



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

## **ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON ECHIOIDES***

TAMIRES BOTELHO DA NATIVIDADE

RECIFE  
FEVEREIRO/2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

## **ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON ECHIOIDES***

TAMIRES BOTELHO DA NATIVIDADE

RECIFE  
FEVEREIRO/2015

TAMIREZ BOTELHO DA NATIVIDADE

**ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON ECHIOIDES***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal Rural de Pernambuco.

**Orientador:** Profa. Dra. Tania Maria Sarmento da Silva

**\*Bolsista CAPES**

RECIFE  
FEVEREIRO/2015

Ficha catalográfica

N278e Natividade, Tamires Botelho da  
Estudo químico de *Croton echioides* / Tamires Botelho da  
Natividade. - Recife, 2014.  
73 f. : il.

Orientadora: Tania Maria Sarmiento da Silva.  
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade  
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Química,  
Recife, 2015.  
Referências.

1. Estudo químico 2. *Croton echioides* 3. CLMP  
4. HPLC-DAD I. Silva, Tania Maria Sarmiento da,  
orientadora II. Título

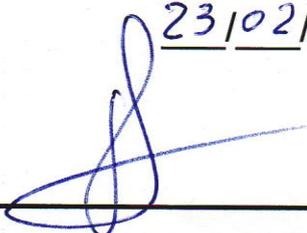
CDD 540

TAMIRES BOTELHO DA NATIVIDADE

**ESTUDO QUÍMICO DE CROTON ECHIOIDES**

DISSERTAÇÃO AVALIADA E APROVADA PELA BANCA EM:

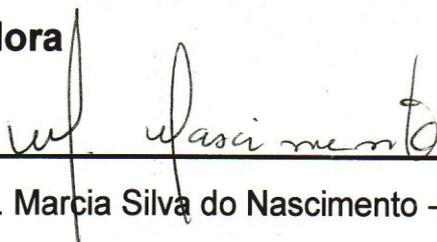
23/02/2015



---

Profa. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva -UFRPE

**Orientadora**



---

Profa. Dra. Marcia Silva do Nascimento - UFPE

**1º Examinador**



---

Prof. Dr. Celso de Amorim Camara - UFRPE

**2º Examinador**

---

Prof. Dr. Antônio Cláudio da Silva Lins - UFRPE

**Suplente**

Dedico este trabalho à Deus, por tudo que me proporciona na vida, aos meus pais Aylton Botelho de Oliveira e Josefa Maria da Natividade pelo amor e apoio durante toda minha vida, por investirem e acreditarem sempre em mim e ao meu noivo Evyson Albuquerque de Melo, pela compreensão, apoio e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família por todo o amor, carinho, apoio e torcida;

À minha orientadora Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva por me apresentar a pesquisa e pela oportunidade de ingressar em seu grupo de pesquisa durante esses anos, pelo incentivo, apoio e orientação;

Ao programa de pós-graduação em química da UFRPE, pela oportunidade;

A capes, pela bolsa concebida;

Aos meus amigos do BioFito, em especial Girliane Regina pelo grande incentivo, amizade, ensinamentos e apoio durante todo esse tempo de graduação e mestrado, aos meus amigos e irmãos Dário César e Geane Oliveira por todo incentivo durante todo esse tempo, a Telma Guedes, Silvana Alves, Natália Ramos, Paulo Ricardo, Manuela, Panait, Neylton pelas experiências compartilhadas, momentos de descontração e palavras de incentivo;

À banca examinadora, pelas críticas, sugestões e correções sugeridas a este trabalho;

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

“O maior inimigo do conhecimento não é ignorância, mas a ilusão do conhecimento”.

*Stephan Hawking*

# RESUMO

## ESTUDO QUÍMICO DE *CROTON ECHIOIDES*

Programa de Pós-Graduação em Química

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Tamires Botelho da Natividade (tamiresbotelhon@gmail.com)

O gênero *Croton* L. encontra-se entre os mais estudados da família Euphorbiaceae, sendo o segundo maior gênero desta família, classificando-se como o 11º maior gênero entre as angiospermas. Pertencente a subfamília Crotonoideae, está representado por aproximadamente 1.200 espécies. Dentre elas, a espécie *Croton echioides*, popularmente conhecida na região nordeste do Brasil como “caatinga branca”, “canela-de-velho”, “quebra-faca” ou “caatinga de bode” é restrita ao bioma Caatinga. Este trabalho teve como objetivo investigar os constituintes químicos da espécie *Croton echioides*. A casca do caule foi extraído com EtOH, esse extrato foi suspenso em MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1), e particionado com hexano e AcOEt. Da fração MeOH:H<sub>2</sub>O foram isolados dois alcaloides, 5,6,6a,7-tetrahydro-1,11-dihydroxy-2,10-dimethoxy-6,6-dimethyl-4H-dibenzoquinolínio e 5,6,6a,7-tetrahydro-11-hydroxy-1,2,10-trimethoxy-6,6-dimethyl-4H-dibenzoquinolínio (Substâncias 1 e 2). Da fração hexânica foram isolados três terpenos, 3β-lup-20(29)-en-3-ol (Substância 3), 15,16-epoxy-3-13(16)-clerodano-6-ol (Substância 4) e 15,16-epoxy-3-13(16)-clerodano-6,7-ol (Substância 5), as substâncias foram identificadas através dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e APT, incluindo bidimensionais e massas. Quatro das substâncias isoladas são relatadas pela primeira vez nesta espécie.

## ABSTRACT

### CHEMICAL *CROTON ECHIOIDES* STUDY

Programa de Pós-Graduação em Química

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Tamires Botelho da Natividade (tamiresbotelhon@gmail.com)

The *Croton* genus is among the most studied of the Euphorbiaceae family, is the second largest genus in the family and is classified as the 11th largest genus of flowering plants. Belonging to the subfamily Crotonoideae, is represented by about 1,200 species. Among them, the *Croton echioides* species, popularly known in northeastern Brazil as "caatinga branca", "cinnamon-of-old", "break-knife" or "stench of goat" is restricted to the Caatinga biome. This study aimed to investigate the chemical constituents of the species *Croton echioides*. The stem bark was extracted with EtOH, the extract was suspended in MeOH: H<sub>2</sub>O (1: 1), and partitioned with hexane and AcOEt. Fraction of MeOH: H<sub>2</sub>O were isolated two alkaloids 5,6,6a, 7-tetrahydro-1,11-dihydroxy-2,10-dimethoxy-6,6-dimethyl-4H-5,6,6a dibenzoquinolínium and, 7-tetrahydro-11-hydroxy-1,2,10-trimethoxy-6,6-dimethyl-4H-dibenzoquinolínium (Substances 1 and 2). The hexane fraction were isolated three terpenes, 3 $\beta$ -lup-20 (29)-en-3-ol (Substance 3) 15,16-epoxy-3-13(16)-clerodano-6-ol (Substance 4) and 15,16-epoxy-3-13(16)-clerodano-6,7-ol (Substance 5), the substances were identified by the <sup>1</sup>H NMR spectra and APT, including two-dimensional and mass. Four of the isolated compounds are reported for the first time in this species.

## LISTA DE TABELAS, ESQUEMA E FIGURAS

<b>Tabela 1.</b> Espécies de <i>Croton</i> estudadas do ponto de vista farmacológico.....	9
<b>Tabela 2.</b> Dados de RMN 1D e 2D de $^1\text{H}$ e APT (500 MHz e 300 MHz, em metanol- $d_4$ , respectivamente) da substância 1 (S)-magnoflorina obtida de <i>C. echioides</i> . Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm. ....	26
<b>Tabela 3.</b> Dados de RMN 1D e 2D de $^1\text{H}$ e APT (300 MHz, em metanol- $d_4$ , respectivamente) de substância 2 (S)-menisperina obtida de <i>C. echioides</i> . Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm. ....	34
<b>Tabela 4.</b> Dados de RMN 1D de $^1\text{H}$ e APT (300 MHz e 75 MHz, em $\text{CDCl}_3$ ) da substância 3 (lupeol) obtida de <i>C. echioides</i> . Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.....	39
<b>Tabela 5.</b> Dados de RMN de 1D e 2D de $^1\text{H}$ e APT (300 MHz, em $\text{CDCl}_3$ , respectivamente) de substância 4 (6 $\alpha$ -hidroxiannonena) obtida de <i>C. echioides</i> . Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm. ....	50
<b>Tabela 6.</b> Dados de RMN de 1D e 2D de $^1\text{H}$ e APT (300 MHz, em $\text{CDCl}_3$ , respectivamente) da substância 5 (6 $\alpha$ -7 $\alpha$ -hidroxiannonena) obtida de <i>C. echioides</i> . Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm. ....	56
<b>Esquema 1.</b> Fracionamento para isolamento das substâncias de <i>Croton echioides</i> .....	15
<b>Figura 1.</b> Distribuição geográfica da família Euphorbiaceae. ....	7
<b>Figura 2.</b> Distribuição do gênero <i>Croton</i> L. (BERRY et al., 2005). ....	8
<b>Figura 3.</b> Esqueleto de alguns metabolitos secundários encontradas em espécies de <i>Croton</i> , 1) Terpenos, 2) Alcaloides .....	10
<b>Figura 4.</b> Mapa da distribuição Geográfica da espécie <i>Croton echioides</i> (NOVELLO et al.,2012) .....	11
<b>Figura 5.</b> Cromatograma da Fr. MeOH (3-4) (CLAE-DAD, 254 nm).....	20
<b>Figura 6.</b> Cromatograma e espectro de UV da substância 1. ....	20
<b>Figura 7.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de substância 1 em metanol- $d_4$ (500 MHz).....	1
<b>Figura 8.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de substância 1 em metanol- $d_4$ expansão em campo alto (500MHz).....	21

<b>Figura 9.</b> Espectro de APT de substância 1 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	22
<b>Figura 10.</b> Espectro de APT de substância 1 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	22
<b>Figura 11.</b> Espectro de APT substância 1 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	23
<b>Figura 12.</b> Espectro de HSQC de substância 1 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	23
<b>Figura 13.</b> Espectro de HMBC de substância 1 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	24
<b>Figura 14.</b> Espectro de HMBC de substância 1 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	24
<b>Figura 15.</b> Espectro de massas (ESI- $MS^+$ ) da substância 1 . .....	25
<b>Figura 16.</b> Substância 5,6,6a,7-tetrahydro-1,11-dihidroxi-2,10-dimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio (Substância 1) isolada da casca de <i>Croton echioides</i> . .....	27
<b>Figura 17.</b> Espectro de RMN de $^1H$ da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	28
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN de $^1H$ da substância 2 em metanol- $d_4$ expansão em campo alto (300 MHz). .....	28
<b>Figura 19.</b> Espectro de APT da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	29
<b>Figura 20.</b> Espectro de APT da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	29
<b>Figura 21.</b> Espectro de APT da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). .....	30
<b>Figura 22.</b> Espectro de HSQC da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	30
<b>Figura 23.</b> Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	31
<b>Figura 24.</b> Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	31
<b>Figura 25.</b> Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	32
<b>Figura 26.</b> Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$ (300 MHz). ....	32
<b>Figura 27.</b> Espectro de massas (ESI- $MS^+$ ) da substância 2. .....	33
<b>Figura 28.</b> Substância 5,6,6a,7-tetrahydro-11-hidroxi-1,2,10-trimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio (Substância 2) isolada da casca do caule de <i>Croton echioides</i> . .....	34
<b>Figura 29.</b> Espectro de RMN de $^1H$ da substância 3 em $CDCl_3$ (300 MHz). ....	36
<b>Figura 30.</b> Espectro de RMN de $^1H$ da substância 3 em $CDCl_3$ (300 MHz) expansão em campo alto. .....	36
<b>Figura 31.</b> Espectro de APT da substância 3 em $CDCl_3$ (75 MHz). .....	37
<b>Figura 32.</b> Espectro de APT da substância 3 em $CDCl_3$ (75 MHz) expansão. 37	
<b>Figura 33.</b> Espectro de massas (ESI- $MS^+$ ) de substância 3. .....	38
<b>Figura 34.</b> 3 $\beta$ -lup-20(29)-en-3-ol (Substância 3) isolada da casca de <i>Croton echioides</i> .....	40

<b>Figura 35.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300MHz). ....	42
<b>Figura 36.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ de substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300MHz), expansão em campo alto. ....	1
<b>Figura 37.</b> Espectro de APT de substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	43
<b>Figura 38.</b> Espectro de APT da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	43
<b>Figura 39.</b> Espectro de APT da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz) ....	1
<b>Figura 40.</b> Espectro de COSY da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	44
<b>Figura 41.</b> Espectro de COSY da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	45
<b>Figura 42.</b> Espectro de COSY da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	45
<b>Figura 43.</b> Espectro de COSY da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz) expansão. .....	46
<b>Figura 44.</b> Espectro de HSQC da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	46
<b>Figura 45.</b> Espectro de HSQC da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	47
<b>Figura 46.</b> Espectro de HSQC da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	47
<b>Figura 47.</b> Espectro de HMBC da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	48
<b>Figura 48.</b> Espectro de HMBC da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	48
<b>Figura 49.</b> Espectro de HMBC da substância 4 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	49
<b>Figura 50.</b> Substância 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6-ol (Substância 4) isolada da casca do caule de <i>Croton echiooides</i> . ....	51
<b>Figura 51.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância 5 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	51
<b>Figura 52.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ da substância 5 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz) ....	52
<b>Figura 53.</b> Espectro de APT da substância 5 em $\text{CDCl}_3$ (300MHz) ....	53
<b>Figura 54.</b> Espectro de HMBC da substância 5 em $\text{CDCl}_3$ (300MHz). ....	53
<b>Figura 55.</b> Espectro de HMBC da substância 5 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	54
<b>Figura 56.</b> Espectro de HMBC da substância 5 em $\text{CDCl}_3$ (300 MHz). ....	54
<b>Figura 57.</b> Espectro de massas (ESI- $\text{MS}^+$ ) da substância 5. ....	55
<b>Figura 58.</b> Substância 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6,7-ol (Substância 5), isolada da casca de <i>Croton echiooides</i> . ....	56

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>6</b>
<b>2.OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1. Geral .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2. Específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Material vegetal .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Equipamentos e Reagentes .....</b>	<b>13</b>
<b>3.3. Isolamento dos constituintes químicos .....</b>	<b>14</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>4.1 Identificação estrutural das substâncias isoladas da casca do caule de <i>Croton echinoides</i> .....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.1 Substância 1.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.2 Substância 2.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1.3 Substância 3.....</b>	<b>35</b>
<b>4.1.4. Substância 4.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1.5. Substância 5 .....</b>	<b>51</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>57</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>58</b>

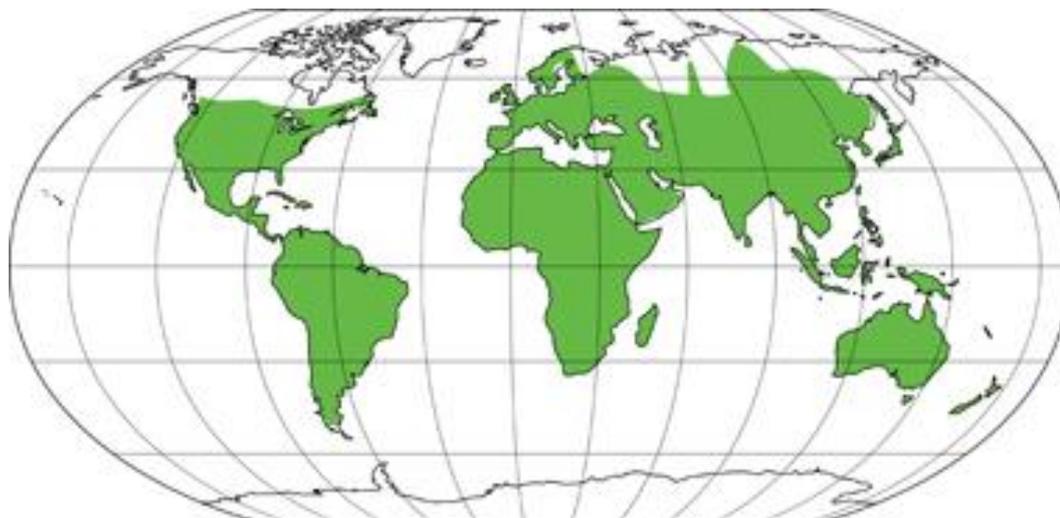
## 1. INTRODUÇÃO

Historicamente, os produtos naturais provenientes de plantas e animais foram à fonte de praticamente todas as preparações medicinais e, mais recentemente, os produtos naturais continuam fazendo parte de ensaios clínicos ou fornecendo pistas para compostos que entraram em ensaios clínicos, particularmente como agentes anticâncer e antimicrobiano (HARVEY et al., 2015).

