correlacionar os carbonos na estrutura de **CA-9** com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 7 carbonos metínicos e 4 carbonos não-hidrogenados.

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) de **CA-9** (fig. 153, p. 185) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$  359,2160, relativo ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>, com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 5, para **CA-9**.

A partir da análise dos dados obtidos de **CA-9**, foi possível sugerir que o composto é um diterpeno de esqueleto clerodano, originado através das reduções das carbonilas observadas para os compostos **CA-3** e **CA-8** nas posições C-3 e C-9 (fig. 148).

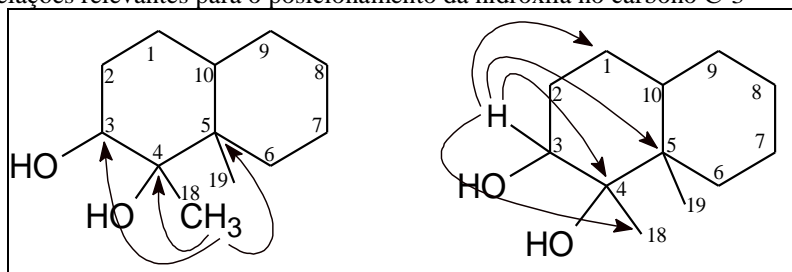
**Figura 148** - Proposição estrutural de **CA-9** em comparação com **CA-3** e **CA-8**



A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-9** (fig. 160, p. 188) permitiu assinalar de forma inequívoca cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 20** (p. 184).

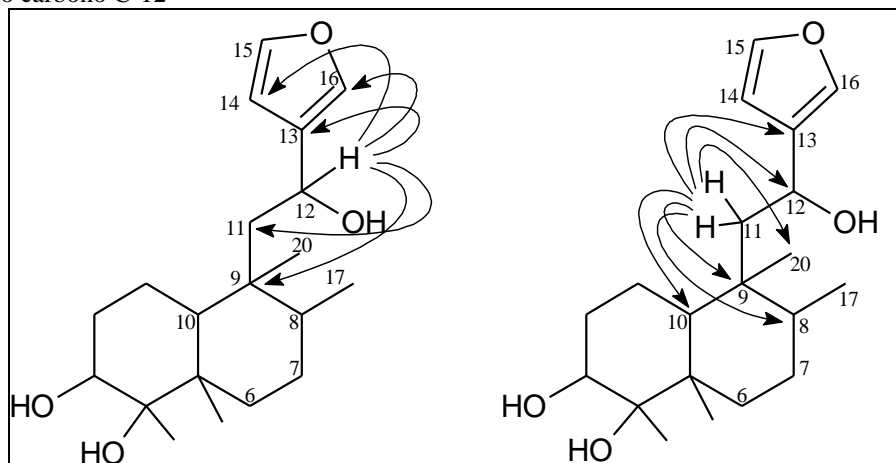
Através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 161 e 162, p. 188 e 189), foi possível observar as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,06 (3H-18) com o carbono não-hidrogenado em  $\delta_{\text{C}}$  43,7 (C-5) e com os carbonos oxigenados em  $\delta_{\text{C}}$  77,3 (C-4) e 77,9 (C-3). O espectro mostrou ainda as correlações do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,48 (1H-3) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  18,1 (C-1), 23,4 (C-18), 43,7 (C-5) e 77,3 (C-4), confirmando a posição da hidroxila no carbono C-3 (fig. 149).

**Figura 149** - Correlações relevantes para o posicionamento da hidroxila no carbono C-3



Adicionalmente, as correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,74 (1H-12) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  40,7 (C-9), 46,8 (C-11), 110,1 (C-14), 132,1 (C-13) e 140,5 (C-16), e dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,77 e 1,92 (2H-11) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  19,0 (C-20), 38,7 (C-8), 40,7 (C-9), 44,5 (C-10), 63,9 (C-12) e 132,1 (C-13) confirmaram a posição da hidroxila no carbono C-12 (fig. 150, p. 182).

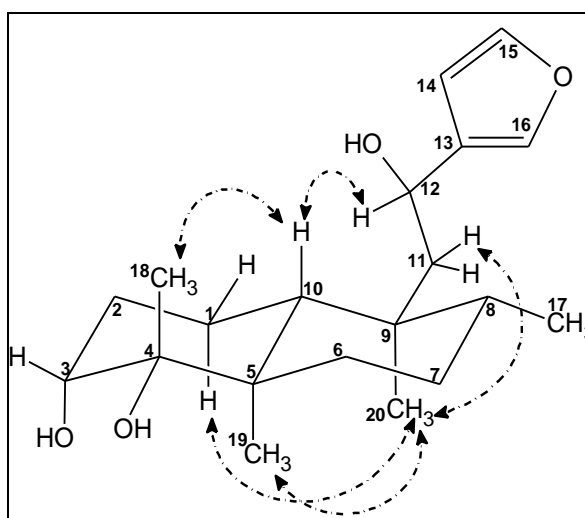
**Figura 150** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-9** para determinação da posição da hidroxila no carbono C-12



A multiplicidade e o valor de constante de acoplamento para o sinal referente ao hidrogênio H-3 em  $\delta_H$  3,48 (t,  $J = 2,5$  Hz), foi condizente com um acoplamento entre hidrogênios equatorial-equatorial e equatorial-axial. Desta forma, foi possível propor a estereoquímica relativa para o hidrogênio na posição equatorial e a hidroxila na posição axial, respectivamente (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

O espectro bidimensional de NOESY de **CA-9** (fig. 163, p. 189) mostrou o acoplamento homonuclear dipolar entre o hidrogênio H-10 ( $\delta_H$  1,38) com os hidrogênios H-18 ( $\delta_H$  1,06) e H-12 ( $\delta_H$  4,74). O espectro revelou ainda o acoplamento dos hidrogênios metílicos H-20 ( $\delta_H$  0,76) com os hidrogênios H-11 ( $\delta_H$  1,77 e 1,92), H-19 ( $\delta_H$  1,13) e H-1<sub>eq</sub> ( $\delta_H$  1,54). Desta forma, foi possível a estereoquímica relativa da molécula de **CA-9**, representada na **Figura 151**.

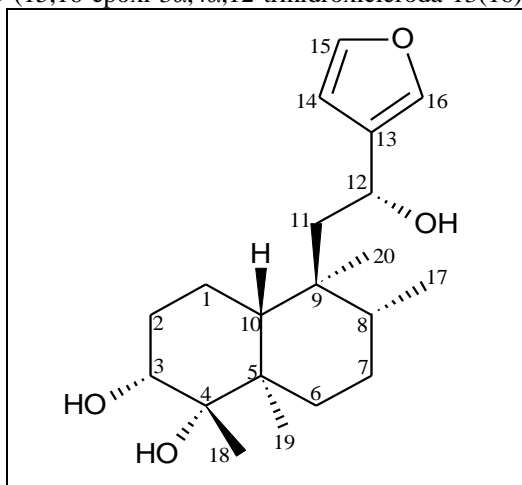
**Figura 151** - Acoplamentos relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-9**





A reunião de todos os dados espectroscópicos discutidos possibilitou identificar **CA-9** como sendo o 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 152), um *ent-neo*-clerodano que está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

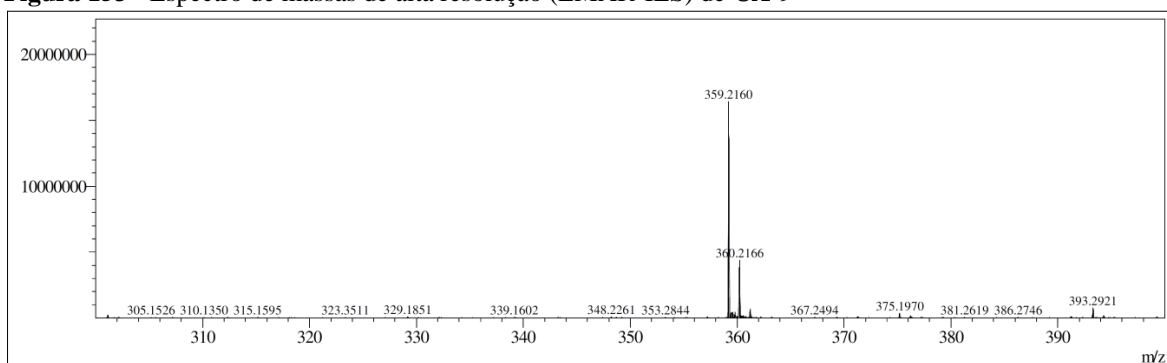
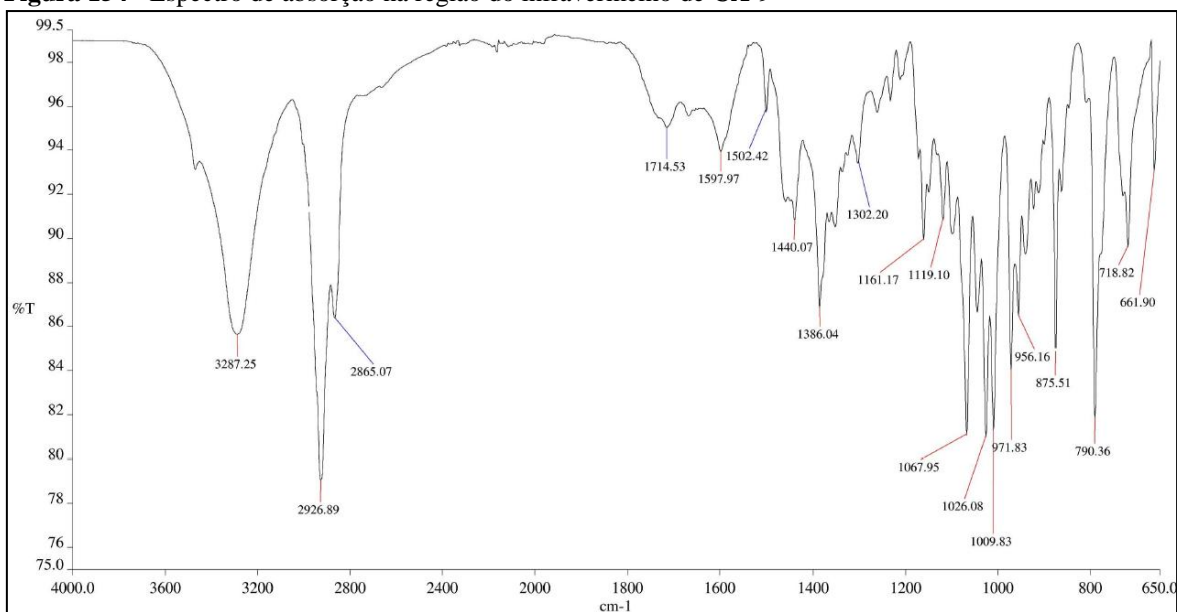
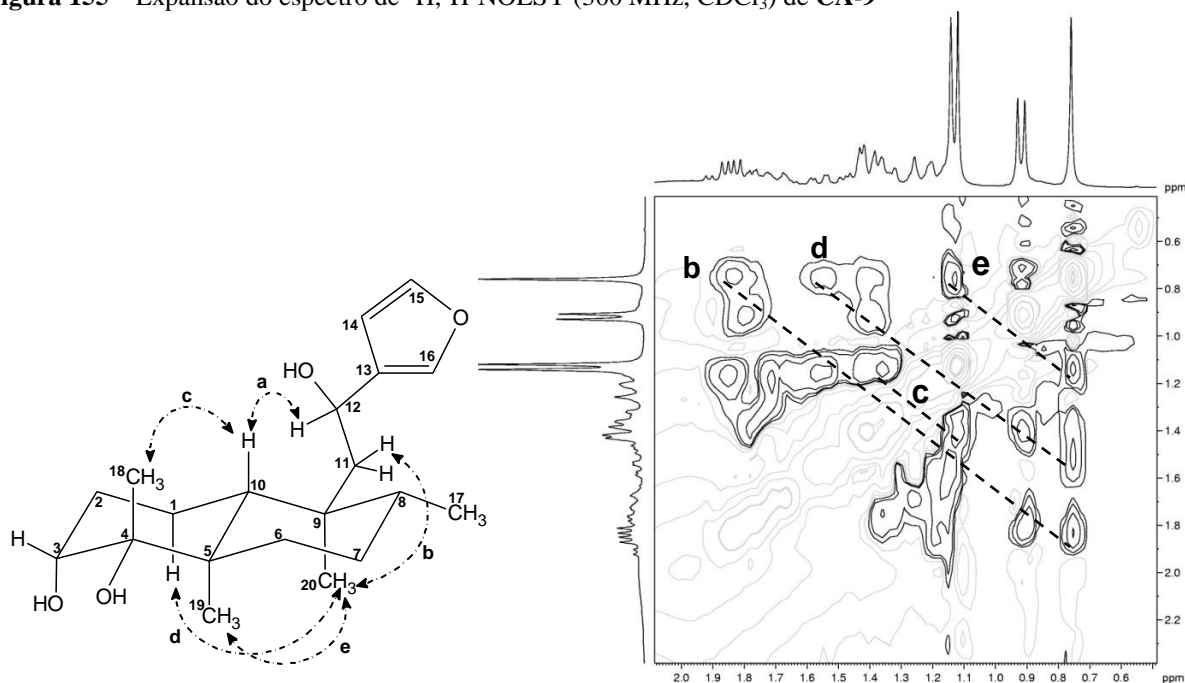
**Figura 152** - Estrutura de **CA-9** (15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno)



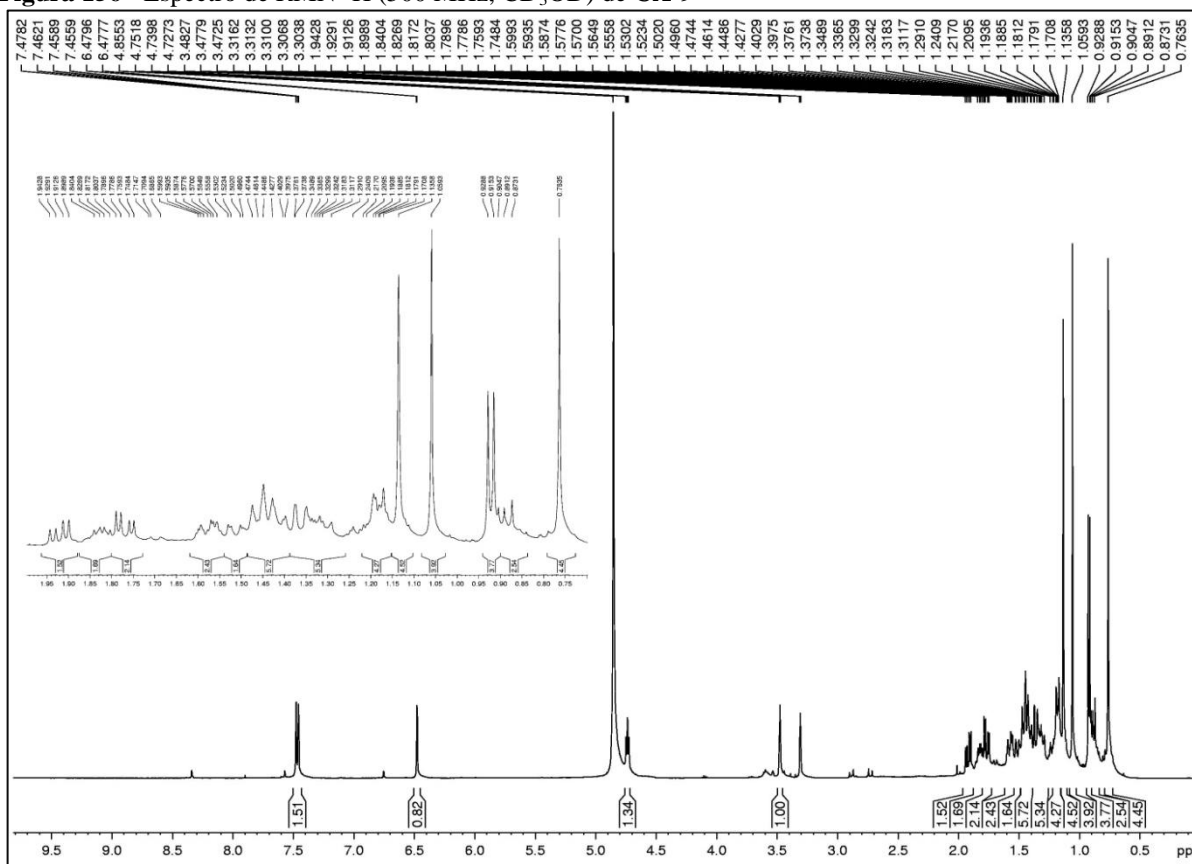
**Tabela 20** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-9** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

C	HSQC		HMBC		CA-3*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	18,1	1,54 (m)		1H-3	23,8
		1,19(m)			
2	30,6	1,58 (m)		1H-10	36,2
		1,18 (m)			
3	77,9	3,48 (t; 2,5)		3H-18	215,3
4	77,3	–	1H-3; 3H-18	1H-10; 3H-19	81,7
5	43,7	–	1H-10; 3H-19	1H-1b; 1H-3; 3H-18	45,3
6	34,2	1,43 (m)	1H-7b	3H-19	31,2
		1,44 (m)			
7	28,0	1,32 (m)	2H-6; 1H-8	3H-17	26,9
8	38,7	1,82 (m)	2H-7; 3H-17	2H-6; 2H-11; 3H-20	37,5
9	40,7	–	1H-10; 2H-11; 3H-20	1H-7b; 3H-17	42,0
10	44,5	1,38 (m)	1H-1a	1H-2a; 2H-6; 2H-11; 1H-12; 3H-19; 3H-20	41,6
		1,92 (dd; 15,1 e 6,8)			
11	46,8	1,77 (dd; 15,1 e 5,5)	1H-12	1H-10; 3H-20	47,3
12	63,9	4,74 (t; 6,2)	2H-11		195,2
13	132,1	–	2H-11, 1H-14; 1H-16	2H-11; 1H-15	129,7
14	110,1	6,48 (d; 0,9)	1H-15	1H-12; 1H-16	108,8
15	144,8	7,46 (t; 1,5)	1H-14	1H-16	144,5
16	140,5	7,48 (s)		1H-12, 1H-14; 1H-15	147,0
17	16,9	0,92 (d; 6,7)		2H-7	16,7
18	23,4	1,06 (s)		1H-3	21,9
19	16,6	1,13 (s)		2H-6; 1 H-10	15,0
20	19,0	0,76 (s)		1H-10; 2H-11	17,8

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

**Figura 153** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de **CA-9****Figura 154** - Espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-9****Figura 155** - Expansão do espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-9**

**Figura 156** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9



**Figura 157** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9

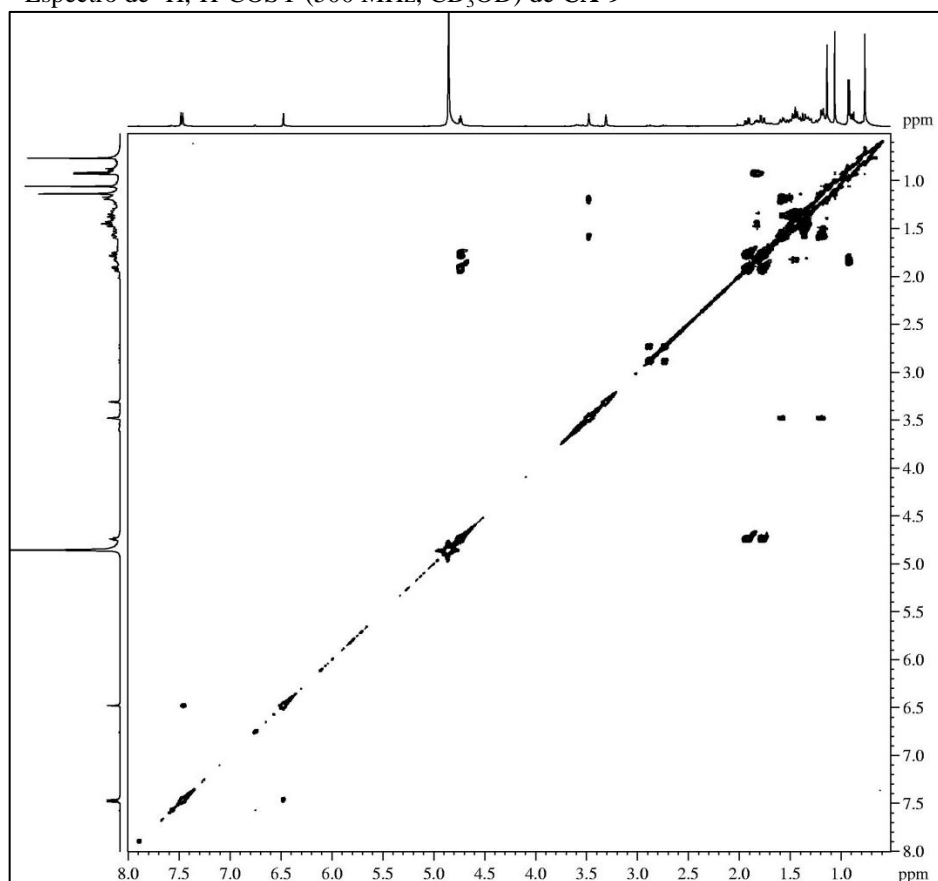


Figura 158 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9

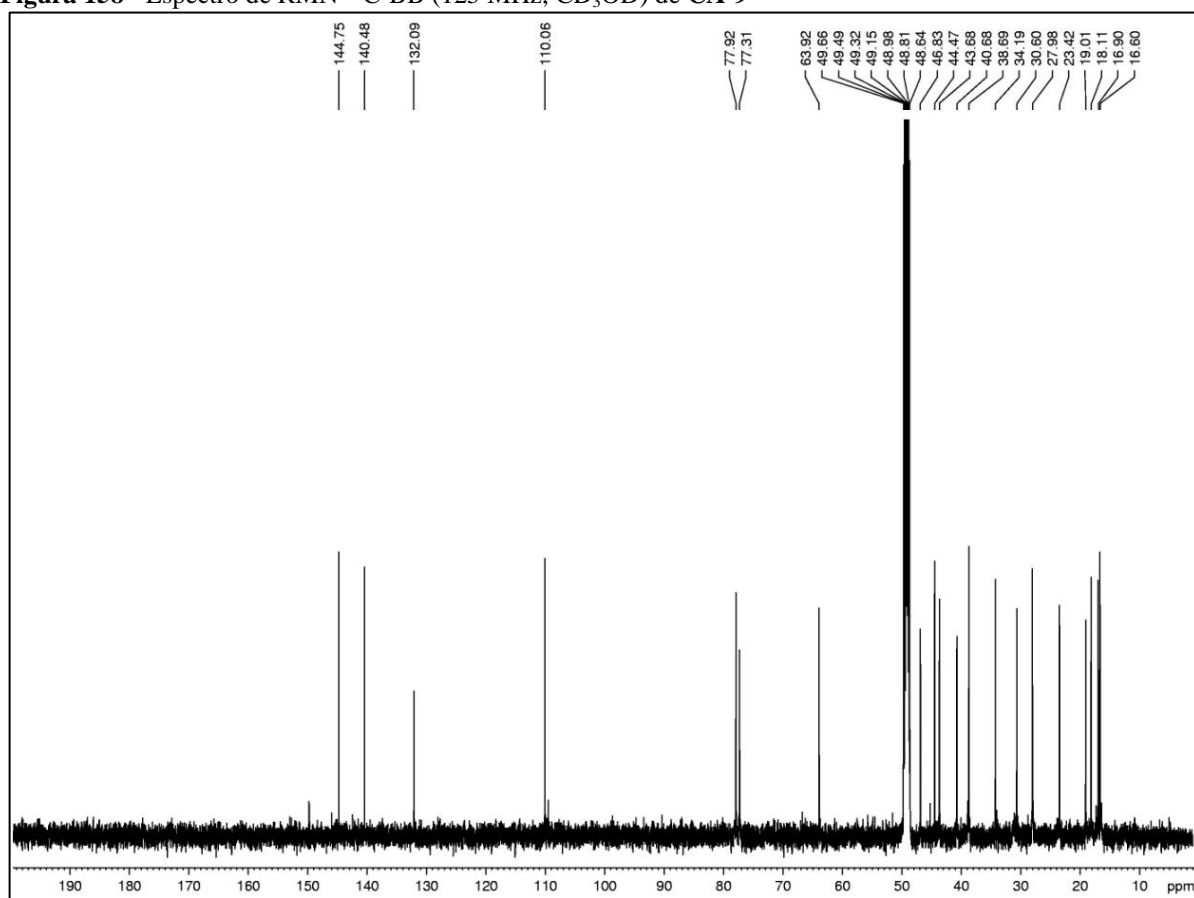
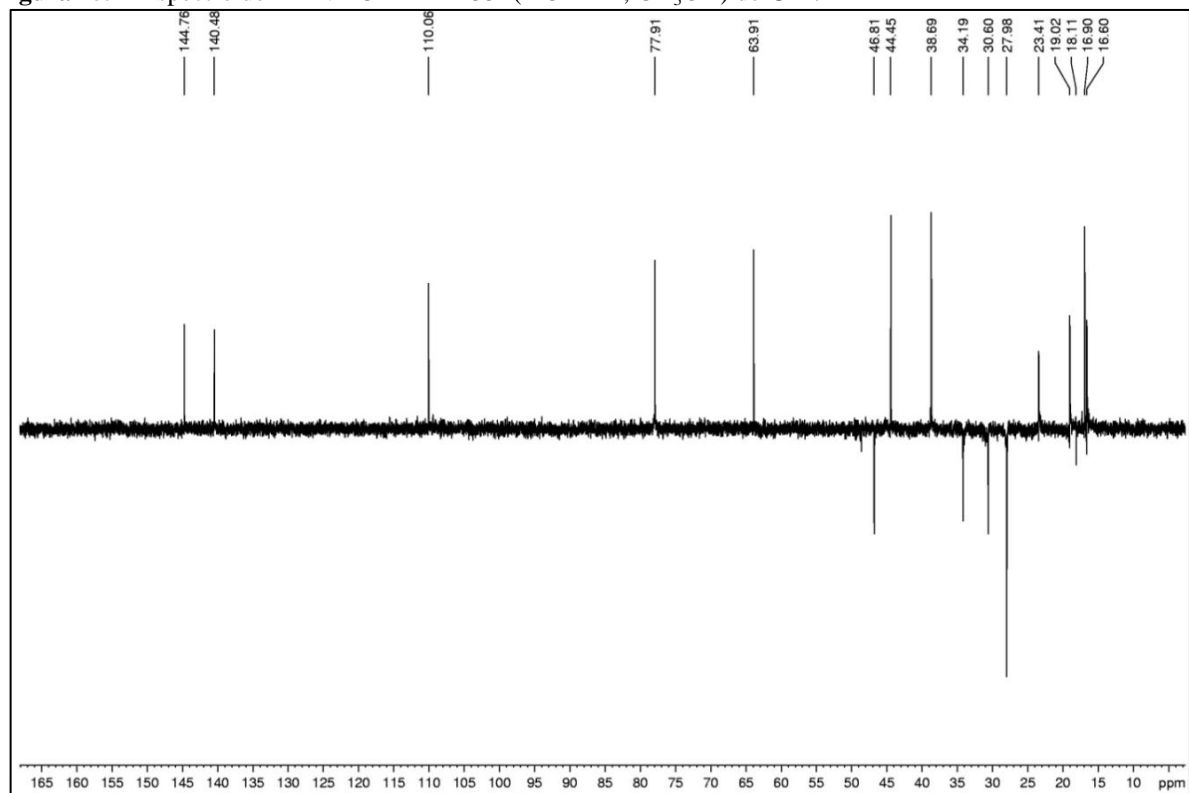
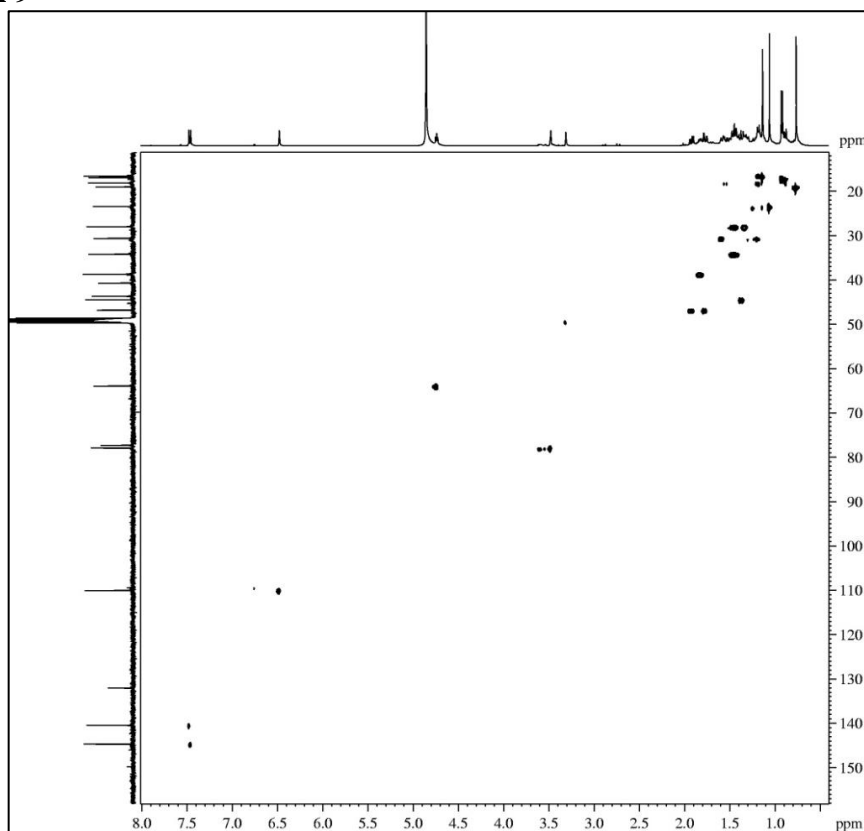


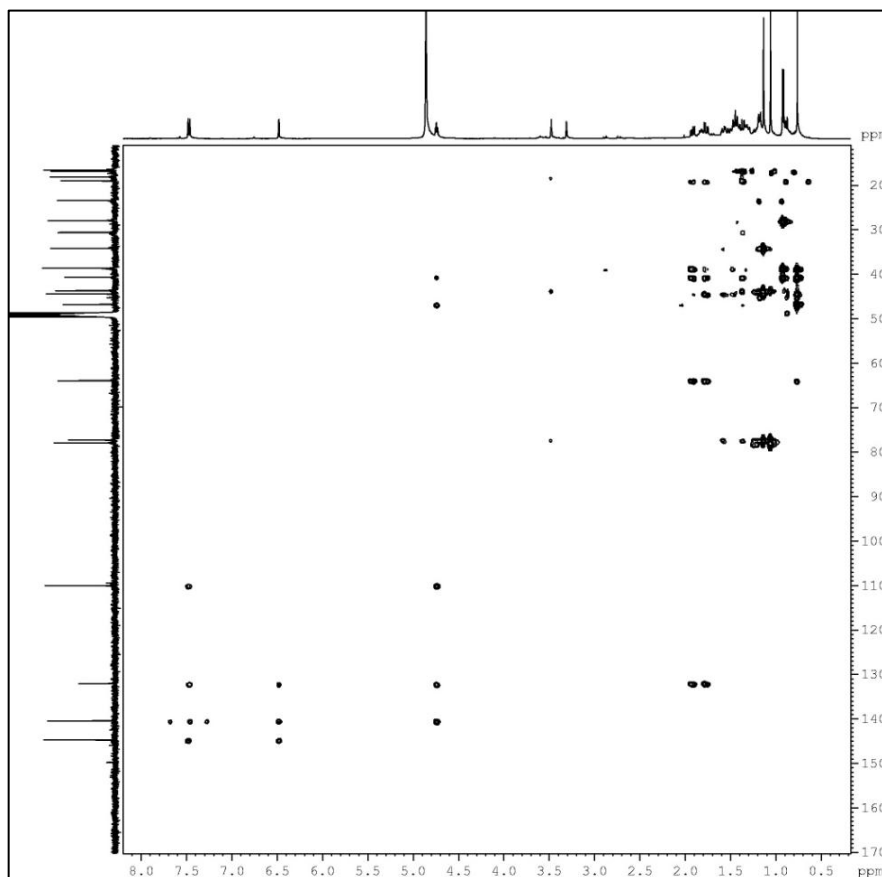
Figura 159 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9



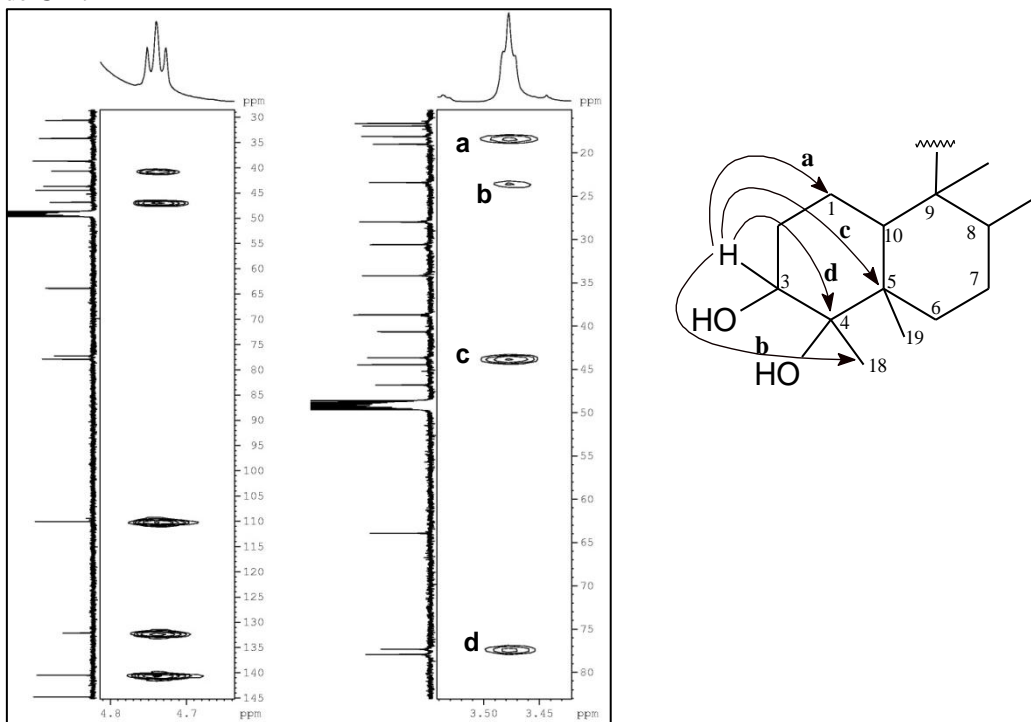
**Figura 160** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9



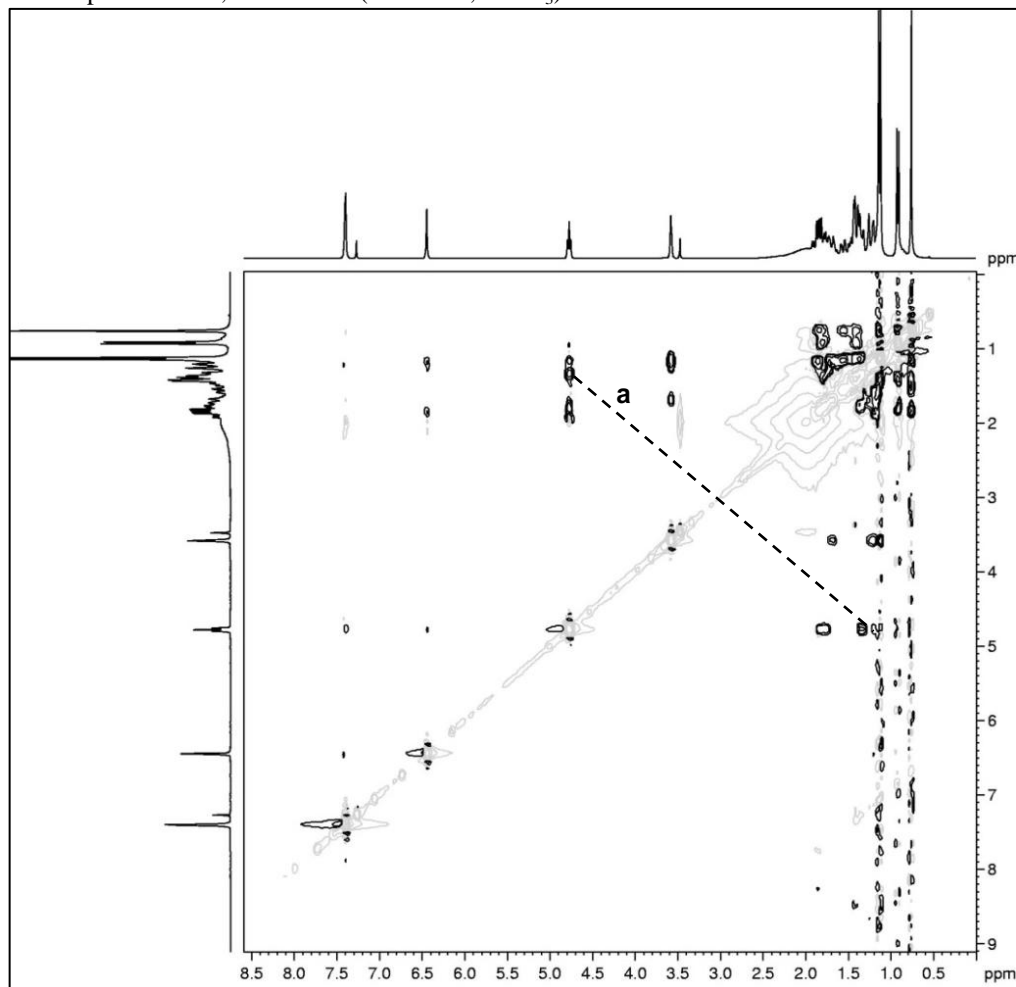
**Figura 161** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9



**Figura 162** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-9



**Figura 163** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-9



#### 4.10 Determinação Estrutural de CA-10

O tratamento cromatográfico da fração **CLRH**, proveniente do extrato hexânico do das raízes de *Croton limae*, forneceu um composto sólido amorfo denominado **CA-10** (item **5.5.3.2**, p. 257).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-10** (fig. 170, p. 196) revelou absorções intensas em  $\delta_{\text{H}}$  0,89 (3H-20; s), 0,99 (3H-19; s) e 1,06 (3H-18; s), referentes a carbonos metílicos ligados a carbonos não-hidrogenados, e outra em  $\delta_{\text{H}}$  0,86 (3H-17; d,  $J = 6,8$  Hz) referente a um grupo metila ligado a carbono mono-hidrogenado. A presença de um anel furânico monosubstituído foi sugerido pelos sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,41 (1H-14, sl), 7,36 (1H-16, sl) e 7,38 (1H-15; sl), enquanto que os dois sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,50 (1H-3; dd,  $J = 11,2$  e  $3,2$  Hz) e  $\delta_{\text{H}}$  4,83 (1H-12; dd,  $J = 9,0$  e  $4,2$  Hz) foram atribuídos a hidrogênios ligados a carbonos oxigenados. Além destes foi observada uma série de sinais na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,00 – 2,50, relativos a hidrogênios de grupos CH e  $\text{CH}_2$ .

De maneira análoga aos outros compostos isolados, o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-10** (fig. 172, p. 197), mostrou 20 linhas espectrais. Os sinais relativos ao anel furânico foram visualizados em  $\delta_{\text{C}}$  129,7 (C-13), 108,8 (C-14), 139,0 (C-16) e 143,4 (C-15), além dos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  137,9 (C-5) e 133,6 (C-10) referentes a carbonos olefínicos não-hidrogenados, e dos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  76,3 (C-3) e 64,8 (C-12) relacionados a carbonos oxigenados.

A comparação com o espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT  $135^\circ$  (fig. 173, p. 197), permitiu correlacionar os carbonos na estrutura de **CA-10** com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 6 carbonos metínicos e 5 carbonos não-hidrogenados.

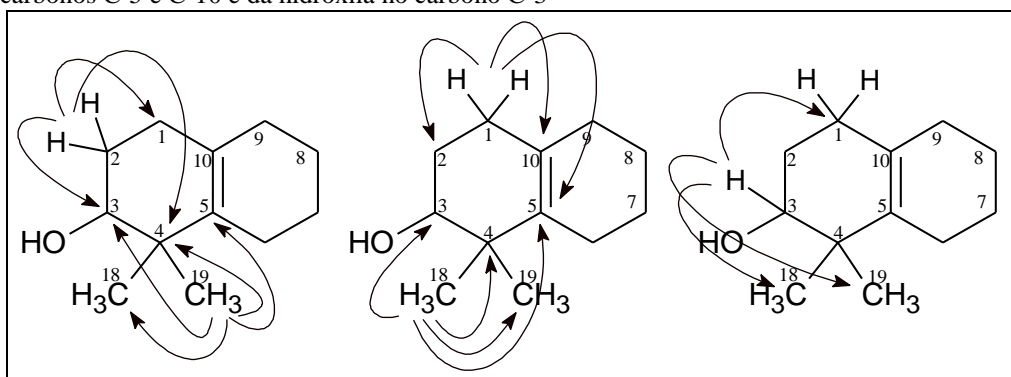
A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-10** (fig. 174, p. 198) permitiu assinalar de forma inequívoca cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 22** (p. 195).

O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 175 e 176, p. 198 e 199) revelou as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  1,06 (H-18) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  20,3 (C-19), 40,3 (C-4), 76,3 (C-3) e 137,9 (C-5), enquanto que os hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  0,99 (H-19) acoplaram com o carbono metílico em  $\delta_{\text{C}}$  25,2 (C-18). Em adição, os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  1,06 (H-18) acoplaram com os carbonos



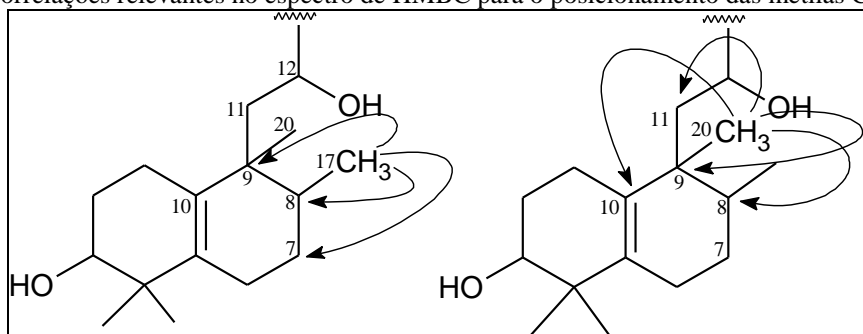
em  $\delta_C$  40,3 (C-4),  $\delta_C$  76,3 (C-3) e  $\delta_C$  137,9 (C-5). O espectro mostrou também as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  2,20 e 2,43 (2H-1) com os carbonos em  $\delta_C$  27,7 (C-2), 137,9 (C-5) e 133,6 (C-10) e dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,66 (1H-2b) com os carbonos em  $\delta_C$  25,1 (C-1), 76,3 (C-3) e 40,3 (C-4). Além disso, também revelou as correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  3,50 (H-3) com os carbonos em  $\delta_C$  25,1 (C-1), 25,2 (C-18) e 20,3 (C-19). Estas correlações definitivamente estabeleceram a posição da ligação dupla entre os carbonos C-5 e C-10, e da hidroxila no carbono C-3 (fig. 164).

**Figura 164** - Correlações relevantes na determinação das posições das metilas C-18 e C-19, da ligação dupla entre os carbonos C-5 e C-10 e da hidroxila no carbono C-3



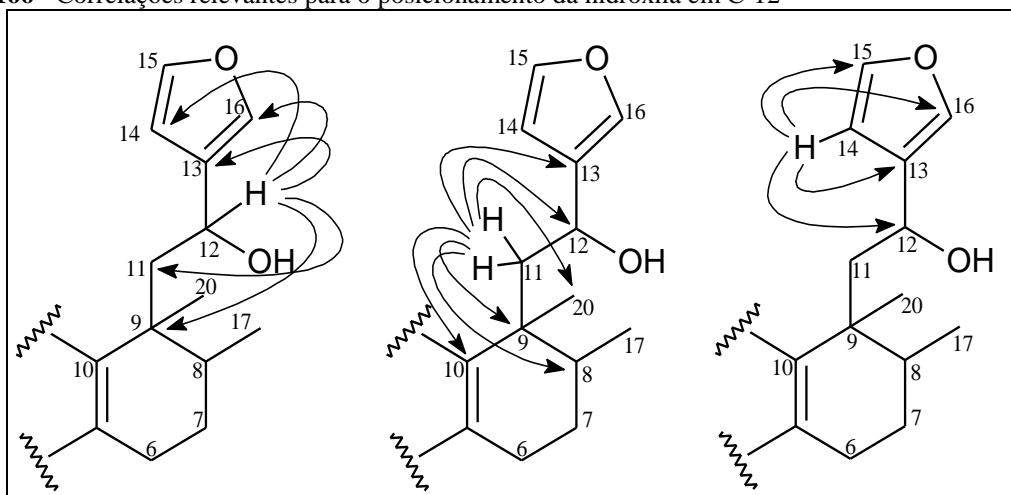
O espectro apresentou também as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,86 (3H-17) com os carbonos em  $\delta_C$  27,3 (C-7), 34,3 (C-8) e 40,6 (C-9) e em  $\delta_H$  0,89 (3H-20) com os carbonos em 34,3 (C-8), 40,6 (C-9), 43,2 (C-11) e 133,6 (C-10) (fig. 165).

