



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

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Senna martiana*
(Benth) Irw. & Barn.

EDANGELO MOURA SIQUEIRA DE MACEDO

FORTALEZA – CEARÁ

2011

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

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE *Senna martiana*
(Benth) Irw. & Barn.

EDANGELO MOURA SIQUEIRA DE MACEDO

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica,
como requisito para a obtenção do Título de Doutor.

Orientadora:

Profa. Dra. **Maria Goretti de Vasconcelos Silva**

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

-
- M119e Macedo, Edangelo Moura Siqueira de.
Estudo químico e farmacológico de *Senna martiana* (Benth) Irw. & Barn. / Edangelo Moura Siqueira de Macedo – 2011.
162 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciência, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica, Fortaleza, 2011.
Área de Concentração: Ciências Exatas e da Terra.
Orientação: Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva.
1. Antioxidante 2. Antraquinonas. 3. Biantrona. I. Título.

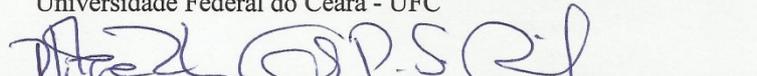
Esta Tese foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

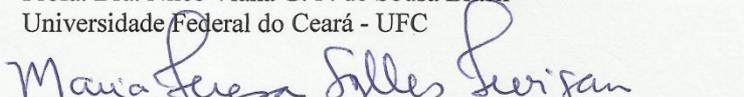

Edângelo Moura Siqueira de Macedo

TESE APROVADA EM: 04/02/2011

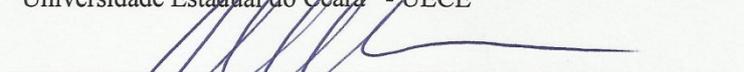
EXAMINADORES:


Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva
Universidade Federal do Ceará - UFC


Profa. Dra. Nilce Viana G. P. de Sousa Brasil
Universidade Federal do Ceará - UFC


Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan
Universidade Federal do Ceará - UFC


Profa. Dra. Selene Maia de Morais
Universidade Estadual do Ceará - UECE


Prof. Dr. Alberto José Cavaleiro
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter permitido e me ajudado a concluir este trabalho.

Aos meus pais que me incentivaram a estudar e a seguir este caminho.

Aos meus grandes amigos de laboratório Leandro, Tiago, Jeison, Sales, Emanuela, Irvila, Franczy, Amélia, Marilac, que fizeram do saudoso LPN um local agradável para trabalhar.

Ao meus amigos Daniel Uchoa, Renata Mendonça e Nayara Coriolano por terem me ajudado nas técnicas de HPLC e RMN.

A minha orientadora Goretti pela disposição em me ajudar nos momentos difíceis e pelo incentivo.

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

Ao Cenauremn pela obtenção dos espectros e a Unesp pelas análises.

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

SUMÁRIO

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

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS	4
	2.1. Considerações botânicas sobre a família Leguminosae.....	4
	2.2. Considerações botânicas de <i>Senna martiana</i> (Benth) Irw. e Barn.	4
3.	BIOSSÍNTESE DE ANTRAQUINONAS	6
	3.1. Biossíntese de antraquinonas via chiquimato-mevalonato.....	7
	3.2. Biossíntese de antraquinonas via acetato-malonato	8
4.	LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	10
	4.1. PROPRIEDADES BIO-FARMACOLÓGICAS E CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>SENNA</i> DO NORDESTE DO BRASIL.....	10
	Anti-alérgica, antiinflamatória, antioxidante, tóxica para cabras gestantes, ratos, coelhos, bovinos e aves	29
5.	DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL	31
	5.1. Determinação dos constituintes químicos da raiz de <i>S. martiana</i>	31
	5.1.2- Determinação estrutural de SMRH1	31
	5.1.3. Determinação estrutural de SMR3	37
	5.1.4. Determinação estrutural de SMR4	48
	5.1.5. Determinação Estrutural de SMRAC3	59
	5.1.6. Determinação estrutural de SMRAC4.....	67
	5.1.7. Determinação estrutural de SMRAC5.....	78
	5.1.8 - Determinação Estrutural de SMF5	90
	5.1.9 - Determinação estrutural de SMF6	95
6.	Comparação de perfis metabólicos de <i>Senna</i> spp através de CLAE-DAD.....	101
	6.1-Desrepliação de metabólitos espécies de <i>Senna</i>	103
7.	PARTE EXPERIMENTAL.....	116
	7.1- Material botânico.....	116

7.1.1- Coleta para o estudo dos constituintes químicos de <i>Senna martiana</i> (Benth) Irw. e Barn	116
7.2- Métodos Cromatográficos	116
7.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	117
7.3 - Técnicas espectroscópicas.....	118
7.3.1- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ¹ H) e de Carbono-13 (RMN ¹³ C).....	118
7.3.2- Espectrometria de massas (EM).....	119
7.3.3 - Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	119
7.3.4 - Ponto de fusão (pf)	119
7.4. Comparação de perfis metabólicos de <i>Senna</i> spp através de CLAE-DAD	120
7.4.1. Preparação dos extratos.	120
7.4.2. Preparação das amostras.....	120
7.5 - Obtenção dos extratos etanólicos das inflorescências e raiz de <i>Senna martiana</i>	120
7.6 - Estudo dos constituintes fixos das flores de <i>Senna martiana</i>	121
7.6.1 - Estudo dos ésteres metílicos dos ácidos graxos das Flores de <i>Senna martiana</i>	122
7.6.2. Isolamento de SMF5 a partir do extrato hexânico das flores	123
7.7. Tratamento cromatográfico de SMR	124
7.7.1. Isolamento de SMR3	125
7.7.2. Tratamento cromatográfico de SMRAC	126
7.7.3. Fracionamento cromatográfico de SMRAC3.....	127
8. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FARMACOLÓGICO DE <i>Senna martiana</i>	129
8.1 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE <i>Senna martiana</i>	129
8.1.1 – Método DHBA	129
8.1.2 – Preparação do ensaio	130
8.1.3 – Método DPPH	133
8.1.4 – Preparação do ensaio	133
8.2 – Estudo da atividade antitumoral de <i>Senna martiana</i>	138
8.3- Estudo da atividade inibitória de compostos antraquinônicos de <i>Senna martiana</i> frente a enzima glicolítica <i>GAPDH</i> de <i>Trypanosoma cruzi</i>	139
9. CONCLUSÃO.....	141
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	142

LISTA DE ABREVIATURAS

BB: Broad Band

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

COSY: Correlation Spectroscopy

DEPT: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer

DHBA: Ácido diidroxibenzóico

DPPH: Difenil-picril-hidrazil

EM: Espectro de Massas

eV: Elétron volt

HMBC: Heteronuclear Multiple Bond Coherence

HMQC: Heteronuclear Multiple Quantum Coherence

IV: Infravermelho

RMN ^{13}C : Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13

RMN ^1H : Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio-1

SMC: Extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCD: Fração diclorometânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCD1: Substância 1 obtida da fração diclorometânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCD2: Substância 2 obtida da fração diclorometânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCH: Fração hexânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCH1: Substância 1 obtida da fração hexânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCH2: Substância 2 obtida da fração hexânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCH3: Substância 3 obtida da fração hexânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

SMCH4: Substância 4 obtida da fração hexânica do extrato etanólico do caule de *Senna martiana*

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Similaridade estrutural entre moléculas sintéticas, produtos naturais e fármacos.....	1
FIGURA 2 - Estruturas dos compostos ativos de Zoncor e Lipitor.....	2
FIGURA 3 - Agentes naturais antitumorais.....	2
FIGURA 4 – Fotografia de <i>Senna martiana</i> com detalhes dos frutos e das flores.....	5
FIGURA 5 - Interconversões entre os compostos antracênicos.....	6
FIGURA 6 – Evolução de artigos e patentes relacionados ao gênero <i>Senna</i> de 2000 a 2010.....	11
Figura 7 – Evolução dos artigos e patentes relatados para as atividades biológicas apresentadas por espécies de <i>Senna</i> de 2000 a 2010.....	11
Figura 8 – Percentual de atividades biológicas apresentadas por espécies de <i>Senna</i> de 2000 a 2010.....	12
Figura 9 - Representação estrutural de compostos purgativos.....	13
Figura 10 - Perfil químico de 40 espécies de <i>Senna</i> do Nordeste do Brasil.....	23
Figura 11 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV, KBr) de SMRH1.....	33
Figura 12 – Espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMRH1.....	34
Figura 13 – Espectro de RMN ^{13}C BB (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMRH1.....	35
Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 $^\circ$ (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMRH1.....	36
Figura 15 – Espectro de massas de SMRH1.....	36
Figura 16 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de SMR3.....	43
Figura 17 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SMR3.....	43
Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de SMR3.....	44
Figura 19 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 $^\circ$ (125 MHz, CDCl_3) de SMR3.....	44
Figura 20 – Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl_3) de SMR3.....	45
Figura 21 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl_3) de SMR3.....	46
Figura 22 – Espectro de massas de SMR3.....	47
Figura 23 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de SMR4.....	53
Figura 24 – Espectro de massas de SMR4.....	53
Figura 25 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SMR4.....	54
Figura 26 – Sub-espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) faixa de 6,4 -7,8 ppm de SMR4.....	54
Figura 27 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de SMR4.....	55
Figura 28 – Espectro de RMN (125 MHz, CDCl_3) HMQC de SMR4.....	56

Figura 29 – Sub-Espectro (faixa 105-125 δ e 6,5-8,0 δ) de RMN (125, 500 MHz, CDCl ₃) HMBC de SMR4.....	57
Figura 30 – Sub-Espectro (faixa de 160-190 δ) de RMN (125 MHz, CDCl ₃) HMBC de SMR4.....	58
Figura 31 – Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SMRAC3.....	63
Figura 32 - Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CDCl ₃) de SMRAC3.....	64
Figura 33 - Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMRAC3.....	65
Figura 34 - Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl ₃) de SMRAC3.....	66
Figura 35 – Espectro na região do infra-vermelho de SMRAC4.....	73
Figura 36 - Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, piridina-d ₅) de SMRAC4.....	74
Figura 37 - Espectro de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, piridina-d ₅) de SMRAC4.....	75
Figura 38 - Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) de SMRAC4.....	76
Figura 39 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) de SMRAC4.....	76
Figura 40 - Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC, 125, 500 MHz, piridina-d ₅) de SMRAC4.....	77
Figura 41 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC4.....	78
Figura 42 - Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, piridina-d ₅) de SMRAC5.....	85
Figura 43 - Espectro de RMN ¹³ C – BB (125 MHz, piridina-d ₅) de SMRAC5.....	86
Figura 44 - Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) de SMRAC5.....	87
Figura 45 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) de SMRAC5..	87
Figura 46 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) de SMRAC5..	88
Figura 47 - Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC, 125, 500 MHz, piridina-d ₅) de SMRAC5.....	88
Figura 48 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC5.....	89
Figura 49 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC5.....	89
Figura 50 - Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SMF5	93
Figura 51 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SMF5	93
Figura 52 - Espectro de RMN ¹³ C-BB (125 MHz, CDCl ₃) de SMF5	94
Figura 53 - Espectro de RMN ¹³ C-BB - DEPT 135° de SMF5	94
Figura 54 - Espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SMF6	98
Figura 55 – Expansão do espectro de RMN ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de SMF6	98

Figura 56 - Espectro de RMN ¹³ C-BB [CDCl ₃ , 125 MHz] de SMF6	99
Figura 57 - Espectro de RMN ¹³ C-BB[CDCl ₃ , 125 MHz] de SMF6, expansão.....	100
Figura 58 - Espectro de RMN ¹³ C-BB-DEPT 135° de SMF6.....	100
Figura 59 . Perfil em CLAE do extrato das partes aéreas de <i>Haplodium acutifolium</i> onde 9 alcaloides foram identificados através de experimentos HPLC–PDA–MS–SPE–NMR.....	102
Figura 60 - Espectro na região do UV e cromatograma de padrões de antraquinonas isolada <i>Senna martiana</i>	103
Figura 61 - Cromatogramas (254 nm) obtidos em CLAE-C18 de extratos de folhas de espécies de <i>Senna</i>	109
Figura 62 . Cromatograma da fração SMRAC3, obtido por CLAE (256 nm).....	128
Figura 63 - Esquema para a geração de espécies reativas de oxigênio no sistema hipoxantina/xantina oxidase: (a) Reação; (b) Cromatograma do HPLC da Hipoxantina (1), dos produtos hidroxilados da xantina (2) e do ácido úrico (3); (c) ácido salicílico, 2,3-DHBA e 2,5-DHBA.....	131
Figura 64 – Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante de <i>Senna martiana</i> pelo método DHBA.....	132
Figura 65 – Reação entre catequina e epicatequina com o radical livre DPPH.....	134
Figura 66 – Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto A.....	135
Figura 67 - Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto B.....	135
Figura 68 – Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH da espécie <i>Senna martiana</i>	137
Figura 69 - Estrutura quaternária da GAPDH de <i>Trypanosoma cruzi</i> (Fonte: PDB - <i>Protein Data Bank</i>).....	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de <i>Senna</i> coletadas no Nordeste do Brasil	25
Tabela 2 – Deslocamentos químicos de (δ) RMN ^{13}C , para SMR3 (125 MHz, CDCl_3) com padrão de hidrogenação obtido pela comparação dos espectros DEPT 135° com o RMN ^{13}C -BB.....	38
Tabela 3 – Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMR3.	41
Tabela 4 – Dados de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3)de SMR3 comparados com dados da literatura [Dagne,1984].	42
Tabela 5 – Deslocamento químico de carbono 13 (δ) para SMCH4 (125 MHz, CDCl_3) em comparação com os dados de carbono 13 de SMR3 e fisciona [Höfle, 1977].	49
Tabela 6 – Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMR4.	52
Tabela 7 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C com DEPT 135° de SMRAC-3.	60
Tabela 8 – Comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C de martianina e SMRAC3	62
Tabela 09 – Comparação dos dados espectrais de SMRAC4 com os dados da martianina	68
Tabela 10 – Dados espectroscópicos de RMN ^1H , ^{13}C e correlação heteronuclear a longa distância de SMRAC2.....	71
Tabela 11 – Comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C de SMRAC5A e SMRAC3	79
Tabela 12 – Dados espectrais de RMN ^{13}C (HMQC e HMBC) de SMRAC5A	81
Tabela 13 – Comparação entre os dados de RMN ^{13}C de SMRAC5B e SMRAC5A.	82
Tabela 14 – Dados espectrais de RMN ^{13}C (HMQC e HMBC) de SMRACB .	84
Tabela 15 - Deslocamentos químicos para SMF5 com padrão de hidrogenação obtido pela comparação dos espectros utilizando a técnica RMN ^{13}C DEPT 135° [Chang, 2000].	91
Tabela 16 - Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C 125 MHz de SMF6 com os valores da literatura [Carvalho, 1998];.....	96
Tabela 17 - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence. ...	104
Tabela 18. Identificação para os picos principais dos cromatogramas dos extratos das espécies de <i>Senna</i>	114
Tabela 19 – Obtenção dos extratos etanólicos das flores e raízes de <i>Senna martiana</i>	120

Tabela 20 - Ésteres metílicos obtidos do extrato hexânico das flores de <i>S. martiana</i>	123
Tabela 21 – Fracionamento cromatográfico de SMF	124
Tabela 22 – Tratamento cromatográfico de SMR	125
Tabela 23 – Tratamento cromatográfico de SMRH	125
Tabela 24 – Tratamento Cromatográfico de SMRAC	127
Tabela 25 - Porcentagem de inibição dos extratos estudados sobre ácido salicílico na formação do 2,3-DHBA e 2,5-DHBA (%).....	132
Tabela 26 – Avaliação do potencial seqüestrador de radicais livres pela medida da absorvância dos extratos de <i>Senna martiana</i>	136
Tabela 27 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL(fração). Valores são média ± DPM (Desvio Padrão da Média).	138
Tabela 28. Resultados dos ensaios enzimáticos de inibição da enzima GAPDH de <i>Trypanosoma cruzi</i>	140

ABSTRACT

This work presents the study of the chemical composition of *Senna martiana* (Benth) Irw. and Barn. (Leguminosea). This survey was performed to the knowledge of the chemical constituents of the flowers and roots. The isolation and purification of chemical constituents of the plant was accomplished using chromatographic techniques and in the determination of the structures spectroscopic techniques (IR), Nuclear Magnetic Resonance of Hydrogen (RMN ^1H); Nuclear Magnetic Resonance of Carbon 13 (RMN ^{13}C). In evaluating the pharmacological potential of this species, were assayed for antioxidant activity (DPPH and DHBA), antitumor activity (MTT assay) and trypanocidal activity of four isolated compounds against the enzyme GAPDH. Chemical studies and of *Senna martiana* (Benth) I&B, allowed to the isolation of triacontanoic acid, β -sitosterol, stigmasterol, α - amyirin, β -amyirin, three 1,8-dihydroxyanthraquinones, chrysophanol, physcion and aloe-emodin, in addition to three glycosides anthrones, two of them previously unpublished in the literature.

RESUMO

Este trabalho apresenta o estudo da composição química de *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn. pertencente à família da Leguminosae. Norteou-se este estudo para o conhecimento dos constituintes químicos fixos das flores e das raízes da planta. O levantamento bibliográfico revelou a ausência de estudos químicos, biológicos ou farmacológicos realizados com esta espécie, motivo pelo qual a planta foi selecionada para estudo. O isolamento e purificação dos constituintes químicos foi realizado utilizando técnicas como cromatografia por adsorção em coluna aberta (CC); cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e na determinação das estruturas, técnicas espectroscópicas tais como: absorção na região do infravermelho (IV); Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H); Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN ^{13}C) uni e bidimensionais. Na avaliação do potencial farmacológico da espécie, foram realizados ensaios de atividade antioxidante (método DPPH e DHBA), atividade antitumoral (método MTT) e atividade tripanocida de quatro compostos isolados frente a enzima GAPDH. O estudo químico de *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn., permitiu o isolamento do ácido triacontanóico (ác. melíssico), β -sitosterol e estigmasterol, α e β -amirina, de três antraquinonas 1,8-diidroxiladas, crisofanol, fisciona e aloe-emodina além de três heterosídeos antrônicos, dois deles inéditos na literatura.

1 INTRODUÇÃO

A química de produtos naturais tem como um dos objetivos principais, o isolamento e caracterização de compostos químicos de fontes naturais, comumente relacionada com a química das plantas (Fitoquímica), que especialmente é complementada pela avaliação da atividade biológica das substâncias isoladas, com a perspectiva de um possível aproveitamento destas substâncias que apresentem efetividade terapêutica e perspectivas de patenteabilidade. Os produtos naturais têm elevada características de diversidade química e especificidade bioquímica que os tornam extremamente importantes na busca de compostos potencialmente utilizáveis como fármacos [Ertl, 2008; Butler, 2004], propiciando suporte para a terapêutica moderna composta de medicamentos com ações específicas. 61% das 877 entidades químicas novas, publicadas durante 1981-2002 são produtos naturais ou estão de alguma forma a eles relacionados e em algumas atividades específicas, a relação é ainda maior: 78% dos antibacterianos e 74% dos anticancerígenos são ou foram inspirados em produtos naturais. A figura 1 mostra a relação estrutural entre tais compostos, onde a intercessão entre as áreas representa tal similaridade. Os dois fármacos que mais vendem no mercado farmacêutico mundial (Zocor, e Lipitor, Figura 2) tiveram suas raízes estabelecidas em produtos naturais [Berenson, 2009; Koehn, 2005; Newman, 2003].

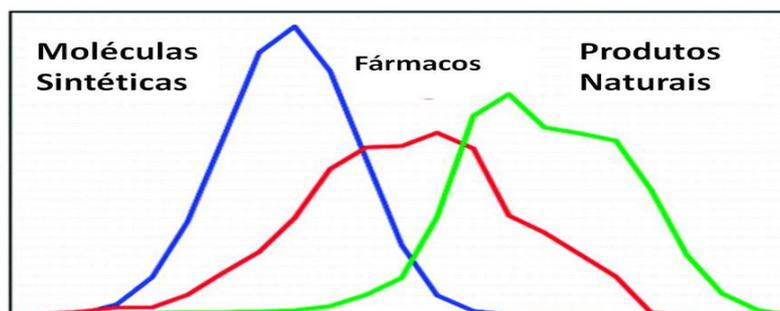


Figura 1. Similaridade estrutural entre moléculas sintéticas, fármacos e produtos naturais [Ertl, 2008]

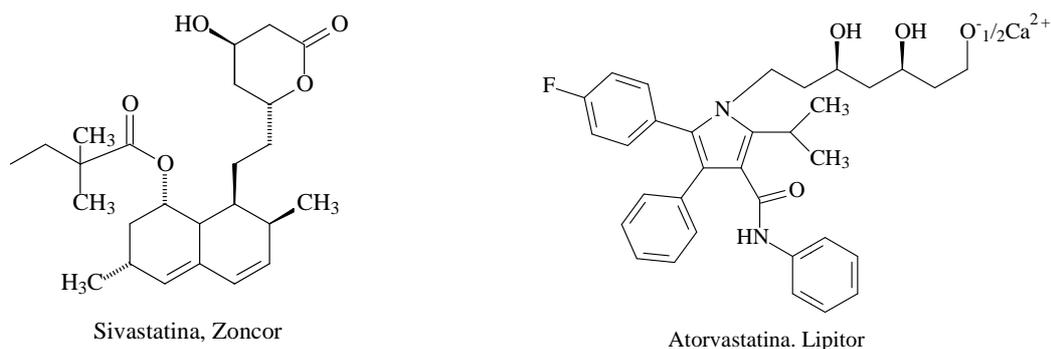


Figura 2. Estruturas dos compostos ativos de Zoncor e Lipitor.

Várias atividades biológicas e farmacológicas relevantes têm orientado a busca por compostos potencialmente úteis, entre as quais as atividades antitumoral, antioxidante e tripanomicida. Existem mais de cem tipos de câncer, que são responsáveis anualmente pela morte de mais de 4 milhões de pessoas em todo mundo. A maioria dos agentes antineoplásicos não possui especificidade, ou seja, não destroem seletiva e exclusivamente, as células tumorais e são, por isso, tóxicos para os tecidos sãos. As investigações científicas continuam na busca de agentes químicos antitumorais de menor toxicidade e maior índice terapêutico. A literatura revela de 1998 a 2008, quase uma centena de moléculas com atividade antitumoral oriundas de fontes naturais: 75% de vegetais, 20% de animais e 5% de fungos. As quinonas e os alcalóides junto com os terpenóides se destacam como as classes com maior número de agentes naturais antitumorais, bem como de maior potencial anticâncer. Valores significativos de IC_{50} em diferentes linhagens de células tumorais humanas foram observados para a variolina B (1), isolada da esponja marinha *Kirkpatrickia variolosa* ($IC_{50}=0,01 \mu\text{mol.L}^{-1}$) [Matteo, 2005], para o taivaniaquinol D (2) ($IC_{50}=3,50 \mu\text{mol.L}^{-1}$) [Chang, 2005] e a antraquinona Kifolona, (3) ($IC_{50}=16,30 \mu\text{mol.L}^{-1}$) [Bringmann, 2008], ambas as quinonas isoladas das plantas *Taiwania cryptomerioides* (Cupressaceae) e *Kniphofia pallidiflora* (Aphodelaceae) respectivamente (Fig. 2).

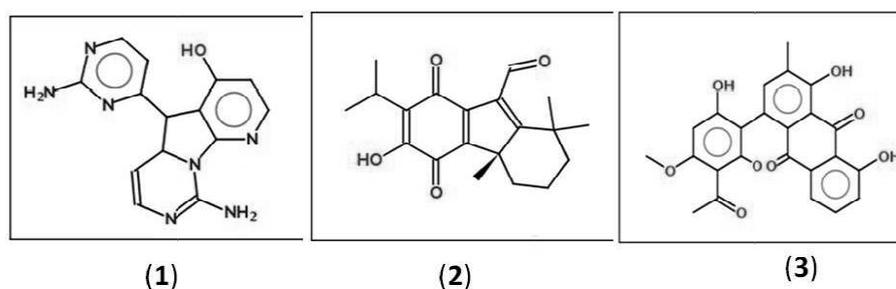


Figura 3- Agentes naturais antitumorais

Substâncias com atividade antioxidante obtidas de fontes naturais são cada vez mais investigadas. Entre estas substâncias, estão os compostos fenólicos e polifenólicos, como flavonoides, catequinas e antraquinonas que exibem potente atividade antioxidante. O stress e as dietas da vida moderna, enfraquecem a capacidade antioxidante natural do homem, permitindo que surjam no organismo as formas do oxigênio, chamadas radicais livres, responsáveis pela agressão celular que é, em primeira instância, a causa das doenças degenerativas e do envelhecimento precoce.

Doenças como a Doença de Chagas e leishmanioses são causadas por parasitas e afetam juntas mais de 18 milhões de indivíduos, a maior parte originária das Américas do Sul e Central. Os dados mais recentes da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que há cerca de 13 mil mortes/ano e outras 649 mil pessoas têm suas vidas desajustadas pela Doença de Chagas, que é provocada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* e que, ainda hoje, não há fármacos recomendados para o tratamento desta doença apesar de ter sido descrita sua etiologia em 1909. Os medicamentos disponíveis, nifurtimox e benzonidazol, são de uso paliativo e apresentam efeitos colaterais severos.

Nesta tese é descrito o estudo químico e avaliado o potencial biofarmacológico de *Senna martiana* (Benth) Irw. e Barn., Leguminosae nativa da flora nordestina, conhecida como caixão de canafístula e canafístula brava que apresenta indicações populares de uso como laxante, abortivo e antitussígeno [Agra, 2008]. O levantamento bibliográfico não revelou nenhum estudo anterior sobre a espécie investigada, porém o gênero *Senna* é bastante estudado e apresenta em sua composição várias e interessantes classes de compostos, além de atividades biológicas relevantes.

O isolamento e caracterização estrutural dos compostos antraquinônicos, terpenoídicos e fitoesteróis presentes, foi desenvolvido com a utilização das técnicas cromatográficas em coluna (CC e CLAE) e planar (CCD), técnicas espectrométricas de absorção na região do infravermelho (IV); Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H); Ressonância Magnética de Carbono 13 (RMN ^{13}C); também os espectros de RMN bidimensionais como COSY, HMQC e HMBC; espectroscopia de massas (CG-EM) e espectrometria de massas de alta resolução.

A elaboração dessa tese obedece aos padrões estabelecidos pela Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, bem como as regras e normas básicas da ABNT.

2 CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

2.1. Considerações botânicas sobre a família Leguminosae

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

As espécies da família Leguminosae se apresentam como ervas anuais ou perenes, eretas, prostradas, difusas ou escandentes, subarbustos, arbustos eretos, sarmentos ou escandentes, e árvores de pequeno, médio ou grande porte, com sistema radicular bem desenvolvido e predominância da raiz principal sobre suas ramificações. Os tipos foliares são muito variados. Podem ser encontradas desde folhas simples a compostas pinadas, bipinadas, trifolioladas, digitadas até mesmo unifoliadas. O indumento pode estar constituído de pêlos simples, unisseriados ou multisseriados, ou de tricomas glandulosos. O tipo de inflorescência das Leguminosae é o racemoso. O androceu típico é o de dez estames. O fruto característico da família é o legume, um tipo que pode ser definido como monocarpelar, seco, deiscente ao longo da sutura do carpelo e da costa mediana [Barroso, 1984].

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

Senna martiana (Benth) Irw. e Barn. (Figura 4) é uma espécie pertencente à família Leguminosae, subfamília Papilonoideae (Fabaceae), sendo conhecida popularmente como caixão de canafístula e canafístula brava. É um arbusto de ampla copa, suavemente lenhoso de

crescimento rápido com propagação de ramos, atingindo uma altura de 1,5 a 4,0 m. Ocorre na caatinga como moitas, ao redor de lagoas e ao longo das margens da estrada [Cronquist, 1988]. Esta espécie apresenta-se morfologicamente muito semelhante a *Cassia alata* que é muito comum no Ceará, diferenciando-se no entanto pela inflorescência que é mais abundante e exuberante e na forma dos frutos. Espécie nativa do Nordeste do Brasil, habita desde o Rio Grande do Norte passando por Paraíba e Pernambuco até a Bahia (ao longo do Rio São Francisco até o Rio Pardo). Existem registros de *Senna martiana* no Ceará, na Chapada do Apodi (limite com o Rio Grande do Norte), na Chapada do Araripe e na reserva de Aiuaba.



Figura 4 – Fotografia de *Senna martiana* com detalhes dos frutos e das flores [foto: Prof. Silveira, E. R.]

3. BIOSÍNTESE DE ANTRAQUINONAS

As antraquinonas naturais isoladas de plantas superiores podem ser diferenciadas pela presença de substituintes nos anéis aromáticos. Antraquinonas que possuem substituintes em apenas um anel aromático são formadas através de uma via chiquimato enquanto a rota biossintética que leva a formação de antraquinonas substituídas nos dois anéis se dá através da via acetato-malonato. Antraquinonas de fungos e líquens são produzidas por outra rota metabólica, que não será discutida neste trabalho.

Os substituintes em C-10 permitem classificar os compostos antracênicos em três grupos: antraquinonas (C=O), antronas (C-H) e biantronas (C-C), em que eles são convertíveis um no outro através de reações de oxidação e redução (**Figura 5**). A maioria dos glicosídeos antracênicos contém uma ou duas unidades de açúcar, geralmente glicose e, ou ramnose, ligados em C8, C10 e em menor frequência em C1 [Nogueira, 2009].

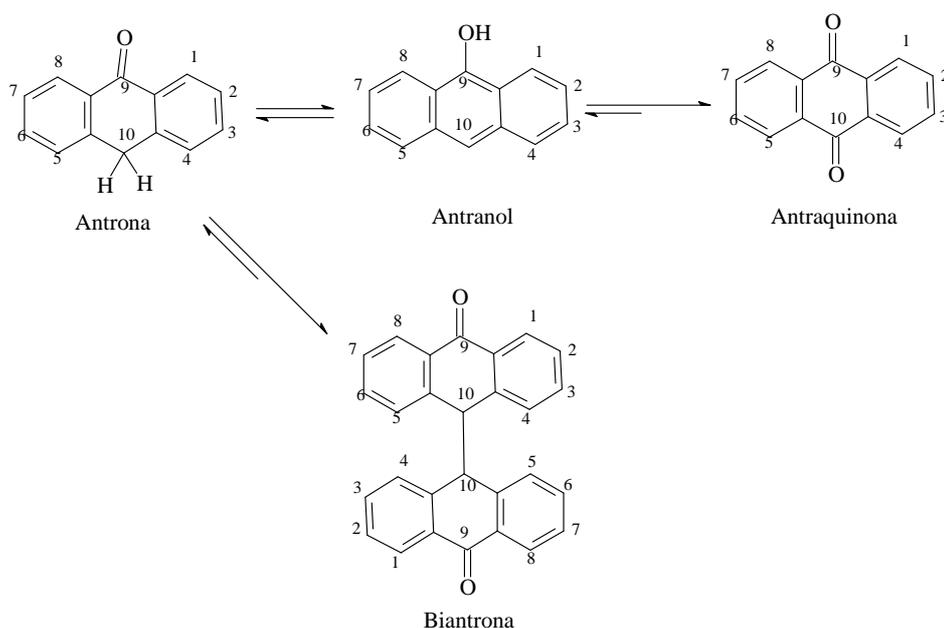


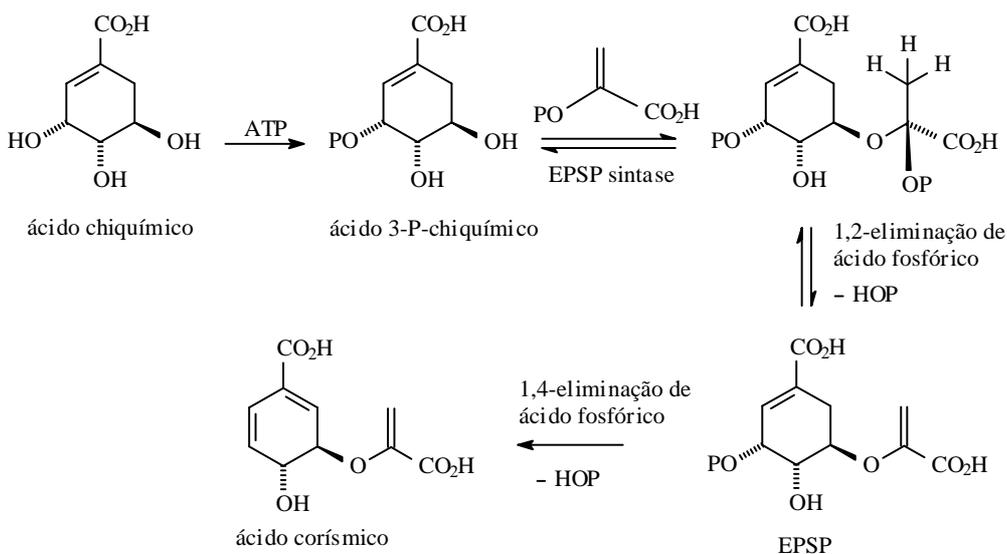
Figura 5- Interconversões entre os compostos antracênicos

3.1. Biossíntese de antraquinonas via chiquimato-mevalonato

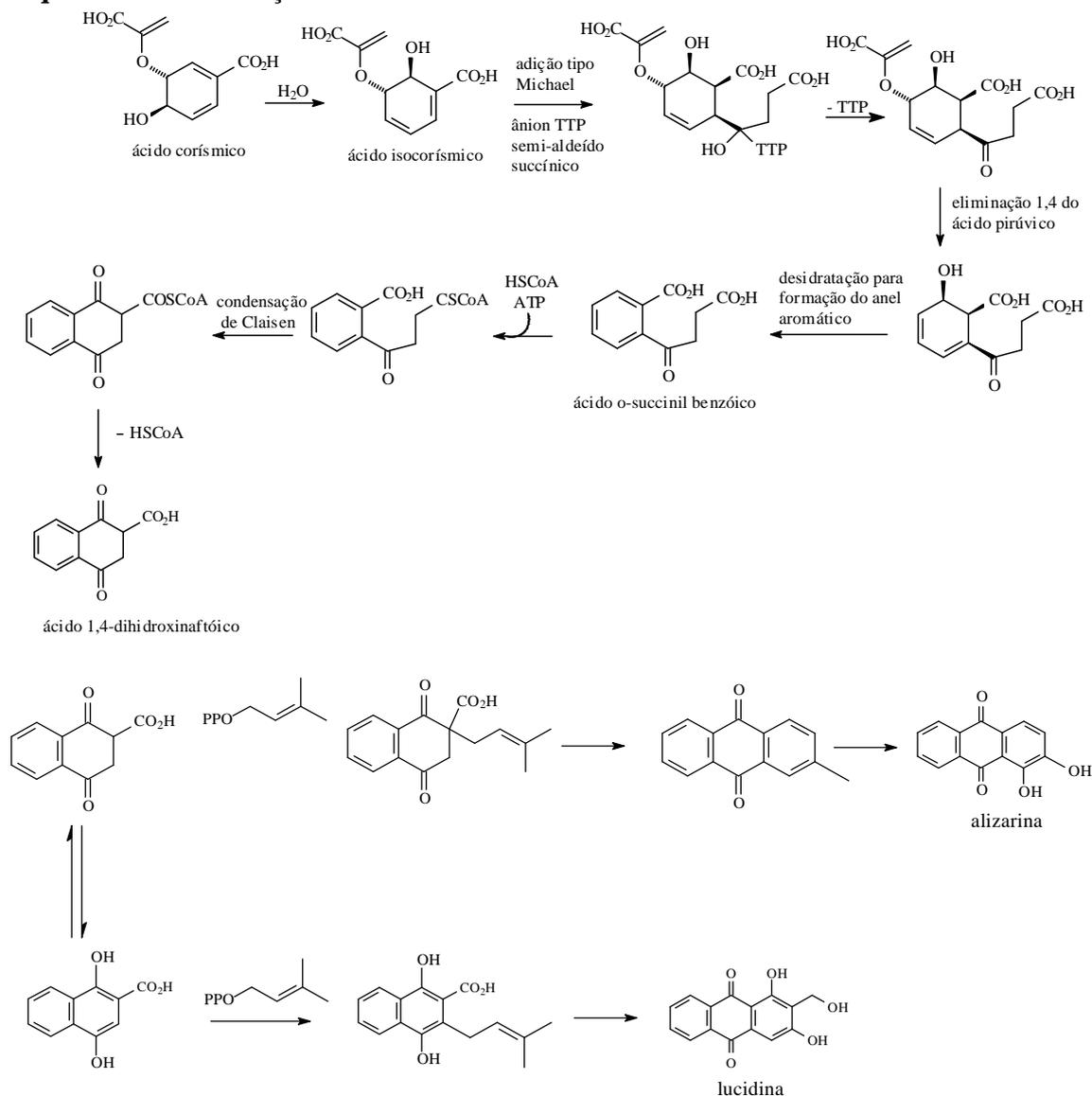
Esta rota biossintética se inicia quando o ácido chiquímico incorpora três átomos de carbono com o auxílio de ATP e da enzima EPSP, dando origem a um precursor intermediário C₁₀. Posteriormente este intermediário perde duas moléculas de ácido fosfórico por duas reações de eliminação, uma 1,2 em seguida uma 1,4, para dar origem ao ácido corísmico, um composto muito importante da via chiquimato.

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

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



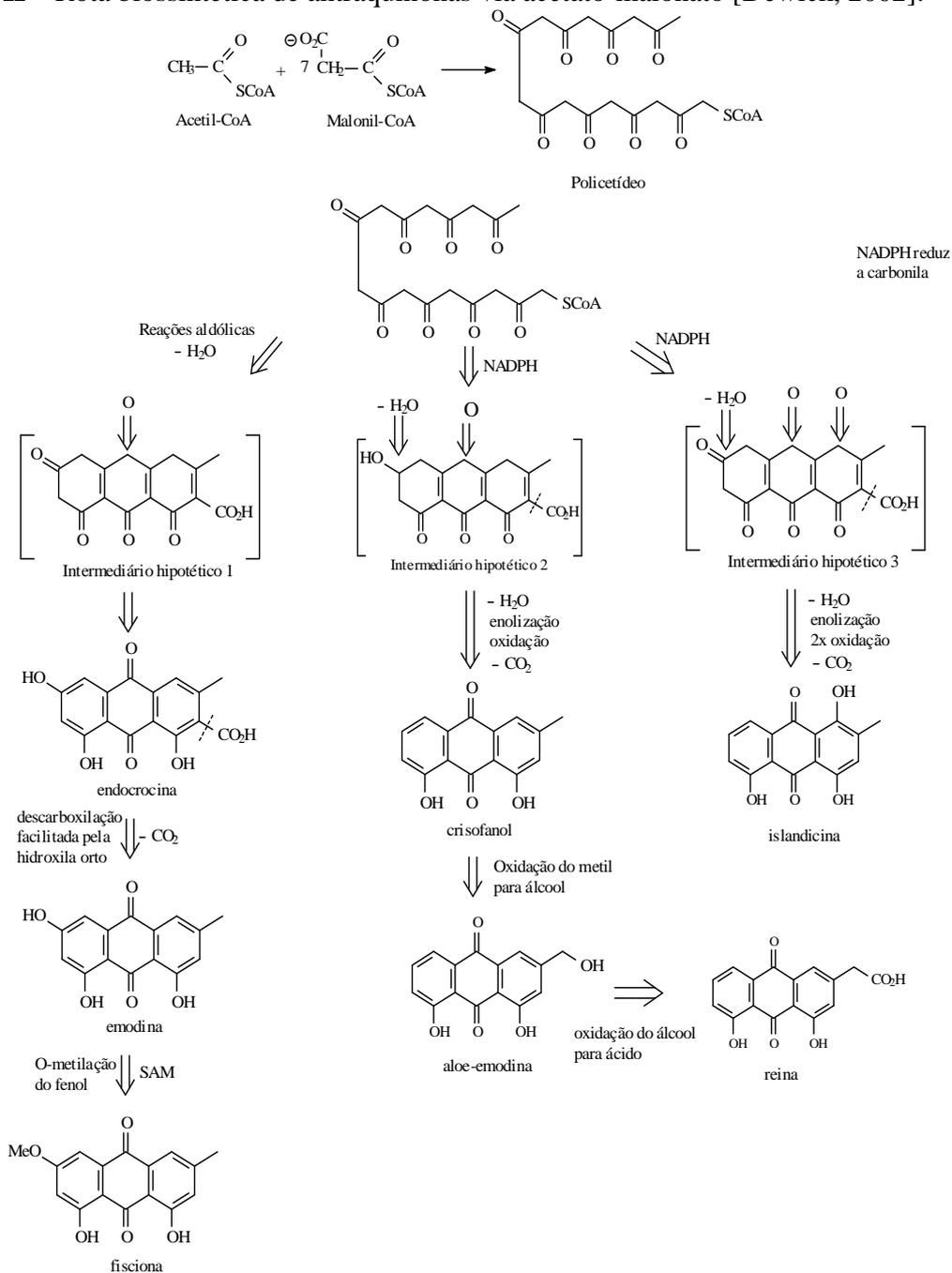
Esquema I - Continuação



3.2. Biossíntese de antraquinonas via acetato-malonato

A rota acetato-malonato envolve a condensação de uma unidade de acetilcoenzima A como iniciador e sete unidades de malonilcoenzima A como continuador, conduzindo a uma cadeia poli-β-cetometilênica e originando a antrona que em seguida sofre oxidação em C₉ e C₁₀ a uma antraquinona (p.e. crisofanol, fisciona, endocrocina ou emodina). A diversidade de derivados antraquinônicos desta classe se originam a partir de modificações no precursor formal. O esquema II ilustra a biossíntese da emodina, fisciona e crisofanol que são antraquinonas que ocorrem em plantas superiores tais como senna, cascara sagrada, frangula, ruibarbo e aloes [Dewick, 2002].

Esquema II – Rota biossintética de antraquinonas via acetato-malonato [Dewick, 2002].



4. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

4.1. PROPRIEDADES BIO-FARMACOLÓGICAS E CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *SENNA* DO NORDESTE DO BRASIL

O gênero *Senna* Mill. pertence à tribo Cassieae Bronn, subtribo Cassinae Irwin & Barneby. Espécies de *Senna* tem ampla distribuição ocorrendo no Brasil inteiro e em outros países da América do Sul. Nos últimos 20 anos, 887 coletas de 40 espécies de *Senna* foram realizadas por quase todos os estados do nordeste do Brasil, e suas exsicatas estão depositadas no Herbário Prisco Bezerra-UFC.

A taxonomia do gênero *Senna* tem se modificado com o passar dos anos, e análise genômica é utilizada para estimar o pareamento cromossômico preferencial e auxiliar na caracterização botânica inequívoca entre as espécies. A diversidade genética interespecífica foi comprovada em estudos cuja análise estrutural dos cromossomos e DNA de espécies de *Senna* indicou que este gênero apresenta majoritariamente o $2n = 28$ cromossomos, encontrado em mais de 65% das espécies estudadas citogeneticamente. Exceções foram detectadas por exemplo, para *S. mimosoides*, que apresentou $2n = 16$, *S. biflora*, *S. tora* e *S. occidentalis* com $2n=26$ cromossomos entre outras. Segundo Goldblatt, 1981, os demais números cromossômicos $2n = 26$, 24 e 22 sofreram evolução por diploidia, que pode ter ocorrido durante a diversificação do grupo. Devido ao grande número de espécies do gênero, poucos trabalhos sobre a genômica de espécies de *Senna* foram relatados necessitando de mais estudos.

A revisão utilizando as ferramentas de busca no SciFinder[®] Scholar[™] 2007 e www.Scopus.com realizada utilizando como palavra-chave “Senna” indicou de 2000 a 2010, 2949 registros sendo 1911 patentes (Figura 6), observando-se uma evolução quase constante no decorrer da década, o que expressa o interesse dos pesquisadores por este gênero botânico.

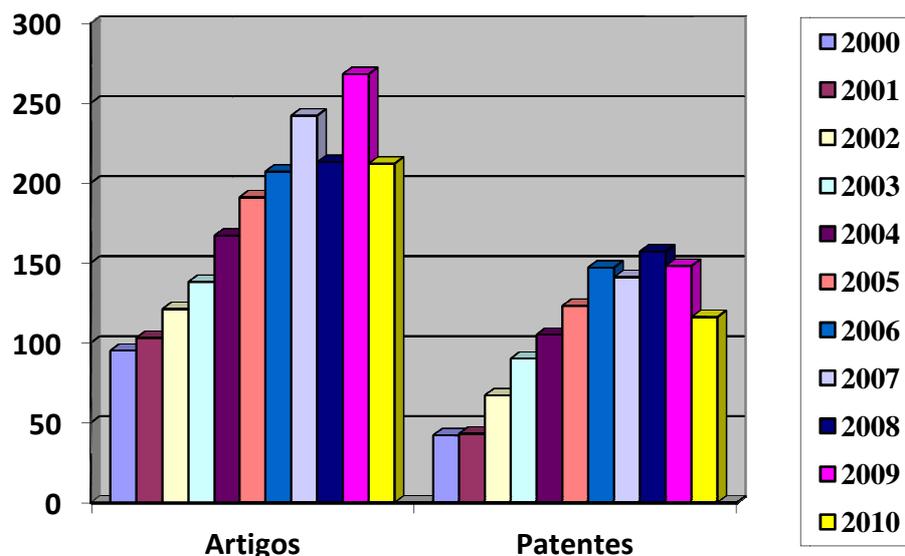


Figura 6 – Evolução de artigos e patentes relacionados ao gênero *Senna* de 2000 a 2010

Na pesquisa bibliográfica, utilizou-se ainda várias atividades biológicas observadas para o gênero *Senna* como filtro, obtendo-se os dados do gráfico abaixo. Somente atividades com mais de 2% de registros foram consideradas.

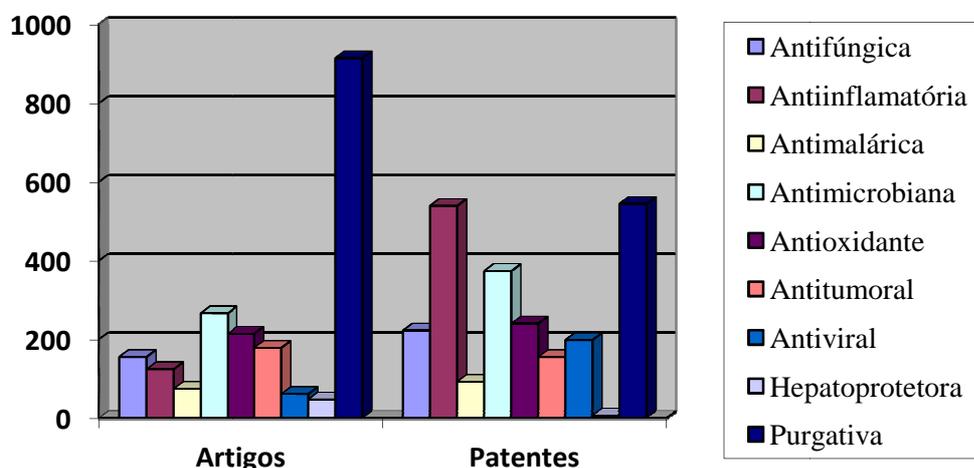


Figura 7 – Evolução dos artigos e patentes relatados para as atividades biológicas apresentadas por espécies de *Senna* de 2000 a 2010

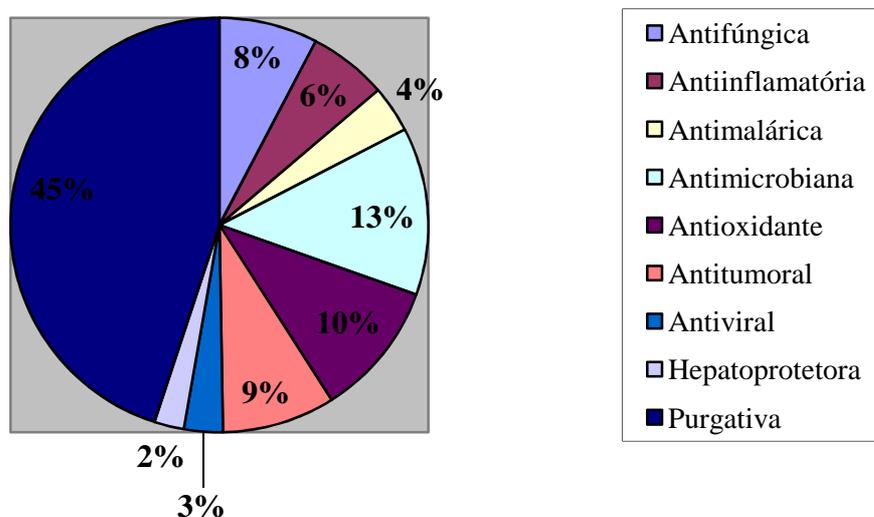


Figura 8 – Percentual de atividades biológicas apresentadas por espécies de *Senna* de 2000 a 2010

Espécies do gênero *Senna* apresentam uma variedade de aplicações, embora a mais antiga seja como purgativa e sua forma de preparação e indicação de uso está presente nas Farmacopéias britânica, europeia, americana e brasileira com indicação para casos de constipação, para folhas de *Senna alexandrina* e *Cassia angustifolia*. Os compostos mais ativos são os isômeros senosídeos A e B [Dávid, 2009]. A pesquisa revelou que, embora a mais antiga atividade atribuída para o gênero *Senna* seja a purgativa, esta é ainda a que mais tem trabalhos relatados (44% de todas as atividades com mais de 2% de registros). Estes dados comprovam ser esta uma atividade validada medicinalmente e também extremamente patenteável com 431 patentes registradas, o que corresponde a 44% de todas as atividades detectadas. Foram observados para os extratos metanólicos e hexânicos das folhas de *Senna macranthera*, intensa atividade laxativa e motilidade intestinal comparável ao padrão bisacodil (princípio ativo da Lacto-purga®) e antiinflamatória similar ao diclofenaco de sódio [Nogueira, 2009].