Várias famílias de espécies vegetais destacam-se na área farmacêutica por apresentarem em sua composição substâncias que possuem atividades biológicas. A família Euphorbiaceae possui algumas espécies medicinais, como *Pera glabrata*, conhecida popularmente como seca ligeiro, que apresenta atividade antifúngica e *Croton urucurana*, conhecida como sangue de dragão, cujos óleos voláteis do caule apresentam atividades anticâncer, anti-inflamatória, antioxidante, antirreumática e antiulcérica (SIMIONATTO et al., 2007). Outras espécies possuem alto valor econômico, como a seringueira (*Hevea brasiliensis*), utilizada na produção de borracha e a mandioca, aipim ou macaxeira (*Manihot esculenta*), como fonte de alimento (SECCO et al., 2012).

Dentre as Angiospermas, a família Euphorbiaceae é uma das mais importantes economicamente, amplamente diversificada e complexa (SODRÉ et al., 2014). Compreende cerca de 6.300 espécies com 246 gêneros (WURDACK & DAVIS, 2009), tendo ocorrência em regiões tropicais e temperadas de todo o planeta (Figura 1). Os gêneros desta família são divididos em 49 tribos e 5 subfamílias, segundo a classificação proposta por Webster (1994).

As subfamílias pertencentes à família Euphorbiaceae são: Phyllantoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae. A subfamília Crotonoideae, compreende cerca de 2.400 espécies agrupadas em 67 gêneros e 12 tribos (WEBSTER, 1994).



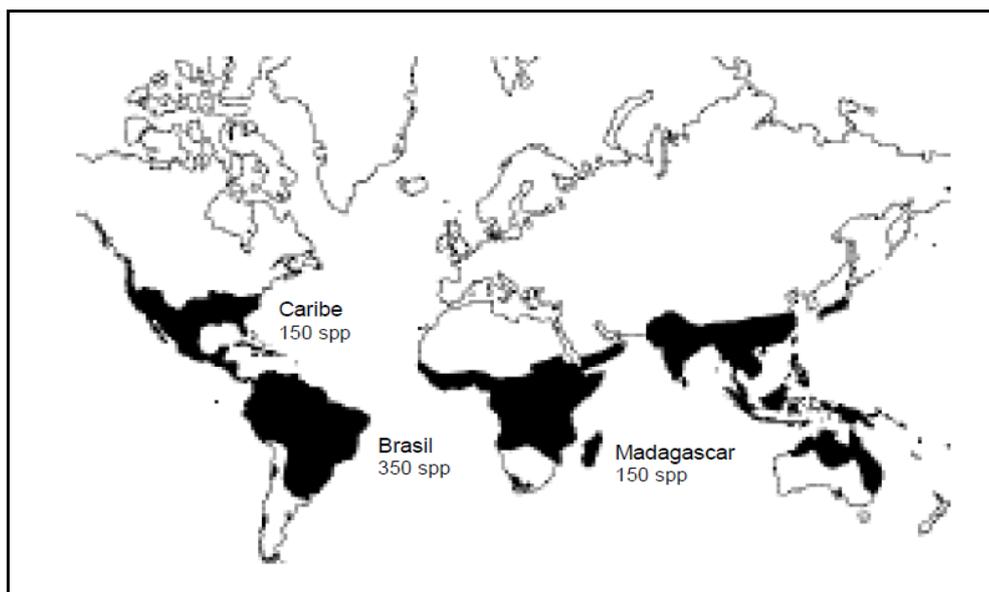
**Figura 1.** Distribuição geográfica da família Euphorbiaceae.

Disponível em:

[http://www.thecompositaehut.com/www\\_tch/images/webcurso\\_spv/mapas/euphorbiaceae.jpg](http://www.thecompositaehut.com/www_tch/images/webcurso_spv/mapas/euphorbiaceae.jpg)

O gênero *Croton* L. encontra-se entre os mais estudados da família Euphorbiaceae. Pertence a subfamília Crotonoideae e está representado por aproximadamente 1.200 espécies (LIU et al., 2013), sendo o segundo maior gênero desta família, classificando-se como o 11º maior gênero entre as angiospermas (LOPES et al., 2012; FRODIN, 2004).

O gênero *Croton* possui uma ampla diversidade morfológica, podendo ser encontrado em vários tipos de vegetação, sendo a maioria das espécies crescente em vegetação seca (CARUZO et al., 2011). É encontrado nas regiões tropicais, nos centros de grande biodiversidade como Brasil, México, e ainda em áreas temperadas subtropicais e norte (Figura 2) (BURGER & HUFT, 1995), mas raramente em regiões frias (HELUANI et al., 2000), é encontrado principalmente como árvores de pequeno porte e arbusto. O Brasil é o país com maior diversidade desse gênero, compreendendo cerca de 350 espécies (BERRY et al., 2005), das quais a região Nordeste inclui cerca de 65 espécies (LUCENA & SALES, 2006). O gênero é largamente distribuído em vários biomas, destacando-se o cerrado, a caatinga e os campos rupestres (SILVA et al., 2010; BERRY et al., 2005) e ainda se desenvolvem em locais como margens, rios e clareiras de matas (LOPES et al., 2012).



**Figura 2.** Distribuição do gênero *Croton* L. (BERRY et al., 2005).

Algumas espécies de *Croton* têm sido utilizadas na América do Sul e Central há vários anos no tratamento de feridas. As árvores dessas espécies produzem um látex de coloração vermelha, comumente chamado de “sangue de dragão”. Dentre as espécies que apresentam esse látex vermelho estão *Croton lechleri*, *Croton celtidifolius*, *Croton palanostigma* e *Croton urucurana*, sendo essas duas últimas, endêmicas do Brasil. Nesse látex, encontram-se taninos catequínicos, proantocianidinas e alcaloides, sendo utilizado para acelerar a cicatrização de feridas (MILANOWSKI et al., 2002)

Algumas espécies de *Croton* são utilizadas como drogas naturais na África, Ásia e América do Sul, no tratamento de doenças como câncer e hipertensão (WANG et al., 2013). A tabela 1 mostra outras propriedades farmacológicas conhecidas de algumas espécies.

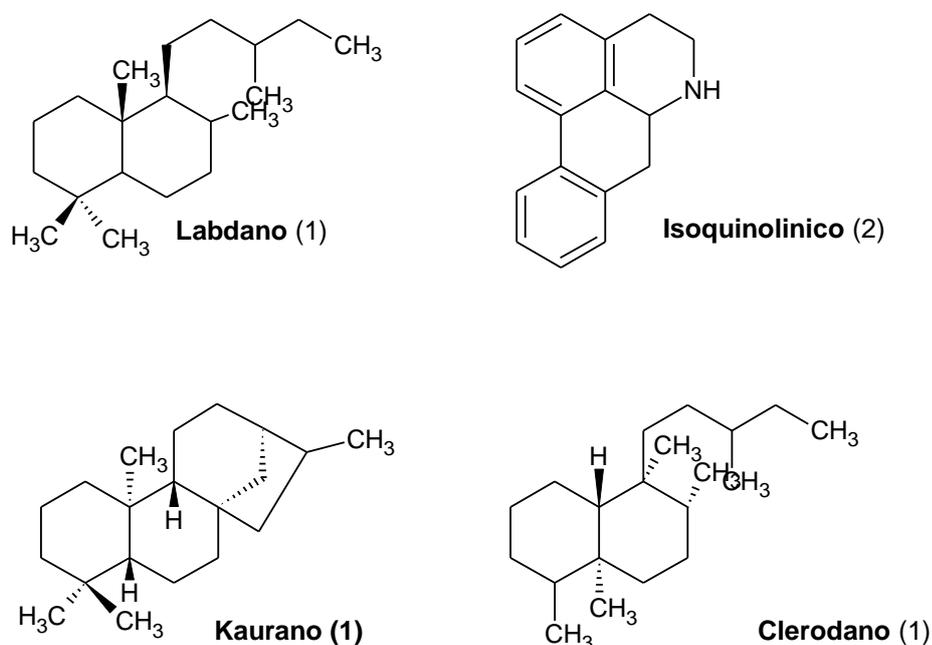
**Tabela 1.** Espécies de *Croton* estudadas do ponto de vista farmacológico.

<b>Espécies</b>	<b>Propriedades farmacológicas</b>
<i>Croton bonplandianum</i>	Antimicrobiana, cicatrizante e antisséptica (VADLAPUDI, 2010; NISHANTA et al., 2002).
<i>Croton campestris</i>	Antibacteriana, moluscicida e anti-inflamatória (COUTINHO et al., 2011; EL BABILI et al., 2006; DE ALMEIDA et al., 2013).
<i>Croton celtidifolius</i>	Antioxidante e anti-inflamatória (NARDI et al., 2003).
<i>Croton crassifolius</i>	Antinociceptivos e anti-inflamatórios periféricos (ZHAO et al., 2012 )
<i>Croton cuneatus</i>	Anti-inflamatório (SUÁREZ et al., 2006).
<i>Croton lechleri</i>	Cicatrizante e doenças intestinais, antioxidante antiviral e anti-inflamatória (DE MARINO et al., 2008; RISCO et al., 2003; UBILLAS et al., 1994; PIETERS et al., 1993 ).
<i>Croton lobatus</i>	Antiespasmódica (WENIGER et al., 2004)
<i>Croton muscicapa</i>	Sedativo, estimulante do apetite e antinociceptivo (DE MORAIS et al., 2006)
<i>Croton nepetaefolius</i>	Estomáquico, carminativo, antiespasmódica e antinociceptivo (ABDON et al., 2002).
<i>Croton palanostigma</i>	Distúrbios urinários e úlcera (DE MARINO et al., 2008).
<i>Croton zehntneri</i>	Estimulante de apetite, aliviar distúrbios intestinais, antioxidante, antinociceptivo e antibacteriana (AGRA et al., 2007, 2008; OLIVEIRA et al., 2001, DE MORAIS et al., 2006, COSTA et al., 2008).

O grande leque de atividades descritas no gênero corrobora com a alta diversidade química produzida por esse grupo. Os metabolitos secundários majoritários encontrados no gênero *Croton* são na maioria terpenoides (WANG et al., 2013; THUONG et al., 2012), flavonoides (LOPES et al., 2012; SANTOS et al., 2005) e alcaloides (ATTIOUA et al., 2012; ARAÚJO-JÚNIOR et al., 2005).

Os terpenos encontrados em espécies de *Croton* apresentam variados esqueletos, como clerodanos, labdanos e kauranos, entre outros. Os terpenos clerodanos, formam a mais nova classe e apresentam várias atividades biológicas, como antifúngica, antibacteriana, de repelência de insetos e anti-hemorrágica (VIEGAS JUNIOR, 2003; OBERLIES et al. , 2002) Os flavonoides obtidos desse gênero na grande maioria são agliconas de flavonóis altamente metoxilados.

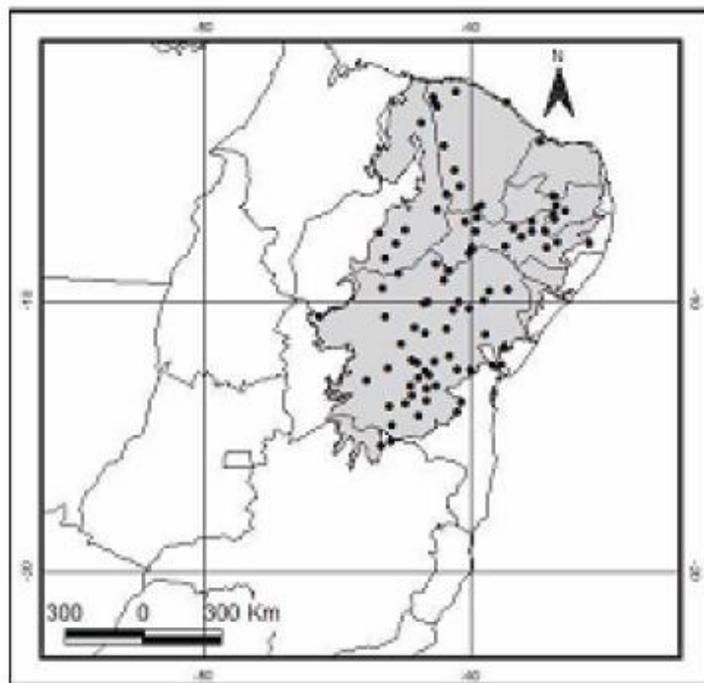
Dentre os alcaloides encontrados nesse gênero, encontram-se os alcaloides do tipo isoquinolinico (Figura 3). Esses alcaloides apresentam atividade farmacológica, como antitussígena (CORDELL et al., 2001). Espécies de *Croton* ainda apresentam em sua composição química óleos voláteis, entre os quais pode-se encontrar monoterpenos e sesquiterpenos.



**Figura 3.** Esqueleto de alguns metabolitos secundários encontradas em espécies de *Croton*, 1) Terpenos, 2) Alcaloides

O presente trabalho tem como objetivo investigar a composição química da casca do caule da espécie *Croton echioides*, conhecida popularmente na região Nordeste do Brasil como “caatinga branca”, “canela-de-velho”, “quebra-faca” ou “caatinga de porco” (NOVELLO et al., 2012; SILVA et al., 2012). É uma espécie restrita ao bioma Caatinga, tendo ocorrência nos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Paraíba, Alagoas, Bahia e Minas Gerais, em solos arenosos e argilosos, com nivelamentos rochosos (Figura 4) (NOVELLO et al., 2012). A casca do caule dessa espécie é comumente usada em problemas digestórios (SILVA et al., 2012).

Devido à frequente ocorrência de metabólitos secundários com promissoras atividades biológicas encontradas no gênero *Croton* e considerando a alta diversidade do gênero no Nordeste brasileiro, este estudo é de grande importância, visto que ainda há poucos relatos de substâncias e atividades biológicas descritas, contribuindo para estudo químico da espécie *Croton echioides*.



**Figura 4.** Mapa da distribuição Geográfica da espécie *Croton echioides* (NOVELLO et al.,2012)

## **2.OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

- Contribuir para o estudo químico de *Croton echioides* através do isolamento e determinação estrutural dos seus constituintes químicos.

### **2.2. Específicos**

- Obter o extrato etanólico e as frações metanólica aquosa, hexânica e acetato de etila da casca do caule de *Croton echioides*;
- Isolar os constituintes químicos de *Croton echioides* e elucidar as estruturas de seus constituintes químicos através de técnicas de infravermelho, espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear.



### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Material vegetal

A casca do caule de *Croton echinoides* foi comprada na feira livre em Vitória da Conquista, Bahia, na forma desidratada e armazenada em saco plástico. Uma exsicata da planta dessa espécie encontra-se depositada no herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.

#### 3.2 Equipamentos e Reagentes

A análise cromatográfica em coluna (CC) foi realizada tendo como suporte Sephadex LH-20<sup>®</sup> (Amersham, Biosciences, Suécia), utilizando metanol (J.T. Baker, Phillipsburger, EUA) como eluente. Para Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram usadas cromatofolhas de sílica gel 60F<sub>254</sub> (Merck, Darmstadt, Alemanha), clorofórmio (Merck, Darmstadt, Alemanha) e metanol (J.T. Baker, Phillipsburger, EUA) como eluentes e como reveladores foram utilizados os reagentes de Liebermann, Dragendorff e o reagente NP (ácido difenilbórico etanolamina-metanol), além da detecção por irradiação ultravioleta (254 e 366 nm).

Para as análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizou-se o cromatógrafo líquido (Shimadzu Prominence LC-20AT, Shimadzu, Kyoto, Japan), constituído por duas bombas LC-6AT, degaseificador DGU-20As, forno de coluna CTO-20AC, detector de arranjo diodos (DAD) SPDM-20A, injetor manual Rheodyne 7125i, com um loop 20 µl e módulo de comunicação CBM-20A, controlado pelo software LcSolution. Foram usados filtros de membrana millipore com poros de 0,45 µm de diâmetro (Supelco, USA) para filtração das amostras. Os solventes utilizados foram metanol, (J.T. Baker, Phillipsburger, EUA) grau HPLC e água Mili-Q (Millipore, EUA), filtrados em membrana 0,45 µm.

As análises em Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP) utilizou o cromatógrafo (Flash AI-580S, Yamazen), constituído de sistema binário de

separação equipado com dois módulos de bombas modelo 580S, com detector modelo prepUV254 e coletor de fração modelo FR-360.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e APT (incluindo experimentos bidimensionais) foram obtidos em espectrômetros Bruker DRX500 (500 e 125 MHz) e Bruker DPX-300 (300 e 75 MHz) respectivamente. Como referência interna foi usado tetrametilsilano ou resíduo de solvente, MeOH e  $\text{CHCl}_3$  deuterados.