**Figura 165** - Correlações relevantes no espectro de HMBC para o posicionamento das metilas C-17 e C-20



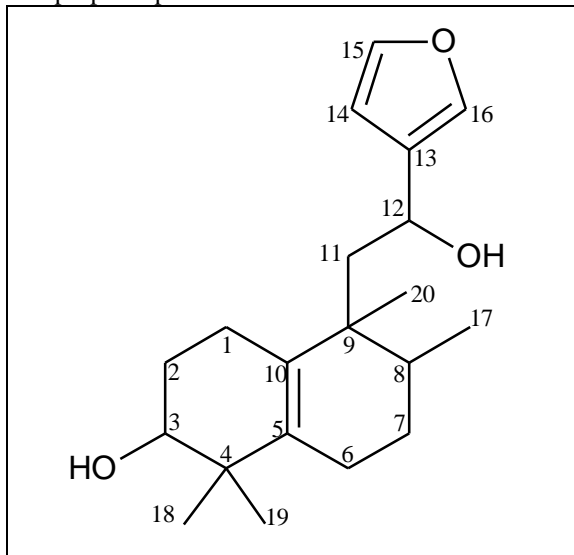
O posicionamento da outra hidroxila no carbono em  $\delta_C$  64,8 (C-12) foi confirmada pelas correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  4,83 (1H-12) com os carbonos em  $\delta_C$  40,6 (C-9), 43,2 (C-11), 108,8 (C-14), 129,7 (C-13) e 139,0 (C-16), e das correlações do hidrogênio metilênico em  $\delta_H$  2,08 (H-11a) com os carbonos em  $\delta_C$  21,9 (C-20), 34,3 (C-8), 40,6 (C-9), 64,8 (C-12), 129,7 (C-13) e 133,6 (C-10). O espectro apresentou também as correlações entre o hidrogênio do anel furânico em  $\delta_H$  6,41 (H-14) com os carbonos em  $\delta_C$  64,8 (C-12), 129,7 (C-13), 139,0 (C-16) e 143,4 (C-15) (fig. 166, p. 192).

**Figura 166** - Correlações relevantes para o posicionamento da hidroxila em C-12

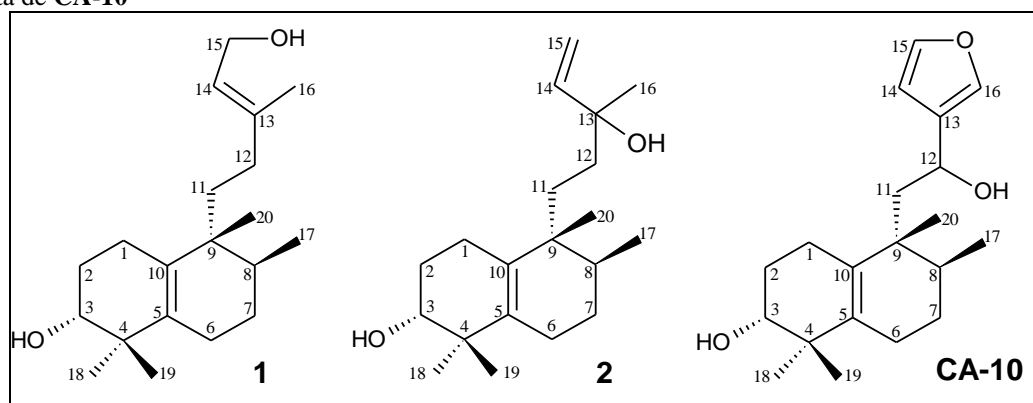


Os dados espectroscópicos analisados possibilitou sugerir que **CA-10** tratava-se de um diterpeno com esqueleto halimano (fig. 167). Desta forma, realizou-se uma pesquisa mais detalhada sobre a estrutura desta classe de diterpenos, comparando a estrutura de **CA-10** com moléculas conhecidas descritos na literatura (GU *et al.*, 2013) (fig. 168, p. 193). Os dados obtidos encontram-se na **Tabela 21** (p. 193).

**Figura 167** - Esqueleto halimano proposto para **CA-10**



**Figura 168** – Estrutura dos diterpenos halimanos 1 e 2 (GU *et al.*, 2013) em comparação com a estrutura proposta de **CA-10**



**Tabela 21** – Comparação entre os valores de deslocamentos químicos de carbonos e hidrogênios entre os diterpenos halimanos 1 e 2 (GU *et al.*, 2013) e a molécula de **CA-10**

C	1*		2*		CA-10**	
	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$\delta_C$ (ppm)	$\delta_H$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )
1	<b>25,3</b>	2,15 e 1,95	<b>25,1</b>	2,06 e 1,99	<b>25,1</b>	2,43 e 2,20
2	<b>28,6</b>	1,71 e 1,59	<b>28,6</b>	1,67 e 1,56	<b>27,7</b>	1,81 e 1,66
3	<b>75,9</b>	3,40 (dd; 7,5 e 4,1)	<b>75,9</b>	3,36	<b>76,3</b>	3,50 (dd; 11,2 e 3,2)
4	<b>40,7</b>		<b>40,6</b>		<b>40,3</b>	-
5	<b>138,0</b>		<b>137,5</b>		<b>137,9</b>	-
6	<b>26,5</b>	2,05 e 2,00	<b>26,6</b>	2,04 e 1,96	<b>26,0</b>	2,06 e 2,01
7	<b>28,1</b>	1,46 e 1,36	<b>28,1</b>	1,43 e 1,34	<b>27,3</b>	1,54 e 1,40
8	<b>34,2</b>	1,63	<b>34,2</b>	1,61	<b>34,3</b>	1,78
9	<b>41,2</b>		<b>40,8</b>		<b>40,6</b>	-
10	<b>132,4</b>		<b>132,7</b>		<b>133,6</b>	-
11	35,2	1,48 e 1,44	30,4	1,42 e 1,39	43,2	2,08 e 1,74
12	34,8	1,92 e 1,63	37,4	1,42 e 1,13	64,8	4,83
13	138,4		72,8		129,7	-
14	125,5	5,33	147,2	5,90, dd	108,8	6,41
15	59,1	4,04	111,1	5,18 e 4,94	143,4	7,38
16	16,3	1,62	28,1	1,20 (s)	139,0	7,36
17	<b>16,4</b>	0,85 (d; 6,9)	<b>16,3</b>	0,82 (d; 7,2)	<b>16,4</b>	0,86 (d; 6,8)
18	<b>25,5</b>	1,04 (s)	<b>25,4</b>	1,01 (s)	<b>25,2</b>	1,06 (s)
19	<b>20,4</b>	0,94 (s)	<b>20,4</b>	0,92 (s)	<b>20,3</b>	0,99 (s)
20	<b>21,3</b>	0,82 (s)	<b>21,6</b>	0,81 (s)	<b>21,9</b>	0,89 (s)

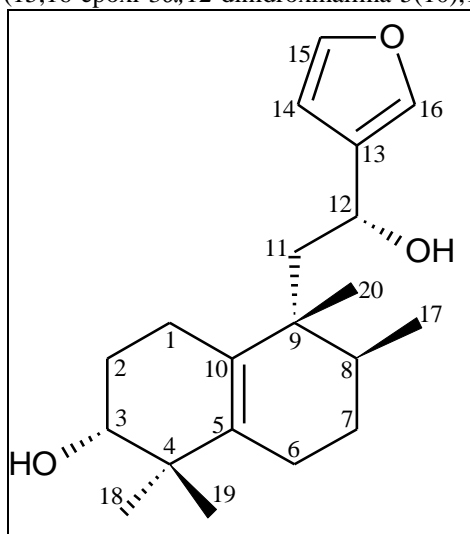
\*  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$     \*\*  $\text{CDCl}_3$

Os valores de deslocamento químico apresentados pelas estruturas 1 e 2 (GU *et al.*, 2013) corroboraram no posicionamento da dupla ligação entre os carbonos C-5 e C-10 e da hidroxila no carbono C-3. O anel furânico e a hidroxila em C-12, além das correlações já discutidas, apresentaram valores de deslocamentos químicos similares aos observados em outros compostos isolados que apresentam estes segmentos em suas estruturas.

Observando a multiplicidade e o valor de constante de acoplamento para o sinal referente ao hidrogênio carbinólico H-3 em  $\delta_H$  3,50 (dd; 11,2 e 3,2; 1H), condizente com acoplamento entre hidrogênios axial-axial e axial-equatorial, foi possível propor a estereoquímica relativa para hidrogênio fixando-o na posição axial e a hidroxila na posição equatorial (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007), respectivamente.

Desta forma, **CA-10** foi caracterizado como o diterpeno halimano 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,12-dihidroxihalima-5(10),13(16),14-trieno (fig. 169), descrito pela primeira vez na literatura.

**Figura 169** - Estrutura de **CA-10** (15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,12-dihidroxihalima-5(10),13(16),14-trieno)



**Tabela 22** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10

C	HSQC		HMBC	
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
1	25,1	2,43 (m; 1H)	1H-2b	1H-3
		2,20 (m; 1H)		
2	27,7	1,81 (m; 1H)	2H-1	
		1,66 (qd; 11,3 e 5,8; 1H)		
3	76,3	3,50 (dd; 11,2 e 3,2; 1H)	1H-2b	3H-18, 3H-19
4	40,3	-	3H-18, 3H-19	1H-2b
5	137,9	-	2H-6	2H-1, 2H-7,
				3H-18, 3H-19
6	26,0	2,06 (m; 1H)	1H-7b	
		2,01 (m; 1H)		
7	27,3	1,54 (m; 1H)	1H-6b, 1H-8	3H-17
		1,40 (m; 1H)		
8	34,3	1,78 (m; 1H)	2H-7, 3H-17	2H-11, 3H-20
9	40,6	-	2H-11, 3H-20	2H-7, 1H-12, 3H-17
10	133,6	-	2H-1	2H-6, 2H-11, 3H-20
11	43,2	2,08 (m; 1H)	1H-12	3H-20
		1,74 (dd; 15,0 e 4,2; 1H)		
12	64,8	4,83 (dd; 9,0 e 4,2; 1H)	2H-11	1H-14
13	129,7	-	1H-12, 1H-14, 1H-16	2H-11, 1H-15
14	108,8	6,41 (sl; 1H)		1H-12
15	143,4	7,38 (sl; 1H)	1H-14	1H-12, 1H-16
16	139,0	7,36 (sl; 1H)		1H-14, 1H-15
17	16,4	0,86 (d; 6,8; 3H)	1H-8	
18	25,2	1,06 (s; 3H)		1H-3, 3H-19
19	20,3	0,99 (s; 3H)		1H-3, 3H-18
20	21,9	0,89 (s; 3H)		2H-11

Figura 170 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10

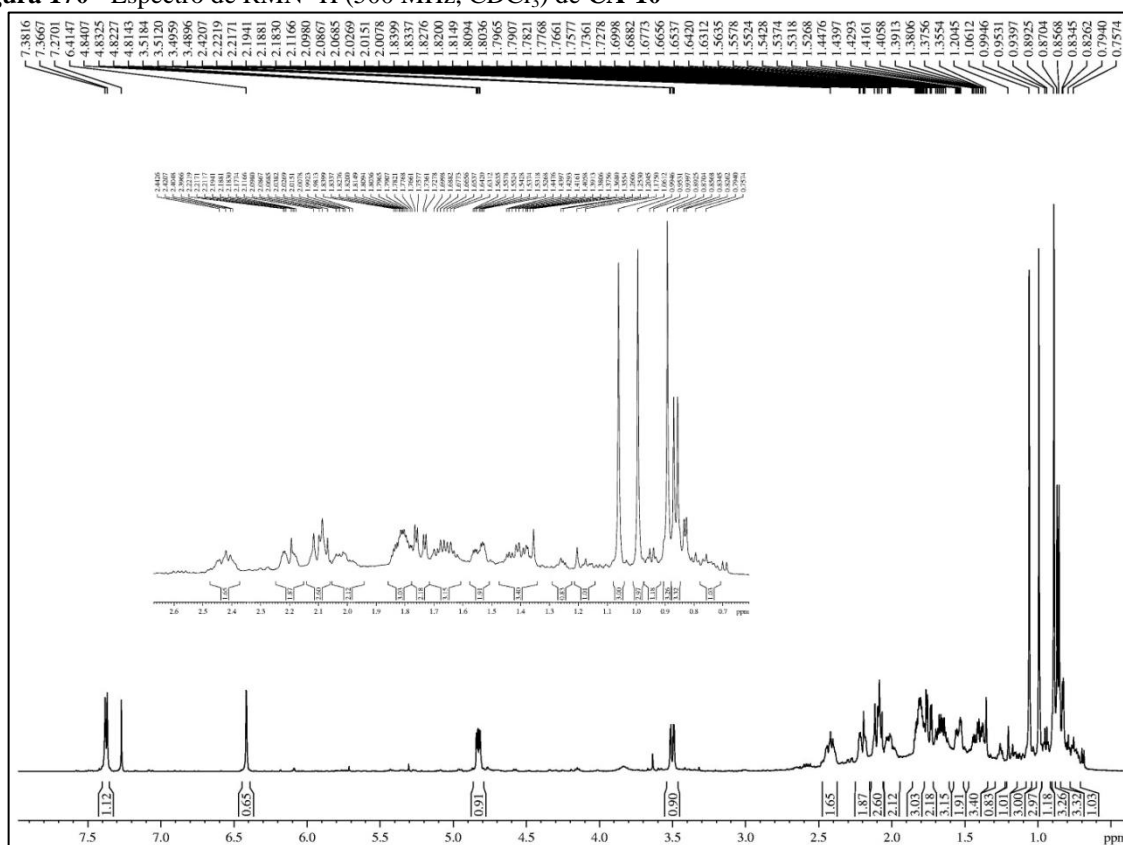
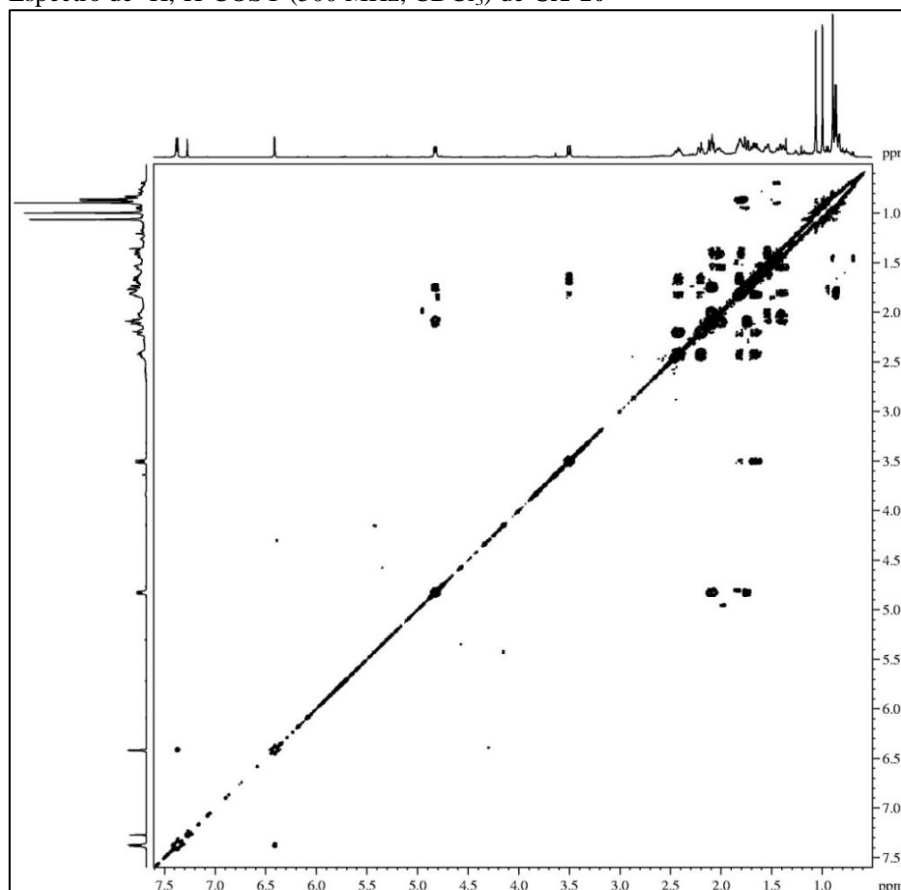
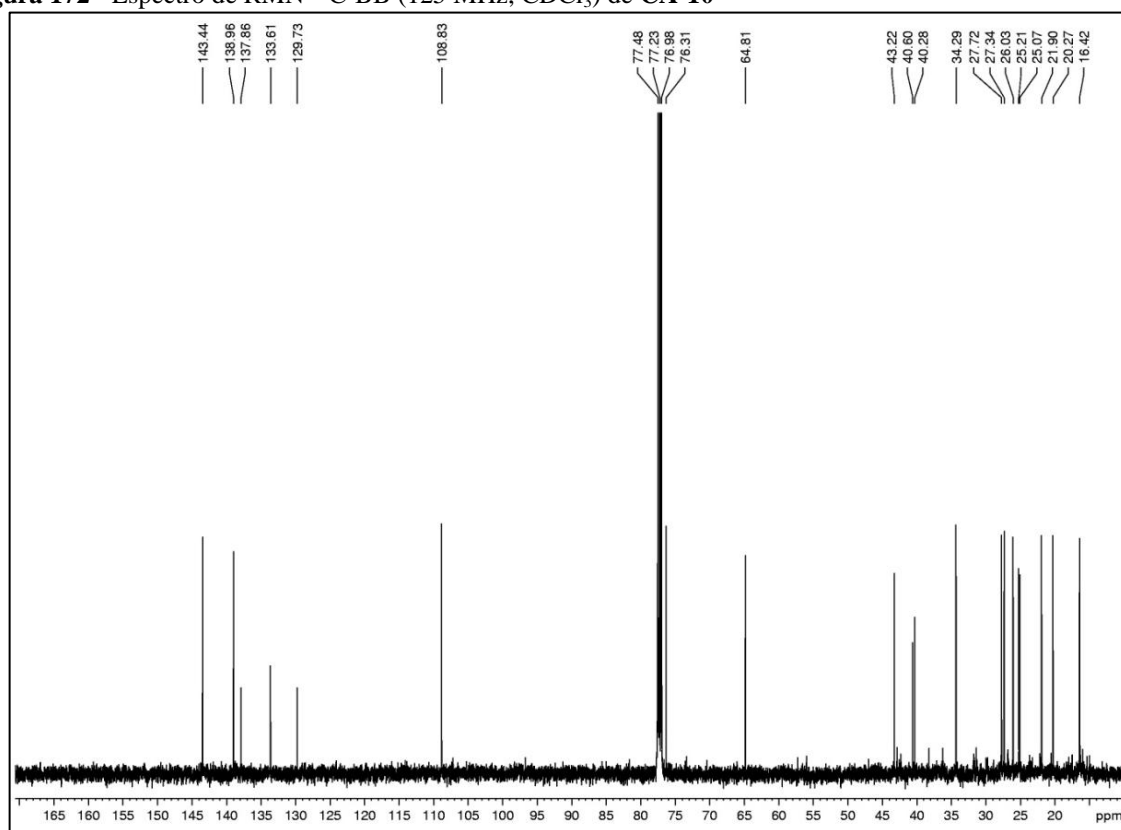
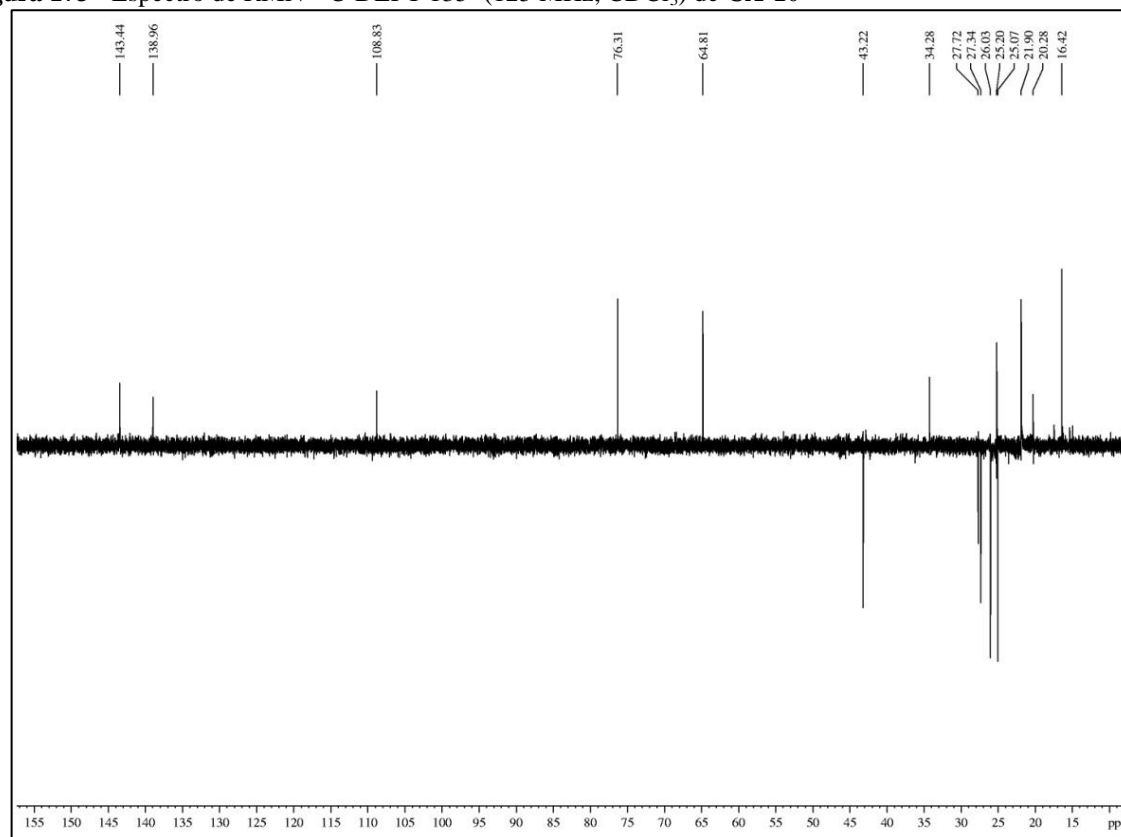
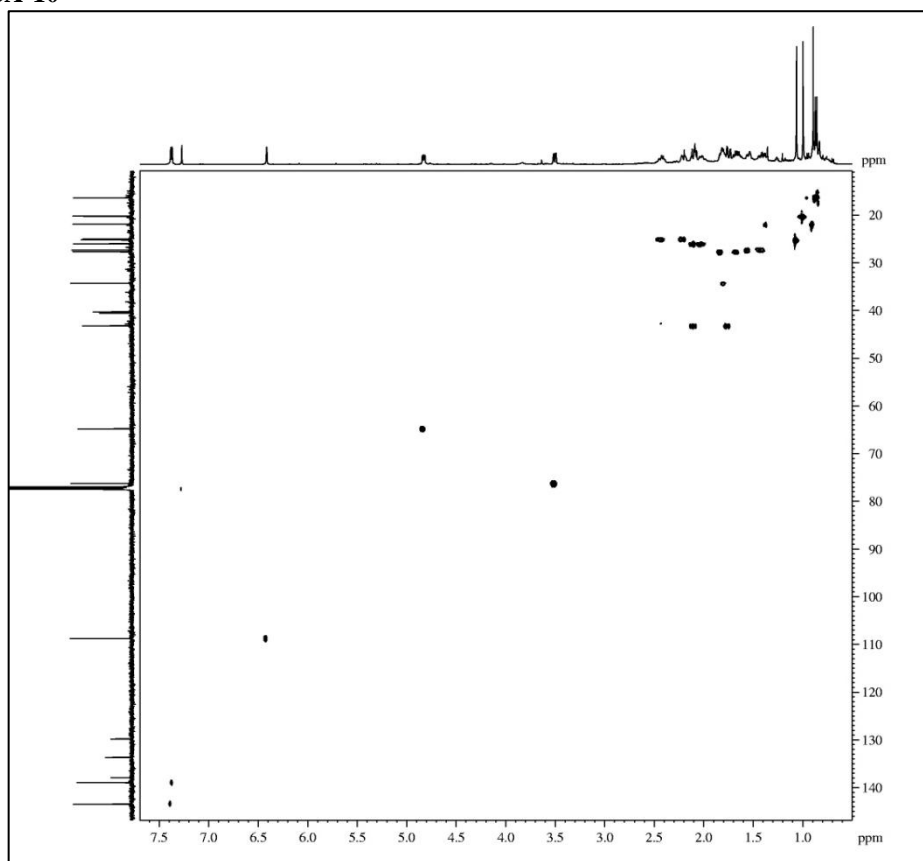


Figura 171 – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10

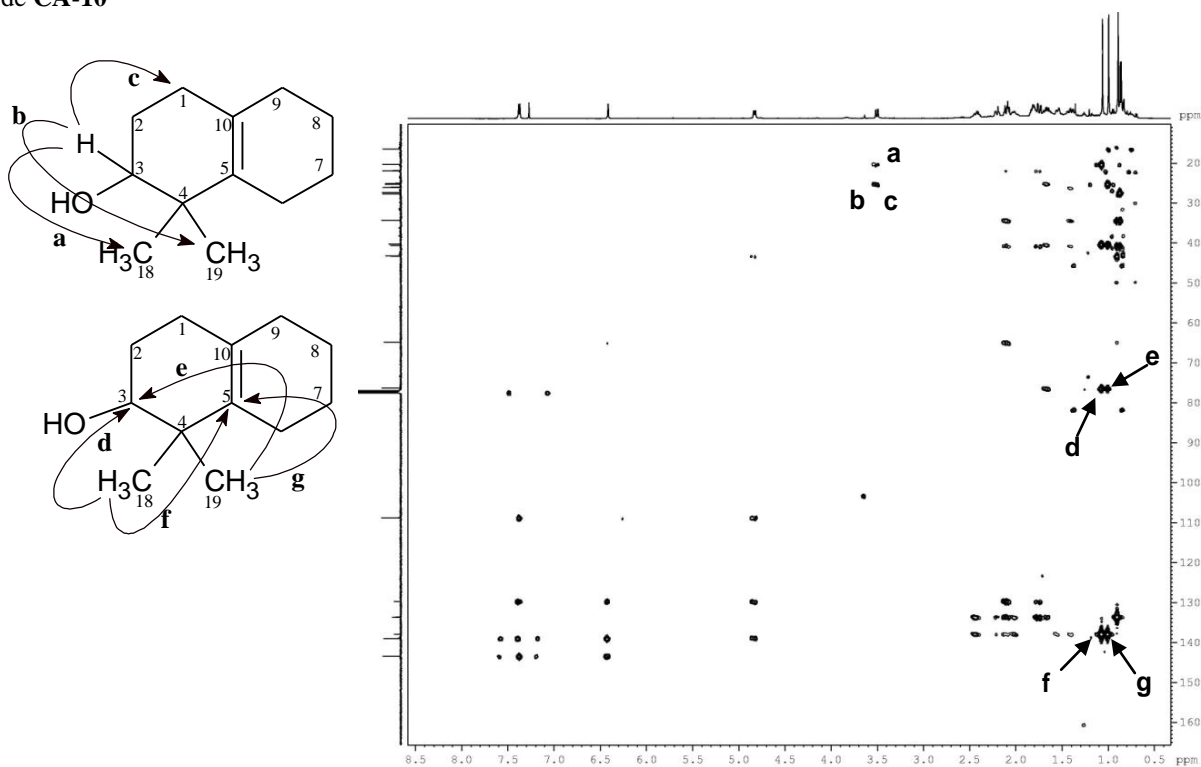


**Figura 172** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10**Figura 173** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10

**Figura 174** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10

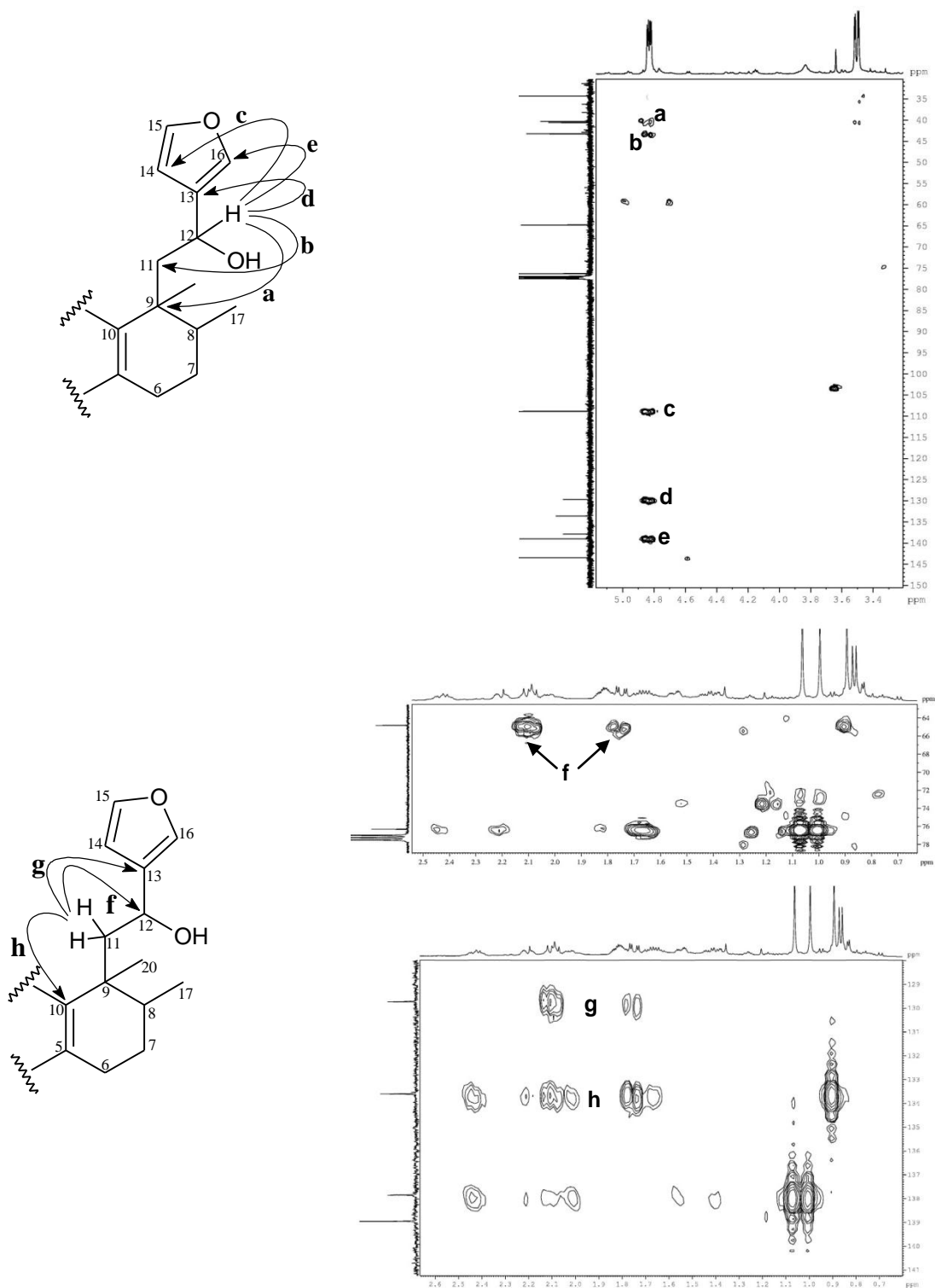


**Figura 175** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-10





**Figura 176** - Expansões do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-10**



#### 4.11 Determinação Estrutural de CA-11

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila, proveniente do extrato etanólico das raízes de *Croton limae* (CLRE) (item 5.5.4, p. 260), forneceu um composto na forma de um sólido amarelo, com p. f. = 176,4 – 178,2 °C, que foi denominado CA-11 (item 5.5.4.1, p. 260).

O espectro de absorção na região do infravermelho de CA-11 (fig. 180, p. 203) apresentou uma banda larga em 3360 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação O-H. Além disso, mostrou também uma banda em 1650 cm<sup>-1</sup> relacionada a presença de carbonila conjugada, e uma absorção em 1607 cm<sup>-1</sup> de deformação axial de ligação C=C.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-11 (fig. 181, p. 203) apresentou um par de dupletos centrados em δ<sub>H</sub> 6,89 (2H; d, *J* = 8,8 Hz) e 8,05 (2H; d, *J* = 8,8 Hz), indicando a presença de um anel aromático com padrão de substituição *para*, bem como um par de sinais em δ<sub>H</sub> 6,20 (1H; sl) e 6,39 (1H; sl), com deslocamentos característicos de hidrogênios flavonoídicos *meta* posicionados (anel A). Foi observado um sinal em δ<sub>H</sub> 5,23 (1H; d, *J* = 7,3 Hz) e uma série de sinais na faixa entre δ<sub>H</sub> 3,0 - 4,0 indicando a presença de uma unidade β-glicosídica na molécula (AGRAWAL, 1989).

A análise do espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-11 (fig. 182, p. 204) mostrou a presença de 19 linhas espectrais sendo que os sinais em δ<sub>C</sub> 116,3 (C-3' e C-5') e 132,4 (C-2' e C-6'), pelas suas intensidades, foram associados carbonos magneticamente equivalentes. A presença dos sinais com deslocamento químico em δ<sub>C</sub> 104,3 (C-1''), 78,6 (C-5''), 78,2 (C-3''), 75,9 (C-2''), 71,5 (C-4'') e 62,8 (C-6''), confirmaram a presença de uma unidade β-glicopiranosídica (AGRAWAL, 1989).

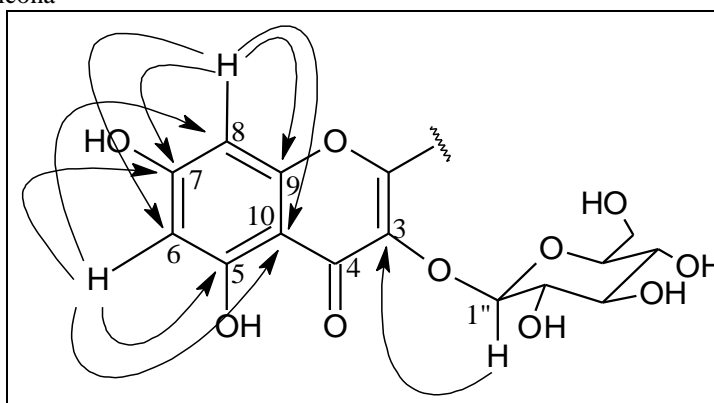
A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° de CA-11 (fig. 183, p. 204), permitiu correlacionar os carbonos com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como um carbono metilênico, 11 carbonos metínicos e 9 carbonos não-hidrogenados.

A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) a uma ligação (HSQC) de CA-11 (fig. 184, p. 205) permitiu assinalar de forma inequívoca cada absorção de carbono com seu respectivo hidrogênio, de acordo com a Tabela 23 (p. 202).

Após a união destes dados, aliados ao número de carbonos insaturados presentes na estrutura do composto, pôde-se concluir que CA-11 tratava-se de um composto de esqueleto flavonoídico glicosilado.

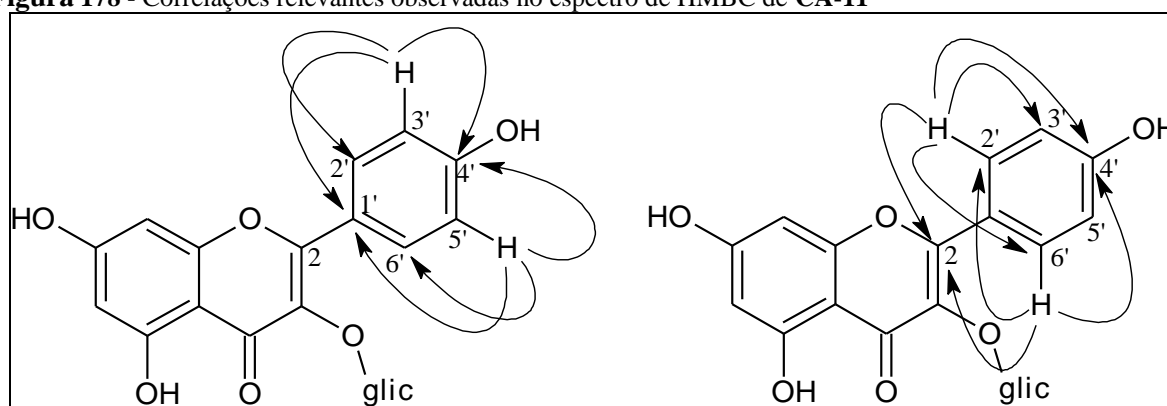
No espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 185, p. 205), observou-se a correlação do hidrogênio anomérico em  $\delta_{\text{H}}$  5,23 (H-1'') com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  135,6 (C-3) da aglicona. Na análise deste espectro foi possível ainda visualizar as correlações do sinal em  $\delta_{\text{H}}$  6,20 (H-6) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  95,1 (C-8), 105,7 (C-10), 163,2 (C-5) e 166,8 (C-7), e do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,39 (H-8) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  100,3 (C-6), 105,7 (C-10), 158,7 (C-9) e 166,8 (C-7), que permitiram associar as posições 6 e 8 no anel **A** para estes hidrogênios, respectivamente (fig. 177).

**Figura 177** - Correlações relevantes para o posicionamento dos hidrogênios no anel **A** e da unidade de glicose no carbono C-3 da aglicona

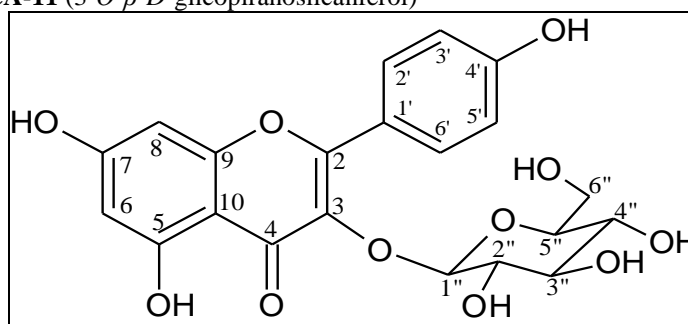


O padrão de hidrogenação do anel **B** foi determinado pelas correlações dos hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  6,89 (H-3' e H-5') com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  132,4 (C-2' e C-6'), 123,0 (C-1') e 161,7 (C-4') e do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  8,05 (H-2' e H-6') com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  116,3 (C-3' e C-5'), 159,2 (C-2) e 161,7 (C-4') (fig. 178).

**Figura 178** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-11**

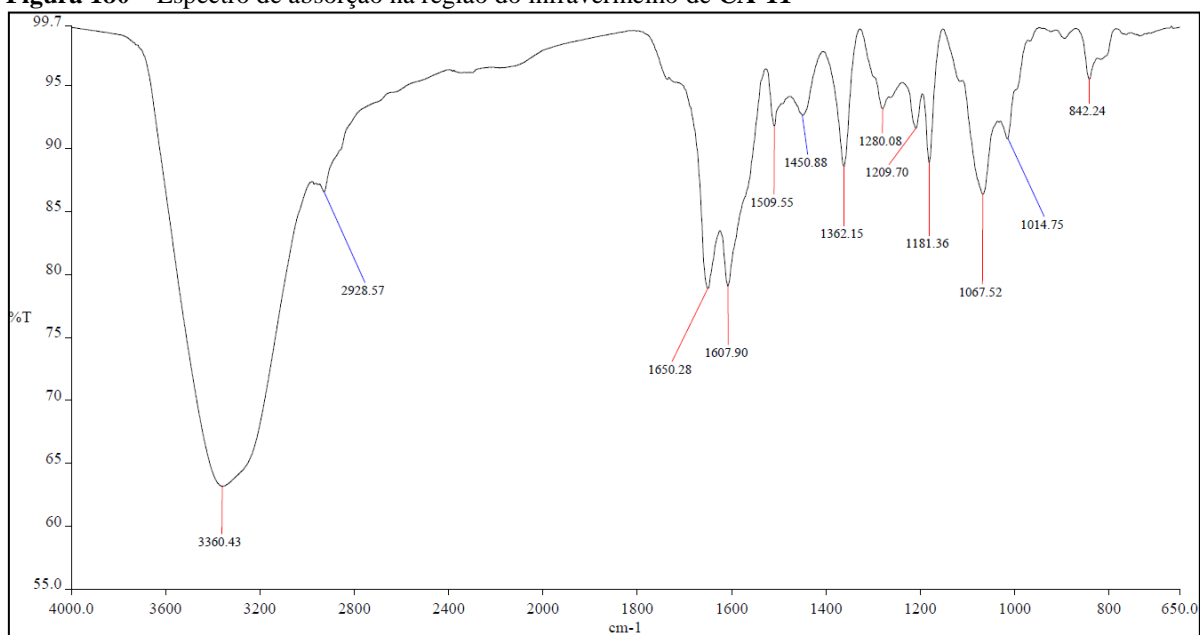
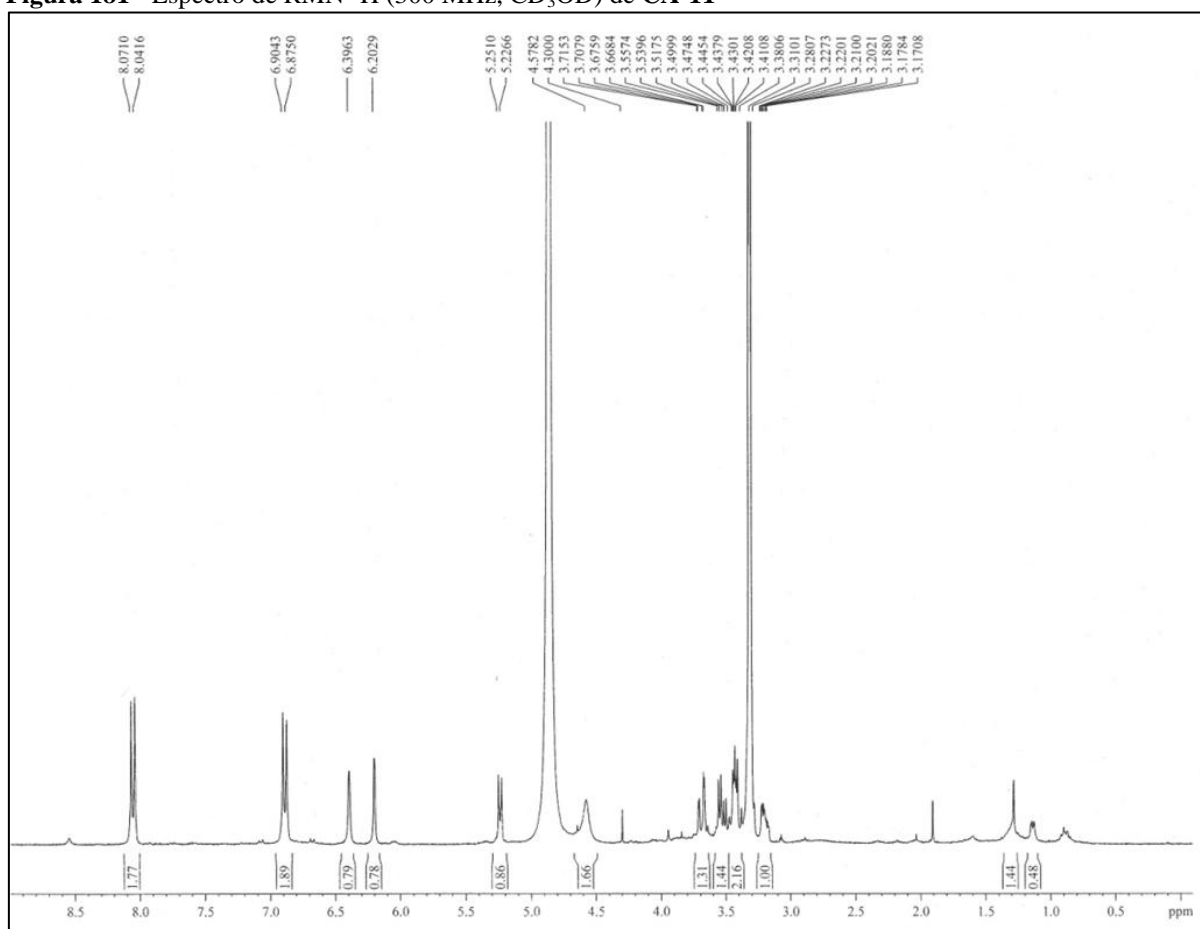


A análise dos dados espectrais e a comparação com dados obtidos da literatura (DEMIREZER *et al.*, 2006), permitiram identificar **CA-11** como sendo o 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosilcanferol (fig. 179, p. 202), um composto bastante recorrente em espécies vegetais.