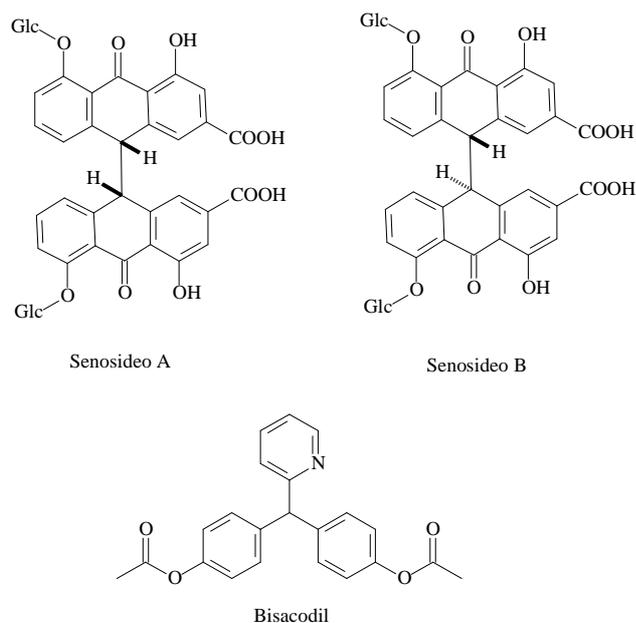
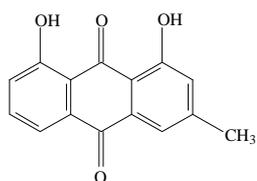
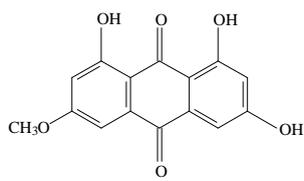


Figura 9- Representação estrutural de compostos purgativos

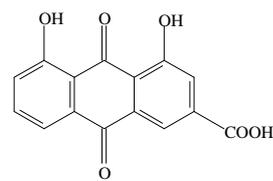
Algumas espécies de *Senna* são relatadas como tóxicas, para aves, bovinos e caprinos levando à síndrome da degeneração muscular e até a morte [CALORE, 1998]. Em setembro de 2006 no estado indiano de Uttar Pradesh, a morte de nove crianças foi atribuída ao envenenamento pelo consumo de grãos de *S. occidentalis* [Vashishtha, 2007]. No entanto, folhas da mesma espécie, *S. occidentalis* são utilizadas pelos índios em pescarias, matando os peixes sem torná-los tóxicos e as sementes são misturados a grãos de café na preparação de bebida para o consumo humano pelas populações do sertão cearense [Lombardo, 2009].

Quadro 1 – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

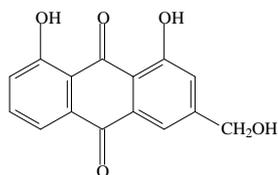
Crisofanol (1)



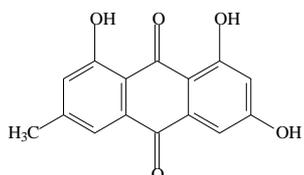
Fisciona (2)



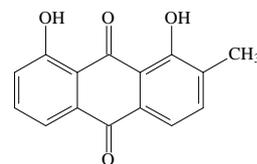
Reina (3)



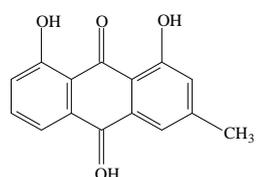
Aloe-emodina (4)



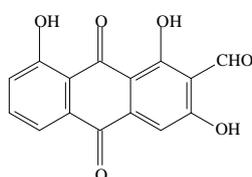
Emodina (5)



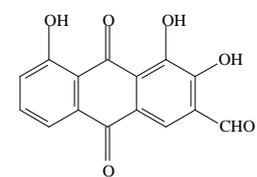
Isocrisofanol (6)



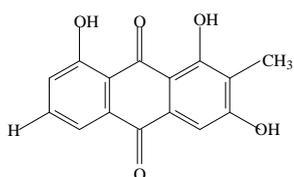
Crisofanol (1)



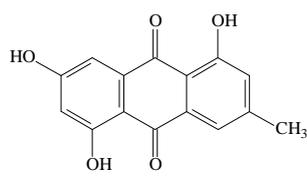
Alatonal (8)



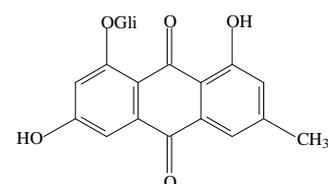
Alquinona (9)



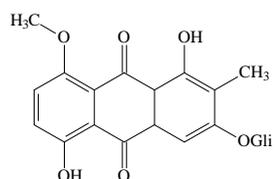
1,3,8-Trihidroxi-2-metiltraquinona (10)



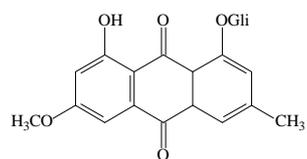
Alatinona (11)



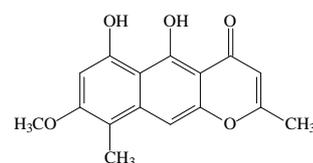
Aloe-emodina-8-O-β-glicosídeo (12)



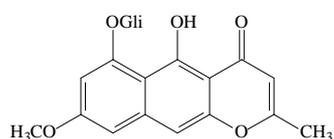
1,5-Diidroxi-8-metoxi-2-metiltraquinona-3-O-β-D-glicopiranosídeo (13)



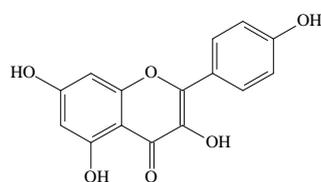
Fisciona-1-O-glicosídeo (14)



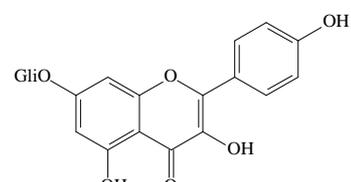
9-Metil-rubrofusarina (15)



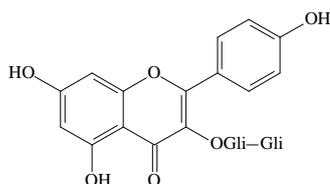
Rubrofusarina 6-O-glicosídeo (16)



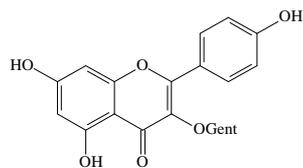
Campferol (17)



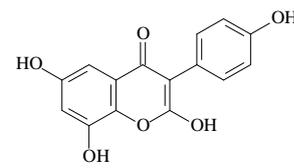
Campferol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (18)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

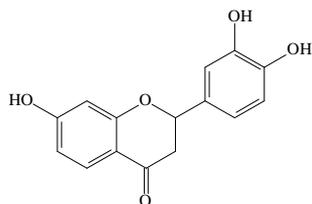
Campferol-3-O-β-D-glicopiranosil-(1→6)-β-D-glicopiranosideo (19)



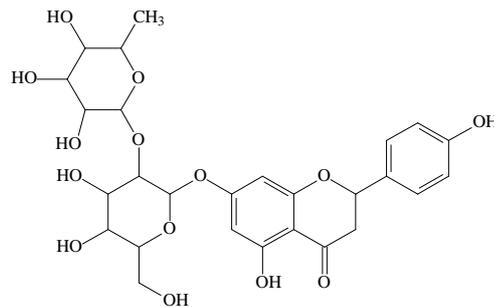
Campferol 3-O-gentiobiosídeo (20)



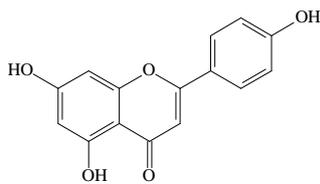
6,8,4'-trihidroxi flavona (21)



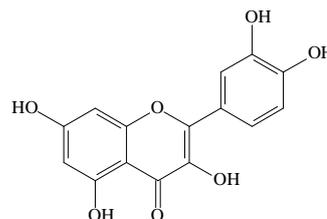
3',4',7-Triidroxiflavanona (22)



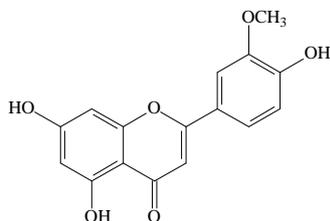
Naringina (23)



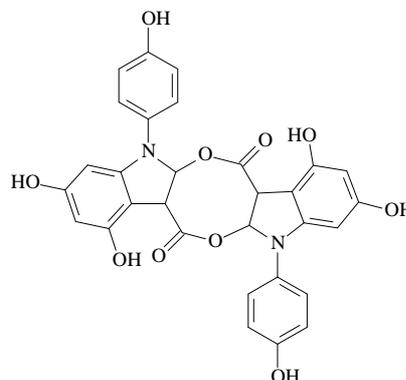
Apigenina (24)



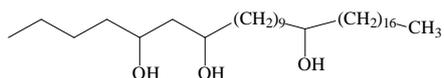
Quercetina (25)



Crisoeriol (26)



Cassiaindolina (27)



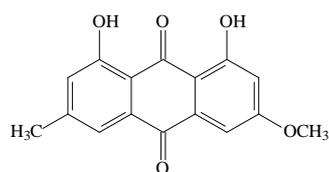
5, 7, 17-hidroxitetracontano (28)



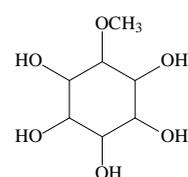
n-Dotriacontanol (29)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

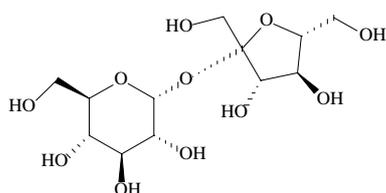
n-Triacontanol (30)



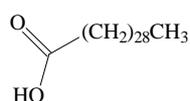
1,8-Diidroxi-3-metoxi-6-metilantraqinona (31)



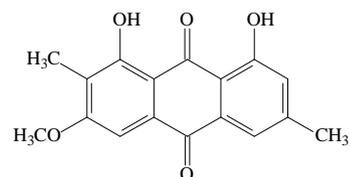
1-O-Metil-mio-inositol (32)



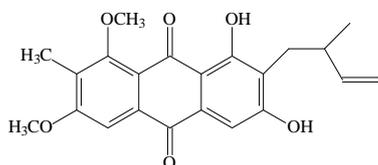
Sacarose (33)



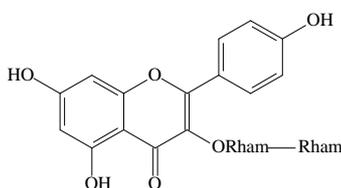
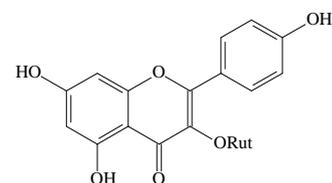
Ácido triacontanóico (34)



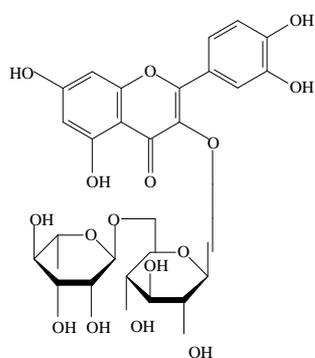
1,8-Diidroxi-6-metoxi-3,7-dimetil antraqinona (35)



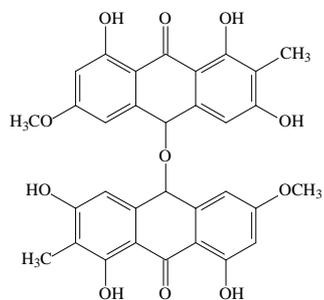
1,3-Diidroxi-6,8-dimetoxi-2-isoprenil antraqinona (36)

Campferol 3-O- α -L-ramlnopiranosil(1 \rightarrow 2)- α -L-ramlnopiranosídeo (37)

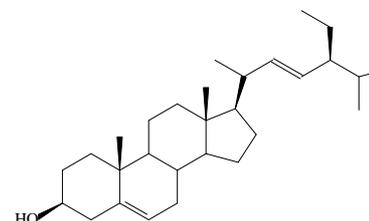
Campferol 3-O-rutinosídeo (38)



Rutina (39)



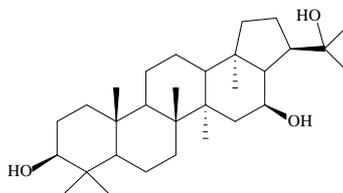
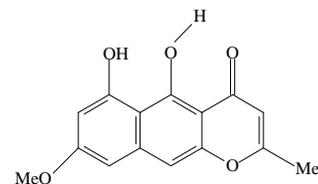
4'-bis(1,3,8-triidroxi-2-metil-6-metoxiantraqinona) (40)



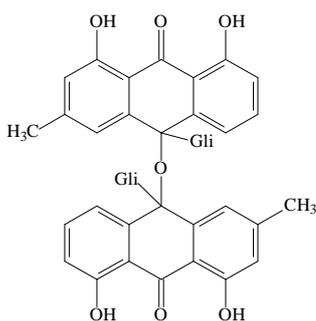
Estigmasterol (41)



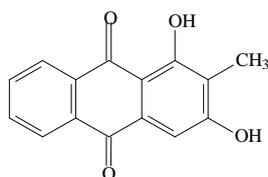
Ácido malvático (42)

3 β ,16 β ,22-triidroxiisohopano (43)

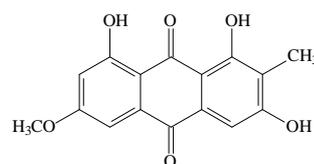
Rubrofusarina (44)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

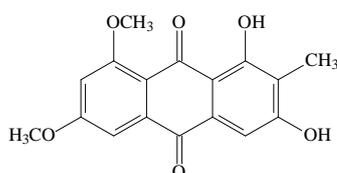
Martianina (45)



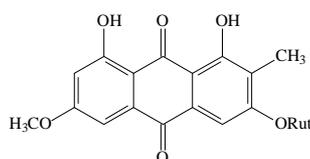
1,3-Dihidroxi-2-metilantraqüinona (46)



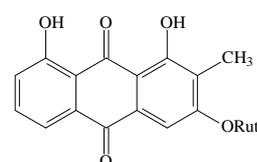
1,3,8-Triidroxi-6-metoksi-2-metilantraqüinona (47)



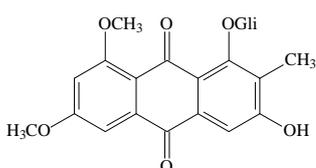
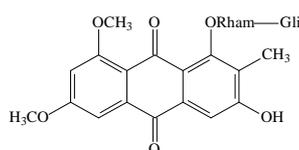
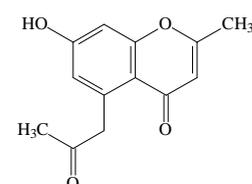
1,3-diidroxi-6,8-dimetoksi-2-metilantraqüinona (48)



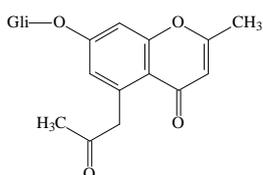
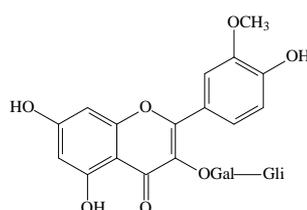
1,8-diidroxi-6-metoksi-2-metilantraqüinona 3-O-rutinosídeo (49)



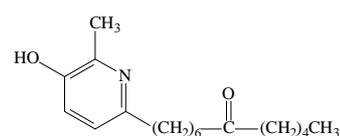
1,8-diidroxi-2-metilantraqüinona 3-O-rutinosídeo (50)

3-hidroxi-6,8-dimetoksi-2-metilantraqüinona-1-O- β -D(+)-glicopiranosídeo (51)3-hidroxi-6,8-dimetoksi-2-metilantraqüinona-1-O-rhamnopiranosil-(1 \rightarrow 6)-glicopiranosídeo (52)

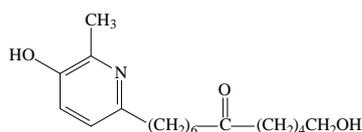
5-Acetonil-7-hidroxi-2-metilcromona (53)

5-acetonil-7- β -D-glicopiranosiloxi-2-metilcromona (54)

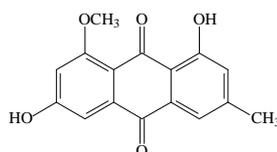
Cassiglucina (55)



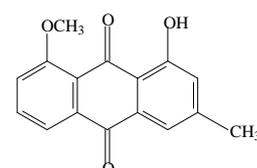
7'-Multijugüinona (56)



12'-hidroxi-7'-multijugüinona (57)

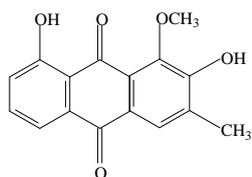


Questina (58)

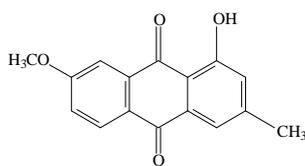


8-O-metilcrisofanol (59)

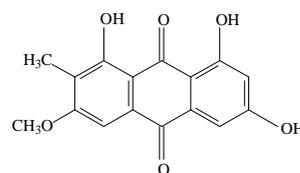
Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil



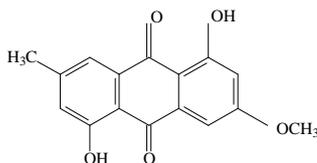
Obtusifolina (60)



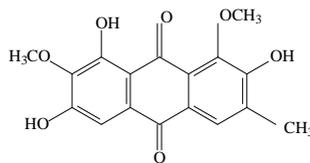
1-Hidroxi-7-metoxi-3-metilanttraquinona (61)



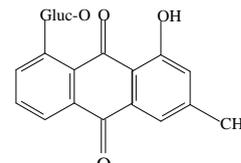
7-Metilfisciona (62)



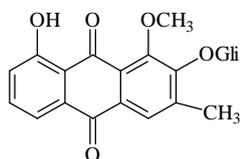
1,5-diidroxi-3-metoxi-7-metilanttraquinona (63)



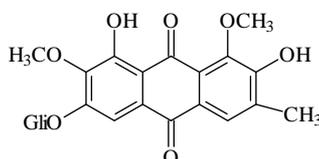
Aurantio-obtusina (64)



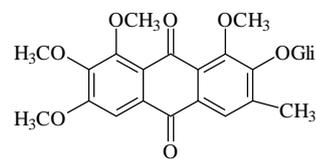
Crisofaneina (65)



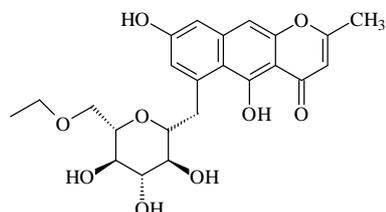
Glicosil-obtusifolina (66)



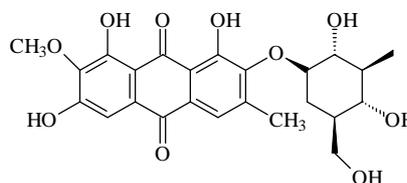
Aurantioobtusina-6-O-β-D-glicopiranosídeo (67)



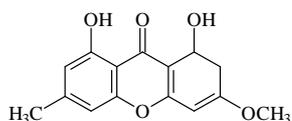
Glicosil-crisoobtusina (68)



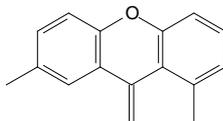
NorrubrofusarinA-6-O-β-D-(6'-O-acetil)-glicopiranosídeo (69)



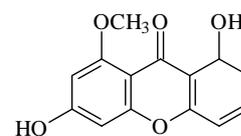
1-Demetilaurantio-obtusina-2-O-β-d-glicopiranosídeo (70)



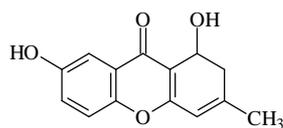
1,8-Diidroxi-3-metoxi-6-metilxantona (71)



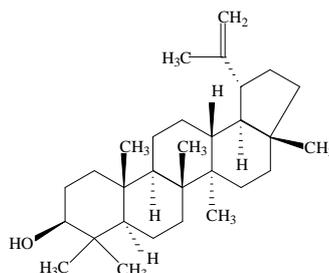
Euxantona (72)



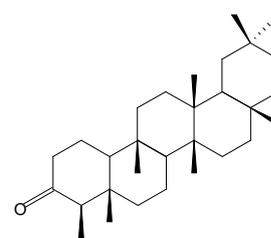
Isogentisina (73)



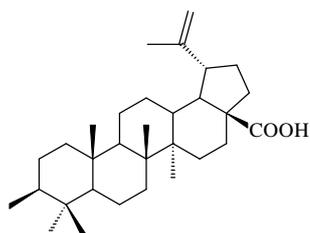
1,7-diidroxi-3-metilxantona (74)



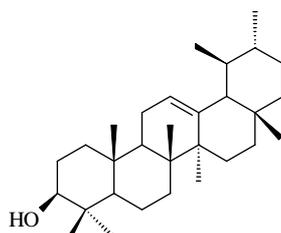
Lupeol (75)



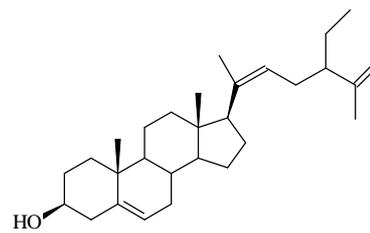
Friedelina (76)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

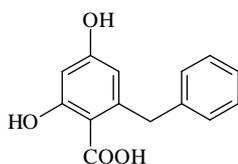
Ácido betulínico (77)



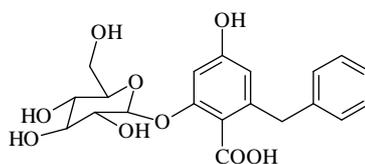
α-Amirina (78)



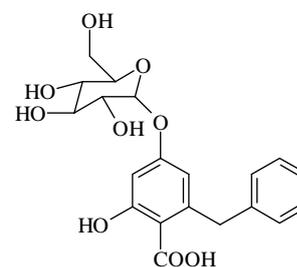
(24S)-24-etilcolesta-5,22(E),25-trien-3β-ol (79)



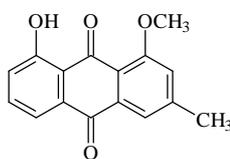
Ácido 2-benzil-4,6-diidroxi benzóico (80)



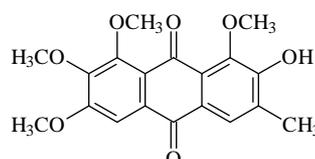
Ácido 2-Benzil-4-hidroxi benzóico-6-O-β-D-glicopiranosídeo (81)



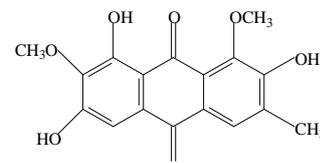
Ácido 2-benzil-6-hidroxi benzóico -4-O-β-D-glicopiranosídeo (82)



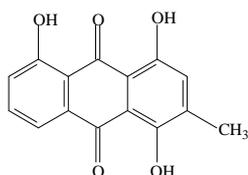
1-O-metilCrisofanol (83)



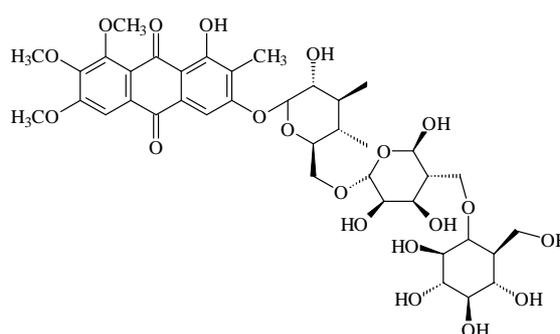
Crisoobtusina (84)



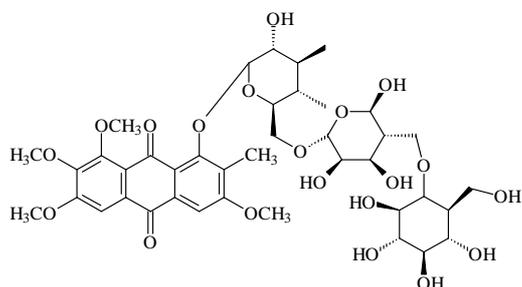
Obtusina (85)



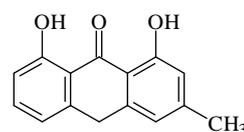
Islandicina (86)



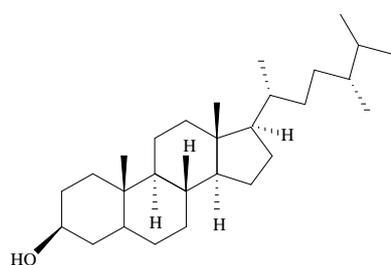
1,3-Diidroxi-6,7,8-trimetoxi-2-metilntraquinona 3-O-α-rhamnopiranosil-(1→6)-β-glicopiranosil (1→6)-β-galactopiranosídeo (87)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

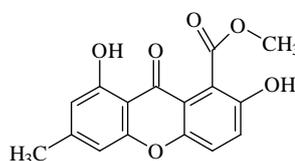
1-hidroxi-3,6,7,8-tetrametoxi-2-metilantraquinona 1-O- α -rhamnopiranosil (1 \rightarrow 6)- β -glicopiranosil (1 \rightarrow 6) - β - galactopiranosideo (88)



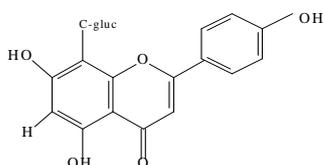
Crisarobina (89)



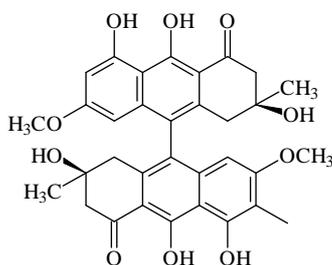
Campesterol (90)



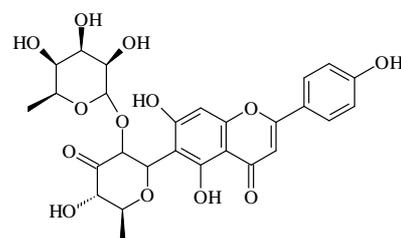
Cassiolina (91)



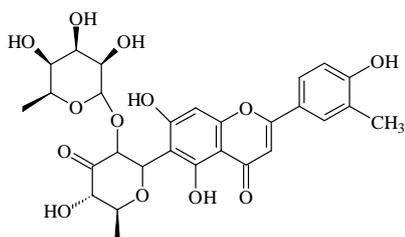
Vitexina (92)



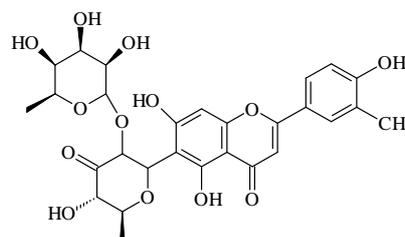
Occidentalol II (93)



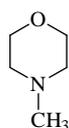
Cassioccidentalina A (94)



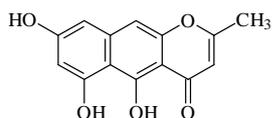
Cassioccidentalina B (95)



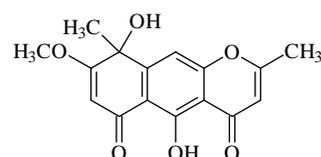
Cassioccidentalina C (96)



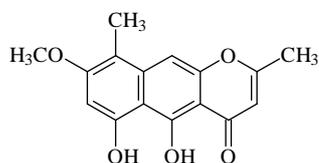
N-Metilmorfolina (97)



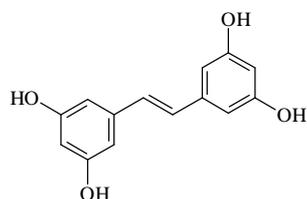
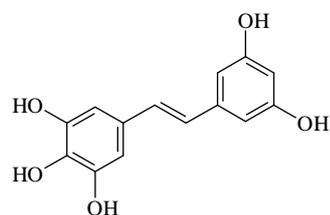
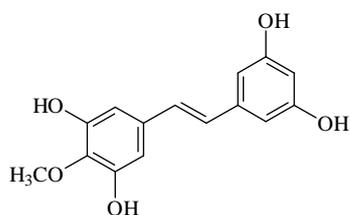
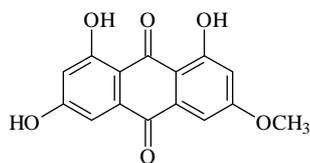
Nor-rubrofusarina (98)



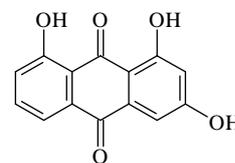
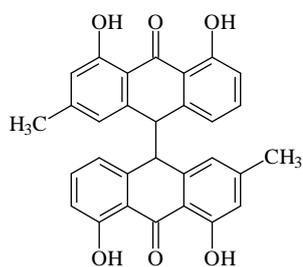
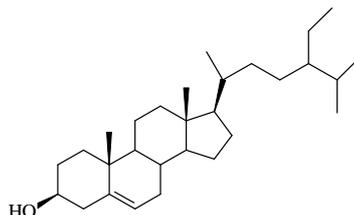
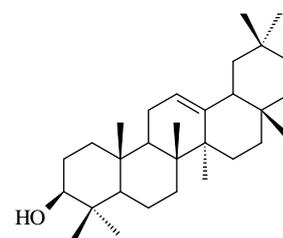
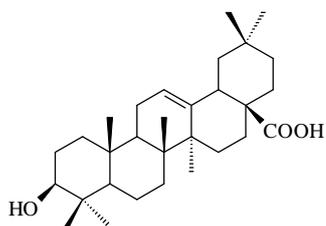
Quinquangulona (99)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

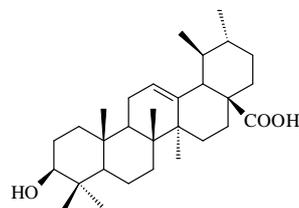
Quinquangulina (100)

5,5'-(1E)-1,2-etenediilbis- 1,3-
Benzenediol, (101)5-[(1E)-2-(3,5-
dihydroxifenil)etenil]-1,2,3-
Benzenetriol (102)5-[(1E)-2-(3,5-
diidroxifenil)etenil]-2-metoxi 1,3-
Benzenediol (103)

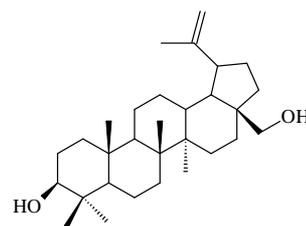
Lunatina (104)

1,3,8-triidroxiantraquinona
(105)Crisofanol -10,10'-biantrona
(106) β -sitosterol (107) β -amirina (108)

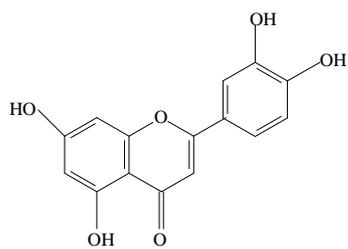
Ácido oleanólico (109)



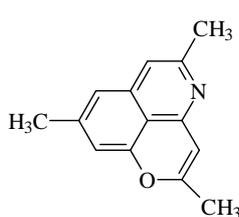
Ácido ursólico (110)



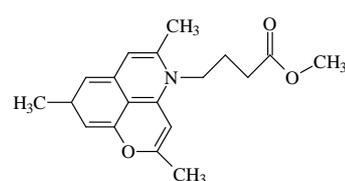
Álcool betulínico (111)



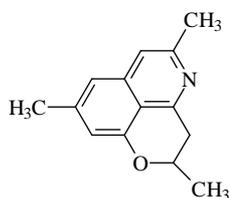
Luteolina (112)



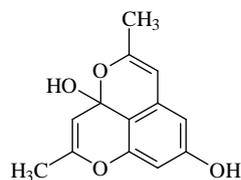
Cassiarina A (113)



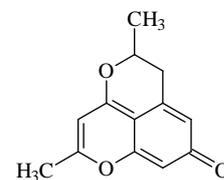
Cassiarina B (114)

Quadro 1 (Cont.) – Constituintes químicos de espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

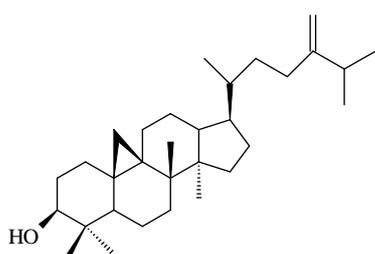
Cassiarina C (115)



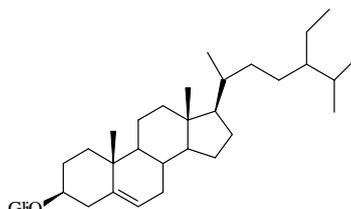
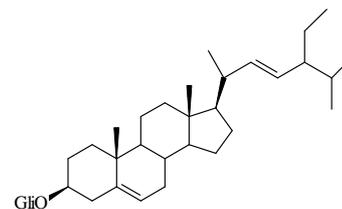
Barakol (116)



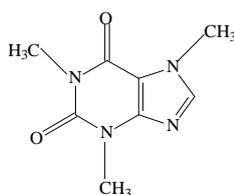
10,11-Diidroandrobarakol (117)



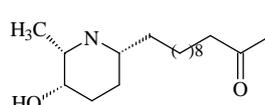
Cicloeucaleanol (118)

 β -Sitosterol-O-glicosídeo (119)

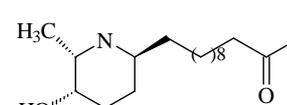
Estigmasterol-O-glicosídeo (120)



Caféina (121)



Cassina (122)



Iso-6-cassina (123)

A revisão utilizando as ferramentas de busca SciFinder[®] Scholar[™] 2007 e www.Scopus.com realizada com as 40 espécies de *Senna* coletadas e depositadas no Herbário Prisco Bezerra, revela o perfil químico e propriedades biológicas comprovando o grande potencial do gênero (Quadro 01, pg. 14).

Das 40 espécies pesquisadas, 24 (60%) não apresentaram nenhum estudo químico, 21 (52%) permanecem até hoje sem nenhum relato de estudos bio-farmacológicos e 20 (50%) tiveram indicações de usos diversos como em marcenaria, dermatites, abortivos e como laxantes. As espécies mais extensivamente estudadas do ponto de vista químico, foram *S. alata* e *S. obtusifolia* com 31 compostos identificados, seguidos de *S. occidentalis* (27 compostos).

A composição química das espécies pesquisadas apresentou-se estruturalmente diversificada, com compostos da classe dos polissacarídeos, esteróides, lactonas, estilbenos e

triterpenos, porém as classes mais comuns são as antraquinonas, flavonóides e cromonas. A grande maioria das espécies que apresentam estudo químico, ou tem antraquinonas, ou tem alcalóides em sua composição, com exceção de *S. quinquangulata* que não tem relato até o presente de nenhuma das duas classes e *S. alata* que, diferente das outras espécies de *Senna*, apresenta alcalóides e antraquinonas em sua composição química. A Figura 10 representa o perfil químico das 40 espécies de *Senna* pesquisadas.

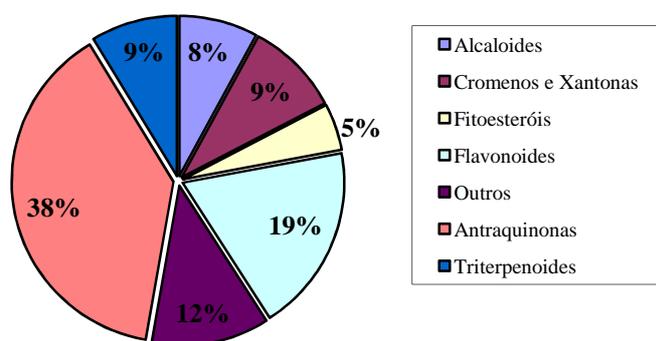


Figura 10- Perfil químico de 40 espécies de *Senna* do Nordeste do Brasil

Alguns dos componentes químicos se destacaram, seja pela presença constante ou rara nas plantas investigadas ou pelas atividades apresentadas. As antraquinonas crisofanol (**1**, 1,8-diidroxi-3-metil-antraquinona) e fisciona (**2**, 1,8-diidroxi-3-metil-6-metoxi-antraquinona) foram os compostos identificados em um número maior de espécies (nove). Além de muito frequentes, estes compostos, notadamente o crisofanol além de ser citado atualmente em 1645 referências, das quais 1306 estão associadas a algum tipo de estudo biológico, está também presente em 160 patentes de diferentes países. Atividades antiinflamatória, antimicrobiana, purgativa, antipsoríase, antitumoral, antimalárica e antioxidante entre outras são relatadas para o crisofanol.

A N-metilmorfolina **97**, foi isolada como produto natural uma única vez nas sementes de *S. occidentalis*. É extensivamente utilizada em sínteses de complexos metálicos [Yadav 2010].

O extrato aquoso de *Senna siamea* apresentou baixa atividade ansiolítica, porém, ensaios com o seu constituinte ativo barakol (**116**, 2,5-Dimetil-3 α H-pirano[2,3,4-de]-1-benzopiran-3 α ,8-diol) apresentaram resultados semelhantes ao diazepam, revelando-se um potente ansiolítico natural [Thongsaard, 1996]. Outro biocomposto potencial revelado foi cassiaindolina **27**, um alcaloide indólico dimérico presente nas folhas de *S. alata* que mostrou excelente atividade analgésica e antiinflamatória [Villasenor, 2009].

Pela composição química estruturalmente diversificada, e potencial biofarmacológico, as espécies de *Senna* nativas do nordeste do Brasil, são um universo a ser explorado na busca por biocompostos úteis.

Tabela 01- Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de *Senna* coletadas no Nordeste do Brasil

<i>Espécie</i> <i>Nº exsicata</i>	<i>Indicações</i> <i>populares</i>	<i>Atividades</i> <i>Comprovadas</i>	<i>Constituintes Químicos</i>	<i>Referências</i>
<i>S. alata</i> L. Mangerioba- grande EAC 6248	Hipertensão, anemia, diabetes, malária, asma, eczema, hepatite, úlceras, escabioses, impigens, vermes intestinais em humanos	Abortiva, anti-malária, antiviral, antifúngica antioxidante, anti- inflamatória, purgativa, hepatoprotetora, antimicrobiana, estimulante de crescimento vegetal, tóxica	Crisofanol (1), Fisciona (2), Reina (3), Aloe-emodina (4), Emodina (5), Isocrisofanol (6), 4,5-diidroxi-2-hidroxiemetilanttraquinona (7), Alatonal (8), Alquinona (9), 1,3,8-Triidroxi-2-metilanttraquinona (10), Alatinona (1,5,7-trihidroxy-3-methylanttraquinone (11), Aloe-emodina-8-O-β-glicosídeo (12) 1,5-Diidroxi-8-metoxi-2-metilanttraquinona-3-O-β-D-glicopiranosídeo (13) Fisciona-1-O-glicosídeo (14), Metil-rubrofusarina (15), Rubrofusarina 6-O-glicosídeo (16), Campferol (17), Campferol-3-O-β-D-glicopiranosídeo (18), Campferol-3-O-β-D- glicopiranosil-(1->6)-β-D-glicopiranosídeo, (19), Campferol 3-O-gentiobiosídeo (20), 6,8,4'-triidroxi flavona (21), 4'-Triidroxi-flavanona (22), Naringina (23), Apigenina (24), Quercetina (25), Crisoeriol (26), Cassiaindolina (27), 5, 7, 17-hidroxitetratriacontano (28), n-Dotriacontanol (29), n-Triacontanol (30)	Fernand 2008, Okpuzor 2009, Okwu 2009, Pinto, 2004, Yakubu, 2010 Kayembe 2010 Rodrigues 2010. Villasenor 2009, Liu 2009, Hazni 2008, Rahman 2006, Hennebell 2009, Rahaman 2006, Idu 2007, Agbagwa 2003,

Tabela 01 (Cont.) - Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de *Senna* coletadas no Nordeste do Brasil

<i>S. birostris</i> I&B Mutuy EAC 22523	-	-	1,8-Diidroxi-3-metoxi-6-metil-antraquinona (31), 1-O-Metil-mio-inositol (32), Sacarose (33)	Vila 2003
<i>S. cearensis</i> Afr. Fern. & E. Nunes Besouro, pé-de-bode EAC 15801	-	Citotóxica e Antioxidante	Crisofanol (1), Fisciona (2), Ácido triacontanóico (34), n-Triacontanol (30)	Ferreira 2009
<i>S. didymobotrya</i> I&B EAC 22154	-	Antimalárica	Crisofanol (1), Fisciona (2)	Alemayehu 1996, Ramalhetete 2008
<i>S. fistula</i> L. Chuva de ouro EAC 39514	Ornamental	-	Crisofanol (1), Fisciona (2), Reina (3), 1,8-Diidroxi-6-metoxi-3,7-dimetil-antraquinona (35), 1,3-Diidroxi-6,8-dimetoxi-2-isoprenil-antraquinona (36)	Ahuja 1988, Dutta 1998, Das 2000
<i>S. hirsuta</i> I&B EAC 11296	Febres, cólicas uterinas, dores estomacais, retenção de urina	Tratamento de placas e cáries, antimicrobiana	Campferol (17), Campferol 3-O-β-L-rhamnopiranosil(1→2)-α-L-rhamnopiranosídeo (37), Campferol 3-O-rutinosídeo (38), Rutina (39), Quercetina (25), 4,4'-bis(1,3,8-triidroxi-2-metil-6-metoxiantraquinona) (40), Estigmasterol (41), Ácido malválico (42), 3β,16β,22-triidroxiisohopano (43)	Joshua 2010, Rao 1999, Singh 1987
<i>S. macranthera</i> I&B. Pau fava, mangagá, aleleuia EAC 39085	Laxante, brinquedos de madeira	Antioxidante, antiinflamatória, antimicrobiana, purgativa	Emodina (5), Rubrofusarina (44)	Nogueira 2009, Branco 2008

Tabela 01 (Cont.) - Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de *Senna* coletadas no Nordeste do Brasil

<i>S. martiana</i> I&B Canafistula, café-bravo EAC 32440	Laxante, abortivo e antitussígeno	Citotóxica, antioxidante	Crisofanol (1), Fisciona (2), Aloe-emodina (4), Martianina (45) (10,10'-il-Crisofanol -10-oxi-10,10'-biglicosídeo),	Agra 2008, Macedo 2009
<i>S. multijuga</i> Canafrista, canela-paula-teixeira, cássia-aleluia, cigarreira, manduirana-de-folha-mole, pau-amendoim, pau-de-cigarra, pau-de-fava e pau-de-pito EAC 23345	Construção civil, fósforos, móveis populares, corante	Inibidor da Acetilcolinesterase	1,3-Diidroxi-2-metilntraquinona (46), 1,3,8-Triidroxi-6-metoxi-2-metilntraquinona (47), 1,3,8-triidroxi-2-metilntraquinona (10), 1,3-diidroxi-6,8-dimetoxi-2-metilntraquinona (48), 1,8-diidroxi-6-metoxi-2-metilntraquinona 3-O-rutinosídeo (49), 1,8-diidroxi-2-metilntraquinona 3-O-rutinosídeo (50), 3-hidroxi-6,8-dimetoxi-2-metilntraquinona-1-O-β-D(+)-glicopiranosídeo (51), 3-hidroxi-6,8-dimetoxi-2-metilntraquinona-1-O-rhamnopiranosil-(1 → 6)-glicopiranosídeo (52), 5-Acetonil-7-hidroxi-2-metilcromona (53), 5-acetonil-7-β-D-glicopiranosiloxi-2-metilcromona (54), Rutina (39), Cassiglucina (55) 7'-Multijuguinona (56), 12'-hidroxi-7'-multijuguinona (57)	Tiwari 1983, Singh 1981

Tabela 01 (Cont.) - Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de *Senna* coletadas no Nordeste do Brasil

<i>S. obtusifolia</i> I&B Matapasto, fedegoso EAC 37724	Abortivo, laxante, sedativo, reumatismo, dor-de- cabeça, hepatite, diurético, para melhorar a vista	Antiastênica, diurética, neuroprotetora	Crisofanol (1), Fisciona (2), Reina (3), Aloe-emodina (4), Emodina (5), Questina (58), 8- <i>O</i> -metilcrisofanol (59), Obtusifolina (60), 1-Hidroxi-7-metoxi-3-metilantraquinona (61), 7-Metilfisciona (62), 1,5-diidroxi-3-metoxi-7-metilantraquinona (63), Aurantio-obtusina (64), Crisofaneina (65), Glicosil-obtusifolina (66), Aurantioobtusina-6- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo (67), Glicosil-crisoobtusina (68), Nor-rubrofusarin-6- <i>O</i> - β -D-(6'- <i>O</i> -acetil) - glicopiranosídeo (69), 1-Demetilaurantio-obtusina-2- <i>O</i> - β -d-glicopiranosídeo (70) 1,8-Diidroxi-3-metoxi-6-metilxantona (71), Euxantona (72), Isogentisina (73), 1,7-diidroxi-3-metilxantona (74), Estigmasterol (41), Lupeol (75), Friedelina (76), Ácido betulínico (77), α -Amirina (78), (24 <i>S</i>)-24-etilcolesta-5,22(<i>E</i>),25-trien-3 β -ol (79), Ácido 2-benzil-4,6-diidroxi benzóico (80), Ácido 2-Benzil-4,6-diidroxi benzóico-6- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo (81), Ácido 2-benzil-4,6-diidroxi benzóico -4- <i>O</i> - β -D-glicopiranosídeo (82)	Agra 2008, Sob 2010, Tang 2008, Kim 2009, Wu 2010
---	---	---	--	---

Tabela 01 (Cont.) - Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de *Senna* coletadas no Nordeste do Brasil

<p><i>S. occidentalis</i> L. Pajamarioba, pajimarioba Coffe sene EAC 26392</p>	<p>Bebida como café, tônico, estomáquico, febrífugo, laxante e antimicrobiano</p>	<p>Anti-alérgica, antiinflamatória, antioxidante, tóxica para cabras gestantes, ratos, coelhos, bovinos e aves</p>	<p>Crisofanol (1), Fisciona (2), Aloe-emodina (4), Emodina (5), Questina (58), 8-O-metilCrisofanol (59), Obtusifolina (60), 1-hidroxi-7-metoxi-3-metilntraquinona (61), Aurantio-obtusina (64), Glicosil-obtusifolina (66), 1-O-metilCrisofanol (83), Crisoobtusina (84), Obtusina (85), Islandicina (86), 1,3-Diidroxi-6,7,8-trimetoxi-2-metilntraquinona 3-O-α-rhamnopiranosil-(1\rightarrow6)-β-glicopiranosil(1\rightarrow6)-β-galactopiranosideo (87), 1-hidroxi-3,6,7,8-tetrametoxi-2-metilntraquinona 1-O-α-rhamnopiranosil (1\rightarrow6)-β-glicopiranosil(1\rightarrow6)-β-galactopiranosideo (88), Crisarobina (89), Campesterol (90), Cassiolina (91), Apigenina (24), Crisoeriol (26), Vitexina (92), Occidentalol II (93), Cassioccidentalina A (94), Cassioccidentalina B (95), Cassioccidentalina C (96), N-Metilmorfolina (97)</p>	<p>Crawford 1990, Guo 1998 Chukwujekwu 2006, Chauhan 2001, Sreejith 2010, Barbosa 2010, Yadav 2010, Lombardo 2009, Kim 1971</p>
<p><i>S. quinquangulata</i> I&B EAC 10556</p>		<p>Antiipertensiva, bactericida</p>	<p>Rubrofusarina 6-O-glicosídeo (16), Rubrofusarina (44), Nor-rubrofusarina (98), Quinquangulona (99), Quinquangulina (100), 5,5'-(1E)-1,2-enediilbis-1,3-Benzenediol, (101), 5-[(1E)-2-(3,5-diidroxifenil)etenil]-1,2,3-Benzenetriol (102), 5-[(1E)-2-(3,5-diidroxifenil)etenil]-2-metoxi 1,3-Benzenediol (103)</p>	<p>Gescher 2003, Choi, 2007</p>

Tabela 01 (Cont.) - Perfil Químico e Bio-farmacológico de 40 espécies de *Senna* coletadas no Nordeste do Brasil

<i>S. reticulata</i> Willd Saragundí EAC 31588	Reumatismo, doenças do fígado, Anti-reumático, dermatites	Antioxidante, fungicida Antimalárica	Crisofanol (1), Fisciona (2), Aloe-emodina (4), Emodina (5), Lunatina (104), 1,3,8-triidroxiantraquinona (105), Crisofanol -10,10'-biantrona (106), β -sitosterol (107) e Estigmasterol (41), α -Amirina (78), β -amirina (108), Campferol (17)	Santos 2008, Lizcano 2010, Kvist 2006
<i>S. rugosa</i> I&B Raiz-preta, boi gordo EAC 29779	Vermífugo, mordeduras de cobra, Feridas, Alimento para bovinos	Vermes intestinais em humanos	Crisofanol (1), Fisciona (2), Rubrofusarina (44), Quinquangulina (100)	Rodrigues 2001, Fenner 2006, Barbosa 2004
<i>S. siamea</i> I&B Cássia siamea, cássia do Sião EAC 32640	Antimalárica, purgativa	Antidiabético, antilipidêmico, Analgésica; Antiinflamatória; Antipirética	Emodina (5), Campferol (17), Apigenina (24), Lupeol (75), Friedelina (76), Ácido oleanólico (109), Ácido ursólico (110), Betulina (111), Luteolina (112), Estigmasterol (41), β -sitosterol (107), Cassiarina C (113), Cassiarina D (114), Cassiarina E (115), Barakol (116), 10,11-Diidroanidrobarakol (117)	Kumar 2010, Abdulelah 2010, Oshimi 2009, Thongsaard 1996
<i>S. spectabilis</i> var <i>excelsa</i> I&B Canafistula, cássia-do-nordeste EAC 33013	Gripes, resfriados, laxativo, amenorrea, anemias	Citotóxica, Inibidor de acetilcolinesterase	Ácido betulínico (77), Lupeol (75), α -Amirina (78), β -amirina (108), Friedelina (76), Cicloeucalenol (118), Ácido oleanólico (109), Ácido ursólico (110), β -Sitosterol (107), Estigmasterol (41), β -Sitosterol-O-glicosídeo (119), Estigmasterol-O-glicosídeo (120), Cafeína (121), Cassina (122), Iso-6-cassina (123)	Silva 2010; Agra 2008, Santos 2010

5. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL

5.1. Determinação dos constituintes químicos da raiz de *S. martiana*

5.1.2- Determinação estrutural de SMRH1

O tratamento cromatográfico do extrato hexânico da raiz de *Senna martiana*, forneceu a fração denominada SMRH1 (**Fluxograma 1, p. 121**), que se apresentou como um sólido branco amorfo solúvel em piridina e apresentando uma faixa de fusão de 77-79 °C.