### **3.3. Isolamento dos constituintes químicos**

#### **3.3.1. Obtenção dos extratos de frações**

As cascas do caule (1,0 Kg) foram trituradas e submetidas à extração a frio com EtOH até completa exaustão, que foi observada pela descoloração da solução extrativa. Esta solução foi concentrada em rotavapor a 45 °C sob pressão reduzida obtendo-se o extrato etanólico.

Parte do extrato etanólico (64,0 g) foi suspenso em MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1, 120 mL) em banho de ultrassom (30 min) e particionada com os solventes hexano (5x300 mL) e acetato de etila (5x300 mL). As soluções obtidas foram concentradas em rotavapor, obtendo-se as frações hexânica (26,0 g), AcOEt (14,0 g) e MeOH:H<sub>2</sub>O (13,2 g) como mostra o Esquema 1.

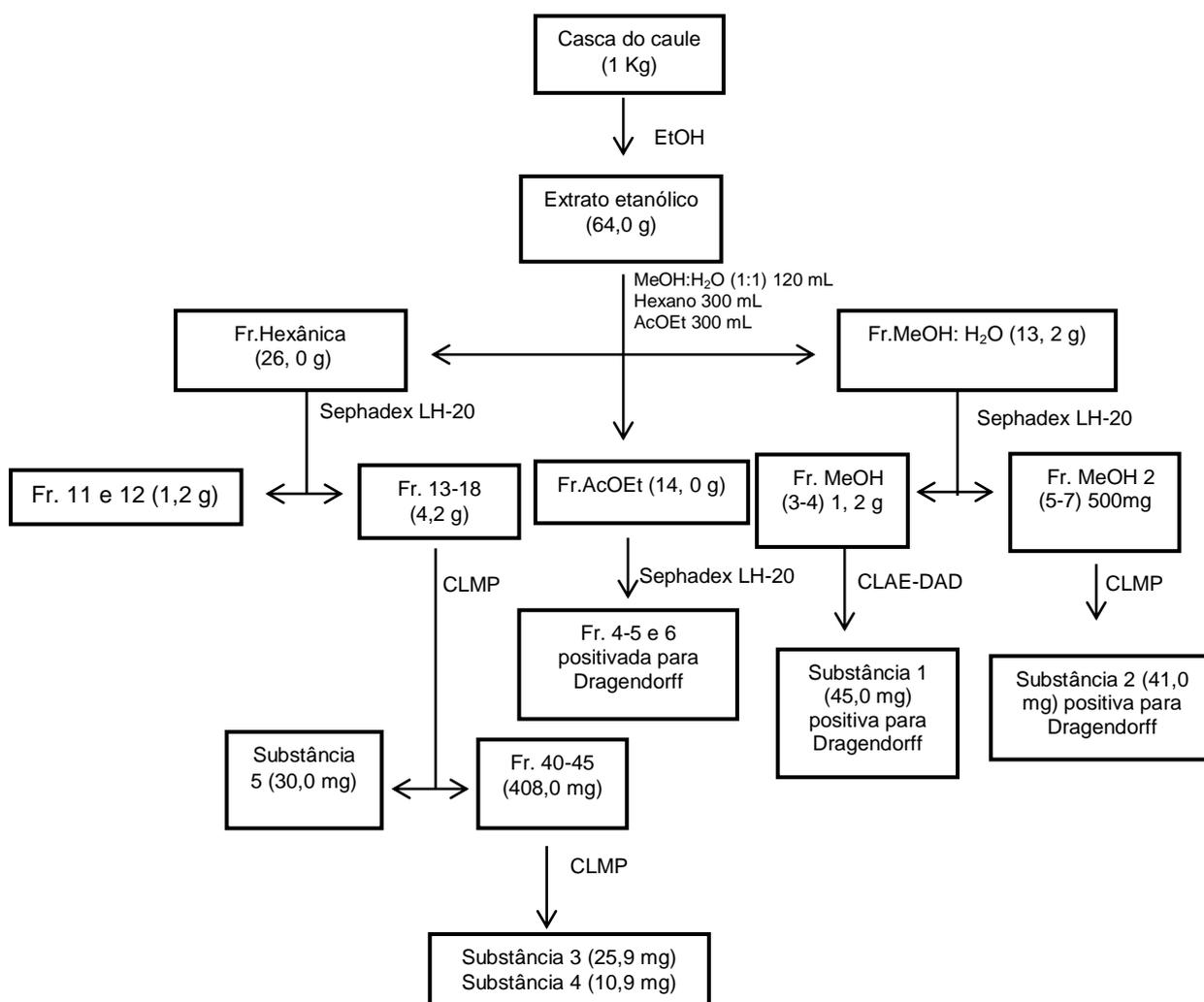
A fração hexânica indicou a presença característica de diterpenos positiva para reagente de Liebermann. A fração AcOEt revelou a presença de flavonoides e alcaloides quando revelada com reagente NP e Dragendorff, respectivamente, enquanto a fração aquosa apresentou alcaloides quando revelada com reagente de Dragendorff em CCDA.

A fração hexânica (26,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna com Sephadex LH-20<sup>®</sup>, usando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH (1:1). Este fracionamento forneceu 16 frações, das quais 8-16 que foram novamente submetidas a cromatografia em Sephadex LH-20<sup>®</sup> nas mesmas condições, fornecendo 20 frações. Estas foram reunidas após análise em CCDA usando como eluente Hexano:AcOEt (8:2). As frações 13-18 foram positivas para o reagente de Liebermann.

A fração acetato (14,0 g) foi submetida a cromatografia em coluna com Sephadex LH-20<sup>®</sup>, usando MeOH como eluente. Este fracionamento forneceu

19 frações que foram reunidas após análise em CCDA, utilizando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$  (8:2:1), sendo as frações 4-5 e 6 positivas para o reagente de Dragendorff.

A fração  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (13,2 g) foi submetida à cromatografia em coluna com Sephadex LH-20<sup>®</sup>, usando como eluente MeOH. Este fracionamento forneceu 8 frações, que foram reunidas após análise em CCDA, utilizando como eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$  (8:2:1). As frações 2, 3-4 e 5 revelaram a presença de alcaloides através do reagente de Dragendorff. Essas foram novamente submetidas a cromatografia em Sephadex LH-20<sup>®</sup> nas mesmas condições, com o intuito de melhorar sua pureza.



**Esquema 1.** Fracionamento para isolamento das substâncias de *Croton echinoides*.

### 3.3.2 Análise por CLAE-DAD

A análise das frações que mostraram a presença de alcaloides foram analisadas por CLAE-DAD. As amostras foram preparadas a 5mg/mL (MeOH:H<sub>2</sub>O, 1:1) e filtradas em filtros de 45µm. Para a separação cromatográfica, utilizou-se uma coluna analítica (Luna C<sub>18</sub>, 250 x 4,6 mm x 5 µm, Phenomenex) e pré-coluna C-18 Luna 4,0 mm. A temperatura da coluna foi estabelecida à 40°C e a taxa de fluxo foi mantida à 1,0 mL/min. A fase móvel foi composta por água ultrapura (Eluente A) e MeOH (Eluente B). O gradiente utilizado foi: 0-20 minutos, 5% de B, 20-30 min, 100% de B. O volume de injeção foi de 10 µL. Os cromatogramas foram monitorados em comprimento de onda de 254 nm.

Para o isolamento foi utilizada uma coluna semi-preparativa (Luna, 250mm x 21,2mm x 4µm, Phenomenex), pré-coluna Security Guard Holder (Phenomenex), fluxo 16,0 mL/min e temperatura 40°C, utilizando o mesmo gradiente da corrida analítica. Foi preparada uma solução da Fr.MeOH (3-4) a 500 mg/mL (MeOH:Água, 80:20). O volume de injeção foi de 100 µL em repetidas vezes. Após evaporação do solvente em rotavapor, obteve-se uma substância pura denominada substância 1 (45,0 mg), esquema 1.

### 3.3.3. Análise por CLMP

Para análise em Cromatografia líquida de média pressão (CMLP) foi utilizada uma pré-coluna de sílica gel 70 µm 14 g (M 20 x 75 mm, Yamazen Corporation) para as todas frações. Para a Fr.MeOH 2 (5-7) (500 mg) utilizou-se uma coluna de sílica gel 40 µm, 135 g (3L, 5 x 19 cm, Yamazen Corporation) e as demais frações foram aplicadas em coluna de sílica gel 40 µm, 16 g (M 23 x 123 mm, Yamazen Corporation), todas foram monitoradas no comprimento de onda de 254 nm.

A Fr.MeOH 2 (5-7) (500 mg), foi eluída com ACN:MeOH (7:3), fluxo de 6 mL/min, com R<sub>f</sub> = 0,33 e R<sub>f</sub> = 0,16, usando como sistema de eluição ACN:MeOH (7:3). Foi injetado, aproximadamente 10 mL, utilizando gradiente 10% - 10 min, 20% - 10 min, 30% - 60 min de MeOH. A análise forneceu a substância 2 (41,0 mg), positiva para reagente de Dragendorff.

A Fr. Hex (13-18) (4,2 g), foi eluída com Hexano:AcOEt (9:1), com fluxo 12 mL/min, R<sub>f</sub> = 0,45 e R<sub>f</sub> = 0,33, injetou-se aproximadamente 5 mL, utilizando

o gradiente 0% - 10 min, 3% - 30 min, 6% - 30 min, 8% - 30 min, 10% - 30 min de AcOEt. Obtendo-se dessa análise a substância pura substância 5 (30,0 mg) positiva para o reagente de Lieberman. A Fr. Hex (40-45) (408 mg), foi eluída com Hexano: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), a um fluxo de 10 mL/min, sistema isocrático 50%-10 min, após 20 minutos de análise ao CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:AcOEt (99:1) e após 30 minutos foi adicionado hexano:AcOEt (99:1). Foi obtida dessa análise as frações puras substância 3 (25,9 mg) e substância 4 (10,9 mg), esquema 1.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Identificação estrutural das substâncias isoladas da casca do caule de *Croton echioides*

A identificação estrutural das substâncias isoladas da casca do caule de *Croton echioides* foi realizada com base nos dados obtidos por técnicas espectroscópicas (UV, RMN), espectrometria de massa e por comparação com os dados da literatura.

#### 4.1.1 Substância 1

O cromatograma CLAE-DAD obtido da Fr. MeOH (3-4) (Figura 5) mostrou um pico majoritário, o qual foi isolado, como precipitado escuro, e denominado substância 1. A revelação com o reagente de Dragendorff em CCDA mostrou teste positivo para alcaloides. O espectro de UV da substância (Figura 6) apresentou bandas de absorção em  $\lambda_{\text{máx}}$  222, 269 e 305 nm.

Os espectros de RMN demonstraram a existência de um anel aromático com os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  6,78 e 6,76 e  $\delta_{\text{C}}$  110 no espectro APT.

Os sinais dos hidrogênios aromáticos (Figura 7 e 8), em  $\delta_{\text{H}}$  6,76 (d,  $J = 8,0$  Hz) e 6,78 (d,  $J = 8,0$  Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-8 e H-9, respectivamente. Ainda foi observado sinais de dois grupos metoxílicos em torno de 3,81 e 3,83 ppm.

A análise do espectro de APT (Figuras 9, 10 e 11), permitiu identificar 20 sinais de carbonos, sendo 4 carbonos metílicos ligados a heteroátomos, entre  $\delta_{\text{C}}$  43,73 e  $\delta_{\text{C}}$  56,78; 4 carbonos quaternários oxigenados, entre  $\delta_{\text{C}}$  148,13 e  $\delta_{\text{C}}$  152,73 e 3 carbonos metínicos em  $\delta_{\text{C}}$  110,17, 111,23 e 118,37 e 5 carbonos quaternários aromáticos entre  $\delta_{\text{C}}$  117,74 e 126,39.

Com o espectro de HSQC (Figura 12) foi possível atribuir os valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios e os carbonos correspondentes, C4 (24,85) com H4 (2,80 e 3,28), C7 (31,9) com H7 (2,60 e 3,10), C5 (62,55) com H5 (3,45 e 3,59), C6a (71,46) com H6a (4,10), C8 (111,2) com H8 (6,78) C3 (110,2) com H3 (6,62), C9 (118,4) com H9 (6,78).

Os dados de HMBC mostraram as correlações  $^{2-3}J$  como mostrado nas figuras 14 e 15. A localização das metoxilas foram pela correlação  $^3J$  entre os

sinais em  $\delta_H$  3,81 e 3,83 ppm com os carbonos C-2 (152,7) e C-10 (151,52). As correlações entre H-3 (6,62) e C-4 (24,85), e das metilas (2,89 e 3,34) com C-5 (62,55) e C-6a (71,46) indicou que a substância tratava-se de um alcaloide aporfínico.

O espectro de massas (ESI-MS<sup>+</sup>) (Figura 14) mostrou um pico em  $m/z$  342 [M+H]<sup>+</sup>, indicando a presença de número ímpar de nitrogênio. O espectro mostrou uma fragmentação em 297 referente a perda de [M-NH-2xCH<sub>3</sub>], para a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>N. A substância apresentou ponto de fusão 181-183 °C e  $[\alpha]_D^{25} +90.00$  (MeOH,  $c = 0,1$ ) (Literatura  $[\alpha]_D^{25} +150,0$  (MeOH,  $c = 0,1$ , PF = 197-198° C). Os dados de RMN 1D e 2D estão na Tabela 2.

Com base nos dados obtidos e comparação com os dados na literatura, foi possível identificar a substância como sendo 5,6,6a,7-tetrahidro-1,11-dihidroxi-2,10-dimetoxi-6,6-dimetil-4*H*-dibenzoquinolínio, conhecida como (S)-magnoflorina (Figura 15), que apresenta atividade antidiabética, segundo relato da literatura (PATEL & MISHRA, 2012). Essa substância foi anteriormente identificada na espécie *Croton xalapensis* (AREVALO et al, 2009), sendo relatada pela primeira vez na espécie *Croton echioides*.

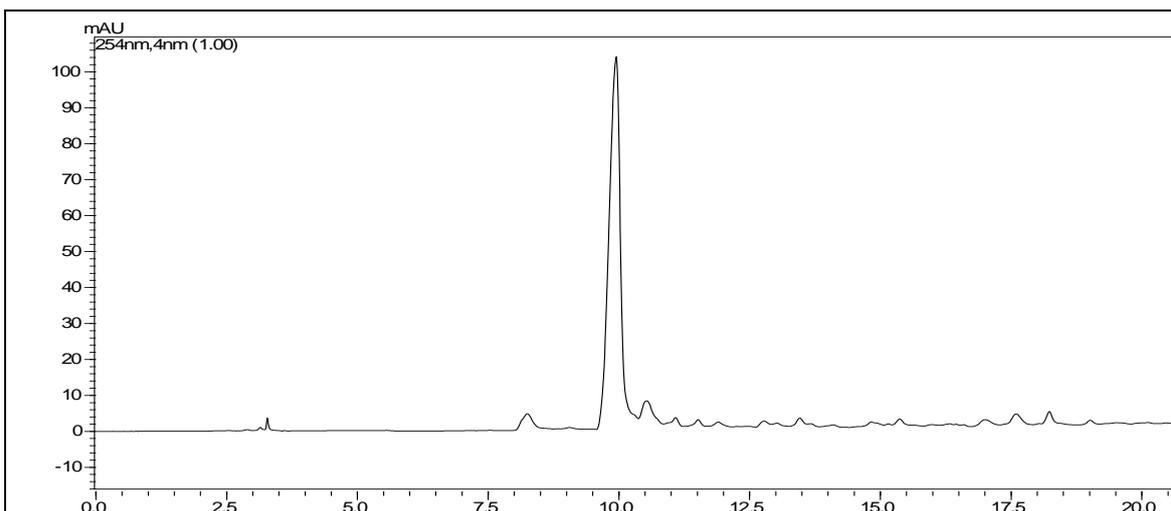


Figura 5. Cromatograma da Fr. MeOH (3-4) (CLAE-DAD, 254 nm).