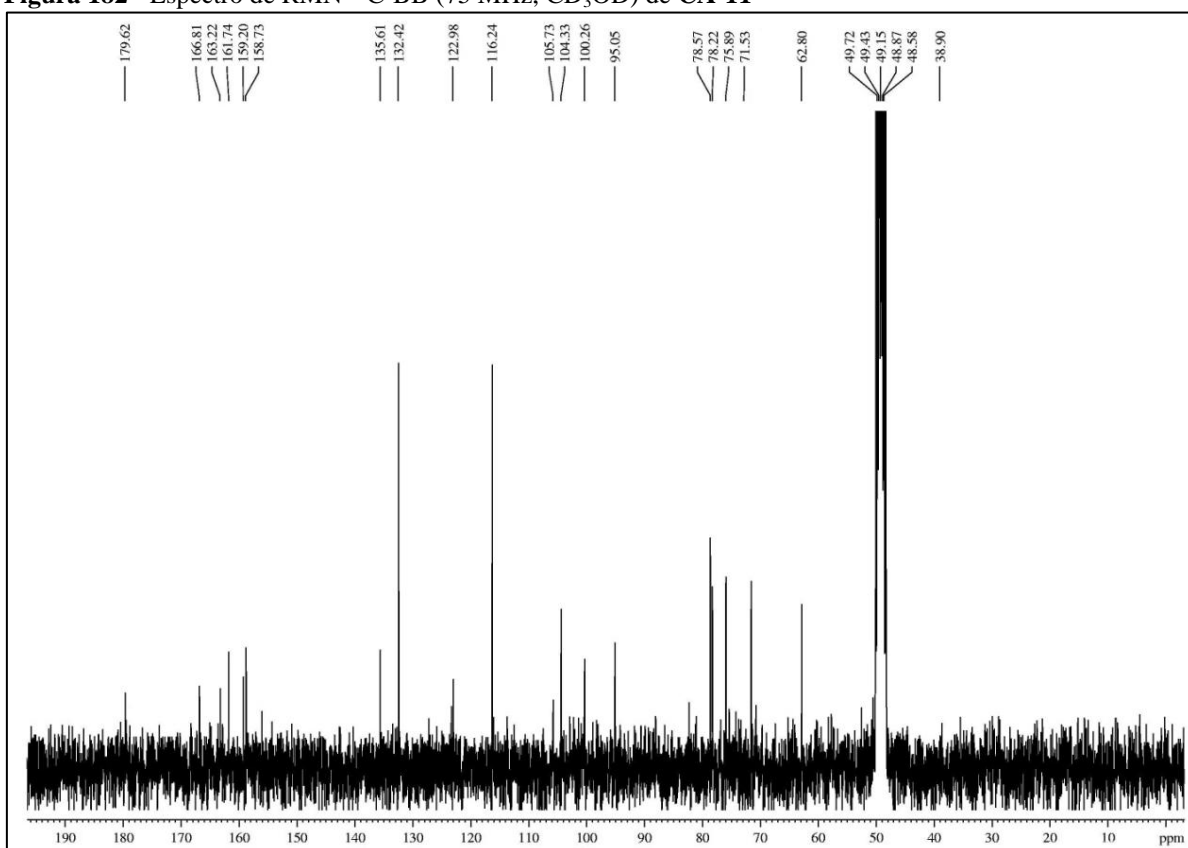
**Figura 179** - Estrutura de **CA-11** (3-*O*- $\beta$ -*D*-glicopiranosilcanferol)**Tabela 23** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC de **CA-11** (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura (DEMIREZER *et al.*, 2006)

C	HSQC		HMBC		DEMIREZER <i>et al.</i> , 2006
	$\delta_{\text{C}}(\text{ppm})$	$\delta_{\text{H}}(\text{ppm}; J = \text{Hz})$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
2	159,2	-		H-2'; H-6'	158,6
3	135,6	-		H-1''	135,4
4	179,6	-			179,4
5	163,2	-	H-6		163,0
6	100,3	6,20 (sl; 1H)		H-8	100,3
7	166,8	-	H-6; H-8		167,3
8	95,1	6,39 (sl; 1H)		H-6	95,1
9	158,7	-	H-8		158,9
10	105,7	-		H-6; H-8	105,4
1'	123,0	-		H-3'; H-5'	122,8
2'	132,4	8,05 (d; 8,8)		H-6'	132,3
3'	116,3	6,89 (d; 8,8)		H-5'	116,1
4'	161,7	-	H-3'; H-5'	H-2'; H-6'	161,1
5'	116,3	6,89 (d; 8,8)	H-6'	H-3'	116,1
6'	132,4	8,05 (d; 8,8)		H-2'	132,3
1''	104,3	5,23 (d; 7,3; 1H)	H-2''		104,2
2''	75,9	3,44 (m)	H-3''		75,7
3''	78,2	3,42 (m)	H-2''; H-4''		78,1
4''	71,5	3,30 (m)	H-3''	H-6a''	71,3
5''	78,6	3,20 (m)	H-6b''		78,4
6''	62,8	3,69 (dd; 11,9 e 2,2; 1H) 3,52 (dd; 11,9 e 5,3; 1H)			62,6

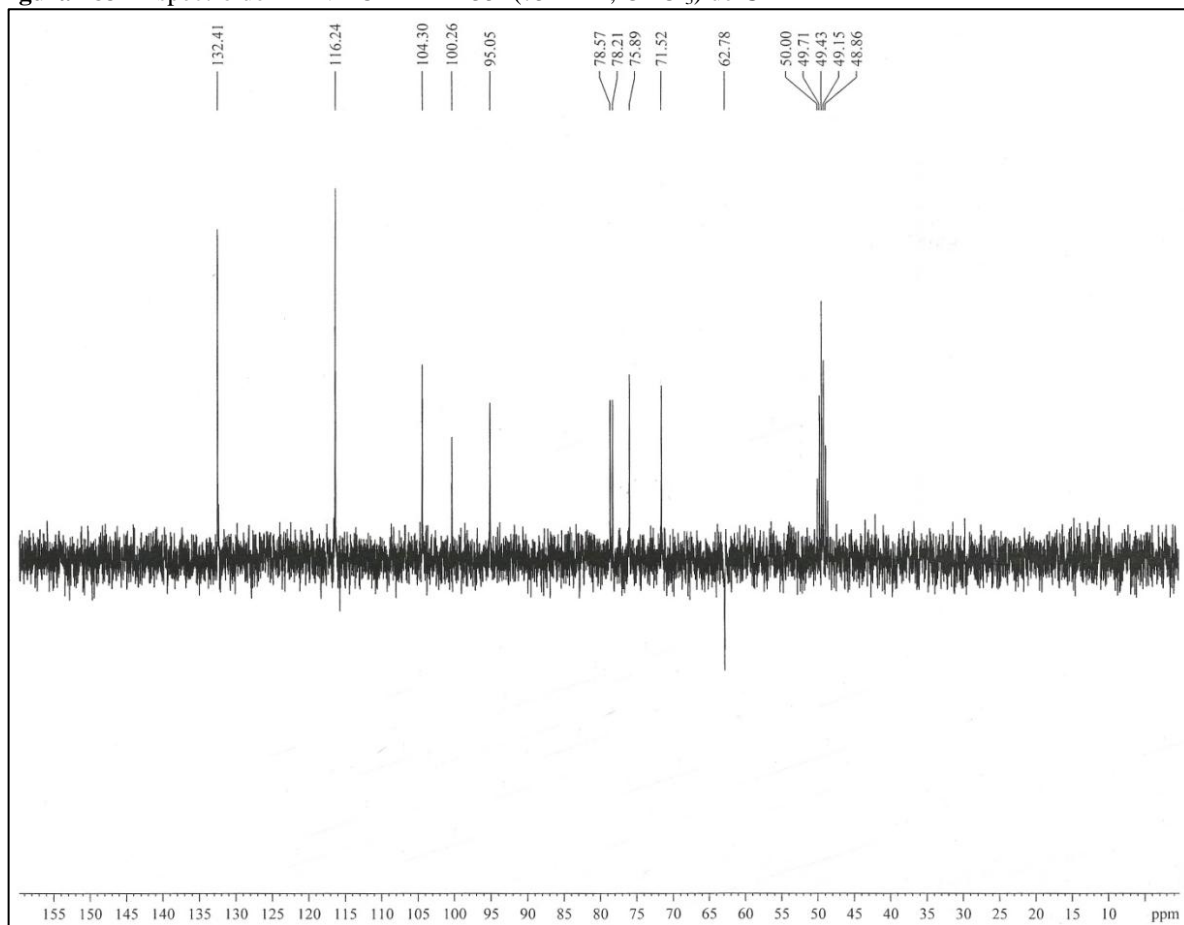
\* (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

**Figura 180** – Espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-11****Figura 181** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-11**

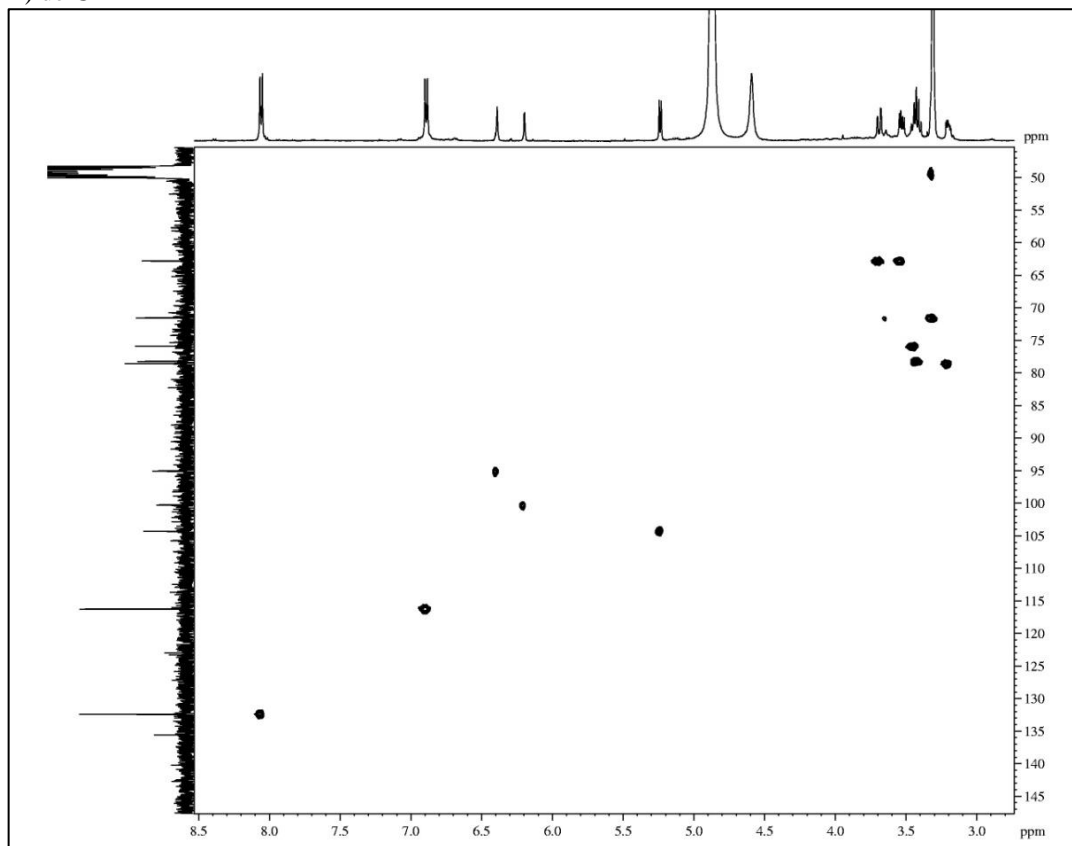
**Figura 182** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-11



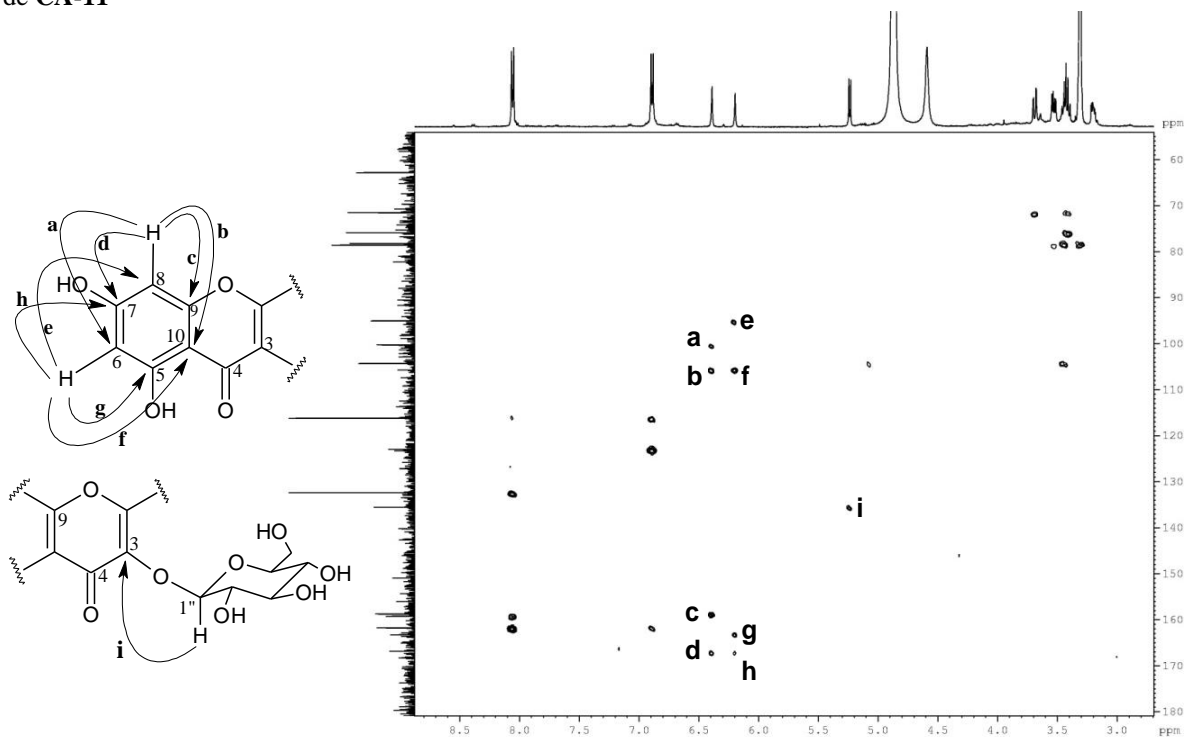
**Figura 183** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-11



**Figura 184** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-11



**Figura 185** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-11



#### 4.12 Determinação Estrutural de CA-12

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila, proveniente do extrato etanólico das raízes de *Croton limae* (CLRE) (item 5.5.4, p. 260), forneceu um composto na forma de um sólido amarelo, com p. f. = 212,6 – 214,2 °C, que foi denominado **CA-12** (item 5.5.4.1, p. 260).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-12** (fig. 190, p. 210) apresentou uma banda larga em 3378 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação O-H, além de uma banda em 1649 cm<sup>-1</sup> relacionada a presença de carbonila e outra em 1579 cm<sup>-1</sup> correspondente a deformação axial de ligação C=C.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de **CA-12** (fig. 191, p. 210) apresentou sinais característicos de hidrogênios ligados a carbonos aromáticos na região δ<sub>H</sub> 6,5 - 8,50, além de sinais intensos em δ<sub>H</sub> 3,73 (s, 3H) e 3,84 (s, 3H) de hidrogênios de grupos metoxila, e um sinal em região de desproteção em δ<sub>H</sub> 13,05 (sl, 1H) evidenciando a presença de hidrogênio de hidroxila quelada. A presença de sinais com deslocamento químico na região de δ<sub>H</sub> 4,0 - 4,6, o duplete em δ<sub>H</sub> 6,18 (1H; d; J = 7,3 Hz) e o simpleto em δ<sub>H</sub> 5,34 (1H; s), atribuídos aos hidrogênios anoméricos H-1'' e H-1''', respectivamente, que juntamente com o sinal do grupo metila em δ<sub>H</sub> 1,48 (3H; d; J = 5,7 Hz) indicaram a existência de duas unidades osídicas na molécula.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (75 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de **CA-12** (fig. 192, p. 211) apresentou 27 linhas espectrais que, ao ser comparado com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (75 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) (fig. 193, p. 211), revelou a presença de 8 carbonos não-hidrogenados (C), 15 carbonos metínicos (CH), 1 carbono metilênico (CH<sub>2</sub>) e 3 carbonos metílicos (CH<sub>3</sub>). Neste espectro foram observados um sinal em δ<sub>C</sub> 179,2 (C-4), associado a carbono carbonílico de cetona conjugada, 6 sinais na faixa de δ<sub>C</sub> 148 – 167, referentes a carbonos sp<sup>2</sup> oxigenados, além de 2 sinais referentes a carbonos de grupos metoxilas em δ<sub>C</sub> 56,1 e 56,3.

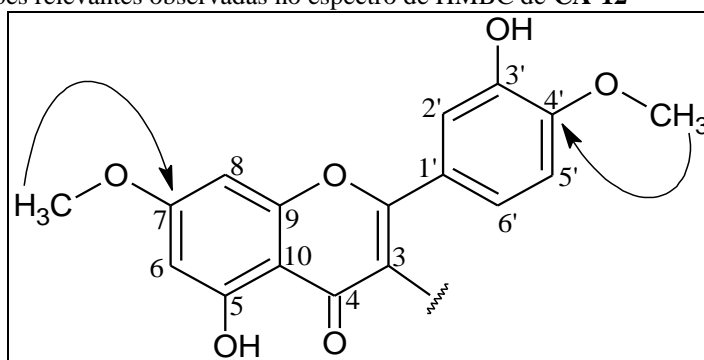
O diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) a uma ligação (HSQC) de **CA-12** (fig. 194, p. 212) permitiu correlacionar todos os carbonos com os seus respectivos hidrogênios (tab. 24, p. 209). Assim como **CA-5** e **CA-11**, os dados de **CA-12** foram compatíveis com um esqueleto flavonoídico, na forma de heterosídeo, contendo duas unidades de açúcar.



Com base nesses dados, realizou-se uma análise mais detalhada a cerca da estrutura de **CA-12** através de seu espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 195 e 196, p. 212 e 213).

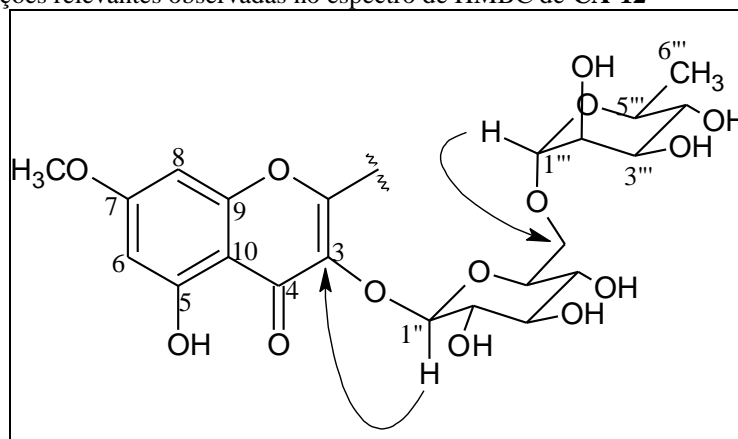
Através desta análise pôde-se propor a posição das duas metoxilas na estrutura da flavona. Uma posicionada no carbono em  $\delta_{\text{C}}$  166,3 (C-7), através da correlação com o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,73, e a outra no carbono em  $\delta_{\text{C}}$  151,6 (C-4') devido a correlação com o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,84 (fig. 186). Os valores de deslocamento químico apresentados por estes carbonos também estão condizentes quando estes se encontram metoxilados (AGRAWAL, 1989).

**Figura 186** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-12**



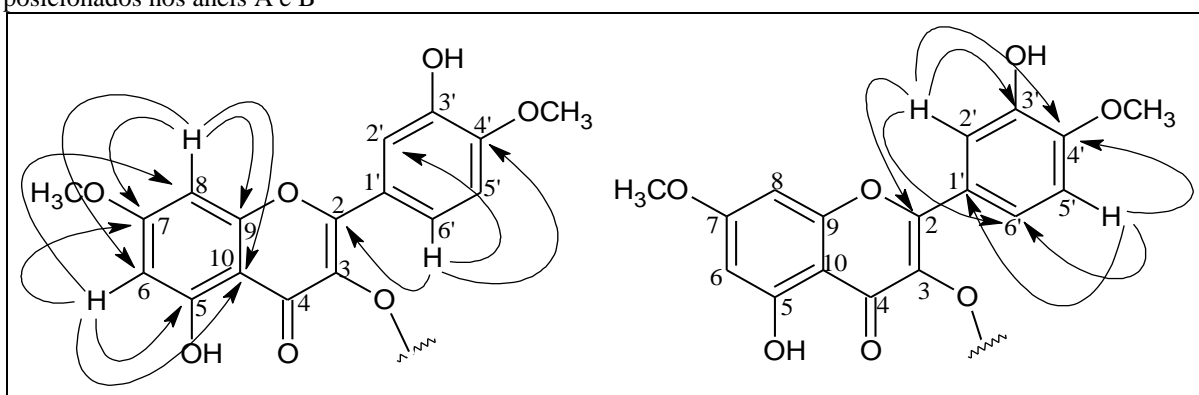
A posição da porção osídica no esqueleto flavonoídico foi determinada através da correlação entre o hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  6,18 (H-1'') com o sinal de carbono em  $\delta_{\text{C}}$  135,0 (C-3), localizado sob um dos sinais do solvente utilizado, enquanto a conexão entre as unidades de açúcar foi visualizada com a correlação do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  5,34 (H-1''') com o carbono em  $\delta_{\text{C}}$  68,7 (C-6'') (fig. 187). As demais correlações observadas encontram-se na **Tabela 24** (p. 209).

**Figura 187** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-12**



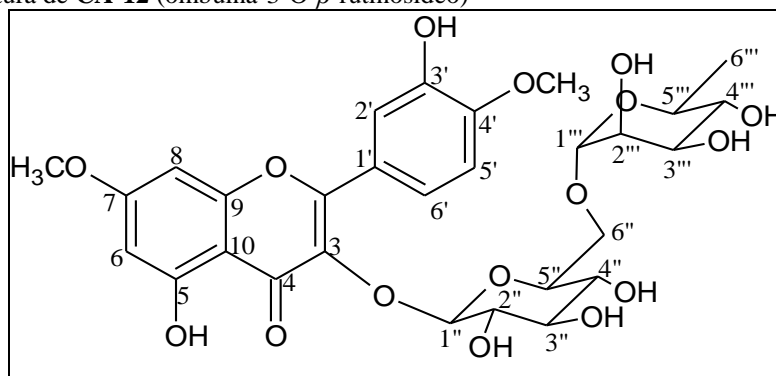
O padrão de hidrogenação do anel **A** foi confirmado pelas correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  6,56 (H-6) com os carbonos em  $\delta_C$  92,8 (C-8), 106,6 (C-10), 162,6 (C-5) e 166,3 (C-7) e do hidrogênio em  $\delta_H$  6,51 (H-8) com os carbonos em  $\delta_C$  98,9 (C-6), 106,7 (C-10), 157,7 (C-9) e 166,3 (C-7). Para o anel **B**, foram observadas correlações entre o hidrogênio em  $\delta_H$  8,24 (H-2') com os carbonos em  $\delta_C$  122,9 (C-6'), 148,1 (C-3'), 151,6 (C-4') e 158,5 (C-2), e do hidrogênio em  $\delta_H$  7,20 (H-5') com os carbonos em  $\delta_C$  151,6 (C-4'), 124,5 (C-1') e 148,1 (C-3'), além das correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  8,27 (H-6') com os carbonos em  $\delta_C$  117,7 (C-2'), 151,6 (C-4') e 158,5 (C-2), conforme a **Figura 188**.

**Figura 188** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-12** para os hidrogênios posicionados nos anéis A e B



Os dados discutidos anteriormente, bem como a comparação com os dados de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  de **CA-12** com os descritos na literatura (MITROCOTSA *et al.*, 1999) (tab. 24, p. 209) permitiram identificar **CA-12** como sendo o flavonoide 7,4'-dimetilquercetin-3-O- $\beta$ -rutinosídeo (fig. 189), também conhecida como ombuina-3-O- $\beta$ -rutinosídeo, que está sendo descrito pela primeira vez no gênero *Croton*.

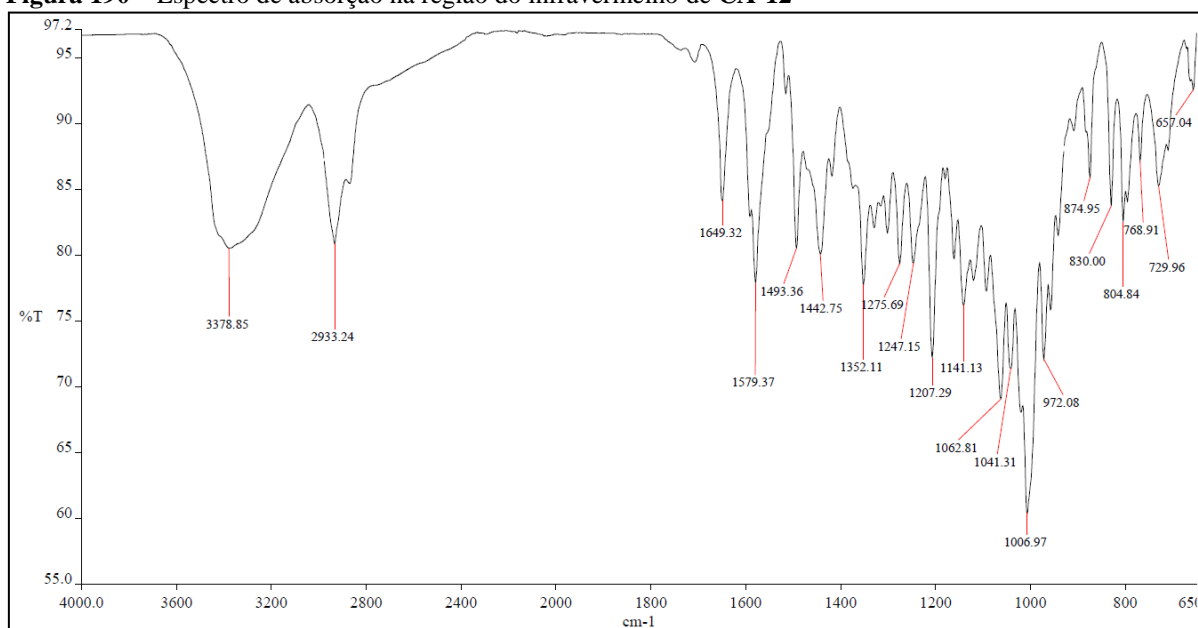
**Figura 189** - Estrutura de **CA-12** (ombuina-3-O- $\beta$ -rutinosídeo)



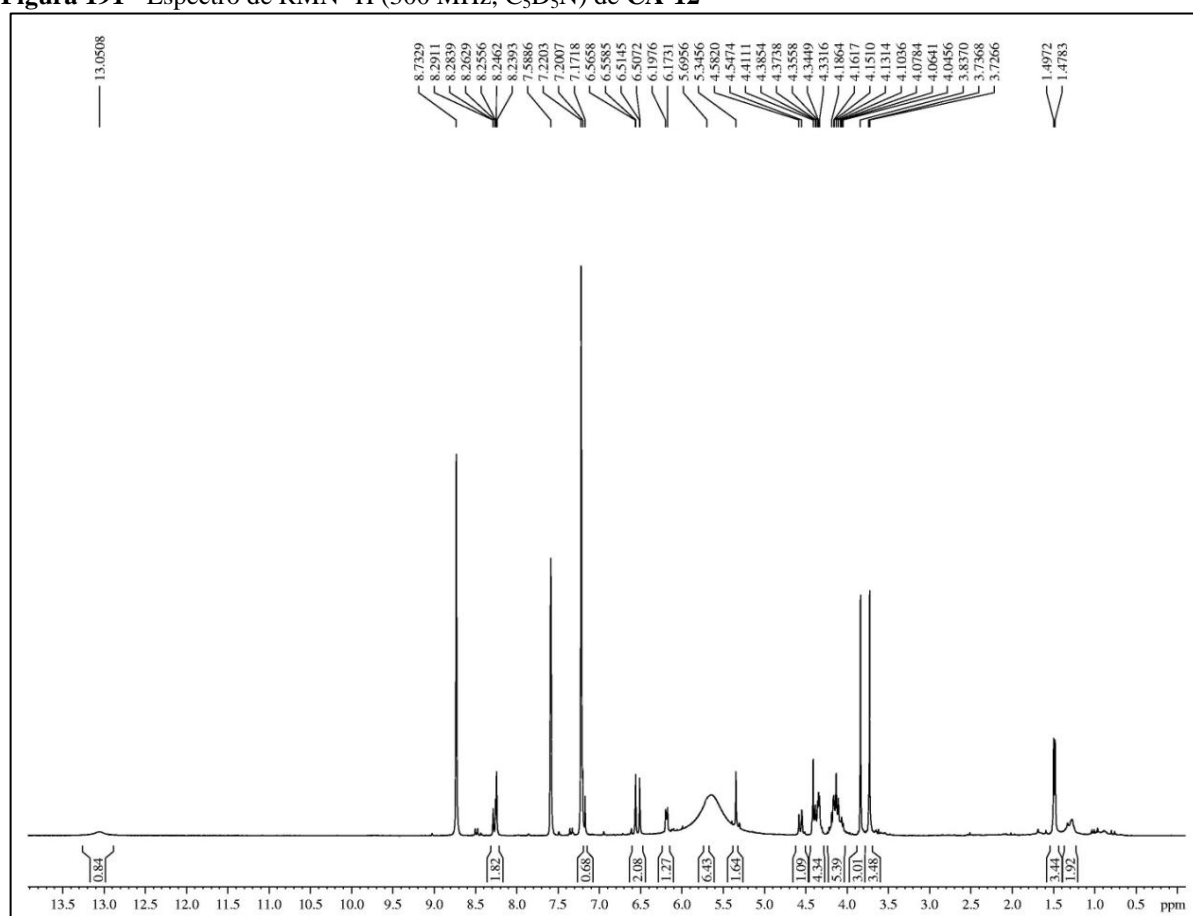
**Tabela 24** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de CA-12 e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  da literatura para a ombuina-3-*O*- $\beta$ -rutinosídeo

C	HSQC		HMBC		MITROCOTSA <i>et al.</i> , 1999 (DMSO)
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
2	158,5	-		H-2'; H-6'	157,6
3	135,0	-		H-1''	134,7
4	179,2	-			178,6
5	162,6	-	H-6		161,7
6	98,9	6,56 (d; 2,2; 1H)		H-8	98,8
7	166,3	-	H-6; H-8	7-OMe	166,0
8	92,8	6,51 (d; 2,2; 1H)		H-6	93,1
9	157,7	-	H-8		157,6
10	106,7	-		H-6; H-8	105,9
1'	124,5	-		H-5'	123,3
2'	117,7	8,24 (m; 1H)		H-6'	116,6
3'	148,1	-	H-2'	H-5'	146,7
4'	151,6	-	H-5'	H-2'; H-6', 4'-OMe	151,0
5'	112,1	7,20 (m; 1H)			112,2
6'	122,9	8,27 (dd; 8,5 e 2,2; 1H)		H-2'	122,4
1''	104,4	6,18 (d; 7,3; 1H)			102,0
2''	76,4	4,33 (m; 1H)			74,9
3''	77,9	4,08 (m; 1H)		H-1''	77,2
4''	71,7	4,07 (m; 1H)			70,7
5''	78,9	4,35 (m; 1H)		H-1''	76,7
6''	68,7	4,54 (d; 10,4; 1H) 4,04 (m; 1H)		H-1'''	67,7
1'''	102,9	5,34 (s; 1H)			101,7
2'''	72,5	4,39 (m; 1H)			71,2
3'''	73,0	4,37 (m; 1H)		H-1'''	71,4
4'''	74,3	4,12 (m; 1H)		2H-6'''	72,6
5'''	70,0	4,15 (m; 1H)	2H-6'''	H-1'''	69,1
6'''	18,8	1,48 (d; 5,7; 3H)			18,6
OCH <sub>3</sub>	56,2	3,84 (s; 3H)			56,5
OCH <sub>3</sub>	56,3	3,73 (s; 3H)			56,9

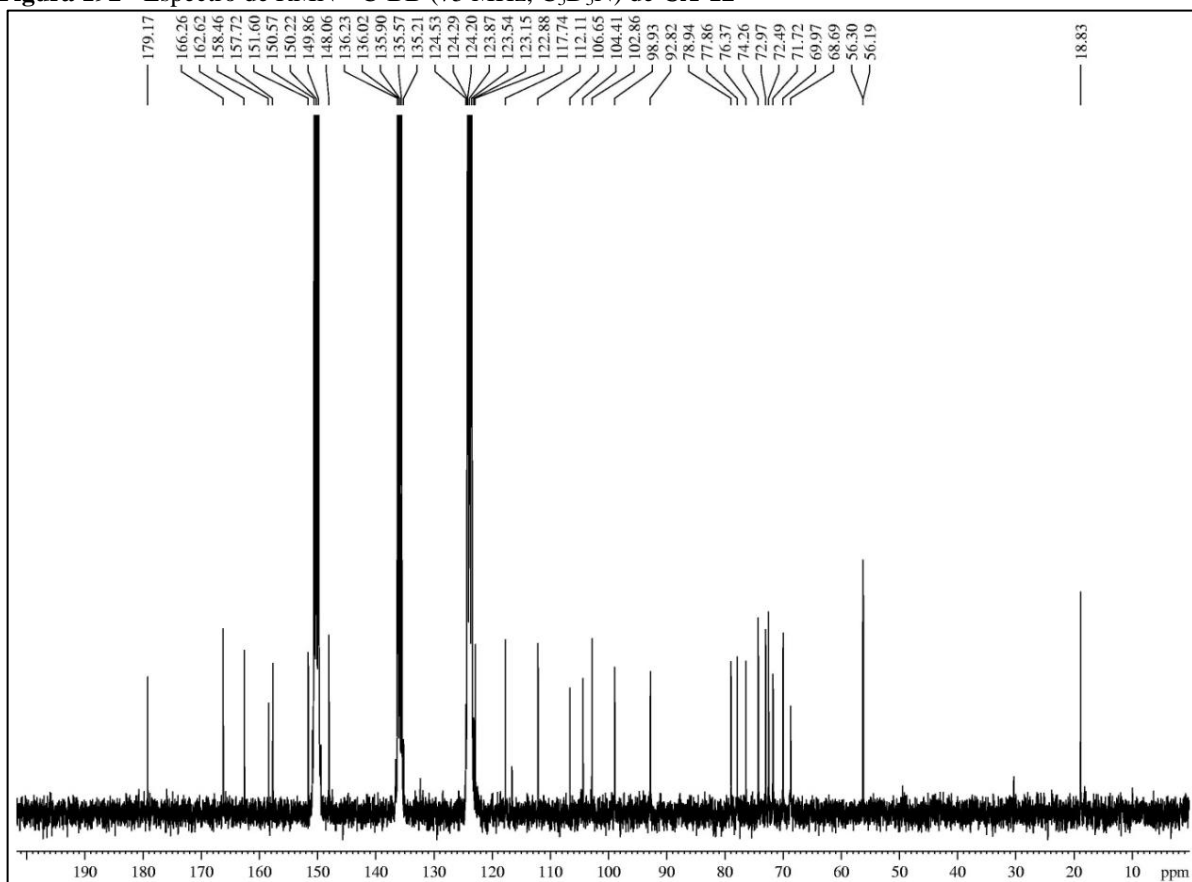
**Figura 190** – Espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-12**



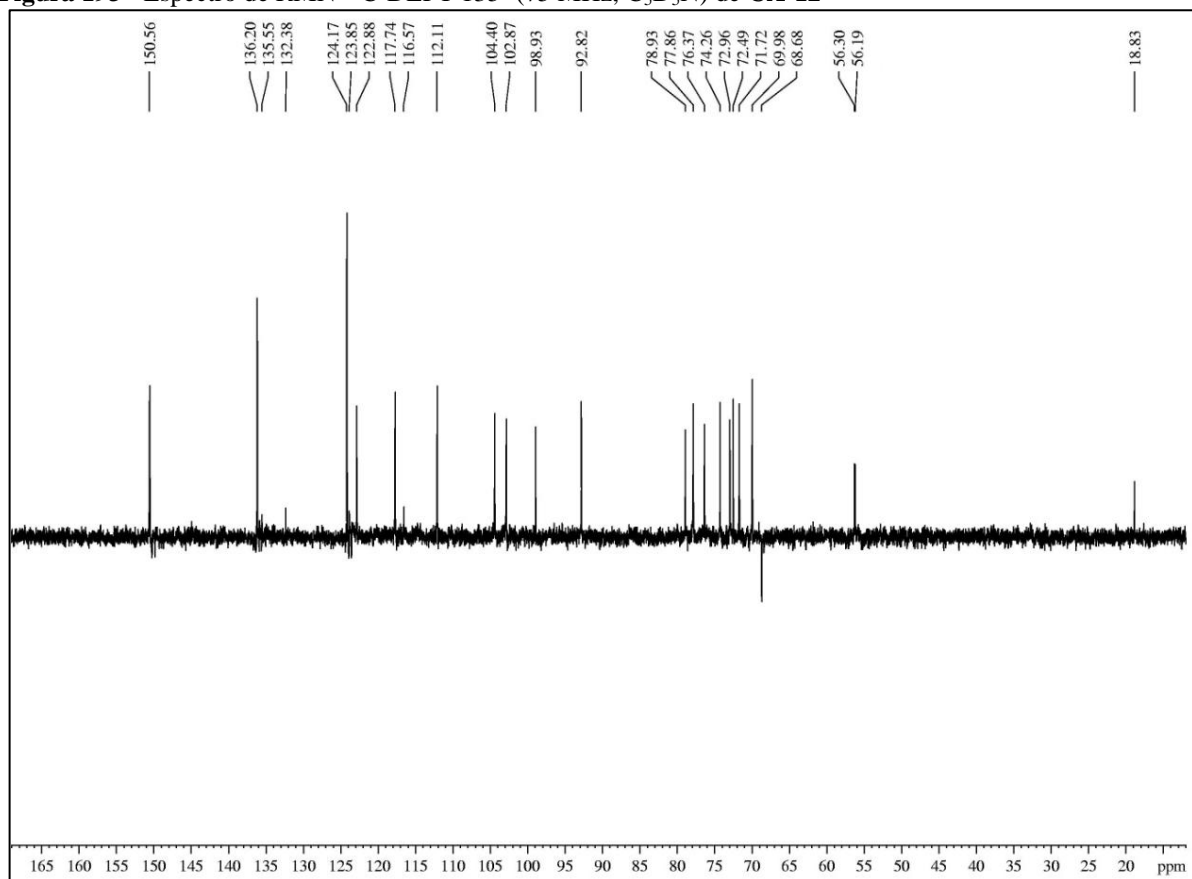
**Figura 191** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) de **CA-12**



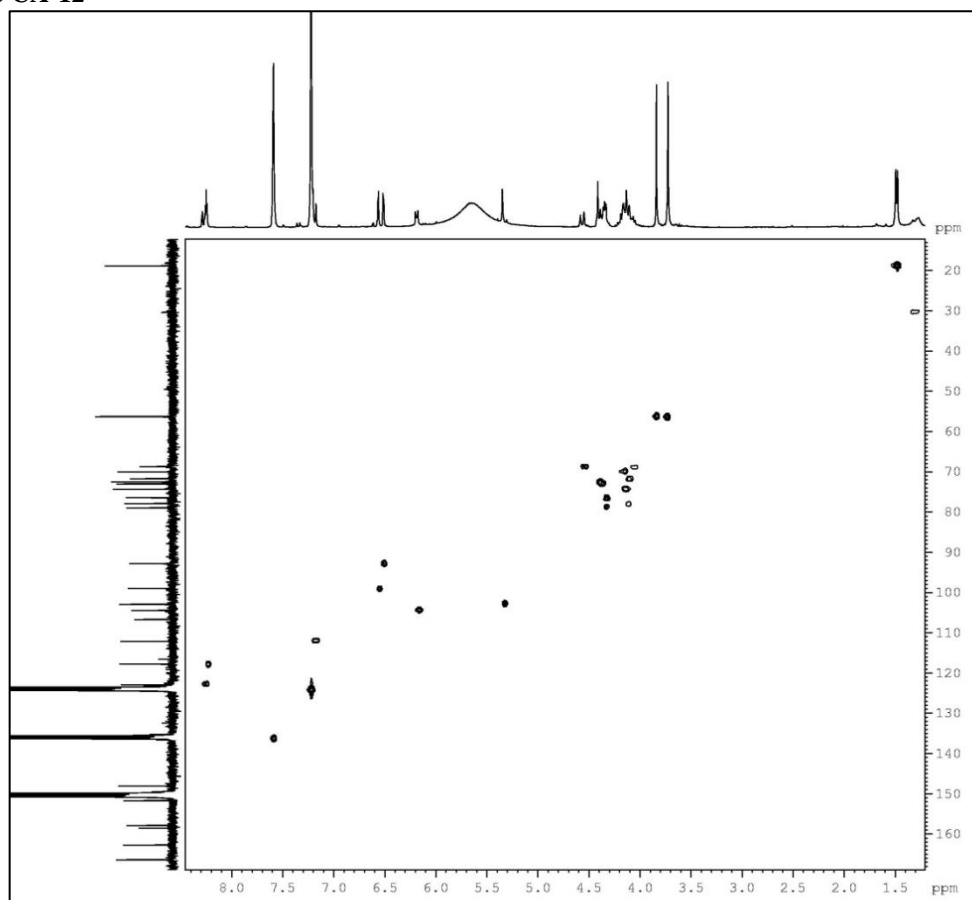
**Figura 192** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de CA-12



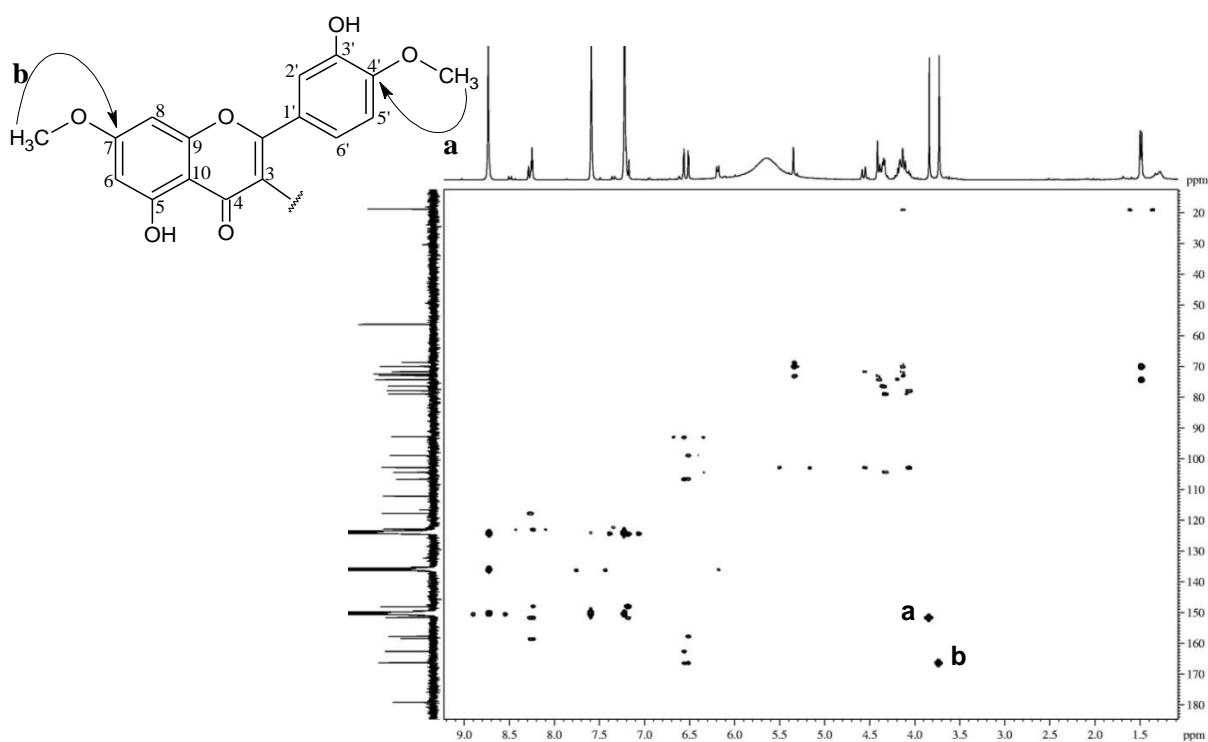
**Figura 193** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (75 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de CA-12



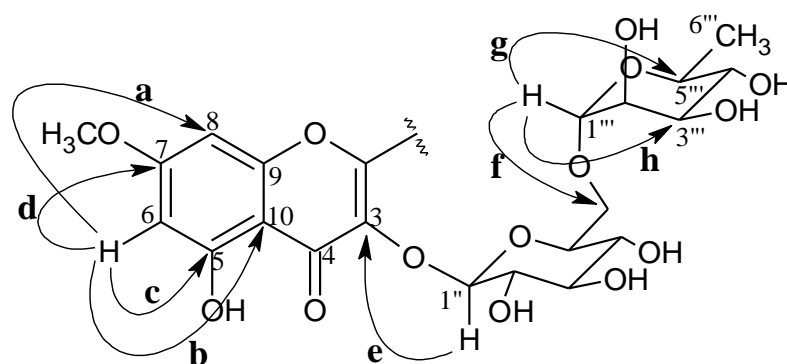
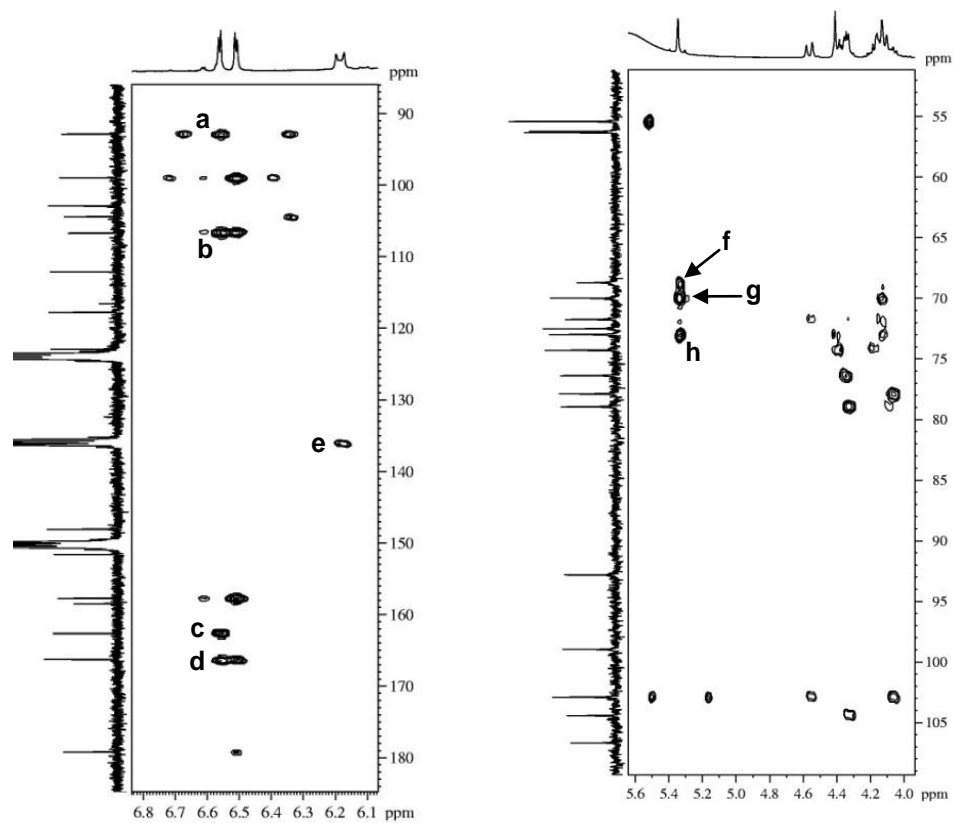
**Figura 194** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de CA-12



**Figura 195** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de CA-12



**Figura 196** - Expansões do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) de CA-12



### 4.13 Determinação Estrutural de CA-13

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila, proveniente do extrato etanólico das raízes de *Croton limae* (CLRE) (item 5.5.4, p. 260), forneceu um composto na forma de um sólido incolor, com  $[\alpha]_D^{20} = -20.5^\circ$  ( $c = 0,1$ ; CH<sub>3</sub>OH) e p.f. = 106,5 -108,0 °C, denominado CA-13 (item 5.5.4.1, p. 260).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de CA-13 (fig. 203, p. 219) revelou uma banda de deformação axial de ligação O–H em 3349 cm<sup>-1</sup>, e outra em 2931 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação C–H.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CA-13 (fig. 204, p. 219), de forma similar aos diterpenos clerodanos já isolados, revelou absorções em  $\delta_H$  0,75 (3H-20; s), 1,12 (3H-19; s) e 1,19 (3H-18; s) de hidrogênios de grupos metila ligados a carbonos não-hidrogenados, além de outra em  $\delta_H$  0,80 (3H-17; d,  $J = 6,0$  Hz) ligado a carbono mono-hidrogenado. O espectro ainda mostrou três sinais de hidrogênios ligados a carbonos oxigenados em  $\delta_H$  3,48 (1H-3; sl), 4,09 (2H-16; s) e 4,13 (2H-15; d,  $J = 6,7$  Hz), e um sinal referente a hidrogênio olefínico em  $\delta_H$  5,47 (1H-14; t,  $J = 6,7$  Hz).