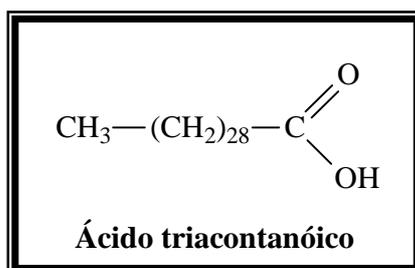
O espectro de absorção na região do IV de SMRH1 (**Figura 11, p. 33**) permitiu a identificação de uma banda larga e centrada em 3419 cm^{-1} de deformação axial da ligação O-H, uma banda em 2918 cm^{-1} característica de deformação axial da ligação C-H de um grupamento metila, uma banda centrada em 2850 cm^{-1} de acordo com a deformação axial da ligação C-H de metileno, uma banda em 1707 cm^{-1} de deformação axial da ligação dupla C=O, uma banda em 1466 cm^{-1} de deformação angular da ligação C-H de metileno, uma banda em 1299 cm^{-1} de deformação angular da ligação C-H de metileno e uma banda em 721 cm^{-1} de deformação angular de ligação C-H.

No espectro de RMN ^1H (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (**Figura. 12, p. 34**) de SMRH1, observou-se os seguintes sinais: δ 0,89 (3H, t, $J= 6,0$ Hz), 1,29 (21H, m), 1,41 (2H, m), 1,82 (2H, m, $J= 7,31$) e 2,54 (2H, t, $J= 7,38$) que podem ser atribuídos a hidrogênios de hidrocarboneto alifático. O sinal em δ 2,54 sugere uma proximidade destes hidrogênios com algum grupo de desproteção talvez uma carbonila.

No espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) (**Figura 13, p. 35**) foi possível observar 8 linhas espectrais, onde o deslocamento químico de δ 14,2 é referente a um grupamento metila. Foram observados sinais em δ 22,9, 25,6, 29,6, 29,81, 32,1 e 34,9 referentes a carbonos metilênicos. O sinal em δ 34,9 é compatível com um grupamento metilênico que pode estar ligado à uma carbonila. Também foi possível observar um sinal com deslocamento químico em δ 175,9 atribuído a carbono de carbonila. A comparação do espectro de RMN ^{13}C - DEPT 135° de SMRH1 (**Figura 14, p. 36**) com o espectro de RMN ^{13}C -BB revelou o padrão de substituição dos carbonos, confirmando assim a presença de um carbono metílico e de vários carbonos metilênicos, como também o sinal em δ 175,9 que é referente a carbono não hydrogenado.

O espectro de massas de SMRH1 (**Figura 15, p. 36**) mostrou o pico do íon molecular com razão massa/carga (m/z) em 452 daltons que juntamente com os dados apresentados acima foi possível sugerir para SMRH1 a fórmula molecular $C_{30}H_{60}O_2$.

Com os dados apresentados foi possível concluir que SMRH1 tratava-se de um ácido graxo de cadeia longa denominado ácido triacontanóico, conhecido na literatura como ácido melíssico. Este composto já foi isolado de outras plantas como *Hibiscus tiliaceus* L. [MELECCHI, 2005] e *Eucalyptus globulus* [FREIRE, 2005]. Os ácidos graxos são de grande interesse em geoquímica orgânica como precursores de hidrocarbonetos alifáticos [FABIANSKA, 2004].



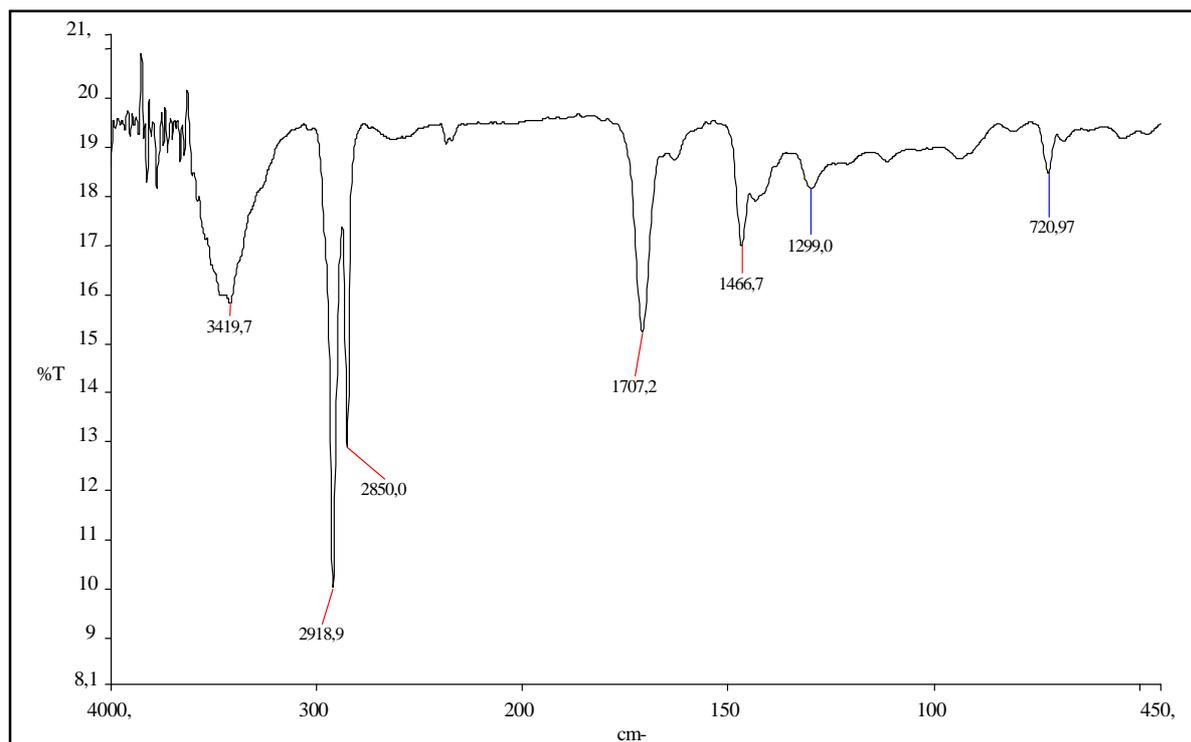


Figura 11 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV, KBr) de SMRH1

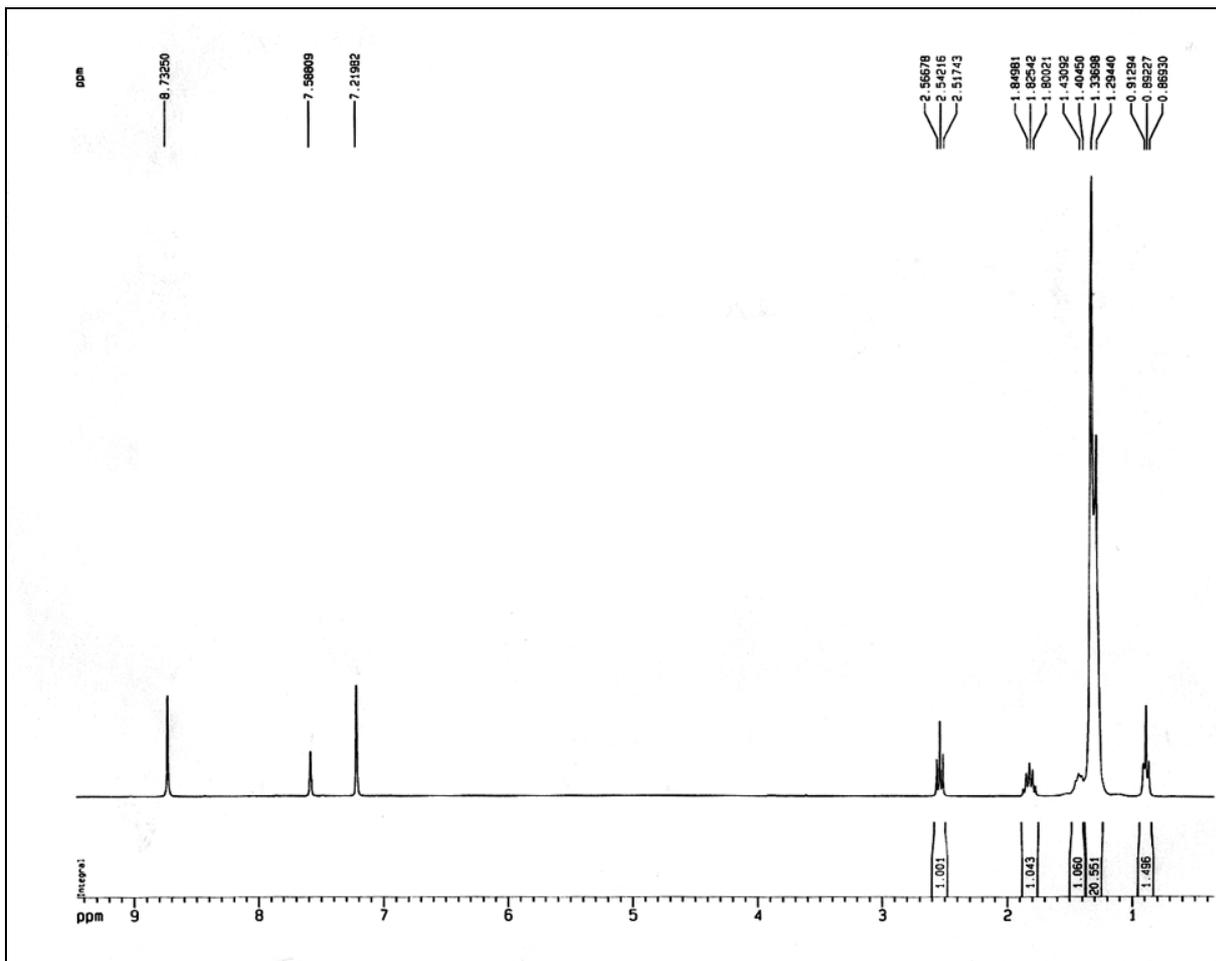


Figura 12 – Espectro de RMN ¹H (300 MHz, C₅D₅N) de SMRH1

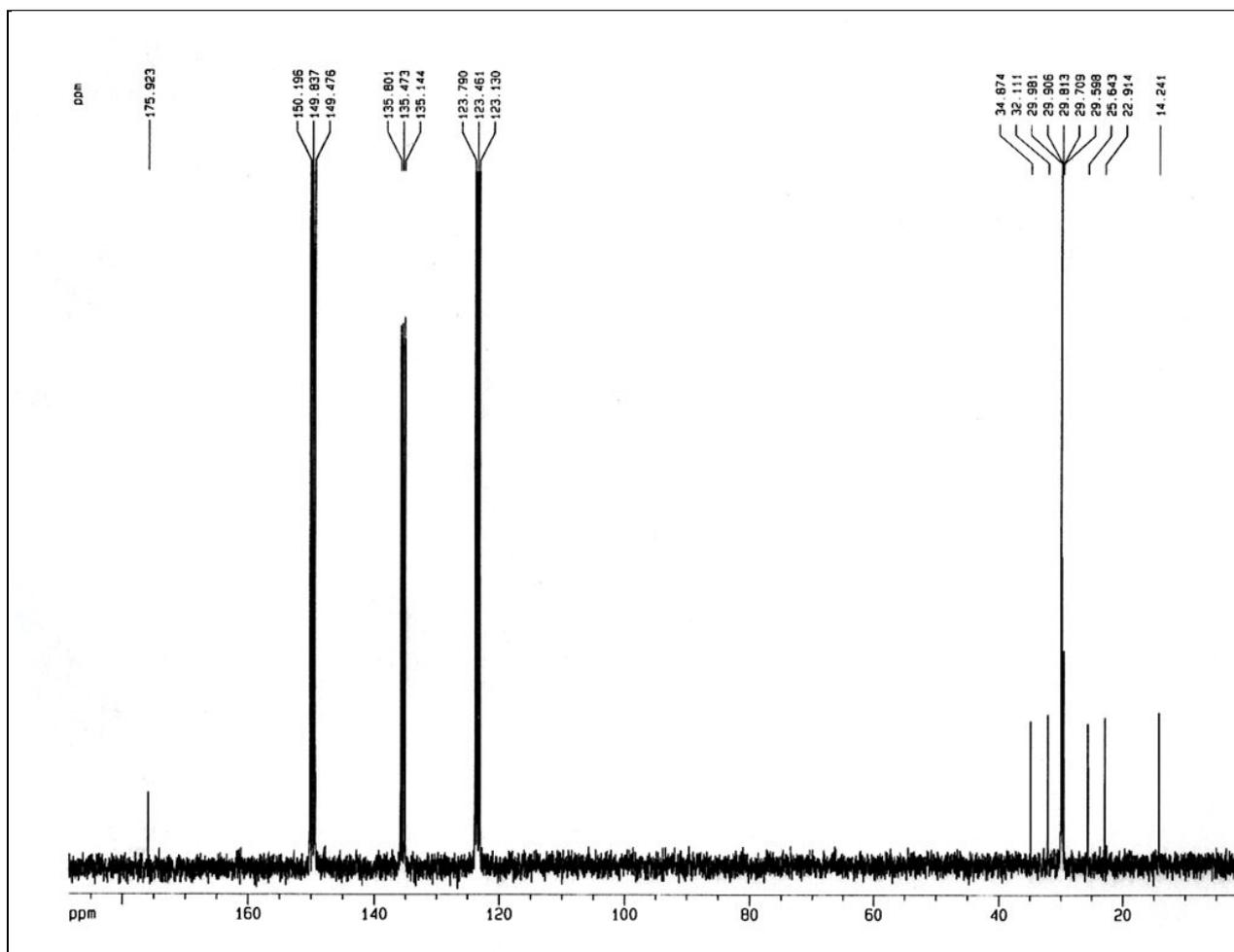


Figura 13 – Espectro de RMN ^{13}C BB (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMRH1

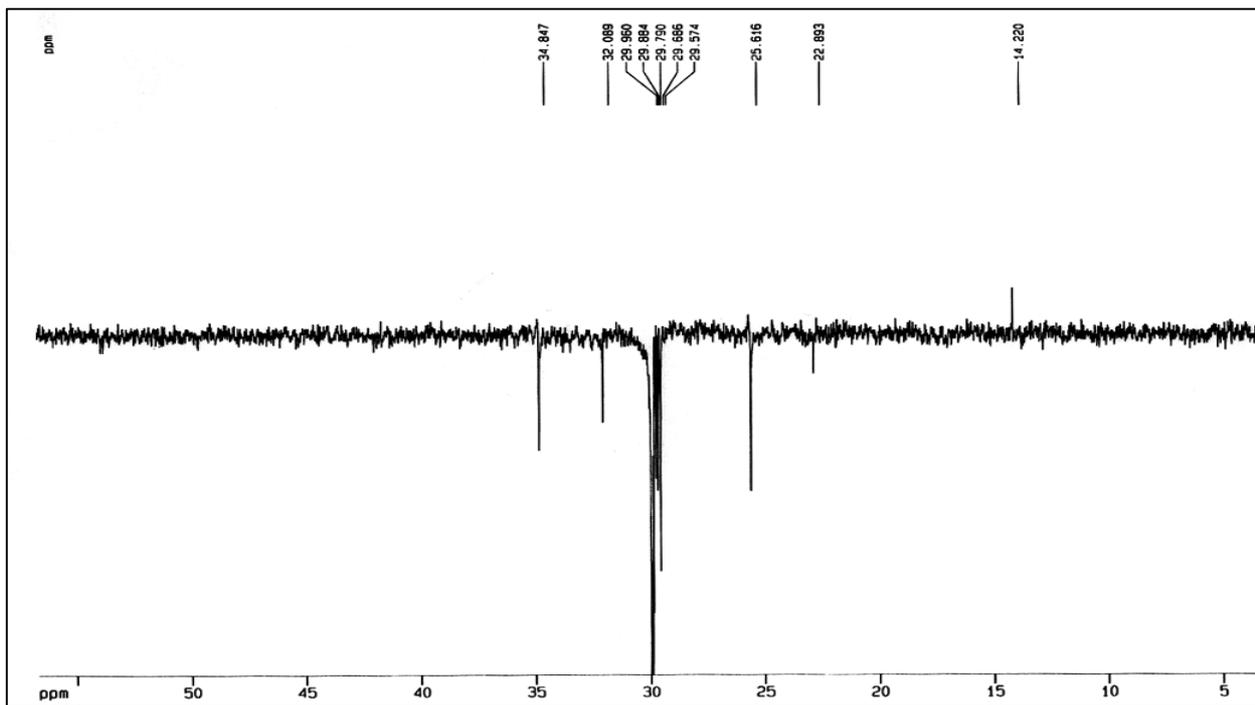


Figura 14 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) de SMRH1

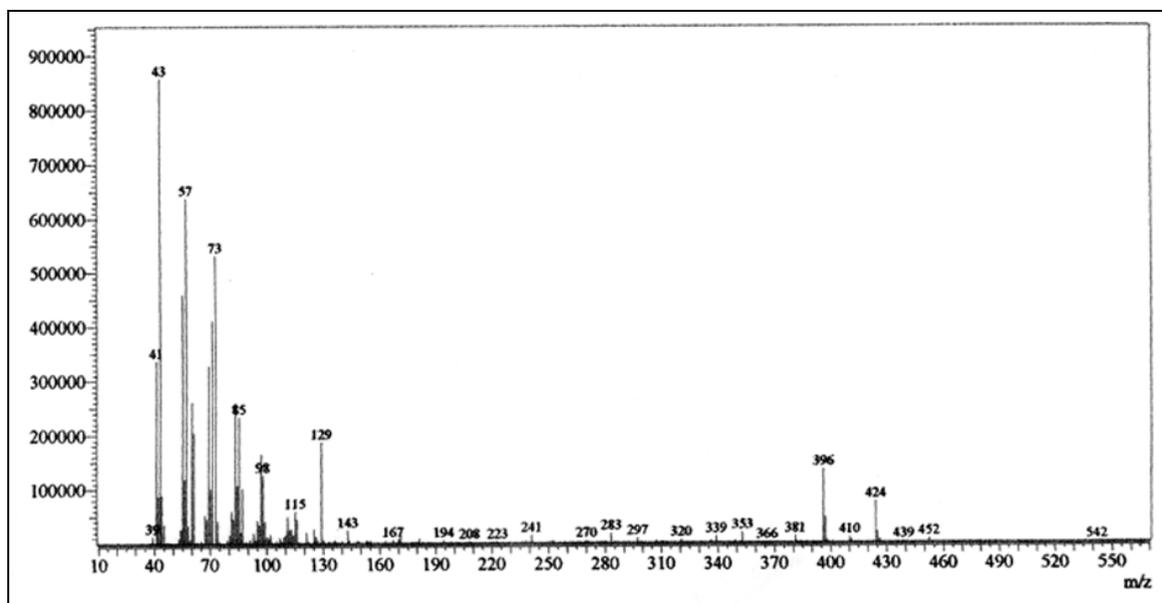


Figura 15 – Espectro de massas de SMRH1

5.1.3. Determinação estrutural de SMR3

O tratamento cromatográfico da fração hexânica obtida do extrato etanólico do raízes de *S. martiana*, levou ao isolamento de um sólido alaranjado, com uma faixa de fusão de 192,2 à 196,4°C, que ao ser colocado na presença de vapores de hidróxido de amônio, apresentou coloração avermelhada. O sólido foi solúvel em CHCl_3 , e denominado SMR3 (83,0 mg).

O espectro na região do infravermelho (IV) de SMR3 (**Figura 16, p. 43**), apresentou uma banda centrada em 3435 cm^{-1} de deformação axial de ligação O-H, outra banda em 3053 cm^{-1} de deformação axial da ligação =C-H compatível com sistema aromático, 1677 cm^{-1} de deformação axial da ligação C=O, uma banda em 1627 cm^{-1} de deformação axial da ligação C=O de carbonila quelada, duas bandas em 1566 e 1474 cm^{-1} de deformação axial da ligação C=C de aromáticos, uma banda em 1370 cm^{-1} de deformação angular no plano da ligação O-H, referente a hidroxilas fenólicas, uma absorção em 1273 cm^{-1} que está de acordo com a deformação axial da ligação C-O, as bandas em 1207 , 1086 , 1024 , 839 e 752 cm^{-1} de deformação angular da ligação C-H de sistema aromático e uma banda em 672 cm^{-1} de deformação angular da ligação O-H.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (**Figura 17, p. 43**), de SMR3 apresentou sinais em δ 7,89 (1H, d, $J = 7,9$ Hz), 8,28 (1H, t, $J = 7,9$ Hz) e 8,41 (1H, d, $J = 7,9$ Hz) característicos de hidrogênios aromáticos com acoplamento *orto*. Mostrou também, sinais em δ 7,69 (1H, s) e 8,23 (1H, s) referentes a hidrogênios aromáticos posicionados de forma *meta* ou *para*. Foi possível observar um sinal simples em δ 3,08 (3H, s), além de sinais simples localizados em região de desproteção, δ 12,58 (1H, s) e δ 12,70 (1H, s) que podem ser relacionados a duas hidroxilas queladas por ligação de hidrogênio.

O espectro de RMN ^{13}C -BB (500 MHz, CDCl_3) de SMR3 (**Figura 18, p. 44**) mostrou quinze linhas espectrais. A linha espectral com deslocamento químico em δ 22,4 estava de acordo com um carbono metílico, provavelmente ligado a anel aromático, foi possível também observar dois sinais na região de carbono carbonílico em δ 182,0 e 192,6. O deslocamento em δ 192,6 é consistente com a presença de uma carbonila quelada. Na região característica de carbonos aromáticos foram observados doze sinais, dos quais os carbonos com deslocamento em δ 162,9 e 162,6 referiam-se a

carbonos aromáticos oxigenados. Foi possível observar ainda na região de aromáticos, em comparação com o espectro RMN ^{13}C - DEPT 135° (**Figura 19, p. 44**), a presença de cinco carbonos metínicos (CH) e por diferença entre os espectros de RMN ^{13}C -BB e DEPT 135° , nove carbonos não hidrogenados (C). Com os dados até aqui apresentados foi possível propor para SMR3, segundo a **Tabela 2**, a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$, cujo índice de deficiência de hidrogênio foi igual a onze.

Tabela 2 – Deslocamentos químicos de (δ) RMN ^{13}C , para SMR3 (125 MHz, CDCl_3) com padrão de hidrogenação obtido pela comparação dos espectros DEPT 135° com o RMN ^{13}C -BB.

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

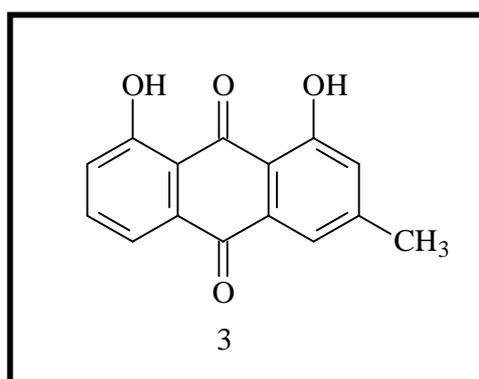
O espectro de massas (**Figura 22, p. 47**), apresentou como pico do íon molecular que coincidiu com o pico base m/z 254 daltons, que em comparação com os dados mencionados na **Tabela 2**, confirma a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$.

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

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

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

A partir dos dados apresentados acima foi possível sugerir para SMR3 a estrutura antraquinônica dioxigenada do tipo **3**, nos quais os substituintes são dois grupos hidroxila e um grupo metila.



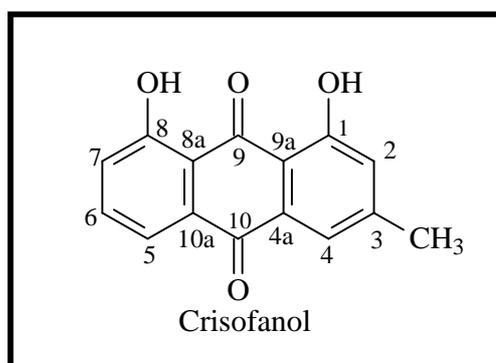
A correlação de todos os hidrogênios com os seus respectivos carbonos para a estrutura (**3**), foi confirmada pela análise do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C -COSY à uma ligação (HMQC) (**Figura 20, p. 45 e Tabela 3, p. 41**), mostrando os seguintes acoplamentos: hidrogênios em δ 3,08; 7,69; 7,89; 8,23; 8,28; 8,41 com os carbonos em δ 22,4; 124,5; 124,7; 121,6; 137,1 e 120,1 respectivamente.

As atribuições dos deslocamentos químicos foram confirmadas através do espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear à longa distância ^1H , ^{13}C (HMBC) (**Figura 21, p. 46 e Tabela 3, p.41**), o qual mostrou os seguintes acoplamentos: os hidrogênios em δ 3,08 e 8,23 com o carbono em δ 124,5, o hidrogênio em δ 3,08 com o carbono em δ 149,5, os hidrogênios em δ 3,08 e 7,69 com o carbono em δ 121,5, o hidrogênio em 7,89 δ com o carbono em δ 120,1, o hidrogênio em δ 8,41 com o carbono em δ 124,7, os hidrogênios em δ 8,28 e 7,89 com o carbono em δ 162,6, os

hidrogênios em δ 7,69 e 8,23 com o carbono em δ 113,9, os hidrogênios em δ 8,23 e 8,41 com o carbono em δ 182,0 e o hidrogênio em δ 8,28 como carbono em δ 133,8.

Os valores das absorções de RMN ^{13}C obtidos de SMR3 foram comparados com os dados da literatura [Dagne,1984] e apresentadas na **Tabela 4, p 42**.

A análise dos dados apresentados acima permitiu indicar para a substância SMR3 a estrutura (1), denominada 1,8-diidroxí-3-metil-antraquinona, conhecida como crisofanol e ácido crisofânico.



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

Tabela 3 – Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMR3.

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

Tabela 4 – Dados de RMN¹³C (125 MHz, CDCl₃) de SMR3 comparados com dados da literatura [Dagne,1984].

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

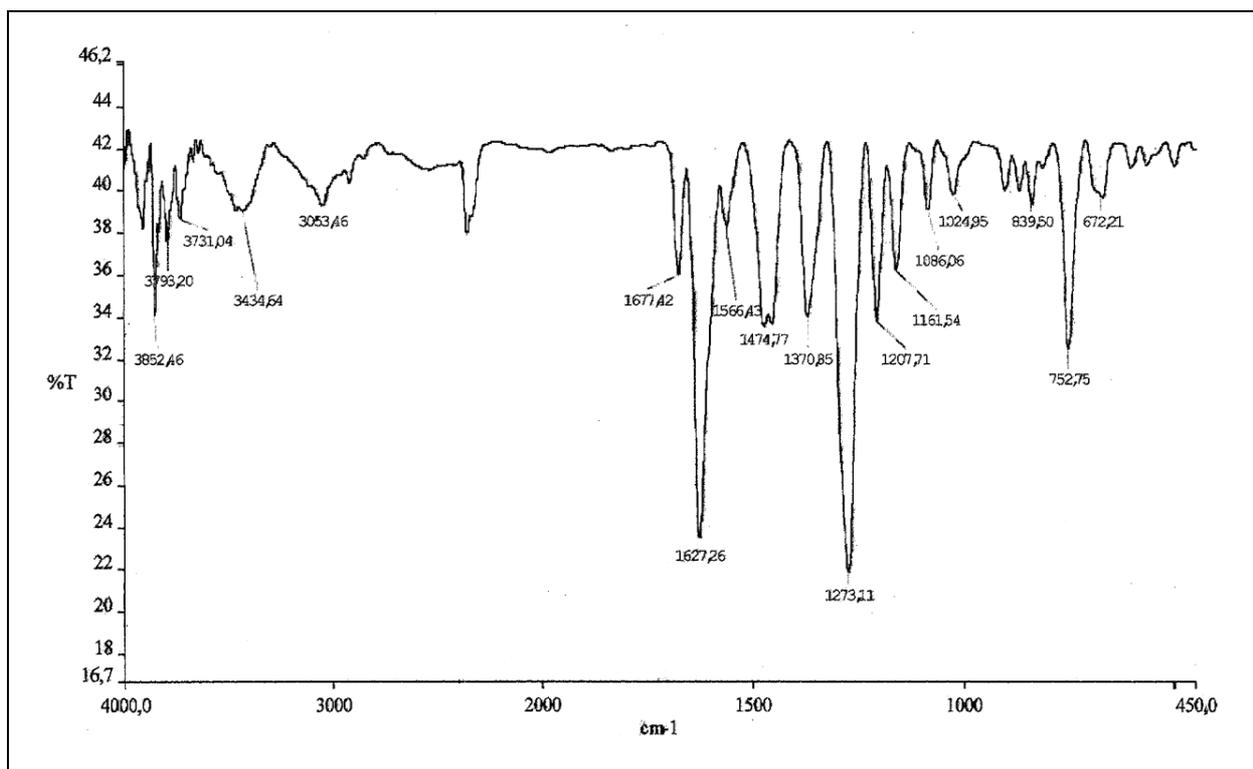


Figura 16 – Espectro de absorção na região do IV (KBr) de SMR3

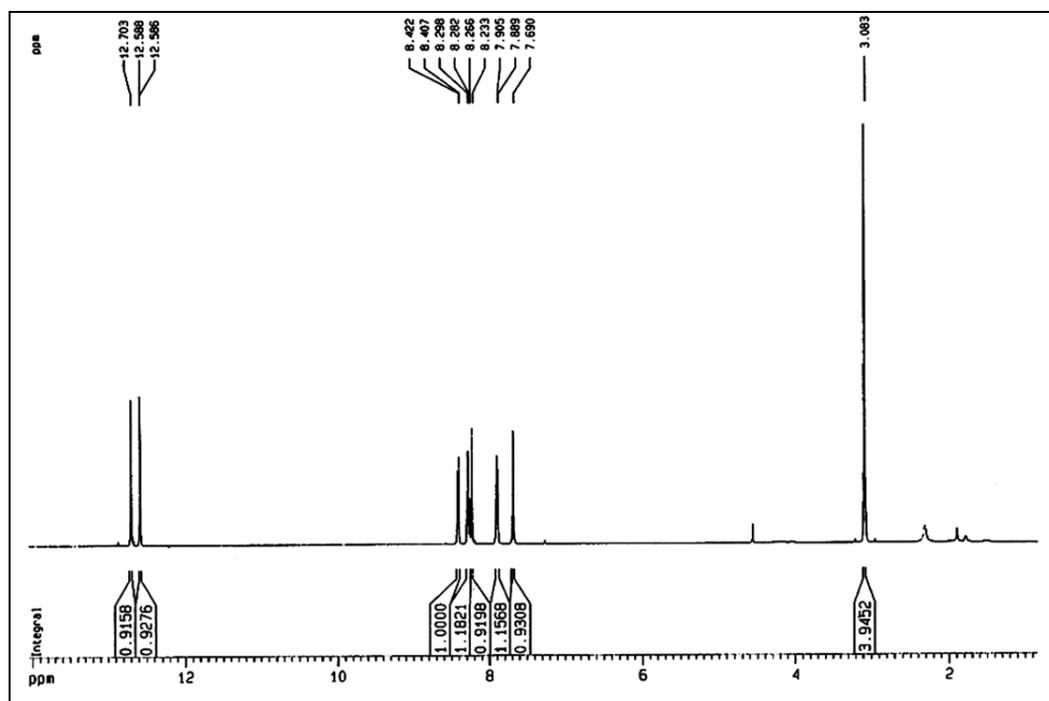


Figura 17 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMR3

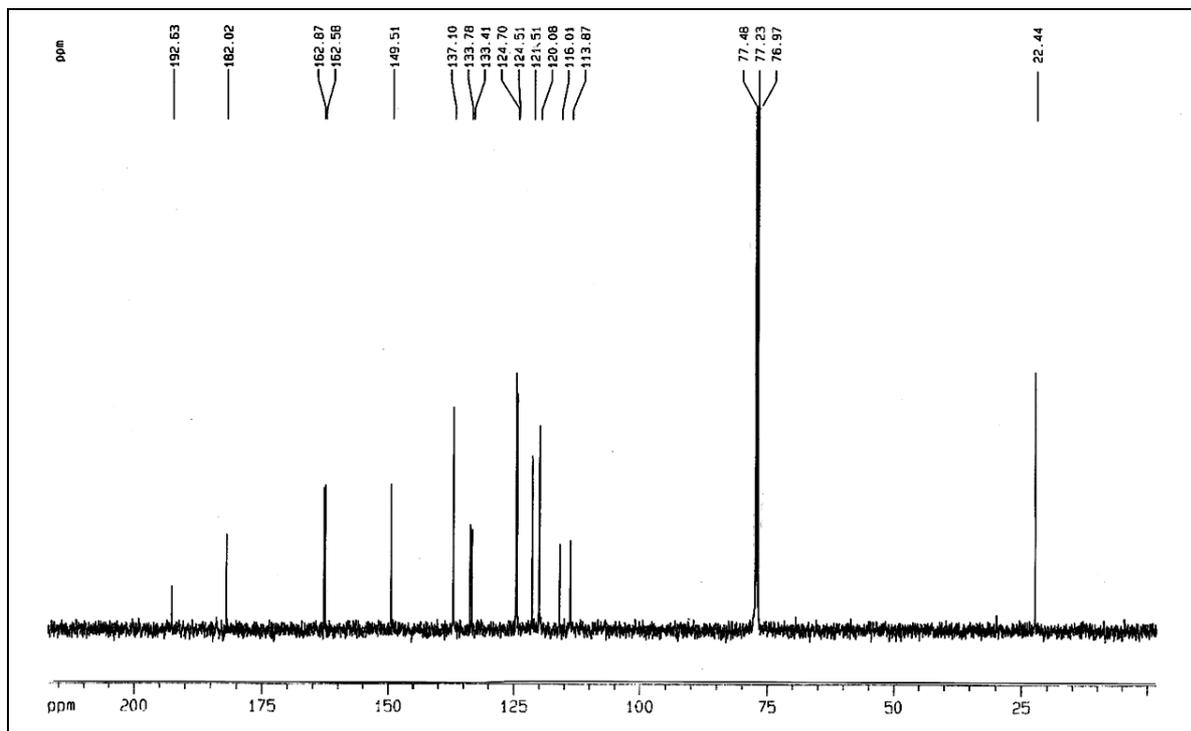


Figura 18 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de SMR3

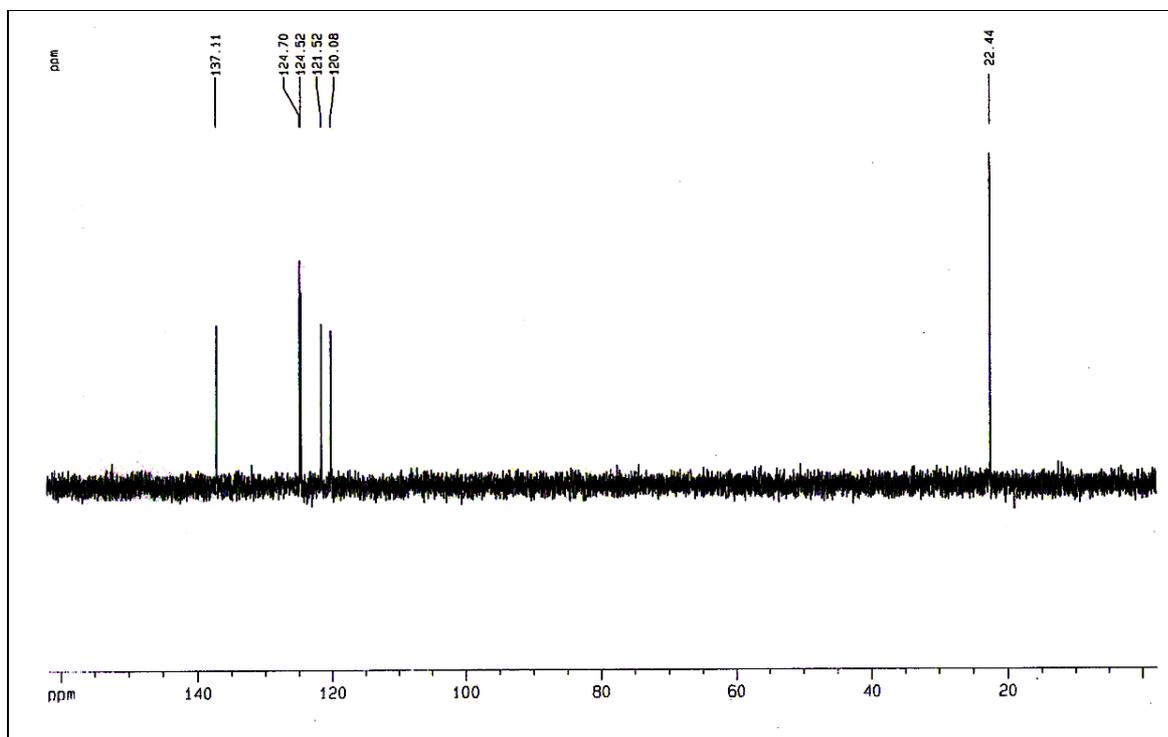


Figura 19 – Espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135° (125 MHz, CDCl_3) de SMR3

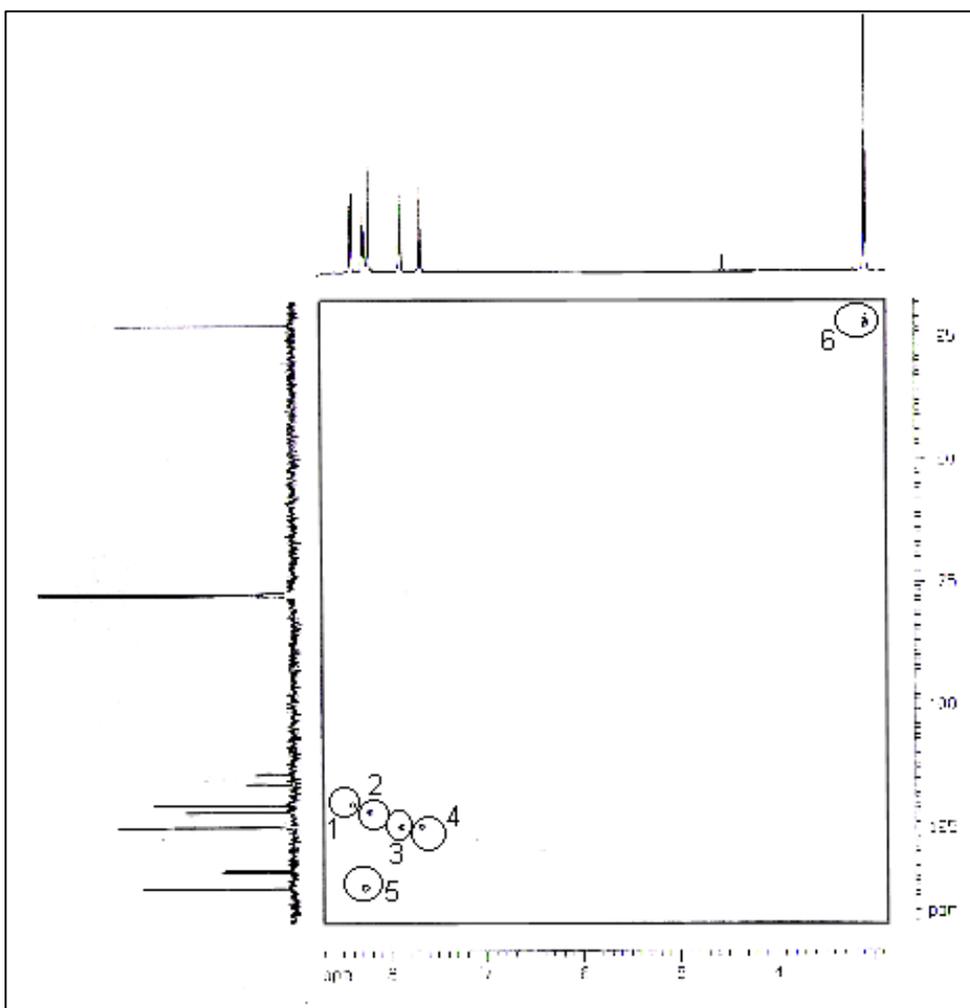
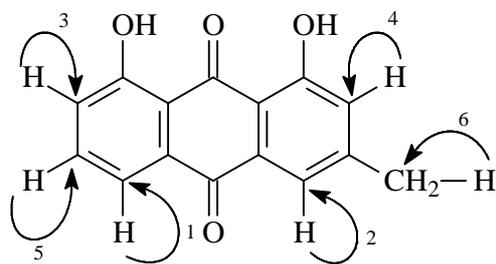


Figura 20 – Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl₃) de SMR3.

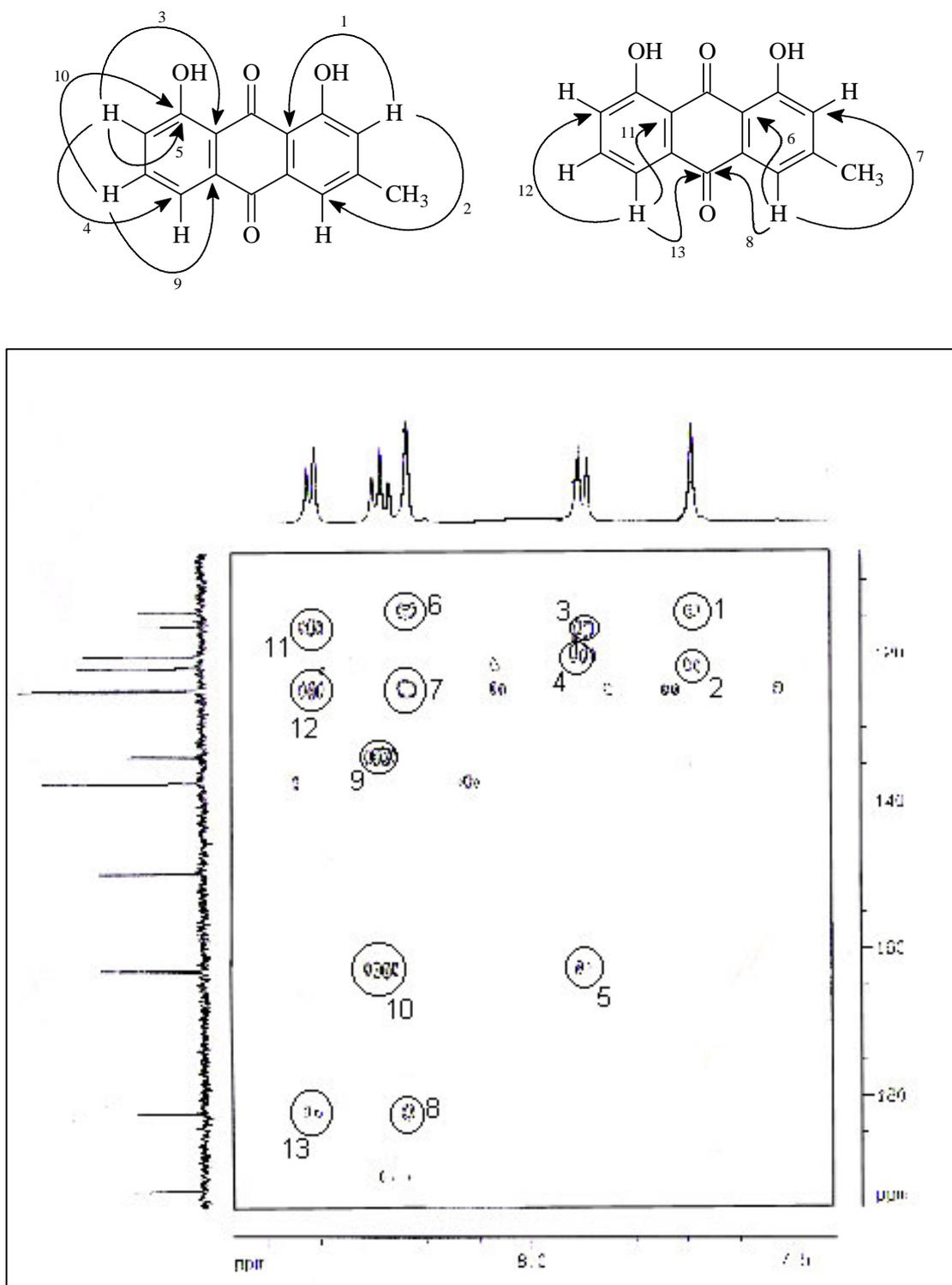


Figura 21 – Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl₃) de SMR3.

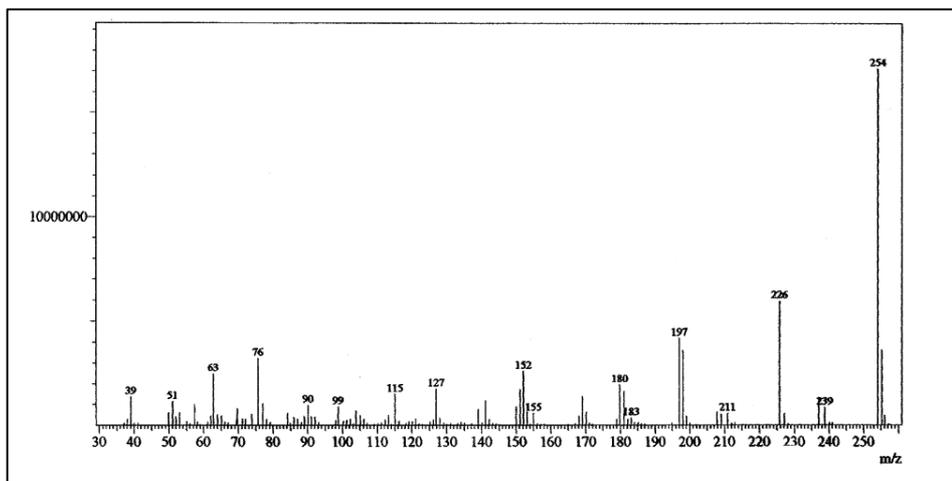


Figura 22 – Espectro de massas de SMR3

5.1.4. Determinação estrutural de SMR4

Um sólido amarelo-alaranjado em forma de agulhas, obtido a partir do tratamento da fração SMR7/25-31 do extrato hexânico das raízes de *Senna martiana*, apresentou faixa de fusão de 205,8 à 206,2 °C e foi denominado SMR4 (16,0 mg).

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 23, p. 53**) mostrou uma banda em 3433 cm^{-1} característico de deformação axial de ligação O-H, duas bandas em 2923 e 2847 cm^{-1} de deformação axial de ligação C-H, em 1728 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=O, em 1627 cm^{-1} de deformação axial de C=O de carbonila quelada, duas em 1566 e 1420 cm^{-1} de deformação axial de ligação C=C de sistema aromático, 1368 cm^{-1} de deformação angular de ligação C=C, as bandas em 1323, 1272 e 1224 cm^{-1} de deformação axial de ligação C-O e duas bandas em 758 e 610 cm^{-1} de deformação angular de ligação O-H.

O espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (**Figura 25, p. 54**) mostrou um sinal em δ 2,46 referente a três hidrogênios de um grupo metila, um sinal em δ 3,95 referente a três hidrogênios de uma metoxila, mostrou quatro sinais na região de hidrogênios de sistema aromático sendo um singlete em δ 7,64 (1H), três dubletos em δ 7,09 (1H, d, $J = 0,5$ Hz), em 7,38 (1H, d, $J = 2,5$ Hz) e 6,70 (1H, d, $J = 2,5$ Hz), referentes a hidrogênios *meta* posicionados. Foi possível observar também dois singletos, em δ 12,12 (1H, OH) e 12,32 (1H, OH), referentes a hidroxilas queladas por ligação de hidrogênio.

Ao se comparar os espectros de RMN ^1H de SMR3 e SMR4, foi possível evidenciar a ausência de um sinal de hidrogênio aromático. Esta observação pode ser comprovada ao se analisar o espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135°, onde foi observado a presença de 10 carbonos não hidrogenados para SMCH3, ao passo que o mesmo espectro de SMR4 mostra a presença de 9 carbonos não hidrogenados. O que evidencia que SMCH4 apresenta portanto, um substituinte a mais do que SMR3.