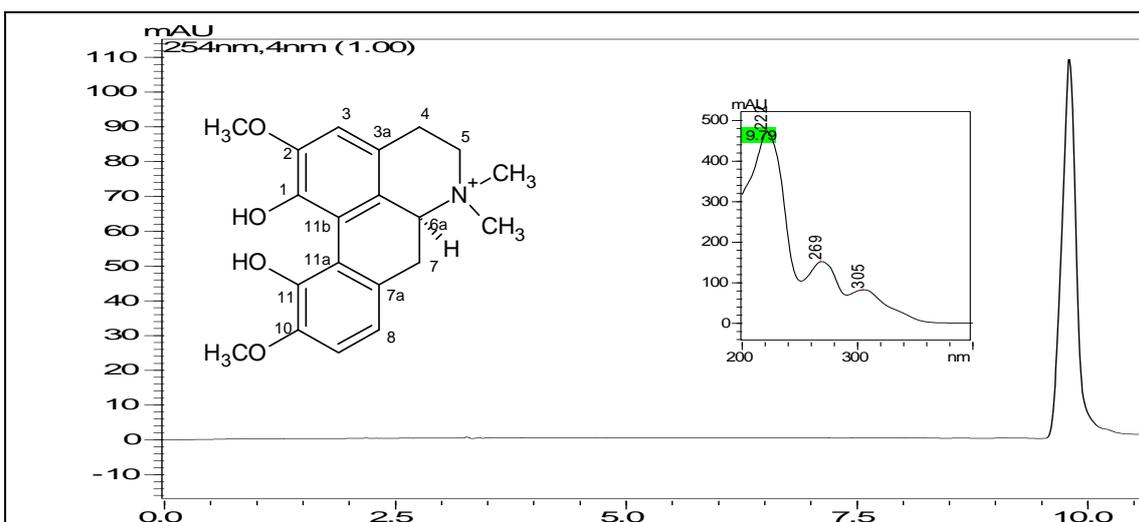


Figura 6. Cromatograma e espectro de UV da substância 1.

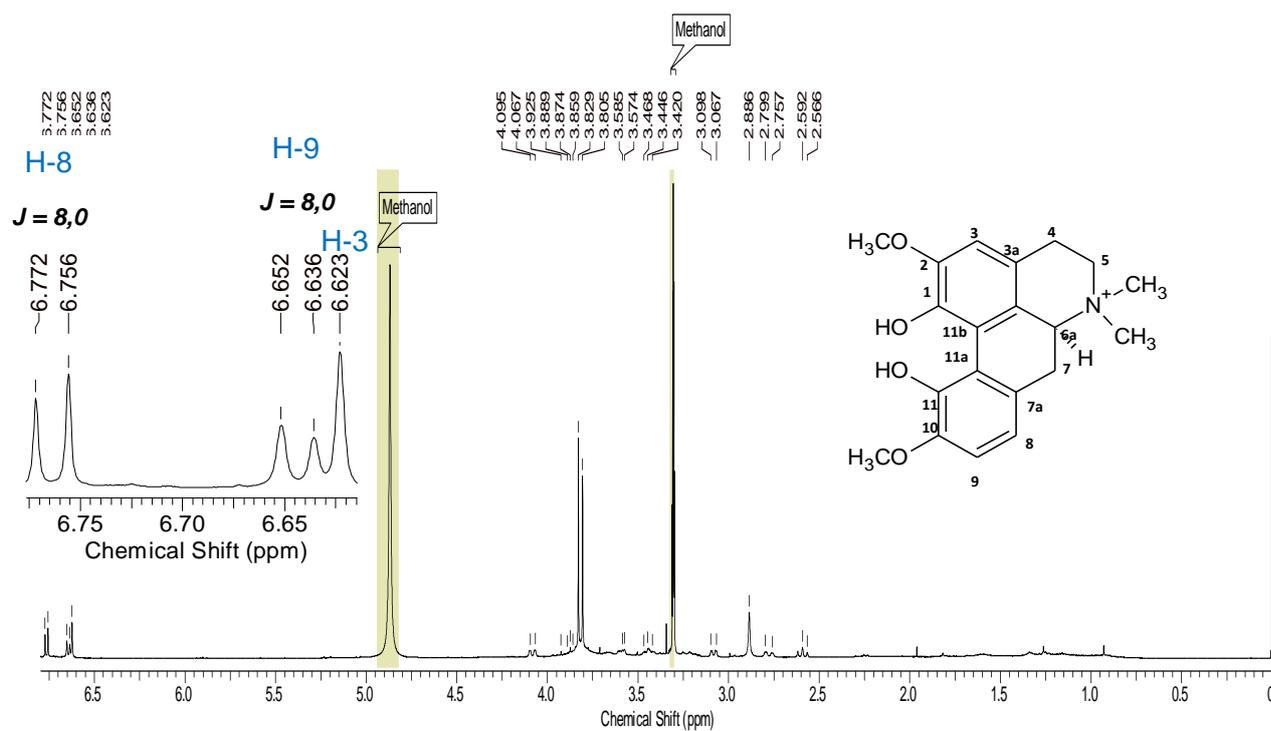


Figura 7. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de substância 1 em metanol- $d_4$  (500 MHz).

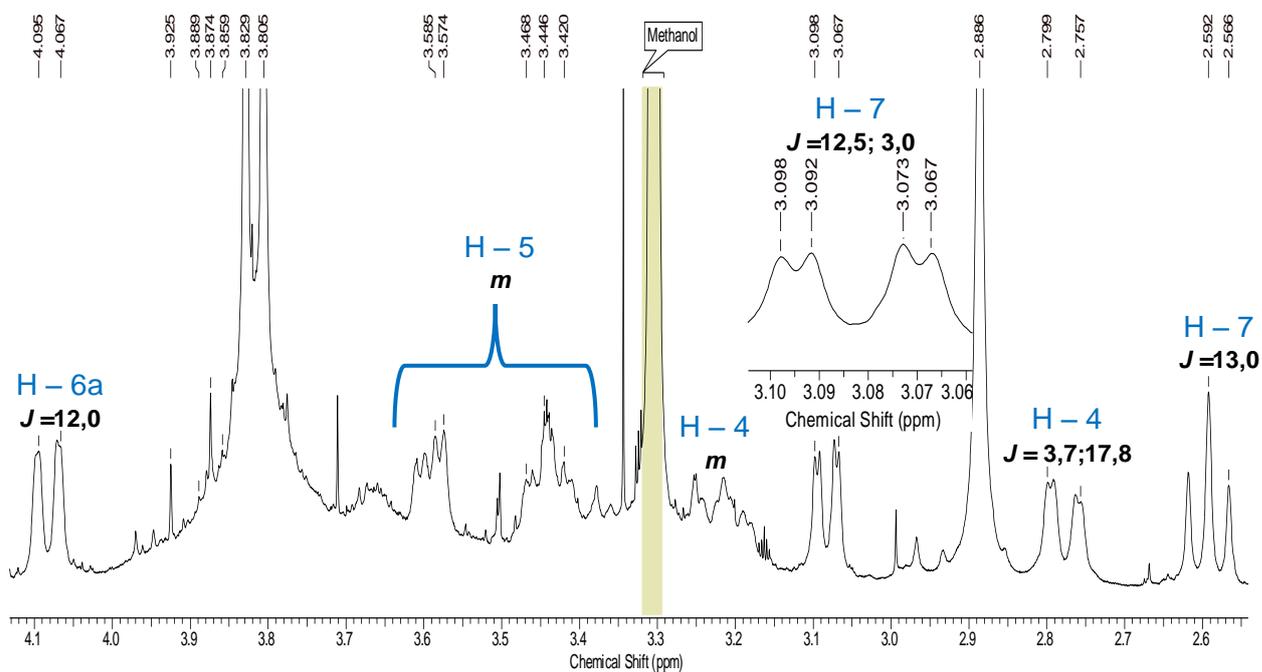


Figura 8. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de substância 1 em metanol- $d_4$  expansão em campo alto (500MHz).

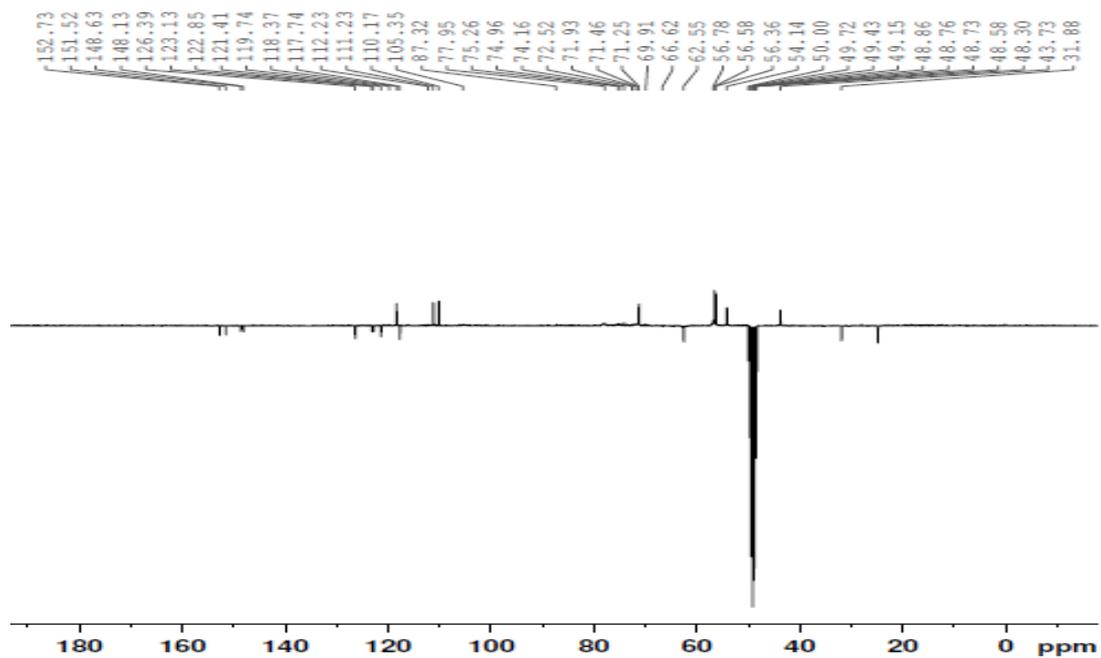


Figura 9. Espectro de APT de substância 1 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

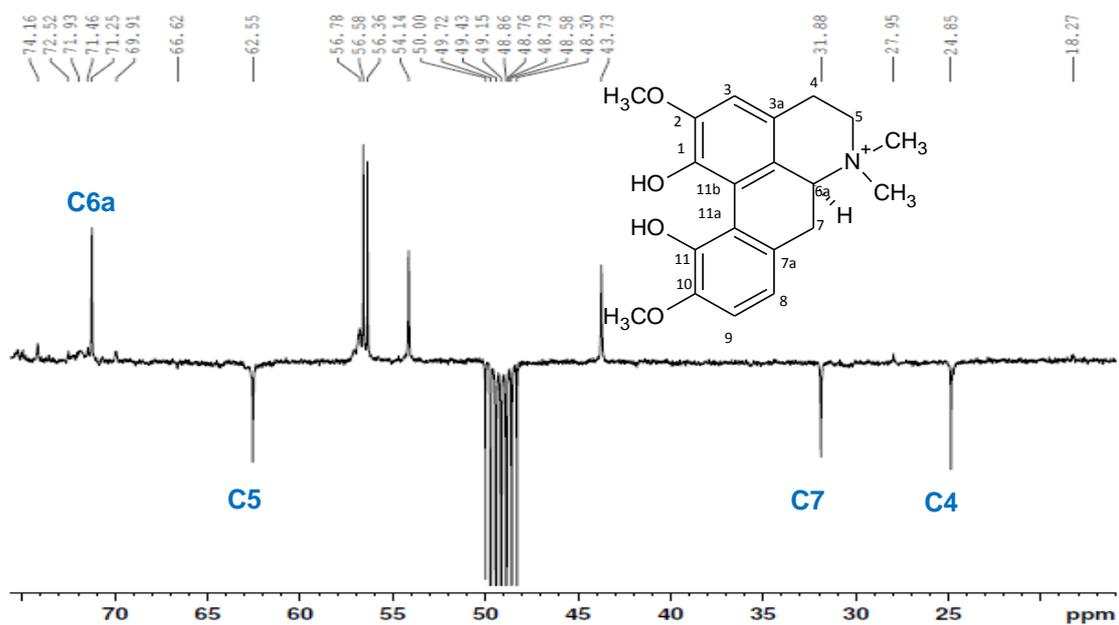


Figura 10. Espectro de APT de substância 1 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

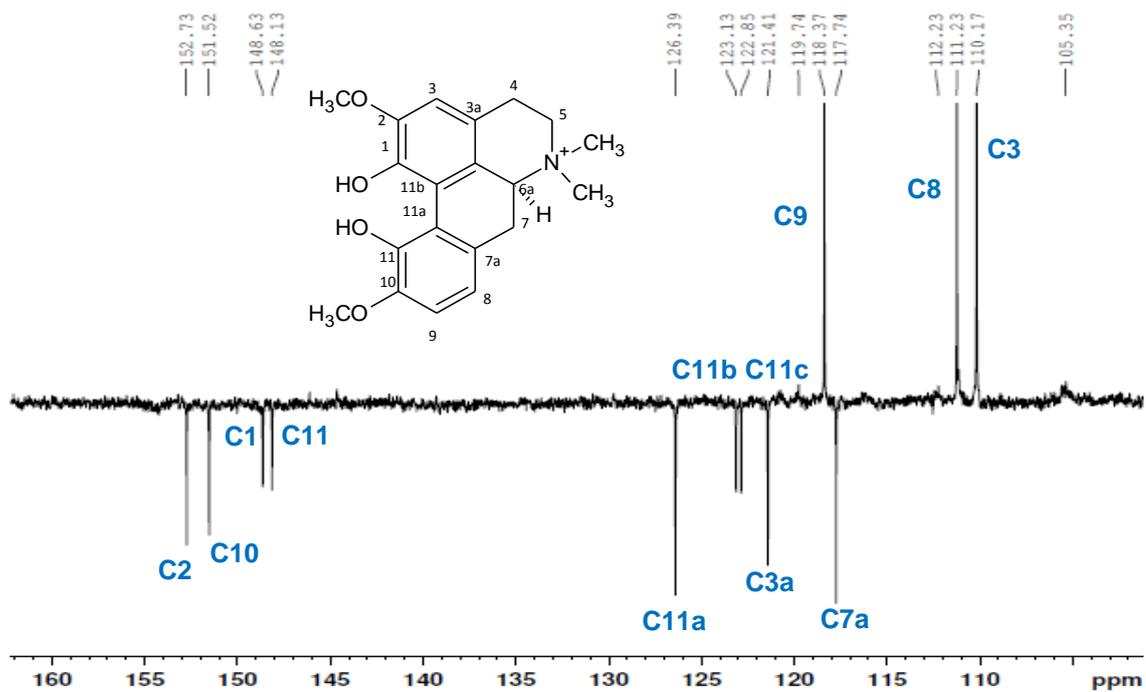


Figura 11. Espectro de APT substância 1 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

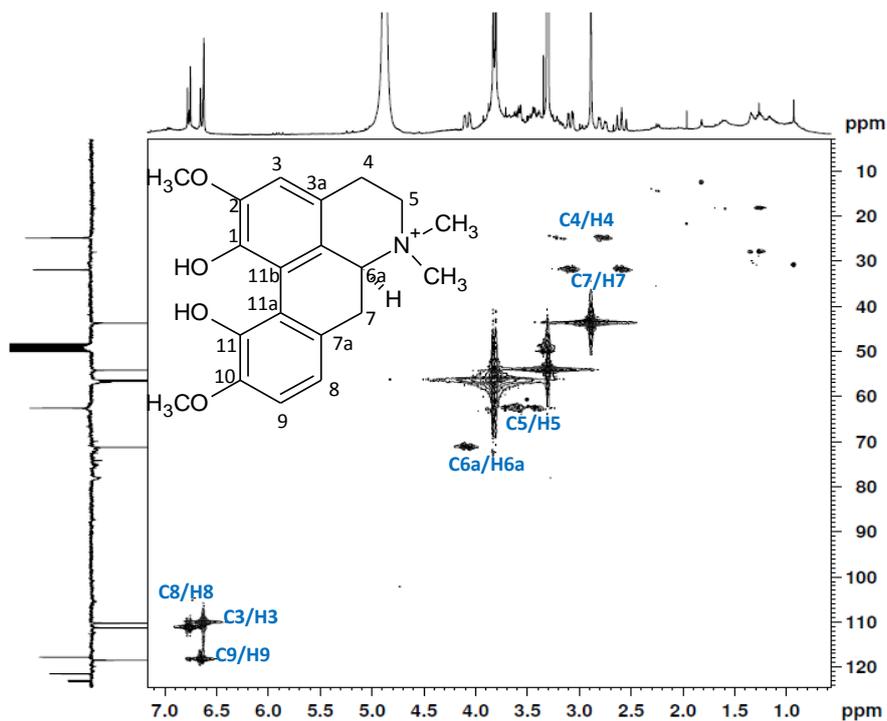


Figura 12. Espectro de HSQC de substância 1 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