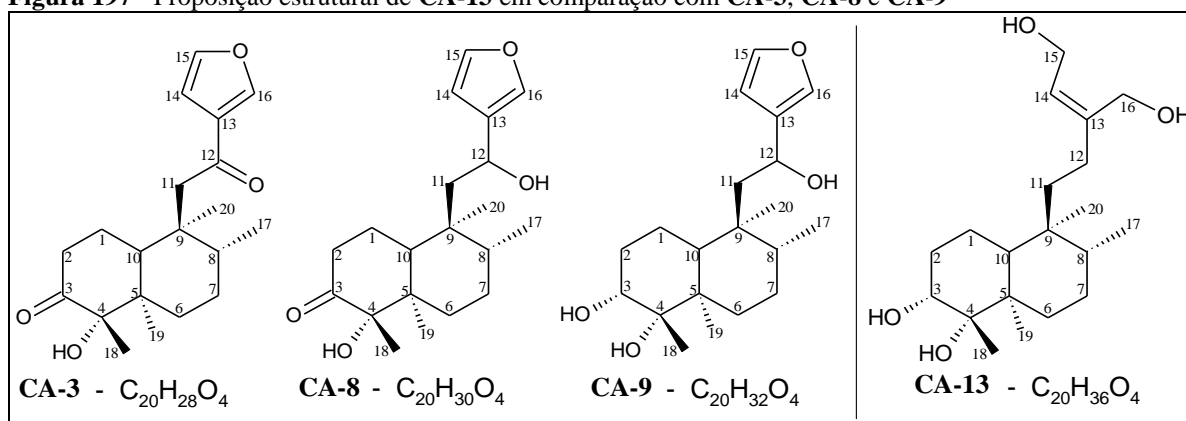
No espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-13 (fig. 206, p. 220), foram observadas 20 linhas espectrais, sugerindo assim uma estrutura diterpênica para o composto. Foram observados sinais de carbonos oxigenados em  $\delta_C$  59,0 (C-15), 60,5 (C-16), 77,1 (C-3) e 77,5 (C-4), e dois sinais de carbonos olefínicos em  $\delta_C$  127,4 (C-14) e 144,2 (C-13).

A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (fig. 207, p. 221) permitiu correlacionar os carbonos na estrutura de CA-13 com seu respectivo padrão de hidrogenação. Para o composto foram identificados 4 carbonos metílicos, 8 carbonos metilênicos, 4 carbonos metínicos e 4 carbonos não-hidrogenados.

O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) de CA-13 (fig. 212, p. 223) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$  363,2524, relativo ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>, com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 3, para CA-13.

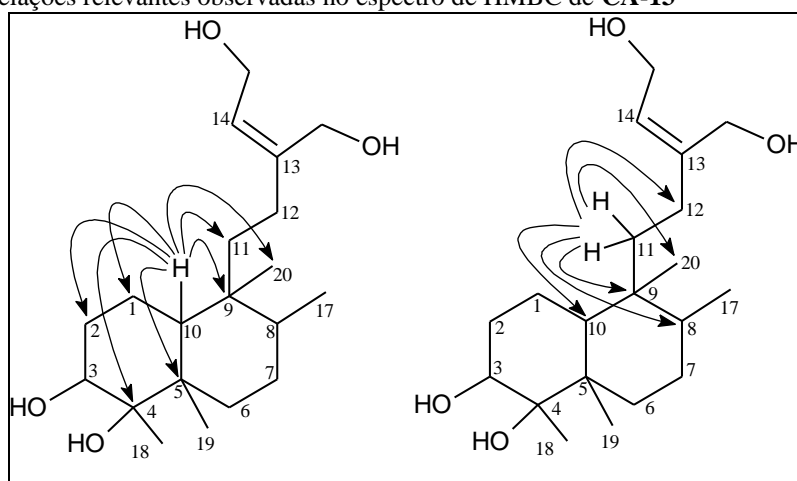
A análise dos dados de CA-13, em comparação com os dados de CA-3, CA-8 e CA-9, permitiu sugerir que o composto apresentava esqueleto clerodano, onde a ligação dupla poderia estar localizada entre os carbonos C-13 e C-14 estando os carbonos C-15 e C-16 hidroxilados (fig. 197, p. 215), em conformidade com os modelos de esqueletos clerodanos de *Croton* (PALMEIRA-JUNIOR; CONSERVA; BARBOSA FILHO, 2006) (fig. 51, p. 114).



**Figura 197** - Proposição estrutural de **CA-13** em comparação com **CA-3**, **CA-8** e **CA-9**

A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear ( $^1H$ ,  $^{13}C$ ) a uma ligação (HSQC) de **CA-13** (fig. 208, p. 221), permitiu assinalar de forma inequívoca cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 25** (p. 218).

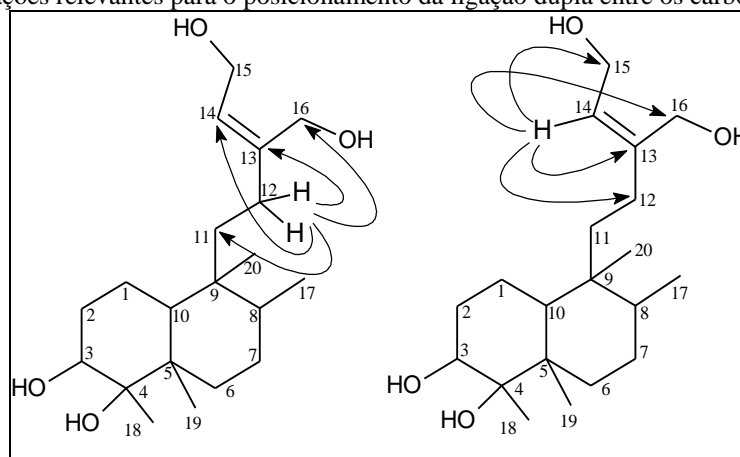
Com base nesses dados, uma análise no RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1H$ ,  $^{13}C$  - HMBC (fig. 209 e 210, p. 222) foi realizada e possibilitou observar a correlação do hidrogênio em  $\delta_H$  1,87 (1H-10) com os carbonos em  $\delta_C$  17,8 (C-1), 19,1 (C-20), 31,2 (C-2), 38,9 (C-11), 39,9 (C-9), 42,7 (C-5) e 77,5 (C-4) bem como a correlação, de pelo menos um, dos hidrogênios em  $\delta_H$  1,52 e 1,40 (2H-11) com os carbonos em  $\delta_C$  19,1 (C-20), 29,6 (C-12), 37,6 (C-8), 39,9 (C-9) e 42,0 (C-10) (fig. 198).

**Figura 198** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC de **CA-13**

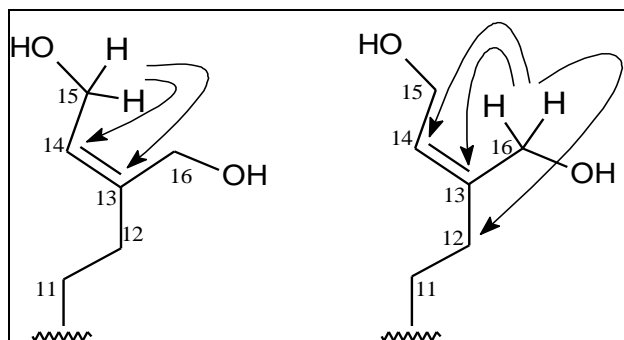
Foram observadas correlações entre os sinais dos hidrogênios em  $\delta_H$  2,06 (2H-12) com os carbonos em  $\delta_C$  38,9 (C-11), 60,5 (C-16), 127,4 (C-14) e 144,2 (C-13), e as correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  5,47 (H-14) com os carbonos em  $\delta_C$  29,6 (C-12), 59,0 (C-15), 60,5 (C-16) e 144,2 (C-13). O espectro revelou ainda as correlações dos hidrogênios metilênicos oxigenados em  $\delta_H$  4,09 (2H-16) com os carbonos em  $\delta_C$  29,6 (C-12), 127,4 (C-14) e 144,2 (C-13) e  $\delta_H$

4,13 (H-15) com os carbonos em  $\delta_C$ , 127,4 (C-14) e 144,2 (C-13) (fig. 199 e 200). Estes dados contribuíram para a confirmação do posicionamento da dupla ligação entre os carbonos C-13 e C-14, e das hidroxila em C-15 e C-16, respectivamente. As demais correlações encontram-se na **Tabela 25** (p. 218).

**Figura 199** - Correlações relevantes para o posicionamento da ligação dupla entre os carbonos C-13 e C-14

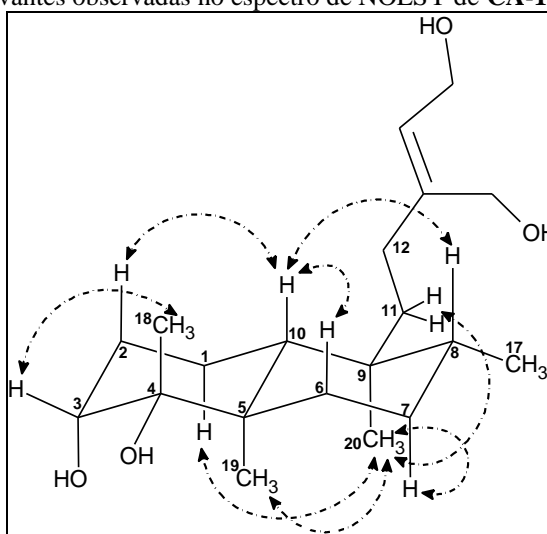


**Figura 200** - Correlações apresentadas pelos hidrogênios olefínicos oxigenados ligados aos carbonos C-15 e C-16



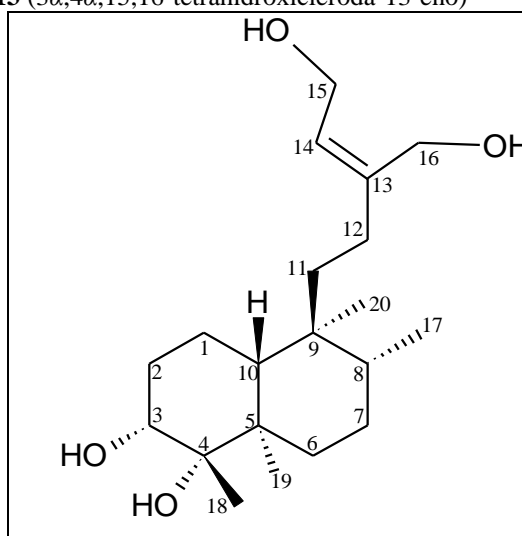
O espectro bidimensional de NOESY de **CA-13** (fig. 211, p. 223) mostrou o acoplamento homonuclear dipolar entre o hidrogênio H-10 ( $\delta_H$  1,87) com os hidrogênios H-8 ( $\delta_H$  1,49), H-2a ( $\delta_H$  2,04) e H-6a ( $\delta_H$  1,66). Além disso, foram revelados o acoplamento dos hidrogênios metílicos H-20 ( $\delta_H$  0,75) com os hidrogênios H-19 ( $\delta_H$  1,12), H-11b ( $\delta_H$  1,40), H-7a ( $\delta_H$  1,48) e H-1a ( $\delta_H$  1,58), e o acoplamento entre o hidrogênio H-3 ( $\delta_H$  3,48) com os hidrogênios H-18 ( $\delta_H$  1,19). Desta forma, foi possível propor, em comparação com os dados de outros metabólitos já isolados, a estereoquímica relativa da molécula de **CA-13** (fig. 201, p. 217).

**Figura 201** - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-13**



A reunião de todos os dados espectroscópicos discutidos e a comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  dos outros metabolitos já isolados possibilitou identificar **CA-13** como sendo o 3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahidroxicleroda-13-eno (fig. 202), um *ent*-*neo*-clerodano que está sendo descrito pela primeira vez na literatura.

**Figura 202** - Estrutura de **CA-13** (3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahidroxicleroda-13-eno)

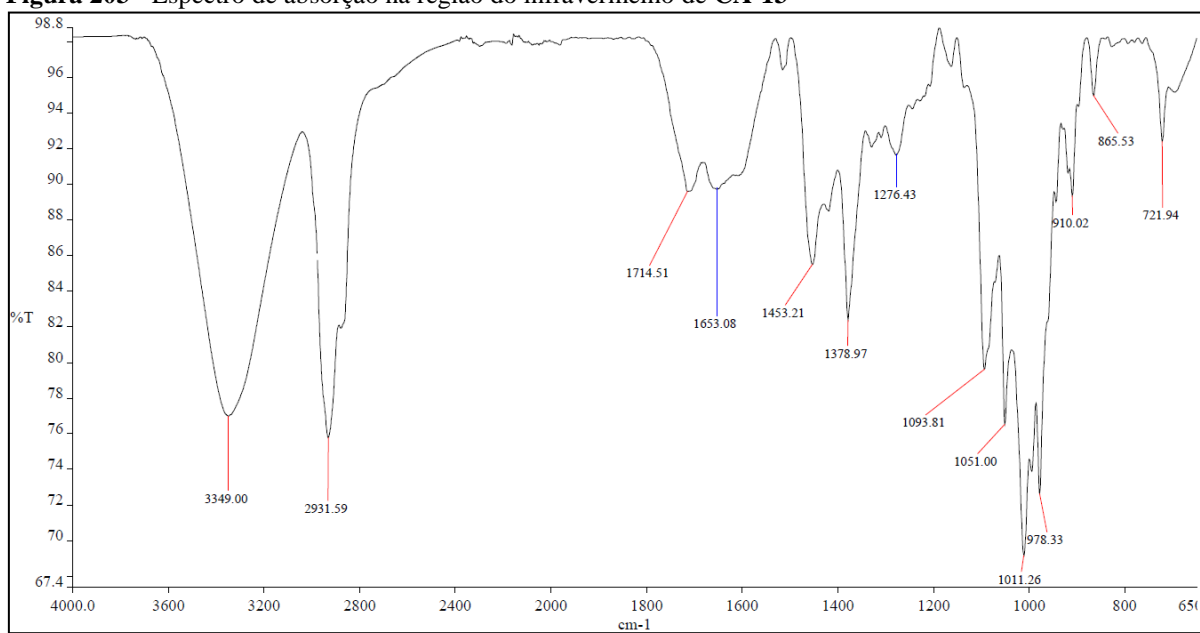


**Tabela 25** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-13** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

C	HSQC		HMBC		CA-3
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	17,8	1,58 (m; 1H) 1,33 (m; 1H)	1H-10	1H-3	23,8
2	31,2	2,04 (m; 1H) 1,65 (m; 1H)	1H-1a; 1H-3	1H-10	36,2
3	77,1	3,48 (sl; 1H)		1H-1a; 3H-18	215,3
4	77,5	-	1H-3; 3H-18	3H-19; 1H-10	81,7
5	42,7	-	2H-6; 1H-10; 3H-19	1H-3; 1H-7b; 3H-18	45,3
6	33,8	1,66 (m; 1H) 1,31 (m; 1H)		3H-19	31,2
7	28,1	1,48 (m; 1H) 1,34 (m; 1H)	2H-6	3H-17	26,9
8	37,6	1,49 (m; 1H)	2H-7; 3H-17	2H-6; 1H-11a; 3H-20	37,5
9	39,9	-	1H-8; 1H-10; 2H-11; 3H-20	1H-7a; 3H-17	42,0
10	42,0	1,87 (dd; 12,3 e 1,5; 1H)		2H-1; 2H-2; 1H-1b; 3H-19; 3H-20	41,6
11	38,9	1,52 (m; 1H) 1,40 (m; 1H)	2H-12		47,3
12	29,6	2,06 (m; 2H)	2H-11	1H-14, 2H-16	195,2
13	144,2	-	2H-12; 1H-14; 2H-16	2H-15	129,7
14	127,4	5,47 (t; 6,7; 1H)	2H-15	2H-12; 2H-16	108,8
15	59,0	4,13 (d; 6,7; 2H)	1H-14		144,5
16	60,5	4,09 (s; 2H)		2H-12; 1H-14	147,0
17	16,6	0,80 (d; 6,0; 3H)	1H-8	1H-7a	16,7
18	21,4	1,19 (s; 3H)		1H-3	21,9
19	18,1	1,12 (s; 3H)		2H-6	15,0
20	19,1	0,75 (s; 3H)		1H-8; 1H-10; 1H-11a	17,8

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

**Figura 203** - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-13



**Figura 204** - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-13

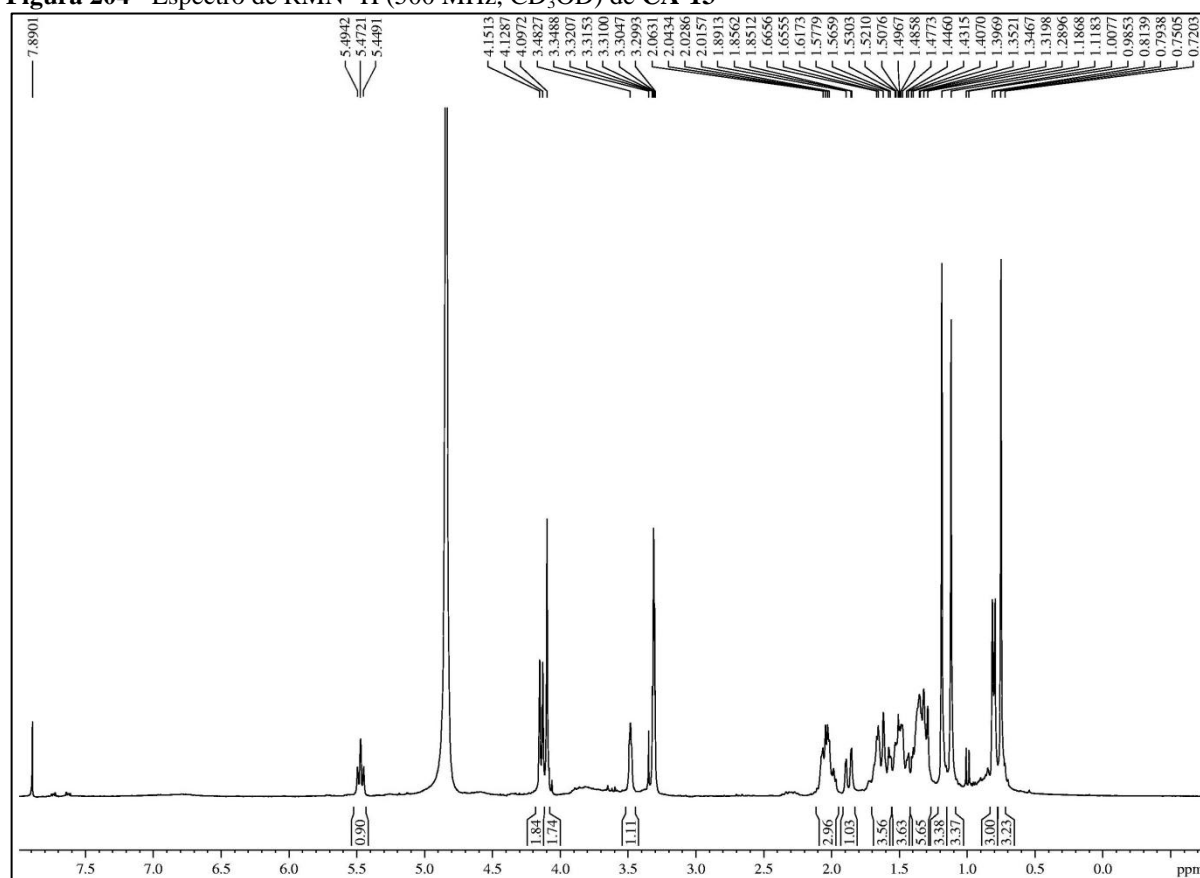


Figura 205 - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13

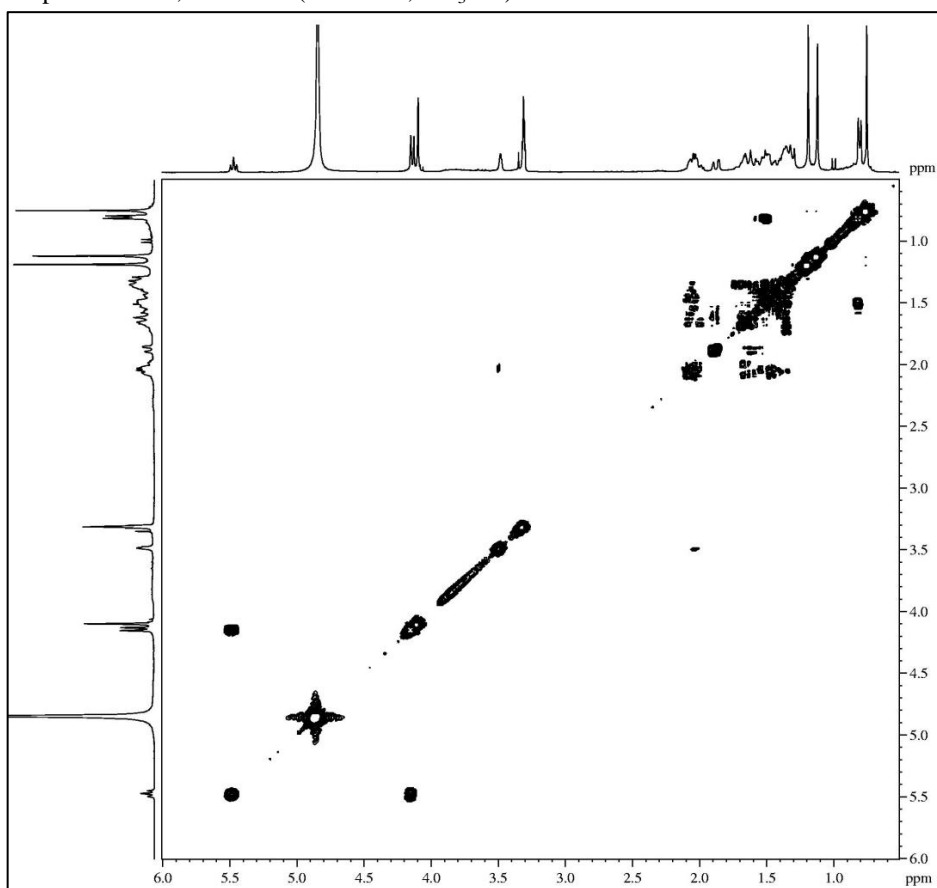
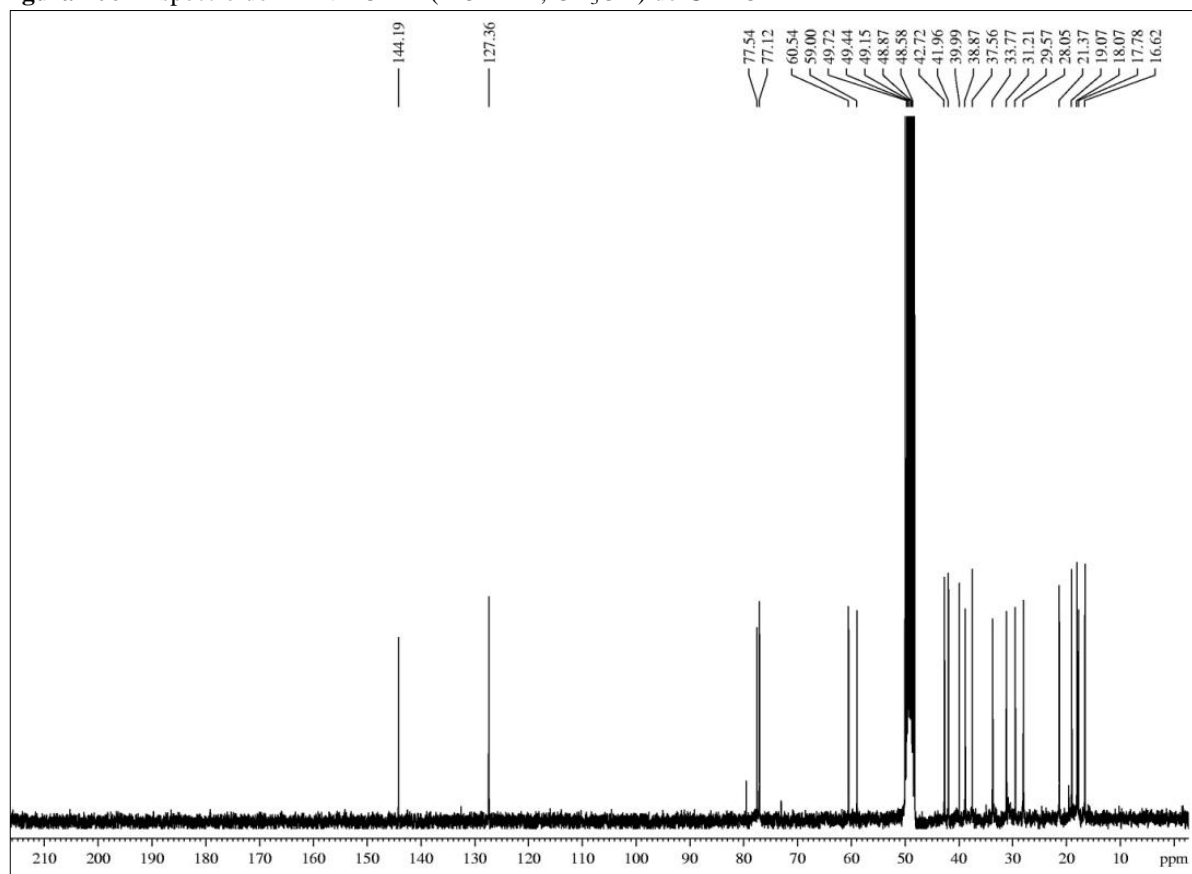
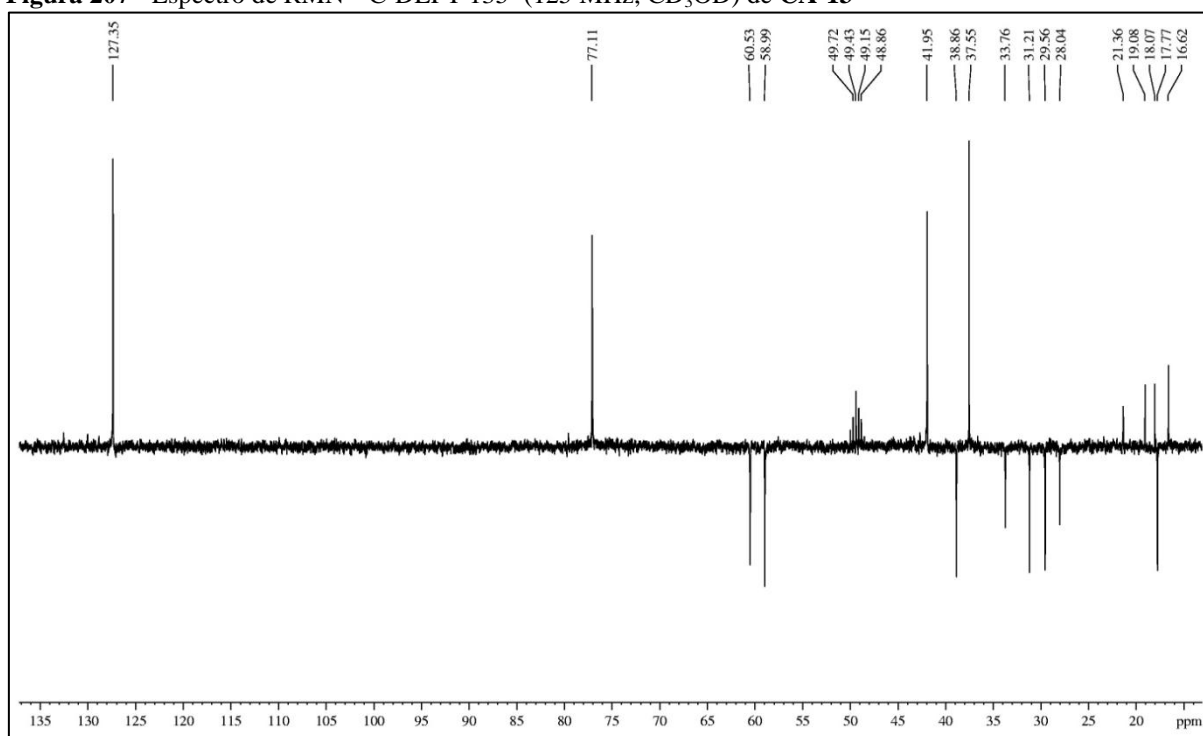


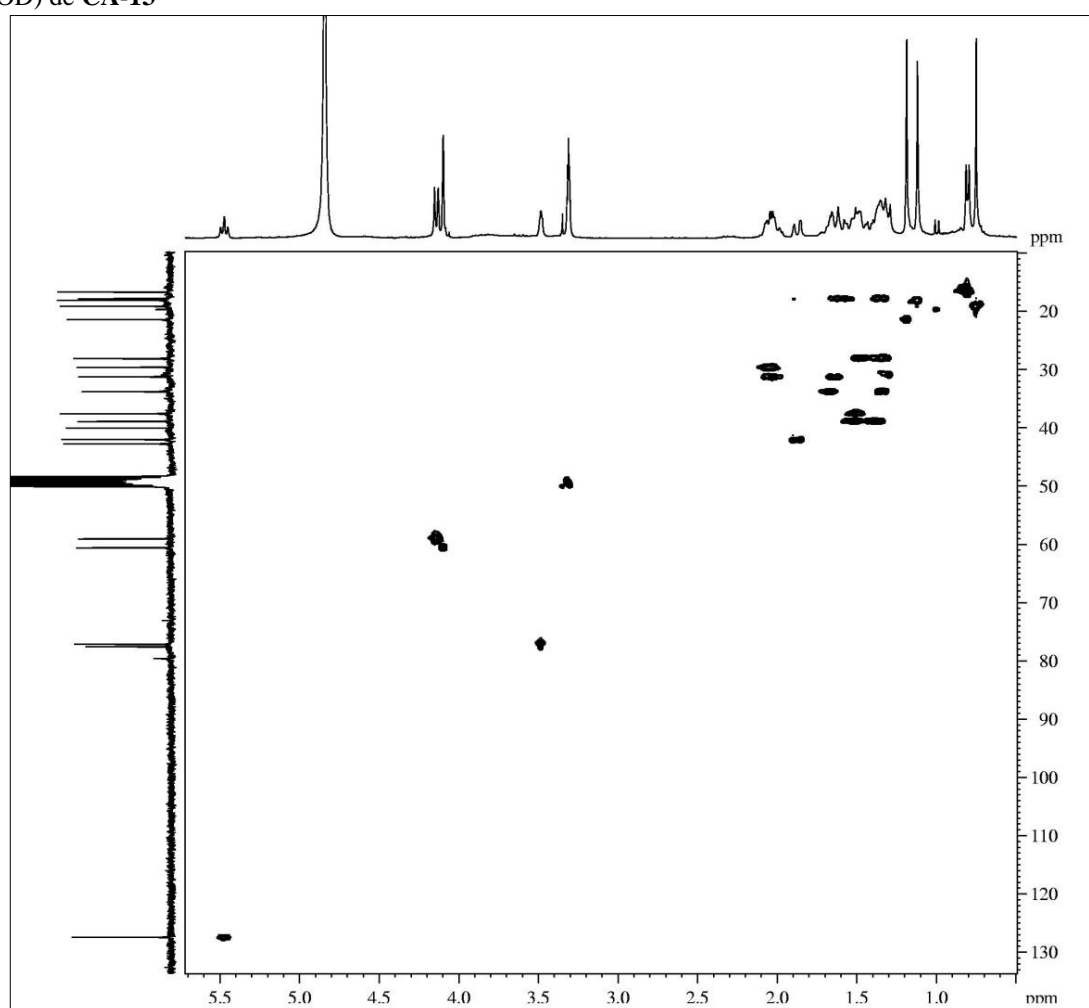
Figura 206 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13



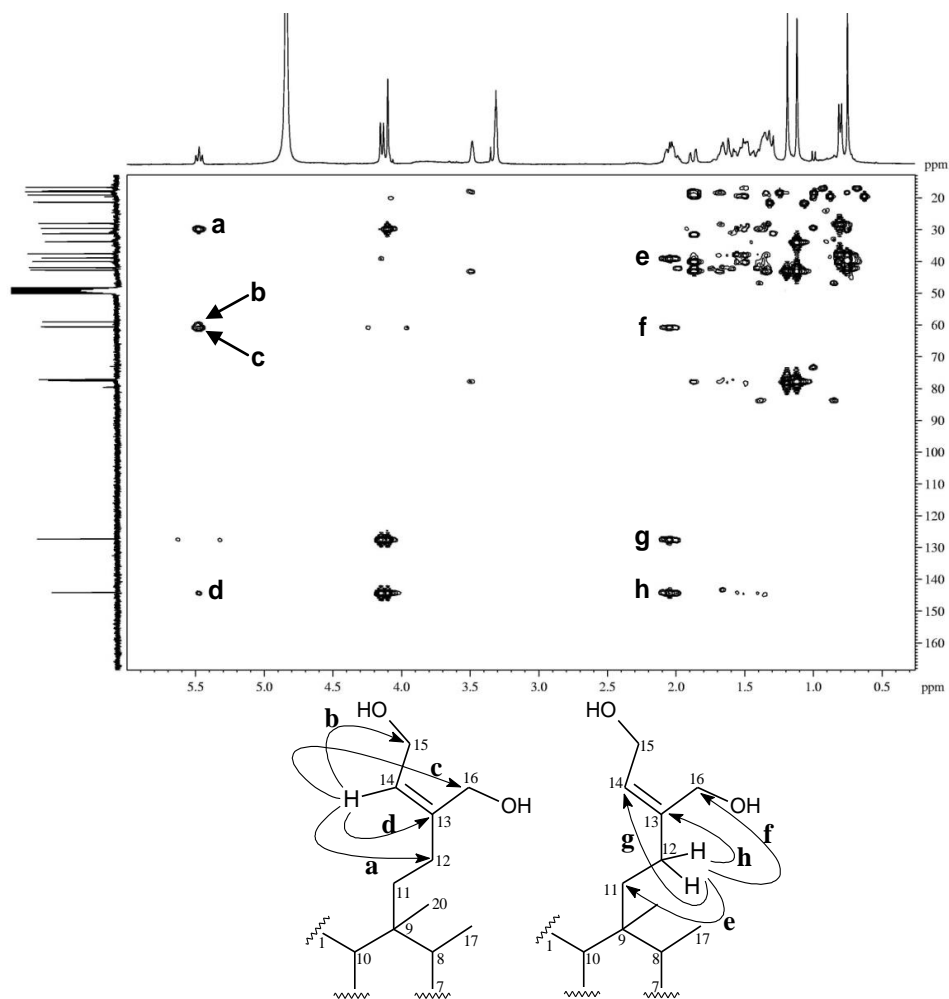
**Figura 207** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13



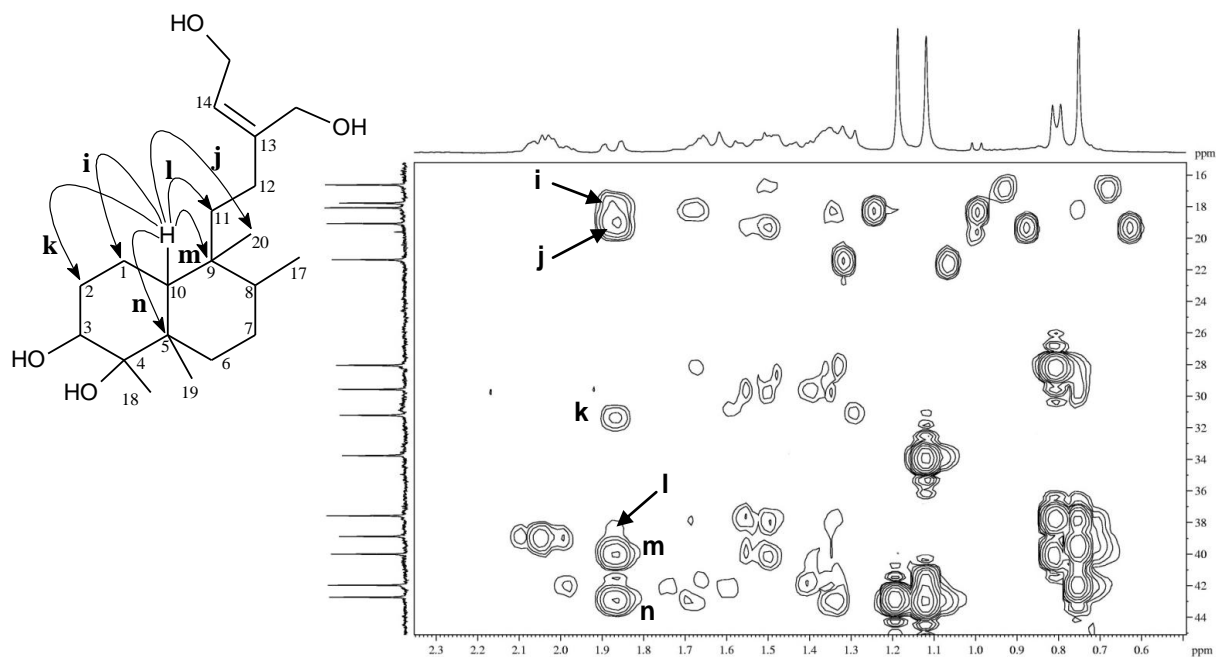
**Figura 208** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13



**Figura 209** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13

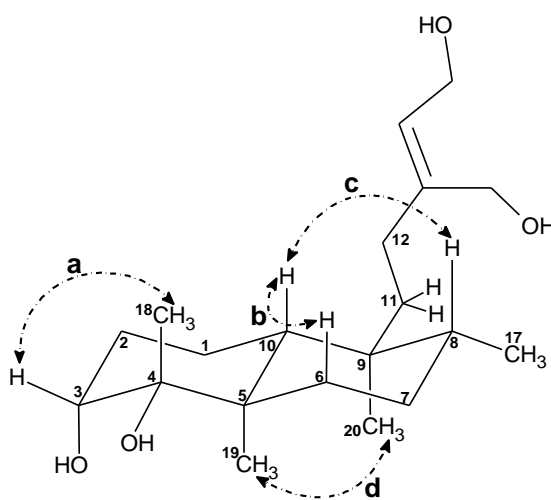
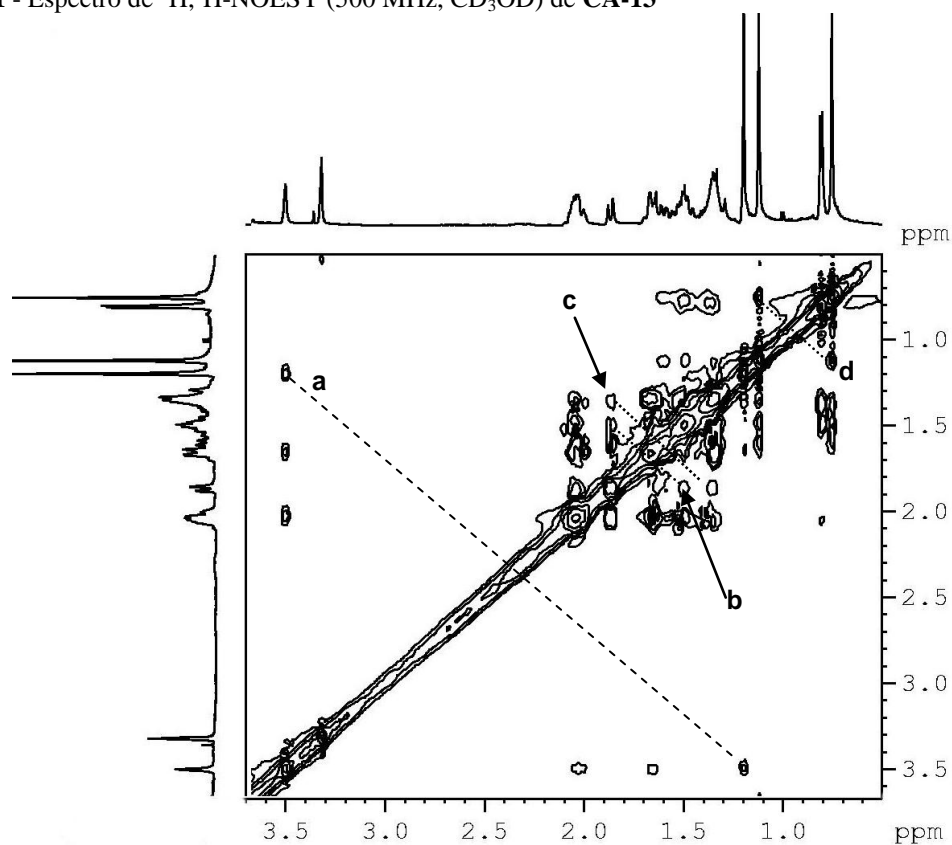


**Figura 210** - Expansão do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13

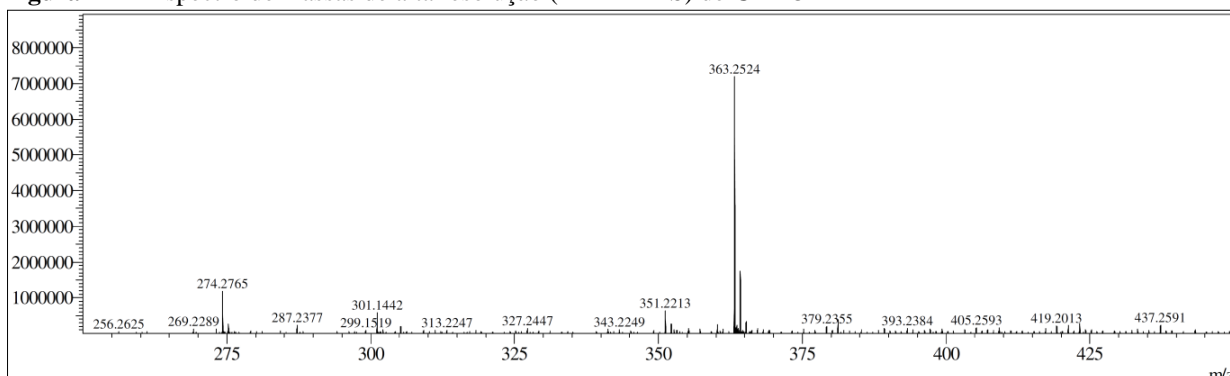




**Figura 211** - Espectro de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-13



**Figura 212** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CA-13



#### 4.14 Determinação Estrutural de CA-14

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila, proveniente do extrato etanólico das raízes de *Croton limae* (CLRE) (item 5.5.4, p. 260), forneceu um composto na forma de um sólido amarelado, com  $[\alpha]_D^{20} = -83,2$  ( $c = 0,1$ ; CH<sub>3</sub>OH) e p.f. = 148,9 – 150,3 °C, denominado CA-14 (item 5.5.4.1, p. 260).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de CA-14 (fig. 216, p. 228) mostrou uma banda larga em 3414 cm<sup>-1</sup> referente a deformação axial de ligação O-H, uma banda de absorção em 1699 cm<sup>-1</sup> relacionada a deformação axial da ligação C=O de carbonila, e uma banda de intensidade média em 1664 cm<sup>-1</sup> correspondente a deformação axial da ligação C=C.