Os dados dos espectros de RMN ^{13}C – BB (125 MHz, CDCl_3) de SMR4 e SMCH3 foram comparados, desta forma foi possível observar que a principal discrepância entre tais dados encontrou-se na presença do pico em δ 56,3 no espectro de SMR4, após este sinal ser analisado

através do espectro de RMN ^{13}C – DEPT 135° , ficou claro que o mesmo se tratava de um carbono metílico, provavelmente ligado a um oxigênio, foi possível ainda obter a fórmula molecular $\text{C}_{16}\text{O}_{12}\text{O}_5$, que foi confirmada pelo espectro de massas com o pico do íon molecular em m/z 284 (Figura 24, p. 53)

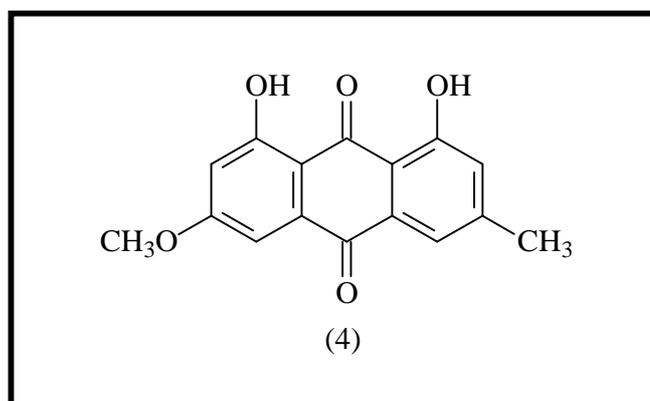
Os dados de RMN ^{13}C -BB de SMR4 e SMR3, bem como os da literatura foram comparados e podem ser resumidos na Tabela 5.

Tabela 5 – Deslocamento químico de carbono 13 (δ) para SMCH4 (125 MHz, CDCl_3) em comparação com os dados de carbono 13 de SMR3 e fisciona [Höfle, 1977].

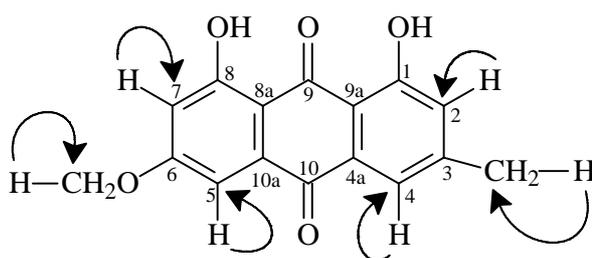
Carbono	SMR3	SMR4	δ Fisciona
1	162,9	162,7	162,5
2	124,5	124,7	124,5
3	149,5	148,7	148,6
4	121,5	121,5	121,3
4a	133,4	133,4	133,2
5	120,1	108,4	108,2
6	137,1	166,8	166,6
7	124,7	107,0	106,8
8	162,6	165,4	165,2
8a	116,0	110,5	110,3
9	192,6	191,0	190,8
9a	113,9	113,9	113,7
10	182,0	182,3	182,0
10a	133,8	135,5	135,3
Me	22,4	22,4	22,2
MeO	-	56,3	56,1

Com base nos dados mostrados, é possível concluir que SMR4 trata-se de uma antraquinona tetrassubstituída, sendo que os dois núcleos antraquinônicos apresentam-se dissustituídos, visto que o espectro de RMN ^1H mostra dois pares de hidrogênios que apresentam acoplamento *meta*. Assim

para SMR4 é possível propor a estrutura antraquinônica do tipo **4**, nos quais os substituintes são dois grupos hidroxilas, um metila e uma metoxila.



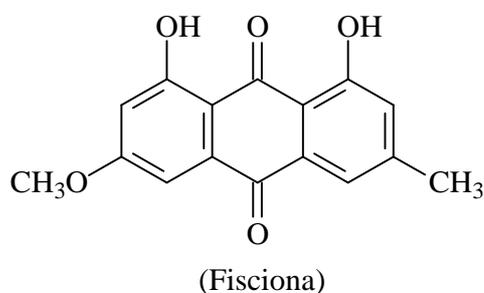
O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a uma ligação (HMQC) de SMR4 (**Figura 28, p.56**) possibilitou atribuir os deslocamentos dos hidrogênios em δ 7,09 (H-2), 7,64 (H-4), 7,38 (H-5) e 6,70 (H-7) aos carbonos em δ 124,7 (C-2), 121,5 (C-4), 108,4 (C-5) e 107,0 (C-7) respectivamente, assim como a absorção do hidrogênio em δ 2,46 (H-Me) com o carbono em δ 22,4 (C-Me) e o do hidrogênio em δ 3,95 (H-OMe) com o carbono em δ 56,3 (C-OMe).



O espectro de RMN bidimensional de correlação heteronuclear ^1H , ^{13}C a longa distância (HMBC) de SMR4 (**Figura 29, pág. 57**), mostrou a correlação entre os hidrogênios em δ 7,09 (H-2) e 12,12 (OH-1) com o carbono em δ 162,7 (C-1); os hidrogênios em δ 12,12 (OH-1), 2,46 (H-Me) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 124,7 (C-2); os hidrogênios em δ 2,46 (H-Me) e 12,12 (OH-1) com o carbono em δ 148,7 (C-3); os hidrogênios em δ 7,09 (H-2) e 2,46 (H-Me) com o carbono em δ 121,5

(C-4); o hidrogênio em δ 6,70 (H-7) com o carbono em δ 108,4 (C-5), os hidrogênios em δ 3,95 (H-OMe), 7,38 (H-5) e 12,32 (OH-8) com o carbono em δ 166,8 (C-6); os hidrogênios em δ 12,32 (OH-8) e 7,38 (H-5) com o carbono em δ 107,0 (C-7); os hidrogênios em δ 6,70 (H-7) e 12,32 (OH-8) com o carbono em δ 165,4 (C-8); os hidrogênios em δ 12,32 (OH-8), 6,70 (H-7) e 7,38 (H-5) com o carbono em δ 110,5 (C-8a); os hidrogênios em δ 12,12 (OH-8), 7,09 (H-2) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 113,9 (C-9a); os hidrogênios em δ 7,38 (H-5) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 182,3 (C-10); o hidrogênio em δ 7,38 (H-5) com o carbono em δ 135,5 (C-10a) e dos hidrogênios em δ 7,09 (H-2) e 7,64 (H-4) com o carbono em δ 22,4 (C-Me).

Com os dados apresentados, foi possível concluir que SMR4 se tratava de uma antraquinona com caráter trioxigenado, tetrassubstituída denominada 1,8-diidroxí-3-metil-6-metoxi-antraquinona (fisciona). A fisciona (**2**) já foi isolada de *Ventilago maderaspatana* (Rhamnaceae), *Vataireopsis araroba* (Leguminosae), [Thomson, 1971] e *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae) [Silva, 1987]. Trabalhos na literatura atribuem para esta substância, atividades biológicas significativas como antitumoral, no combate a osteoporose e doenças cardíacas [Galati, 2002].



Os dados espectrométricos referentes a elucidação estrutural de SMR4 encontram-se resumidos na **Tabela 6**.

Tabela 6 – Deslocamento químico de RMN ^{13}C e seus respectivos hidrogênios mostrados pelo espectro de HMQC, bem como as correlações a longa distância (HMBC) de SMR4.

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

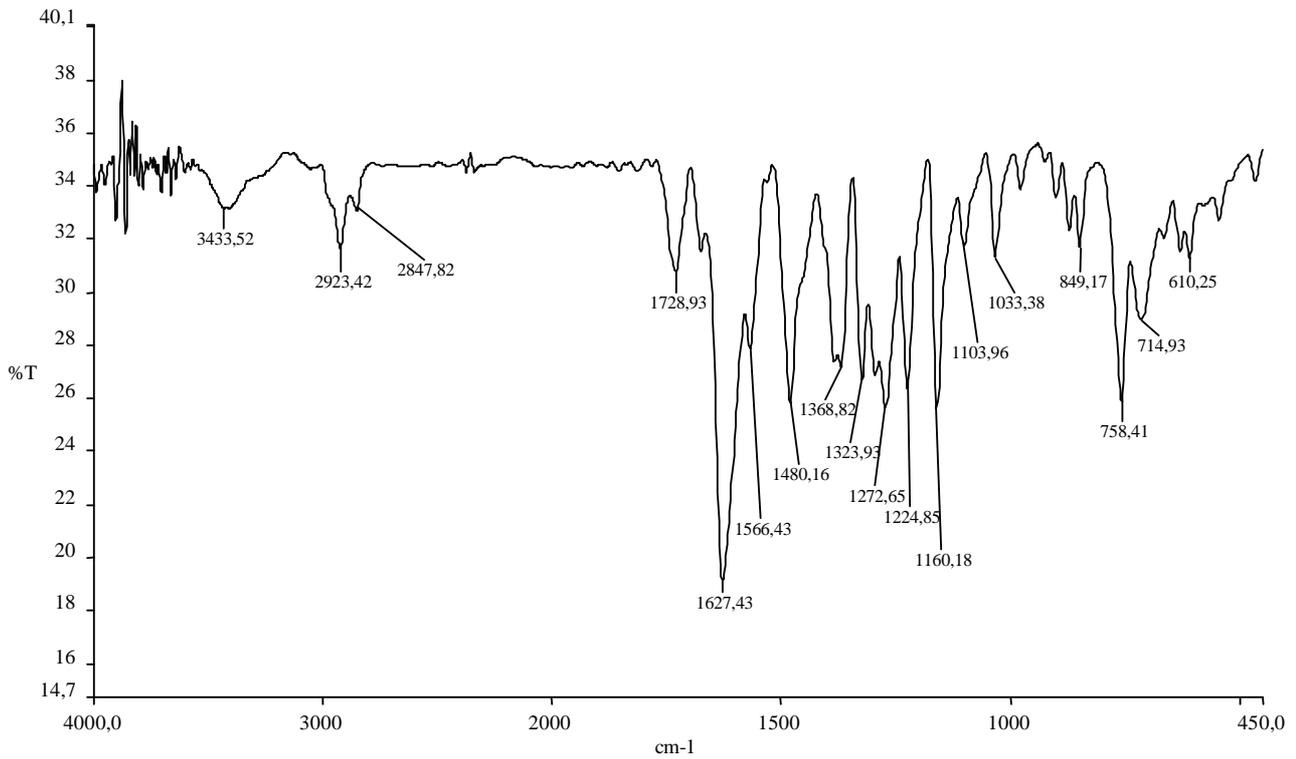


Figura 23 – Espectro de absorção na região do infravermelho (IV) de SMR4

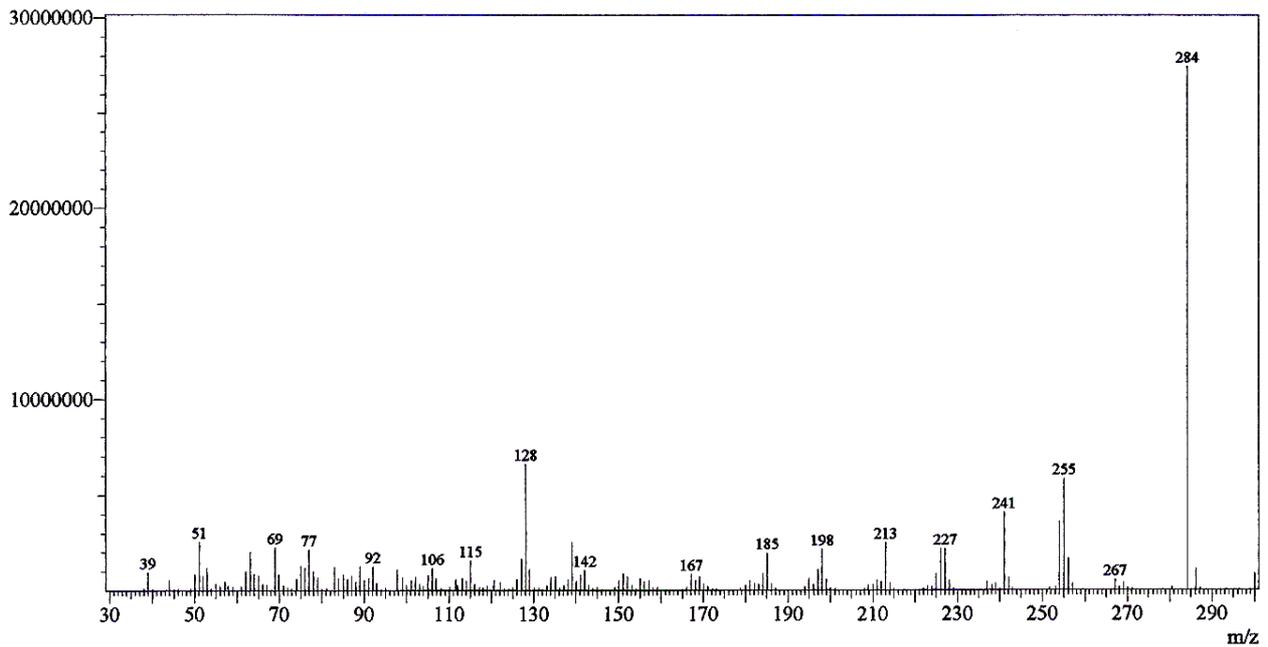


Figura 24 – Espectro de massas de SMR4.

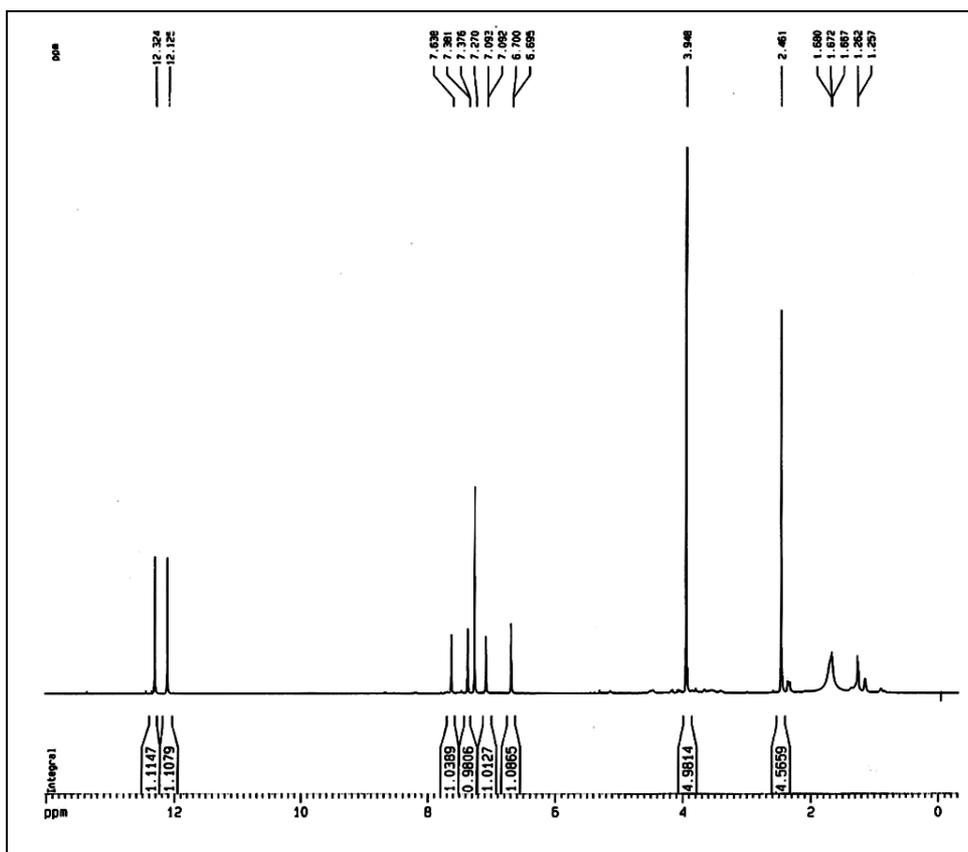


Figura 25 – Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) de SMR4

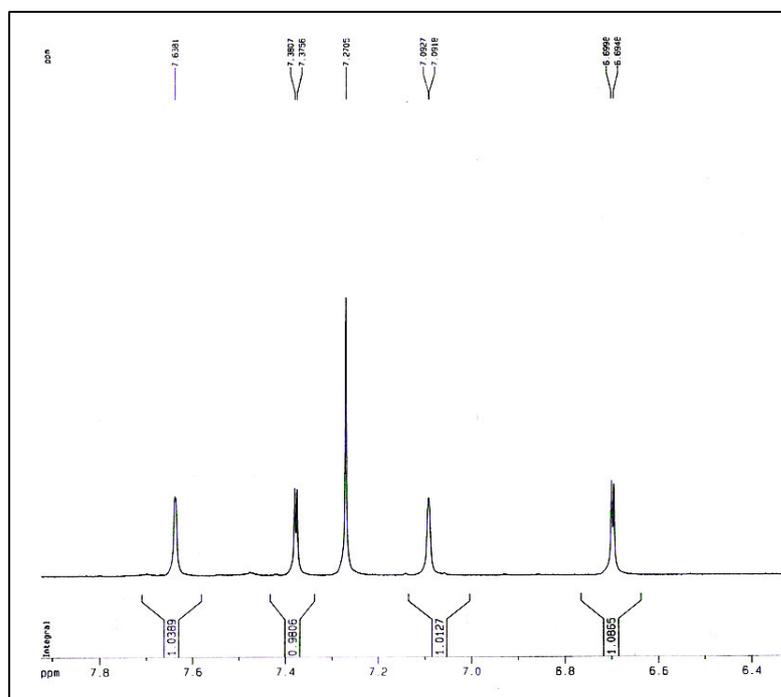


Figura 26 – Sub-espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) faixa de 6,4 -7,8 ppm de SMR4

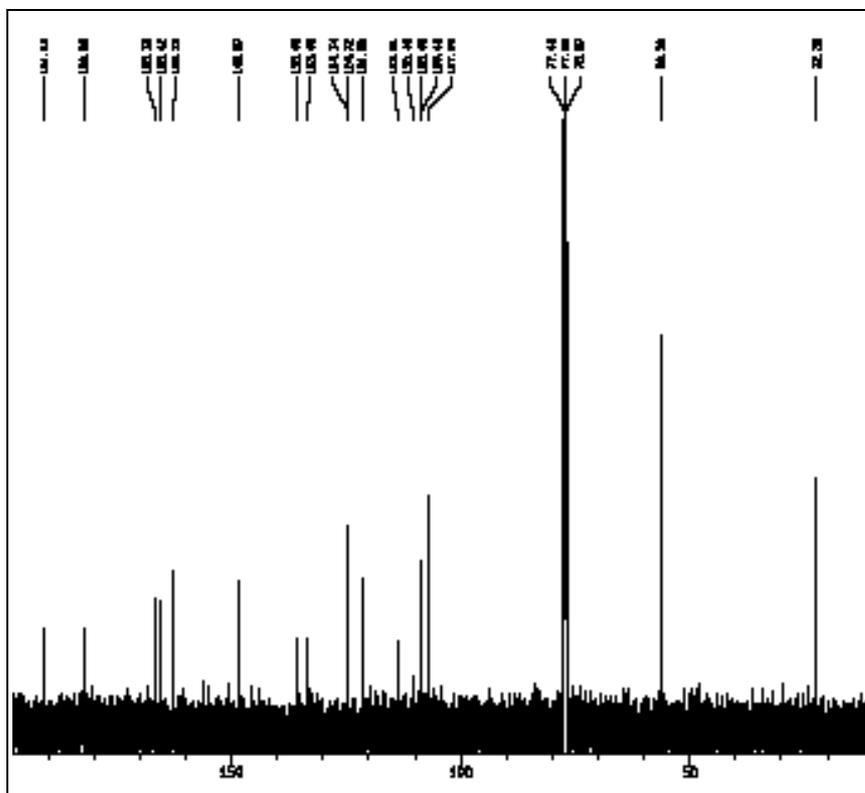


Figura 27 – Espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) de SMR4

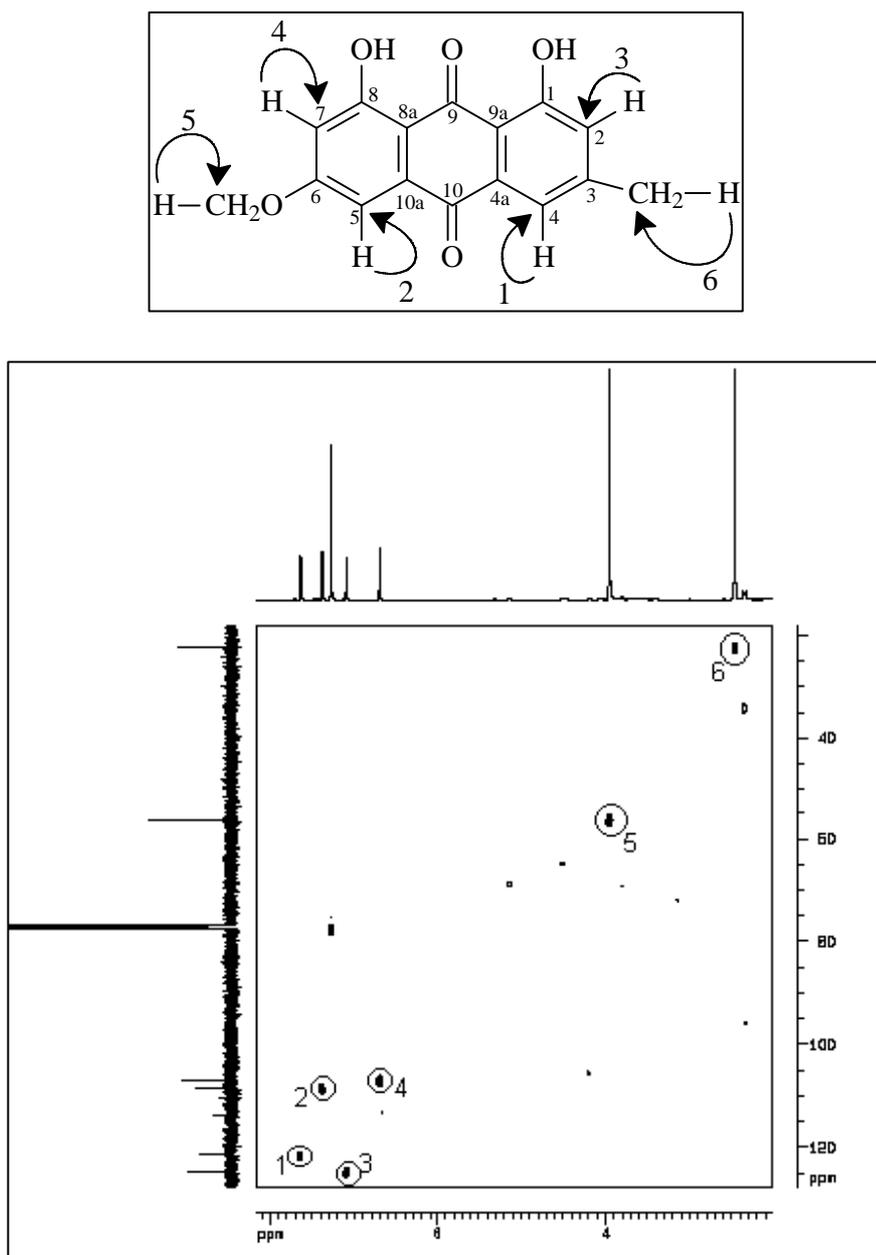


Figura 28 – Espectro de RMN (125 MHz, CDCl₃) HMQC de SMR4

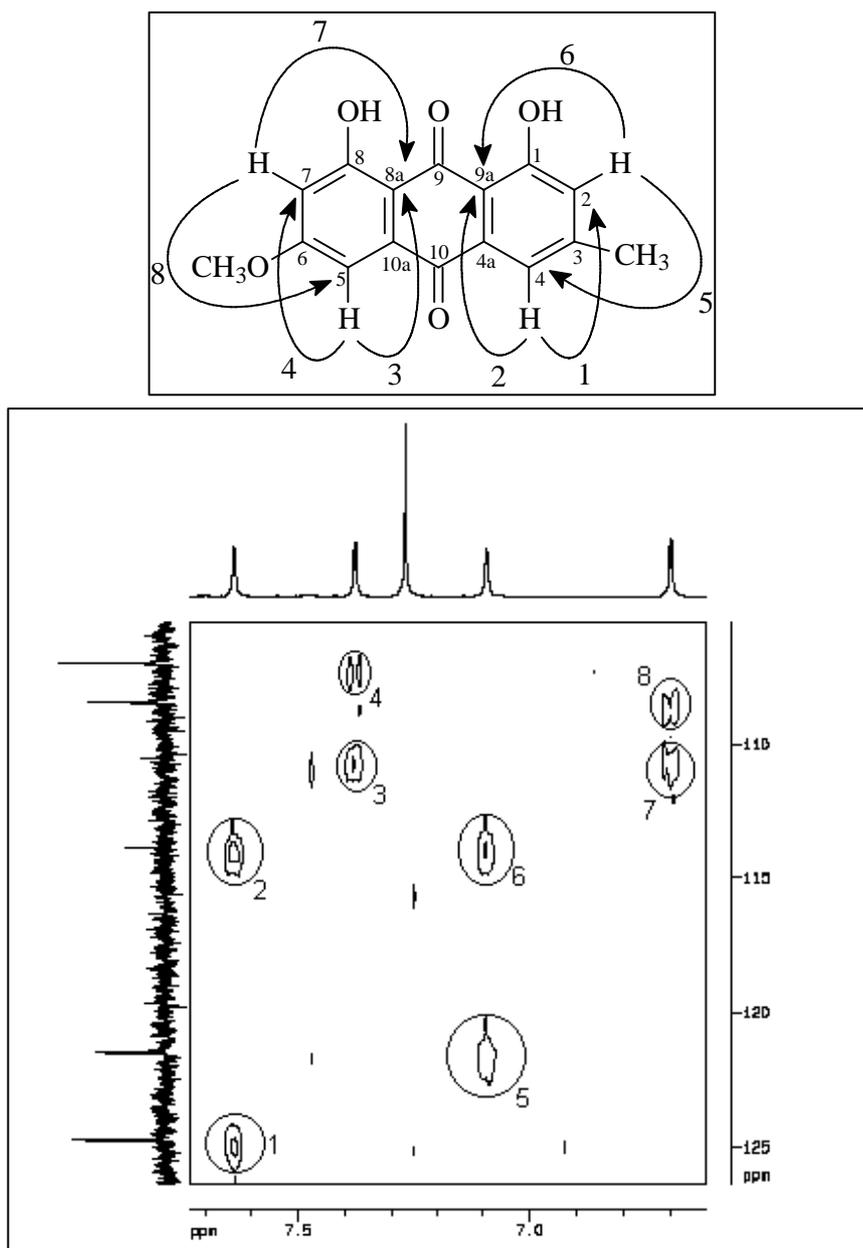


Figura 29 – Sub-Espectro (faixa 105-125 δ e 6,5-8,0 δ) de RMN (125, 500 MHz, CDCl₃) HMBC de SMR4.

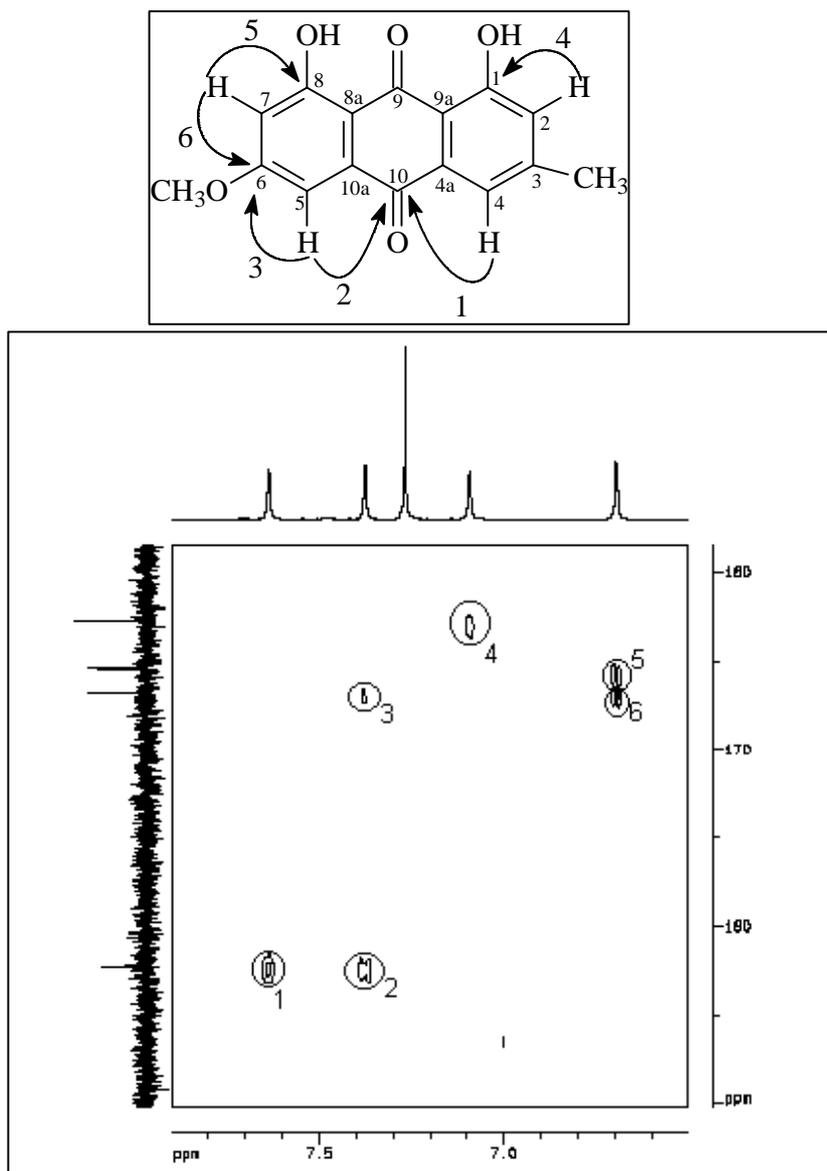


Figura 30 – Sub-Espectro (faixa de 160-190 δ) de RMN (125 MHz, CDCl_3) HMBC de SMR4.

5.1.5. Determinação Estrutural de SMRAC3

O extrato etanólico das raízes de *S. martiana* após partição líquido-líquido, seguido de purificação por CLAE em coluna C-18, produziu um sólido viscoso de cor marrom. Este sólido foi denominado SMRAC-3 (18 mg).

A análise do espectro de RMN ^1H [500 MHz, piridina- d_5] (**Figura 31, p. 63**) de SMRAC-3, apresentou sinais em δ 6,74 (1H, s), 6,89 (1H, s), 7,79 (2H, s) característicos de hidrogênios aromáticos posicionados de forma *meta* ou *para*. Foram observados sinais na região de δ 3,56 (1H, m), 3,78 (1H, t, $J = 8.5$ Hz), 3,94 (1H, d, $J = 8,4$ Hz), 3,96 (1H, dd, $J = 11,3$ e 5.6 Hz), 4,14 (2H, dd, $J = 11.3$ e 2.8 Hz) e 4,19 (3H, m), estes sinais observados na faixa de δ 3,56 a 4,19 estão de acordo com hidrogênios de uma unidade glicosilada. O sinal em δ 2,26 (3H, s) ficou claro ser de hidrogênio metílico, além de sinais simples localizados em região de desproteção, δ 12,57 (1H, s) e δ 12,73 (1H, s) que podem ser relacionados a duas hidroxilas queladas por ligação de hidrogênio.

O espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, piridina- d_5] (**Figura 32, p. 64**), mostrou a presença de vinte e uma linhas espectrais, uma em δ 22,48 referente a um carbono metílico, seis na faixa δ 63,54 - 85,31, provavelmente referentes a carbonos oxigenados, treze na região de carbonos aromáticos na faixa de δ 103,30 - 166,37, sendo que os sinais δ 162,16, 165,73 e 166,37 referem-se a carbonos oxigenados e um sinal em δ 192,40 referente a carbono de carbonila quelada

Ao se comparar o espectro de RMN ^{13}C com o espectro de DEPT 135° (**Figura 32, p. 64**) foi possível estabelecer o padrão de hidrogenação dos carbonos de SMRAC-3, estes dados foram resumidos na **Tabela 7**.

Tabela 7 – Comparação dos dados de RMN ^{13}C com DEPT 135° de SMRAC-3.

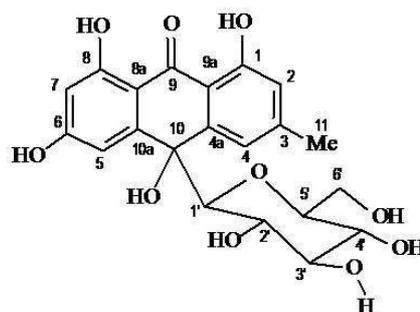
C	CH	CH ₂	CH ₃	TOTAL
77,33	72,22	63,54	22,48	
110,82	73,38			
115,31	80,10			
147,34	82,10			
149,42	85,31			
150,39	103,30			
162,16	109,08			
165,73	117,71			
166,37	118,71			
192,40				
C ₁₀	C ₉ H ₉	CH ₂	CH ₃	C ₂₁ H ₁₄

Analisando os deslocamentos dos sinais nos espectros RMN ^1H e ^{13}C de SMRAC-3, é possível concluir que existe dez átomos de oxigênio, dos quais sete são hidrogenados, desta forma podemos propor para SMRAC-3 a fórmula molecular C₂₁H₂₁O₁₀ (MM: 333 daltons).

Os dados discutidos até o presente momento, em especial o padrão de acoplamento obtido no espectro de RMN ^1H e a diferença entre os espectros de RMN ^{13}C – BB e RMN ^{13}C – DEPT 135° sugerem para SMRAC-3 uma estrutura antrônica tetrasubstituída. O padrão de substituição pode ser observado pela presença de dez carbonos não hidrogenados, dos quais seis referem-se aos carbonos pertencentes ao esqueleto antrônico (δ 192,10; 150,39, 149,42, 115,31, 110,82 e 77,33) e os outros quatro aos carbonos antrônicos substituídos (δ 166,37, 165,73, 162,16 e 147,34). O caráter trioxigenado pode ser comprovado através dos picos em δ 166,37, 165,73, 162,16, mostradas no espectro de RMN ^{13}C .

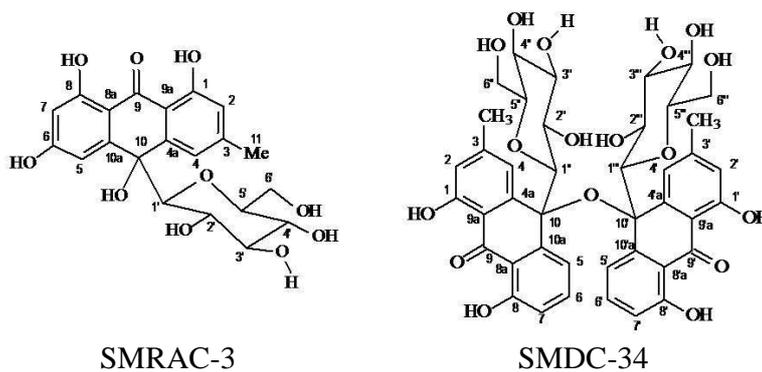
Ao se observar o espectro de RMN ^1H , especialmente na região de hidrogênios aromáticos, percebe-se a presença apenas de singletos, que se referem a hidrogênios com um acoplamento *meta* ou *para*, confirmando que ambos os núcleos antrônicos são dissubstituídos.

Com base nos dados supracitados, é possível propor para SMRAC-3 a representação estrutural mostrada abaixo.



SMRAC-3

O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) bem como o de mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC-3 (Figura 33 e 34, p. 65 e 67), permitiram associar as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 8, p. 62) em comparação com os dados da martianina (SMDC-34). SMRAC-3 foi nomeada como 10-hidroxiemodina-9-antrona-10R-C- β -D-glicosídeo (rumejaposideo E). Esta substância foi isolada anteriormente de duas espécies do gênero *Rumex*: *R. japonicus* e *R. dentatus*, [Zhu, 2010], sendo esta inédita no gênero *Senna*.



SMRAC-3

SMDC-34

Tabela 8 – Comparação dos dados espectrais de RMN ¹³C de martianina e SMRAC3

Carbono	HMQC (SMRAC3) piridina-d ₅		Martianina (SMDC34) acetona-d ₆	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
Carbonos não Hidrogenados (C)				
1	162,16	-	162,45	-
1'	-	-	162,90	-
3	147,34	-	148,93	-
3'	-	-	148,14	-
4a	*	-	149,04	-
4'a	-	-	146,49	-
6	166,37	-	-	-
8	165,73	-	162,64	-
8'	-	-	162,17	-
8a	110,82	-	117,45	-
8'a	-	-	117,26	-
9/9'	192,40	-	194,32	-
9a	115,31	-	115,12	-
9'a	-	-	116,26	-
10	77,33	-	76,83	-
10'	-	-	76,77	-
10a	*	-	146,50	-
10'a	-	-	149,09	-
Carbonos metínicos (CH)				
2	117,71	6,89 (sl)	117,66	6,74 (sl)
2'	-	-	117,86	6,75 (sl)
4	118,71	7,79 (sl)	118,91	7,36 (sl)
4'	-	-	120,10	7,27 (sl)
5	109,08	7,79 (sl)	118,80	7,40 (dd,7,6; 0,6)
5'	-	-	117,61	7,50 (dd,7,6; 0,9)
6	-	-	136,16	7,55 (t, 7,6)
6'	-	-	136,97	7,56 (t, 7,6)
7	103,30	6,74 (sl)	117,98	6,91 (dl, 7,6)
7'	-	-	117,78	6,90 (dl, 7,6)
CH₃				
11	22,48	22,26 (s)	22,52	2,39 (s)
11'	-	-	22,52	2,40 (s)
HO-1	-	12,57 (s)		
HO-8	-	12,73 (s)		
Unidade dexosiglicofílica				
1''	85,31	3,94 (d, 8,4)	84,55	3,26 (d, 9,4)
2''	73,38	4,19 (m)	72,93	3,09 (t, 9,4)
3''	80,10	4,19 (m)	79,32	3,42-3,34 (m)
4''	72,22	3,78 (t, 8,5)	71,82	2,97-2,93 (m)
5''	82,10	3,56 (m)	81,12	2,97-2,93 (m)
6''	63,54	4,14 (dd, 11,3; 2,8) 3,96 (dd, 11,3; 5,6)	63,29	3,50 (dd, 11,3; 2,6) 3,39 (m)

* Provavelmente superpostos com um dos sinais da piridina-d₅ (δ_C 150,39-149,42)

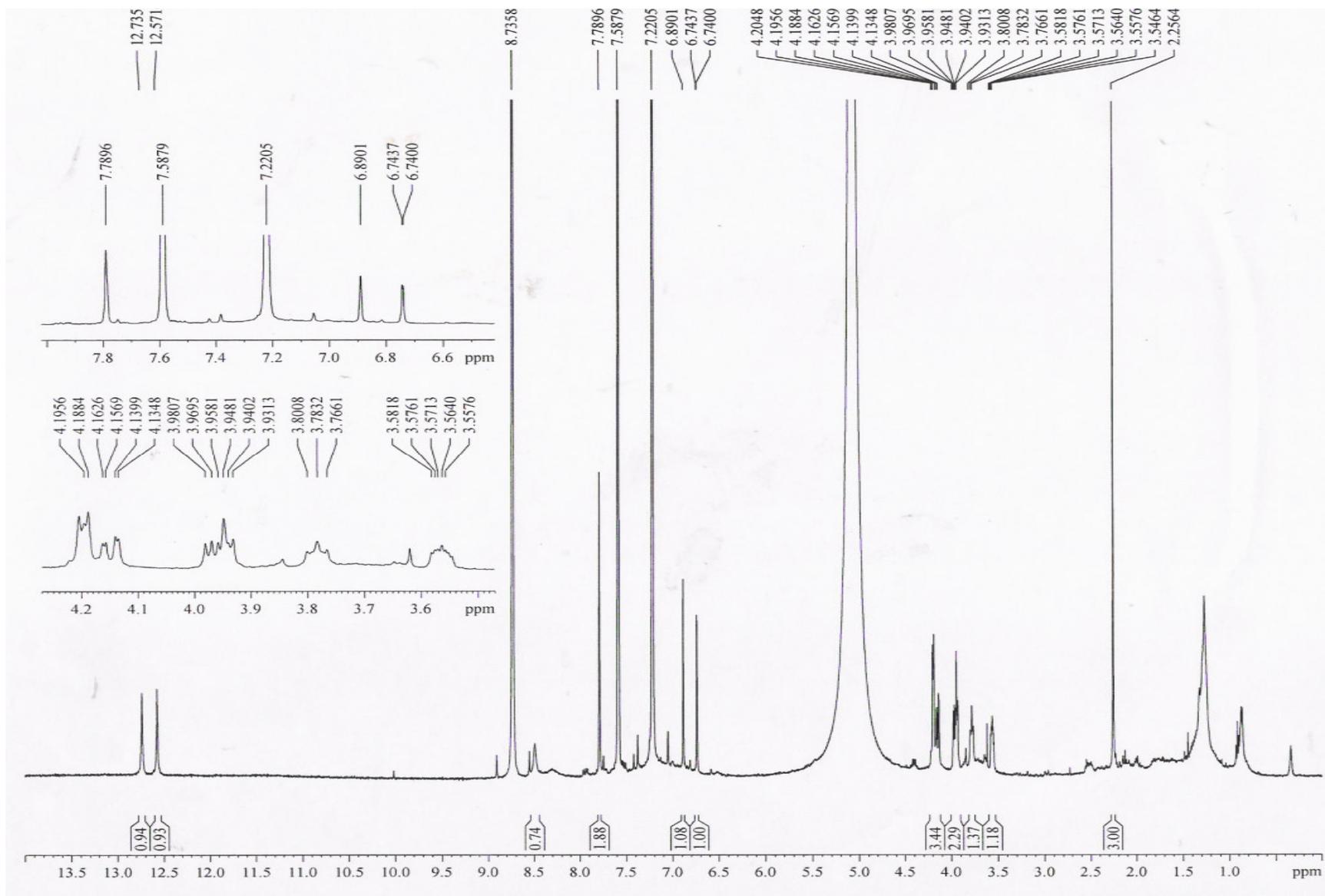


Figura 31 – Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMRAC3.

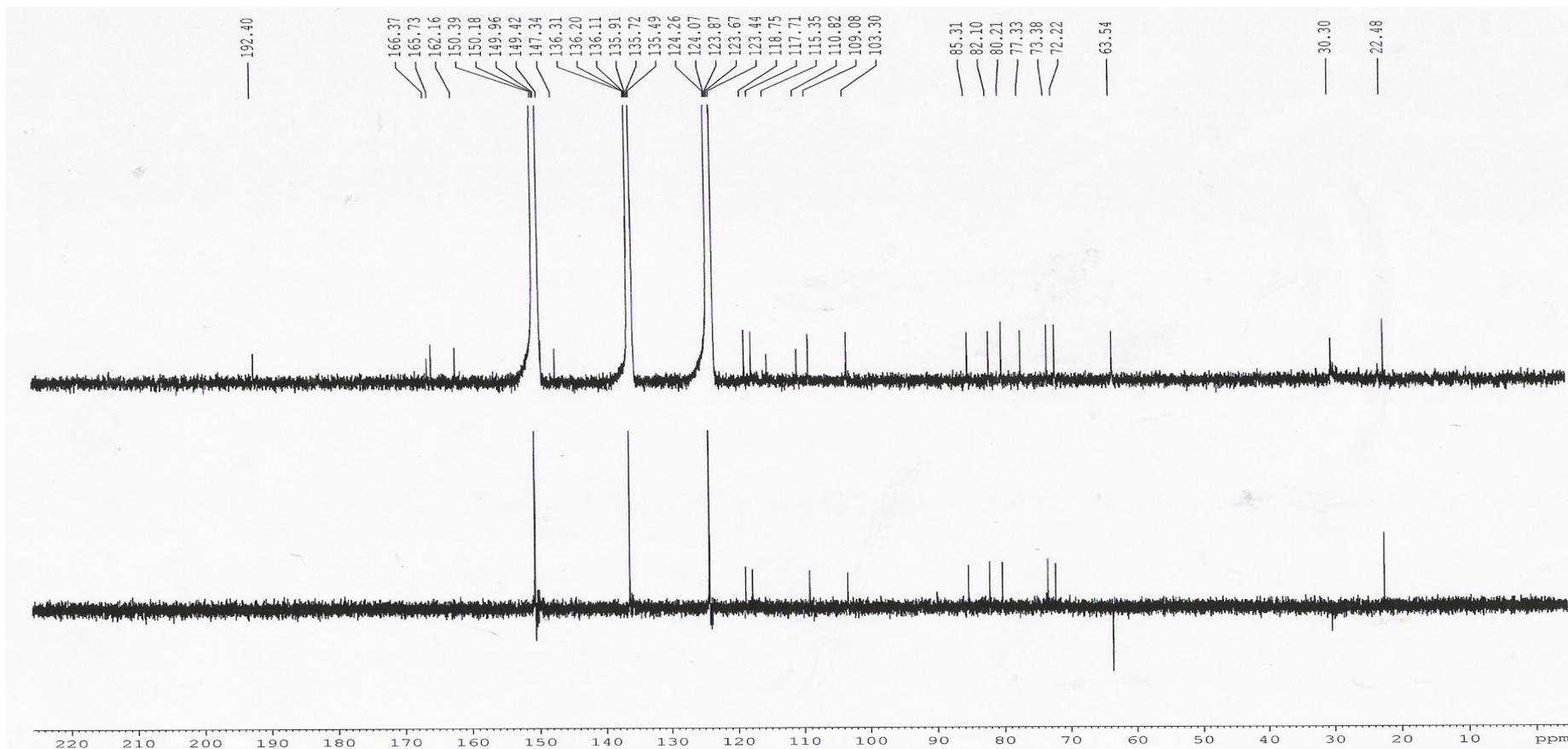


Figura 32 - Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CDCl₃) de SMRAC3

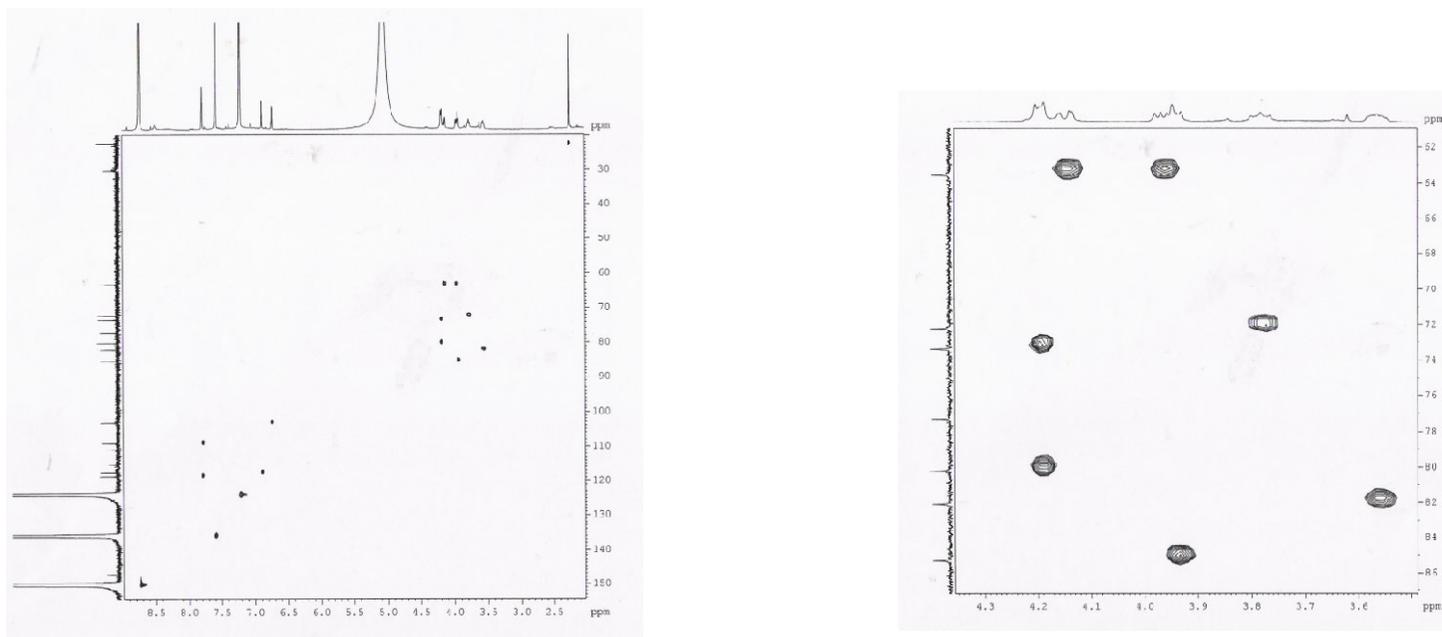


Figura 33 - Espectro de HMQC (500, 125 MHz, CDCl_3) de SMRAC3

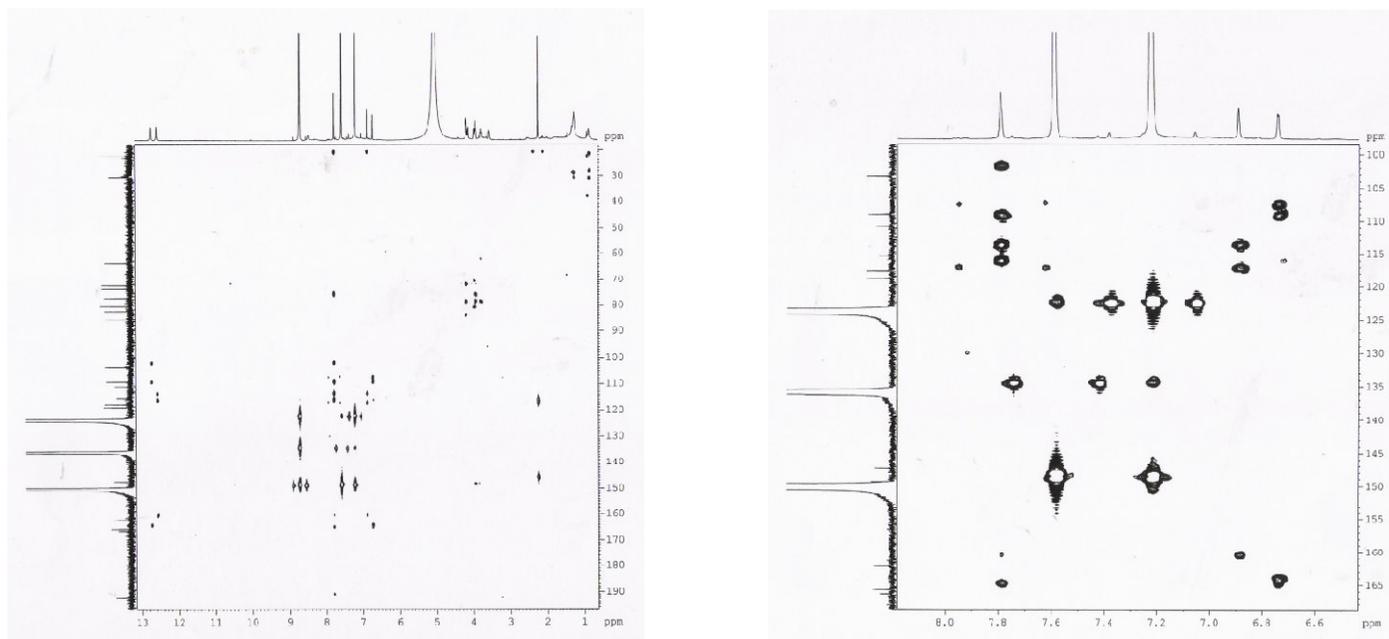


Figura 34 - Espectro de HMBC (500, 125 MHz, CDCl_3) de SMRAC3.