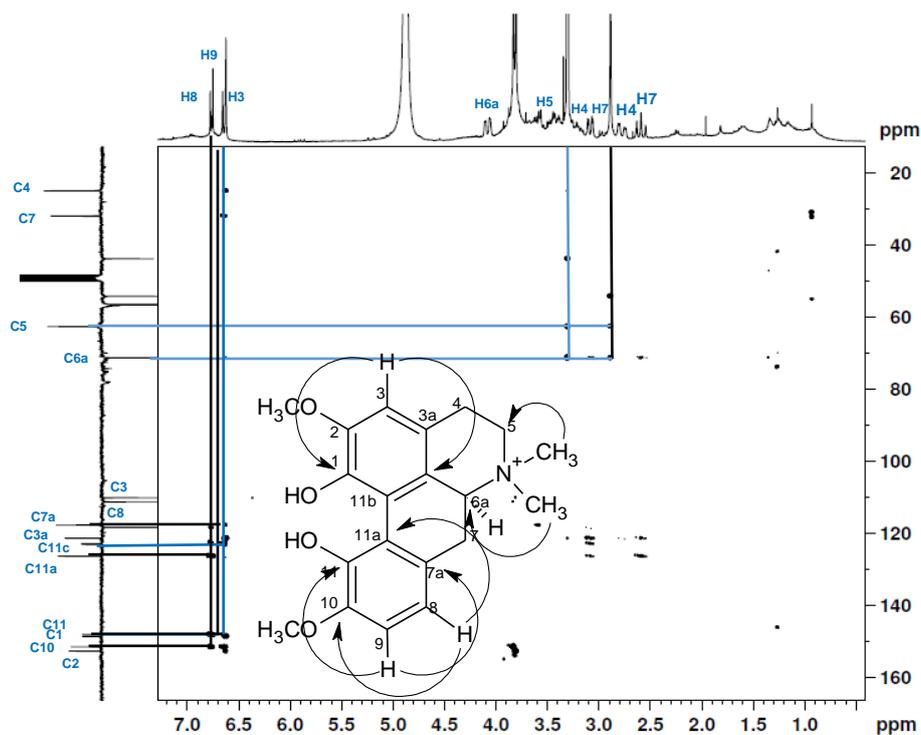


Figura 13. Espectro de HMBC de substância 1 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

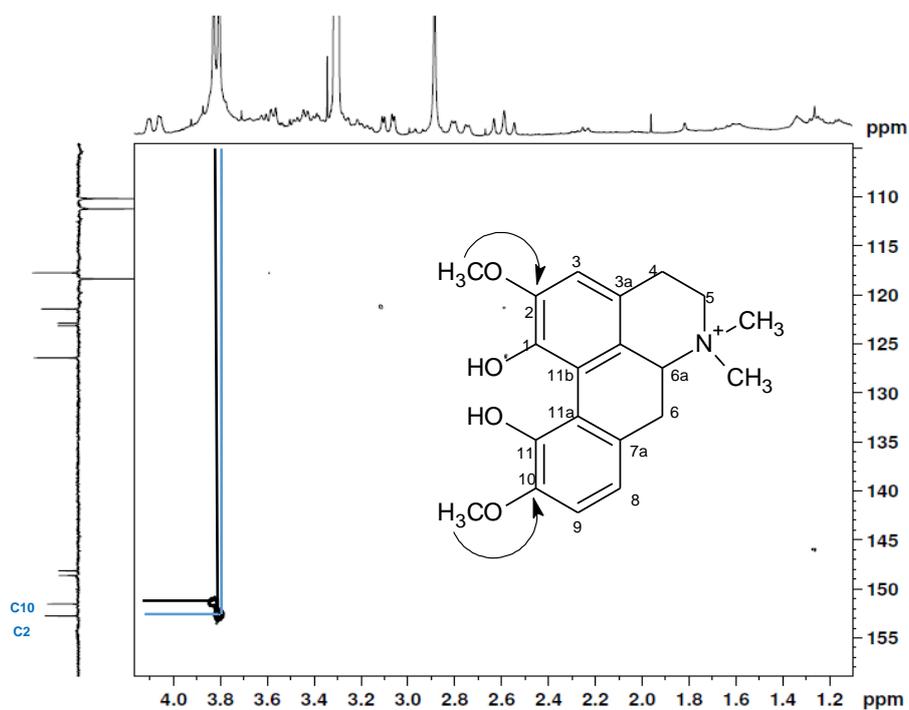


Figura 14. Espectro de HMBC de substância 1 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

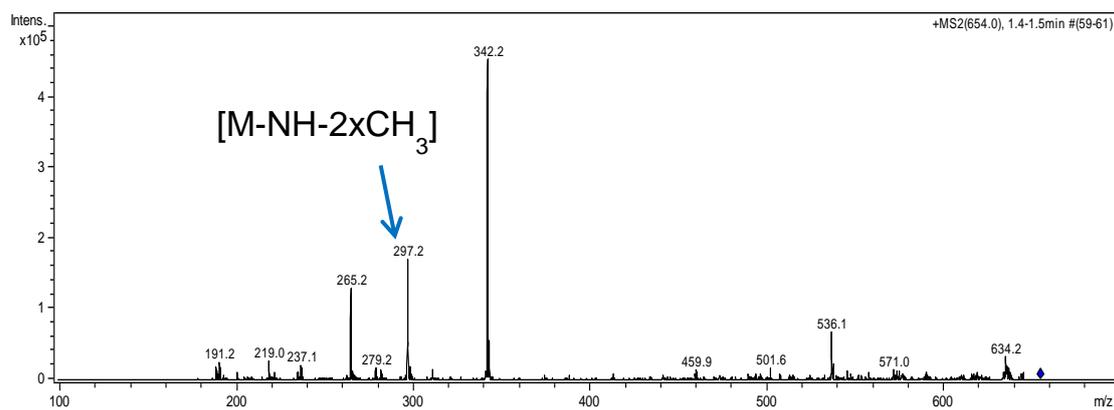
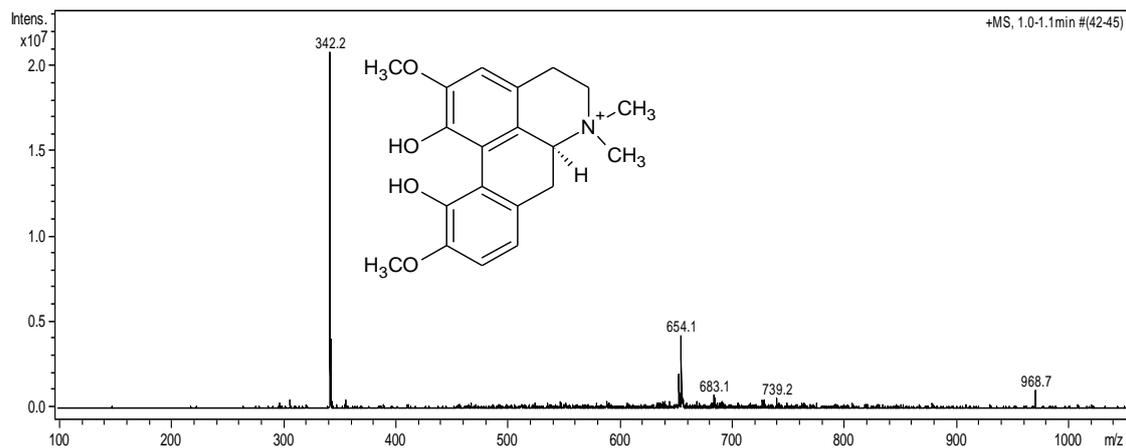
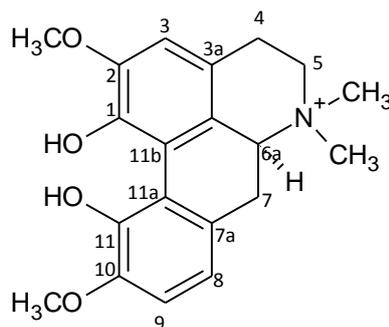


Figura 15. Espectro de massas (ESI-MS<sup>+</sup>) da substância 1 .

**Tabela 2.** Dados de RMN 1D e 2D de  $^1\text{H}$  e APT (500 MHz e 300 MHz, em metanol- $d_4$ , respectivamente) da substância 1 (S)-magnoflorina obtida de *C. echioides*. Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMQC}$			$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} \text{ HMQC}^*$	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H} [m, J (\text{Hz})]$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H} [m, J (\text{Hz})]$
1	148,6		H3	149,3	
2	152,7			151,4	
3	110,2	6,62 (1H, s)		109,3	6,64 (1H, s)
4	24,85	2,80 (1H, dd, $J=17,8; 3,7$ ) 3,28 (1H, m)		23,4	2,88 (1H, dd, $J=17,50, 4,05$ ) 3,28 (1H, m)
5	62,55	3,45 (1H,m) 3,59 (1H,m)		61,2	3,59 (1H, m) 3,68 (1H, m)
7	31,9	2,60 (1H, t, $J = 13,0$ ) 3,10 (1H, dd, $J = 12,5; 3,0$ )		30,7	2,75 (1H, t, $J = 12,6$ ) 3,16 (1H, m)
8	111,2	6,78 (1H, d, $J = 8,0$ )		108,0	6,75 (1H, d, $J = 7,95$ )
9	118,4	6,76 (1H, d, $J = 8,0$ )		115,6	6,62 (1H, s)
10	151,5		H8	150,5	
11	148,1		H9	149,1	
3a	121,4			119,6	
6a	71,4	4,10 (1H, d, $J=12,00$ )		70,4	4,23 (1H, d, $J=12,30$ )
7a	117,7		H9	126,2	
11a	126,4		H8	124,5	
11b	123,1			123,2	
11c	122,8		H3	120,1	
NCH <sub>3</sub> $\alpha$	43,7	2,89 (3H, s)		42,0	2,98 (3H, s)
NCH <sub>3</sub> $\beta$	54,1	3,34 (3H, s)		52,5	3,36 (3H, s)
OCH <sub>3</sub>	56,4	3,81 (3H, s)		54,6	3,83 (3H, s)
OCH <sub>3</sub>	56,6	3,83 (3H, s)		55,0	3,84 (3H, s)

\*YUSOFF, HAMID e HOUGHTON, 2012(500 MHz, 125 MHz, metanol- $d_4$ ).



**Figura 16.** Substância 5,6,6a,7-tetrahydro-1,11-dihidroxi-2,10-dimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio (Substância 1) isolada da casca de *Croton echiooides*.

#### 4.1.2 Substância 2

A substância 2 foi obtida como um precipitado escuro, com teste positivo para o reagente de Dragendorff.

Esta substância mostrou características espectroscópicas semelhantes às obtidas da substância 1. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figuras 17 e 19) mostrou um sinal adicional em  $\delta_{\text{H}}$  3,78 para mais uma metoxila e no APT (Figuras 19, 20 e 21) em  $\delta_{\text{C}}$  63,00.

Com os dados obtidos dos espectros de HSQC (Figura 22) foi possível atribuir os valores para os hidrogênios e os carbonos correspondentes, C-4 (25,0) com H-4 (3,20), C-7 (31,8) com H-7 (2,88 e 3,02), C-5 (62,3) com H-5 (3,60), C-6a (70,8) com H-6a (4,43), C-3 (112,5) com H-3 (7,02), C-8 (113,3) com H-8 (6,98) e C-9 (120,8) com H-9 (6,97).

Nos espectros de RMN de HMBC (Figuras 23, 24, 25 e 26) foi possível confirmar localização das metoxilas foi confirmada pela correlação  $^3J$  entre os sinais  $\delta_{\text{H}}$  3,73, 3,88 e 3,94 ppm com os carbonos C-1 (145,62), C-10 (151,12) e C-2 (154,93). As correlações das metilas (3,02 e 3,42) com C-5 (62,30) e C-6a (70,84) confirmou tratar-se de um alcaloide aporfínico.

O espectro de massas (ESI-MS<sup>+</sup>) (Figura 27) quando comparado ao espectro de massas da substância 1, foi observado a diferença de 14 unidades, confirmando a presença de mais uma metoxila na molécula. As fragmentações em 310,9 e 278,9 são para as perdas de [M-NH-2xCH<sub>3</sub>] e [M-NH-2xCH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>O]. O conjunto de dados permitiu identificar o alcaloide aporfínico, como a (S)-menisperina (SINGH et al., 2014), com fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>O<sub>4</sub>N. A substância apresentou ponto de fusão 215-217 °C e  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 154,0$  (MeOH, c = 0,03) (Literatura  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 168$  (MeOH, c = 0,03 PF = 219 °C)). Os dados de RMN 1D e 2D são apresentados na Tabela 3 (SINGH et al., 2014).

Com base nos dados obtidos e na comparação com os dados encontrados na literatura, foi possível identificar a substância como 5,6,6a,7-tetrahydro-11-hidroxi-1,2,10-trimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio, conhecida como (S)-menisperina (Figura 28). Essa substância foi anteriormente identificada na espécie *Berneris petiolaris*. (SING et al., 2014), sendo o primeiro relato na espécie de *Croton echiooides*.

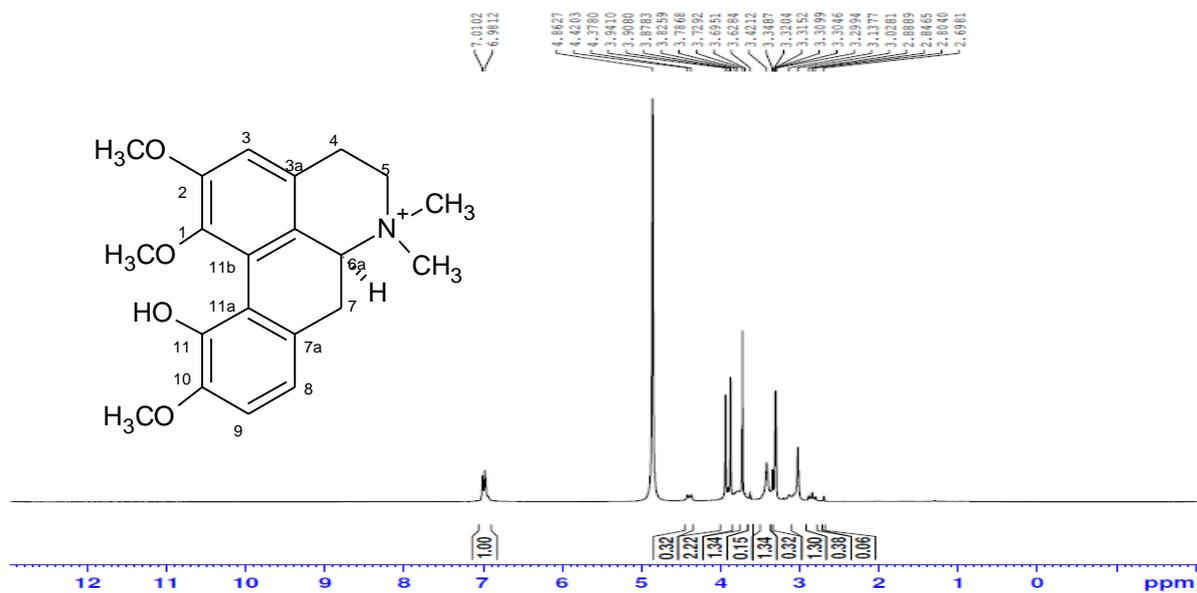


Figura 17. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

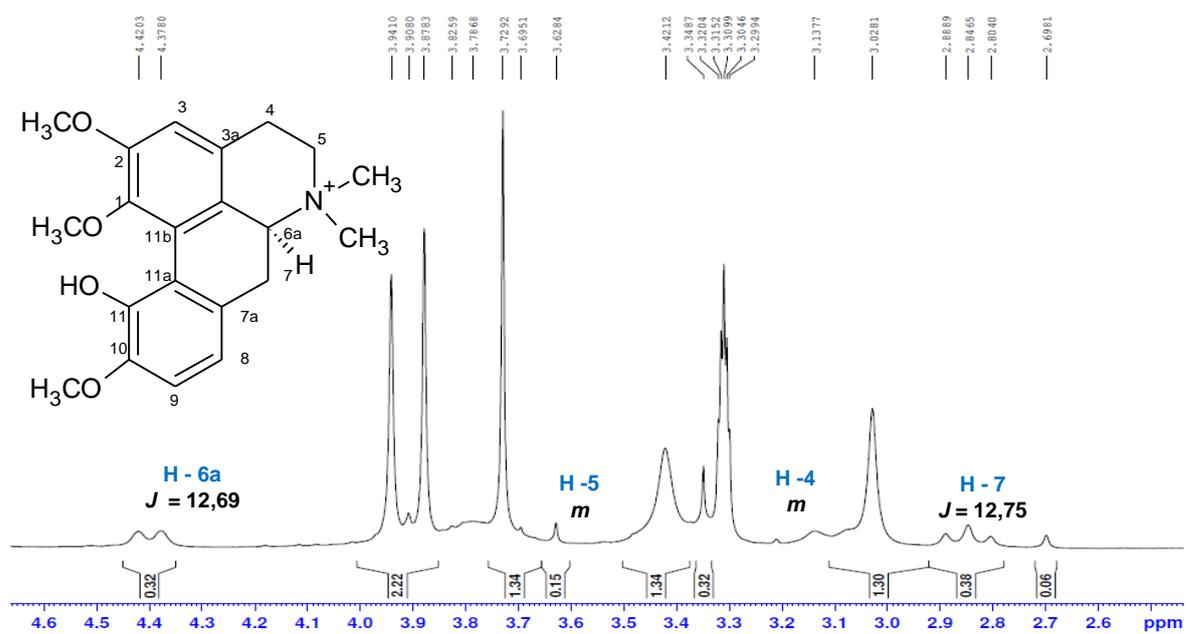


Figura 18. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 2 em metanol- $d_4$  expansão em campo alto (300 MHz).