De maneira análoga aos diterpenos clerodanos isolados o espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-14 (fig. 217, p. 228), revelou absorções em  $\delta_H$  0,87 (3H-20; s), 0,97 (3H-19; s), 1,45 (3H-18; s) e 0,95 (3H-17; d,  $J = 6,6$  Hz) de hidrogênios de grupos metila, além de sinais associados a hidrogênios de anel furânico monossustituído em  $\delta_H$  8,39 (1H-16; s), 7,59 (1H-15; t,  $J = 1,6$  Hz) e 6,78 (1H-14; sl). Foi observado ainda uma série de sinais na faixa de em  $\delta_H$  4,45-3,0. O valor da constante de acoplamento observado para o sinal em  $\delta_H$  4,45 (d;  $J = 7,5$  Hz) indicou a presença de uma unidade  $\beta$ -glicosídica na molécula.

O espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-14 (fig. 220, p. 230), mostrou 26 linhas espectrais, com grande parte dos sinais apresentando deslocamentos químicos similares aos observados no espectro de <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de CA-3 (fig. 60, p. 119), acrescidos dos sinais relativos a carbonos oxigenados em  $\delta_C$  62,9 (C-6'), 71,7 (C-4'), 75,3 (C-2'), 78,0 (C-5') e 78,1 (C-3'), confirmando a presença da  $\beta$ -glicose (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-14 (fig. 221, p. 230), permitiu correlacionar os carbonos com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 11 carbonos metínicos e 6 carbonos não-hidrogenados.

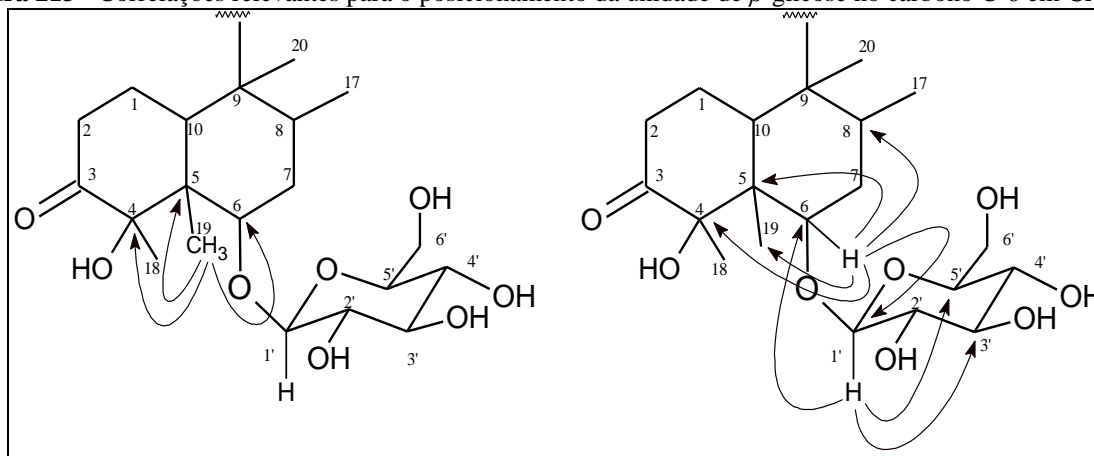
O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) de CA-14 (fig. 219, p. 229) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$  533,2464, relativo ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular C<sub>26</sub>H<sub>38</sub>O<sub>10</sub>, com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 8, para CA-14.

A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) a uma ligação (HSQC) de CA-14 (fig. 222, p. 231) permitiu assinalar de forma inequívoca cada

absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 26** (p. 227).

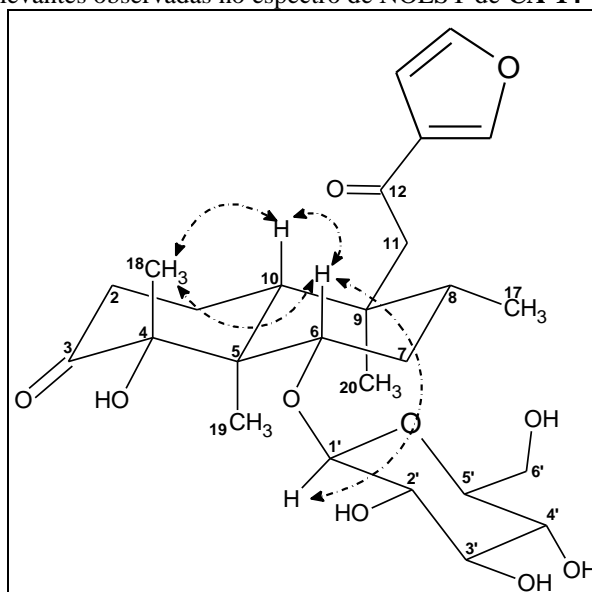
A análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HMBC (fig. 223 e 224, p. 231 e 232), revelou as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_{\text{H}}$  0,97 (3H-19) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  51,1 (C-5), 83,9 (C-4) e 85,5 (C-6), e do hidrogênio em  $\delta_{\text{H}}$  3,95 (1H-6) com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  11,0 (C-19), 36,7 (C-8), 51,1 (C-5), 83,9 (C-4) e com o carbono anomérico em  $\delta_{\text{C}}$  106,6 (C-1'). Foram observados também as correlações do hidrogênio anomérico em  $\delta_{\text{H}}$  4,45 (H-1') com os carbonos em  $\delta_{\text{C}}$  85,5 (C-6), 78,0 (C-5') e 78,1 (C-3') confirmando a ligação da unidade glicosídica ao carbono C-6 ( $\delta_{\text{C}}$  85,4) (fig. 213). As demais correlações observadas no espectro de HMBC de **CA-14** estão descritas na **Tabela 26** (p. 227).

**Figura 213** - Correlações relevantes para o posicionamento da unidade de  $\beta$ -glicose no carbono C-6 em **CA-14**



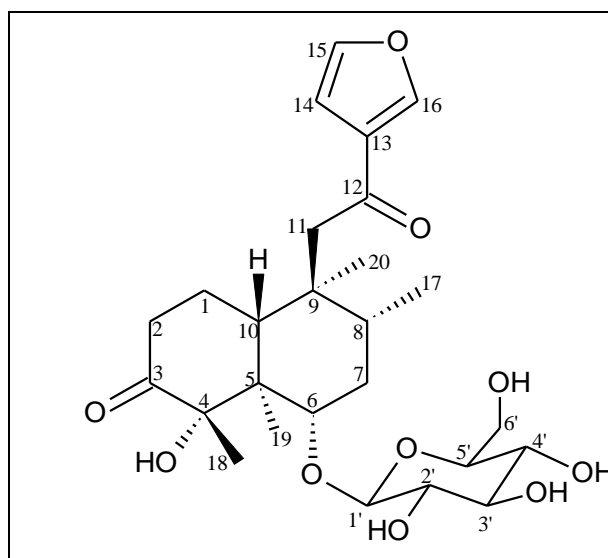
O espectro bidimensional de NOESY de **CA-14** (fig. 225, p. 232) mostrou o acoplamento homonuclear dipolar entre o hidrogênio H-10 ( $\delta_{\text{H}}$  2,64) com os hidrogênios 3H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1,45), H-8 ( $\delta_{\text{H}}$  2,05) e H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,95), a ainda os acoplamentos entre o hidrogênio H-6 ( $\delta_{\text{H}}$  3,95) com os hidrogênios 3H-18 ( $\delta_{\text{H}}$  1,45) e H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4,45). Desta forma, foi possível propor a estereoquímica relativa da molécula de **CA-14**, representada na **Figura 214** (p. 226).

**Figura 214** - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-14**



A reunião dos dados espectroscópicos discutidos possibilitou identificar **CA-14** como sendo o diterpeno 6-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno (fig. 215), um *ent-neo*-clerodano inédito na literatura.

**Figura 215** - Estrutura de **CA-14** (6-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno)



**Tabela 26** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-14** e comparação com dados de RMN  $^{13}\text{C}$  de **CA-3**

C	HSQC		HMBC		CA-3*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	24,2	2,08 (m; 1H) 1,81 (qd; 13,2 e 4,3; 1H)	2H-2; 1H-10		23,8
2	37,8	2,45 (td; 13,9 e 6,8; 1H) 2,33 (dq; 14,2 e 2,0; 1H)	2H-1	1H-10	36,2
3	214,2	-	2H-2	1H-1a; 3H-18	215,3
4	83,9	-	3H-18	1H-2b; 1H-6; 1H-10; 3H-19	81,7
5	51,1	-	1H-6; 1H-10; 3H-19	2H-1; 2H-7; 3H-18; 1H-1'	45,3
6	85,5	3,95 (dd; 11,6 e 3,9; 1H)	2H-7	1H-8; 3H-19	31,2
7	35,9	2,04 (m; 1H) 1,62 (dd; 25,4 e 13,5; 1H)		3H-17	26,9
8	36,7	2,05 (m; 1H)	2H-7; 3H-17	1H-6; 2H-11; 3H-20	37,5
9	43,0	-	1H-8; 1H-10; 2H-11; 3H-20	2H-7; 3H-17	42,0
10	44,0	2,64 (dd; 13,3 e 2,6; 1H)	2H-1	2H-2; 2H-11; 3H-19	41,6
11	47,8	2,92 (d, 16,1; 1H) 2,86 (d; 16,1; 1H)		1H-10; 3H-20	47,3
12	197,5	-	2H-11	1H-14	195,2
13	131,0	-	1H-14; 1H-16	2H-11; 1H-15	129,7
14	109,5	6,78 (sl; 1H)	1H-15	1H-16	108,8
15	146,2	7,59 (t; 1,6; 1H)	1H-14	1H-16	144,5
16	150,0	8,39 (s; 1H)		1H-14; 1H-15	147,0
17	16,7	0,95 (d; 6,6; 3H)	1H-8	2H-7	16,7
18	23,0	1,45 (s; 3H)			21,9
19	11,0	0,97 (s; 3H)		1H-6; 1H-10	15,0
20	17,9	0,87 (s; 3H)		1H-8; 1H-10; 2H-11	17,8
1'	106,6	4,45 (d; 7,5; 1H)	1H-2'	1H-6; 1H-5'	
2'	75,3	3,13 (dd; 9,2 e 7,9; 1H)	1H-3'		
3'	78,1	3,33 (m; 1H)	1H-2'; 1H-4'	1H-1'	
4'	71,7	3,27 (q; 9,5; 1H)	1H-3'; 1H-5'	2H-6'	
5'	78,0	3,36 (m; 1H)	1H-4'; 2H-6'	1H-1'	
6'	62,9	3,85 (dd; 11,8 e 2,2; 1H) 3,66 (dd; 11,8 e 5,4; 1H)		1H-4'	

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)

Figura 216- Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-14

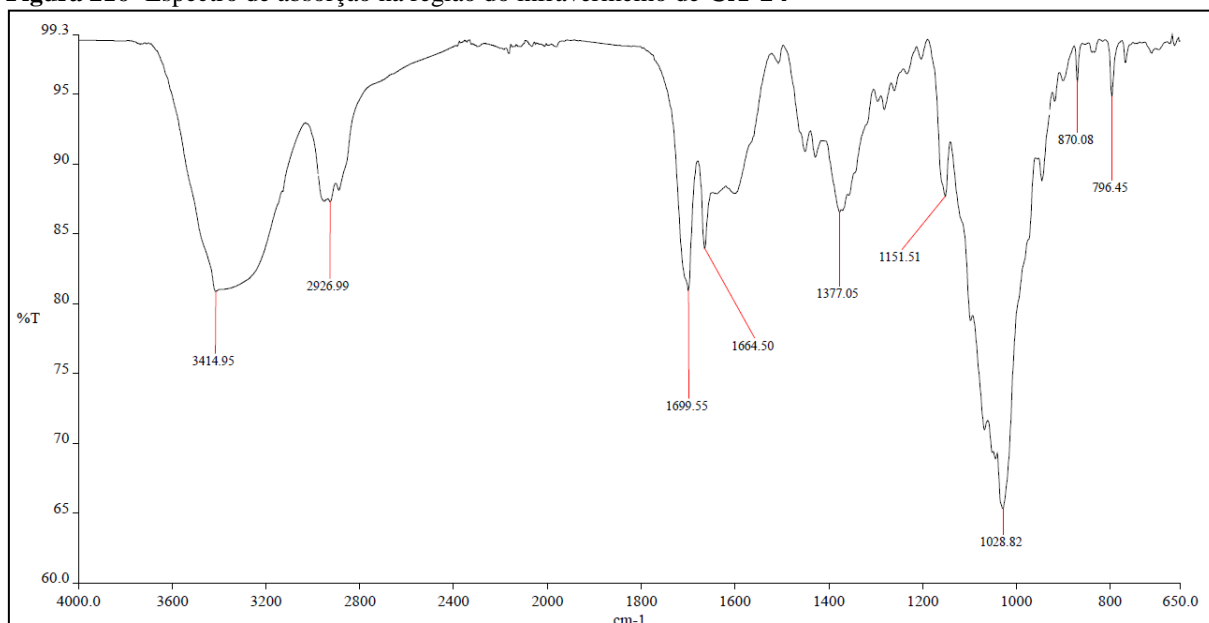
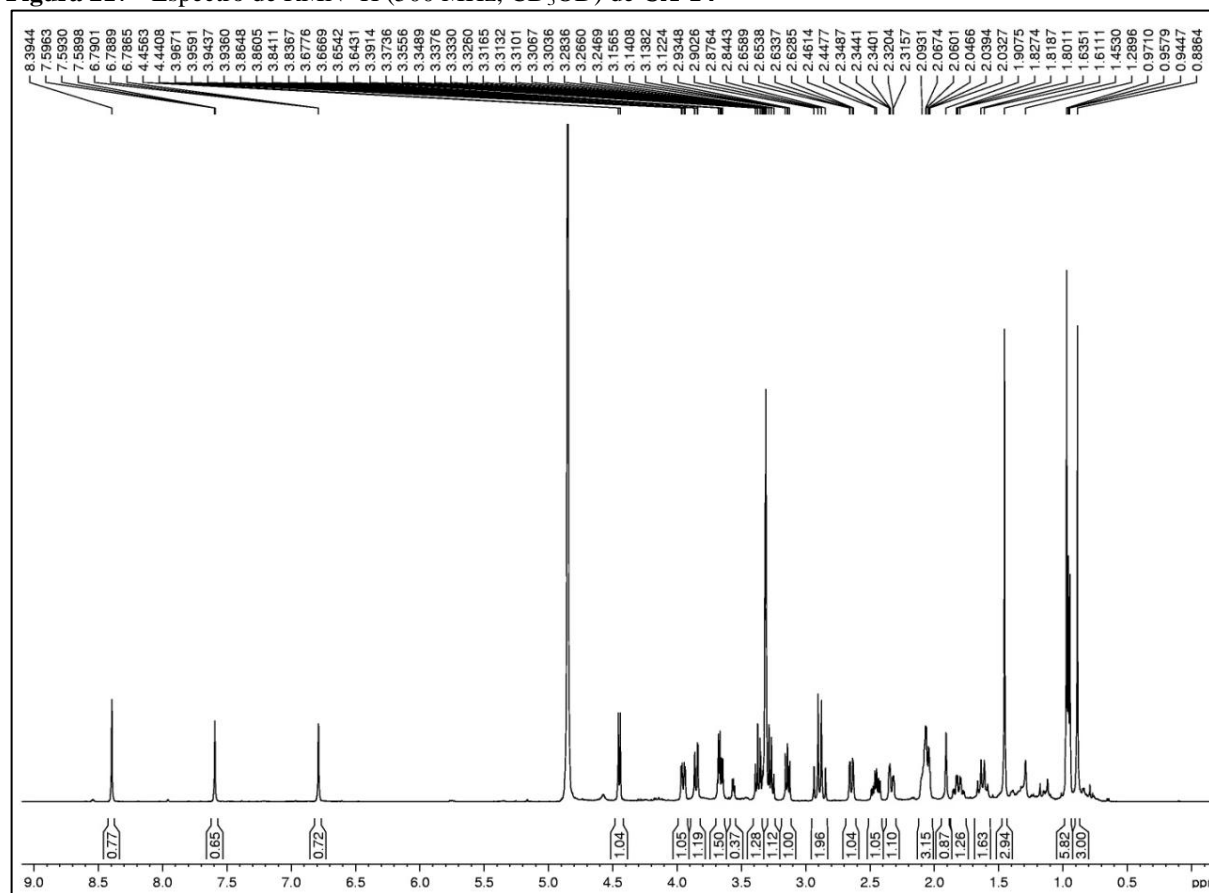


Figura 217 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de CA-14



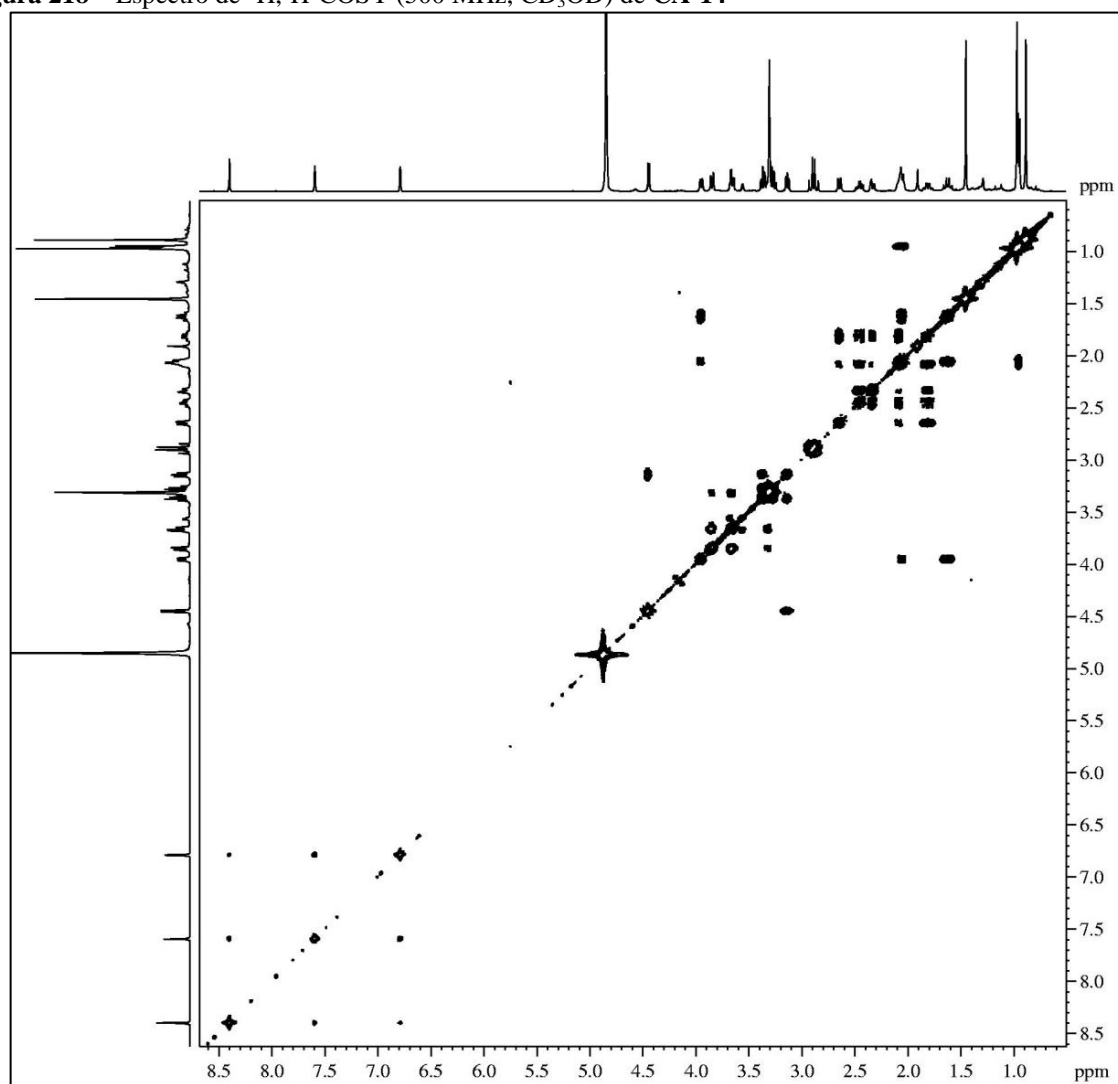
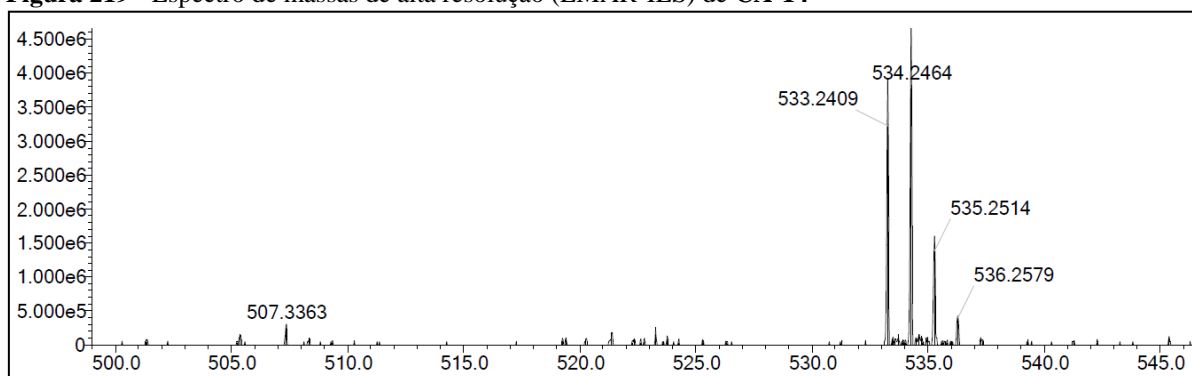
**Figura 218** – Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14**Figura 219** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de CA-14

Figura 220 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14

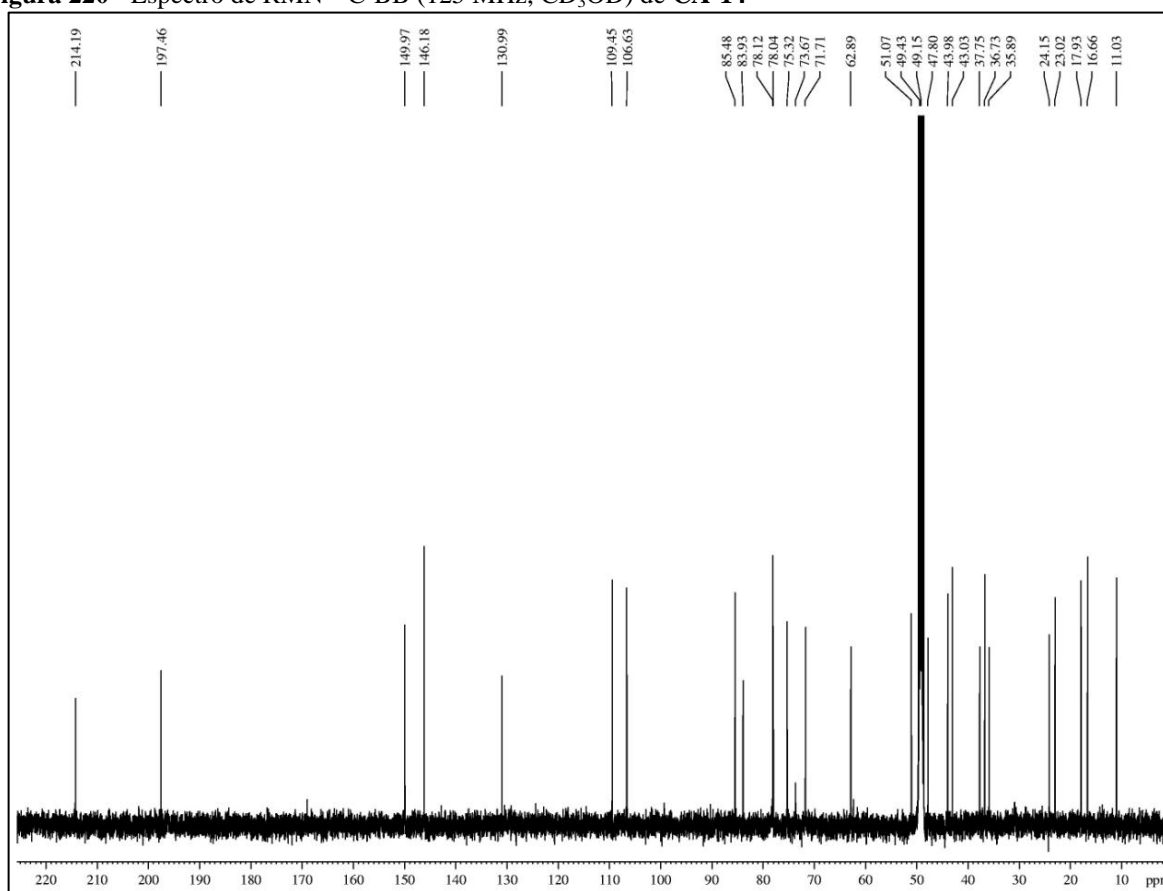
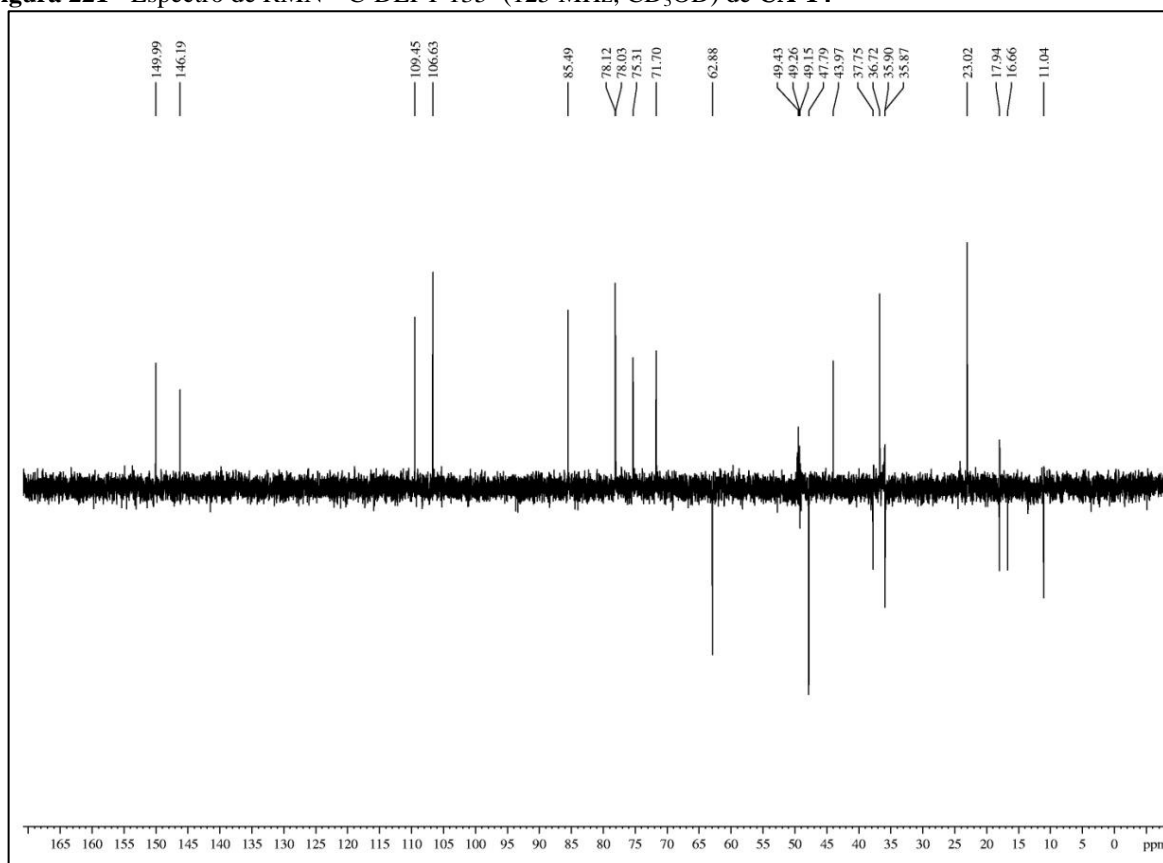
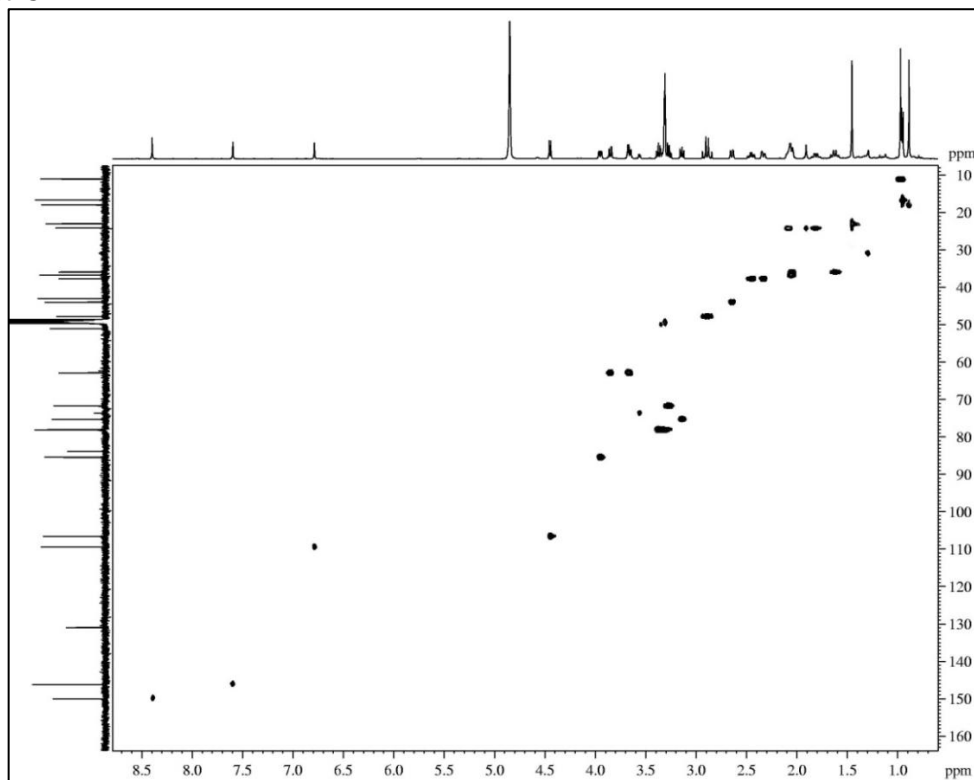


Figura 221 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14

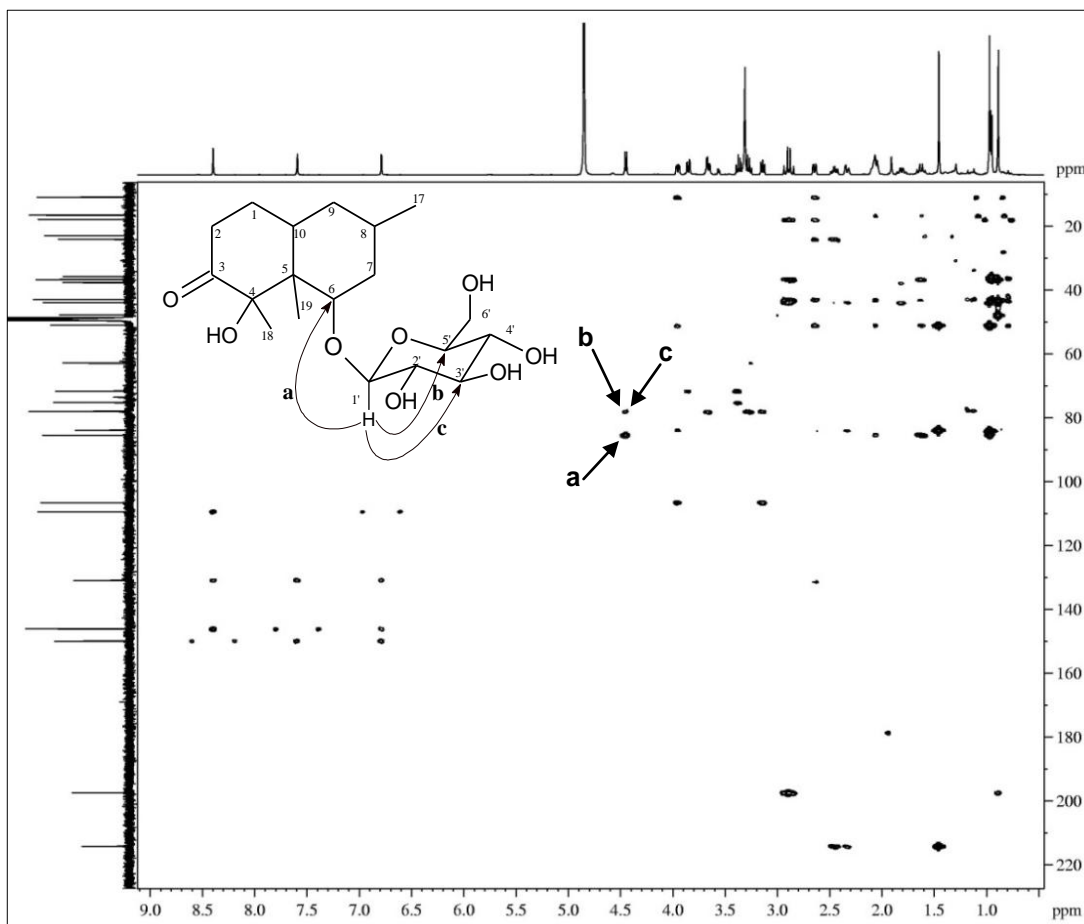




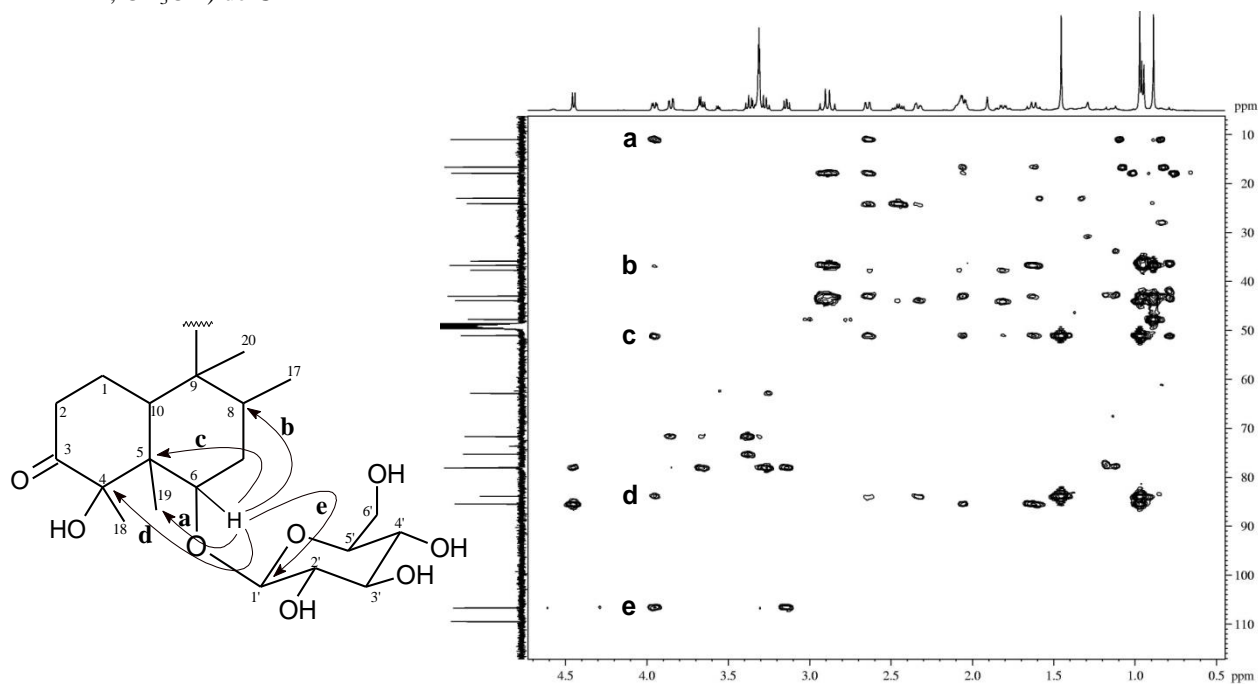
**Figura 222** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14



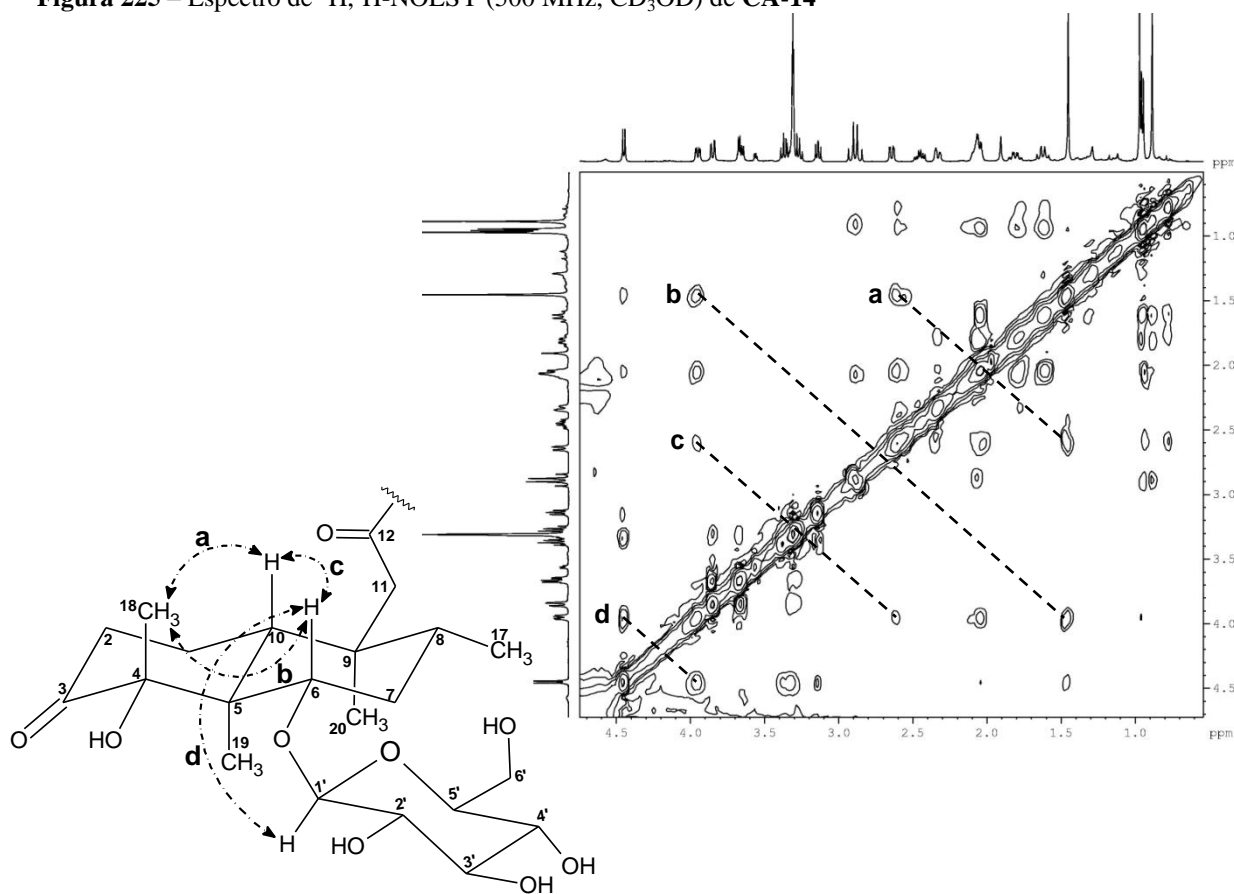
**Figura 223** - Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14



**Figura 224** - Expansão do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14



**Figura 225** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-14



#### 4.15 Determinação Estrutural de CA-15

O tratamento cromatográfico da fração acetato de etila, proveniente do extrato etanólico das raízes de *Croton limae* (CLRE) (item 5.5.4, p. 260), forneceu um composto na forma de um sólido amorfo de coloração amarelado, com  $[\alpha]_D^{20} = -20.5^\circ$  ( $c = 0,1$ ; CH<sub>3</sub>OH) e p.f = 108,1 - 109,8 °C, que foi denominado **CA-15** (item 5.5.4.1, p. 260).

A análise do espectro de absorção na região do infravermelho de **CA-15** (fig. 233, p. 237) mostrou uma absorção larga em 3383 cm<sup>-1</sup>, resultante da superposição das absorções de deformação axial de ligação O-H de grupo hidroxila de ácido carboxílico, bem como bandas em 1740 cm<sup>-1</sup> e em 1706 cm<sup>-1</sup> relativas a deformação axial de ligações C=O.

O espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-15** (fig. 234, p. 237), assim como observado em outros metabólitos já isolados (**CA-3**, **CA-4**, **CA-8**, **CA-9** e **CA-14**), mostrou quatro absorções referentes a hidrogênios de grupos metilas em  $\delta_H$  0,80 (3H-20; s), 0,86 (3H-19; s), 1,38 (3H-18; s) e 0,88 (3H-17; d,  $J = 6,7$  Hz). O espectro revelou ainda um sinal centrado em  $\delta_H$  4,75 (1H-12; d,  $J = 14,7$  Hz) associado a hidrogênio de carbono oxigenado, e dois sinais em  $\delta_H$  6,06 e 6,27 relacionados a hidrogênios de grupos hidroxilas.

No espectro de RMN <sup>13</sup>C-BB (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-15** (fig. 236, p. 238) foram observadas 17 linhas espectrais, destacando-se os sinais referentes a duas carbonilas em  $\delta_C$  216,7 (C-3) e 173,3 (C-13) e dois sinais referentes a carbonos oxigenados em  $\delta_C$  83,4 (C-4) e 65,8 (C-12). A comparação com o espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPT 135° (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) de **CA-15** (fig. 237, p. 239) permitiu correlacionar os carbonos com seu respectivo padrão de hidrogenação, os quais foram identificados como: 4 carbonos metílicos, 5 carbonos metilênicos, 3 carbonos metínicos e 5 carbonos não-hidrogenados.