5.1.6. Determinação estrutural de SMRAC4

A substância SMRAC4 apresentou-se de cor laranja, solúvel em metanol, com um faixa de fusão de 166,2-169,1 °C, que foi obtido a partir do tratamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Senna martiana*. Este sólido foi denominado SMRAC4 (23 mg).

O espectro de absorção na região do infravermelho (**Figura 35, p. 73**) permitiu identificar uma deformação axial em 3401 cm^{-1} de ligação O-H, absorções em 2921 e 2863 cm^{-1} de deformação axial de ligação C-H, uma absorção em 1638 cm^{-1} referente a uma deformação axial de ligação C=O, cujo deslocamento para região mais baixa comprova seu caráter quelado. Foi possível observar ainda as absorções em 1609, 1487 e 1452 cm^{-1} referentes a deformação axial da ligação C=C de sistema aromático, a deformação em 1358 cm^{-1} referente a deformação angular de ligação C-H, além das absorções em 1286 e 1084 cm^{-1} relacionadas a deformação axial da ligação C-O e a absorção em 758 cm^{-1} referente a deformação angular de ligação O-H.

Com relação ao espectro de RMN ^1H [500 MHz, Piridina- d_5] (**Figura 36, p. 74**), observou-se dois sinais em δ 2,02(3H, s) e 2,26 (3H, s) referentes a hidrogênios metílicos, um multipeto em δ 3,55 (2H, m), dois tripletos em δ 3,69 (1H, t, $J = 9,1$ Hz) e 3,72 (1H, t, $J = 9,3$ Hz), um dubleto em 3,86 (1H, $J = 9,9$ Hz), um multipeto em 3,87-3,92 (4H, m), um duplo-dubleto em 3,95 (2H, dd, $J = 10,7$ e 5,4 Hz), um multipeto em 4,20-4,10 (2H, m), um dubleto em 4,13 (2H, d, $J = 10,7$ Hz), estes sinais observados na faixa de δ 3,55 à 4,13 estão de acordo com hidrogênios de um sistema glicosilado, foi possível ainda observar dez sinais na região de sistemas aromáticos, em δ 6,81 (1H, s), 6,88 (1H, s), 7,00 (1H, d, $J = 8,1$ Hz), 7,09 (1H, d, $J = 8,0$), 7,40 (1H, t, $J = 8,0$ Hz), 7,61 (1H, t, $J = 8,1$ Hz), 7,65 (1H, s), 7,78 (1H, s), 7,85 (1H, d, $J = 8,1$ Hz), 7,93 (1H, d, $J = 8,0$). Os sinais mostram-se de forma duplicada, de forma que podemos concluir que a substância SMRAC4, trata-se de uma mistura ou de uma substância dimérica.

O espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, Piridina- d_5] (Figura 37, p. 75), mostrou a presença de quarenta e duas linhas espectrais, duas em δ 22,20 e 22,55 referentes a carbonos metílicos, quatorze na faixa δ 63,38 - 84,66, provavelmente referentes a carbonos oxigenados, vinte e seis sinais na região de carbonos aromáticos na faixa de δ 115,41 - 162,70, sendo que os sinais na região de δ 162,05 - 162,70 referem-se a carbonos oxigenados e dois sinais em δ 194,17 e 194,20 referentes a carbonilas queladas. O espectro de RMN ^{13}C , confirma o provável caráter dimérico do composto em questão, o que já havia sido exposto pelo espectro de RMN ^1H , pois os sinais aparecem de forma dobrada. Assim foi possível fazer a comparação dos dados espectrais de SMRAC4 com os dados da martianina, que também foi isolada do caule de *S. martiana* (Tabela 09, p. 68).

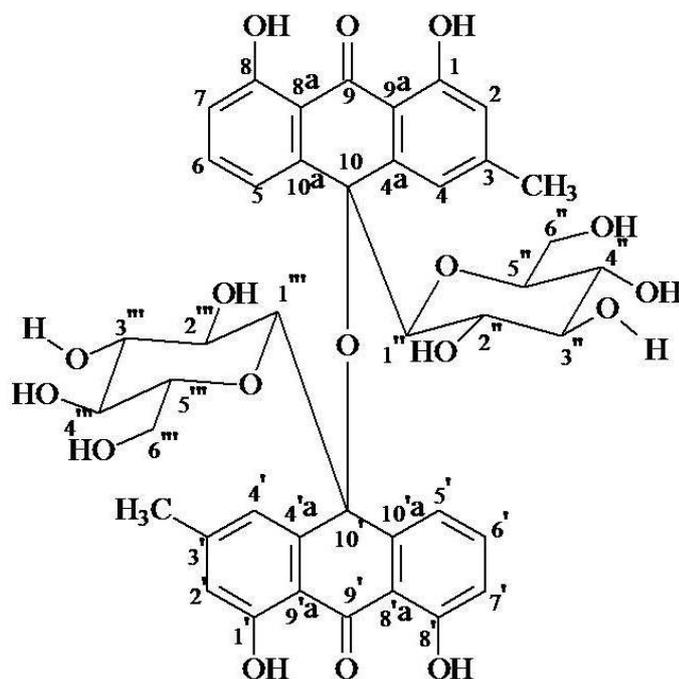
Tabela 09 – Comparação dos dados espectrais de SMRAC4 com os dados da martianina

Carbono	SMRAC4		Martianina [Macedo, 2010]	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	162,70		162,45	-
1'	162,32		162,90	-
3	147,34		148,93	-
3'	148,37		148,14	-
4a	147,17		149,04	-
4'a	147,11		146,49	-
8	162,05		162,64	-
8'	162,45		162,17	-
8a	117,59		117,45	-
8'a	117,71		117,26	-
9	194,17		194,32	-
9'	194,20			
9a	115,52		115,12	-
9'a	115,41		116,26	-
10	77,05		76,83	-
10'	77,14		76,77	-
10a	147,10		146,50	-
10'a	149,00		149,09	-
CH				
2	117,91	6,81 (sl)	117,66	6,74 (sl)
2'	117,59	6,88 (sl)	117,86	6,75 (sl)
4	119,95	7,65 (sl)	118,91	7,36 (sl)
4'	118,78	7,78 (sl)	120,10	7,27 (sl)
5	117,54	7,93 (d, 8.0)	118,80	7,40 (dd, 7,6,0,6)

Tabela 09 (Cont.) – Comparação dos dados espectrais de SMRAC4 com os dados da martianina

5'	118,64	7,85 (d, 8.1)	117,61	7.50 (dd,7,6; 0,9)
6	136,66	7,61 (t, 8.1)	136,16	7,55 (t, 7,6)
6'	135,50	7,40 (t, 8.0)	136,97	7,56 (t, 7,6)
7	117,43	7,09 (d, 8.0)	117,98	6,91 (dl, 7,6)
7'	117,59	7,00 (d, 8.1)	117,78	6.90 (dl, 7.6)
Me-3	22,20	2,02 (s)	22,52	2,39 (s)
Me-3'	22,55	2,26 (s)	22,52	2,40 (s)
Duas unidades desoxiglicosílicas				
1''	84,63	3,86 (d, 9,9)	84.55	3,26 (d, 9,4)
2''	73,45	3,92-3,87 (m)	72.93	3,09 (t, 9,4)
3''	80,16	4,20-4,10 (m)	79.32	3,42-3,34 (m)
4''	72,13	3,69 (t, 9,1)	71.82	2,97-2,93 (m)
5''	82,20	3,55 (m)	81.12	2,97-2,93 (m)
6''	63,43	4,13 (dl, 10,7), 3,95 (dd, 10.7, 5,4)	63.29	3,50 (dd, 11,3, 2,6), 3,39 (m)
1'''	84,66	3,86 (d, 9,9)	84.55	3,27 (d, 9,5)
2'''	73,40	3,92-3,87 (m)	72.93	3,10 (t, 9,5)
3'''	80,09	4,20-4,10 (m)	79.36	3,42-3,34 (m)
4'''	72,09	3,55 (m)	71.82	2,97-2,93 (m)
5'''	82,11	4,13 (dl, 10,7), 3,95 (dd, 10,7, 5,4)	80.01	2,97-2,93 (m)
6'''	63,30	3,55 (m)	63,29	3,50 (dd, 11,3;2,6), 3,39 (m)

O espectro de massas de SMRAC4 forneceu o pico do íon molecular m/z 859 e neste valor incluiu-se uma molécula de água (m/z 18) e um íon sódio (m/z 23), que ao serem subtraídos do valor original obtém-se o valor m/z 818, que indica a presença de um átomo de oxigênio a mais, levando a fórmula molecular $C_{42}H_{42}O_{17}$. A representação estrutural de SMRAC4 é mostrada abaixo. Os picos no espectro de RMN ^{13}C em δ 77,05 e 77,14 correspondem ao deslocamento dos carbonos 10' e 10 respectivamente.



O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) bem como o de mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC4 (Figura 38 e 40, p. 76 e 77), permitiram associar as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 10, p. 71).

Tabela 10 – Dados espectroscópicos de RMN ^1H , ^{13}C e correlação heteronuclear a longa distância de SMRAC2.

Carbono	δ_{C}	δ_{H}	HMBC	
			$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
Carbonos não hidrogenados (C)				
1	162.70		H-2	
1'	162.32		H-2'	
3	147.34		3H-11	
3'	148.37		3H-11'	
4a	147.17			
4'a	147.11			
8	162.05		H-7	H-6
8'	162.45		H-7'	H-6'
8a	117.59			H-5; H-7
8'a	117.71			H-5'; H-7'
9	194.17			$^4\text{J}_{\text{CH}}$: H-4; H-5
9'	194.20			$^4\text{J}_{\text{CH}}$: H-4'; H-5'
9a	115.52			H-2; H-4
9'a	115.41			H-2'; H-4'
10	77.05			H-4; H-5
10'	77.14			H-4'; H-5'
10a	147.1			H-1''; H-6
10'a	149			H-1'''; H-6'
Carbonos metínicos (CH)				
2	117.91	6.81 (sl)		H-4; 3H-11
2'	117.59	6.88 (sl)		H-4'; 3H-11'
4	119.95	7.65 (sl)		H-2; 3H-11
4'	118.78	7.78 (sl)		H-2'; 3H-11'
5	117.54	7.93 (d, 8.0)		

Tabela 10 (Cont.) – Dados espectroscópicos de SMRAC4.

5'	118.64	7.85 (d, 8.1)		
6	136.66	7.61 (t, 8.1)	H-5	
6'	135.50	7.40 (t, 8.0)	H-5'	
7	117.43	7.09 (d, 8.0)		
7'	117.59	7.00 (d, 8.1)		
Carbonos metílicos (CH₃)				
Me-3	22.20	2.02 (s)		H-2; H-4
Me-3'	22.55	2.26 (s)		H-2'; H-4'
Carbonos Das unidades desoxiglicosílicas				
1''	84.63	3.86 (d, 9.9)	H-2''	
2''	73.45	3.92-3.87 (m)	H-1''; H-3''	H-4''
3''	80.16	4.20-4.10 (m)	H-4''	H-1''
4''	72.13	3.69 (t, 9.1)	H-5''	2H-6''
5''	82.20	3.55 (m)	H-4''; H-6'' ^b	H-1''
6''	63.43	4.13 (dl, 10.7), 3.95 (dd, 10.7, 5.4)		H-4''
1'''	84.66	3.86 (d, 9.9)	H-2'''	H-3'''
2'''	73.40	3.92-3.87 (m)	H-1''' ; H-3'''	H-4'''
3'''	80.09	4.20-4.10 (m)	H-4'''	H-1'''
4'''	72.09	3.55 (m)	H-5'''	2H-6'''
5'''	82.11	4.13 (dl, 10.7), 3.95 (dd, 10.7, 5.4)	H-4''' ; H-6''' ^b	H-1'''
6'''	63.30	3.55 (m)		H-4'''

Com base no exposto acima é possível propor para SMRAC4 a estrutura de uma antrona dimérica desoxiglicosilada, denominada crisofanol-10,10'-il-10-oxi-10,10'-bi-1,5-anidroglucitol.

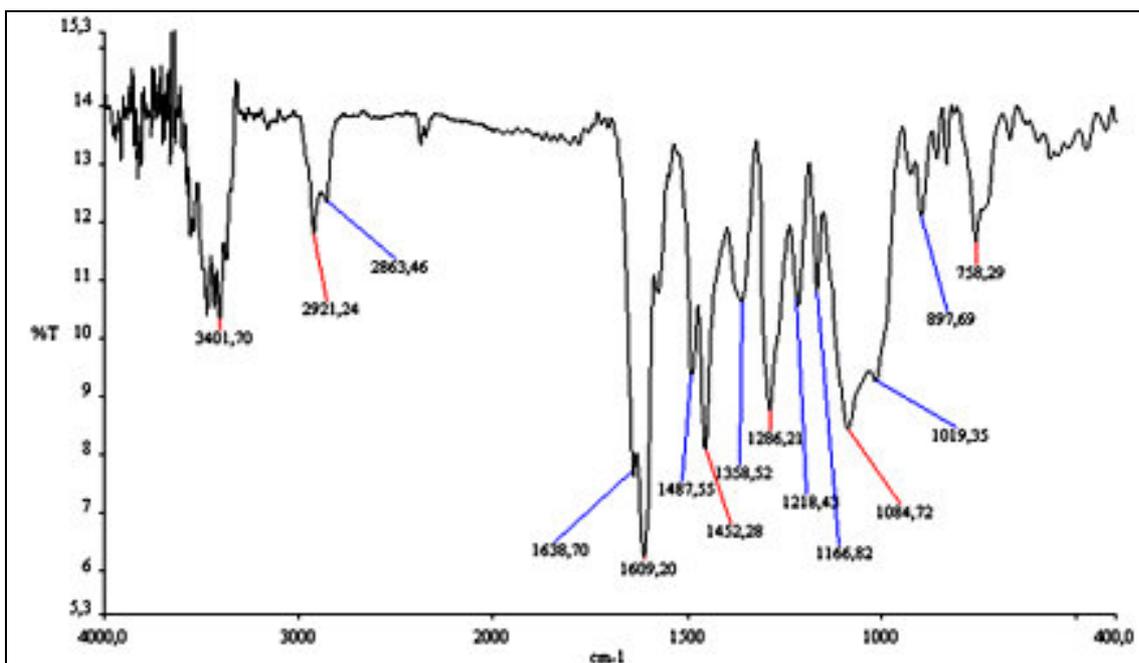


Figura 35 – Espectro na região do infra-vermelho de SMRAC4.

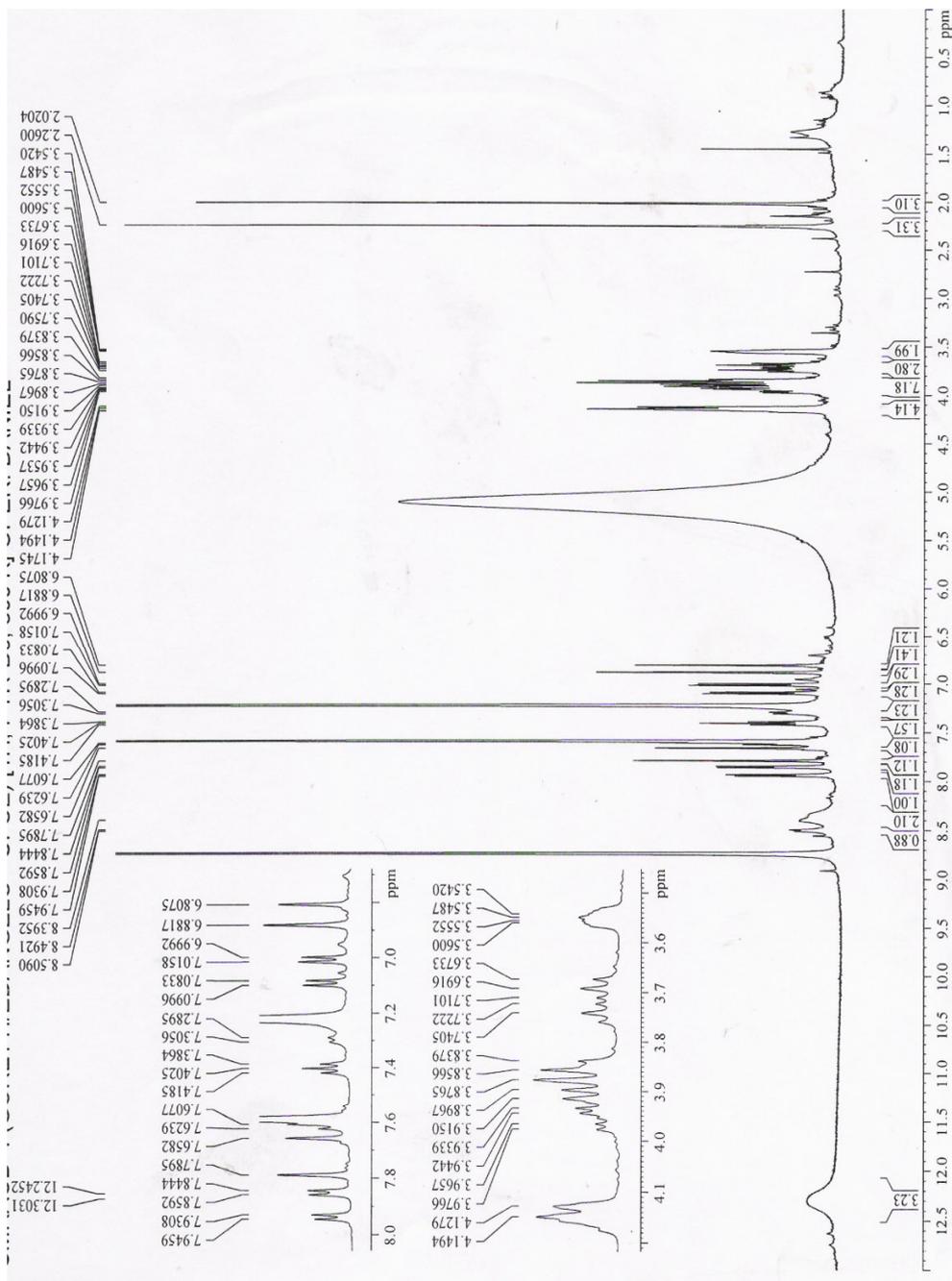


Figura 36 - Espectro de RMN ^1H (500 MHz, piridina- d_5) de SMRAC4.

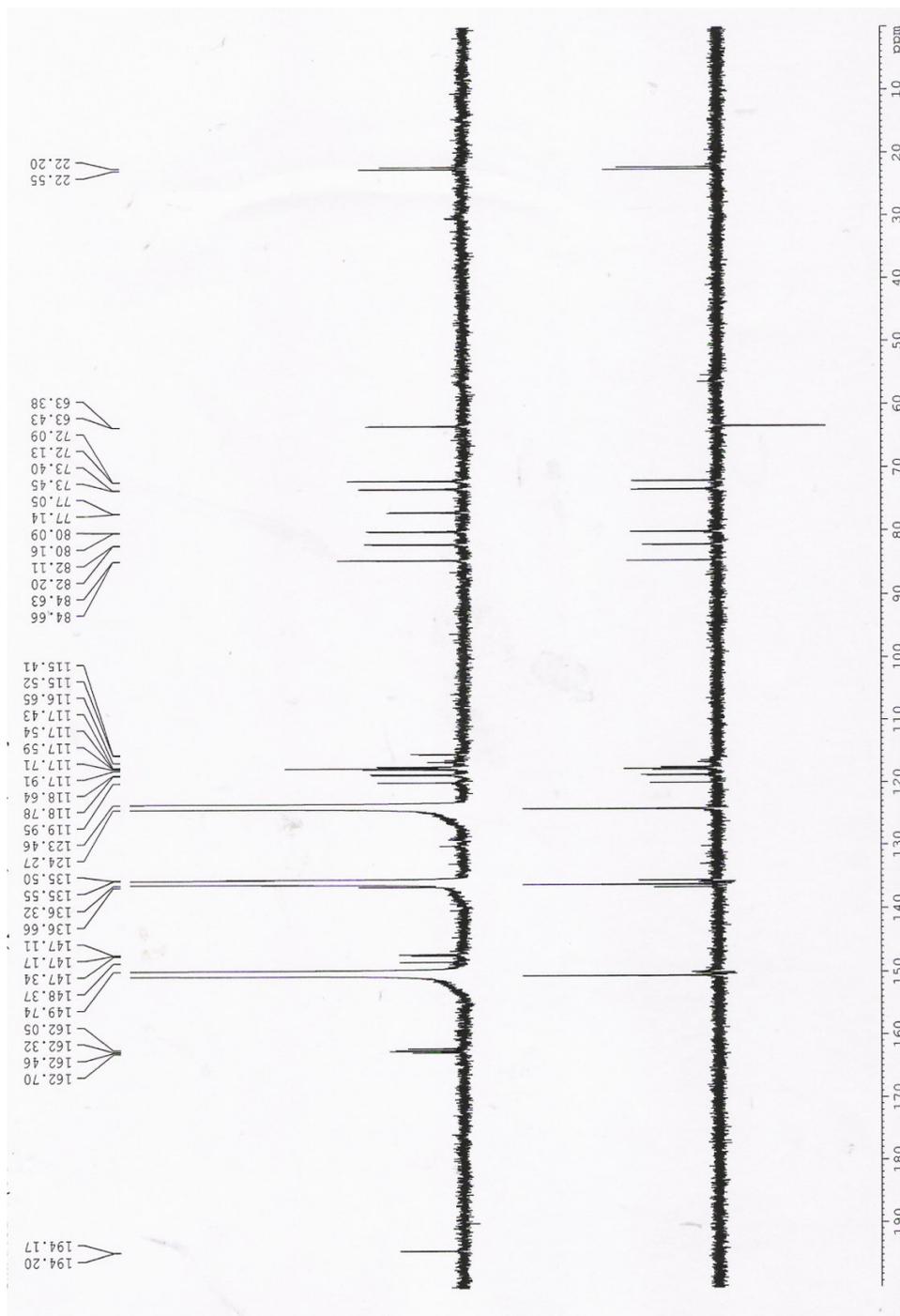


Figura 37 - Espectro de RMN 13C – BB (125 MHz, piridina-d₅) de SMRAC4.

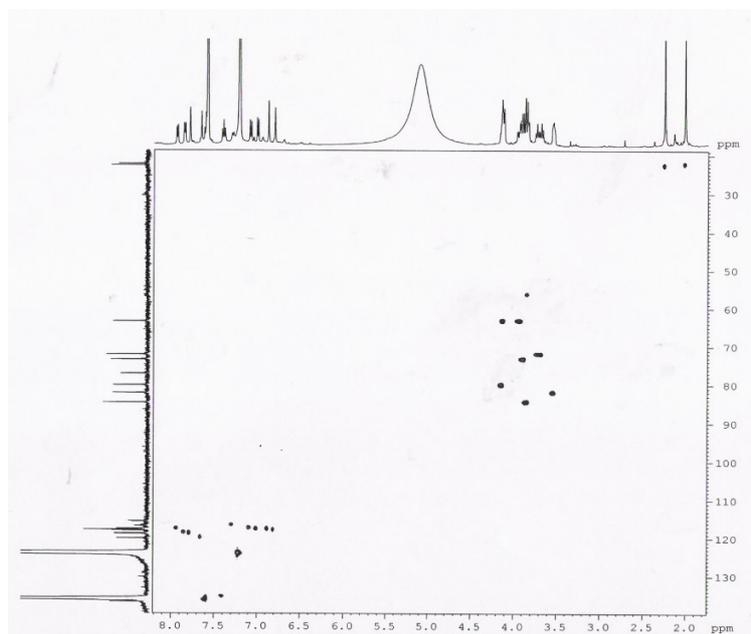


Figura 38 - Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) de SMRAC4.

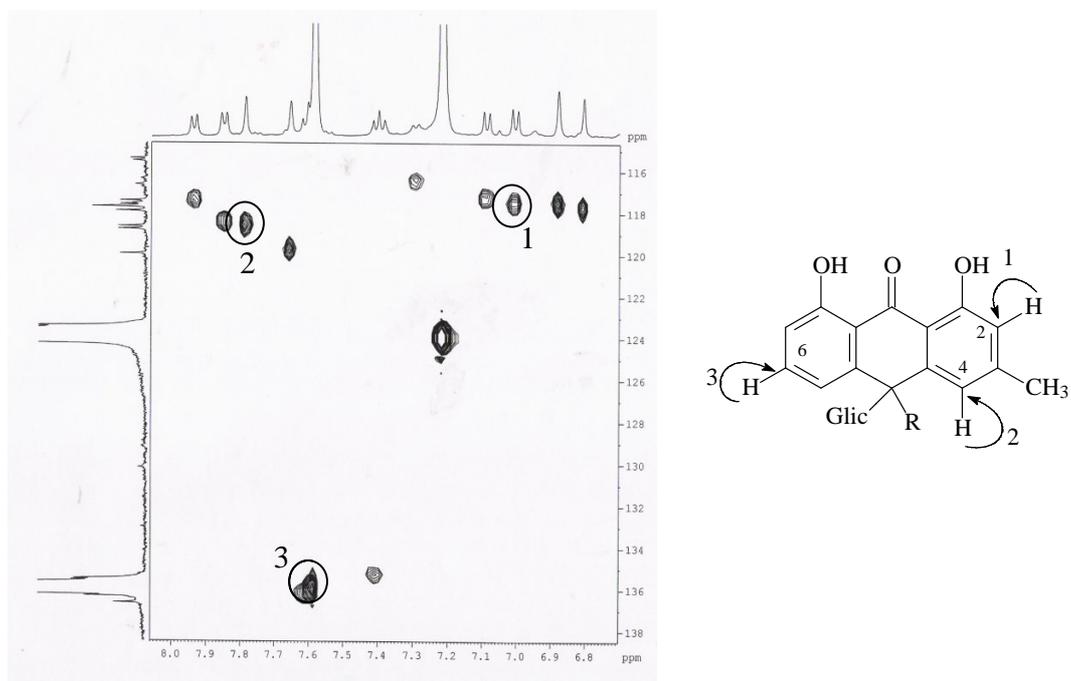


Figura 39 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HMQC) de SMRAC4.

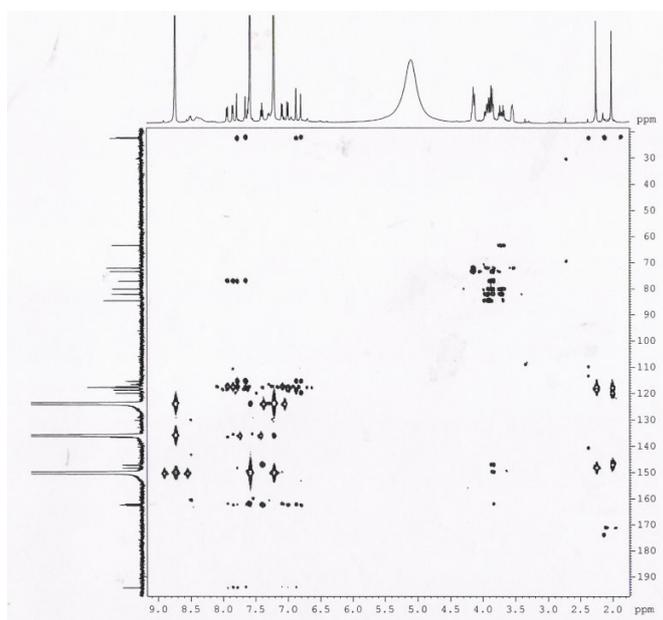


Figura 40 - Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC, 125, 500 MHz, piridina-d₅) de SMRAC4.

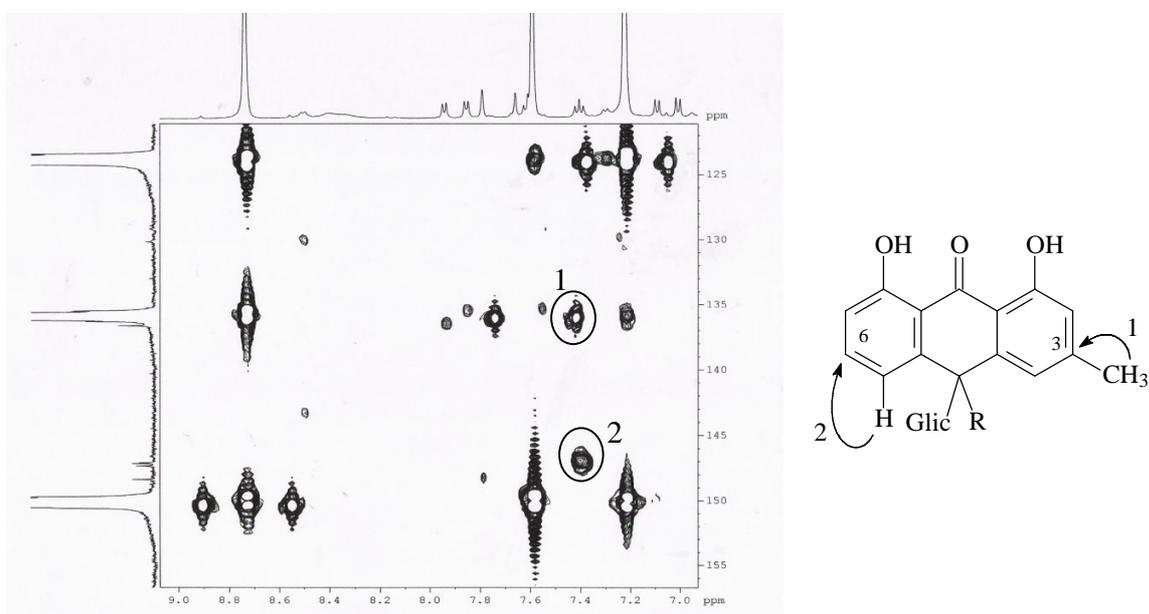


Figura 41 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC4.

5.1.7. Determinação estrutural de SMRAC5

A substância denominada SMRAC5 (28,0 mg) mostrou-se como um filme de cor marrom, solúvel em metanol, que foi obtido a partir do tratamento cromatográfico do extrato etanólico das raízes de *Senna martiana*.

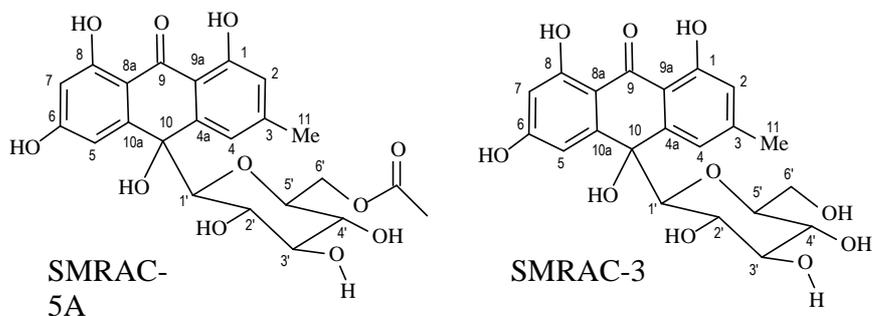
Com relação ao espectro de RMN ^1H [500 MHz, Piridina- d_5] (**Figura 42, p. 85**), observou-se dois sinais em δ 1,99 (3H, s) e 2,13 (3H, s) referentes a hidrogênios metílicos, três tripletos em δ 3,52 (1H, t, $J = 9,3$ Hz), 3,98 (1H, t, $J = 9,3$ Hz) e 4,12 (1H, t, $J = 9,3$), um multiplete em δ 3,63 (1H, m), dois dubletos em δ 3,87 (1H, d, $J = 9,3$ Hz) e 4,68 (1H, d, $J = 11,3$ Hz) e um duplo-dublete em 4,24 (1H, dd, $J = 11,3$ e 7,2 Hz), estes sinais observados na faixa de δ 3,52 a 4,68 estão de acordo com hidrogênios de um sistema glicosilado, foi possível ainda observar oito sinais na região de sistemas aromáticos, em δ 6,76 (2H, s), 6,84 (1H, s), 6,87 (1H, s), 6,95 (1H, s), 7,31 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,55 (1H, d, $J = 8,3$ Hz), 7,62 (1H, s), 7,82 (1H, t, $J = 8,1$ Hz), 7,65 (1H, s), 7,78 (1H, s), 7,85 (1H, d, $J = 8,1$ Hz), 7,93 (1H, d, $J = 8,0$). Três singletos em δ 12,61 (1H, s), 12,75 (1H, s) e 13,81 (1H, s) referentes a hidrogênios hidroxílicos quelados.

O espectro de RMN ^{13}C [125 MHz, Piridina- d_5] (**Figura 43, p. 86**), mostrou a presença de trinta e seis linhas espectrais, duas em δ 20,88 e 22,09 referentes a carbonos metílicos, sete na faixa de δ 64,84 - 84,76, provavelmente referentes a carbonos oxigenados, vinte e seis sinais na região de carbonos aromáticos na faixa de δ 95,12 - 183,08, sendo que os sinais na região de δ 158,84 - 183,08, referem-se a carbonos sp^2 oxigenados e um sinal em δ 183,08 referente a carbono carbonílico. Após análise dos espectros de RMN ^{13}C e RMN ^1H , foi possível concluir que SMRAC5 tratava-se uma de uma mistura, contendo cerca de 36% de uma substância A e 64% de uma substância B. Esta proporção pode ser determinada através da observação do valor da integral dos picos do espectro de RMN ^1H . A substância em maior quantidade (SMRAC5-A) foi então comparada com a substância SMRAC3, **Tabela 11, p. 79**.

Tabela 11 – Comparação dos dados espectrais de RMN ^{13}C de SMRAC5A e SMRAC3

Carbono	SMRAC5-A		SMRAC-3	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
Carbonos não hidrogenados (C)				
1	162,61	-	162,16	-
3	146,24	-	147,34	-
4a	146,17	-	-	-
6	167,03	-	166,37	-
8	165,00	-	165,73	-
8a	111,01	-	110,82	-
9	n. r.	-	192,40	-
9a	115,54	-	115,31	-
10	77,38	-	77,33	-
10a	152,67	-	-	-
Carbonos metínicos (CH)				
2	117,94	6,84 (sl)	117,71	6,89 (sl)
4	119,71	7,62 (sl)	118,71	7,79 (sl)
5	107,43	7,82 (sl)	109,08	7,79 (sl)
7	103,04	6,87 (sl)	103,30	6,74 (sl)
Carbonos metílicos (CH₃)				
11	22,04	21,9 (s)	22,48	22,26 (s)
HO-1	-	12,61 (s)	-	12,57 (s)
HO-8	-	12,75 (s)	-	12,73 (s)
Unidade glicosídica				
1g	84,76	3,87 (d, 9,3)	85,31	3,94 (d, 8,4)
2g	73,14	3,98 (t, 9,3)	73,38	4,19 (m)
3g	79,93	4,12 (t, 9,3)	80,10	4,19 (m)
4g	71,43	3,52 (t, 9,3)	72,22	3,78 (t, 8,5)
5g	79,06	3,63 (m)	82,10	3,56 (m)
6g	64,04	4,68 (dl, 11,3) 4,28 (dd, 11,3, 7,2)	63,54	4,14 (dd, 11,3; 2,8) 3,96 (dd, 11,3; 5,6)
Aco-6g-	171,12	-		
	20,88	2,13 (s)		

Fica claro a grande semelhança entre as duas substâncias, exceto pela presença dos sinais em RMN ^{13}C δ 171,12 e δ 20,88 que é concordante com carbono carbonílico de éster e um grupo metil ligado a carbonila. Desta forma foi possível propor para SMRAC5A a estrutura abaixo.



O espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) bem como o de mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC5A (10-hidroxiemodina-9-antrona-10R-C- β -6'-acetil-D-glicosídeo) (Figura 44 e 47, p. 87 e 88), permitiram associar as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 12, p. 81), comprovando a estrutura proposta acima.

Tabela 12 – Dados espectrais de RMN ^{13}C (HMQC e HMBC) de SMRAC5A

C	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2\text{J}_{\text{CH}}$	$^3\text{J}_{\text{CH}}$
1	162,61	-	HO-1; H-2	
3	146,24	-	3H-111	
4a	146,17	-	H-4	
6	167,03	-	H-7	
8	165,00	-	H-7; HO-8	
8a	111,01	-		HO-8
9	n. r.	-		
9a	115,54	-		HO-1; H-2; H-4
10	77,38	-		H-1g ; H-4; H-5
10a	152,67	-	H-5	
CH				
2	117,94	6,84 (sl)		HO-1
4	119,71	7,62 (sl)		H-2
5	107,43	7,82 (sl)		H-7
7	103,04	6,87 (sl)		H-5; HO-8
CH₃				
11	22,04	21,9 (s)		H-2; H-4
HO-1	-	12,61 (s)	-	-
HO-8	-	12,75 (s)	-	-
1g	84,76	3,87 (d, 9,3)	H-2g	
2g	73,14	3,98 (t, 9,3)	H-1g	
3g	79,93	4,12 (t, 9,3)		
4g	71,43	3,52 (t, 9,3)	H-3; H-5g	
5g	79,06	3,63 (m)	H-4g; H-6bg	
6g	64,04	4,68 (dl, 11,3) 4,28 (dd, 11,3; 7,2)		
Aco-6g-	171,12	-		2H-6g
	20,88	2,13 (s)		

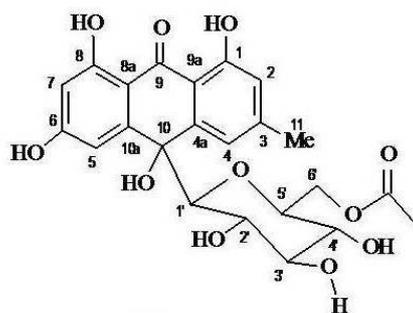
Os dados espectrais da substância minoritária, denominada SMRAC5B, foram então comparados com os dados de SMRAC5A.

Tabela 13 – Comparação entre os dados de RMN ¹³C de SMRAC5B e SMRAC5A.

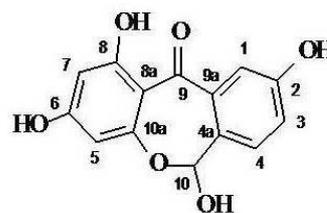
Carbono	SMRAC5B		SMRAC5A	
	δ _C	δ _H	δ _C	δ _H
Carbonos não hidrogenados (C)				
1	-	-	162,61	-
2	165,20	-	-	-
3	-	-	146,24	-
4a	152,02	-	146,17	-
6	166,14	-	167,03	-
8	162,47	-	165,00	-
8a	105,32	-	111,01	-
9	183,03	-	n. r.	-
9a	148,10	-	115,54	-
10	-	-	77,38	-
10a	158,20	-	152,67	-
Carbonos metínicos (CH)				
1	114,93	7,93 (sl)	-	-
2	-	-	117,94	6,84 (sl)
3	119,87	7,55 (dl, 8,3)	-	-
4	117,20	7,31 (d, 8,3)	119,71	7,62 (sl)
5	100,27	6,76 (sl)	107,43	7,82 (sl)
7	95,12	6,76 (sl)	103,04	6,87 (sl)
10	104,28	6,95 (s)	-	-
Carbonos metílicos (CH₃)				
11	-	-	22,04	1,99 (s)
HO-1	-	-	-	12,61 (s)
HO-8	-	13,81 (s)	-	12,75 (s)
Unidade glicosílica				
1g	-	-	84,76	3,87 (d, 9,3)
2g	-	-	73,14	3,98 (t, 9,3)
3g	-	-	79,93	4,12 (t, 9,3)
4g	-	-	71,43	3,52 (t, 9,3)
5g	-	-	79,06	3,63 (m)
6g	-	-	64,04	4,68 (dl, 11,3) 4,28 (dd, 11,3; 7,2)
Aco-6g-	-	-	171,12	-
	-	-	20,88	2,13 (s)

Com os dados mostrados acima, bem como pela análise dos espectros bidimensionais de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) e de mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC5

(Figura 44 e 47, p. 87 e 88), permitiram associar as absorções dos carbonos aos seus respectivos hidrogênios (Tabela 14, p. 84). Levando assim, a propor a representação estrutural abaixo, para SMRAC5B (2,6,810-tetraidroxi-dibenzeno[b,e]oxepin-9-ona). Não foi detectada até o momento a presença desta substância na literatura, sendo então inédita.



SMRAC5A



SMRAC5B

Tabela 14 – Dados espectrais de RMN ^{13}C (HMQC e HMBC) de SMRACB

Carbono	HMQC		HMBC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
Carbono não hidrogenado (C)				
2	165,20		H-1; H-3	
3	-	-	-	-
4a	152,02	-	H-4	H-1; H-3
6	166,14	-	H-5; H-7	
8	162,47	-	H-7; HO-8	
8a	105,32	-		H-5; H-7; HO-8
9	183,03	-		H-5
9a	148,10	-	H-1	H-4
10a	158,20	-	H-5	
Carbono metínico (CH)				
1	114,93	7,93 (sl)		H-3
3	119,87	7,55 (dl, 8,3)		H-1
4	117,20	7,31 (d, 8,3)		
5	100,27	6,76 (sl)		H-7
7	95,12	6,76 (sl)		H-5; HO-8
10	104,28	6,95 (s)		
Carbono metílico (CH₃)				
HO-1	-	-	---	-
HO-8		13,81 (s)	-	-

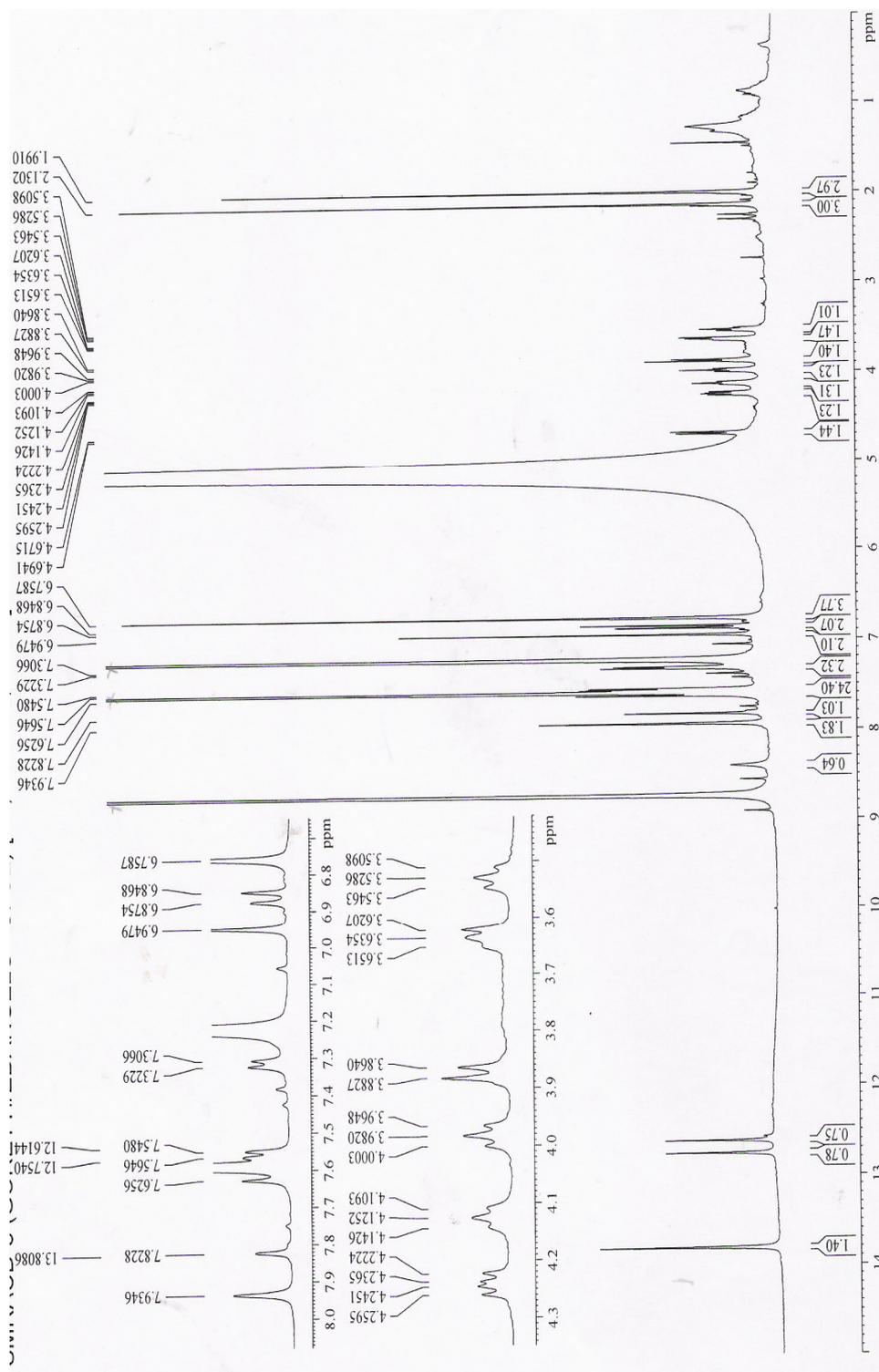


Figura 42 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, piridina-d₅) de SMRAC5.

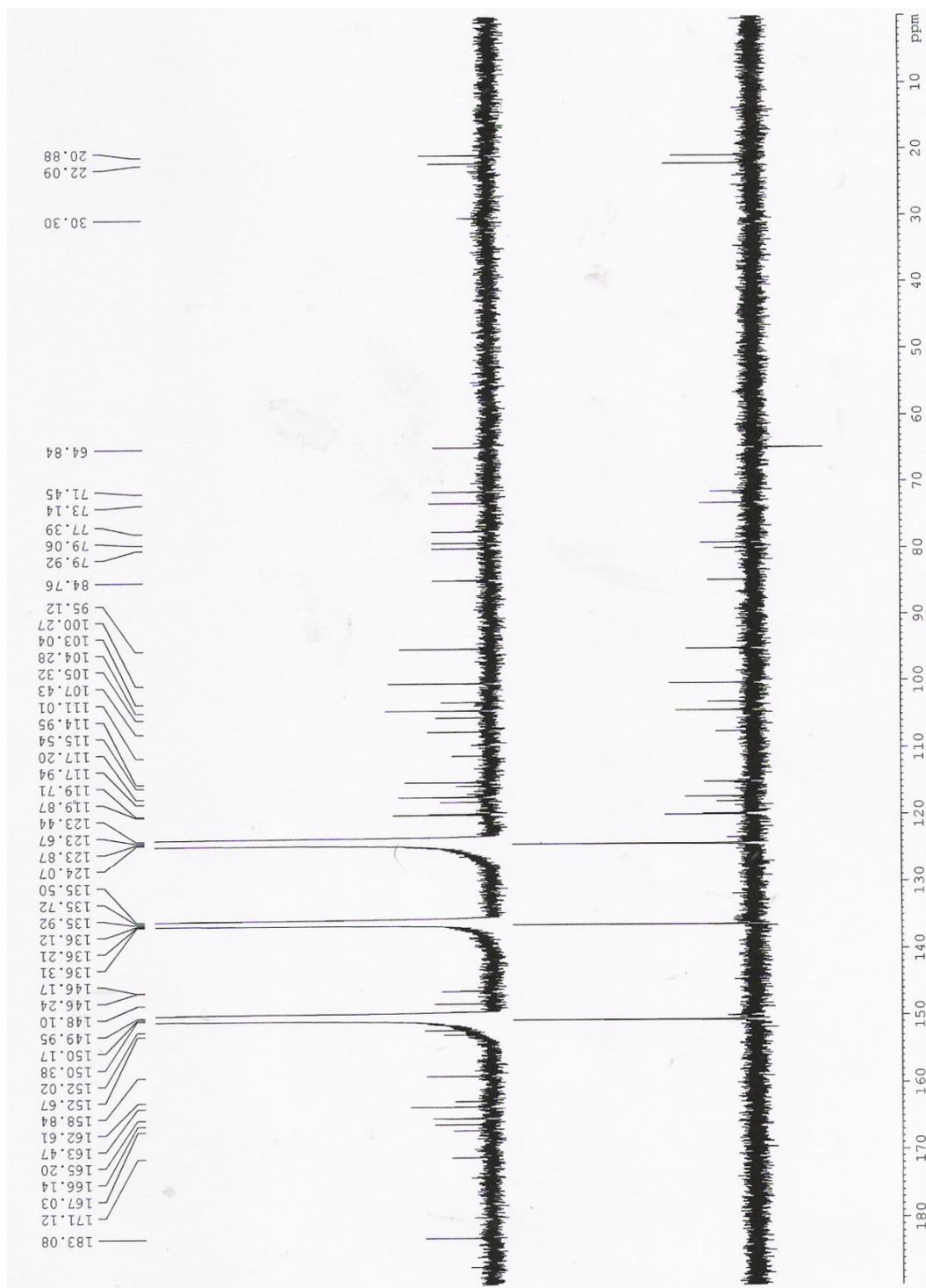


Figura 43 - Espectro de RMN 13C – BB (125 MHz, piridina-d₅) de SMRAC5.