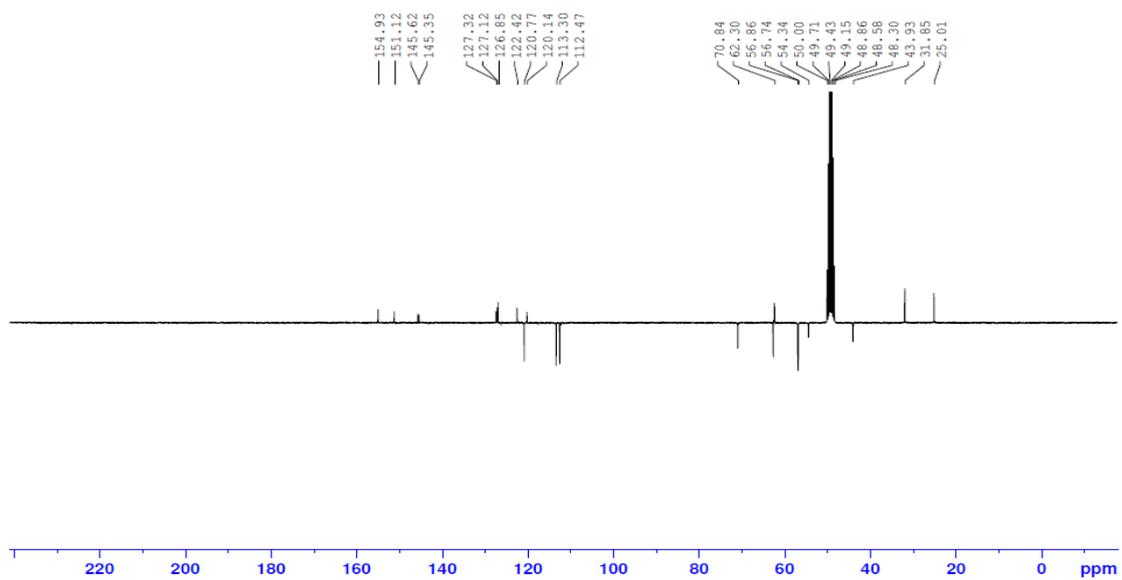


Figura 19. Espectro de APT da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

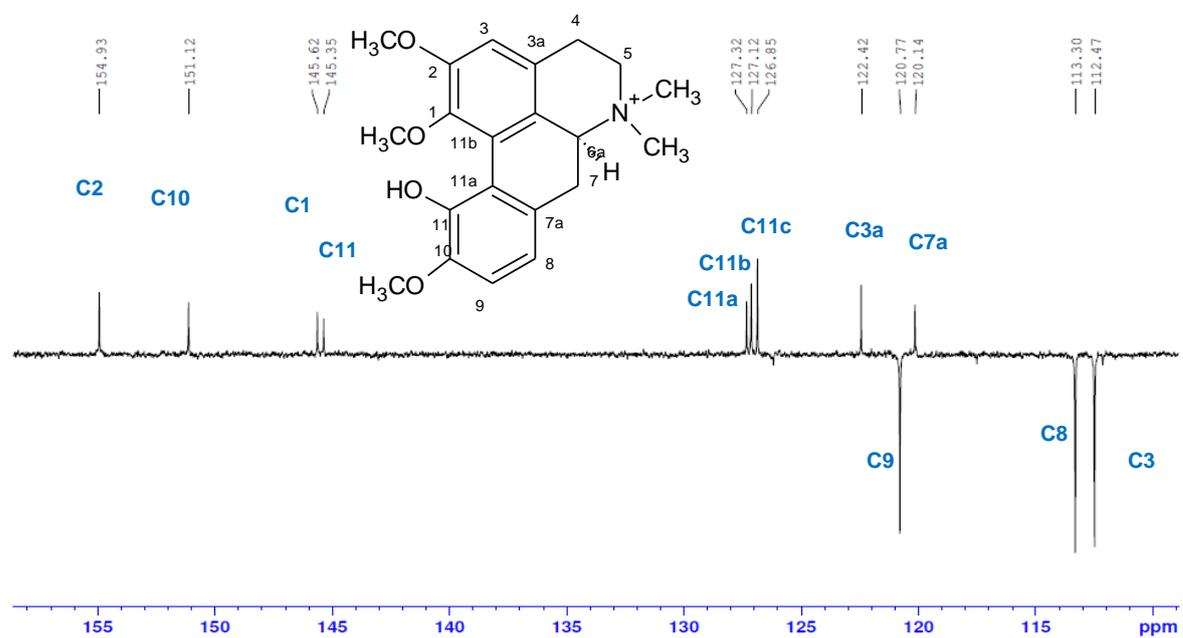


Figura 20. Espectro de APT da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

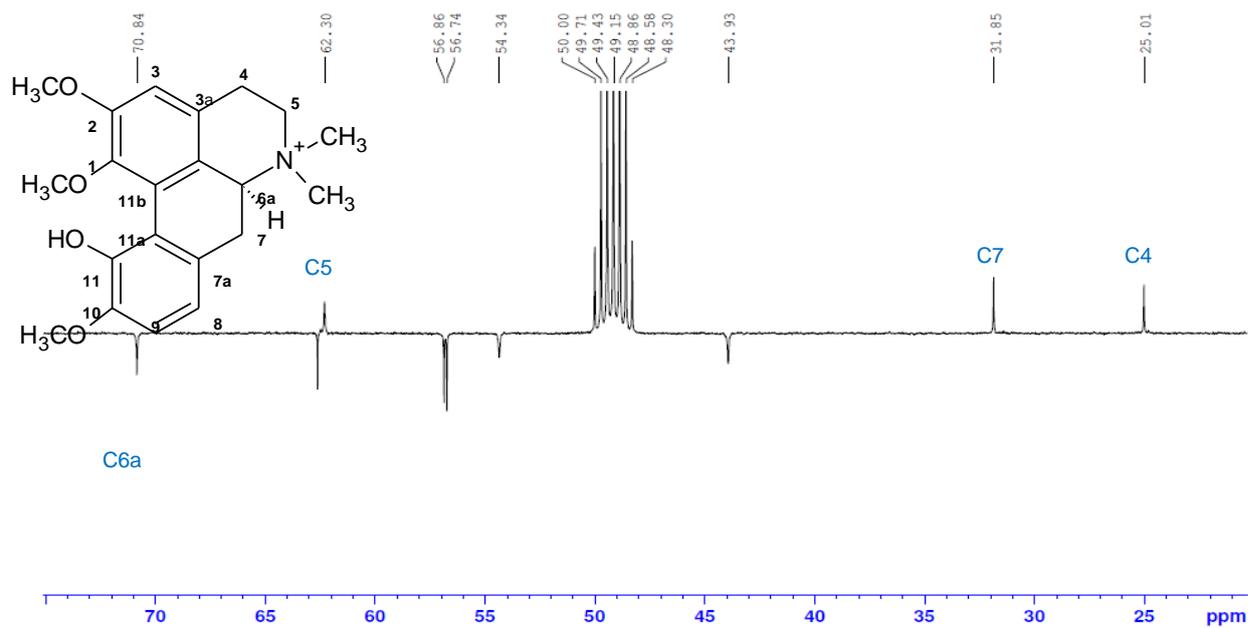


Figura 21. Espectro de APT da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

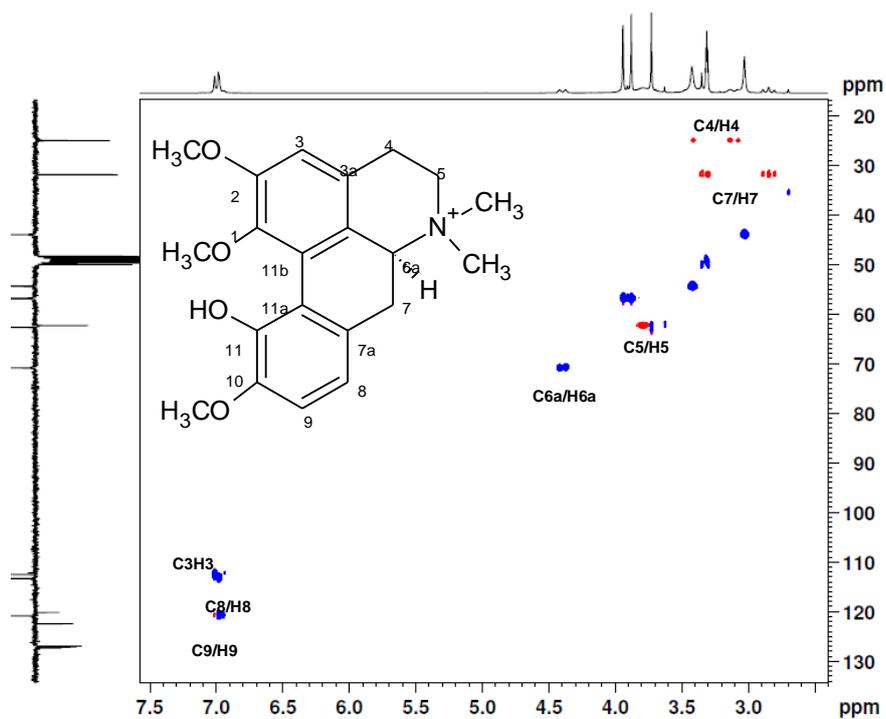


Figura 22. Espectro de HSQC da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

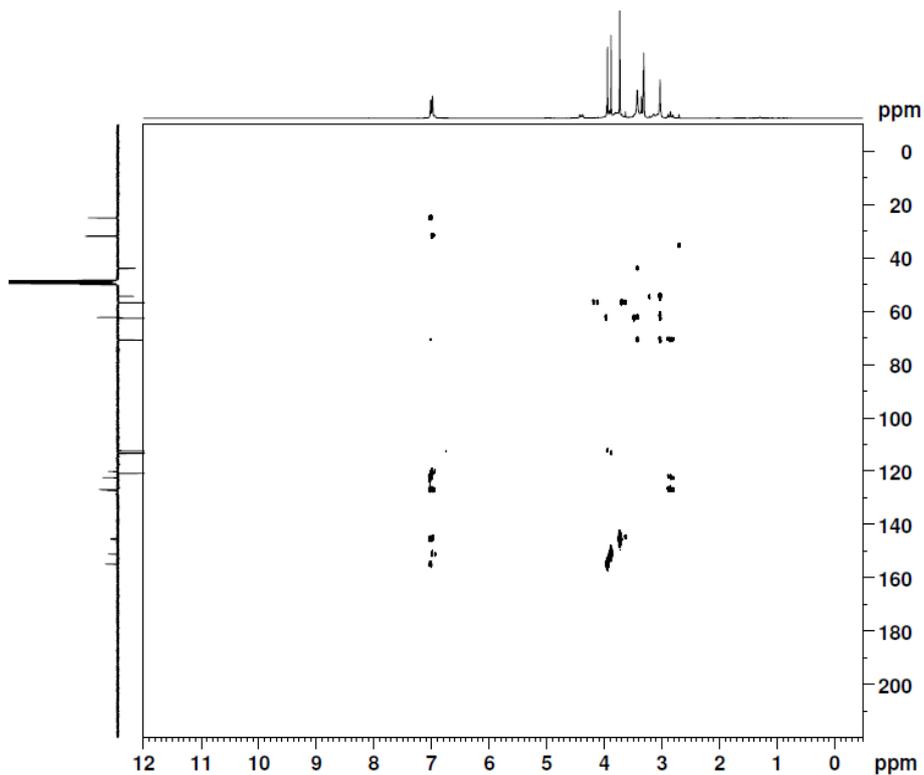


Figura 23. Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

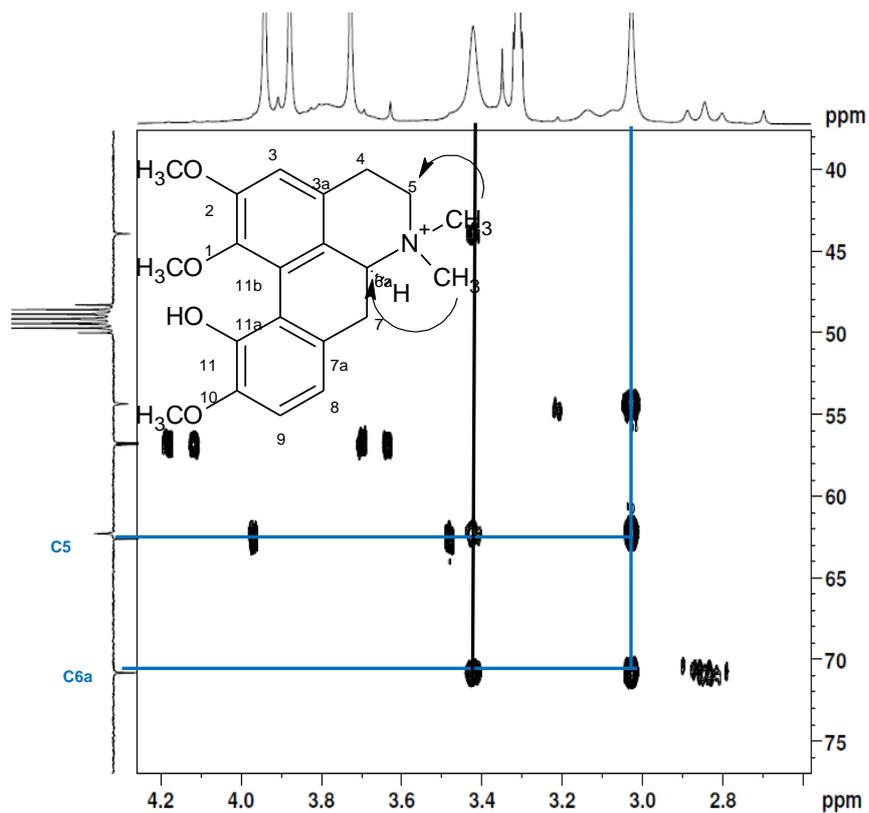


Figura 24. Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

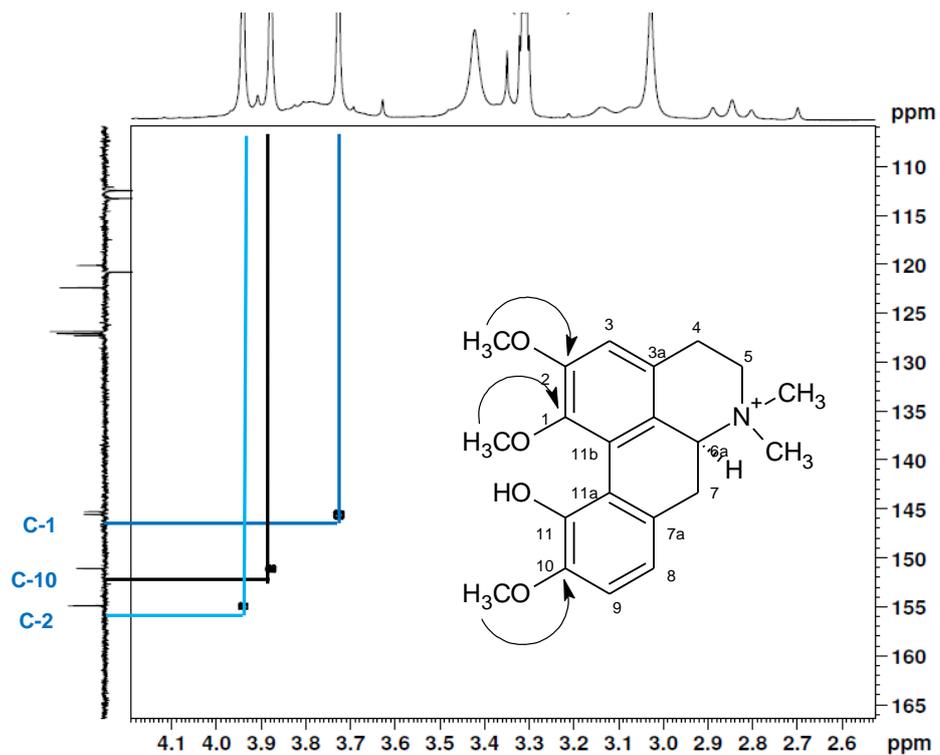


Figura 25. Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).