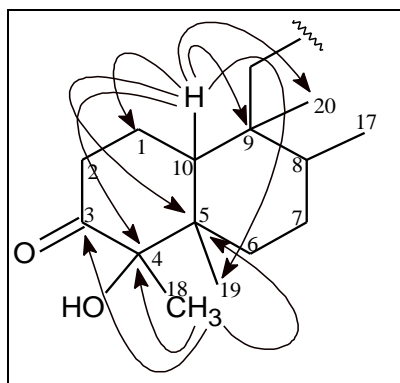
O espectro de massas de alta resolução obtido com ionização por electrospray (EMAR-IES) de **CA-15** (fig. 232, p. 236) mostrou um pico correspondente ao íon com  $m/z$  335,1818, relativo ao aduto de sódio ( $[M + Na]^+$ ). Assim pode-se sugerir a fórmula molecular C<sub>17</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub>, com índice de deficiência de hidrogênio (IDH) igual a 4, para **CA-15**.

A análise do diagrama de contorno do espectro de correlação heteronuclear (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) a uma ligação (HSQC) de **CA-15** (fig. 238 e 239, p. 239 e 240) permitiu assinalar, de forma inequívoca, cada absorção de carbono com os seus respectivos hidrogênios, de acordo com a **Tabela 27** (p. 236).

As correlações do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C - HMBC (fig. 240 e 241, p. 240 e 241) dos hidrogênios metílicos em

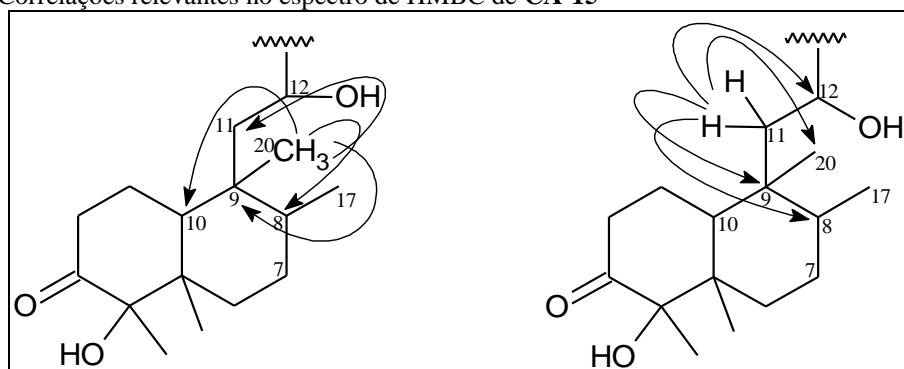
$\delta_H$  1,38 (3H-18) com os carbonos em  $\delta_C$  46,4 (C-5), 83,4 (C-4) e 216,7 (C-3), além das correlações do hidrogênio em  $\delta_H$  2,58 (1H-10) com os carbonos em  $\delta_C$  16,1 (C-19), 18,3 (C-20), 24,7 (C-1), 41,3 (C-9), 46,4 (C-5) e 83,4 (C-4) (fig. 226), confirmaram a estrutura da decalina contendo um grupo carbonila em C-3 e uma hidroxila em C-4.

**Figura 226** - Correlações relevantes observadas no espectro de HMBC que auxiliaram a confirmar o sistema decalina em CA-15



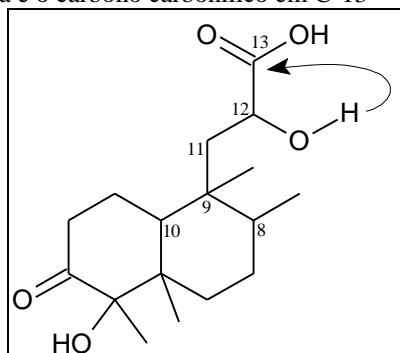
Em adição foram observadas as correlações dos hidrogênios metílicos em  $\delta_H$  0,80 (3H-20) com os carbonos em  $\delta_C$  38,4 (C-8), 41,3 (C-9), 43,4 (C-10) e 43,8 (C-11), juntamente com as correlações dos hidrogênios metilênicos em  $\delta_H$  1,78 (2H-11) com os carbonos em  $\delta_C$  18,3 (C-20), 38,4 (C-8), 41,3 (C-9) e 65,8 (C-12) auxiliaram no posicionamento da hidroxila no carbono C-12 (fig. 227).

**Figura 227**- Correlações relevantes no espectro de HMBC de CA-15

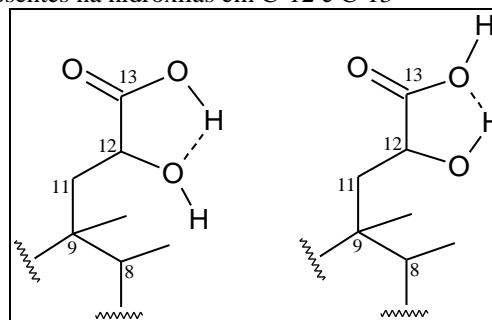


A correlação do sinal referente ao hidrogênio de uma das hidroxilas em  $\delta_H$  6,06 com o carbono carbonílico em  $\delta_C$  173,3 (C-13) e a possibilidade de ligação de hidrogênio existente entre os hidrogênios das hidroxilas, como visualizado no espectro de RMH  $^1H$ , auxiliaram no posicionamento do carbono carbonílico na posição C-13 (fig. 228 e 229, p. 235).

**Figura 228** – Correlação entre o hidrogênio da hidroxila e o carbono carbonílico em C-13

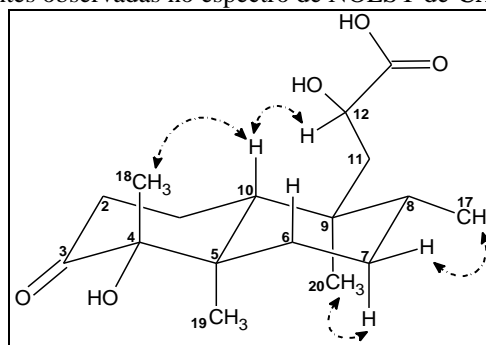


**Figura 229** - Interação proposta entre os hidrogênios presentes na hidroxilas em C-12 e C-13



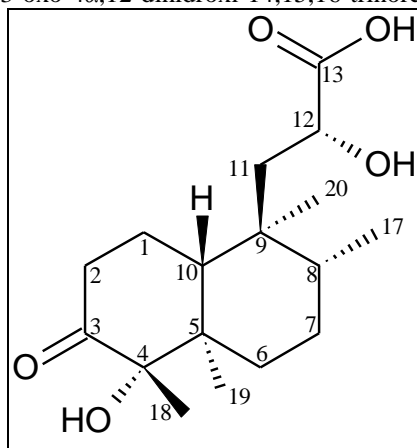
O espectro bidimensional de NOESY de **CA-15** (fig. 242, p. 241) mostrou o acoplamento homonuclear dipolar entre o hidrogênio H-10 ( $\delta_H$  2,58) com os hidrogênios H-18 ( $\delta_H$  1,38) e com o hidrogênio H-12 ( $\delta_H$  4,75), além do acoplamento dos hidrogênios metílicos H-20 ( $\delta_H$  0,80) e H-17 ( $\delta_H$  0,88) com os hidrogênios 2H-7 ( $\delta_H$  1,48). Desta forma, foi possível propor a estereoquímica relativa da molécula de **CA-15**, representada na **Figura 230**.

**Figura 230** - Correlações relevantes observadas no espectro de NOESY de **CA-15**



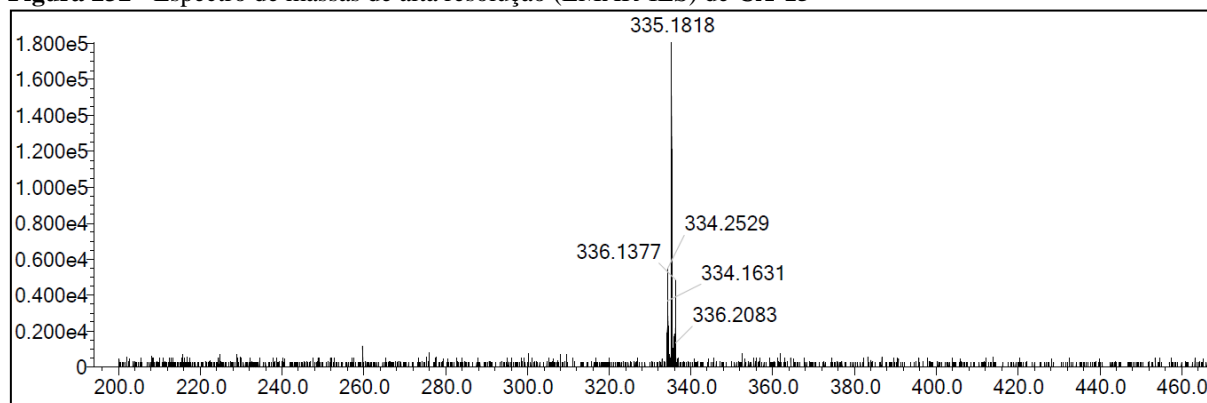
A análise de todos os dados espectroscópicos obtidos, bem como a comparação com dados obtidos para **CA-3** e **CA-4**, permitiu caracterizar **CA-15** como o inédito ácido 3-oxo-4 $\alpha$ ,12-dihidroxi-14,15,16-trinorclerodan-13-oico (fig. 231).

**Figura 231** - Estrutura de **CA-15** (ácido 3-oxo-4 $\alpha$ ,12-dihidroxi-14,15,16-trinorclerodan-13-oico)

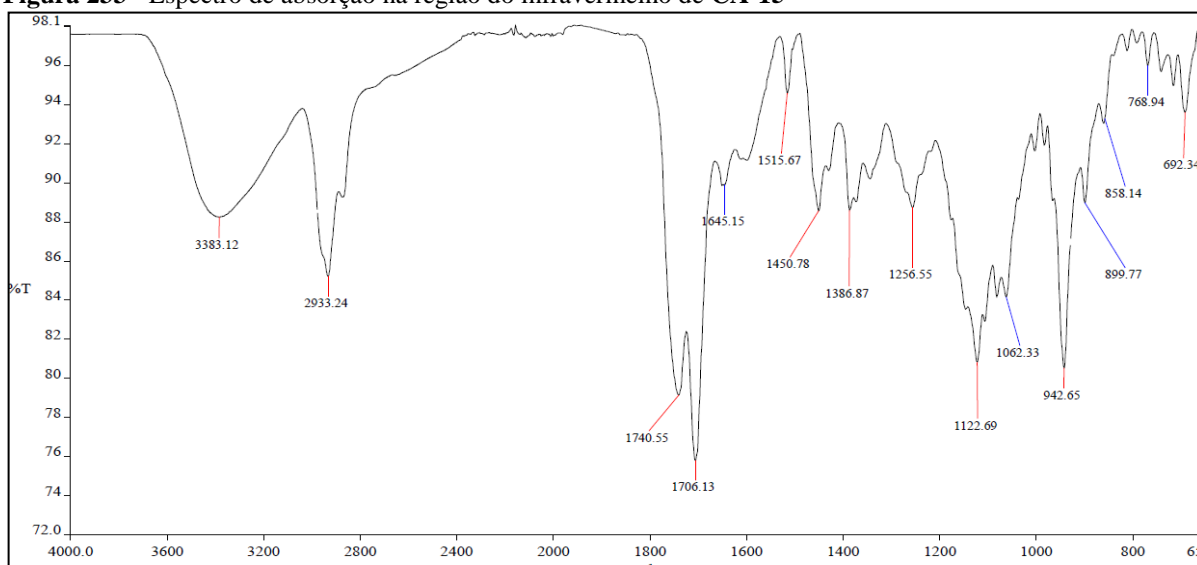


**Tabela 27** - Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC e HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-15**

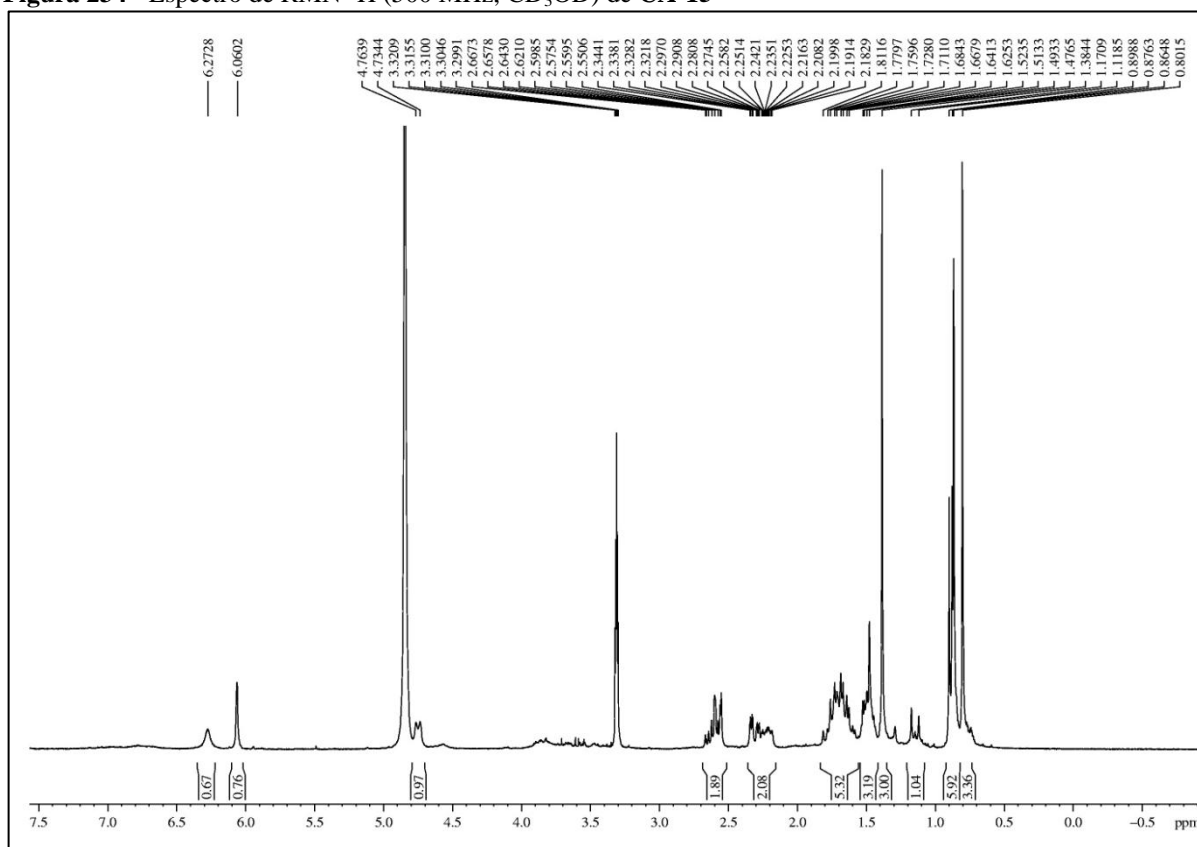
C	HSQC		HMBC		CA-3*
	$\delta_{\text{C}}$ (ppm)	$\delta_{\text{H}}$ (ppm; $J = \text{Hz}$ )	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	
1	24,7	2,21 (m) 1,65 (m)	2H-2; 1H-10		23,8
2	37,7	2,62 (m) 2,30 (ddd; 14,2, 4,8 e 1,8)	2H-1		36,2
3	216,7	-	2H-2	1H-1a; 3H-18	215,3
4	83,4	-	3H-18	2H-2; 1H-10; 3H-19	81,7
5	46,4	-	3H-19; 1H-10	2H-1; 2H-7; 3H-18	45,3
6	32,7	1,70 (m) 1,52 (m)	2H-7	3H-19; 1H-8	31,2
7	28,1	1,48 (m; 2H)	2H-6; 1H-8	3H-17	26,9
8	38,4	1,71 (m)	2H-7; 1H-8; 3H-17	2H-11; 3H-20	37,5
9	41,3	-	1H-10; 2H-11; 3H-20	2H-7; 3H-17	42,0
10	43,4	2,58 (m)	2H-1	2H-2; 3H-19; 3H-20	41,6
11	43,8	1,78 (m)		3H-20	47,3
12	65,8	4,75 (d; 14,7; 1H)	2H-11		195,2
13	173,3	-			129,7
17	16,5	0,88 (d; 6,7; 3H)		2H-7	16,7
18	22,3	1,38 (s; 3H)			21,9
19	16,1	0,86 (s; 3H)		2H-6; 1H-10	15,0
20	18,3	0,80 (s; 3H)		1H-8; 1H-10; 2H-11	17,8

\* ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz)**Figura 232** - Espectro de massas de alta resolução (EMAR-IES) de **CA-15**

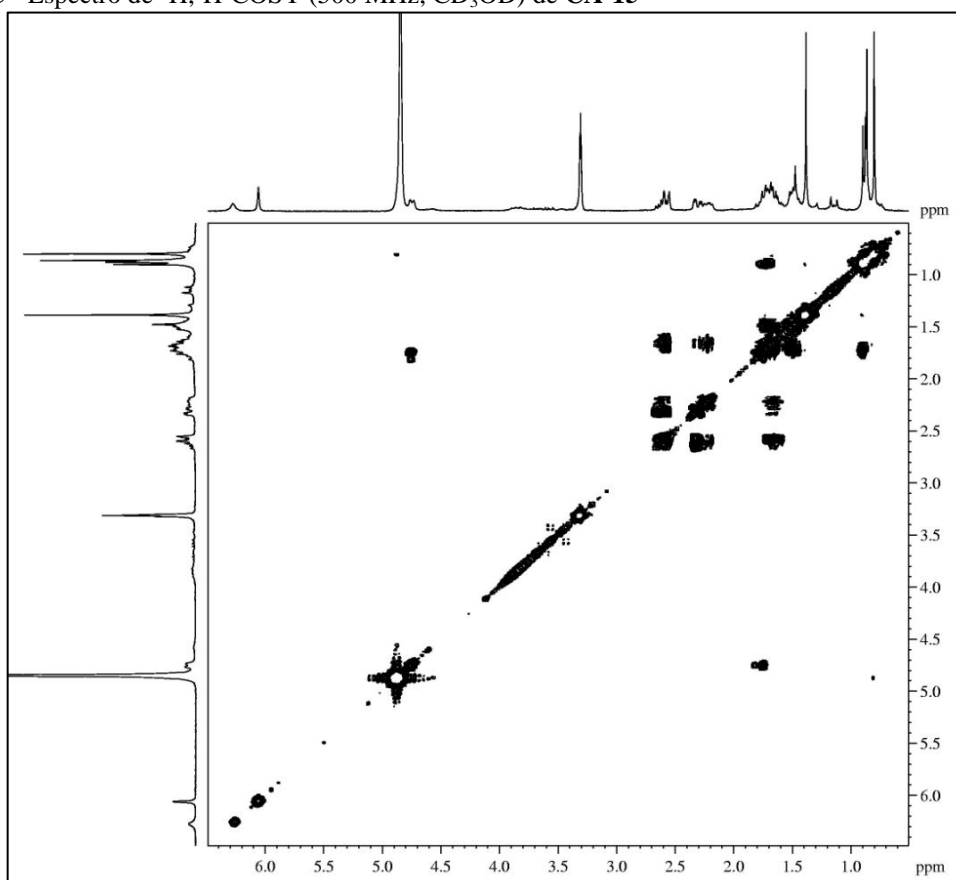
**Figura 233** - Espectro de absorção na região do infravermelho de CA-15



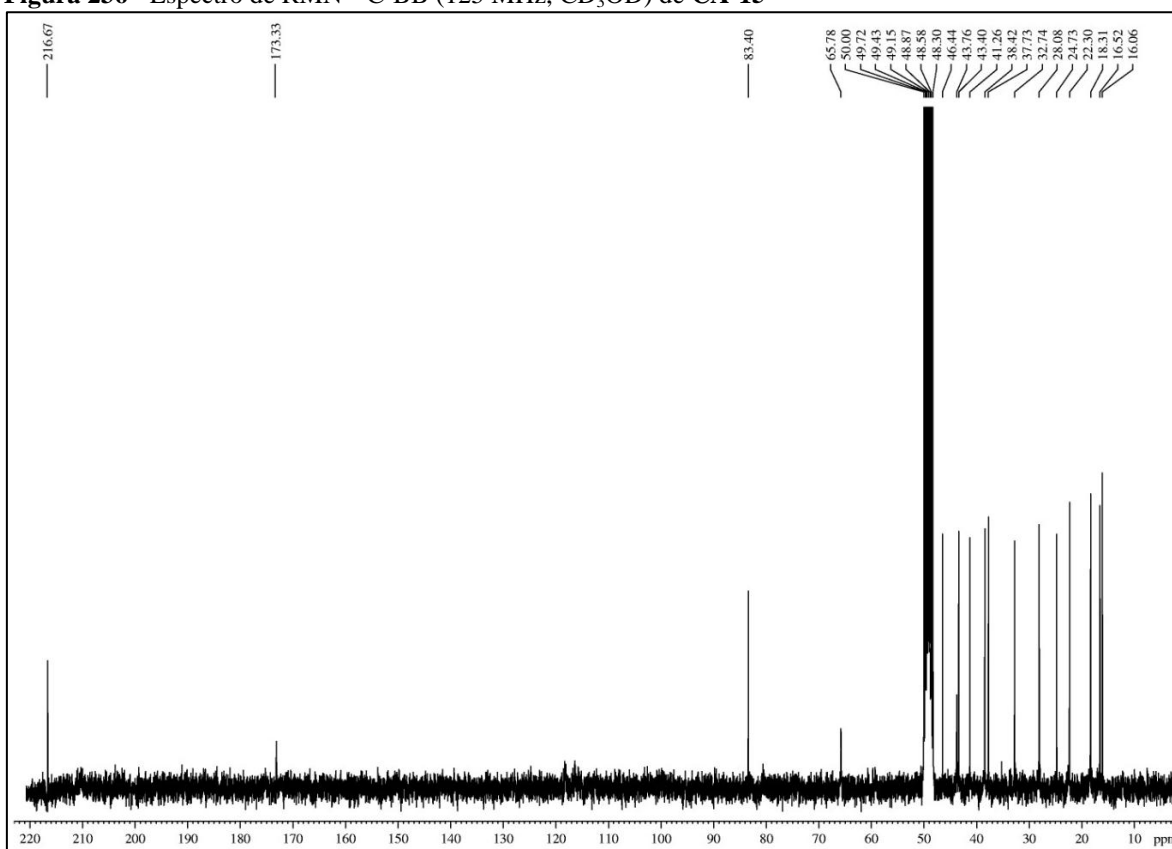
**Figura 234** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15



**Figura 235** - Espectro de  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15

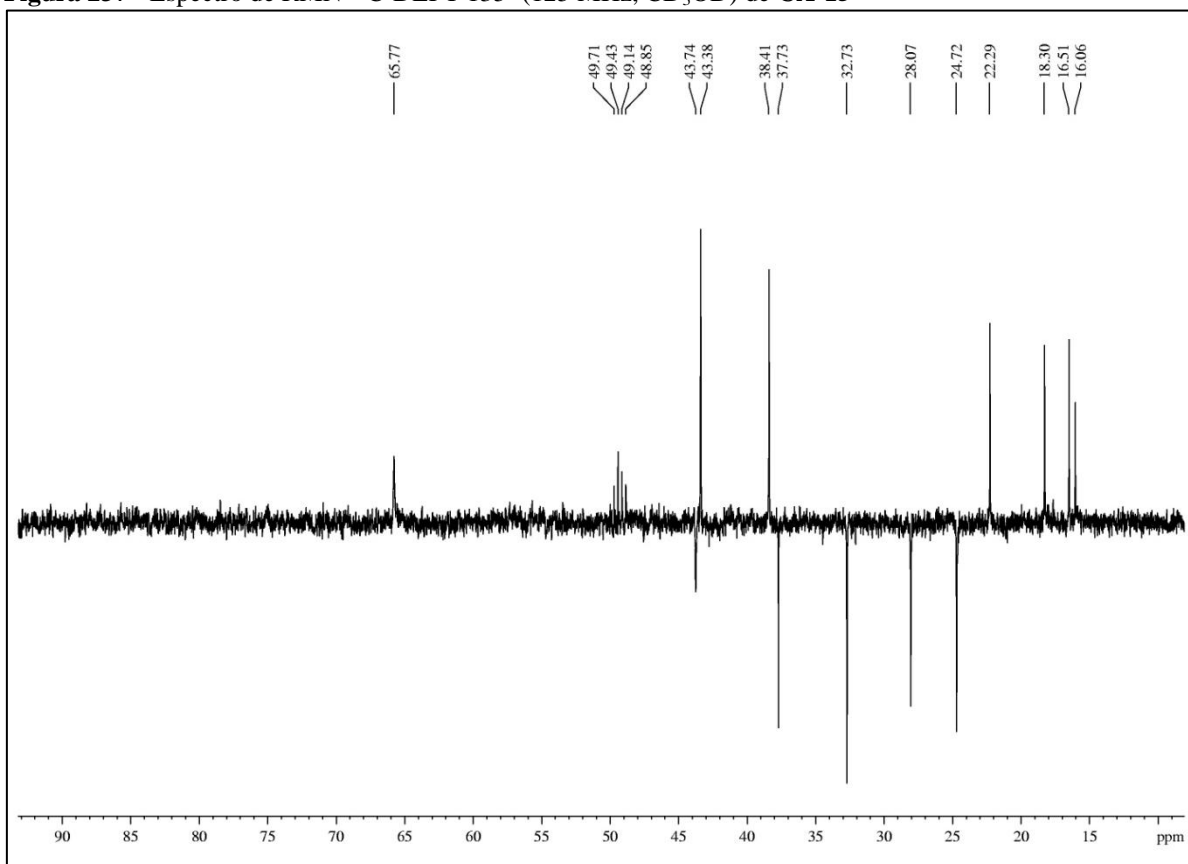


**Figura 236** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15

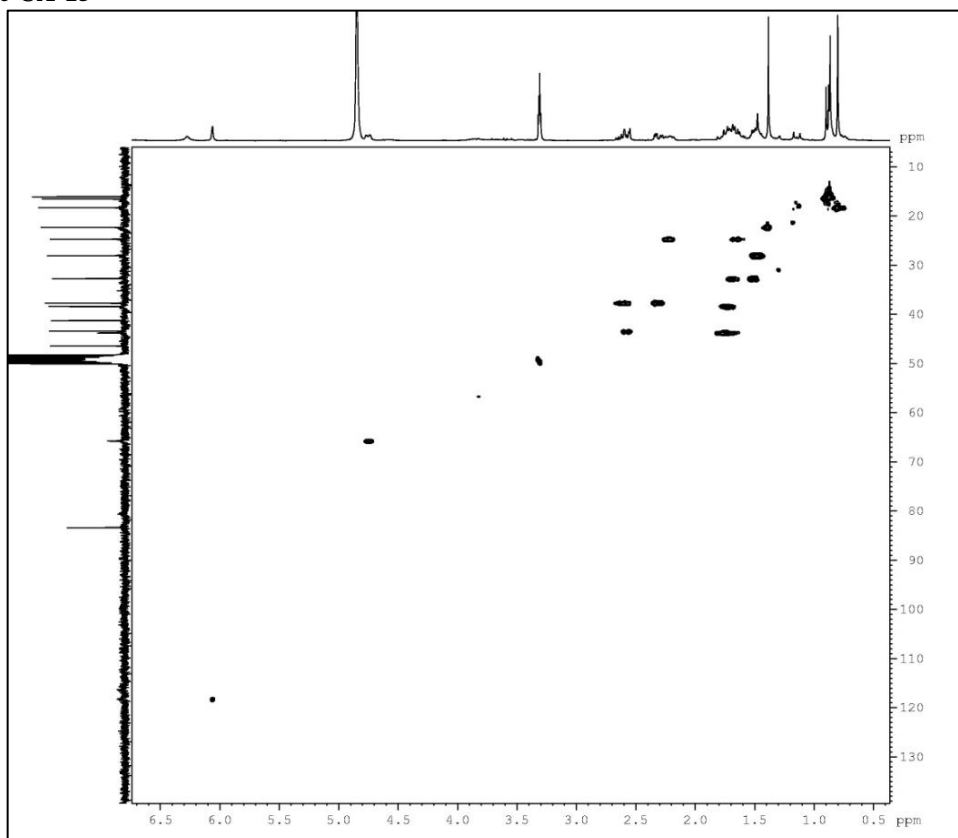




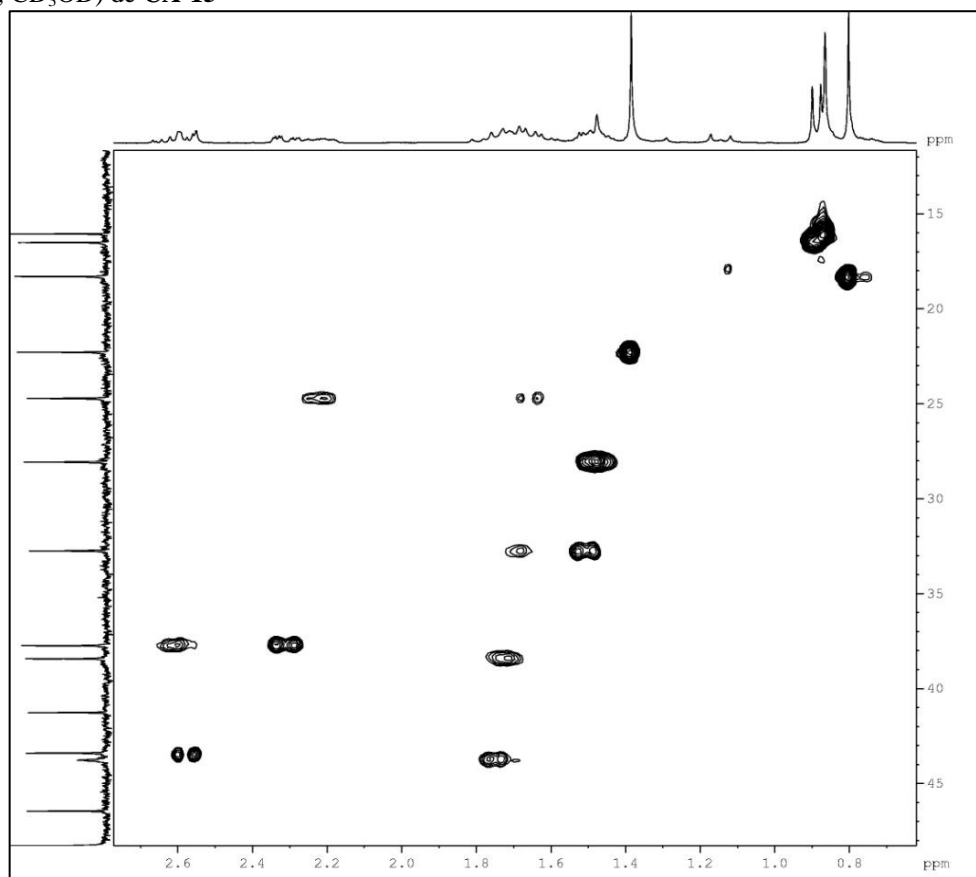
**Figura 237** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPT 135° (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-15**



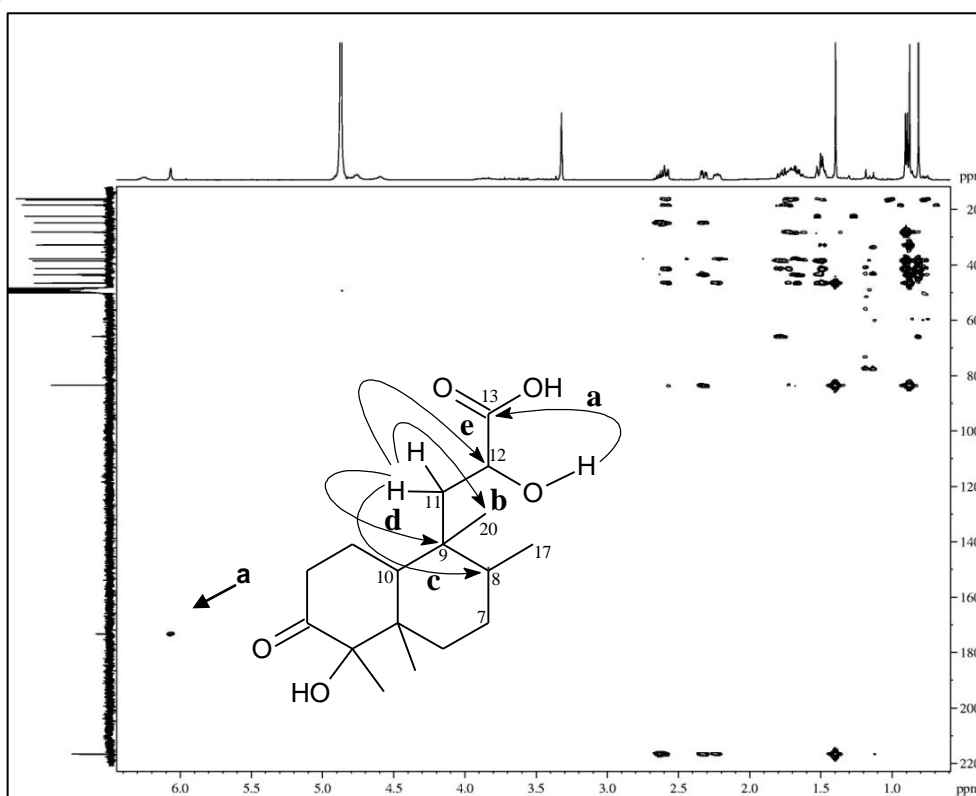
**Figura 238** - Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de **CA-15**



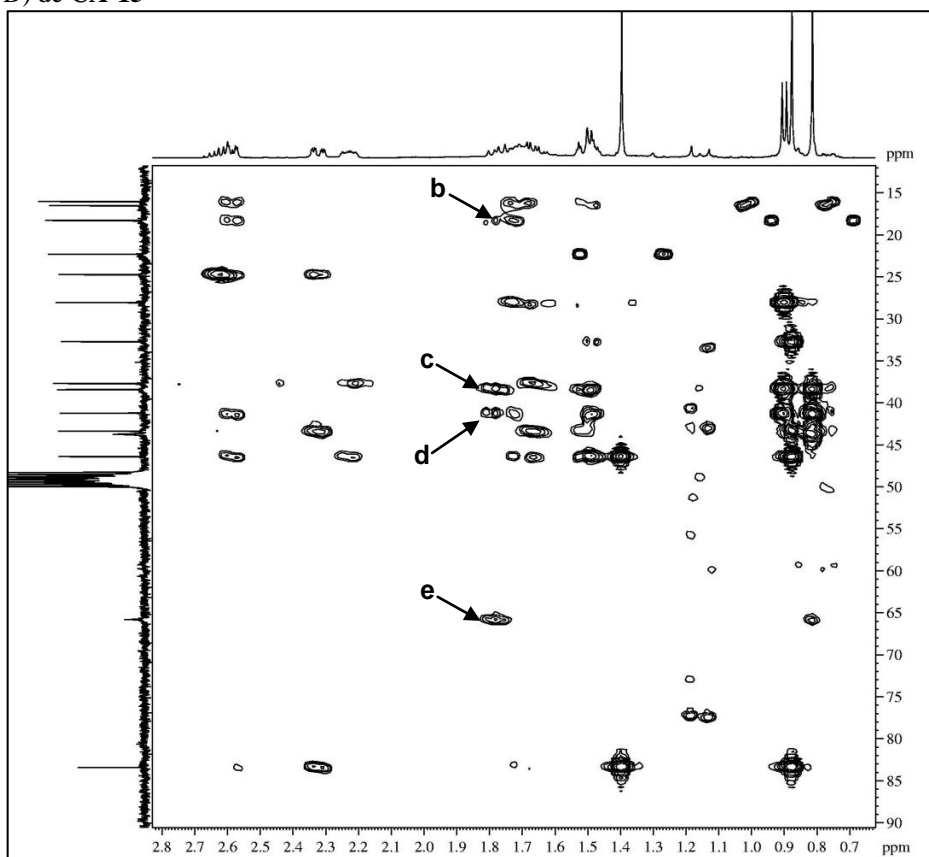
**Figura 239** – Expansão do Espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  - HSQC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15



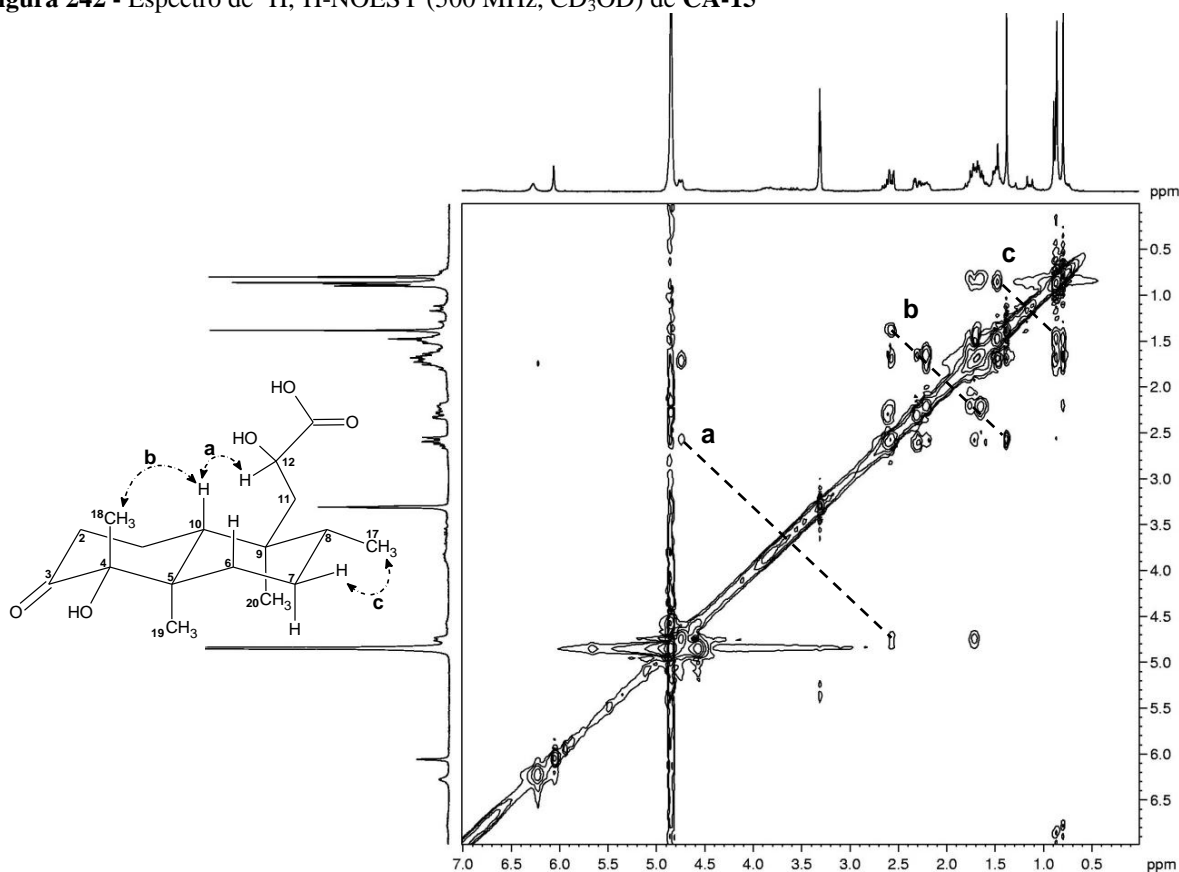
**Figura 240**- Espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15



**Figura 241** - Expansões do espectro de correlação heteronuclear  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a longa distância - HMBC (500 x 125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15



**Figura 242** - Espectro de  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) de CA-15



#### 4.16 Determinação Estrutural de CA-16

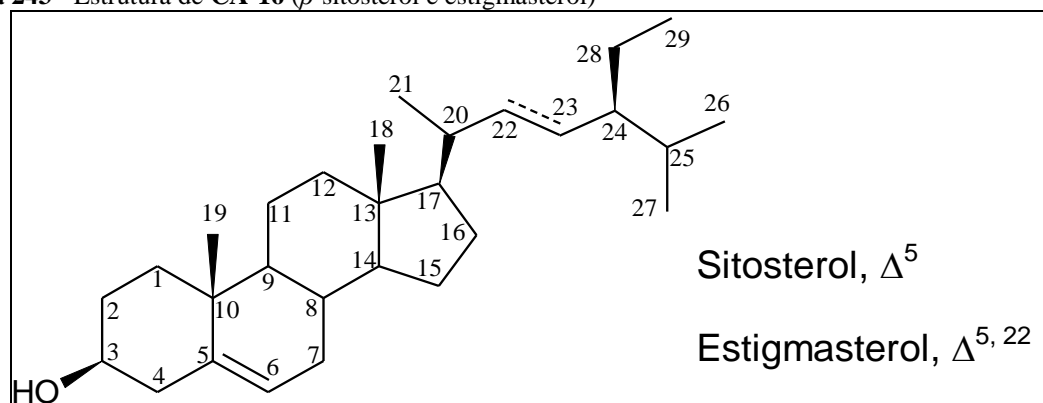
O tratamento cromatográfico a fração hexano/diclorometano, oriunda do extrato hexânico das raízes **CLRH** (item 5.5.3, p. 255), resultou no isolamento de composto sólido, com p. f. = 130,8 – 133,4 °C denominado de **CA-16** (item 5.5.3.1, p. 255).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-16** (fig. 244, p. 244) mostrou um grande número de sinais sugerindo que a mostra tratava-se de uma mistura de dois compostos. O espectro apresentou sinais centrados em  $\delta_{\text{H}}$  5,36 (d;  $J = 4,9$  Hz; H-6); 5,16 (dd;  $J = 15,2$  e 8,5 Hz; H-22) e 5,02 (dd; dd;  $J = 15,2$  e 8,5 Hz; H-23) correspondentes a átomos de hidrogênios olefínicos, um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,54 (m) característico de hidrogênio ligado a átomo de carbono carbinólico e uma grande quantidade de sinais no intervalo  $\delta_{\text{H}}$  0,67-2,30 característicos de hidrogênios ligados a átomos de carbono com hibridação  $\text{sp}^3$ , típicos de esqueleto triterpênico ou esteroidal (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

A comparação dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-16** (fig. 245, p. 244), contribuiu para conclusão de que a amostra possuía em sua estrutura duas duplas ligações, uma di e outra trissubstituída, de acordo com as informações observadas para os carbonos olefínicos em  $\delta_{\text{C}}$  140,9 (C- 5), 138,5 (C-22), 129,5 (C-23) e 121,9 (C-6). Observou-se ainda um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  72,0 (C-3), condizente com a presença de um carbono carbinólico na molécula.

A partir dos dados analisados, foi possível caracterizar **CA-16** como a mistura dos esteroides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol (fig. 243). Essa proposta foi reforçada pela comparação, em CCD, entre **CA-16** com amostra padrão e por comparação dos dados espectroscópicos obtidos com os valores descritos na literatura (GOAD, 1991) (tab. 28, p. 243).