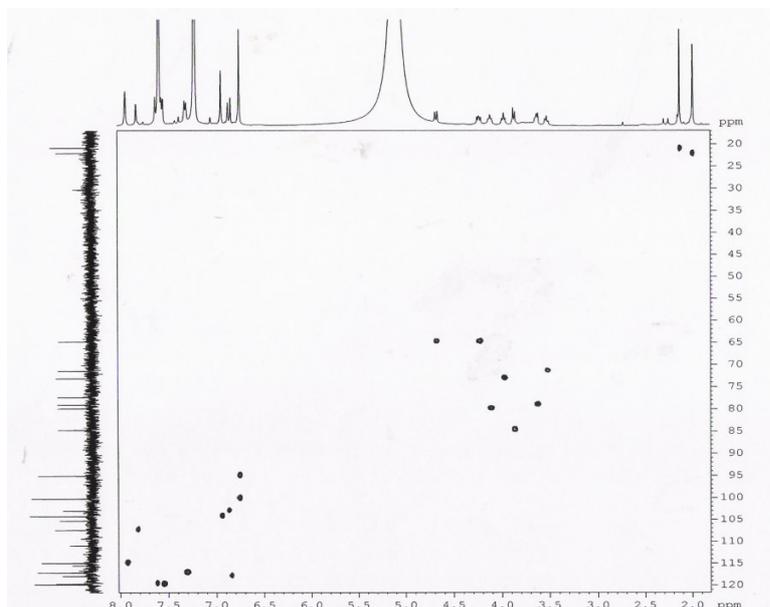


Figura 44 - Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) de SMRAC5

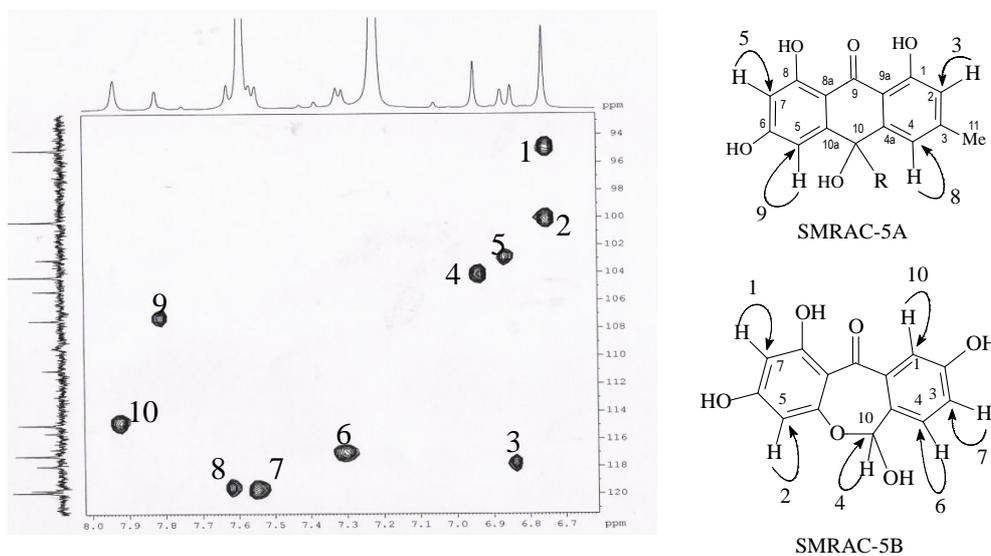


Figura 45 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) de SMRAC5.

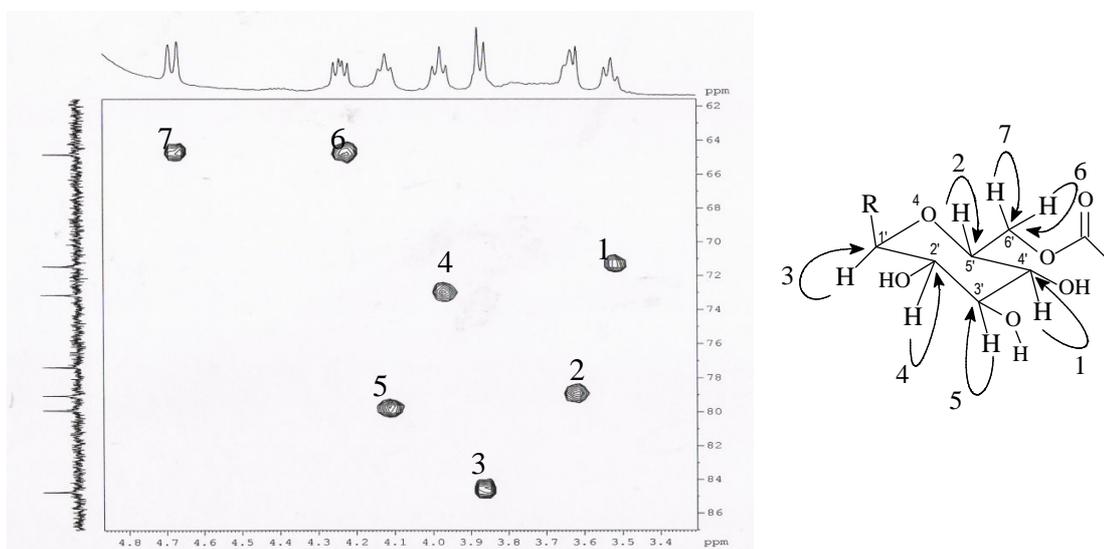


Figura 46 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a uma ligação (HSQC) de SMRAC5.

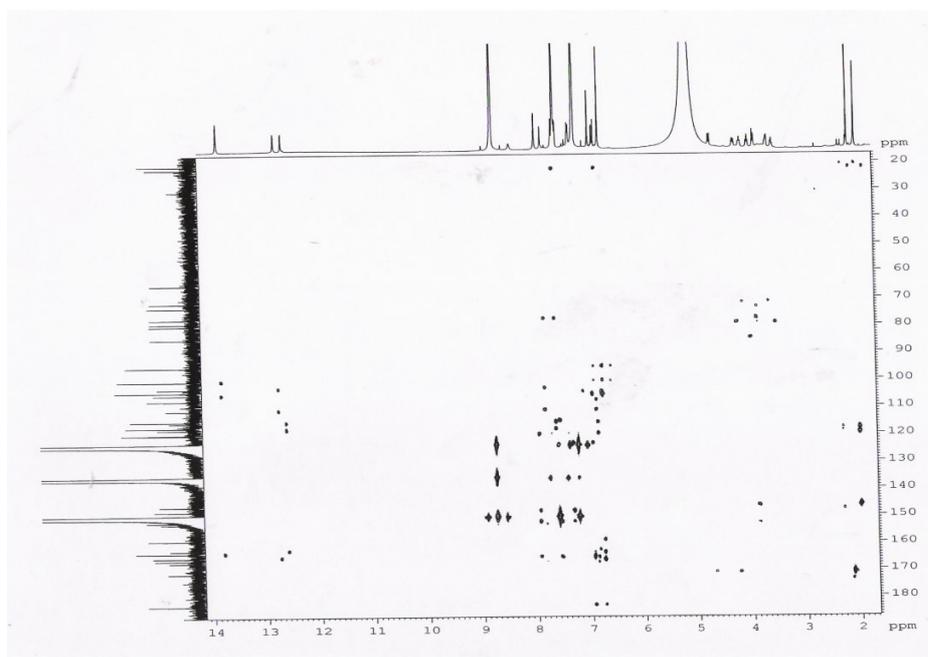


Figura 47 - Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC, 125, 500 MHz, piridina-d₅) de SMRAC5.

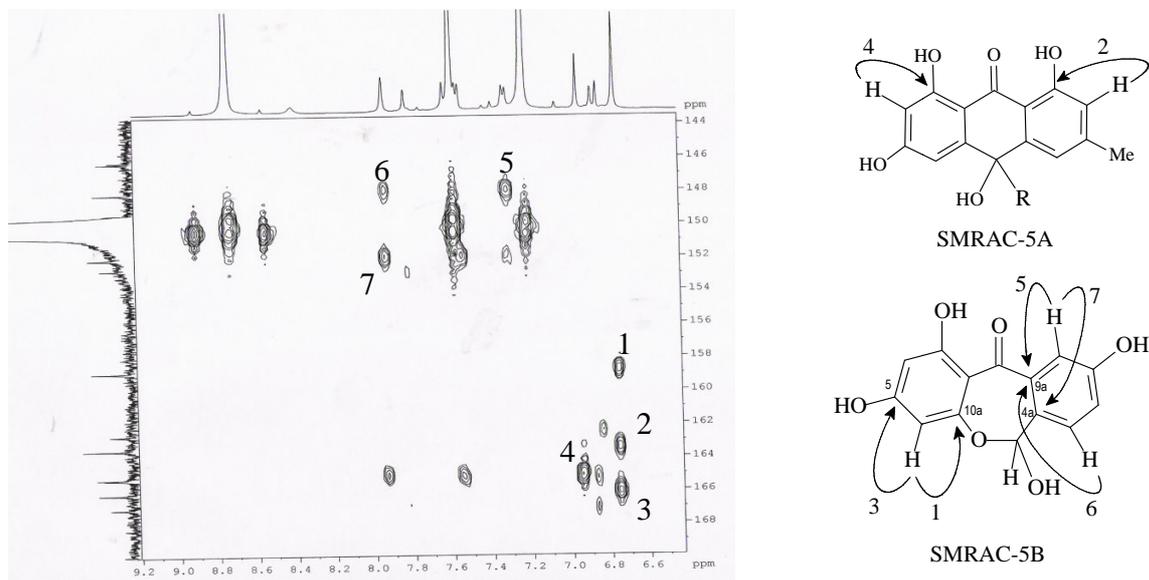


Figura 48 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC5.

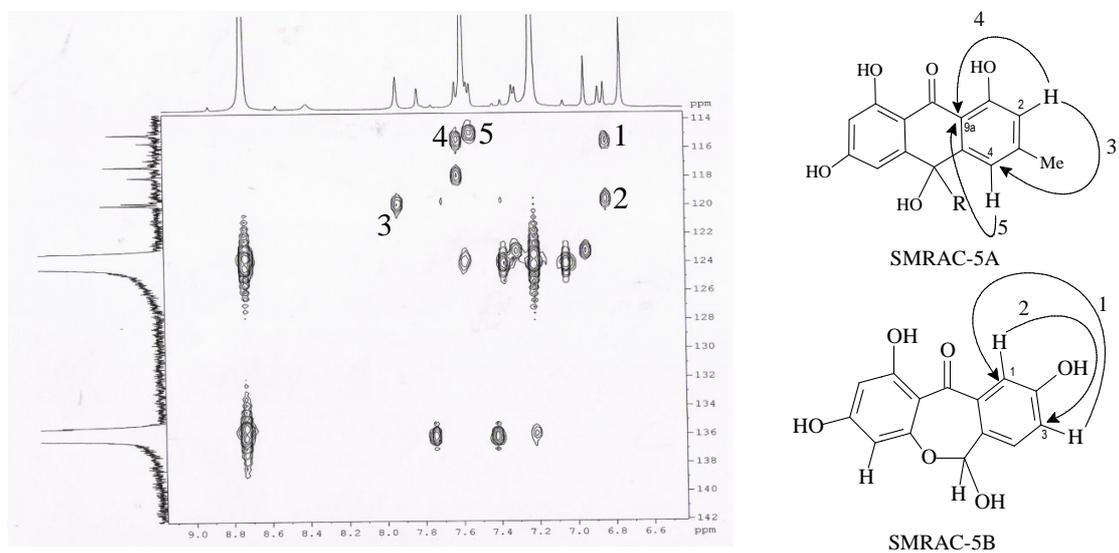


Figura 49 - Sub-Espectro de correlação heteronuclear a mais de uma ligação (HMBC) de SMRAC5.

5.1.8 - Determinação Estrutural de SMF5

O tratamento cromatográfico do extrato hexânico da flores de *Senna martiana*, segundo o fluxograma 01, p. 121, forneceu um sólido incolor em formas de agulhas, com uma faixa de fusão 140,0-142,0 °C. A realização do teste de Lierberman-Burchard [Matos, 1998] resultou como positivo para esteroides, tendo maior solubilidade em clorofórmio. Essa fração foi denominada **SMF5** (64,0 mg).

O espectro de RMN ^1H (300 MHz) de **SMF5**, (**Figura 50, p. 93**), foi possível observar dentre outros alguns sinais característicos: em δ_{H} 3,53 (m), para hidrogênio ligado a carbono carbinólico; em δ_{H} 5,36 (d, $J= 4,8$) referentes a hidrogênio olefínico; em δ_{H} 5,15 (dd, $J= 8,5$ e 15,0) e δ_{H} 5,02 (dd, $J= 8,5$ e 15,1) também de hidrogênios olefínicos; alguns sinais de hidrogênios metílicos são destacados: em δ_{H} 1,01 (s), δ_{H} 1,03 (s) e δ_{H} 0,68 (s), podem ser atribuídos a grupos metílicos de esteroides [Carvalho, et al 1998].

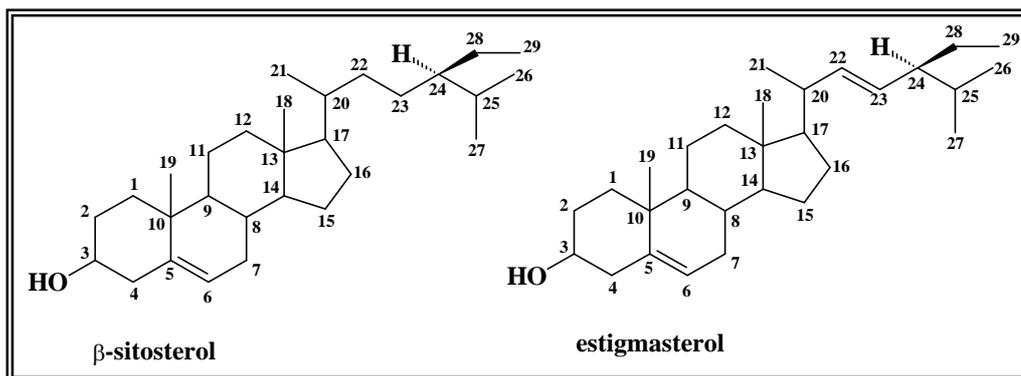
O espectro de RMN ^{13}C -BB (125 MHz), (**Figura 52, p. 94**) apresentou 36 linhas espectrais sendo que alguns sinais sugerem representar sinais sobrepostos. Na comparação com os dados de RMN ^{13}C -DEPT 135° (**Figura 53, p. 94**) com os dados de ^{13}C , foi possível verificar algumas absorções: em δ_{C} 141,2 para carbono não hidrogenado; em δ_{C} 122,1; 129,5 e 138,7 atribuídos a carbonos olefínicos; em δ_{C} 72,2 uma absorção correspondente a carbono metínico oxigenado; na região de 12,2-20,2 para carbonos metílicos δ_{C} (12,2; 12,4; 19,1; 19,3; 19,8 e 20,2).

A análise dos valores dos deslocamentos químicos, associado ao grande número de sinais característicos de grupos metínicos e metilênicos indicava que **SMF5** tratava-se de uma mistura de dois compostos da classe dos esteroides. Analisando os dados de RMN ^{13}C e RMN ^{13}C -DEPT 135°, foi possível organizar a **Tabela 15, p 91**, na qual encontram-se os dados de carbono comparados a literatura.

Tabela 15 - Deslocamentos químicos para **SMF5** com padrão de hidrogenação obtido pela comparação dos espectros utilizando a técnica RMN ^{13}C DEPT 135° [Chang, 2000].

C	δ_{C} β -sitosterol	δ_{C} SMF5	δ_{C} estigmasterol	δ_{C} SMF5
1	37,2	37,6	37,4	37,6
2	31,5	28,7	31,7	28,7
3	71,7	72,2	71,8	72,2
4	42,1	42,7	42,4	37,6
5	140,7	141,1	140,9	141,1
6	121,6	122,1	121,7	122,1
7	31,8	32,0	31,9	32,0
8	31,8	32,3	31,9	32,3
9	50,0	50,6	50,3	50,6
10	36,4	36,9	36,6	36,9
11	21,1	21,5	21,1	21,5
12	39,6	40,2	39,8	40,2
13	42,73	42,7	42,4	42,7
14	56,7	56,4	57,0	56,5
15	24,3	23,5	24,4	23,5
16	28,2	28,7	28,9	28,7
17	55,9	57,2	56,0	57,3
18	11,8	12,2	12,2	12,4
19	19,3	19,4	19,4	19,4
20	36,1	36,6	40,5	40,3
21	19,0	19,2	21,1	20,2
22	33,8	34,3	138,4	138,7
23	25,9	26,5	129,4	129,7
24	45,7	46,2	51,3	51,6
25	29,3	29,5	31,9	32,0
26	19,7	19,2	19,0	19,2
27	19,8	19,8	21,1	20,2
28	22,9	21,5	25,4	24,7
29	11,9	12,4	12,0	12,6

A comparação dos dados obtidos com a literatura consultada [Carvalho, 1998; Chang, 2000; Santos, 2007; Macêdo, 2006], possibilitou identificar **SMF5** como mistura dos fitoesteróis β -sitosterol e estigmasterol. A presença de tais constituintes é extremamente comum em plantas superiores, mas que ainda não haviam sido relatadas para *Senna martiana*. A literatura relata várias atividades biológicas para estes compostos, inclusive contra veneno de cobra [Silva, 2003].



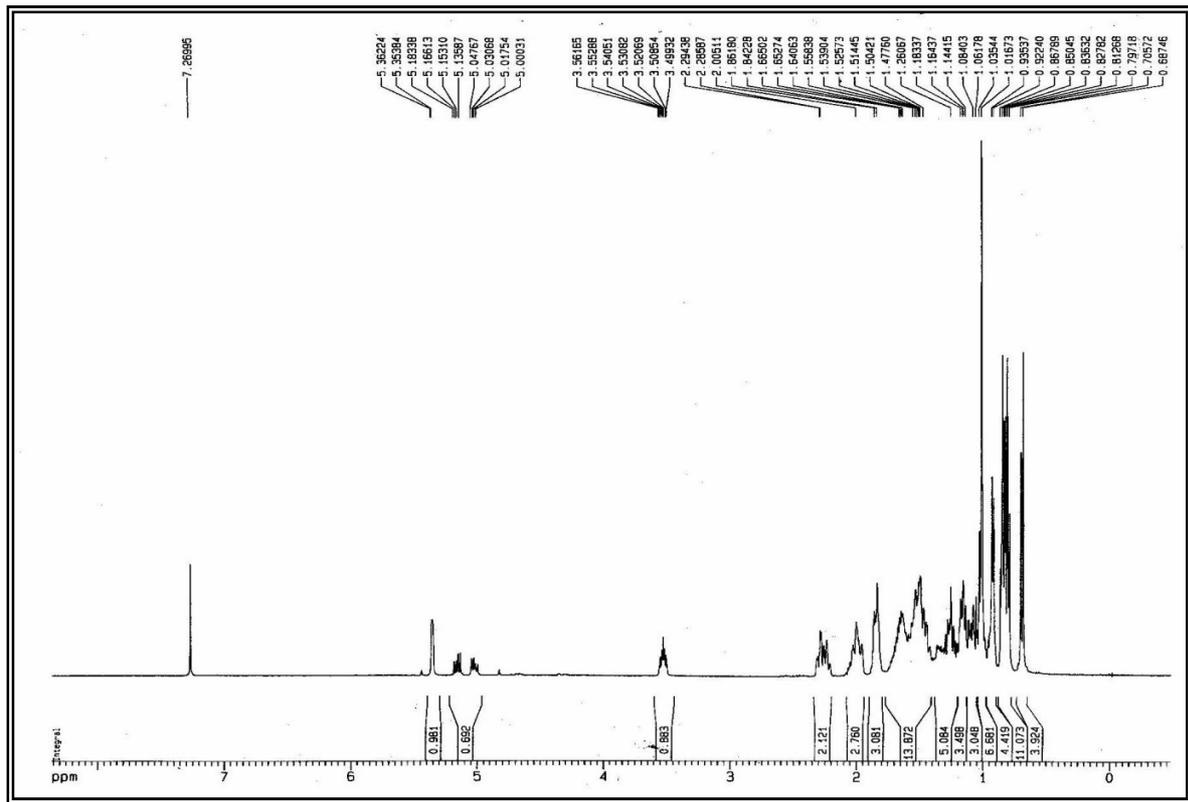


Figura 50 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMF5

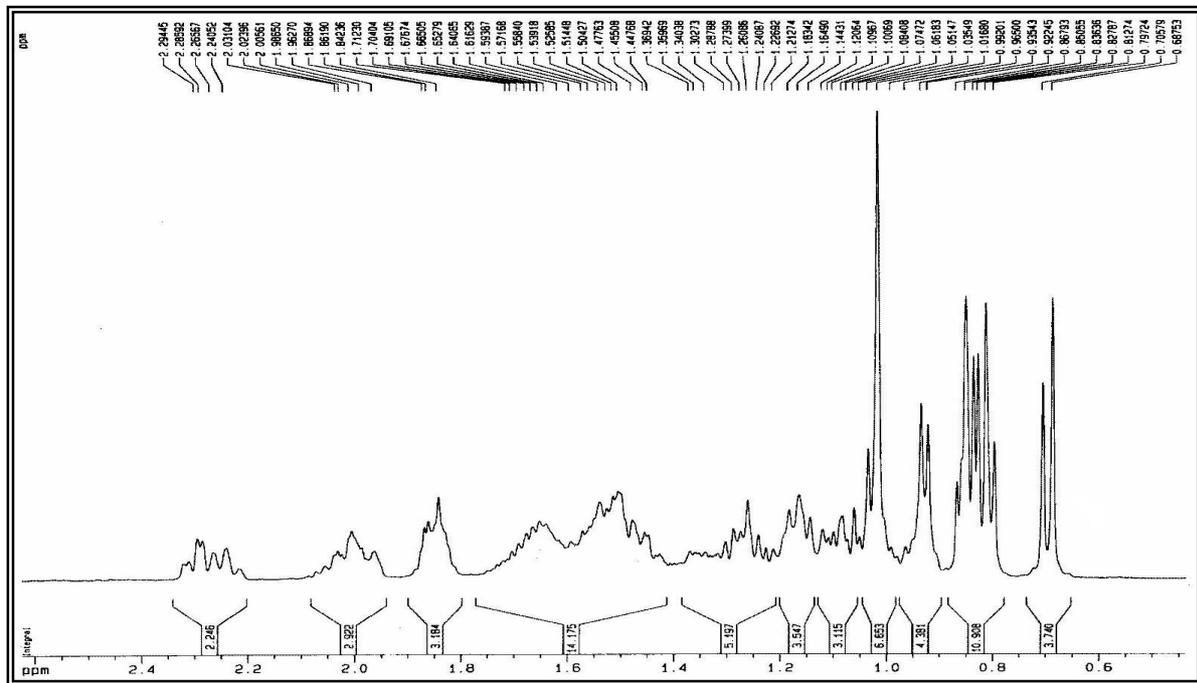


Figura 51 – Expansão do espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMF5

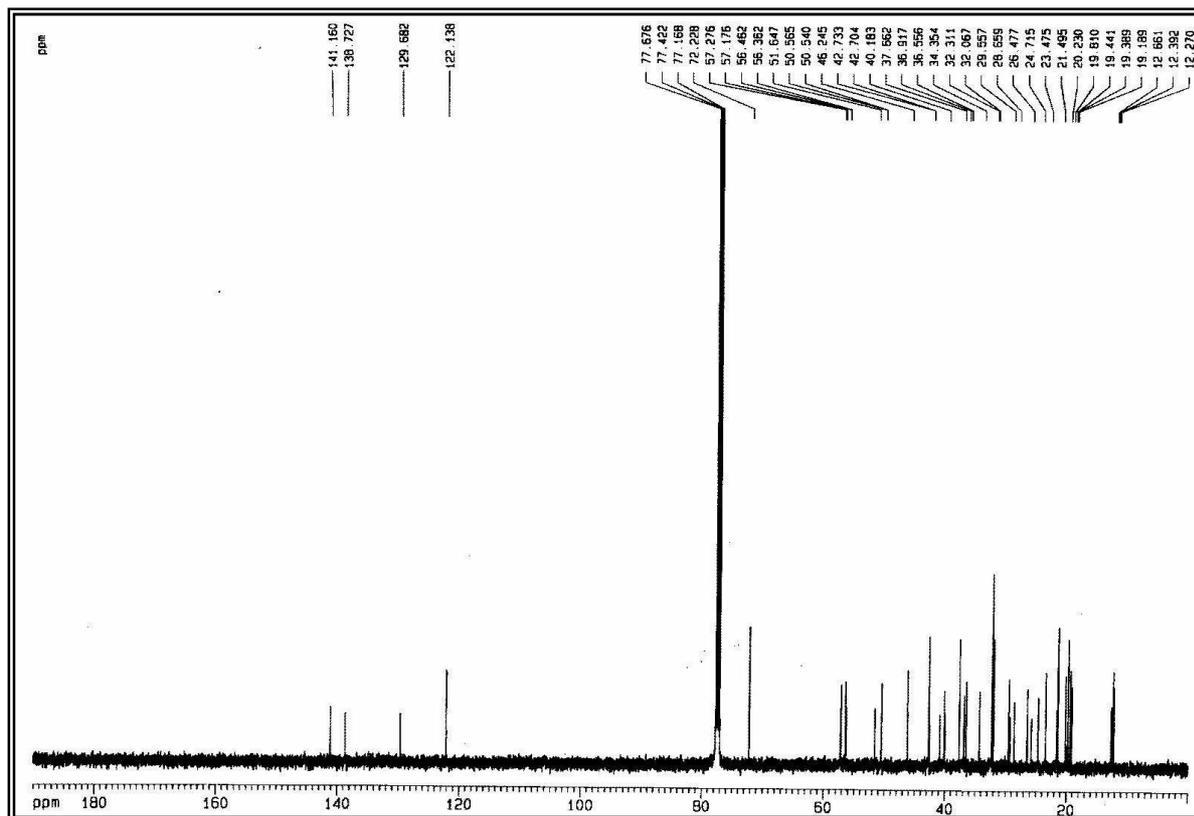


Figura 52 - Espectro de RMN ¹³C-BB (125 MHz, CDCl₃) de SMF5

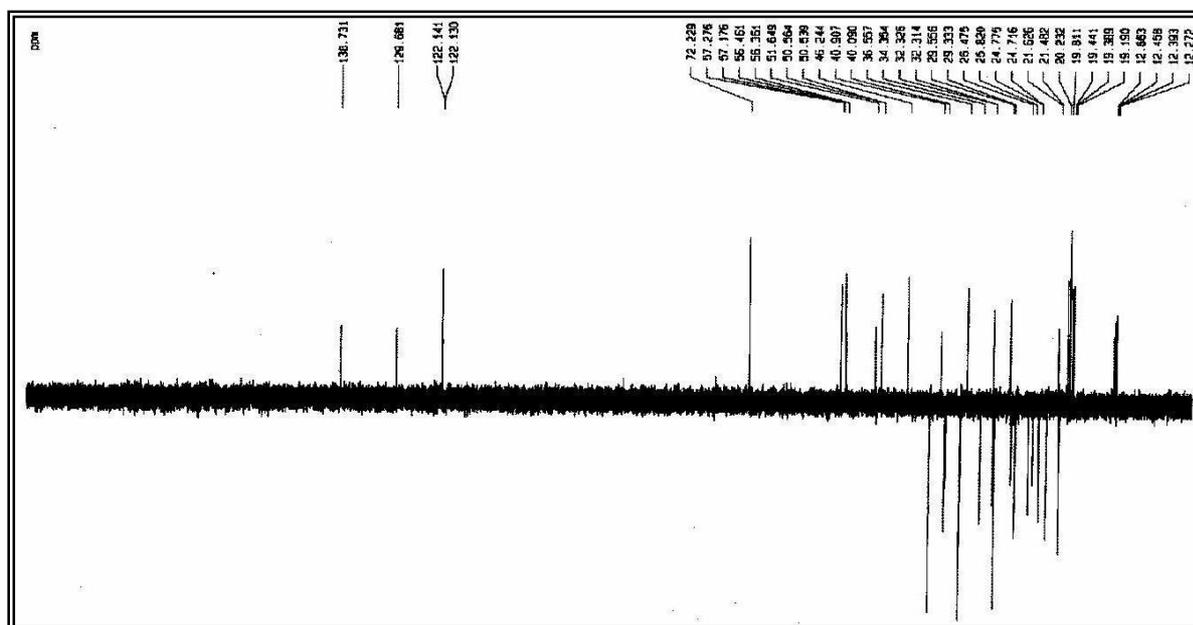


Figura 53 - Espectro de RMN ¹³C-BB - DEPT 135° de SMF5

5.1.9 - Determinação estrutural de SMF6

O estudo da fração SMF6 do extrato hexânico das flores *Senna martiana*, **Fluxograma 1, p. 121**, forneceu um sólido branco em forma de agulhas apresentando uma faixa de fusão de 178,4-180,0°C solúvel em clorofórmio. Após teste de Lieberman-Burchard conforme técnica empregada na literatura [Matos, 1998] apresentou coloração avermelhada, portanto positivo para triterpenos. Esta fração foi então rotulada de **SMF6** (80,0 mg).

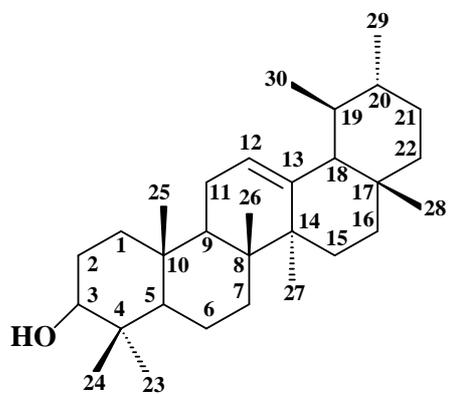
O espectro de RMN ^1H 500 MHz (**Figura 54, p. 98**) mostra várias absorções apresentando um padrão característico de triterpenos, confirmado pela presença de vários singletos na região de 0,8 a 1,2 (δ_{H} 1,14, 1,08, 1,02, 1,00, 0,92, 0,95, 0,97, 0,81, 0,79). Destaca-se também a presença do sinal em δ_{H} 3,25 característico de em triterpenos do tipo $3\beta\text{-OH}$ e também os sinais em δ_{H} 5,19 e δ_{H} 5,13 correspondentes aos hidrogênios olefínicos [Carvalho, 1998; Messias, 2005; Mahato, 1994].

O espectro de RMN ^{13}C - BB a 125 MHz (**Figuras 56, p. 99**) apresenta absorções de carbono sp^2 em δ_{C} 121,8 e 145,2; δ_{C} 124,4 e 139,3 que podem ser atribuídos respectivamente a ocorrência de uma mistura de triterpenoides pentacíclicos de esqueleto oleanano (olean-12-eno) e esqueleto ursano (urs-12-eno). Observou-se também uma absorção característica de carbono carbinólico em δ_{C} 79,2 além de outras. A comparação entre os dados espectrais de RMN ^{13}C BB, RMN ^{13}C -DEPT 135° (**Figura 58, p. 100**) obtidos para SMF6, encontram-se relacionados e apresentados na **Tabela 16, p. 96**, e permitiram concluir que SMF6 trata-se de uma mistura de dois triterpenos pentacíclicos monohidroxilados conhecidos na literatura como Urs-12-en-3 β -ol (α -amirina) e olean-12-en-3 β -ol (β -amirina) [Carvalho, 1998; Mahato, 1994].

A literatura relata que esta mistura triterpênica é frequentemente encontrada e detectada como uma única substância, sendo esta separação considerada quase sempre inviável [Albuquerque, 2000; Carvalho, 1998, Mahato, 1994]. Atividade antiinflamatória e antitumoral para diferentes linhagens de células, são relatadas para esta mistura [Zilberstein, 2009]. Esta é a primeira referência da presença destas substâncias na espécie *Senna martiana*.

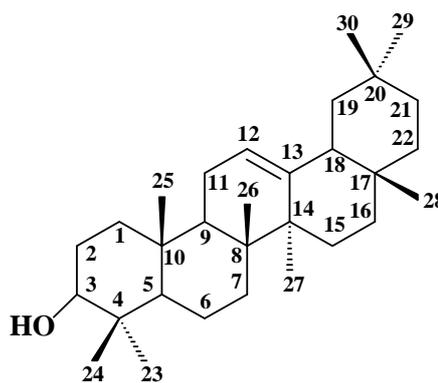
Tabela 16 - Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C 125 MHz de SMF6 com os valores da literatura [Carvalho, 1998];

C	δ_{C} α -amirina	δ_{C} SMR5-12 (α -amirina)	δ_{C} β -amirina	δ_{C} SMR5-12 (β -amirina)
1	38,7	38,9	38,7	38,9
2	27,2	27,7	27,2	27,7
3	79,6	79,2	79,6	79,2
4	38,7	39,0	38,7	39,0
5	55,1	55,4	55,1	55,4
6	18,3	18,2	18,3	18,2
7	32,8	33,6	32,8	33,6
8	39,9	40,0	39,9	40,0
9	47,7	47,8	47,7	47,8
10	36,9	37,1	36,9	37,1
11	23,6	23,5	23,6	23,5
12	124,4	124,6	121,8	121,9
13	139,6	139,8	145,2	145,4
14	42,0	42,3	41,7	41,7
15	28,7	28,6	26,1	26,8
16	26,6	26,2	26,9	26,4
17	33,7	33,9	33,7	33,9
18	59,0	59,3	47,6	47,8
19	39,6	39,9	46,7	47,0
20	39,6	39,8	31,1	31,3
21	31,2	31,3	34,7	33,9
22	41,5	41,7	37,1	37,4
23	28,0	28,3	28,4	28,4
24	15,7	15,6	15,6	15,6
25	15,7	14,8	15,7	14,8
26	16,9	17,1	16,9	17,1
27	23,3	23,5	26,1	26,8
28	28,1	28,2	28,8	28,9
29	23,3	23,5	33,4	33,5
30	21,4	21,6	23,6	23,6



Urs-12-en-3 β -ol (α -amirina)

Olean-12-en-3 β -ol (β -amirina)



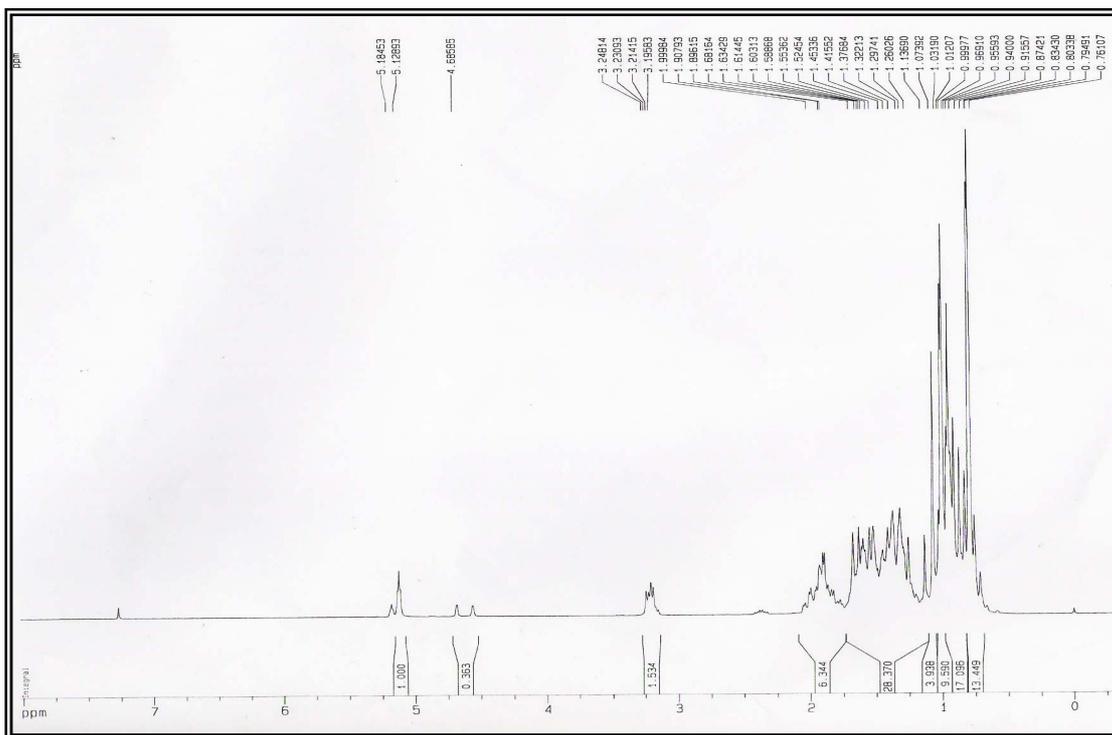


Figura 54 - Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMF6

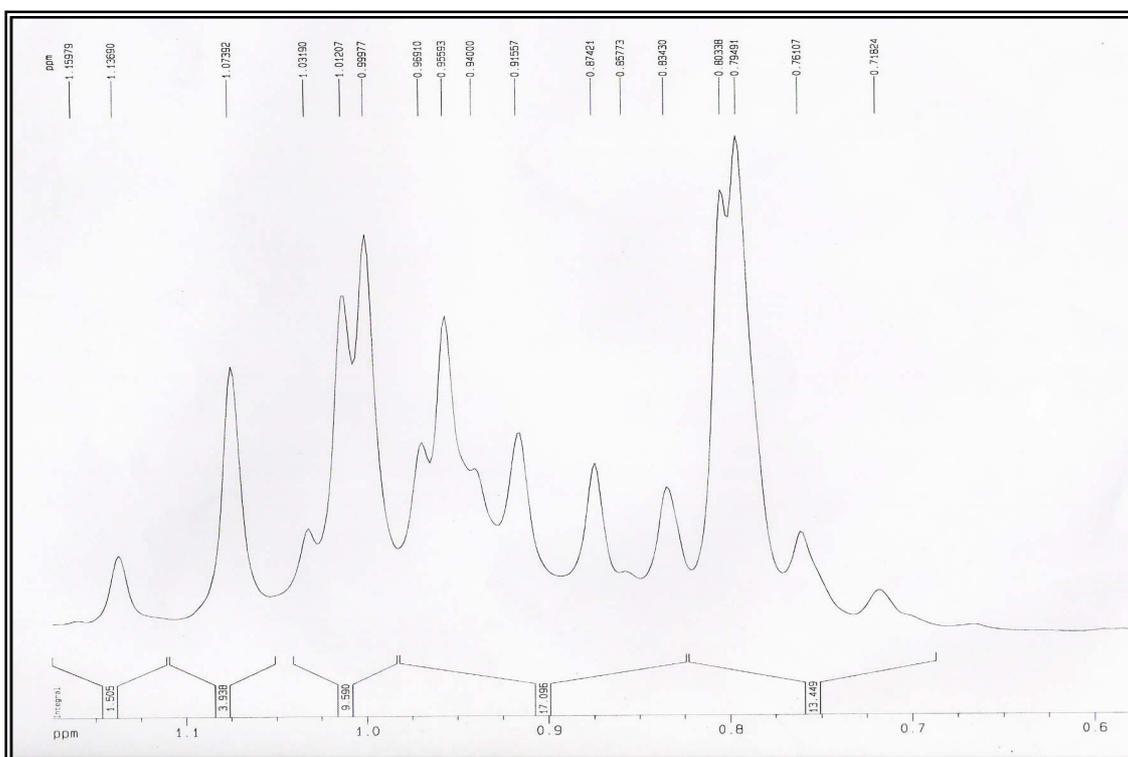


Figura 55 – Expansão do espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) de SMF6

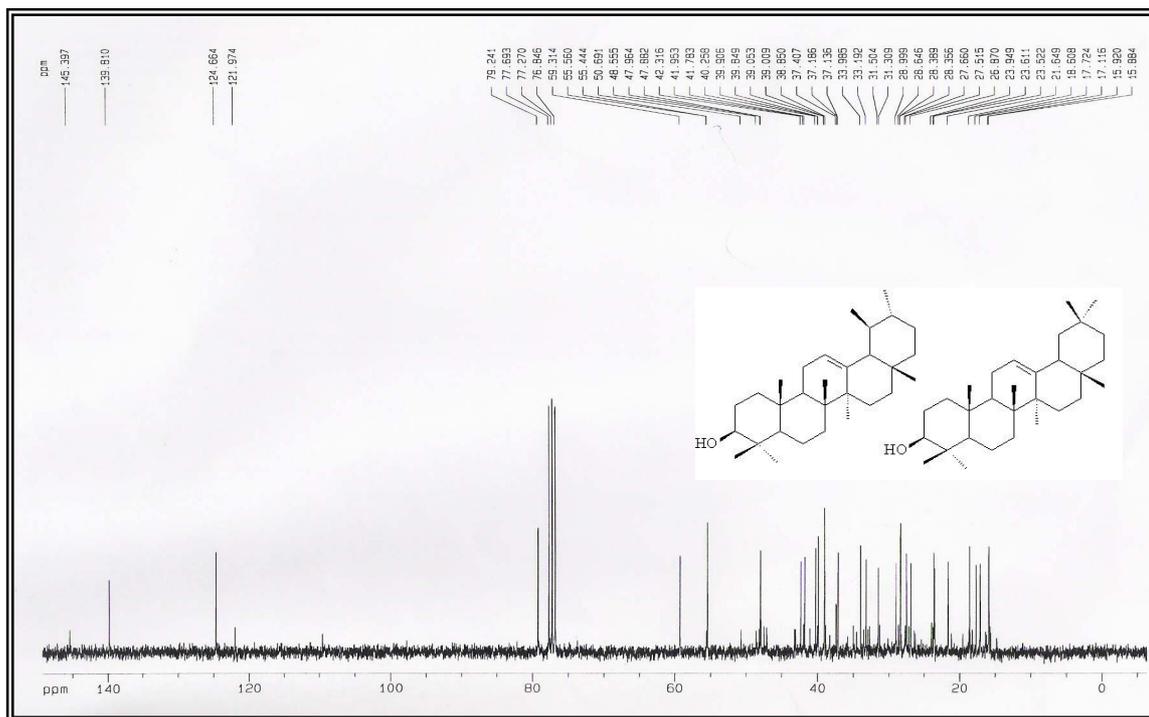


Figura 56 - Espectro de RMN ^{13}C -BB [CDCl_3 , 125 MHz] de SMF6

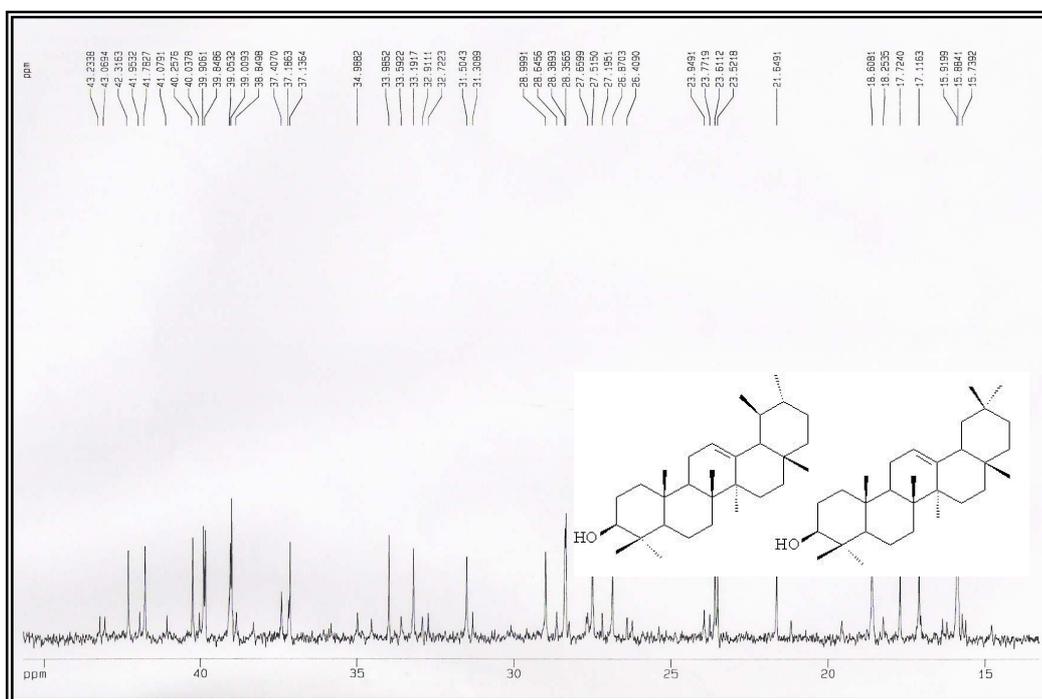


Figura 57 - Espectro de RMN ^{13}C -BB [CDCl_3 , 125 MHz] de SMF6, expansão

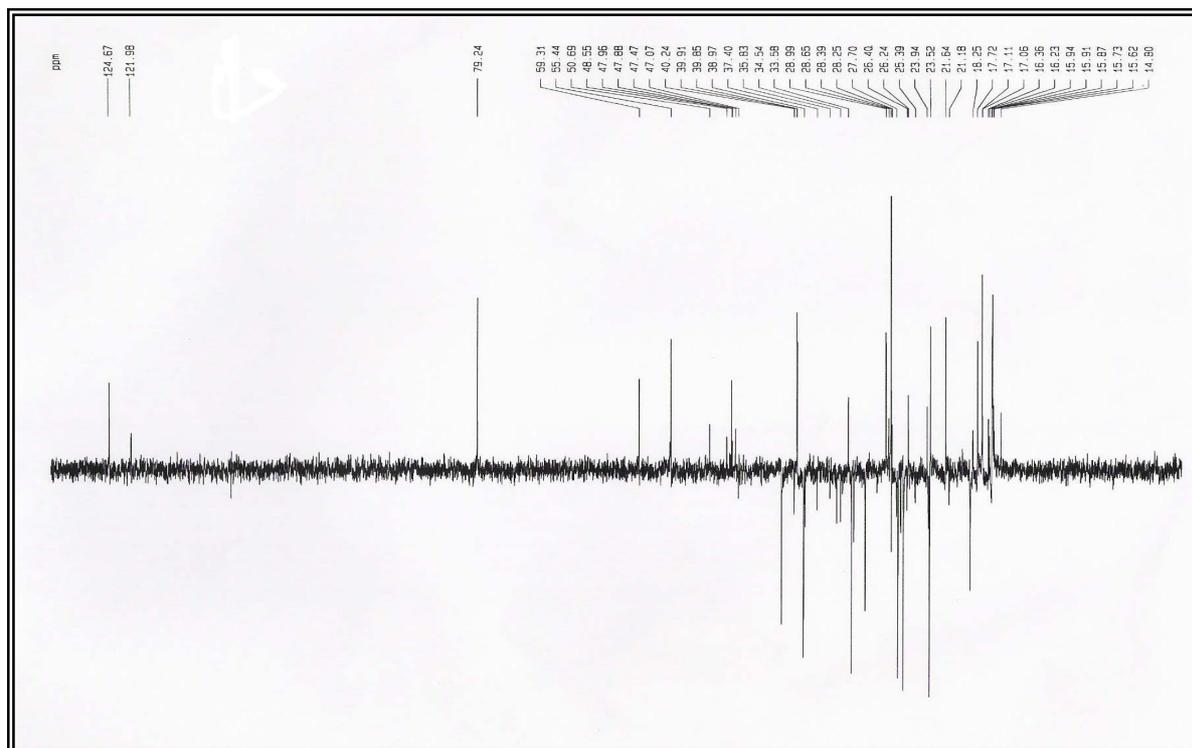


Figura 58 - Espectro de RMN ¹³C-BB-DEPT 135° de SMF6

6. Comparação de perfis metabólicos de *Senna* spp através de CLAE-DAD

A metodologia utilizada na pesquisa de novos compostos bioativos ou de novas atividades para compostos já conhecidos, tem sido modificada com o crescente desenvolvimento de técnicas analíticas, como a cromatografia, e com o aperfeiçoamento da análise espectroscópica. O entendimento dos mecanismos das enfermidades tem incorporado ensaios com enzimas, proteínas, receptores permitindo o desenvolvimento rápido e cada vez mais eficiente de novos fármacos.

Uma técnica introduzida nos anos 90, a desreplicação, trata do processo de triagem (screening) de extratos brutos, de modo a identificar, com o auxílio de padrões, substâncias presentes nestes extratos, ou de negativar a presença destes padrões. Técnicas de desreplicação são então continuamente desenvolvidas visando encontrar substâncias bioativas estruturalmente inéditas, ou estabelecendo marcadores químicos para espécies, gêneros, principalmente de plantas (Fig 5).

As metodologias utilizadas nesta técnica incluem as várias modalidades de técnicas cromatográficas acopladas, as quais são importantes ferramentas para a análise preliminar de extratos, notadamente cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Bancos de dados *in house* ou comerciais, são incorporados as metodologias cromatográficas para a obtenção de perfis metabólitos moleculares. O uso de sistemas multi hifenados, tais como LC-PDA-MS, LC-SPE-RMN, LC-MS/MS, HPLC-PDA-MS-SPE-NMR também são utilizados [Staerk, 2009; Lang, 2008].