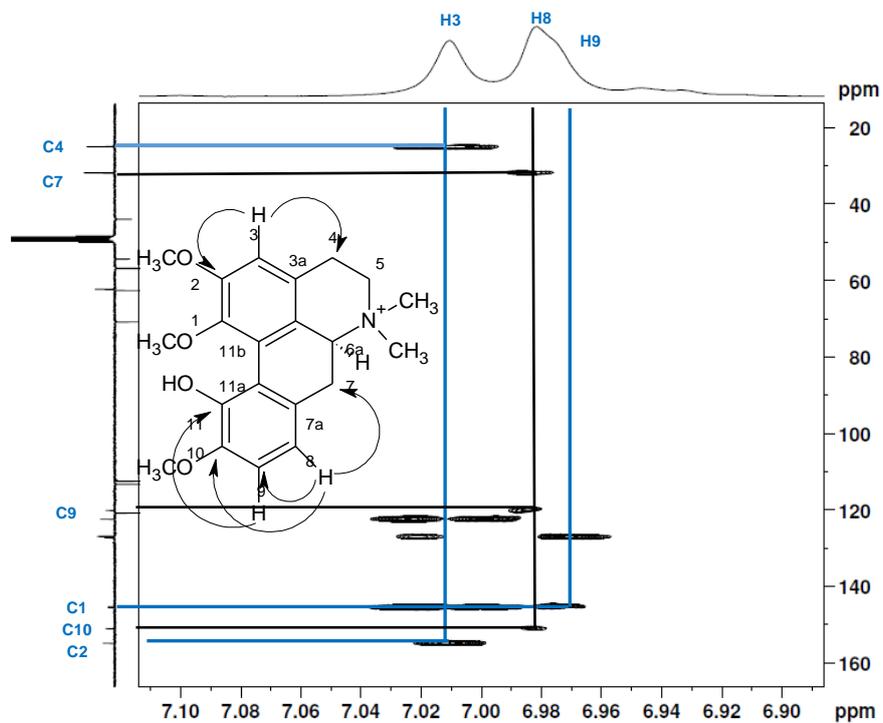
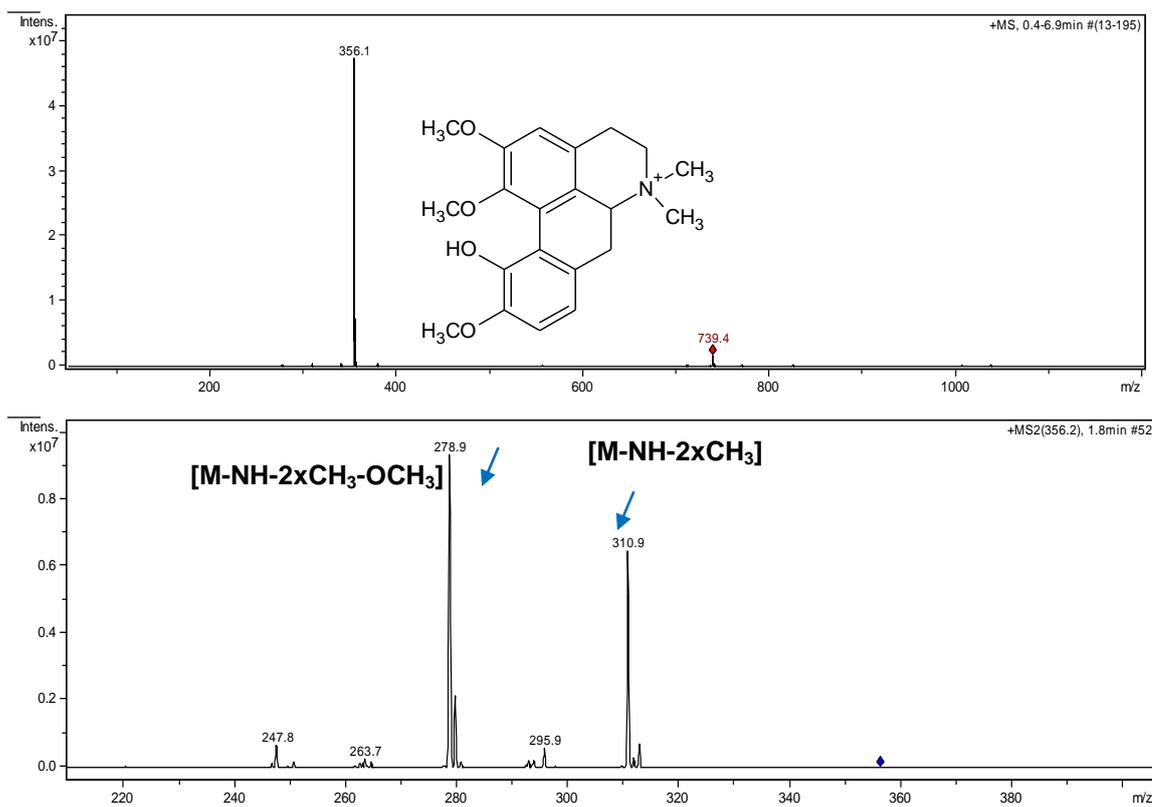


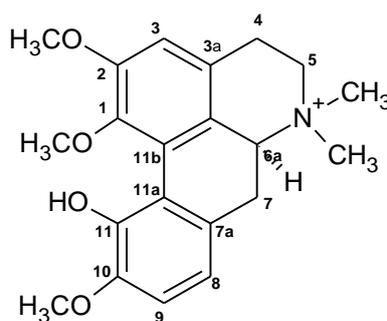
Figura 26. Espectro de HMBC da substância 2 em metanol- $d_4$  (300 MHz).



**Tabela 3.** Dados de RMN 1D e 2D de  $^1\text{H}$  e APT (300 MHz, em metanol- $d_4$ , respectivamente) de substância 2 (*S*)-menisperina obtida de *C. echioides*. Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMQC}$				$^1\text{H} \times ^{13}\text{C} - \text{HMQC}^*$	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H} [m, J (\text{Hz})]$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H} [m, J (\text{Hz})]$
1	145,6				143,0	
2	154,9		H3		152,9	
3	112,5	7,02 (1H, s)			110,6	7,02 (1H, s)
4	25,0	3,20 (m)		H3	23,8	
5	62,3	3,60 (m)			60,3	
7	31,8	2,88 (1H, t, $J = 12,75$ ) 3,02 (1H, m)		H8	30,6	
8	113,3	6,98 (1H, s)			119,6	6,97 (1H, s)
9	120,8	6,97 (1H, s)	H8		111,5	6,96 (1H, s)
10	151,1			H8	149,7	
11	145,3			H9	143,5	
3a	122,4				125,2	
6a	70,8	4,43(d, $J = 12,69$ )			69,1	4,35 (1H, d, $J = 3,5; 14, 0$ )
7a	120,1				124,3	
11a	127,3				120,2	
11b	127,1				126,0	
11c	126,8				118,3	
CH <sub>3</sub> $\alpha$	43,93	3,02(3H, s)			42,9	3,05 (3H, s)
CH <sub>3</sub> $\beta$	54,9	3,31 (3H, s)			53,5	3,65 (3H, s)
OCH <sub>3</sub>	56,7	3,73 (3H, s)			55,8	3,75 (3H, s)
OCH <sub>3</sub>	56,9	3,88 (3H, s)			55,8	3,92 (3H, s)
OCH <sub>3</sub>	63,0	3,94 (3H, s)			62,1	3,95 (3H, s)

\*AZIMOVA, 2013 (metanol- $d_4$ )



**Figura 28.** Substância 5,6,6a,7-tetrahidro-11-hidroxi-1,2,10-trimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio (Substância 2) isolada da casca do caule de *Croton echioides*.

### 4.1.3 Substância 3

A substância 3 foi obtida como sólido de cor branca. Quando revelado com o reagente de Liebermann, mostrou positivo para terpeno.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (Figura 29 e 30) mostraram um conjunto de envelope na região  $\delta_{\text{H}}$  0,5-2,9 característicos de terpeno. Os sinais de grupos metilas em torno de  $\delta_{\text{H}}$  1,68, 1,03, 0,96, 0,95, 0,82, 0,78 e 0,76, como simpleto e em 4,68 e 4,56 referentes ao H-29 e um duplo dubleto em 3,18 ( $J = 5,4; 10,8$ ) referentes ao hidrogênio carbinólico (H-3).

Nos espectros de APT (Figura 31 e 32) em  $\text{CDCl}_3$  foi observado 30 sinais de carbonos, o sinal em 79,2 ppm foi atribuído carbono ligado a hidroxila em C-3, os sinais em 151,1 e 109,5 ppm corresponde aos carbonos olefínicos da ligação dupla referentes ao C-20 e C-29, característicos da série lupano.

O espectro de massas (ESI- $\text{MS}^+$ ) da substância (Figura 33) mostrou um pico em 409  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  referente a perda de água na substância, para a fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ . A substância apresentou um  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} + 25,85$  ( $\text{CH}_3\text{Cl}$ ,  $c = 0,066$ ) e  $\text{PF} = 212\text{-}214^\circ \text{C}$  (Literatura  $[\alpha]^{25}_{\text{D}} + 26,40$  ( $\text{CH}_3\text{Cl}$ ,  $c = 0,4$ ,  $\text{PF} = 215\text{-}216^\circ \text{C}$ ). Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e APT estão na tabela 4.

Com base nos dados obtidos e na comparação com os dados da literatura foi possível identificar a substância como  $3\beta$ -lup-20(29)-en-3-ol, conhecida como lupeol (Figura 34). Essa substância apresenta atividade anti-inflamatória, anti-hipertensiva, antimicrobiana e anti-protozoários (GALLO & SARACHINE, 2009). Esse terpeno foi isolado anteriormente de algumas espécies de *Croton* e foi identificada por CCDA em *Croton echiioides* (NOVELLO et al., 2012).

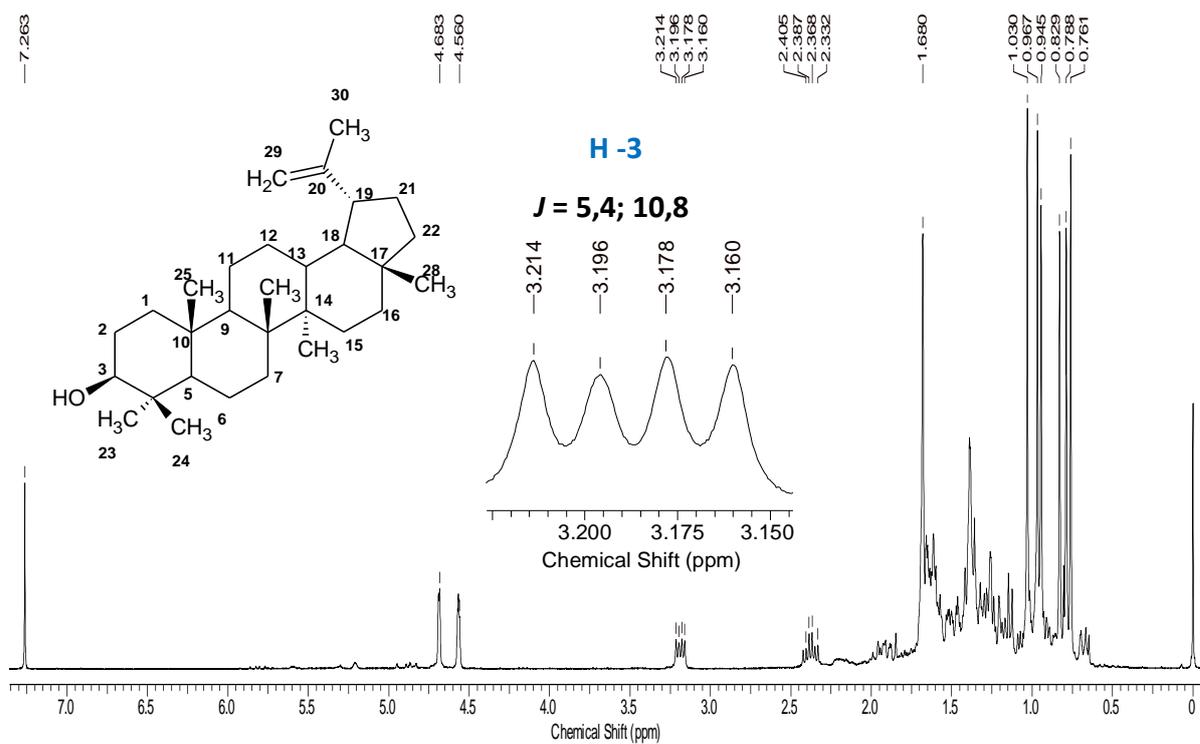


Figura 29. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 3 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

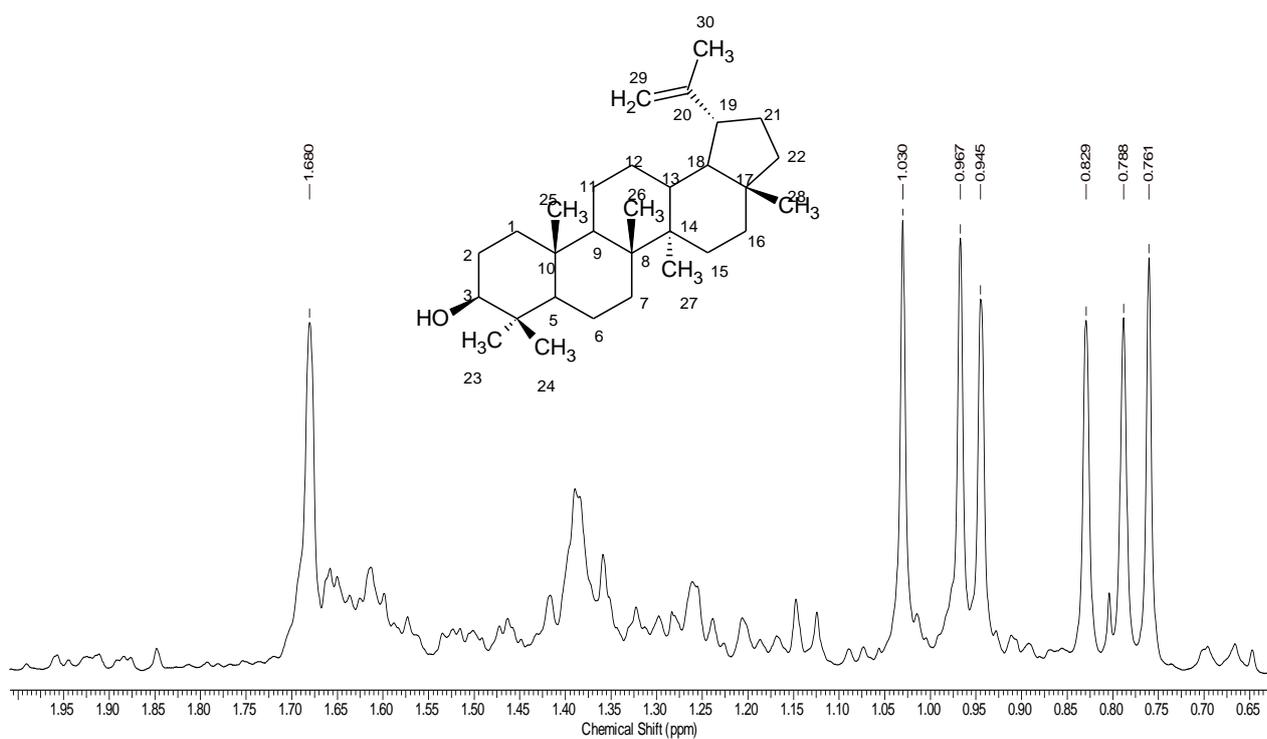


Figura 30. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 3 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz) expansão em campo alto.