Figura 243 - Estrutura de **CA-16** ( $\beta$ -sitosterol e estigmasterol)



**Tabela 28** - Dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de **CA-16**, comparado com os valores na literatura (GOAD, 1991) para a mistura dos esteroides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol

C	CA-16	$\beta$ -sitosterol*	CA-16	Estigmasterol*
	$\delta_{\text{C(ppm)}}$	$\delta_{\text{C(ppm)}}$	$\delta_{\text{C(ppm)}}$	$\delta_{\text{C(ppm)}}$
1	37,5	37,3	37,5	37,3
2	31,9	31,9	31,8	31,7
3	72,0	71,7	72,0	71,8
4	42,4	42,3	42,5	42,4
5	140,9	140,8	140,9	140,8
6	121,9	121,6	121,9	121,7
7	32,1	31,9	32,1	31,9
8	32,1	31,9	32,1	31,9
9	50,3	50,2	50,4	50,2
10	36,7	36,5	36,7	36,6
11	21,3	21,1	21,3	21,1
12	40,0	39,9	39,9	39,7
13	42,5	42,5	42,5	42,4
14	57,0	56,8	57,1	56,9
15	24,5	24,3	24,5	24,4
16	28,4	28,3	29,1	29,0
17	56,2	56,1	56,3	56,1
18	12,0	11,9	12,2	12,1
19	19,6	19,4	19,6	19,4
20	36,3	36,2	40,6	40,5
21	19,2	18,8	21,4	21,1
22	34,1	33,9	138,5	138,5
23	26,3	26,1	129,5	129,5
24	46,0	45,9	51,4	51,3
25	29,4	29,2	32,1	31,9
26	19,2	19,8	21,3	21,3
27	19,0	19,1	19,0	19,0
28	23,3	23,1	25,6	25,4
29	12,4	12,3	12,2	12,3

\* $\text{CDCl}_3$

Figura 244 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-16

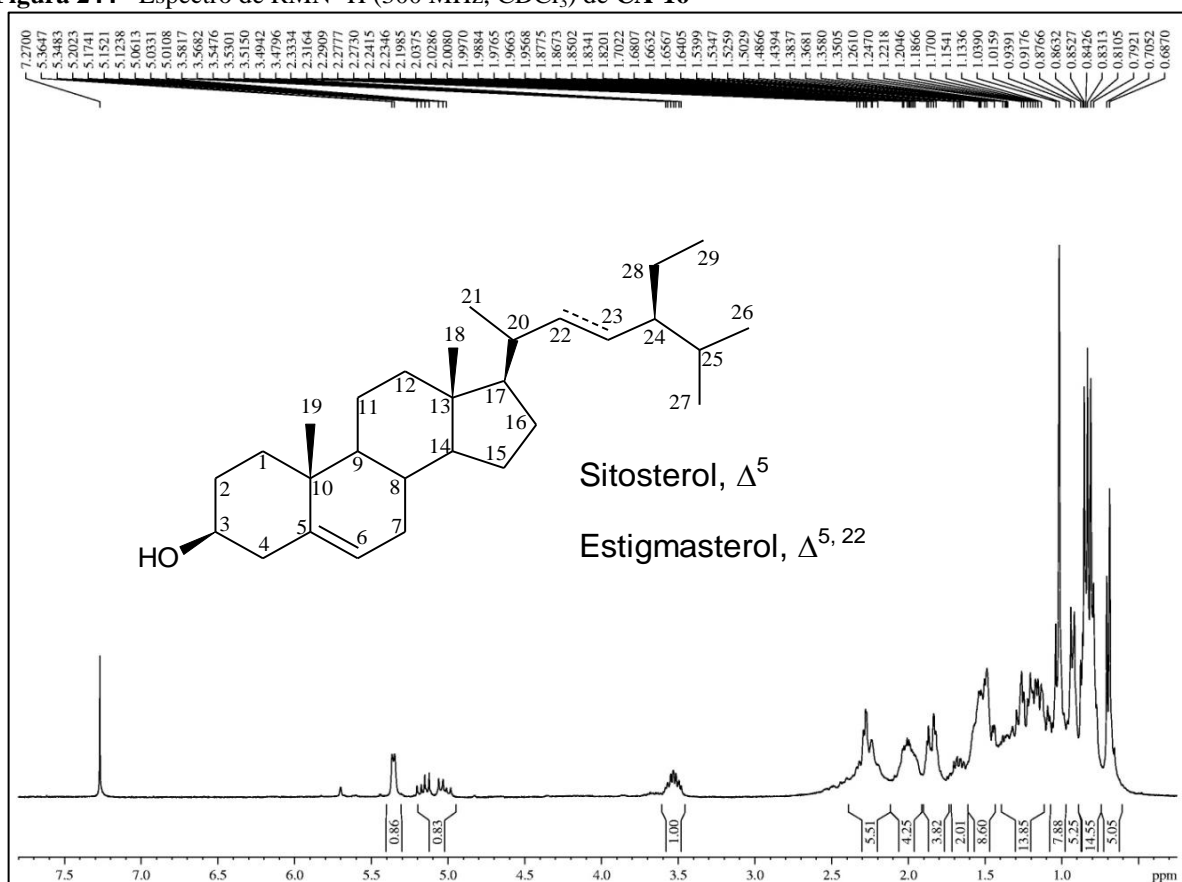
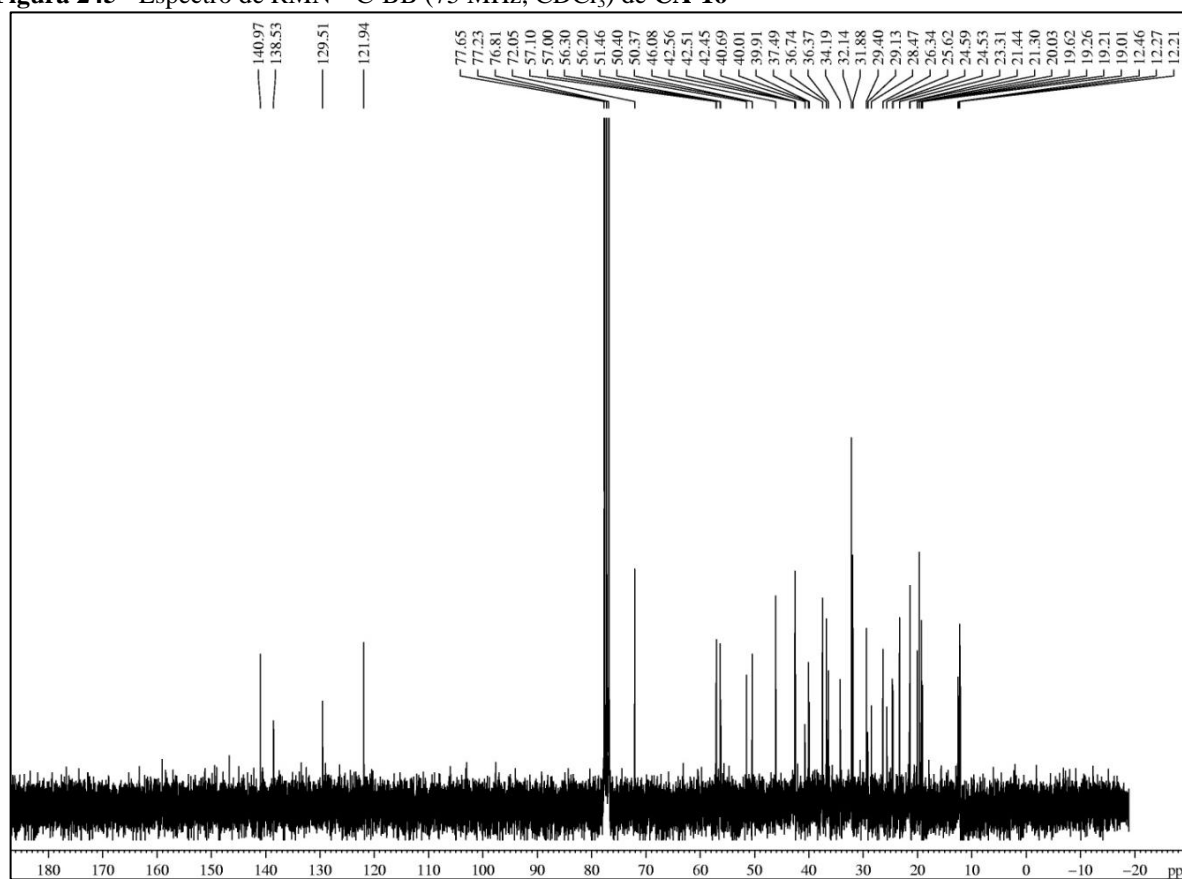


Figura 245 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -BB (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de CA-16



## 5 EXPERIMENTAL

### 5.1 Material Botânico

O material vegetal estudado (caule e raiz) foi coletado no município de Andaraí (BA), pelo Professor Edilberto Rocha Silveira, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. A identificação botânica foi realizada pela Professora Maria Lenise Guedes, da Universidade Federal da Bahia (UFBA), e as exsicatas relativas à coleta encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra (EAC), no Departamento de Biologia (UFC), com o número 46407 e no Herbário Alexandre Leal Costa (ALCB), na UFBA, com o número 92958.

### 5.2 Métodos Cromatográficos

#### 5.2.1 Cromatografia de Adsorção

Para o fracionamento dos extratos brutos e frações, bem como a separação e purificação de substâncias, foram utilizadas cromatografias de adsorção em coluna aberta utilizando-se como suportes gel de sílica 60 ( $\varnothing$  63-200  $\mu\text{m}$ ), sílica para cromatografia do tipo “*flash*” ( $\varnothing$  40-63  $\mu\text{m}$ ) da marca VETEC, gel de dextrana Sephadex<sup>®</sup> LH-20 da Pharmacia Fine Chemicals e cartuchos SPE C18 (cartuchos de octadecil-sílica) da Phenomenex. Os eluentes utilizados nas separações foram - hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água, puros ou em misturas da marca Synth<sup>®</sup>.

O comprimento e o diâmetro das colunas variaram de acordo com as amostras e quantidades de gel de sílica utilizadas. As colunas utilizadas na cromatografia de adsorção sob média pressão (cromatografia do tipo “*flash*”) foram de vidro resistente à pressão e continham bulbos no ápice, para armazenamento de solvente. Foi empregada nesta técnica, bomba de ar comprimido *NS Inalar Compact*<sup>®</sup> da Indústria de Aparelhos Médicos Ltda.

Os procedimentos cromatográficos em camada delgada (CCD) foram efetuados em cromatoplasmas de gel de sílica 60 F254 de poliéster ou alumínio da Merck e ainda através de cromatoplasmas de sílica gel 60 G da VETEC, código 1094, sobre lâminas de vidro. Os eluentes utilizados nos procedimentos cromatográficos foram - hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol da marca Synth<sup>®</sup>, puros ou em soluções, em proporções crescentes de polaridade.

As revelações das substâncias nas cromatoplasmas analíticas foram realizadas por exposição à luz ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 e 365 nm) realizada em aparelho Spectroline modelo ENF-240 C/F e/ou por aspersão com solução de vanilina (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) e ácido perclórico 0,75 mol/L (HClO<sub>4</sub>) em etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), seguido de aquecimento em chapa elétrica a 100 °C.

### 5.2.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foi realizada em equipamento da Marca Shimadzu<sup>®</sup>, do Laboratório de Fitoquímica de Plantas Medicinais (LAFIPLAM/DQOI/UFC), constituído de três bombas de alta pressão, modelo Shimadzu<sup>®</sup> LC-20 AT, detector UV Visível com arranjo de diodos Shimadzu<sup>®</sup> SPD-M20A e com forno termostático para acomodação da coluna modelo CTO-20 A.

Paras as análises cromatográficas em fase normal utilizou-se uma coluna semi-preparativa Phenomenex (10 x 250 mm, Ø 5µm). Os solventes empregados como fase móvel foram hexano, acetato de etila e isopropanol, com grau de pureza CLAE da Tedia Brazil<sup>®</sup>, filtrados a vácuo em membrana de nylon com poros de 0,22 µm (Phenomenex).

As análises em fase reversa foram realizadas em coluna semi-preparativa C-18 (Gemini<sup>®</sup>, Phenomenex) 250 x 10 mm (5 µm) e como fase móvel os solventes acetonitrila, grau de pureza CLAE, e água (Milli-Q<sup>®</sup>), purificada em um sistema Milli-Q da Millipore Corporation, que foram filtrados a vácuo em membranas de nylon com poros de 0,22 µm.

As amostras foram dissolvidas com os solventes utilizados na fase móvel e filtradas em um sistema manual de membrana de teflon com poros de 0,22 µm (Phenomenex). A vazão utilizada foi de 4,72 mL/min e o volume de injeção de 200 µL.

## 5.3 Métodos Físicos

### 5.3.1 Ponto de Fusão

Os pontos de fusão das substâncias isoladas foram determinados em equipamentos de microdeterminação digital da Mettler Toledo<sup>®</sup> com placa aquecedora FP82HT e uma central de processamento FP90. As determinações foram realizadas a uma velocidade de aquecimento de 2 °C/min e não foram corrigidos.



### 5.3.2 Rotação Óptica $[\alpha]_D$

As rotações ópticas foram obtidas em polarímetro digital da Perkin-Elmer 341 em temperatura de 20 °C e concentração de 1mg/mL de solvente ( $c = 0,1$ ).

## 5.4 Métodos Espectroscópicos e Espectrométricos

### 5.4.1 Espectroscopia na Região de Absorção do Infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em espectrômetro Spectrum 100 – FT-IR Spectrometer, da Perkin Elmer<sup>®</sup>, modelo Universal ATR Sampling Accessory, pertencente ao Laboratório de Espectrometria de Massa do Nordeste, da Universidade Federal do Ceará (LEMANOR-UFC). Os experimentos foram realizados com as amostras sólidas ou em solução, neste caso, utilizando-se o solvente diclorometano.

### 5.4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN $^1\text{H}$ ) e de Carbono-13 (RMN $^{13}\text{C}$ )

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ), uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetros Bruker, modelo Avance DPX-300 e/ou modelo Avance DRX-500, pertencentes ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN). O espectrômetro Avance DRX-300, foi operado nas frequências de 300,13 e 75,47 MHz para hidrogênio e carbono, respectivamente. Nos experimentos realizados no aparelho Avance DRX-500, foram aplicadas frequências de 499,70 MHz e 125,75 MHz para hidrogênio e carbono, respectivamente.

As amostras analisadas foram dissolvidas em 0,6 mL do solvente deuterado adequado e acondicionado em tubos de RMN de 5 mm. Os solventes deuterados utilizados nas dissoluções das amostras foram clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ), piridina ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) ou acetona ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) deuterados, da Cambridge Isotope Laboratories.

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

deslocamentos químicos foram referenciados pelos picos dos carbonos dos solventes utilizados nas análises.

As multiplicidades dos sinais de hidrogênio nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo a convenção: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplete de duplete), t (tripleto), td (triplo duplete), q (quarteto) e m (multiplete).

O padrão de hidrogenação dos carbonos foi determinado através da utilização da técnica DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), com ângulos de nutação de  $135^\circ$ , apresentando CH e  $\text{CH}_3$  com amplitudes em oposição aos  $\text{CH}_2$  seguindo convenção - C (carbono não-hidrogenado), CH (carbono metínico),  $\text{CH}_2$  (carbono metilênico) e  $\text{CH}_3$  (carbono metílico).

#### 5.4.3 Espectrometria de Massa de Alta Resolução (EMAR)

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em espectrômetro SHIMADZU, modelo LCMS-IT-TOF, equipado com uma fonte de ionização por ionização química a pressão atmosférica (Atmospheric Pressure Chemical Ionization - APCI) pertencente ao LEMANOR-UFC, sendo os *scans* adquiridos no modo positivo ou negativo. Condições gerais das análises - voltagens do capilar 3500 V; temperatura e fluxo do gás secante -  $150^\circ\text{C}$  e  $150\mu\text{L/h}$ . Nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização e solução de NaTFA foi usada como padrão para calibração do IT-TOF.

### 5.5 Estudo Fitoquímico de *Croton limae*

#### 5.5.1 Obtenção dos Extratos do Caule e Raiz

O caule de *C. limae* (1,90 kg), seco à temperatura ambiente e triturado, foi submetido à extração com etanol. O solvente foi destilado sob pressão reduzida em evaporador rotativo fornecendo um extrato de coloração escura denominado de **CLCE** (118,0 g).

As raízes de *C. limae* (2,90 kg), depois de secas e trituradas, foram submetidas à extração com hexano. Após destilação do solvente sob pressão reduzida obteve-se um extrato de coloração amarelada denominado **CLRH** (95,60 g). Em seguida a torta foi submetida à extração com etanol. A solução etanólica foi destilada em evaporador rotativo sob pressão reduzida gerando um extrato que foi denominado de **CLRE** (189,70 g).

### 5.5.2 Partição Líquido-Líquido do Extrato Etanólico do Caule (CLCE)

O extrato etanólico do caule (CLCE - 118,0 g) foi dividido em quatro alíquotas de mesma massa para realização de extração líquido-líquido. Cada fração foi solubilizada em 200 mL de MeOH/H<sub>2</sub>O na proporção de 2:1. Cada alíquota foi extraída com hexano (3 x 200 mL), diclorometano (4 x 200 mL) e acetato de etila (3 x 200 mL) utilizando um funil de 2,0 L. Após evaporação dos solventes, sob pressão reduzida em evaporador rotativo, as massas foram sumarizadas na **Tabela 29**.

**Tabela 29** – Fracionamento, por partição líquido-líquido, do extrato etanólico do caule de *Croton limae* (CLCE)

Fração	Código	Massa (g)	Rendimento (%)
Hexano	CLCEH	33,23	28,16
Diclorometano	CLCED	55,43	46,97
Acetato de etila	CLCEA	3,83	3,25
Metanol/Água	CLCEaq	21,00	17,80
Total		113,49	96,18

#### 5.5.2.1 Fracionamento Cromatográfico de CLCEH

A fração **CLCEH** (33,23 g) foi adsorvida em 35,5 g de gel de sílica ( $\emptyset_{\text{int}}$  63–200  $\mu\text{m}$ ), pulverizada em gral de porcelana e acondicionada sobre 154,0 g de gel de sílica ( $\emptyset_{\text{int}}$  63 – 200  $\mu\text{m}$ ) em coluna cromatográfica de 7,5 cm de diâmetro. Como eluentes foram utilizados hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol puros ou em misturas binárias (1:1) em ordem crescente de polaridade. Após evaporação dos solventes, sob pressão reduzida em evaporador rotativo, foram obtidas sete novas frações. As massas foram sumarizadas na **Tabela 30**.

**Tabela 30** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **CLCEH**

Fração	Eluente	Vol. (mL)	Massa (g)	Rendimento (%)
CLH-1	Hexano	200	0,66	1,99
CLH-2	Hexano/Diclorometano	400	8,47	25,49
CLH-3	Diclorometano	400	7,83	23,56
<b>CLH-4</b>	Diclorometano/AcOEt	300	11,04	33,22
CLH-5	AcOEt	200	1,14	3,43
CLH-6	AcOEt /Metanol	200	1,99	5,99
CLH-7	Metanol	100	0,29	0,87
Total			31,42	94,55

### 5.5.2.2 Fracionamento de CLH-4 e isolamento de CA-1, CA-2, CA-3 e CA-4

A fração **CLH-4** (11,04 g) (tab. 30, p. 249) foi separada em duas alíquotas de (5,5 g) e ambas foram cromatografadas em 125,0 g gel de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  63–200 $\mu\text{m}$ ) em uma coluna cromatográfica de 3,5 cm de diâmetro. Os solventes utilizados nas eluições foram hexano e acetato de etila em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade, além de acetato de etila e metanol puros. Para cada procedimento cromatográfico foram utilizados os mesmos volumes de eluentes e vidrarias de mesma capacidade. Assim, após análise em CCD, as frações foram reunidas como descrito na **Tabela 31**.

**Tabela 31** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **CLH-4**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (g)
Hex/AcOEt	90:10	100	1-9	CLH4(1-19)	0,7510
Hex/AcOEt	80:20	100	10-19	<b>CLH4(20-26)</b>	<b>1,723</b>
Hex/AcOEt	70:30	200	20-38	<b>CLH4(27-34)</b>	<b>1,775</b>
Hex/AcOEt	60:40	200	39-59	<b>CLH4(35-39)</b>	<b>0,7543</b>
AcOEt	100	100	60-71	CLH4(40-46)	0,8956
MeOH	100	100	72-82	CLH4(47-60)	1,908
				CLH4(61-68)	1,4770
				CLH4(69-74)	0,194
				CLH4(75-82)	0,7985
Rendimento					10,28 g (93,12%)

A Fração **CLH4(20-26)** (1,723 g) apresentou um sólido cristalino incolor que, após filtração, foi possível separar 88,2 mg do sólido que foi denominado de **CA-1**, cuja determinação estrutural encontra-se no item **4.1** (p. 75).

A Fração **CLH4(27-34)** (1,775 g) foi recromatografada sobre 65,5 g de gel de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  63–200 $\mu\text{m}$ ), em uma coluna cromatográfica de 2,5 cm de diâmetro, utilizando-se um volume de 600 mL da mistura hexano/acetato de etila (60:40), como eluente no modo isocrático, obtendo-se 57 frações. Após análise por CCD as frações foram reunidas e sumarizadas segundo a **Tabela 32** (p. 251).

**Tabela 32** - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração **CLH4(27-34)**

Eluente	Proporção	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Hex/AcOEt	60:40	57	1-6	276,9
			7-12	253,7
			13-18	286,6
			19-21	226,1
			22-25	132,8
			<b>26-28</b>	<b>82,7</b>
			29-32	97,3
			33-40	106,0
			41-44	88,2
			45-50	98,7
			51-57	67,8
Rendimento				1,7168 g (96,72%)

A fração f(**26-28**) (82,7 mg), apresentou-se como um sólido branco, homogêneo em CCD, sendo denominado de **CA-2**, cuja determinação estrutural encontra-se no item **4.2** (p. 103).

O fracionamento cromatográfico da fração **CLH4(35-39)** (754,3 mg) (tab. 31, p. 250) resultante da fração **CLH-4**, foi realizado sobre 28,0 g de gel de sílica ( $\emptyset_{\text{int}}$  63 – 200  $\mu\text{m}$ ) utilizando uma coluna de 2,5 cm de diâmetro e os solventes hexano, acetato de etila e metanol em misturas ou puros, em ordem crescente de polaridade, como eluente. O procedimento levou a obtenção de 60 frações, sumarizadas na **Tabela 33**.

**Tabela 33** - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração **CLH4(35-39)**

Eluente	Proporção (%)	Volume (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (g)
Hex/AcOEt	90:10	100	1-11	1-8	144,3
Hex/AcOEt	80:20	100	12-20	<b>9-12</b>	<b>83,6</b>
Hex/AcOEt	60:40	300	21-38	13-17	119,5
AcOEt	100	100	39-57	18-24	103,6
AcOEt/MeOH	50:50	50	58-63	25-34	112,6
				<b>35-60</b>	<b>132,6</b>
Rendimento					696,2 g (92,30%)

A Fração **9-12** (83,6 mg), constituída de um sólido cristalino, foi denominada de **CA-3** e sua determinação estrutural encontra-se descrita no item **4.3** (p. 113).

A Fração **35-60** (132,6 mg), proveniente da fração **CLH4(35-39)** (tab. 33, p. 251), foi submetida à cromatografia de exclusão molecular em matriz de Sephadex LH-20<sup>®</sup> (18,0 cm de altura x 3,0 cm diâmetro), utilizando metanol como eluente, obtendo-se de 30 frações de, aproximadamente, 5 mL cada (tab. 34).

**Tabela 34** - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração (**35-60**), proveniente da fração **CLH4(35-39)**

Eluente	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
MeOH	30	1-5	10,3
		6-12	22,6
		<b>13-30</b>	<b>98,0</b>
Rendimento		130,9 mg (98,72%)	

A fração **13-30** (98,0 mg) foi cromatografada sobre 18,0 g de gel de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  40 - 63  $\mu\text{m}$ ), em coluna de 2,2 cm de diâmetro, utilizando diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura binárias, em ordem crescente de polaridade segundo a **Tabela 35**.

**Tabela 35** - Dados do fracionamento cromatográfico da Fração **13-30**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Dicl/AcOEt	70:30	100	1-11	1-7	10,9
Dicl/AcOEt	50:50	200	12-33	8-20	10,5
Dicl/AcOEt	30:70	100	34-45	21-30	13,7
AcOEt/MeOH	95:5	150	46-60	32-46	15,3
MeOH	70:30	50	61-65	47-49	5,4
				<b>50-57</b>	<b>16,0</b>
				58-65	12,1
Rendimento					83,9 mg (85,61%)

A fração **50-57** (16,0 mg) apresentou-se como de material sólido amarelado que foi denominada de **CA-4**. A determinação estrutural de **CA-4** encontra-se no item **4.4** (p. 135).

### 5.5.2.3 Isolamento de CA-5

A fração **CLCEA** (3,83 g) (tab. 29, p. 249) foi submetida à cromatografia de exclusão molecular em gel de dextrana Sephadex LH-20 (18,0 cm de altura x 3,0 cm diâmetro) utilizando metanol como eluente. As frações resultantes foram analisadas por CCD e reunidas fornecendo oito frações (tab. 36, p. 253).

**Tabela 36** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **CLCEA**

Frações	Massa (mg)
1	819,4
2	576,3
3	769,0
4	559,8
5	395,5
6	368,7
<b>7</b>	<b>149,0</b>
8	137,7
Rendimento	3,775 g (98,56%)

A fração **7** (149,0 mg) foi dissolvida em uma solução metanol/água (50:50) e submetida a fracionamento em Cartucho SPE C-18. Como eluente foram utilizados solução metanol/água (50:50) e metanol puro gerando assim duas novas frações (tab. 37).

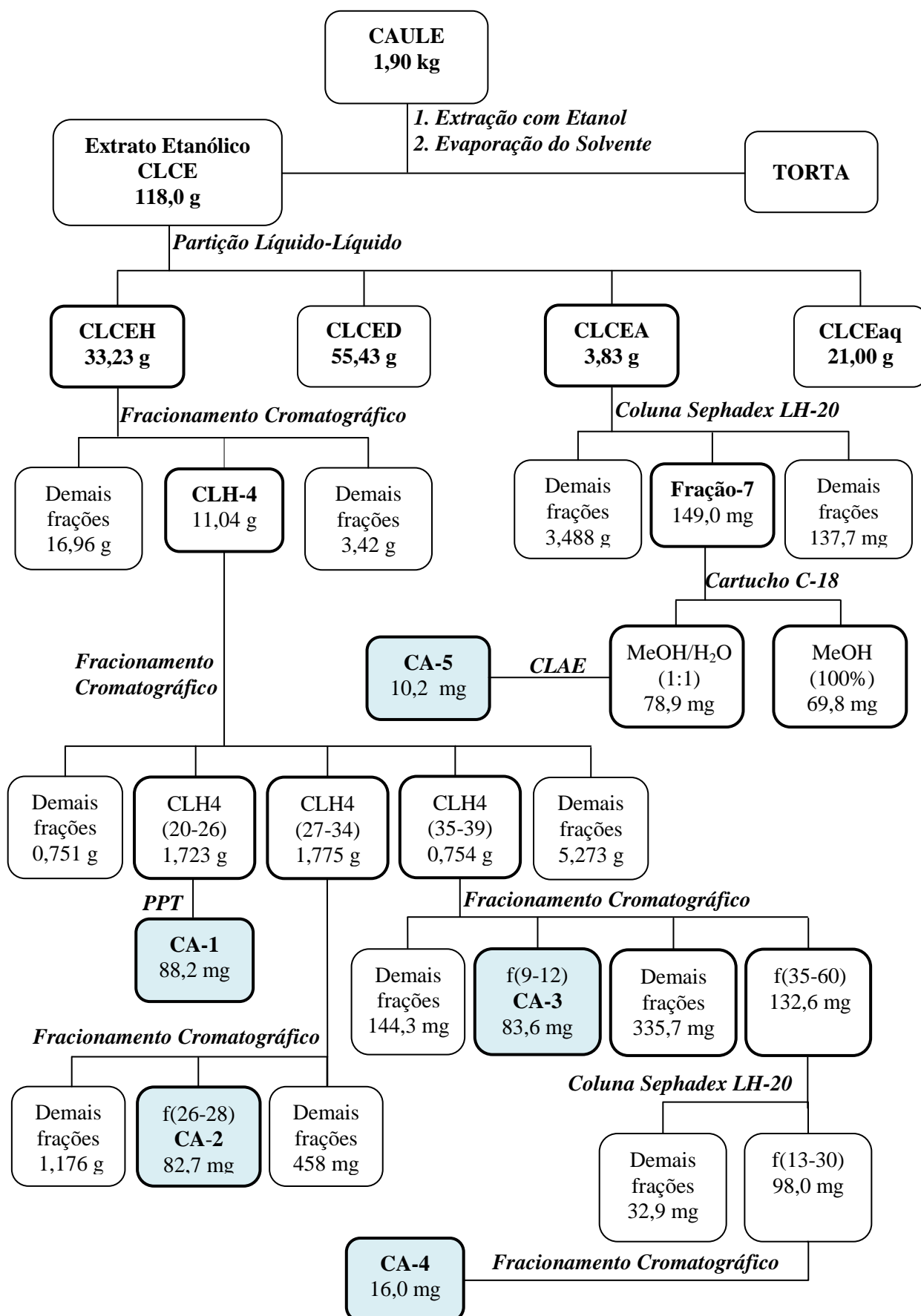
**Tabela 37** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **7**, oriunda do fracionamento de **CLCEA**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Massa (mg)
MeOH/H <sub>2</sub> O	50:50	150	<b>1</b>	<b>78,9</b>
MeOH	100	150	2	69,8

A fração metanol/água (50:50) (78,9 mg) foi submetida à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em coluna semi-preparativa (C-18) em condições de fase reversa utilizando metanol/água (50:50) como fase móvel em modo isocrático, empregando-se um fluxo de 4,72 mL/min. A partir deste procedimento foi possível obter-se um material pastoso de coloração amarelada denominada de **CA-5** (10,2 mg), cuja determinação estrutural encontra-se descrita item **4.5** (p. 144).

As substâncias **CA-1**, **CA-2** e **CA-3** foram novamente encontradas e isoladas a partir dos diversos fracionamentos cromatográficos realizados no Extrato Hexânico das Raízes (**CLRH**). Estes metabólitos foram então acumulados fornecendo material necessário para realização de reações de modificação estrutural, biotransformações e ensaios.

Figura 246 - Fluxograma de isolamento para CA-1, CA-2, CA-3, CA-4 e CA-5





### 5.5.3 Fracionamento de CLRH

Uma alíquota de 40,0 g do extrato hexânico das raízes (**CLRH**) (item 5.5.1, p. 248) foi adsorvida em 45,0 g de sílica e submetida a fracionamento cromatográfico em 75,0 g de gel de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  63–200  $\mu\text{m}$ ) em uma coluna de 7,5 cm de diâmetro. Para eluição foram utilizados hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, em ordem crescente de polaridade, originando seis frações (tab. 38).

**Tabela 38** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **CLRH**

Eluente	Volume (mL)	Massa (g)
Hexano	200	0,70
Hexano/Diclorometano	400	12,11
Diclorometano	400	13,30
Diclorometano/Acetato de etila	300	9,51
Acetato de etila	200	0,97
Metanol	100	0,55
Rendimento		37,14 g (92,85%)

#### 5.5.3.1 Isolamento de CA-6, CA-7 e CA-16

A fração hexano/diclorometano (12,11 g), oriunda do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico das raízes (**CLRH**), foi cromatografada em 50,0 g de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  63–200  $\mu\text{m}$ ), em uma coluna de 5,5 cm de diâmetro, utilizando hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias como eluentes (tab. 39).

**Tabela 39** - Fracionamento cromatográfico da fração hexano/diclorometano (12,11 g) oriunda de **CLRH**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (g)
Hex	100	100	1-11	1-15	0,1793
Hex/Dicl	90:10	200	12-30	16-52	3,879
Hex/Dicl	80:20	200	31-49	<b>53-62</b>	<b>1,856</b>
Hex/Dicl	60:40	100	50-57	<b>63-73</b>	<b>1,685</b>
Hex/Dicl	30:70	200	58-77	74-77	0,3695
Dicl	100	200	78-95	<b>78-89</b>	<b>3,280</b>
Dicl/AcOEt	50:50	100	96-103	90-97	0,0815
AcOEt/MeOH	50:50	50	104-108	98-102	0,0341
				103-108	0,0215
Rendimento					11,385 g (94,01%)

A fração **f(63-73)** apresentou um sólido como corpo de fundo que foi separado fornecendo 270,0 mg de material que, em seguida, foi cromatografado em 32,0 g de sílica “flash” ( $\varnothing_{\text{int}}$  40-60  $\mu\text{m}$ ), em coluna sob média pressão, utilizando misturas de hexano/acetato de etila em ordem crescente de polaridade (tab. 40).

**Tabela 40** - Fracionamento cromatográfico do precipitado obtido a partir da fração **f63-73** oriunda do fracionamento de **CLRH**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Hex/AcOEt	80:20	350	1-38	1-4	17,6
Hex/AcOEt	50:50	100	39-48	<b>5-18</b>	<b>95,0</b>
AcOEt	100	50	49-53	19-40	115,4
				41-53	38,1
Rendimento					266,1 mg (98,55)

A fração **(5-18)** (95,0 mg) apresentou-se como um sólido branco, sendo denominado de **CA-6**, cuja determinação estrutural encontra-se no item **4.6** (p. 151).

Observou-se a formação de um precipitado sólido na fração **f(78-89)** (3,28 g) (tab. 39, p. 255), que após a adição de uma solução de hexano/acetato de etila (50:50), foi possível obter 48,2 mg de um sólido branco denominado de **CA-7**, cuja determinação estrutural encontra-se no item **4.7** (p. 158).

Uma alíquota de 1,0 g da fração **f(53-62)** (tab. 39, p. 255) foi submetida a uma coluna cromatográfica, utilizando 35,39 g de gel de sílica em uma coluna de 3,0 cm de diâmetro. Foram utilizados hexano, acetato de etila e metanol, puros ou em misturas binárias, como eluentes levando a obtenção de 70 frações (tab. 41).

**Tabela 41** - Fracionamento cromatográfico da fração **f(53-62)** oriunda do fracionamento de **CLRH**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Hexano	100	150	1-14	1-17	341,8
Hex/AcOEt	90:10	150	15-29	<b>18-21</b>	<b>95,1</b>
Hex/AcOEt	80:20	150	30-46	22-30	148,0
Hex/AcOEt	20:80	100	47-58	31-48	232,4
AcOEt/MeOH	50:50	100	59-70	49-70	110,4
Rendimento					927,7 mg (92,77%)

A fração **(18-21)** (95,1 mg) foi recromatografada em coluna do tipo “flash” sob média pressão ( $\varnothing_{\text{int}}$  2,5 cm) contendo gel de sílica (12,0 g) e eluída isocraticamente com hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1:1). A partir deste procedimento foi possível obter um sólido cristalino,

denominado de **CA-16** (36,7 mg) cuja determinação estrutural encontra-se descrita no item **4.16** (p. 242).

### 5.5.3.2 Isolamento de CA-8, CA-9 e CA-10

As frações diclorometano/acetato de etila (9,51 g) e acetato de etila (0,97 g), provenientes do fracionamento de **CLRH** (tab. 38, p. 255), mostraram-se semelhantes em CCD e foram reunidas. Esta nova fração (10,48 g) foi submetida à cromatografia de exclusão molecular em matriz de Sephadex LH-20 (18,0 cm de altura x 3,0 cm diâmetro), utilizando metanol como eluente. Ao final das eluições as frações foram reunidas em três novos grupos (tab. 42).

**Tabela 42** - Fracionamento cromatográfico da fração resultante da união das frações Diclorometano/Acetato de etila e Acetato de etila, provenientes de CARH

Frações	Massa (g)	Rendimento (%)
<b>F1(D/A)</b>	4,98	47,5
<b>F2(D/A)</b>	<b>3,75</b>	35,8
<b>F3(D/A)</b>	<b>1,54</b>	14,7

A fração **F3(D/A)** (1,54 g) foi então cromatografada em 26,0 g de gel de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  63 – 200  $\mu\text{m}$ ), em coluna de 3,0 cm de diâmetro, utilizando diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura binárias, obtendo-se 9 novas frações (tab. 43).

**Tabela 43** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **F3(D/A)**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Massa (mg)
Dicl	100	100	F3(D/A)-(1)	57,2
Dicl/AcOEt	90:10	200	F3(D/A)-(2)	592,5
Dicl/AcOEt	80:20	200	<b>F3(D/A)-(3)</b>	<b>342,1</b>
Dicl/AcOEt	70:30	100	F3(D/A)-(4)	59,8
Dicl/AcOEt	60:70	100	F3(D/A)-(5)	34,9
Dicl/AcOEt	50:50	100	F3(D/A)-(6)	34,7
AcOEt	100	100	F3(D/A)-(7)	84,4
AcOEt/MeOH	50:50	100	F3(D/A)-(8)	96,6
MeOH	100	50	F3(D/A)-(9)	32,6
Rendimento			1,335 g (86,69%)	

A **F3(D/A)-(3)** (342,1 mg) foi submetida à CLAE, em fase normal, utilizando uma solução de hexano/acetato de etila na proporção equivalente (50:50) como eluente no modo isocrático. A partir deste procedimento obteve-se um material denso, de coloração amarelada, denominado de **CA-8** (22,4 mg) cuja determinação estrutural encontra-se no item **4.8** (p. 170).

A fração **F2(D/A)** (3,75 g) (tab. 42, p. 257) foi cromatografada em 34 g de gel de sílica ( $\text{\Oint}$  63 - 200  $\mu\text{m}$ ), em coluna de 4,0 cm de diâmetro, utilizando diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura binárias obtendo-se 77 frações (tab. 44).

**Tabela 44** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **F2(D/A)**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Hex/AcOEt	80:20	200	1-18	F2(D/A) (1-7)	11,9
Hex/AcOEt	60:40	200	19-38	F2(D/A) (8-12)	29,0
Hex/AcOEt	40:60	200	39-60	F2(D/A) (13-17)	125,3
AcOEt	100	100	61-71	F2(D/A) (18-25)	475,0
MeOH	100	50	72-77	F2(D/A) (26-40)	1105,9
				<b>F2(D/A) (41-55)</b>	<b>510,0</b>
				F2(D/A) (56-61)	730,4
				F2(D/A) (62-69)	306,7
				F2(D/A) (70-77)	107,9
Rendimento					3,402 g (90,72%)

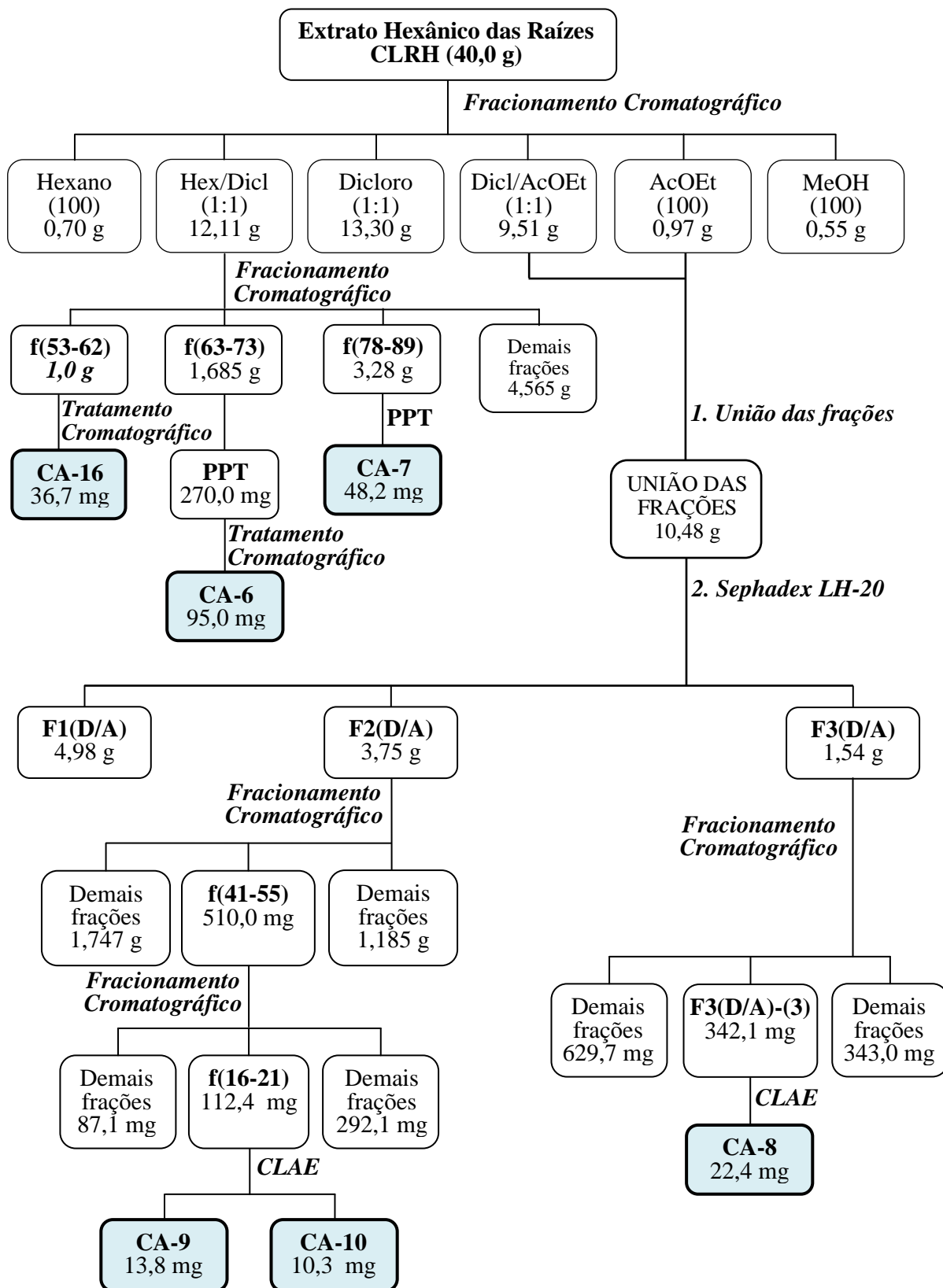
A Fração **F2(D/A) (41-55)** (510,0 mg) foi cromatografada em 25 g de gel de sílica ( $\text{\Oint}$  40-63  $\mu\text{m}$ ), em coluna de 2,5 cm de diâmetro, utilizando diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em mistura binárias, gerando 42 frações (tab. 45).

**Tabela 45** - Dados do fracionamento cromatográfico da fração **F2(D/A)-(41-55)**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Frações	Frações Reunidas	Massa (mg)
Dicl/AcOEt	80:20	150	1-14	1-15	87,1
Dicl/AcOEt	50:50	100	15-24	<b>16-21</b>	<b>112,4</b>
AcOEt	100	100	25-35	22-28	106,2
MeOH	100	50	36-42	29-36	98,6
				37-42	87,3
Rendimento					491,6 mg (96,39%)

A fração **(16-21)** (112,4 mg) foi submetida à CLAE, em fase reversa, utilizando uma solução de água/acetonitrila (55:45), como eluente no modo isocrático. A partir deste procedimento foi possível obter-se um material sólido denominado de **CA-9** (13,8 mg) e um material de aspecto resinoso denominado de **CA-10** (10,3 mg). As determinações estruturais de **CA-9** e **CA-10** estão descritas nos itens **4.9** (p. 180) e **4.10** (p. 190) respectivamente.

Figura 247 - Fluxograma de isolamento para CA-6, CA-7, CA-8, CA-9, CA-10 e CA-16



### 5.5.4 Partição Líquido-Líquido do Extrato Etanólico das Raízes (CLRE)

Uma alíquota de 30,0 g do extrato etanólico das raízes de *Croton limae* (CLRE) (item 5.5.1, p. 248) foi submetida à partição líquido-líquido, através de extrações sucessivas com hexano, diclorometano, acetato de etila e n-butanol em um funil de separação de 2,0 L. Os dados estão presentes na **Tabela 46**.

**Tabela 46** - Partição líquido-líquido de uma alíquota de 30,0 g de CLRE

Eluente	Vol. (mL)	Massa (g)	Rendimento (%)
Hexano	4 x 200	5,90	19,7
Diclorometano	6 x 200	10,90	36,3
Acetato de etila	6 x 200	<b>3,60</b>	12,0
n-Butanol	4 x 200	4,20	14,0
Aquosa	-	4,30	14,3

#### 5.5.4.1 Isolamento de CA-11, CA-12, CA-13, CA-14 e CA-15

A fração acetato de etila (3,60 g), oriunda da partição líquido-líquido do extrato etanólico das raízes (CLRE), foi dividida em três alíquotas e cromatografadas em matriz de Sephadex LH-20 (18,0 cm de altura x 3,0 cm diâmetro), utilizando 1,2 g de amostra por eluição e metanol como eluente. As frações resultantes ao final das três eluições foram analisadas por CCD e reunidas de acordo com as suas semelhanças, fornecendo cinco frações (tab. 47).

**Tabela 47** - Dados do fracionamento cromatográfico, em Sephadex LH-20, da fração acetato de etila proveniente de CLRE

Frações	Massa (mg)
Fr1	197,2
Fr2	211,7
<b>Fr3</b>	<b>1102,0</b>
<b>Fr4</b>	<b>1034,0</b>
<b>Fr5</b>	<b>977,3</b>
Rendimento	3,522 g (97,84%)

A fração **Fr5** (977,3 mg) foi dissolvida em uma solução metanol/água (10:90) e submetida a fracionamento em Cartucho SPE C-18 (PHENOMENEX) utilizando solução de metanol/água, em proporção crescente de metanol e, posteriormente, metanol puro como eluentes. Ao final deste processo foram obtidas seis frações (tab. 48, p. 261).

**Tabela 48** - Dados do fracionamento cromatográfico, em Cartucho C-18, de **Fr5**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Fração	Massa (mg)
MeOH/H <sub>2</sub> O	10:90	200	F1(Fr5)	131,3
MeOH/H <sub>2</sub> O	20:80	200	F2(Fr5)	185,7
MeOH/H <sub>2</sub> O	40:60	200	F3(Fr5)	235,2
MeOH/H <sub>2</sub> O	60:40	200	<b>F4(Fr5)</b>	<b>189,1</b>
MeOH/H <sub>2</sub> O	80:20	200	<b>F5(Fr5)</b>	<b>126,6</b>
MeOH	100	200	<b>F6(Fr5)</b>	<b>95,2</b>
<b>Rendimento</b>				963,1 mg (98,55%)

A fração **F5(Fr5)** (126,6 mg) foi dissolvida em solução metanol/água (50:50) e submetida a fracionamento em Cartucho SPE C-18 utilizando como eloquente uma solução de metanol/água (50:50) e, posteriormente, metanol puro. A fração metanólica (89,0 mg) foi submetida à CLAE, em fase reversa, utilizando água/acetoneitrila (70:30) como eloquente no modo isocrático. Neste procedimento obteve-se um material sólido amarelado denominado de **CA-11** (7,2 mg) e sua determinação estrutural encontra-se no item **4.11** (p. 200).