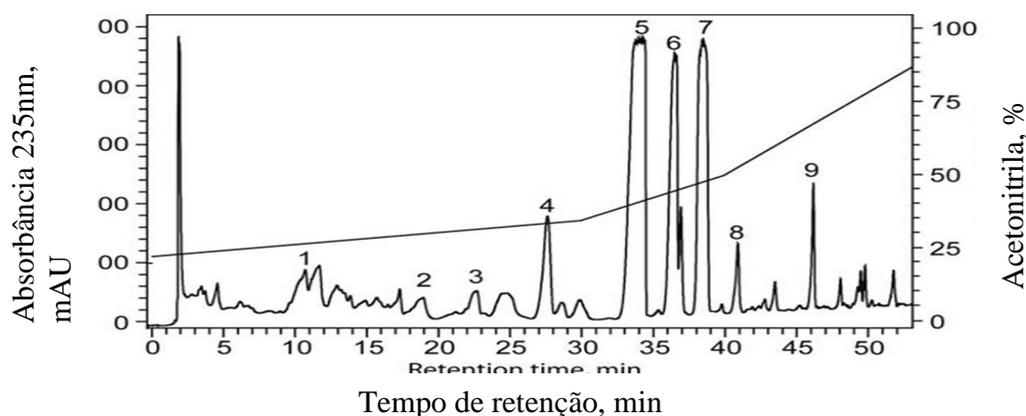


Figura 59. Perfil em CLAE do extrato das partes aéreas de *Haplodium acutifolium* onde 9 alcaloides foram identificados através de experimentos HPLC–PDA–MS–SPE–NMR [Staerk, 2009]

A desrepliação foi aplicada através da utilização da técnica cromatográfica CLAE em uma coluna de fase reversa e detector de arranjo de diodos UV-VIS (CLAE-DAD), para avaliar preliminarmente a composição química do extrato aceto-metanólico das folhas de vinte espécies de *Senna* (*S. cana*, *S. chrysocapa*, *S. hirsuta*, *S. pilifera*, *S. martianina*, *S. cearensis*, *S. alata*, *S. splendida*, *S. macranthera*, *S. reticulata*, *S. obtusifolia*, *S. aversiflora*, *S. sylvestris*, *S. trachypus*, *S. spectabilis* (var. *excelsa*), *S. pendula*, *S. velutina*, *S. harleyi*, *S. neglecta* e *S. rugosa*) coletadas no Nordeste do Brasil e seus perfis metabólicos comparados.

6.1-Desreplicação de metabólitos espécies de *Senna*

Os cromatogramas obtidos para os extratos das folhas das espécies supracitadas foram comparados com uma espectroteca de padrões, cujos dados podem ser vistos na **Tabela 17, p. 104** e cromatogramas de quatro antraquinonas utilizadas como padrões, na **Figura 60. p. 103** . Os cromatogramas das 20 espécies de *Senna* se encontram na **Figura 61, p. 109** .

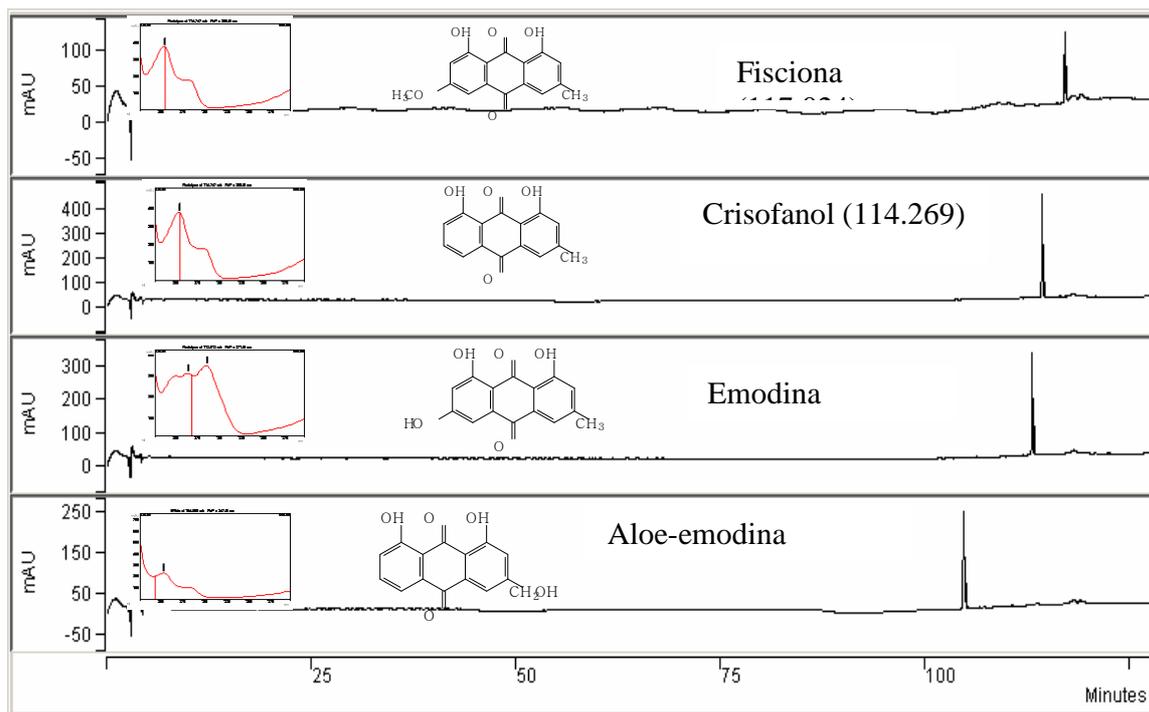


Figura 60- Espectro na região do UV e cromatograma de padrões de antraquinonas isoladas de *Senna martiana*

Tabela 17 - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence.

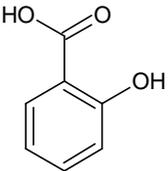
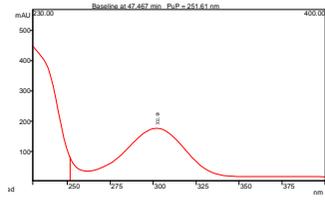
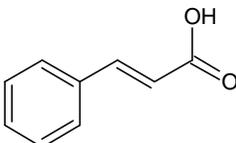
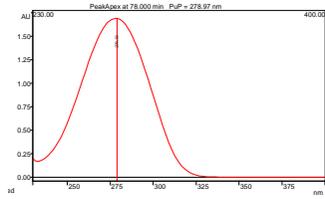
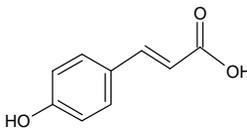
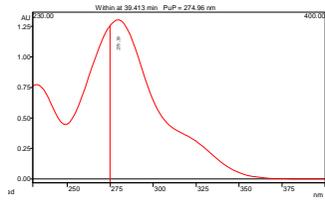
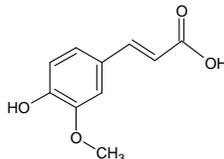
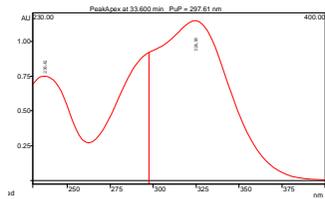
TR (C18)	Nome	Estrutura	UV	PuP	Classe
47.36	Ácido salicílico			253.44	Ácido benzóico
78.00	Ácido cinâmico			279.05	Ácido cinâmico
39.41	Ácido cumárico			274.93	Ácido cinâmico
33.60	Ácido ferúlico			297.71	Ácido cinâmico

Tabela 17 (Cont.) - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence.

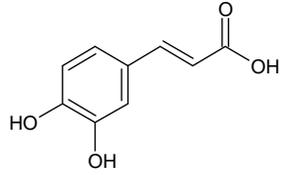
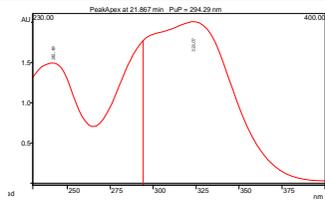
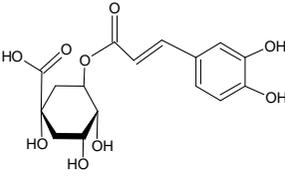
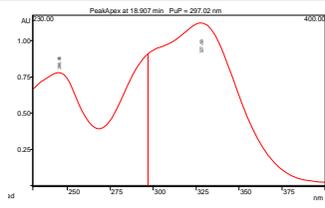
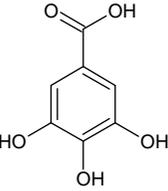
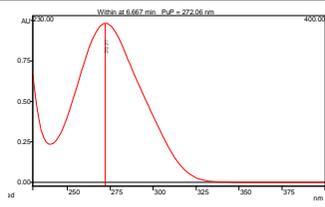
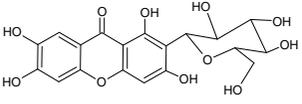
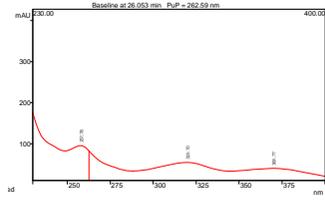
21.87	Ácido caféico			294.85	Ácido cinâmico
18.91	Ácido clorogênico			297.82	Ácido cinâmico
6.67	Ácido gálico			272.13	Ácido gálico
26.05	Mangiferina			269.25	Xantona

Tabela 17 (Cont.) - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence.

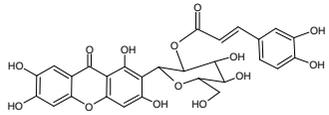
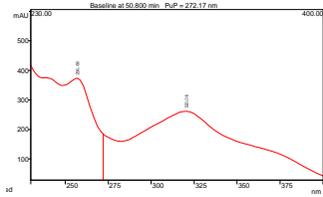
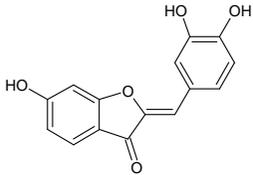
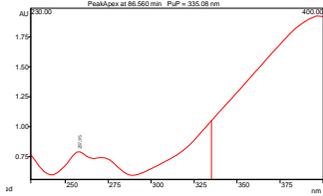
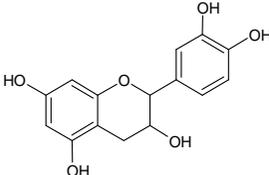
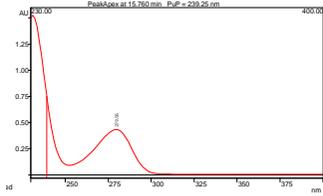
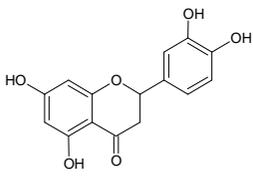
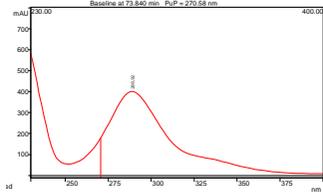
50.80	Cafeoil Mangiferina			275.26	Xantona
83.57	Sulfuretina			336.03	Aurona
15.73	Catequina			239.03	Catequina
73.84	Eriodictiol			276.39	Flavonoide (flavanona)

Tabela 17 (Cont.) - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence.

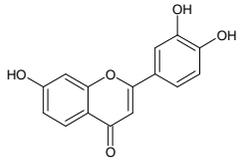
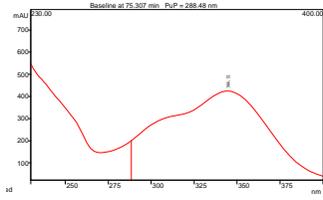
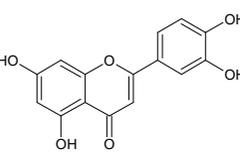
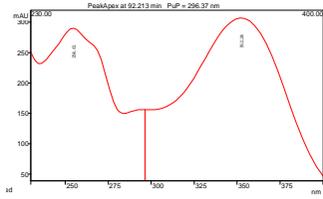
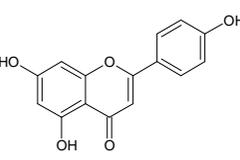
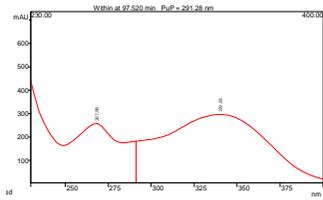
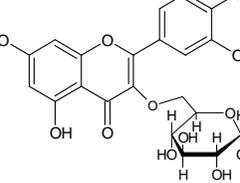
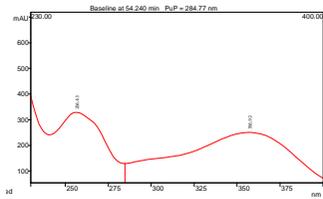
75.28	3,4,7-Triidroxiflavona			293.74	Flavonoide (flavona)
92.21	Luteolina			296.50	Flavonoide (flavona)
97.52	Apigenina			303.64	Flavonoide (flavona)
54.24	Hiperosídeo			291.67	Flavonoide (flavonol)

Tabela 17 (Cont.) - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence.

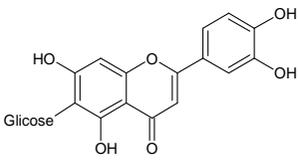
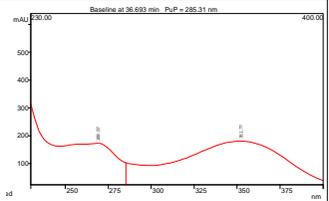
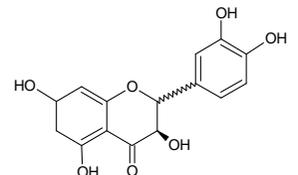
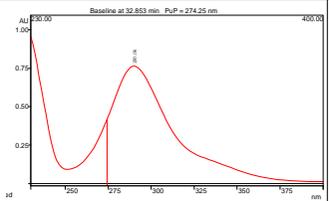
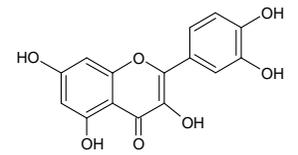
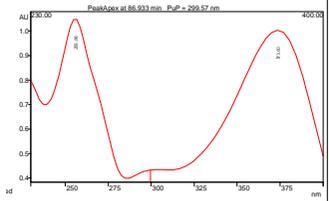
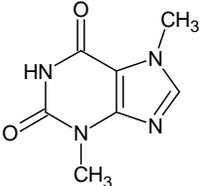
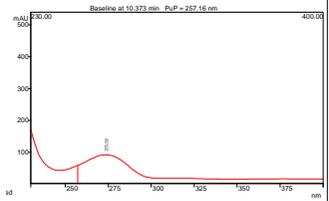
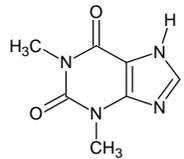
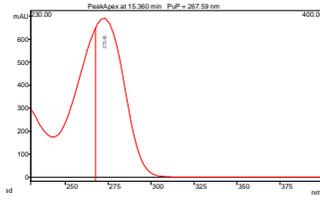
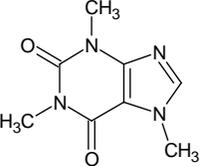
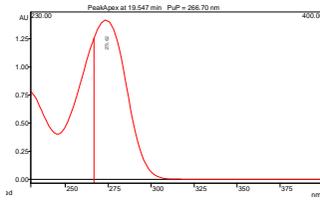
36.72	Homoorientina			295.27	Flavonoide (flavonol)
32.88	(+)-Taxifolina			276.94	Flavonóide (flavonol)
86.93	Quercetina			299.41	Flavonóide (flavonol)
10.37	Teobromina			268.68	Alcalóide purínico (xantina)

Tabela 17 (Cont.) - Padrões estudados, espectros na região do UV, Tempo de retenção (TR), Parâmetro de pureza do pico (PuP) e classe a qual o padrão pertence.

10.61	Teofilina			268.95	Alcalóide purínico (xantina)
19.55	Cafeína			266.75	Alcalóide purínico (xantina)

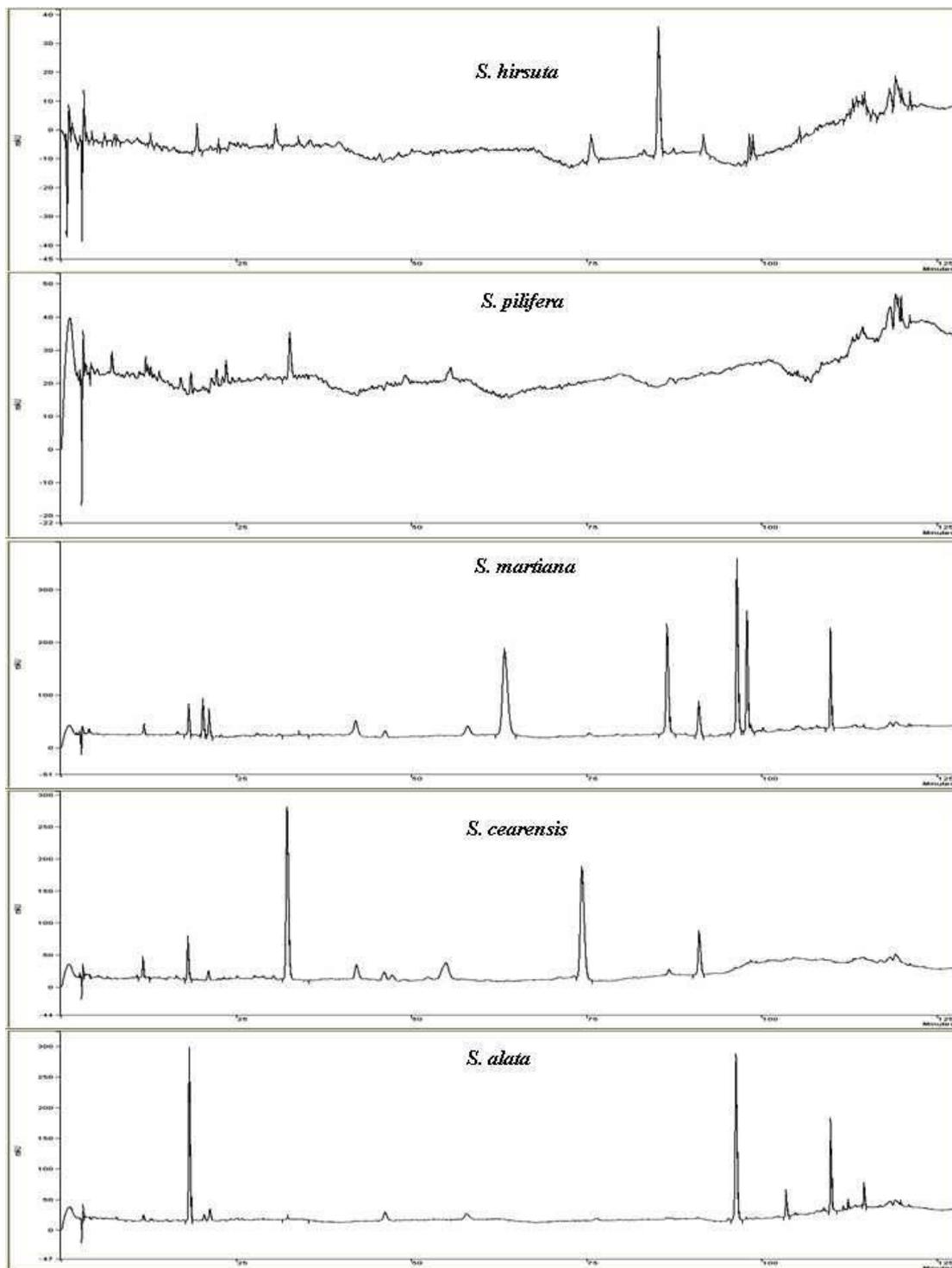


Figura 61 (Cont) - Cromatogramas (254 nm) obtidos em CLAE-C18 de extratos de folhas de espécies de *Senna*

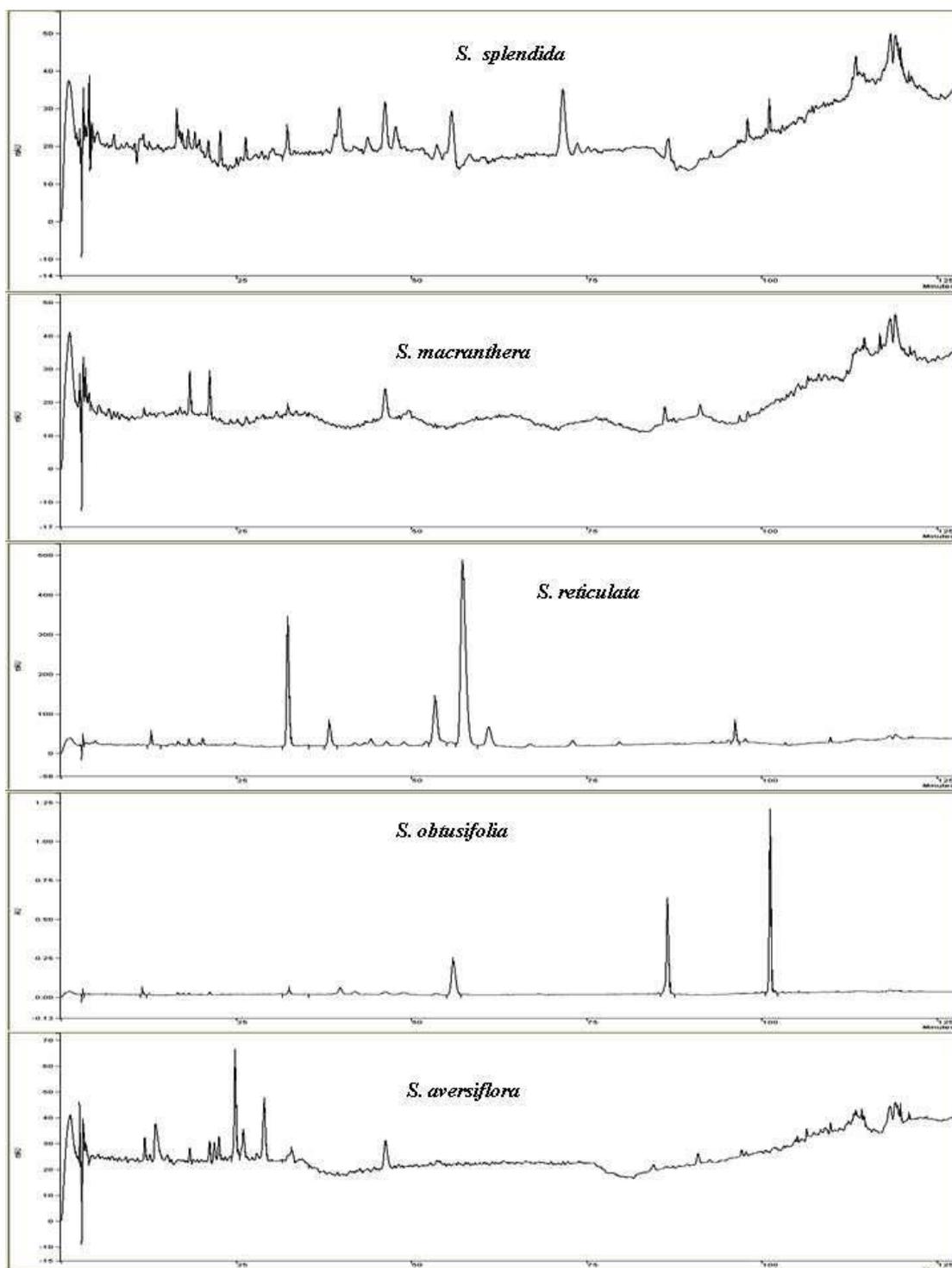


Figura 61 (Cont) - Cromatogramas (254 nm) obtidos em CLAE-C18 de extratos de folhas de espécies de *Senna*

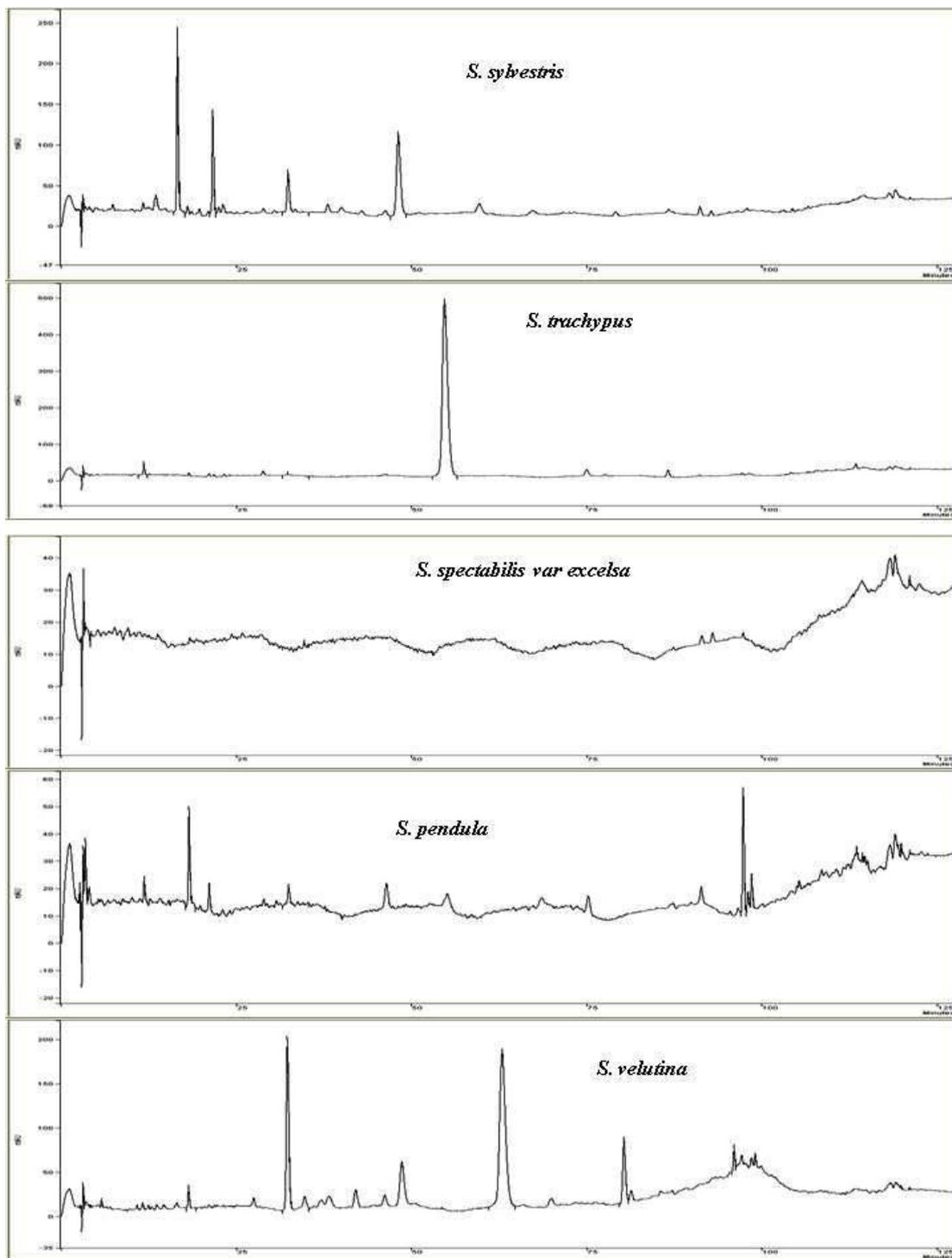


Figura 61 (Cont) - Cromatogramas (254 nm) obtidos em CLAE-C18 de extratos de folhas de espécies de *Senna*

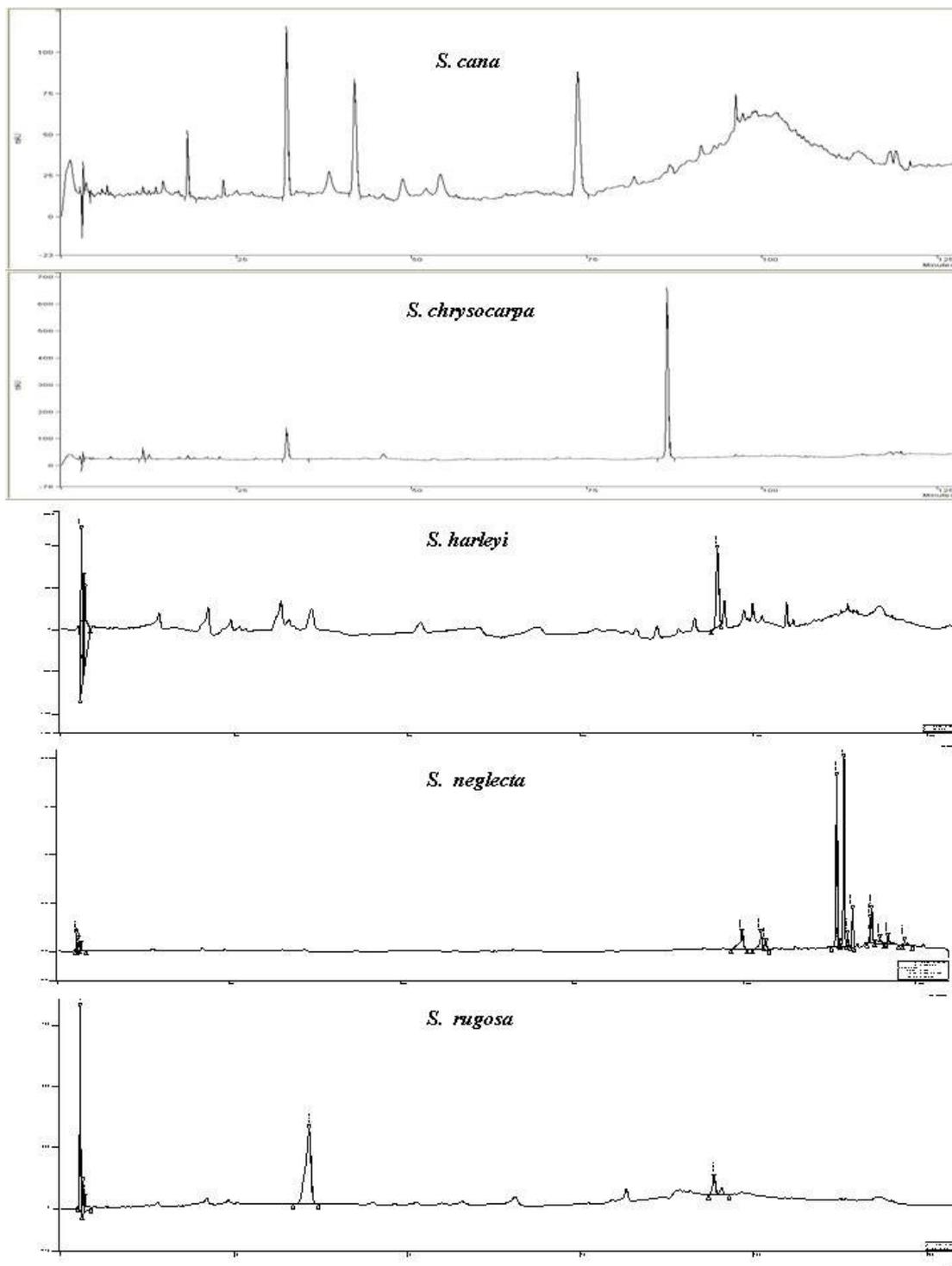


Figura 61 (Cont) - Cromatogramas (254 nm) obtidos em CLAE-C18 de extratos de folhas de espécies de *Senna*

Os tempos de retenção e espectros na região do UV dos diversos picos obtidos foram comparados através de análise multicomponente (MCA), com dados de uma biblioteca de padrões de metabólitos secundários, disponíveis no laboratório, preparada no mesmo equipamento. A análise por índice de similaridade (máximo de dissimilaridade = 0,30) foi realizada através do programa PolyView2000 Varian, Inc.. Os resultados forneceram principalmente o perfil qualitativo metabólico de flavonóides e antraquinonas, pois o trabalho é limitado pela espectroteca, devido a quantidade dos padrões ainda ser pequena. Dependendo do índice de similaridade entre os componentes encontrados, os dados indicam a presença do padrão ou a presença da classe de substância. Mesmo assim, foi possível verificar a ocorrência de inédita na literatura de quercetina (**25**) em *S. trachypus* e *S. martiana*, de luteolina (**112**) em *S. sylvestris*, *S. martiana* e *S. cearensis* e de ácido cafeico e, ácido clorogênico em *S. sylvestris* e de crisofanol, aloe-emodina, emodina e fisciona para *S. neglecta*. Os dados também corroboraram com a presença já descrita na literatura de crisofanol (**1**) e aloe-emodina (**4**) para *S. alata*, *S. martiana*, *S. reticulata* e *S. cearensis*.

Tabela 18. Identificação para os picos principais dos cromatogramas dos extratos das espécies de *Senna*

Substâncias identificadas	t _R (min)	Espécie
Ác. clorogênico	7,33	<i>S. sylvestris</i>
Teofilina	16,55	-
Ác. cafeico	21,60	<i>S. sylvestris</i>
Cafeoil derivado	33,33	<i>S. sylvestris</i>
Homo-orientina	34,67	<i>S. velutina</i>
Antraquinona	38,25	<i>S. reticulata</i>
Antraquinona	53,33	<i>S. reticulata</i>
Hiperosideo	54,64	<i>S. trachypus, S. cearensis</i>
Flavonol glic (ag-quercetina)	57,24	<i>S. reticulata</i>
Flavona glic (ag -apigenina)	62,85	<i>S. velutina</i>
Flavonol glic (ag-querceteina)	63,24	<i>S. martiana</i>
Flavonol glic (ag-apigenina)	74,26	<i>S. cearensis</i>
Flavonol glic (ag-apigenina)	80,24	<i>S. velutina</i>
Quercetina	86,40	<i>S. trachypus, S. martiana</i>
Luteolina	90,93	<i>S. sylvestris, S. martiana, S. cearensis</i>
Flavonol	96,12	<i>S. reticulata</i>
Flavonol	96,21	<i>S. alata</i>
Flavonol	96,37	<i>S. martiana</i>
Flavonol	97,79	<i>S. martiana</i>
Aloe-emodina	103,4	<i>S. alata, S. reticulata, S. neglecta</i>
Antraquinona	109,7	<i>S. alata, S. martiana</i>
Emodina	113,1	<i>S. neglecta</i>
Crisofanol	114,8	<i>S. alata, S. martiana, S. reticulata, S. cearensis, S. neglecta</i>
Fisciona	117,0	<i>S. neglecta</i>

A aplicação da técnica de desreplicação foi realizada no laboratório de produtos naturais da Unesp, sob a supervisão do Prof. Dr. Alberto Craveiro. Esta técnica permitiu a partir do conhecimento prévio do perfil metabólico das espécies investigadas, direcionar o estudo para classes de compostos importantes, ou até para extração seletiva de um único composto potencialmente útil, com ganho de tempo.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1- Material botânico

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

O material utilizado para o estudo químico de *S. martiana*, flores, folhas, frutos, caule e raízes, foram coletadas na região da Chapada do Apodi, pelos professores Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica e Maria Goretti de Vasconcelos Silva do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará.

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

7.2- Métodos Cromatográficos

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

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

A revelação das substâncias nas cromatoplasmas foi realizada utilizando-se métodos físicos: exposição à radiação de luz ultravioleta (UV) em dois comprimentos de ondas 312 nm e 365 nm

obtidos em lâmpada modelo UVLS-28 da *Sovereign Computer Systems*; e também por métodos químicos: com vapores de iodo granulado e pela pulverização com solução de vanilina ($C_8H_8O_3$) e ácido perclórico ($HClO_4$) 10% em etanol P.A., seguido de aquecimento em estufa a 100° C durante 5 min.

7.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi realizada em aparelho Waters-1525, constituído de uma bomba binária e um detector UV PDA Waters-2996 a 254 nm. As separações foram efetuadas em colunas XTerra® RP-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) e XTerra® RP-18 (10 x 250 mm, 10 µm), mantidas num forno termostático a 35°C. As amostras foram eluídas com MeOH/H₂O, adotando-se fluxos de 1mL/min (coluna analítica) e 5 mL/min (coluna semi-preparativa).

Os solventes empregados apresentavam grau HPLC (MeOH e H₂O-Milli-Q) e foram adequadamente filtrados através de membranas de nylon com poros de 0,45 µm (Phenomenex) e degaseificados por sonicação a vácuo durante 10-15 min. As amostras foram dissolvidas nas fases móveis empregadas em cada análise e filtradas através de membranas de teflon com poros de 0,45 µm (Waters).

Para a realização da comparação de perfis metabólicos de *Senna* spp através de CLAE-DAD, foram utilizadas as condições abaixo descritas. Estes experimentos foram realizados no Instituto de Química da UNESP-(Araraquara).

Equipamento: CLAE-DAD. Cromatógrafo líquido de alta eficiência analítico – Cromatógrafo líquido Varian, Pro star 240, detector de arranjo de diodos UV-VIS modelo Pro star 330, injetor automático modelo 410, e aquisição de dados via computador tipo Pentium III 550 MHz, utilizando software Star Chromatography Workstation, versão 5.31, e PolyView 2000 v. 5.5 (tratamento de dados espectrais). Coluna: Phenomenex Luna C18 (250 x 4,6 mm – 5 mm), solventes: A (Água+ 0,5 % HOAc) , B (MeOH + 0,5 % HOAc), Vazão: 1,0 mL/min, detecção: UV – DAD (230 – 400 nm), volume injeção: 10 µL.

7.3 - Técnicas espectroscópicas

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

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

Na dissolução das amostras foram utilizados os seguintes solventes: clorofórmio deuterado (CDCl_3) e piridina deuterada ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e referenciados, no caso dos espectros de RMN ^1H , pelos picos dos hidrogênios pertencentes as moléculas residuais não deuteradas dos solventes deuterados utilizados: clorofórmio (δ 7,27), piridina (δ 8,7; 7,6 e 7,2). Para os espectros de RMN ^{13}C , os deslocamentos químicos (δ) foram referenciados pelos picos dos carbonos-13 dos solventes: clorofórmio (δ 77,0) e piridina (δ 123,5; 135,5 e 149,2).

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

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

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

7.3.2- Espectrometria de massas (EM)

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

7.3.3 - Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

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

7.3.4 - Ponto de fusão (pf)

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

7.4. Comparação de perfis metabólicos de *Senna spp* através de CLAE-DAD

7.4.1. Preparação dos extratos.

O material vegetal seco (folhas, 200 mg), foi submetido a extração com uma solução Acetona/MeOH 20%, que foi deixado a temperatura ambiente por 2 horas seguido por sonicação por 15 min.

7.4.2. Preparação das amostras.

Padrões. Substâncias puras ou com grau de pureza satisfatório foram diluídas em MeOH/Água 1:1 (v/v), numa concentração de cerca de 1 mg/mL e filtradas em membrana 0,22 µm. Para os extratos, cerca de 20-50 mg de extratos foram submetidos a extração líquido-líquido segundo método descrito por Nehme e colabs (2002). Resumidamente: a amostra de extrato é solubilizada em 3 mL de hexano e sonicada por 30 min. A seguir são adicionados 3 mL de MeOH/HOAc 10% 1:1 e mais 30 min. de sonicação, seguida por centrifugação por 10 min. Da fase hidro-alcoólica inferior é retirado cuidadosamente cerca de 1,0 mL, filtrado em membrana 0,22 µm e analisado em CLAE.

7.5 - Obtenção dos extratos etanólicos das inflorescências e raíz de *Senna martiana*.

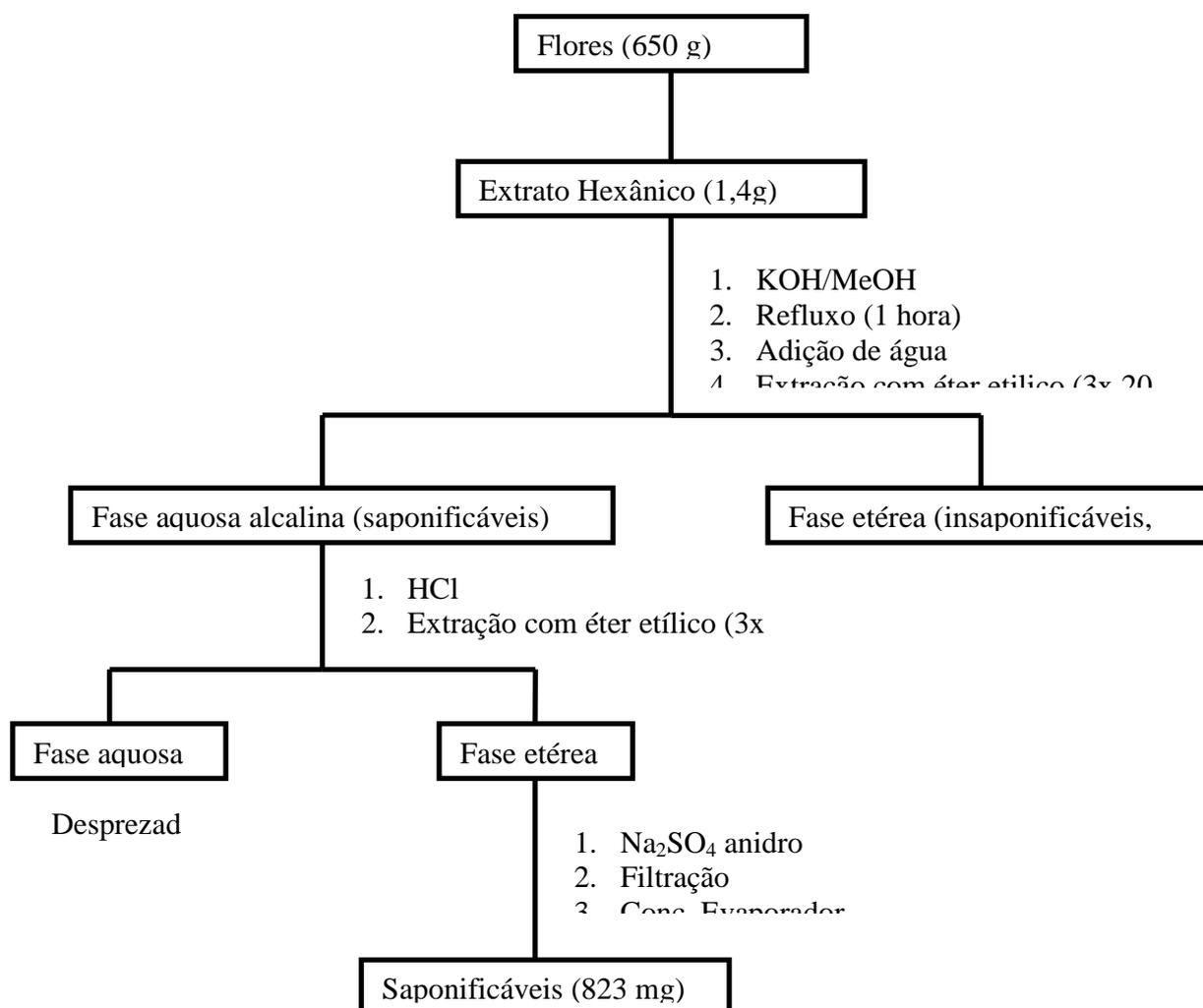
As inflorescências e raízes após a coleta foram trituradas mecanicamente e extraídas exaustivamente com etanol a temperatura ambiente, onde para a obtenção de cada extrato a torta foi desprezada. Os extratos etanólicos foram concentrados em evaporador rotativo. Os resultados estão mostrados na tabela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

Tabela 19 – Obtenção dos extratos etanólicos das flores e raízes de *Senna martiana*.

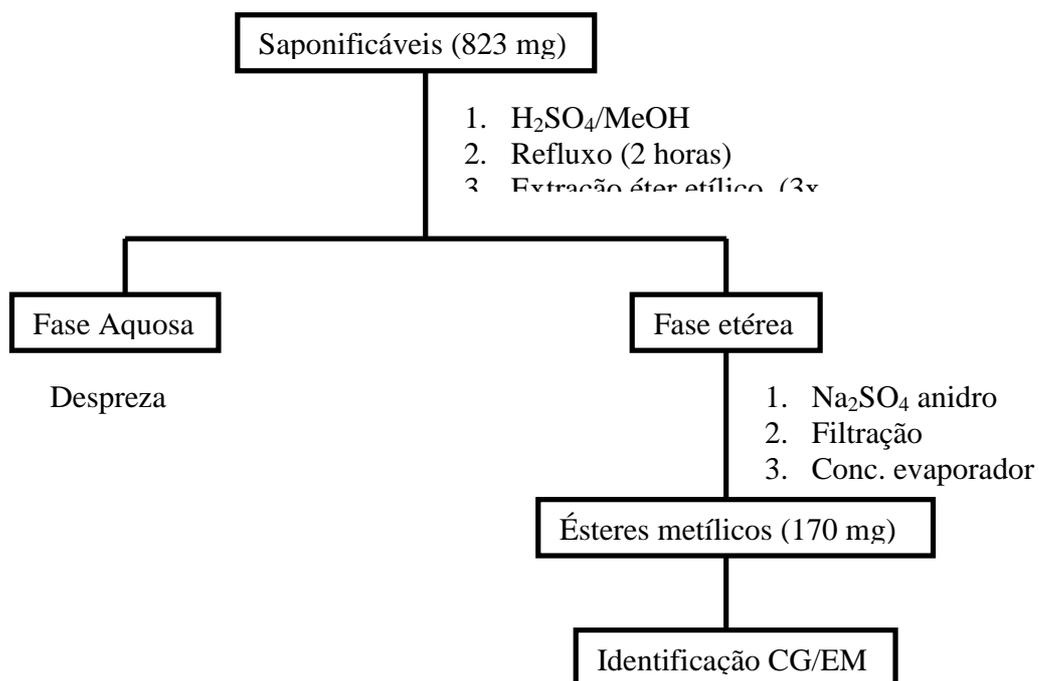
Material	Peso (g)	Umidade (%)	Extrato	Peso (g)	Aspecto
Flores	650	60,1	SMFl	26,02	Marrom pastoso escuro
Raíz	1555	34,3	SMR	134,00	Marrom pastoso escuro

7.6 - Estudo dos constituintes fixos das flores de *Senna martiana*

As flores (690 g) foram submetidas a extração com hexano à temperatura ambiente e o extrato foi concentrado em evaporador rotativo, produzindo 900 mg de óleo fixo para análise dos ácidos graxos através dos seus ésteres metílicos. O procedimento para obtenção do material saponificável seguido de sua esterificação está resumido nos **Fluxogramas 1 e 2** abaixo.



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



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

7.6.1 - Estudo dos ésteres metílicos dos ácidos graxos das Flores de *Senna martiana*

Após a reação de metilação do extrato hexânico das flores de *S. martiana*, os respectivos ésteres metílicos foram analisados através de CG-EM. Os resultados obtidos foram resumidos na tabela abaixo.

Tabela 20 - Ésteres metílicos obtidos do extrato hexânico das flores de *S. martiana*

Ésteres metílicos	Fórmula molecular	Composição %
Tetradecanoato de metila	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1,0
10-undecenoato de metila	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	1,0
9-cis-octadecenoato de metila	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	1,8
Palmitato de metila	C₁₇H₃₄O₂	64,0
Pentadecanoato de metila	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	9,2
Tetradecanoato de etila	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1,0
9,12-octadecadienoato de metila	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	10,2
9-hexadecenoato de metila	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	4,2
Octadecanoato de metila	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	5,7
Total	-	98,1

7.6.2. Isolamento de SMF5 a partir do extrato hexânico das flores

O extrato hexânico das flores após ser submetido a reação de saponificação, produziu uma fração contendo material insaponificável (SMF, 403 mg), este foi submetido a diversos tratamentos cromatográficos em coluna aberta, utilizando como fase fixa sílica gel, e como eluentes, hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em combinações binárias.

403 mg de SMF5, foi cromatografado utilizando 80 mg de sílica gel como fase fixa, e como eluentes, hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, puros ou em combinações binárias, de forma a produzir 23 frações, que após análise por CCD, foram reunidas como mostrado na **Tabela 22, p 124**.

Tabela 21 – Fracionamento cromatográfico de SMF

Fração	Peso (g)
SMF1 (1-5)	0,032
SMF2 (6-9)	0,051
SMF3 (10-15)	0,073
SMF5 (16-19)	0,064
SMF6 (20-23)	0,080
Total	0,3
Rendimento	74,4%

A fração SMF5, mostrou-se como um sólido incolor em formas de agulhas, com uma faixa de fusão 140,0-142,0 °C, que após análise dos seus dados espectrais, foi identificado como sendo a mistura de esteroides β -sitosterol e estigmasterol.

Como resultado desse tratamento de SMF, foi também possível isolar SMF6, o qual apresentou-se como um sólido branco em forma de agulhas com uma faixa de fusão de 178,4-180,0°C, que após análise dos seus dados espectrais foi identificado como uma mistura de dois triterpenos pentacíclicos monohidroxilados conhecidos na literatura como Urs-12-en-3 β -ol (α -amirina) e olean-12-en-3 β -ol (β -amirina).

7.7. Tratamento cromatográfico de SMR

O extrato etanólico das raízes de *S. martiana* (SMR, 54,0 g), foi cromatografado em coluna aberta usando como fase fixa 150 g de sílica gel recuperada, e como fase móvel, foi utilizado os solventes, hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol de forma pura. O resultado desse tratamento cromatográfico de SMR, encontra-se na **Tabela 22, p. 125**.

Tabela 22 – Tratamento cromatográfico de SMR

Fração	Peso (g)
SMRH (01-04)	1,7
SMRD (06-11)	7,9
SMRAC (12-16)	18,6
SMRM (17-19)	20,4
Total	48,6
Rendimento	97,2%

7.7.1. Isolamento de SMR3

A fração SMRH (1,67g) foi cromatografado em coluna aberta, utilizando 12 g de sílica gel e como fase móvel os solventes hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol de forma pura ou em combinações binárias. As frações obtidas foram reunidas segundo os resultado observados após análise das mesmas por CCD. O tratamento cromatográfico de SMRH, foi resumido na **Tabela 23**.

Tabela 23 – Tratamento cromatográfico de SMRH

Fração	Peso (g)
SMRH1 (01-06)	0,154
SMRH2 (07-12)	0,362
SMRH3 (13-18)	0,252
SMRH4 (18-22)	0,321
SMRH5 (22-26)	0,368
SMRH6 (26-31)	0,129
Total	1,59
Rendimento	95,2%

A fração SMRH3 foi então submetida a um outro tratamento cromatográfico, e após análise por CCD ela apresentou-se como duas manchas que ao serem eluídas com hexano/diclorometano (8:2) mostraram os Rf de 0,3 e 0,4. A fração SMRH3-7 (105 mg) foi então submetida a separação cromatográfica utilizando-se como técnica a cromatografia em placa preparativa. As placas foram previamente deixadas na estufa à 120°C por 10 min, a amostra foi dissolvida na menor quantidade de solvente (diclorometano). A observação da placa após ser eluída em hexano/diclorometano (8:2) apresentava-se de forma bastante resolvida, pois as faixas podiam ser vistas naturalmente apresentando uma distância, considerável (1,0 cm) entre elas, por este motivo não se fazia a necessidade de utilização de métodos físicos de revelação. Desta forma as faixas foram retiradas das placas por raspagem e deixadas em contato com diclorometano em um erlemayer por 30 min, em seguida a mistura foi filtrada e submetido a evaporação em evaporador rotativo à pressão reduzida. O tratamento de SMRH3-7 forneceu dois cristais, ambos em forma de agulhas, no entanto um amarelo com uma faixa de fusão de 205,8 – 206,2 °C e outro laranja apresentando como faixa de fusão 196,4 – 196,2 °C. Após serem separadas por placa preparativa as amostras foram denominadas SMR3 (83 mg) e SMR4 (16 mg), as quais após análise dos seus dados espectrais foram identificadas como crisofanol e fisciona, respectivamente.

7.7.2. Tratamento cromatográfico de SMRAC

A fração SMRAC, foi submetida a uma cromatografia líquido-líquido, onde 10 g do mesmo fo dissolvido em 100 mL de uma mistura de MeOH:H₂O (1:1). As fases líquidas utilizadas foram hexano, diclorometano e acetato de etila. Os resultados da partição podem ser resumidos na **Tabela 24, p. 127**.

Tabela 24 – Tratamento Cromatográfico de SMRAC

Fração	Peso (g)
SMRAC1	0,84
SMRAC2	4,36
SMRAC3	3,25
Total	8,50
Rendimento	84,5%

7.7.3. Fracionamento cromatográfico de SMRAC3

1,0 g da fração SMRAC3 foi dissolvida em 1,0 mL de metanol/H₂O (1:3) e submetida a análise por CLAE, utilizando coluna analítica X-terra de sílica ($\Phi = 1,0$ cm) e loop de 20 μ L. A análise preliminar sugeriu um método com resolução para separação cromatográfica, utilizando eluição isocrática com uma mistura isovolumétrica dos solventes hexano e acetato de etila, num fluxo de 1 mL/min. Este método analítico foi reproduzido em coluna semi-preparativa X-terra de sílica comum ($\Phi = 4,5$ cm), provida de um loop de 200 μ L, permitindo o isolamento de 3 metabólitos presentes na amostra. Desta forma, 20,0 mg da amostra foram diluídos em 1,0 mL de eluente (metanol/H₂O (1:3)) e a solução injetada na coluna em alíquotas de 200 μ L, sendo eluída com um fluxo de 4,0 mL/min. Foram coletadas 10 frações, correspondentes aos picos 1-10 do cromatograma (**Figura 62, p. 128**).

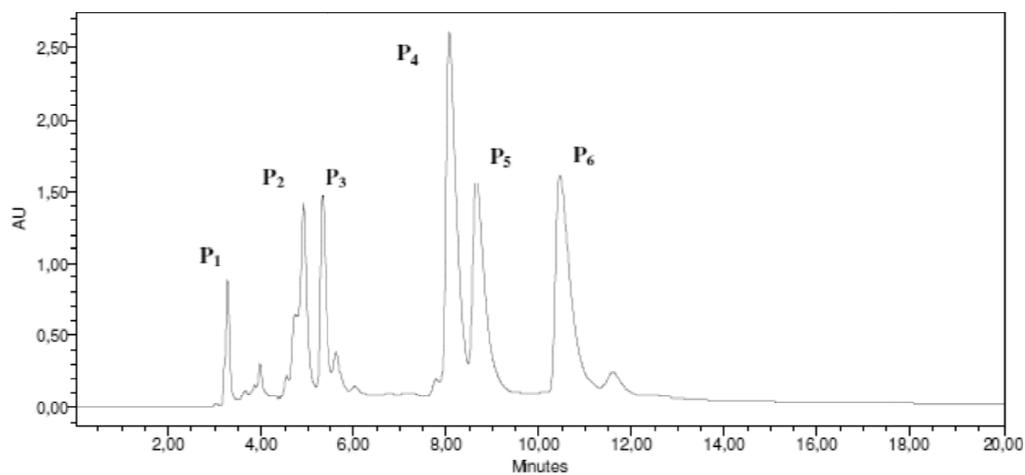


Figura 62. Cromatograma da fração SMRAC3, obtido por CLAE (256 nm)

Os picos 3 (SMRAC3), 4 (SMRAC4) e 5 (SMRAC5) foram caracterizados quimicamente por RMN, IV e EM, como derivados antrônicos.

8. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FARMACOLÓGICO DE *Senna martiana*

O potencial farmacológico de *S. martiana* foi avaliado através da atividade antioxidante e antitumoral dos extratos das várias partes da planta, e da atividade antiparasitária contra *Trypanosoma cruzi*, através de ensaio bioquímico frente a enzima GAPDH de quatro substâncias isoladas da planta em estudo.

8.1 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Senna martiana*

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

8.1.1 – Método DHBA

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

Desta forma é possível inserir no sistema uma substância que tenha um potencial antioxidante para ser avaliada. Portanto, se a referida substância conseguir competir com o ácido salicílico na captura das espécies radicalares ou inibir a oxidação da hipoxantina atuando sobre a enzima, menores quantidades de DHBA e ácido úrico serão formadas, indicando uma capacidade antioxidante para a substância testada. Este método pode ser resumido na **Figura 63, p. 131**.

8.1.2 – Preparação do ensaio

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

Os testes pelo método do DHBA foram realizados no German Cancer Center – Heidelberg-Alemanha pela Profa. Maria Teresa Sales Trevisan, cujos resultados encontram-se na **Tabela 25, p. 132**.

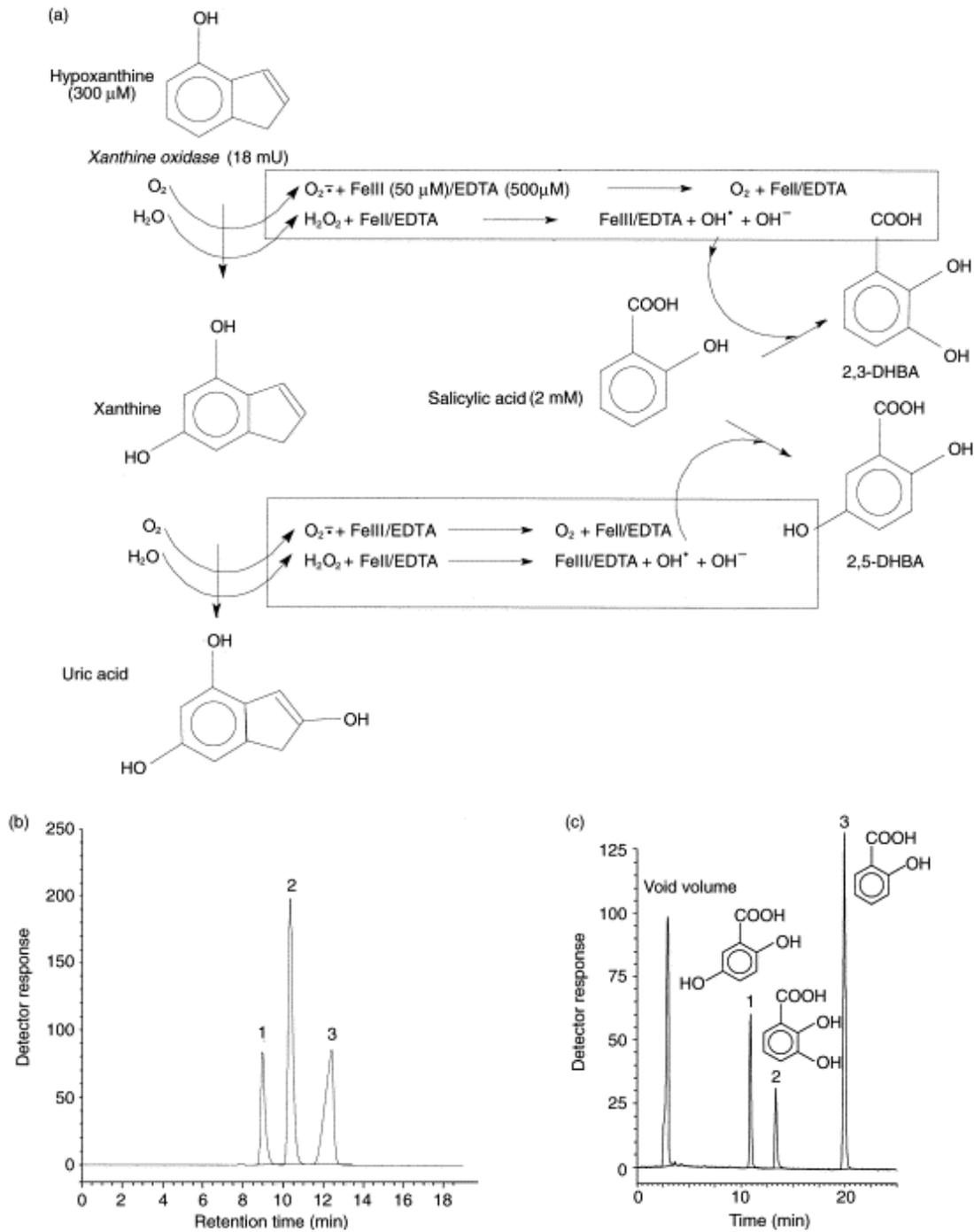
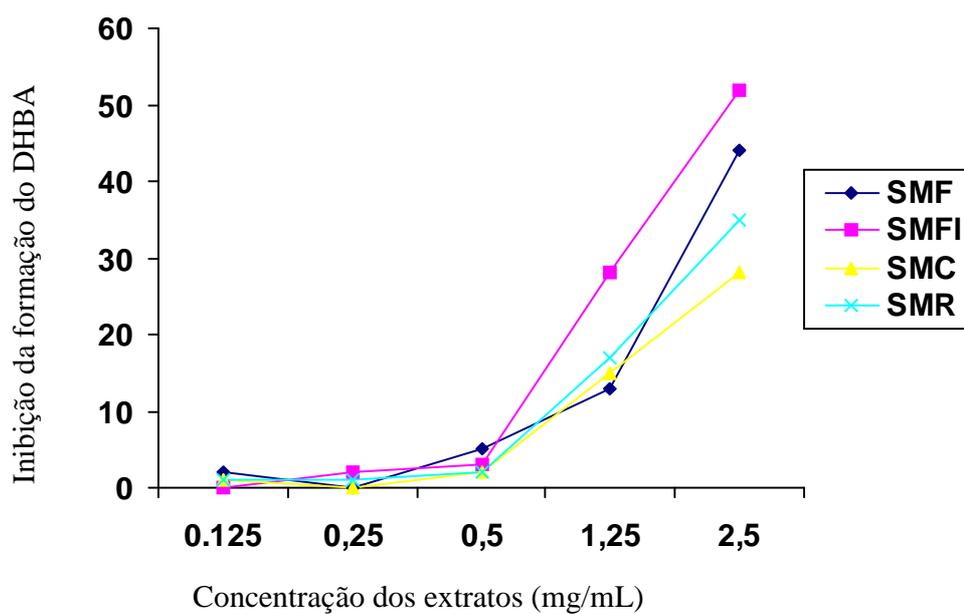


Figura 63 - Esquema para a geração de espécies reativas de oxigênio no sistema hipoxantina/xantina oxidase: (a) Reação; (b) Cromatograma do HPLC da Hipoxantina (1), dos produtos hidroxilados da xantina (2) e do ácido úrico (3); (c) ácido salicílico, 2,3-DHBA e 2,5-DHBA.

Tabela 25 - Porcentagem de inibição dos extratos estudados sobre ácido salicílico na formação do 2,3-DHBA e 2,5-DHBA (%)

Concentração do extrato (mg/mL)	<i>Senna martiana</i> (porcentagem de inibição)			
	Folhas (SMF)	Flores (SMFI)	Caule (SMC)	Raíz (SMR)
0,13	2	0	1	1
0,25	0	2	0	1
0,50	5	3	2	2
1,25	13	28	15	17
2,50	44	52	28	35

**Figura 64** – Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante de *Senna martiana* pelo método DHBA

8.1.3 – Método DPPH

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

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

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

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

Abs_{SUBST} = absorvância da substância após 300 minutos

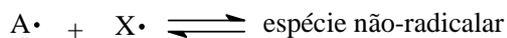
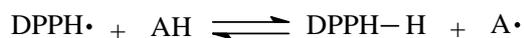
8.1.4 – Preparação do ensaio

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

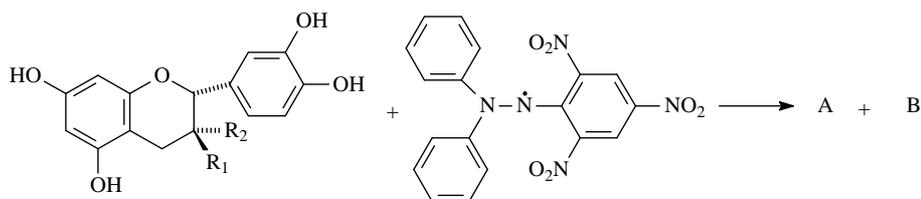
As Figuras 65, 66 e 67, p. 134, 135 e 135, propõem como uma substância que possui uma atividade antioxidante atua na captura do radical livre, exemplificando com a catequina ou epicatequina [SANG, 2002].

Figura 65 – Reação entre catequina e epicatequina com o radical livre DPPH [SANG, 2002].

Reação Geral:



Reação específica:



Catequina: R₁ = OH, R₂ = H

Epicatequina: R₁ = OH, R₂ = H

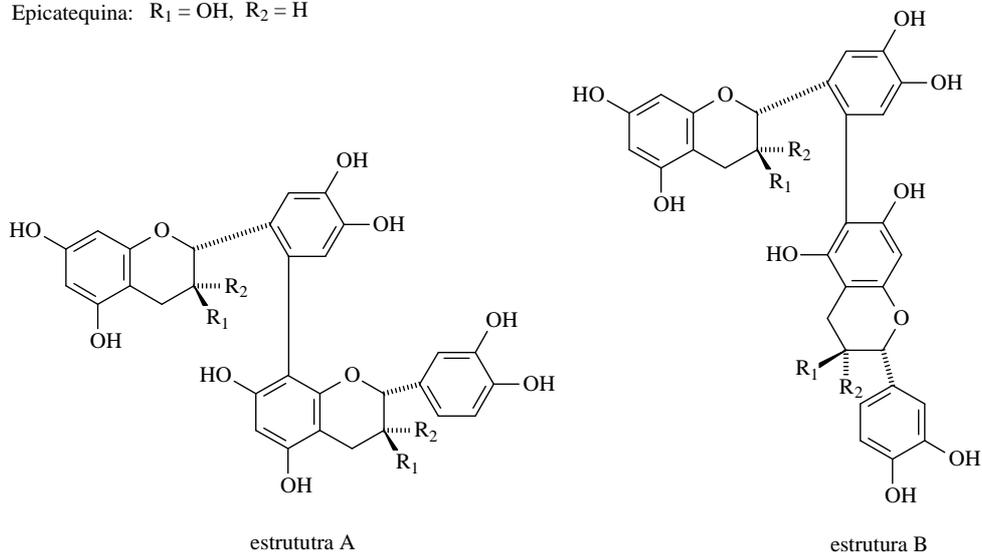


Figura 66 – Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto A [SANG, 2002].

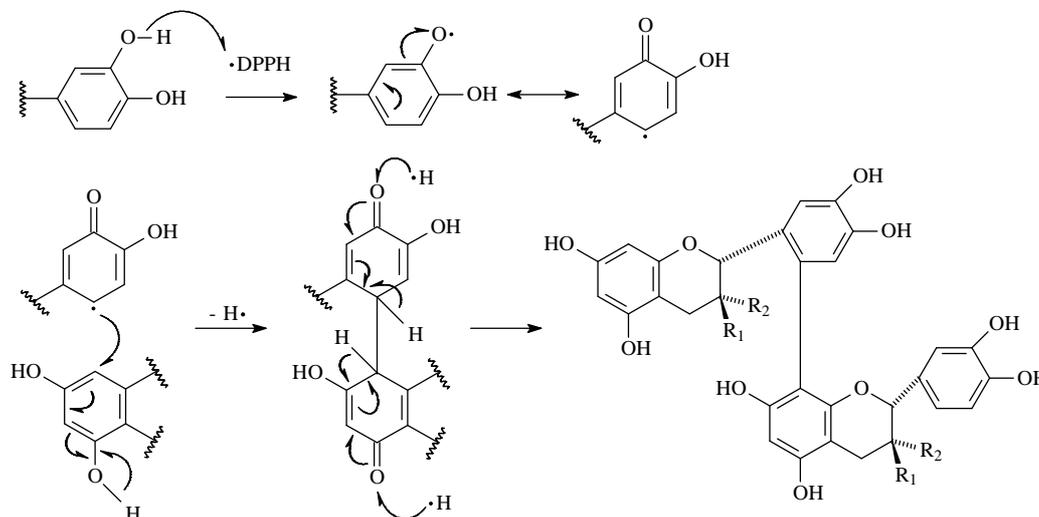
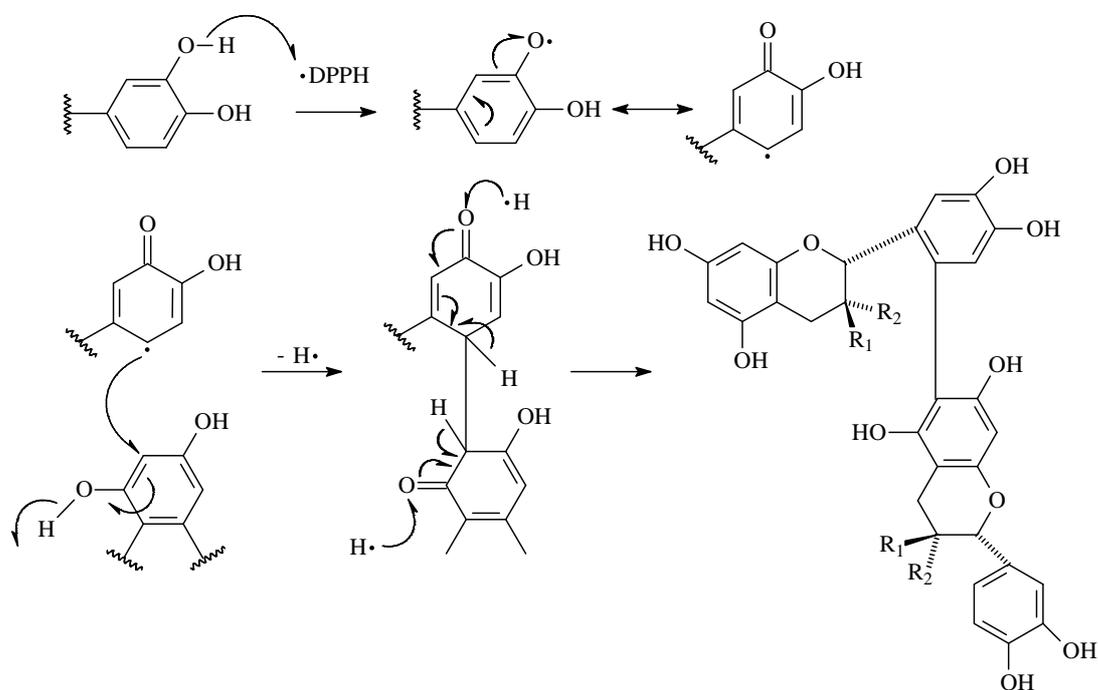


Figura 67 - Proposta mecanística da reação entre catequina ou epicatequina com o radical DPPH, para a formação do composto B [SANG, 2002].



Os ensaios realizados pelo método DPPH produziram os resultados que se encontram na **Tabela 26**, p. 136.

Tabela 26 – Avaliação do potencial sequestrador de radicais livres pela medida da absorvância dos extratos de *Senna martiana*

Tempo (min)	Absorvância			
	<i>Senna martiana</i>			
	Flores (SMFI)	Caule (SMC)	Folhas (SMF)	Raíz (SMR)
0	1,094	0,956	0,723	0,832
2	0,275	0,590	0,243	0,696
4	0,211	0,650	0,223	0,622
6	0,193	0,624	0,223	0,674
8	0,130	0,623	0,179	0,656
10	0,134	0,620	0,188	0,648
15	0,176	0,581	0,201	0,635
20	0,171	0,583	0,219	0,626
30	0,168	0,620	0,100	0,615
40	0,317	0,622	0,272	0,605
60	0,141	0,746	0,199	0,598
70	0,248	0,625	0,328	0,601
100	0,198	0,594	0,227	0,575
120	0,095	0,604	0,185	0,586
150	0,172	0,648	0,228	0,578
180	0,143	0,627	0,185	0,603
210	0,119	0,639	0,183	0,594
240	0,147	0,648	0,222	0,589
270	0,153	0,659	0,208	0,573
300	0,145	0,656	0,250	0,602
Índice de varredura (%)	96,1	27,0	37,7	32,3

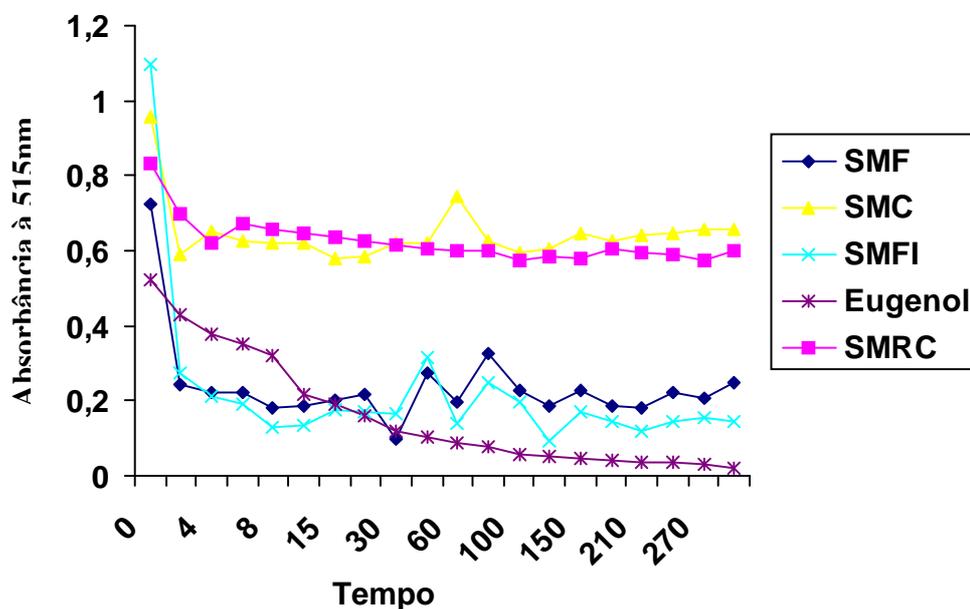


Figura 68 – Representação gráfica da avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH da espécie *Senna martiana*

Estes resultados demonstram que utilizando-se o método do DHBA o extrato hidroalcoólico das flores de *S. martiana* apresentou uma porcentagem de inibição da formação do DHBA (52,0 %), superior aos demais extratos. Quando o método empregado é do DPPH, o extrato etanólico das flores apresentou também o maior índice de varredura (96,1%), ou seja, é o extrato que possui a melhor capacidade sequestradora do radical livre DPPH, onde se pode compará-la a capacidade antioxidante. Através dos dados mostrados tanto nas **Tabelas 25 e 26, p. 132 e 135**, como também nos gráficos **Figuras 64 e 68, p. 132 e 137** observa-se que o extrato hidroalcoólico das flores de *S. martiana* apresenta significativo potencial antioxidante, chegando através do método do DPPH a se aproximar do padrão utilizado (eugenol).

8.2 – Estudo da atividade antitumoral de *Senna martiana*

Os extratos etanólicos das flores (EESMFL), folhas (EESMFO) e caule (EESMC) de *S. martiana* foram testados no Laboratório de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará, Departamento de Farmacologia para verificar a citotoxicidade *in vitro* das frações em quatro linhagens de células tumorais: HL-60 (leucemia), MDA-MB-435 (mama), HCT-8 (côlon) e PC-3 (prostata). Essa análise faz parte de um *screening* inicial para determinação do potencial antitumoral destas amostras.

A análise de citotoxicidade foi efetuada segundo o método MTT [Mosmann, 1983] que vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), e usa análise colorimétrica baseada na conversão do sal de MTT em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. Nesse método são selecionadas as frações com percentual de inibição do crescimento tumoral maior que 90 % sobre todas as linhagens utilizadas (GI% > 90 %). O ensaio produziu os resultados reportados na **Tabela 27**, que não atingiram o valor mínimo para serem considerados promissores.

Tabela 27 - Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) das amostras em três linhagens tumorais testadas na dose única de 25 µg/mL(fração). Valores são média ± DPM (Desvio Padrão da Média).

AMOSTRAS	HCT-8		HL-60		PC-3		MDA-MB-435	
	GI%	DPM	GI%	DPM	GI%	DPM	GI%	DPM
EESMFL	10,21	2,97	6,23	6,23	0,00	0,00	0,00	0,00
EESMFO	10,15	10,15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
EESMEC	15,57	7,84	37,71	2,03	0,00	0,00	0,00	0,00

8.3- Estudo da atividade inibitória de compostos antraquinônicos de *Senna martiana* frente a enzima glicolítica GAPDH de *Trypanosoma cruzi*

O *Trypanosoma cruzi*, parasito que causa a Doença de Chagas, é altamente dependente da glicólise como fonte de produção de ATP, de modo que compostos que inibem a via glicolítica são potenciais tripanossomicidas e esta grande dependência na glicólise como fonte de energia é que faz das enzimas da via glicolítica alvos importantes para o planejamento de substâncias tripanossomicidas. O mecanismo de reação da enzima (GAPDH) ocorre através do sítio catalítico essencial que é constituído por uma cisteína e vários estudos demonstram que a enzima (GAPDH) pode ser inibida por pequenas moléculas derivadas de produtos naturais. Os ensaios bioquímicos frente à enzima GAPDH de *Trypanosoma cruzi*, (**Figura 69**) foram realizados através de dois experimentos: calorimetria de Titulação Isotérmica (ITC) e por espectrofotometria de NADH formado a 340nm. Estes ensaios foram realizados no Laboratório de Química Medicinal – NEQUIMED, Instituto de Química de São Carlos- USP.

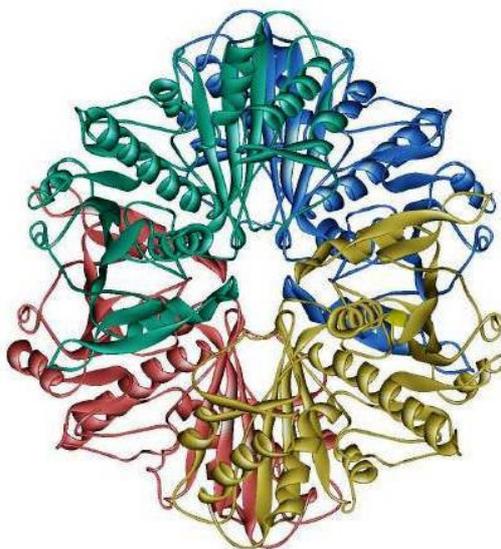


Figura 69- Estrutura quaternária da GAPDH de *Trypanosoma cruzi* (Fonte: PDB - Protein Data Bank)

Tabela 28. Resultados dos ensaios enzimáticos de inibição da enzima GAPDH de *Trypanosoma cruzi*

Composto	% Inibição*
Aloe-emodina (4)	0
Crisofanol (1)	5
Fisciona	7
Martianina (46)	64
Ki = 27.3 ± 2.47 μmol L ⁻¹ (ITC)	
INIBIDOR PADRÃO (100 μmol.L ⁻¹)	40

*Todos os compostos foram analisados em uma concentração padrão de 200 μmol.L⁻¹

A ITC é uma ferramenta interessante na identificação e otimização de compostos bioativos, pois além de fornecer parâmetros cinéticos da atividade enzimática (kcat, KM e Ki) e dá os parâmetros termodinâmicos de interação (DH, DG e DS) entre o alvo biomacromolecular e o composto bioativo, informação que reflete o potencial da atividade investigada. A medição da atividade enzimática da GAPDH, através da determinação espectrofotométrica baseia-se no aumento da absorvância à medida que o NAD⁺ é reduzido. Se a GAPDH for inibida, por exemplo por alguma substância, a absorvância diminui e esta diminuição é relacionada com o potencial da atividade.

O ensaio espectrofotométrico frente á enzima GAPDH_{Tc} revelou a falta de inibição para as antraquinonas aloe-emodina e crisofanol, tendo no entanto fornecido um resultado promissor para a martianina, superior ao padrão de referência utilizado no ensaio. A atividade tripanocida de martianina foi então avaliada através da obtenção de sua constante de inibição (Ki) determinada por titulação calorimétrica isotérmica (27,3 ± 2,47 μmol L⁻¹), que confirmou o resultado obtido por espectrofotometria. Estes dados sugerem que esta classe de molécula tem potencial no desenvolvimento de novos fármacos a serem utilizados contra a doença de Chagas.

9. CONCLUSÃO

Pesquisa na literatura sobre as 40 espécies de *Senna* coletadas em vários estados do Nordeste do Brasil, pela composição química estruturalmente diversificada, e potencial biofarmacológico, revelou um universo interessante a ser explorado na busca por biocompostos úteis. O estudo de comparação de perfis metabólicos de *Senna* spp, através de CLAE-DAD, permitiu verificar a ocorrência inédita na literatura de substâncias para espécies ainda sem nenhum estudo e também confirmou a presença de outras já descritas na literatura.

O estudo fitoquímico de *Senna martiana* possibilitou a identificação de duas antraquinonas já descritas na literatura, 1,8-diidroxi-3-metil-antraquinona (crisofanol) e 1,8-diidroxi-3-metil-6-metoxi-antraquinona (fisciona), bem como das antronas crisofanol-10,10'-il-10-oxi-10,10'-bi-1,5-anidroglicitol (martianina), isolada em estudo prévio do seu caule, e 10-hidroxiemodina-9-antrona-10R-C- β -D-glicosídeo (rumejaposideo E). O Tratamento das flores revelou a presença dos fitoesteróis β -sitosterol e estigmasterol, dos triterpenoides pentacíclicos urs-12-en-3 β -ol (α -amirina) e olean-12-en-3 β -ol (β -amirina). Com o estudo das raízes de *S. martiana* obteve-se as antronas, 10-hidroxiemodina-9-antrona-10R-C- β -6'-acetil-D-glicosídeo e 2,6,8,10-tetraidroxi-dibenzeno[b,e]oxepin-9-ona, estas inéditas na literatura.

Em relação ao potencial farmacológico, a espécie não mostrou um comportamento promissor, com exceção do extrato das flores que apresentou uma atividade sequestradora de radicais livres eficiente traduzida pelo índice de varredura de 96% na análise antioxidante pelo método DPPH. A atividade tripanocida de martianina, biantrona glicosilada, isolada do caule e da raiz de *S. martiana*, quando avaliada como inibidor da GAPDH apresentou um índice de inibição de 64%, sugerindo que esta classe de molécula tem potencial no desenvolvimento de novos fármacos a serem utilizados contra a doença de Chagas.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agbagwa, I. O.; Onofeghara, F. A.; Mensah, S. I.. Stimulation of growth and development of *Celosia argentea* L. by crude extracts of *Senna alata* (L.). **Roxb, J. Applied Sci. & Env. Man.**, 7(1): 9, 2003.

Agra, M. F.; Silva, K. N.; Basílio, I. J. L. D.; Freitas, P. F.; Barbosa-Filho, J. M.; Levantamento das plantas medicinais usadas na região Nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Farmacog.**, 18(3), 472, 2008.

Ahuja, A.; Parshad, R.; Kaushik, J. P.. Anthraquinones from callus cultures of *Cassia fistula*. **Fitoterapia**, 59(6), 496, 1988.

Al-Adhroey, A. H.; Nor, Z. M.; Al-Mekhlafi, H. M.; Mahmud, R.. Ethnobotanical study on some Malaysian anti-malarial plants: A community based survey. **J. Ethnopharmacol**, 132(1), 362, 2010.

Alemayehu, G.; Hailu, A.; Abegaz, B. M.. Bianthraquinones from *Senna didymobotrya*. **Phytochemistry**, 42(5), 1423, 1996.

Almeida, C. F. C. B. R.; Lima, S. T. C.; Amorim, E. L. C.; Maia, M. B. S.; Albuquerque, U. P.. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **J. Arid Env.**, 62(1), 127, 2005.

Barbosa, F. G.; Oliveira, M. C. F.; Braz-Filho, R.; Silveira, E. R.. Anthraquinones and naphthopyrones from *Senna rugosa*. **Biochem. Syst. Ecol.**, 32(3), 363, 2004.

Barbosa, M.; Pfister, J. A.; Gotardo, A. T.; Maiorka, P. C.; Górnaiak, S. L.. Intoxication by *Senna occidentalis* seeds in pregnant goats: Prenatal and postnatal. **Exp Toxicol Pathol.**, Feb 5, 2010.

Branco, A.; Pinto, A. C.; Braz-Filho, R.; Silva, E. F.; Grynberg, N. F.; Echevarria, A. , Rubrofusarin, a natural polyketide as new human topoisomerase II- α inhibitor. **Braz. J. Pharmacog**, 18, 703, 2008.

Chauhan, D.; Chauhan, J. S.; Siddiqui, I. R.; Singh, J.. Two new anthraquinone glycosides from the leaves of *Cassia occidentalis*. **Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, 40B(9), 860, 2001.

Chukwujekwu, J. C.; Coombes, P. H.; Mulholland, D. A.; van Staden, J.. Emodin, an antibacterial anthraquinone from the roots of *Cassia occidentalis*. **South African Journal of Botany**, 72(2), 295, 2006.

- Crawford, L.; McDonald, G. M.; Friedman, M.. *Cassia obtusifolia* toxic weed seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 38(12), 2169, 1990)
- Das, C.; Tripathi, A. K.. 1,3-dihydroxy-6,8-dimethoxy-2-isoprenylantraquinone from *Cassia fistula*. **Oriental Journal of Chemistry**, 16(3), 579, 2000.
- Dórea, M. C.; Santos, F. A. R.; Lima, L. C. L.; Figueroa, L. E. R.; Ecology, Behavior and Bionomics. **Neotrop.Entomol**, 38(2), 197, 2009.
- Dutta, A.; De, B.. Seasonal variation in the content of sennoside and rheins in leaves and pods of *Cassia fistula*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 60(6), 388, 1998.
- Embrapa, Plantas Encontradas no Pantanal Suspeitas de Serem Tóxicas para Bovinos, disponível em <http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/livros/plantastoxicas/05suspeitas.html>, acesso 20 jan 2011.
- Fenner, R.; Betti, A. H.; Mentz, L. A.; Rates, S. M. K.; Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, 42(3), 369, 2006.
- Fernand, V. E.; Dinh, D. T.; Washington, S. J.; Fakayode, S. O.; Losso, J. N.; van Ravenswaay, R. O.; Warner, I. M.. Determination of pharmacologically active compounds in root extracts of *Cassia alata* L. by use of high performance liquid chromatography. **Talanta**, 74(4), 896, 2008.
- Ferreira, E. B.; Silva, J. G. A; Macedo, E. M. S.; Lotufo, L. V.; Silva, M. G. V.; Constituintes Químicos de *Senna cearensis*, In: CD da 32ª. Reunião da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), PN 143, 2009.
- Gritsanapan, W.; Jirawongse, V.; Tantisewie, B.. *Cassia grandis* L., a new source of aloe-emodin. **J. Pharm. Sci.**, 10(1), 6, 1983.
- Guo, H.; Chang, Z.; Yang, R.; Guo, D.; Zheng, J., Anthraquinones from hairy root cultures of *Cassia obtusifolia*. **Phytochemistry**, 49 (6), 1623, 1998.
- Hazni, H.; Ahmad, N.; Hitotsuyanagi, Y.; Takeya, K.; Choo, C.. Phytochemical constituents from *Cassia alata* with inhibition against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Planta Medica**, 74(15), 1802, 2008.
- Idu, M.; Omonigho, S. E.; Igeleke, C. L.. Preliminary investigation on the phytochemistry and antimicrobial activity of *Senna alata* L. flower. **Pak. J. Biol. Sci.**, 10(5), 806, 2007.
- Jackson, F. S.; Barry, T. N.; Lascano, C.; Palmer, B.. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. **J. Sci.**

Food . Agric., 71(1), 103, 1996.

Joshua, P. E.; Chiletugo, O. F.. Hepatoprotective Effect of Ethanolic Leaf Extract of *Senna hirsuta* (*Cassia hirsuta*) Against Carbon Tetrachloride (CCl₄) Intoxication In Rats. **J. Pharm. Res.**, 3(2), 310, 2010.

Kayembe, J. S.; Taba, K. M.; Ntumba, K.; Tshiongo, M. T. C.; Kazadi, T. K.; In vitro anti-malarial activity of 20 quinones isolated from four plants used by traditional healers in the Democratic Republic of Congo. **J. Med. Plants Res.**, 4(11), 991, 2010.

Kim, D. H.; Hyun, S. K.; Yoon, B. H.; Seo, J.; Lee, K. T.; Cheong, J. H.; Jung, S. Y.; Jin, C.; Choi, J. S.; Ryu, J. H.. Gluco-obtusifolin and Its Aglycon, Obtusifolin, Attenuate Scopolamine-Induced Memory Impairment. **J. Pharmacol. Sci.**, 111(2), 110, 2009.

Kim, D. H.; Kim, S.; Jung, W. H.; Park, S. J.; Park, D. H.; Kim, J. M.; Cheong, J. H.; Ryu, J. H.. The neuroprotective effects of the seeds of *Cassia obtusifolia* on transient cerebral global ischemia in mice. **Food Chem. Toxicol.**, 47(7), 1473, 2009.

Kim, H. L.; Camp, B. J.; Grigsby, R. D.. Isolation of N-methylmorpholine from the seeds of *Cassia occidentalis* L. (coffee senna). **J Agric Food Chem.**, 19(1), 198, 1971.

Kneip, L. M.. A Utilização de Plantas pelos Pescadores, Coletores e Caçadores Pré-Históricos da Restinga de Saquarema, RJ, Brasil, *Rodriguésia.*, 60 (1), 203, 2009.

Kumar, S.; Kumar, V.; Prakash, O.. Antidiabetic and anti-lipemic effects of *Cassia siamea* leaves extract in streptozotocin induced diabetic rats. **Asian Pac. J. Trop. Med.**, 3(11), 871, 2010.

Kvist, L. P.; Christensen, S. B.; Rasmussen, H. B.; Mejia, K.; Gonzalez, A.. Identification and evaluation of Peruvian plants used to treat malaria and leishmaniasis. **J. Ethnopharmacol**, 106(3), 390, 2006.

Lang, G.; Mayhudin, N. A.; Mitova, M. I.; Sun, L.; Sar, S.; Blunt, J. W.; Cole, A. L. J.; Ellis, G.; Laatsch, H.; Munro, M. H. G.. Evolving Trends in the Dereplication of Natural Product Extracts: New Methodology for Rapid, Small-Scale Investigation of Natural Product Extracts. **J. Nat. Prod.**, 71, 1595, 2008.

Linhares, P. C. F.; Fernandes, Y. T. D.; Silva, M. L.; Pereira, M. F. S.; Santos, A. P.; Andrade, C. F.. Determinação do melhor tempo de decomposição do mata-pasto (*Senna uniflora*) como adubo verde no cultivo do coentro. XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, Ribeirão Preto – SP, 2010.

Liu, A.; Xu, L.; Zou, Z.; Yang, S.. Studies on chemical constituents from leaves of *Cassia alata*, **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, 34(7), 861, 2009.

Lizcano, L. J.; Bakkali, F.; Ruiz-Larrea, M. B.; Ruiz-Sanz, J. I.. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chem.**, 119(4), 1566, 2010.

Lombardo, M.; Kiyota, S.; Kaneko, T. M.. Aspectos étnicos, biológicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae). **Rev. Ciênc Farm Básica Apl.**, 30(1), 9, 2009.

Macedo, E. M. S.; Wiggers, H. J.; Silva, M. G. V.; Braz-Filho, R.; Andricopulo, A. D.; Montanari, C. A.. A new bianthron glycoside as inhibitor of *Trypanosoma cruzi* glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase activity. **J. Braz. Chem. Soc.**, 20(5), 947, 2009.

Nehme, C. J.; Bastos, W. L.; Araújo, A. J.; Cavalheiro, A. J.. An HPLC-DAD method to analyse flavonoid glycoside and styrylpyrones from *Cryptocarya* species (Lauraceae). **Phytochem. Anal.**, 16, 93, 2005.

Nogueira, L. G.. *Senna macranthera*: Constituição Química e Atividades Biológicas, Dissertação Ciências Biológicas. UFJF, 2009.

Okpuzor, J.; Ogbunugafor, H.; Kareem, G. K.; Igwo-Ezikpe, M. N.. In vitro investigation of antioxidant phenolic compounds in extracts of *Senna alata*. **Res. J. Phytochem**, 3(4), 68, 2009.

Okwu, D. E.; Uchenna, N. F.. Exotic multifaceted medicinal plants of drugs and pharmaceutical industries. **Afric. J. Biotechnol**, 8(25), 7271, 2009.

Oshimi, S.; Deguchi, J.; Hirasawa, Y.; Ekasari, W.; Widyawaruyanti, A.; Wahyuni, T. S.; Zaini, N. C.; Shiota, O.; Morita, H.. Cassiarins C–E, antiplasmodial alkaloids from the flowers of *Cassia siamea*. **J. Nat. Prod.**, 72(10), 1899, 2009.

Pinto, G. B. S.. Subsídios à geração de proposta de desenvolvimento para a região de Joselândia (Barão de Melgaço/MT): estudo etnobotânico. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) –Universidade Federal do Paraná, 2004.

Rahaman, M. S.; Hasan, A. J. M.; Ali, M. Y.; Ali, M.U.. Studies on the isolation of parahydroxy benzoic acid from the leaves of *Cassia alata*. **Bangladesh J. Scient. Ind. Res.**, 41(1-2), 89, 2006.

Rahaman, M. S.; Hasan, A. J. M.; Ali, M. Y.; Ali, M. U.. A flavone from the leaves of *Cassia alata*. **Bangladesh J. Scient. Ind. Res.**, 41(1-2), 93, 2006.

Ramalhete, C.; Lopes, D.; Mulhovo, S.. Antimalarial activity of some plants traditionally used in Mozambique, In: Resumos do Workshop Plantas Medicinais e Fitoterapêuticas nos Trópicos. Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, Portugal, 2008.

Rao, E. V.; Sridhar, P.; Kumar, J. R.; Lakshmi, T. V.. Anthraquinones and arnidol from *Barleria longiflora* Linn F. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 61(5), 282, 1999.

Rodrigues, I. M. C.; Souza Filho, A. P. S.; Ferreira, F. A.; Demuner, A. J.; Prospecção química de compostos produzidos por *Senna alata* com atividade alelopática. **Planta Daninha**, 28(1),1, 2010.

Rodrigues, V. E. G.; Carvalho, D. A.. Levantamento Etnobotânico de Plantas Medicinais no Domíniado Cerrado na Região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, 9(2),17, 2007.

Rodrigues, V. E. G.; Carvalho, D. A.. Plantas Medicinais no Domínio dos Cerrados. Lavras: UFLA, 2001.

Santos, R. N.; Silva, M. G. V.; Braz filho, R.. Constituintes químicos do caule de *Senna reticulata* Willd. (Leguminosae). **Quím. Nova**, 31(8), 1979, 2008.

Silva, F. O.; Oliveira, I. R.; Silva, M. G. V.; Braz Filho, R.; Constituintes Químicos das Folhas de *Senna spectabilis* var. *excelsa* (Schrad.) I&B. **Quim. Nova**, 33(9), 1874, 2010.

Silva, F. O.; Silva, M. G. V.; Feng, D.; Freitas, R. M.. Evaluation of central nervous system effects of iso-6-cassine isolated from *Senna spectabilis* var. *excelsa* (Schrad) in mice. **Fitoterapia**,82(2), 255, 2011.

Singh, J.. Phytochemical investigation of *Cassia multijuga* seeds. Isolation and characterization of new anthraquinone pigments. **Planta Medica**, 41(4), 397, 1981.
Singh, J.; Singh, J.. New bianthraquinone from *Cassia hirsute*. **Biol. Act. Nat. Prod., [Proc.]**, 5, 171, 1985.

Sob, S. V. T.; Wabo, H. K.; Tane, P.; Ngadjui, B. T.; Ye, Y.. Anthraquinones, sterols, triterpenoids and xanthones from *Cassia obtusifolia*. **Biochem. System. Ecol.**, 38(3), 342, 2010

Souza, G. C.; Haas, A. P. S.; von Poser, G. L.; Schapoval, E. E. S.; Elisabetsky, E.. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **J. Ethnopharmacol**, 90, 135, 2004.

Sreejith, G. L.; Shine, V. J.; Anuja, G. I.; Suja, S.R.; Sini, S.; Shyama, S.; Pradeep, S.; Shikha, P.; Rajasekharan, S.. Anti-allergic, anti-inflammatory and anti-lipidperoxidant effects of *Cassia occidentalis* Linn. **Indian J Exp Biol.**, 48(5), 494, 2010.

Sreejith, G.; Latha, P. G.; Shine, V. J.; Anuja, G. I.; Suja, S. R.; Sini, S.; Shyama, S.; Pradeep, S.; Shikha, P.; Rajasekharan, S.. Anti-allergic, anti-inflammatory and anti-lipidperoxidant effects of *Cassia occidentalis* Linn.. **Indian J Exp Biol.** 48(5), 494, 2010.

- St Gritsanapan, W.; Mangmeesri, P.. Standardized *Senna alata* leaf extract. **J. Health Res.**, 23(2), 59, 2009.
- Staerk, D.; Kesting, J. R.; Sairafianpour, M.; Witt, M.; Asili, J.; Emam, S. A.; Jaroszewski, J. W.. Accelerated dereplication of crude extracts using HPLC–PDA–MS–SPE–NMR: Quinolinone alkaloids of *Haplophyllum acutifolium*. **Phytochem.**, 70, 1055, 2009.
- Sylvain, V. T. S.; Hippolyte K. W.; Alembert T. T.; Pierre T.; Bonaventure T. N.; Yang Y.. Anthraquinones, sterols, triterpenoids and xanthenes from *Cassia obtusifolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**, 38(3), 342, 2010.
- Tang, L. W.; Wang, Z. J.; Fu, M. H.; He, Y.; Wu, H. W.; Huang, L. Q.. A new anthraquinone glycoside from seeds of *Cassia obtusifolia*. **Chin. Chem. Lett.**, 19(9), 1083, 2008.
- Thongsaard, W.; Deachapunya, C.; Pongsakorn, S.; Boyd, E. A.; Bennett, G. W.; Marsden, C. A.. Barakol: A potential anxiolytic extracted from *Cassia siamea*. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 53(3), 753, 1996.
- Tiwari, R. D.; Singh, J.. Anthraquinones and anthraquinone glycosides from the roots of *Cassia multijuga*. **Anorganische Chemie, Organische Chemie**, 38B(9), 1136, 1983.
- Vashishtha, V. M.; Kumar, A.; John, T. J.; Nayak. N. C.. *Cassia occidentalis* poisoning causes fatal coma in children in western Uttar Pradesh. **Indian Pediatr**, 45(5), 424, 2008.
- Villasenor, I. M.; Sanchez, A. C.. Cassiaindoline, a new analgesic and anti-inflammatory alkaloid from *Cassia alata*. **Z. Naturforschung, C**, 64(5/6), 335, 2009.
- Wu, X. H.; Ruan, J. L.; Cheng, C. R.; Wu, Z. W.; Guan, S. H.; Tao, S. J.; Xu, P. P.; Guo, D. A.. Benzyl- β -resorcylicates from *Cassia obtusifolia*. **Fitoterapia**, 81(6), 617, 2010.
- Yadav, J. P.; Arya, V.; Yadav, S.; Panghal, M.; Kumar, S.; Dhankhar, S.. *Cassia occidentalis* L.: A review on its ethnobotany, phytochemical and pharmacological profile. **Fitoterapia**, 81(4), 223, 2010.
- Yagi, S. M.; El Tigani, S.; Adam, S. E. I.. Toxicity of *Senna obtusifolia* fresh and fermented leaves (kawal), *Senna alata* leaves and some products from *Senna alata* to rats. **Phytother. Res.**, 12(5), 324, 1998.
- Yakubu, M. T.; Adeshina, A. O.; Oladiji, A. T.; Akanji, M. A.; Oloyede, O. B.; Jimoh, G. A.; Olatinwo, A. W. O.; Afolayan, A. J.. Abortifacient potential of aqueous extract of *Senna alata* leaves in rats. **J. Reprod. .Contracep.**, 21(3), 163, 2010.

Zilberstei, A. C. C. V.; Romanini, J.; Leal, P. C.; Calixto, J. B.; Battastini, A. M. O.; Campos, M. M.; Morrone, F. B.. Efeito da mistura triterpênica alfa, beta amirina sobre a proliferação de diferentes linhagens de células tumorais in vitro, X Salão de Iniciação Científica , PUCRS, 2009.