A fração **F6(Fr5)** (95,2 mg) foi dissolvida em uma solução metanol/água (90:10) e submetida a fracionamento em um cartucho de fase reversa de sílica C-18 (PHENOMENEX) utilizando como eloquente uma solução de metanol/água (90:10) e, posteriormente, metanol puro. Ao final deste processo foi possível isolar um precipitado amarelo da fração metanol/água (90:10) que foi denominado de **CA-12** (10,4 mg) e sua determinação estrutural encontra-se no item **4.12** (p. 206).

A fração **Fr3** (1,102 g), oriunda do fracionamento cromatográfico, em Sephadex LH-20, da fração acetato de etila proveniente de **CLRE** (tab. 47, p. 260), foi dividida em quatro alíquotas e submetida a fracionamento em cartucho SPE C-18 (PHENOMENEX). Cada alíquota foi dissolvida em solução metanol/água (25:75) e eluídas com soluções de metanol/água (25:75), metanol/água (50:50) e, posteriormente, metanol puro. As Frações semelhantes foram reunidas gerando três novas frações (tab. 49).

**Tabela 49** - Dados do fracionamento cromatográfico, em Cartucho C-18, de **Fr3**

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Fração	Massa (mg)
MeOH/H <sub>2</sub> O	25:75	200	(Fr3)-F1	398,5
MeOH/H <sub>2</sub> O	50:50	200	<b>(Fr3)-F2</b>	<b>430,6</b>
MeOH	100	200	(Fr3)-F3	250,3
<b>Rendimento</b>				1,079 g (97,91%)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em fase reversa da fração **(Fr3)-F2** (430,6 mg), utilizando uma solução de água/acetonitrila (60:40) como eloquente no modo isocrático, permitiu obter dois compostos denominada de **CA-13** (17,1 mg) e **CA-14** (11,6 mg), cujas determinações estruturais encontram-se nos itens **4.13** (p. 214) e **4.14** (p. 224), respectivamente.

A fração **Fr4** (1,034 g), oriunda do fracionamento cromatográfico, em Sephadex LH-20, da fração acetato de etila proveniente de **CLRE** (tab. 47, p. 260), foi dividida em quatro alíquota e submetida a fracionamento em cartucho de fase reversa de sílica C-18 (PHENOMENEX). Cada alíquota foi dissolvida em uma solução metanol/água (70:30) sendo eluídas com soluções de metanol/água (30:70), metanol/água (50:50), metanol/água (70:30) e, posteriormente, metanol puro. Ao final deste processo foram obtidas quatro frações referentes aos quatro eluentes utilizados (tab. 50).

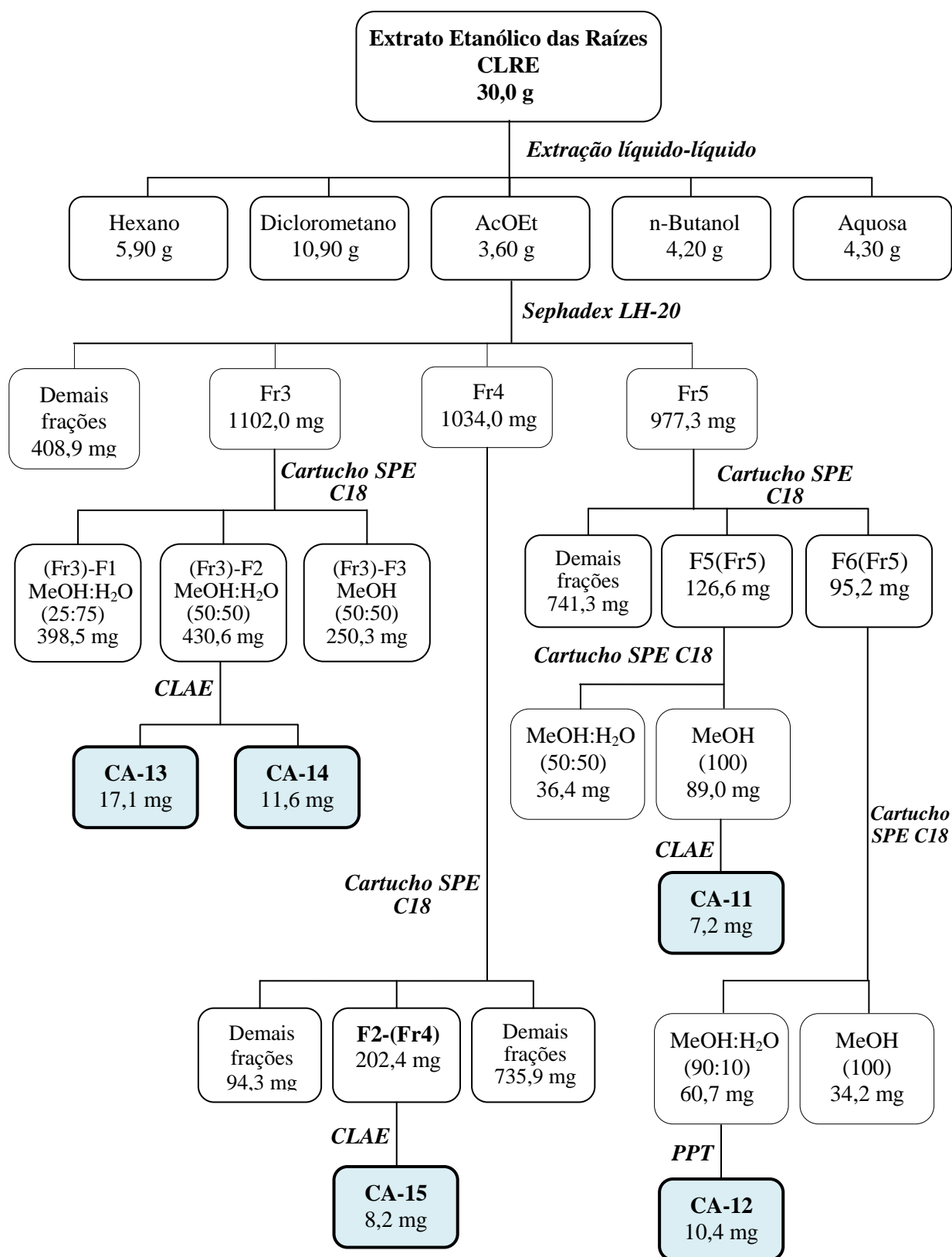
**Tabela 50** - Dados do fracionamento cromatográfico, em Cartucho C-18, de **Fr4**.

Eluente	Proporção (%)	Vol. (mL)	Fração	Massa (mg)
MeOH/H <sub>2</sub> O	30:70	200	F1-(Fr4)	64,3
MeOH/H <sub>2</sub> O	50:50	200	<b>F2-(Fr4)</b>	<b>202,4</b>
MeOH/H <sub>2</sub> O	70:30	200	F3-(Fr4)	535,7
MeOH	100	200	F4-(Fr4)	200,2
Rendimento				1,002 g (96,96%)

A fração metanol/água (50:50), **F2-(Fr4)** (202,4 mg), foi então submetida à CLAE, em fase reversa, utilizando uma solução de água/acetonitrila (60:40) como eloquente no modo isocrático. A partir deste procedimento foi possível obter um material sólido de coloração amarelada denominada de **CA-15** (8,2 mg), cuja determinação estrutural encontra-se no item **4.15** (p. 233).



Figura 248 - Fluxograma de isolamento para CA-11, CA-12, CA-13, CA-14 e CA-15



## 5.6 Derivados Reacionais

### 5.6.1 Obtenção de Amidas Aromáticas a partir de CA-1

Em um balão de 5,0 mL, uma solução de trifetilfosfina (2,0 mmol), em tetracloreto de carbono (3,0 mL), foi mantida sob refluxo e agitação magnética, em atmosfera de nitrogênio, por 5,0 h. Após este tempo, uma solução de **CA-1** (2 mmol), dissolvido em tetracloreto de carbono, foi adicionada ao sistema com o refluxo e agitação magnética mantidos por 30 min. Após este período, a amina (4,0 mmol) foi adicionada diretamente, quando líquida, ou dissolvida em tetracloreto de carbono, quando sólida, com o sistema reacional mantida sob agitação por 24 h à temperatura ambiente. Os procedimentos foram conduzidas até a observação do consumo do “spot” referente ao material de partida em CCD.

Em seguida, os solventes das misturas reacionais foram evaporados sob pressão reduzida e os resíduos foram submetidos à cromatografia em gel de sílica ( $\varnothing_{\text{int}}$  40 – 60 $\mu\text{m}$ ) utilizando, como eloquente, a mistura dos solventes hexano/acetato de etila (80:20), acetato de etila e metanol. Os rendimentos das reações encontram-se na **Tabela 51**.

**Tabela 51** - Aminas reagentes e rendimento das reações com **CA-1**

AMINA	CÓDIGO	RENDIMENTO (%)
<i>p</i> -toluidina	<b>R1CA1</b>	78,0
<i>p</i> -cloroanilina	<b>R2CA1</b>	83,5
anilina	<b>R3CA1</b>	82,7
<i>p</i> -anisidina	<b>R4CA1</b>	84,6

### 5.6.2 Reação de Metilação de CA-1 e CA-2

Os compostos **CA-1** (ácido *ent*-caur-16-en-18-oico) e **CA-2** (ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico) foram submetidos a reações de metilação para obtenção dos seus respectivos ésteres metílicos (**CA1-ME** e **CA2-ME**).

20,0 mg de cada substrato foram dissolvidos em 3,0 mL de acetona e acondicionados, separadamente, em balões de 10 mL. Em cada balão, foram adicionados 20,0 mg de carbonato de potássio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) e, em seguida, 0,2 mL de iodometano. Os sistemas foram mantidos sob agitação magnética por 2,5 horas, sendo acompanhada por CCD, até verificar que todo material de partida havia reagido.

Após este período, as misturas reacionais foram filtradas e as soluções resultantes evaporadas sob pressão reduzida. Os resíduos obtidos foram cromatografados em gel de sílica

(Øint 40-60µm), utilizando como eloquente a mistura binária dos solventes hexano/acetato de etila (90 - 10), para obtenção dos respectivos ésteres metílicos.

**Tabela 52** - Rendimento das reações de metilação de **CA-1** e **CA-2**

Substrato	CÓDIGO	RENDIMENTO (%)
CA-1	CA1-ME	85,0
CA-2	CA2-ME	83,5

### 5.6.3 Reação de Redução de CA-3

O composto **CA-3** (3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno) foi submetido à reação com borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) visando à obtenção de álcoois a partir das carbonilas presentes na estrutura do metabólito.

Uma alíquota de 30,0 mg do substrato foi dissolvida em 1,5 mL de metanol e acondicionados em um balão de 10 mL. Foram adicionados 10,0 mg de borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), em banho de gelo, sendo o sistema mantido sob agitação magnética por 2,0 h. A reação foi acompanhada por CCD, até verificar todo o consumo do material de partida.

Após este período, foi adicionado água destilada a mistura reacional e esta foi então submetida à extração líquido-líquido utilizando acetato de etila como solvente (3 x 100 mL). A fase orgânica foi evaporada, sob pressão, em rotoevaporador.

A fração orgânica resultante foi então cromatografada em 10,0 g de sílica gel (Øint 40 – 60µm) utilizando, como eloquente, a mistura dos solventes diclorometano/acetato de etila (70 -30), acetato de etila e metanol, obtendo-se dois produtos reacionais denominados de **CA3RED(A)** e **CA3RED(B)** (tab. 53).

**Tabela 53** - Rendimento dos produtos das reduções das carbonilas de **CA-3**

PRODUTO	RENDIMENTO (%)
CA3RED(A)	35,0
CA3RED(B)	42,0

## 6 BIOTRANSFORMAÇÃO

Em quatro frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 mL do meio líquido de batata-dextrose sintético (BD), adicionou-se um disco da cultura fúngica de *Rhizopus stolonifer* no meio de batata-dextrose-agar (BDA) e manteve-se em condição de cultivo estático por 10 dias. Após esse período, o micélio foi separado do caldo de cultura por filtração a vácuo, sob condições assépticas, utilizando água destilada como solvente de lavagem.

O micélio do fungo *Rhizopus stolonifer* após lavagem com água destilada foi pesado, rendendo um micélio de massa 30 g que em seguida foi ressuspenso em solução tampão fosfato pH 7,0 juntamente com 30 mg de **CA-3**, previamente solubilizado em 100 µL de DMSO. O meio reacional foi mantido sob agitação por 14 dias a 170 rpm a temperatura de 23 °C. Após o tempo reacional a solução tampão foi saturada com cloreto de sódio e extraída através de partição líquido-líquido com 50 mL de acetato de etila.

Após evaporação do solvente, sob pressão reduzida, foi obtido o extrato do meio reacional. Todo esse procedimento foi realizado em triplicata, e o tampão fosfato contendo somente o substrato e o fungo, foi empregado como branco.

Para isolamento do produto resultante da biotransformação de **CA-3** o extrato foi submetido à análise por CLAE, utilizando um método isocrático CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (67:33), em uma coluna ODS semi-preparativa da marca Phenomenex<sup>®</sup> (250 mm x 10 mm, 5 µm), com fluxo de 4,72 mL/min. Foram feitas injeções de 200 µL de amostra em concentração de 20 mg/mL. Para detecção das frações utilizou-se um faixa com comprimentos de onda que variavam de 200 a 380 nm.

O produto de biotransformação do substrato **CA-3** foi isolado com um rendimento de 52,0% e sua determinação estrutural encontra-se no item **4.3.1.3** (p. 131).

## 7 ATIVIDADES BIOLÓGICAS

A investigação de citotoxicidade das substâncias isoladas e derivados reacionais obtidos a partir de *Croton limae* foi realizada com 3 linhagens tumorais. As células com as linhagens tumorais humanas utilizadas no teste foram OVCAR-8 (ovário), SF-295 (glioblastoma) e HCT-116 (colón), cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA). Estas foram cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub> (MDA-MB435, HCT-8 e SF-295).

### 7.1 Ensaio de atividade citotóxica *in vitro* frente à linhagem de células cancerígenas

Para realização do ensaio utilizou-se o método de redução do 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-brometo tetrazolina (MTT), seguida de análise colorimétrica. As células tumorais foram plaqueadas nas concentrações de  $0,1 \times 10^6$  cél/mL para as linhagens OVCAR-8 e SF-295 e  $0,7 \times 10^5$  cél/mL para a linhagem HCT-116. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595 nm.

As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril. As substâncias foram testadas na maior concentração de 10 µg/mL. Os experimentos foram analisados segundo a média  $\pm$  desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism*<sup>®</sup>.

O ensaio de atividade citotoxicidade frente à linhagem de células cancerígenas foi realizado no Laboratório de Oncologia Experimental, sob a supervisão da professora Dra Letícia V. Costa Lotufo do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC.

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de screening do National Cancer Institute dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir

de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

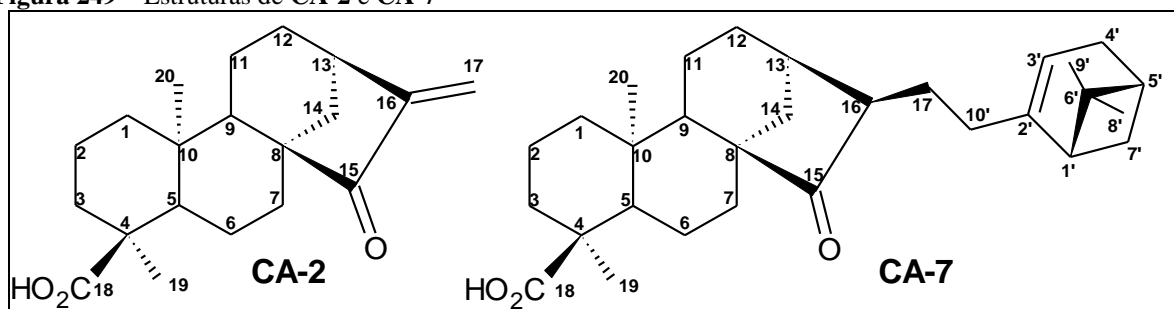
O ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico (**CA-2**) apresentou potencial citotóxico para as três linhagens testadas e o ácido *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico frente às linhagens HCT-116 e OVCAR-8. As demais amostras apresentaram valores de  $CI_{50}$  maiores que 10  $\mu\text{g/mL}$ . Os valores de  $CI_{50}$  das amostras testadas estão apresentados na **Tabela 54**.

**Tabela 54** – Valores de  $CI_{50}$  com um intervalo de confiança de 95% obtido por regressão não-linear a partir de três experimentos independentes, feitos em duplicata em 3 linhagens tumorais testadas na dose máxima de 10  $\mu\text{g/mL}$

AMOSTRAS	HCT-116	SF-295	OVCAR-8
CA-1	> 10	> 10	> 10
CA-2	0,53 (0,45-0,63)	3,01 (2,68-3,4)	0,96 (0,82-1,13)
CA-3	> 10	> 10	> 10
CA-7	7,14 (6,26-8,16)	>10	8,19 (7,16-9,37)
CA-10	> 10	> 10	> 10
R2CA1	> 10	> 10	> 10
R3CA1	> 10	> 10	> 10
R4CA1	> 10	> 10	> 10

Observa-se que tanto **CA-2** quanto **CA-7** apresentam, em suas estruturas químicas, fragmentos semelhantes e que podem estar associados à atividade apresentada pelos dois compostos. Verifica-se que ambas apresentam uma carbonila ligada ao carbono C-15 do esqueleto diterpênico (fig. 249) e, diferente de **CA-1** e seus derivados reacionais, que apresentam esqueleto diterpênico caurano sem apresentar a carbonila em C-15.

**Figura 249** – Estruturas de **CA-2** e **CA-7**



## 8 CONCLUSÕES

O estudo fitoquímico do caule e das raízes de *Croton limae* permitiu o isolamento de diterpenos do tipo caurano e clerodano, flavonoides, esteroides, um triterpeno e um diterpeno do tipo halimano.

Do caule foram isolados os diterpenos do tipo caurano ácido *ent*-caur-16-en-18-oico e ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico, os diterpenos do tipo clerodano 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno e ácido 3-oxo-4 $\alpha$ -hidroxi-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oico e o flavonoide (3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosilquercetina).

A partir do estudo das raízes foram isolados o ácido acetil aleuritólico, o ácido *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico, os diterpenos do tipo clerodano 3-oxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ ,12-dihidroxicleroda-13(16),14-dieno, 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno, 3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahidroxicleroda-13-eno, 6-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno e ácido 3-oxo-4 $\alpha$ ,12-dihidroxi-14,15,16-trinorclerodan-13-oico, os flavonoides 3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosilcanferol e ombuina-3-*O*- $\beta$ -rutinosídeo, a mistura dos esteroides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol e o diterpeno do tipo halimano 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,12-dihidroxi-14,15,16-trieno.

Dentre estes, o diterpenos ácido 3-oxo-4 $\alpha$ -hidroxi-13,14,15,16-tetranorclerodan-12-oico, 3-oxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ ,12-dihidroxicleroda-13(16),14-dieno, 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno, 3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,15,16-tetrahidroxicleroda-13-eno, 6-( $\beta$ -D-glicopiranosil)-3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno e ácido 3-oxo-4 $\alpha$ ,12-dihidroxi-14,15,16-trinorclerodan-13-oico são inéditos na literatura. O ácido *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico é o primeiro relato de um dímero assimétrico contendo unidades de diterpeno caurano e monoterpene isolado de plantas.

A partir da obtenção de diterpenos com abundância natural, e ainda na busca de moléculas com atividade citotóxica, este trabalho também foi direcionado para a obtenção de derivados reacionais. Desta forma, foram obtidas quatro amidas derivadas do ácido *ent*-caur-16-en-18-oico, a *ent*-caur-16-en-18-*N*-(4-metilfenil)amida, *ent*-caur-16-en-18-*N*-(4-clorofenil)amida, *ent*-caur-16-en-18-*N*-fenilamida e *ent*-caur-16-en-18-*N*-(4-metoxifenil)amida, através da reação de Apple.

A reação de redução do 3,12-dioxo-15,16-epoxi-4 $\alpha$ -hidroxicleroda-13(16),14-dieno com NaBH<sub>4</sub> levou a obtenção de dois produtos reacionais através da redução da carbonila em

C-3, gerando o produto 12-oxo-15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno, e a redução de ambas as carbonilas nas posições C-3 e C-12, gerando o 15,16-epoxi-3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,12-trihidroxicleroda-13(16),14-dieno. No entanto, quando submetido à redução por meio enzimático utilizando o fungo *Rhizopus stolonifer*, observou-se apenas a redução da carbonila C-3 de forma enantiosseletiva, gerando o diterpeno 12-oxo-15,16-epoxi-3 $\beta$ ,4 $\alpha$ -dihidroxicleroda-13(16),14-dieno.

Alguns compostos isolados e modificados estruturalmente foram submetidos a ensaios de atividade citotóxica frente a 3 linhagens de células tumorais humanas, OVCAR-8 (ovário), SF-295 (glioblastoma) e HCT-116 (colón). Os testes preliminares indicaram que o ácido *ent*-caur-16-en-15-oxo-18-oico apresentou potencial citotóxico para as três linhagens testadas e o ácido *ent*-17( $\alpha$ -pinen-10'-il)-15-oxocauran-18-oico frente às linhagens OVCAR-8 e HCT-116.

Os resultados obtidos confirmam o potencial químico-farmacológico de espécies do gênero *Croton*, em especial dos diterpenos que se mostram como substâncias bioativas, bem como importante fonte na obtenção de novas moléculas de interesse do ponto de vista químico, espectroscópico e farmacológico.



## REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, R. J.; LOFTUS, P. **Proton and carbon-13 NMR spectroscopy** - an integrated approach. New York - John Wiley & Sons, 1985.
- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 NMR of flavonoids**. Elsevier Science Publisher B. V., Amsterdam Netherlands, 1989.
- ALAM, M.; HANSON, J. R.; SARAH, F. Y. The bio-transformation of some 6-substituted *ent*-kaur-16-enes by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 3, p. 807-809, 1991.
- ALMEIDA, M. Z. **Plantas medicinais**, 3 ed. Salvador - EDUFBA, 2011.
- ANDERSON, A. B.; MCCRINDLE, R.; TURNBULL, J. K. Microbiological transformation of 17-norkauran-16-one and 16-norphyllocladan-16-one by *Aspergillus niger*. **J. Chem. Soc. Chem. Comm.**, p. 143-144, 1973.
- ARIAS, J. M.; GARCIA-GRANADOS, A.; MARTINEZ, A.; ONORATO, E. Microbial transformation of tetracyclic diterpenes: conversion of kauranols and kauranones by *Rhizopus nigricans*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, n. 1, p. 59-63, 1984.
- ATTA-UR-RAHMAN; AHMAD, V. U. **<sup>13</sup>C NMR of Natural Products** - diterpenes. v. 2, Plenum Press, New York, 1992a.
- ATTA-UR-RAHMAN; AHMAD, V. U. **<sup>13</sup>C-NMR of Natural Products** - monoterpenes and sesquiterpenes. v. 1, Plenum Press, New York, 1992b.
- BARRERO, A. F.; OLTRA, J. E.; CABRERA, E.; REYES, F.; ÁLVAREZ, M. Metabolism of gibberellins and *ent*-kaurenoids in mutants of *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 49, p. 1133 -1140, 1999.
- BARRERO, A. F.; OLTRA, J. E.; CERDÁ-OLMEDO, E.; ÁVALOS, J.; JUSTICIA, J. Microbial transformation of *ent*-kaurenoic acid and its 15-hydroxy derivatives by the SG138 mutant of *Gibberella fujikuroi*. **J. Nat. Prod.**, v. 64, p. 222-225, 2001.
- BARRETO, M. B.; GOMES, C. L.; FREITAS, J. V. B.; PINTO, F. C. L.; SILVEIRA, E. R.; GRAMOSA, N. V. Flavonoides e terpenoides de *Croton muscicarpa* (Euphorbiaceae). **Quim. Nova**, v. 36, n. 5, p. 675-679, 2013.
- BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; MCCOY, K. D.; WANG, R. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, n. 4, p. 14-19, 1996.
- BOAVENTURA, M. A. D.; OLIVEIRA, A. B.; HANSON, J. R.; HITCHCOCK, P. B.; TAKAHASHI, J. A. The biotransformation of methyl *ent*-15-oxokaur-16-en-19-oate by *Rhizopus stolonifer* and *Mucor plumbeus*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 6, p. 1667-1669, 1995.
- BORGES, K. B.; BORGES, W. S.; DURÁN-PATRÓN, R.; PUPO, M. T.; BONATO, P. S.; COLLADO I. G. Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts. **Tetrahedron Asymm.**, v. 20, p. 385-397, 2009.

CHOUDHARY, M. I.; MOHAMMAD, M. Y.; MUSHARRAF, S. G.; ONAJOBI, I.; MOHAMMAD, A.; ANIS, I.; SHAH, M. R.; RAHMAN, A. Biotransformation of clerodane diterpenoids by *Rhizopus stolonifer* and antibacterial activity of resulting metabolites. **Phytochemistry**, v. 90, p. 56 - 61, 2013.

DEMIREZER, L. O.; GURBUZ, F.; GUVENALP, Z.; STROCH, K.; ZEECK, A. Iridoids, flavonoids and monoterpene glycosides from *Galium verum* subsp. *verum*. **Turk. J. Chem.**, v. 30, p. 525 - 534, 2006.

EL-EMARY, N. A.; KUSANO, G.; TAKEMOTO, T. Microbial transformation of (-)-kaur-16-en-19-oic acid. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 24, n. 7, p. 1664 -1667, 1976.

FRAGA, B. M.; ALFONSO, I.; GONZALEZ-VALLEJO, V.; GUILLERMO, R. Microbial transformation of two 15 $\alpha$ -hydroxy-*ent*-kaur-16-ene diterpenes by *Mucor plumbeus*. **Tetrahedron**, v. 66, n.1, p. 227 -234, 2010.

FRAGA, B. M.; BRESSA, C.; GONZALEZ, P.; GUILLERMO, R.; HERNANDEZ, M. G.; SUAREZ, S. The microbiological transformation of 7 $\alpha$ -hydroxy-*ent*-kaur-16-ene derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 68, v. 11, p. 1557-1563, 2007.

FRAGA, B. M.; BRESSA, C.; GONZALEZ-VALLEJO, V.; GONZALEZ, P.; GUILLERMO, R. Biotransformation of *ent*-kaur-16-ene and *ent*-trachylobane 7 $\beta$ -acetoxy derivatives by the fungus *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium fujikuroi*). **Phytochemistry**, v. 81, p. 60-70, 2012.

FRAGA, B. M.; GARCÍA-TELLADO, F.; GONZÁLEZ, P.; HERNÁNDEZ, M. G. The chemical and microbiological synthesis of 14-hydroxy-gibberellins. **Tetrahedron**, v. 48, n. 39, p. 8491–8504. 1992.

FRAGA, B. M.; GARCIA-TELLADO, F.; GONZALEZ, P.; HERNANDEZ, M. G. The microbiological transformation of 14 $\beta$ ,19-dihydroxy-*ent*-kaur-15-ene by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v.34, n. 4, p. 1035-1040, 1993a.

FRAGA, B. M.; GONZALEZ, A. G.; GONZALEZ, P.; HANSON, J. R.; HERNANDEZ, M. G. The microbiological transformation of some *ent*-kaur-6,16-dienes by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 22, n. 3, p. 691-694, 1983.

FRAGA, B. M.; GONZÁLEZ, A. G.; HANSON, J. R.; HERNÁNDEZ, M. G. The microbiological transformation of some *ent*-3 $\beta$ -hydroxykaur-16-enes by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 20, p. 57–61, 1981.

FRAGA, B. M.; GONZÁLEZ, P.; GUILLERMO, R.; HERNÁNDEZ, M. G. A study of microbiological reduction of  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl *ent*-kaurenes by *Gibberella fujikuroi*. **Tetrahedron**, v. 52, n. 43, p. 13767–13782, 1996.

FRAGA, B. M.; GONZALEZ, P.; GUILLERMO, R.; HERNANDEZ, M. G.; PERALES, A. The chemical and microbiological preparation of 15-oxo-gibberellin derivatives. **Tetrahedron**, v. 51, n. 36, p. 10053-10064, 1995.

- FRAGA, B. M.; GONZÁLEZ, P.; HERNÁNDEZ, M. G.; GARCÍA-TELLADO, F.; PERALES, A. The microbiological transformation of candidiol, *ent*-15 $\beta$ ,18-dihydroxy-kaur-16-ene, by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 25, p. 1235–1237, 1986.
- FRAGA, B. M.; GONZALEZ, P.; HERNANDEZ, M. G.; SUAREZ, S. Biotransformation of 7-oxo-*ent*-kaur-16-ene derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **Tetrahedron**, v. 6, n. 23, p. 5623-5632, 2005.
- FRAGA, B. M.; GUILLERMO, R.; HERNANDEZ, M. G. The Microbiological transformation of two 15 $\beta$ -hydroxy-*ent*-kaurene diterpenes by *Gibberella fujikuroi*. **J. Nat. Prod.**, v. 67, n.1, p. 64-69, 2004.
- FRAGA, B. M.; HERNANDEZ, M. G.; GARCIA-TELLADO, F.; GONZALEZ, P.; PERALES, A. The biotransformation of two *ent*-15 $\beta$ ,16 $\beta$ -epoxy-kaurane derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 1, p. 133-138, 1993b.
- FRAGA, B. M.; HERNANDEZ, M. G.; GONZALEZ, P. Biotransformation of two *ent*-15b-hydroxy-kaur-16-ene derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 31, n.11, p. 3845-3849, 1992.
- FRAGA, B. M.; HERNANDEZ, M. G.; GONZALEZ, P. The microbiological transformation of some *ent*-7a,15 $\beta$ -dihydroxykaurene derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 8, p. 2567-2571, 1991.
- FRAGA, B. M.; HERNÁNDEZ, M. G.; GUILLERMO, R. The biotransformation of two 3,15-oxygenate *ent*-kaurane derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **J. Nat. Prod.**, v. 59, p. 952-957, 1996.
- FRAGA, B. M.; HERNANDEZ, M. G.; RODRIGUEZ, M. D.; DIAZ, C. E.; GONZALEZ, P.; HANSON, J. R. Transformation of *ent*-kaur-15-enes by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 7, p. 1931-1934, 1987.
- FRAGA, B. M; ALVAREZ, L.; SUAREZ, S. Biotransformation of the diterpenes epicandicandiol and candicandiol by *Mucor plumbeus*. **J. Nat. Prod.**, v. 66, n. 3, p. 327 - 331, 2003.
- FRAGA, B. M; GONZALEZ, P; GUILLERMO, R; HANSON, J. R; HERNANDEZ, M. G; TAKAHASHI, J. A. The microbiological transformation of two *ent*-16 beta,17-epoxykaurane derivatives by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 37, n. 3, p. 717-721, 1994.
- FRAGA, B. M; GONZALEZ-VALLEJO, V.; GUILLERMO, R.; AMARO-LUIS, J. M. Microbiological transformation of two 15a-hydroxy-*ent*-kaur-9(11),16-diene derivatives by the fungus *Fusarium fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 89, p. 39-46, 2013.
- 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.
- GARCIA-GRANADOS, A.; MARTINEZ, A.; ONORATO, M. E.; RUIZ, M. L.; SANCHEZ, J. M.; ARIAS, J. M. Biotransformation of highly substituted *ent*-kaur- 16-enes by *Rhizopus nigricans*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 1, p. 121-126, 1990a.

- GARCIA-GRANADOS, A.; MARTINEZ, A.; ORTIZ, A.; ONORATO, M. E.; ARIAS, J. M. Microbial transformation of tetracyclic diterpenes: conversion of *ent*-kaurenones by *Curvularia* and *Rhizopus* strains. **J. Nat. Prod.**, v. 53, n. 2, p. 441-450, 1990b.
- GASKIN, P.; HUTCHISON, M.; LEWIS, N.; MACMILLAN, J.; PHINNEY, B.O. Microbiological conversion of 12-oxygenated and other derivatives of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid by *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 3, p. 559-564, 1984.
- GHISALBERTI, E. L.; JEFFERIES, P. R.; SEFTON, M. A.; SHEPPARD, P. N. Microbiological transformations of 19-oxygenated *ent*-kauranes. **Tetrahedron**, v. 33, n. 18, p. 2451-2456, 1977.
- 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.
- GOAD, J. L. **Methods in plant biochemistry**. v.7, London, 1991.
- GOMES, A. P. S.; SALES, M. F.; BERRY, P. E. *Croton limae* (Euphorbiaceae), a new species of section *Argyroglossum* from northeastern Brazil. **Brittonia**, v. 62, n. 3, p. 206 – 209, 2010.
- GU, J.; QIAN, S.; CHENG, G.; LI, Y.; LIU, Y.; LUO, X. Chemical components of *Dysoxylum densiflorum*. **Nat. Prod. Bioprospect.**, v. 3, p. 66-69, 2013.
- HAN, Q.; LU, Y.; ZHANG, L.; ZHENG, Q.; SUN, H. Novel *ent*-kaurane dimers from *Isodon rubescens* var. *rubescens*. **Tetrah. Lett.**, v. 45, p. 2833-2837, 2004.
- HANSON, J. R.; HITCHCOCK, P. B.; TAKAHASHI, J. A. Biotransformation of *ent*-16 $\beta$ ,19-dihydroxykaurane by *Cephalosporium aphidicola*. **Phytochemistry**, v. 40, n. 3, p. 797-800, 1995.
- HANSON, J. R.; OLIVEIRA, B. H. The microbiological transformation of steviol derivatives by *Rhizopus nigricans* and *Gibberella fujikuroi*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 12, p. 3805-3807, 1990.
- HANSON, J. R.; WHITE, A. F. The transformation of steviol by *Gibberella fujikuroi*. **Tetrahedron**, v. 24, p. 6291-9293, 1968.
- HOFFMANN, J. J.; FRAGA, B. M. Microbial transformation of diterpenes: hydroxylation of 17-acetoxy-kolavenol acetate by *Mucor plumbeus*. **Phytochemistry**, v. 33, n. 4, p. 827-830, 1993.
- KREBS, H. C.; RAMIARANTSOA, H. Clerodane diterpenes and other constituents of *Croton hovarum*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 2, p. 561-563, 1996.
- LEE, S. G. Spectral assignments and reference data.  $\alpha$ -pinene and myrtenol - complete <sup>1</sup>H NMR assignment. **Magn. Reson. Chem.** v. 40, p. 311-312, 2002.

LEITE, T. R. **Análise biológica e química de *Croton limae* A. P. S. Gomes, M. F. Sales e P. E. Berry (Euphorbiaceae)**. Dissertação, 80f. Mestrado em Bioprospecção Molecular - Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA, 2011.

LIMA, L. R.; PIRANI, J. R. Taxonomic revision of *Croton* sect. Lamprocroton (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s.). **Biota Neotrop.**, v. 8, n.2, p. 176-23, 2008.

LOPES, E. L.; ANDRADE-NETO, M.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. Flavonoides e sesquiterpenos de *Croton pedicellatus* Kunth. **Quim. Nova**, v. 35, n. 11, p. 2169 - 2172, 2012.

MACIEL, M. A. M.; CORTEZ, J. K. P. C.; GOMES, F. E. S. O gênero *Croton* e aspectos relevantes de diterpenos clerodanos. **Rev. Fitos**, v. 2, n. 3, p. 54-73, 2006.

MARQUINA, S.; PARRA, J. L.; GONZÁLEZ, M.; ZAMILPA, A.; ESCALANTE, J.; TREJO-HERNÁNDEZ, M. R.; ÁLVAREZ, L. Hydroxylation of the diterpenes *ent*-kaur-16-en-19-oic and *ent*-beyer-15-en-19-oic acids by the fungus *Aspergillus niger*. **Phytochemistry**, v. 70, p. 2017–2022, 2009.

MATOS, L. M. M. **Química de espécies nativas de *Croton* L.** (Euphorbiaceae). 2011. 123 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 2011.

MCCLEAN, S.; DUMONT, M. P.; REYNOLDS, W. F. Unambios structural and nuclear magnetic resonance spectral characterization of two triterpenoids of *Maprounea guianensis* by two-dimensional magnetic resonance spectroscopy. **Can. J. Chem.**, v. 65, p. 2519-2522, 1987.

MITROCOTSA, D.; SKALTSOUNIS, A. L.; MITAKU, S.; HARVALA, C.; TILLEQUIN, F. Flavonoid and terpene glycosides from European Ebenus species. **Biochem. System. Ecol.**, 27, p. 305 – 307, 1999.

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

MOSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

NI, Z. Y.; WU, Y. B.; DONG, M.; ZHANG, M. L.; WANG, Y. F.; SAURIOL, F.; HUO, C. H.; SHI, Q. W.; GU, Y. C.; KIYOTA, H.; CONG, B. Diabietane ether, a new dimeric abietane with an ether linkage from *Taxus cuspidata* needles. **J. Chem. Sci.**, v. 66, n. 10, p. 1083-1086, 2011.

OLIVEIRA, A. B.; HANSON, J. R.; TAKAHASHI, J. A. The biotransformation of *ent*-15-oxo-kaur-16-en-19-oic acid and its methyl ester by *Cephalosporium aphidicola*. **Phytochemistry**, v. 40, p. 439–442, 1995.

OLIVEIRA, D. G. A família Euphorbiaceae Juss. em um fragmento de Caatinga em Sergipe. **Scient. Plena**. v. 9, n. 4, p. 1 – 7, 2013.

OLIVEIRA, P. R. N.; TESTA, G.; SENA, S. B.; COSTA, W. F.; SARRAGIOTTO, M. H.; SANTIN, S. M. O.; SOUZA, M. C. Saponinas triterpênicas das raízes de *Guettarda pohliana* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Quim. Nova**, v. 31, n. 4, p. 755-758, 2008.

PALMEIRA-JUNIOR, S. F.; CONSERVA, L. M.; BARBOSA FILHO, J. M. Clerodane diterpenes from *Croton* species: distribution and a compilation of their <sup>13</sup>C NMR spectral data. **Nat. Prod. Commun.** v. 1, p. 1-26, 2006.

PECHWANG, J.; SIHANONTH, P.; PORNPAAKAKUL, S.; MUANGSIN, N.; PIAPUKIEW, J.; VANGNAI, A.; CHAICHIT, N.; CHUCHAWANKUL, S.; PETSOM, A. Biotransformation of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid by *Psilocybe cubensis*. **Nat. Prod. Rep.**, v. 24, n. 10, p. 905–914, 2010.

PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T.; RODRIGUES, M.; MORAIS, E. K. L.; MACIEL M. A. M. Comparative anti-inflammatory and antinociceptive effects of terpenoids and an aqueous extract obtained from *Croton cajucara* Benth. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 17, n. 4, p. 521-528, 2007.

PEREIRA, S.; TALEB-CONTINI, S.; COPPEDE, J.; PEREIRA, P.; BERTONI, B.; FRANÇA, S.; PEREIRA, A. M. An *ent*-kaurane-type diterpene in *Croton antisiphiliticus* Mart. **Molecules**, v. 17, n. 8, p. 8851–8858, 2012.

PERES, M. T. L. P.; DELLE MONACHE, F.; BELLA CRUZ, A.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A.; Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **J. Ethnopharmacol.**, v. 56, n. 3, p. 223-226, 1997.

PÔRTO, N. A. **Citotaxonomia de espécies do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae - Crotonoideae) ocorrentes no Nordeste do Brasil.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) - centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. 2007.

REIS, G. O.; VICENTE, G.; CARVALHO, F. K.; HELLER, M.; MICKE, G. A.; PIZZOLATTI, M. G.; FRÖDE, T. S. *Croton antisiphiliticus* Mart. attenuates the inflammatory response to carrageenan-induced pleurisy in mice. **Inflammopharmacology**. v. 22, p. 115-126, 2014.

ROCHA, A. D.; SANTOS, G. C.; FERNANDES, N. G.; PFENNING, L. H.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Hydroxylation at carbon-2 of *ent*-16-oxo-17-norkauran-19-oic acid by *Fusarium proliferatum*. **J. Nat. Prod.**, v. 73, p. 1431–1433, 2010.

ROCHA, D.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Di- and tri-hydroxylated kaurane derivatives from microbial transformation of *ent*-kur-16-en-19-ol by *Cephalosporium aphidicola* and their allelopathic activity on *Lactuca sativa* (Lettuce). **Ecl. Quím.**, v. 34, n. 1, p. 57-62, 2009.

ROSA, E. A.; SILVA, B. C.; SILVA, F. M.; TANAKA, C. M. A.; PERALTA, R. M.; OLIVEIRA, C. M. A. Flavonoides e atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, *Rubiaceae*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 20, n. 4, p. 484-488, 2010.

SAEPOU, S.; POHMAKOTR, M.; REUTRAKUL, V.; YOOSOOK, C.; KASISIT, J.; NAPASWAD, C.; TUCHINDA, P. Anti-HIV-1 diterpenoids from leaves and twigs of *Polyalthia sclerophylla*. **Planta Med.**, v. 76, p. 721-725, 2010.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (*Euphorbiaceae*). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SANTOS, H. S.; BARROS, F. W. A.; ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; BANDEIRA, P. N.; PESSOA, C.; BRAZ-FILHO, R.; MONTE, F. J. Q.; LEAL-CARDOSO, J. H.; LEMOS, T. L. G. Cytotoxic diterpenoids from *Croton argyrophyllodes*. **J. Nat. Prod.**, v. 72, n. 10, p. 1884-1887, 2009.

SHIGEMATSU, Y.; MUROFUSHI, N.; TAKAHASHI, N. Structures of the metabolites from steviol methyl ester by *Gibberella fujikuroi*. **Agric. Biol. Chem.**, v. 46, p. 2313-2318, 1982.

SILVA, E. A.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D.; OLIVEIRA, A. B. The biotransformation of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid by *Rhizopus stolonifer*. **Phytochemistry**, v. 52, p. 397-400, 1999.

SILVA, F. K. S. **Contribuição ao estudo fitoquímico de *Croton rhamnifolius* (*Euphorbiaceae*)**. 2008, 131 f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, 2008.

SILVA-FILHO, F. A. **Contribuição ao estudo químico de *Croton argyrophyllus***. 2010. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D.; MONKS, A.; MCMAHON, J.; VISTICA, D.; WARREN, J. T.; BODESCH, H.; KENNEY, S.; BOYD, M. R. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer – drug screening. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 82, n.13, p. 1107-1112, 1990.

TATSUHIKO, Y.; MASAO, T.; YOSHINORI, A. Scapaundulins A and B, two novel dimeric labdane diterpenoids, and related compounds from the Japanese liverwort *Scapania undulata* (L.) Dum. **Tetrah. Lett.**, v. 38, n.11, p. 1975-1978, 1997.

TAVEEPANICH, S.; MUANGSIN, N.; SAITHONG, S.; PAKAWATCHAI, C.; CHAICHIT, N.; ROENGSUMRAN, S.; PETSOM, A. Biotransformation of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid by *Absidia blakesleeana* and *Rhizopus oligosporus*. **Nat. Prod. Rep.**, v. 24, n. 11, p. 1050 – 1058, 2010.

VIEIRA, H. S.; TAKAHASHI, J. A.; BOAVENTURA, M. A. D. Novel derivatives of *ent*-17,19-dihydroxy-16 $\beta$ H-kaurane obtained by biotransformation with *Verticillium lecanii*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 3704-3707, 2002.

VIEIRA, H. S.; TAKAHASHI, J. A.; OLIVEIRA, A. B.; CHIARI, E.; BOAVENTURA, M. A. D. Novel derivatives of kaurenoic acid - preparation and evaluation of their trypanocidal activity. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 13, n. 2, p. 151-157, 2002.

WADA, K.; IMAI, T.; SHIBATA, K. Microbial productions of unnatural gibberellins from (-)-kaurene derivatives in *Gibberella fujikuroi*. **Agric. Biol. Chem.**, v. 43, n. 5, p. 1157-1158, 1970.

WADA, K.; YAMASHITA, H. Synthesis and microbial transformation of *ent*-12 $\beta$ -hydroxykaur-16-ene. **Agric. Biol. Chem.**, v. 44, n. 9, p. 2249-2250, 1980.

YANG, L.M.; HSU, F. L.; CHANG, S. F.; CHENG, J. T.; HSU, J. Y.; HSU, C. Y.; LIU, P. C.; LIN, S. J. Microbial metabolism of steviol and steviol-16a,17-epoxide. **Phytochemistry**, v. 68, p. 562-570, 2007.