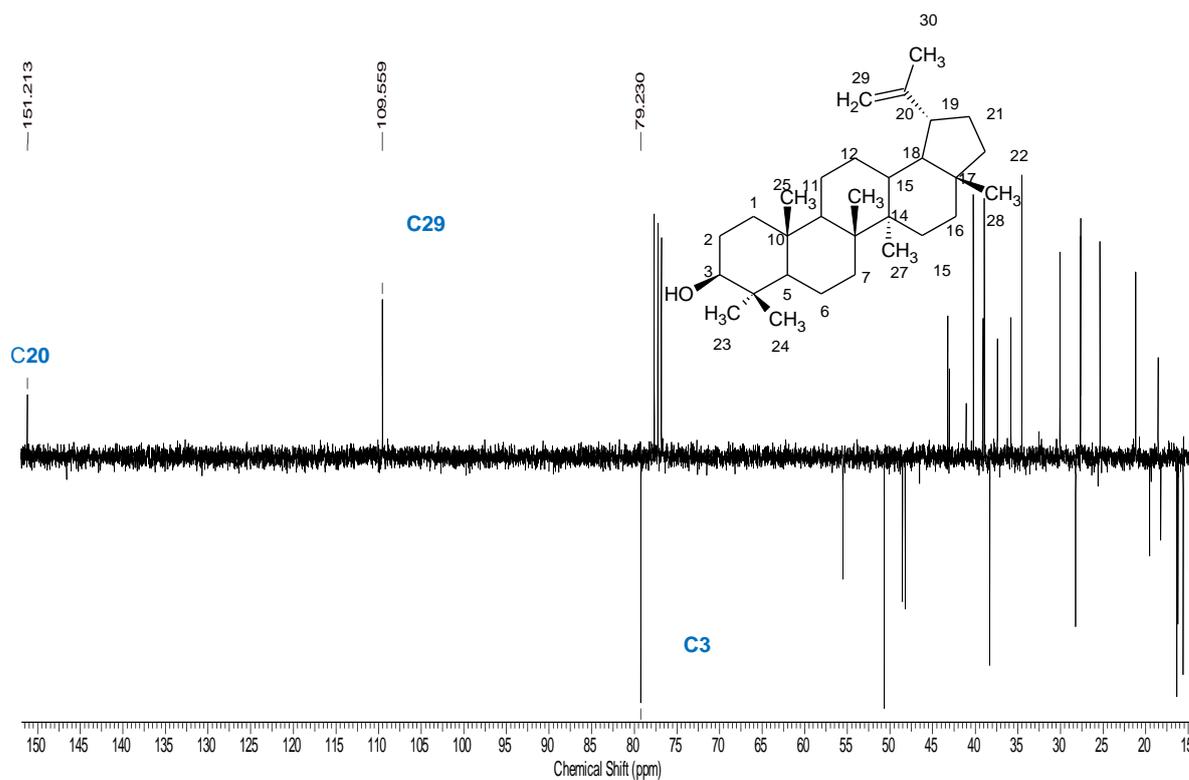


Figura 31. Espectro de APT da substância 3 em CDCl<sub>3</sub> (75 MHz)

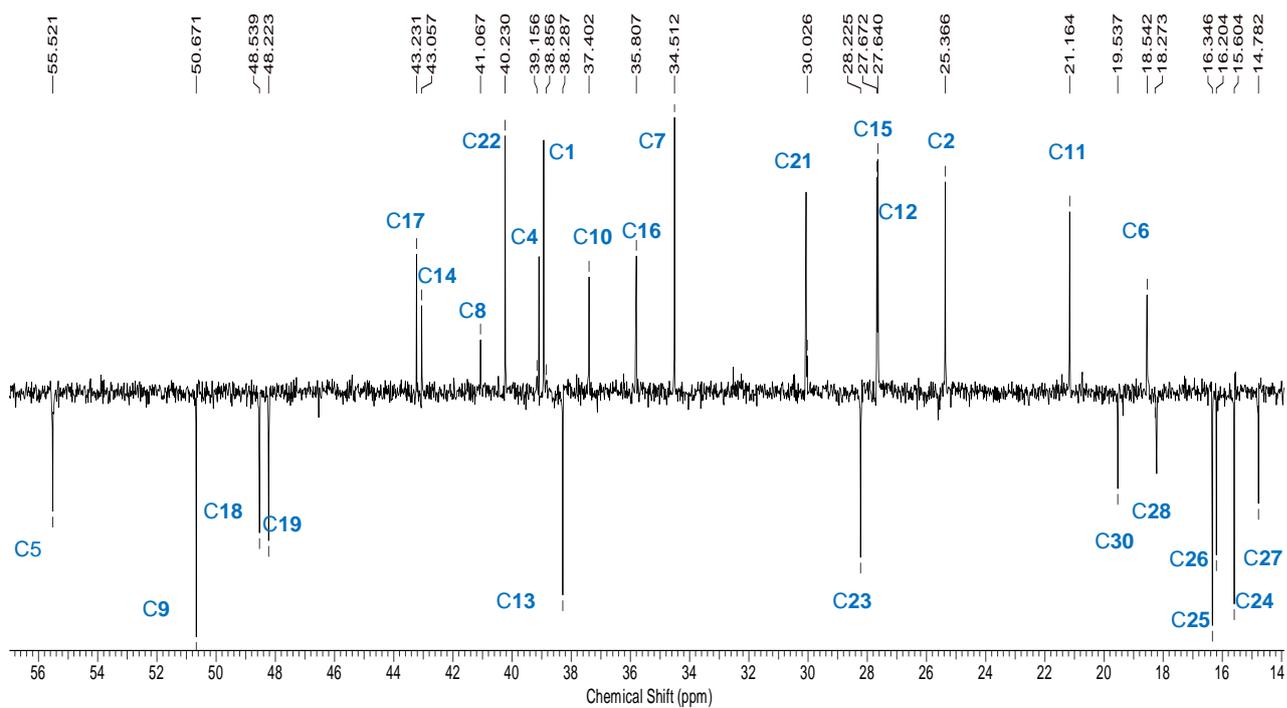


Figura 32. Espectro de APT da substância 3 em CDCl<sub>3</sub> (75 MHz) expansão.

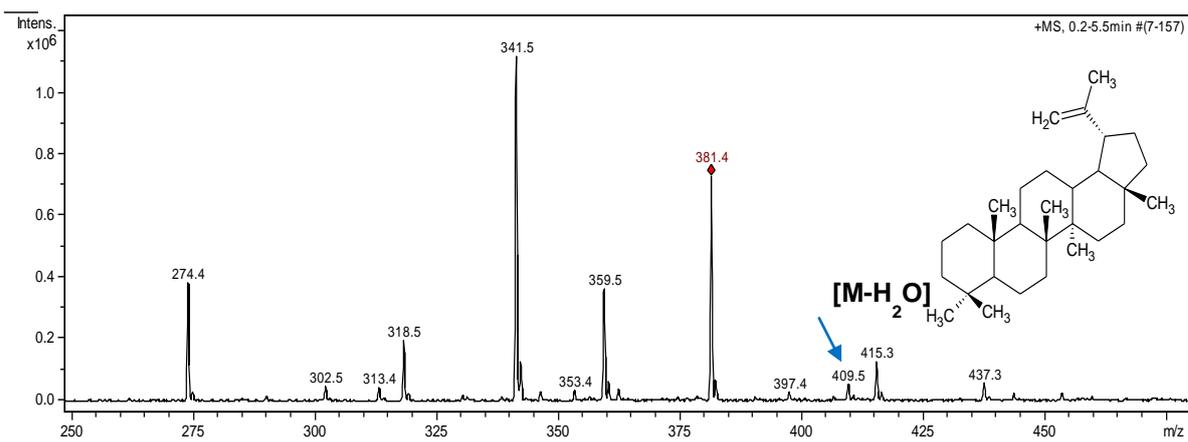


Figura 33. Espectro de massas (ESI-MS<sup>+</sup>) de substância 3.

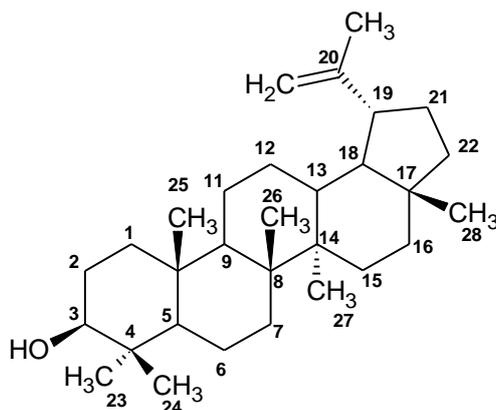
**Tabela 4.** Dados de RMN 1D de  $^1\text{H}$  e APT (300 MHz e 75 MHz, em  $\text{CDCl}_3$ ) da substância 3 (lupeol) obtida de *C. echioides*. Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

C	$\delta^{13}\text{C}$	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}^*$
		$\delta^1\text{H} [m, J(\text{Hz})]$		$\delta^1\text{H} [m, J(\text{Hz})]$
1	38,9		38,0	
2	25,4		25,3	
3	79,2	3,20 (1H, dd, $J = 5,4; 10,8$ )	78,4	3,20 (1H, dd, $J = 5,4; 10,6$ )
4	39,1		38,6	
5	55,5		55,1	
6	18,5		18,1	
7	34,5		34,1	
8	41,1		41,2	
9	50,6		49,7	
10	37,4		37,3	
11	21,2		21,1	
12	27,6		27,5	
13	38,3		39,2	
14	43,0		42,6	
15	27,7		27,6	
16	35,8		35,6	
17	43,2		43,2	
18	48,5		48,2	
19	48,2		47,8	
20	151,2		151,6	
21	30,1		30,0	
22	40,2		40,2	
23	28,2		28,2	
24	15,6		16,0	
25	16,3		16,8	
26	16,2		16,4	
27	14,8		15,1	
28	18,2		18,0	
29	109,6	4,57 (1H, s) 4,68 (1H, s)	108,6	4,56 (1H, s) 4,70 (1H, s)
30	19,5		19,5	

\*PRAKASH & PRAKASH, 2012 (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

30

29



**Figura 34.** 3 $\beta$ -lup-20(29)-en-3-ol (Substância 3) isolada da casca de *Croton echiooides*.

#### 4.1.4. Substância 4

A substância 4 foi obtida como um óleo. A revelação com o reagente de Liebermann em CCDA foi positiva para terpeno.

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  (Figura 35 e 36) apresentaram um conjunto de sinais entre  $\delta$  0,50 e 2,90, característicos de substâncias de natureza terpênica. Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  7,20 e 7,35 indicam a presença de hidrogênios de carbonos  $\text{sp}^2$  ligados a heteroátomos, estes sinais juntamente com o sinal  $\delta_{\text{H}}$  6,24, referentes aos H-15, H-16 e H-14, indicam a presença de um anel furânico,  $\beta$ -monossustituído. Os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  5,24 e 3,60 foram atribuídos aos H-3 e H-4 do grupo vinila, enquanto o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  1,85 foi atribuído a metila deste grupo. Os sinais  $\delta_{\text{H}}$  1,03 e 0,73 são referentes as duas metilas quaternárias dos H-19 e H-20 e o dubleto em  $\delta_{\text{H}}$  0,85, correspondente ao H-17 da metila terciária.

Nos espectros de APT (Figuras 37, 38 e 39) em  $\text{CDCl}_3$  foram observados 20 sinais de carbonos, dos quais foram identificados 4 metílicos, 5 metilênicos e 4 metínicos, sendo os demais, carbonos quaternários. Entre estes, destaca-se o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  75,67, atribuído ao carbono ligado a hidroxila em C-6, que devido aos efeitos indutivos, bem como estéricos, ocorre um deslocamento para campo mais alto para os carbonos C-5 ( $\delta_{\text{C}}$  44,10) e C-7 ( $\delta_{\text{C}}$  38,50) e um deslocamento para campo mais baixo para os carbonos C-8 ( $\delta_{\text{C}}$  34,60) e C-10 ( $\delta_{\text{C}}$  45,60). Essas atribuições foram confirmadas pelo estudo anterior de *Croton sonderianus*, o qual identificou essa mesma substância por comparação com a substância neo-clerodano-3,13(16),14-triene-15,16-oxida, que não apresenta a hidroxila em C-6 (SILVEIRA & MCCHESENEY, 1994).

Devido a pequena variação no deslocamento químico entre o carbono C-8 e C-10 (entre 1,00 e 3,00 ppm) foi possível confirmar a posição da hidroxila em equatorial, visto que essa diferença seria maior na posição axial, variando entre 6-7 ppm (SILVEIRA & MCCHESENEY, 1994).

Os sinais em  $\delta_C$  122,30 e 143,80 correspondem aos carbonos olefínicos da dupla ligação referentes aos C-3 e C-4, enquanto os sinais observados em  $\delta_C$  125,60, 110,90, 138,40 e 142,70 foram atribuídos aos carbonos C-13, C-14, C-15 e C-16, que confirmam a existência do anel furânico  $\beta$ -monossustituído. Os sinais em  $\delta_C$  44,10 e 38,60 foram atribuídos aos dois carbonos quaternários C-5 e C-9.

Com a análise do espectro de  $^1H$ - $^1H$  COSY (Figuras 40-43) foi possível observar a correlação do H-10 através H<sub>2</sub>-1 e H<sub>2</sub>-2 para H-3, H-11 a H-12 e H-14 e H-15 do anel furano. Com esses dados juntamente com os dados de HMQC (Figuras 44,45 e 46) foi possível atribuir os valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios e os carbonos correspondentes.

A presença de um anel A/B foi confirmada pelas correlações  $^{2-3}J$  dos H-18 com C-4 e C-5, H-19 com C-4, C-5 e C-6, H-17 com C-8 e C-9 e H-20 com C-9 e C-10 observadas nos espectros de RMN de HMBC (Figura 47, 48 e 49).

A presença de um duplo dubleto referente ao H-10, em  $\delta_H$  1,44, sugere a posição axial do hidrogênio na molécula (WANG et al., 2013). Tal conformação pode justificar a diferença entre o  $[\alpha]^{25}_D +30,30$  (CH<sub>3</sub>Cl,  $c = 0,033$ ), obtido e o encontrado na literatura,  $[\alpha]^{25}_D - 47,7$  (CH<sub>3</sub>Cl,  $c = 12,4$ ), sugerindo trata-se de estereoisômeros. Os dados de RMN 1D e 2D são apresentados na tabela 5.

Com base nos dados obtidos e na comparação com os dados da literatura, foi possível identificar a substância como sendo 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6-ol, conhecida como 6 $\alpha$ -hidroxiannonena (Figura 50), sendo esse o primeiro relato na espécie de *Croton echiooides*.

Essa substância está sendo relatada pela primeira vez na espécie *Croton echiooides*.

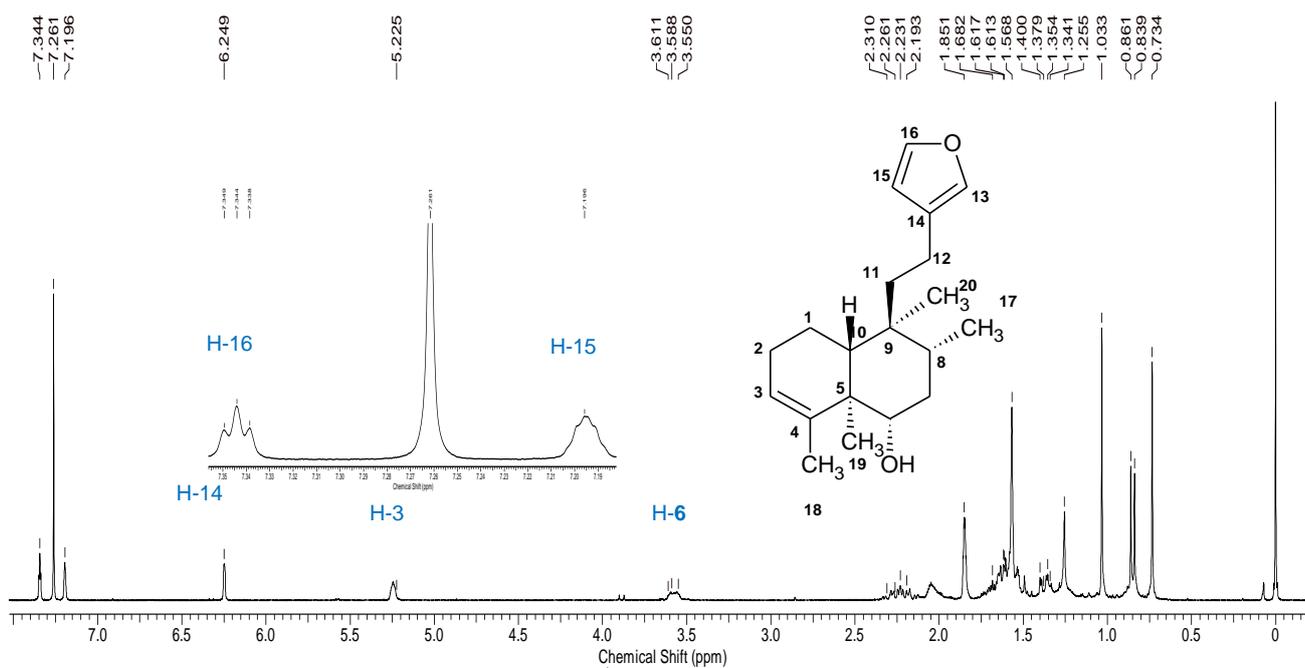


Figura 35. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300MHz).

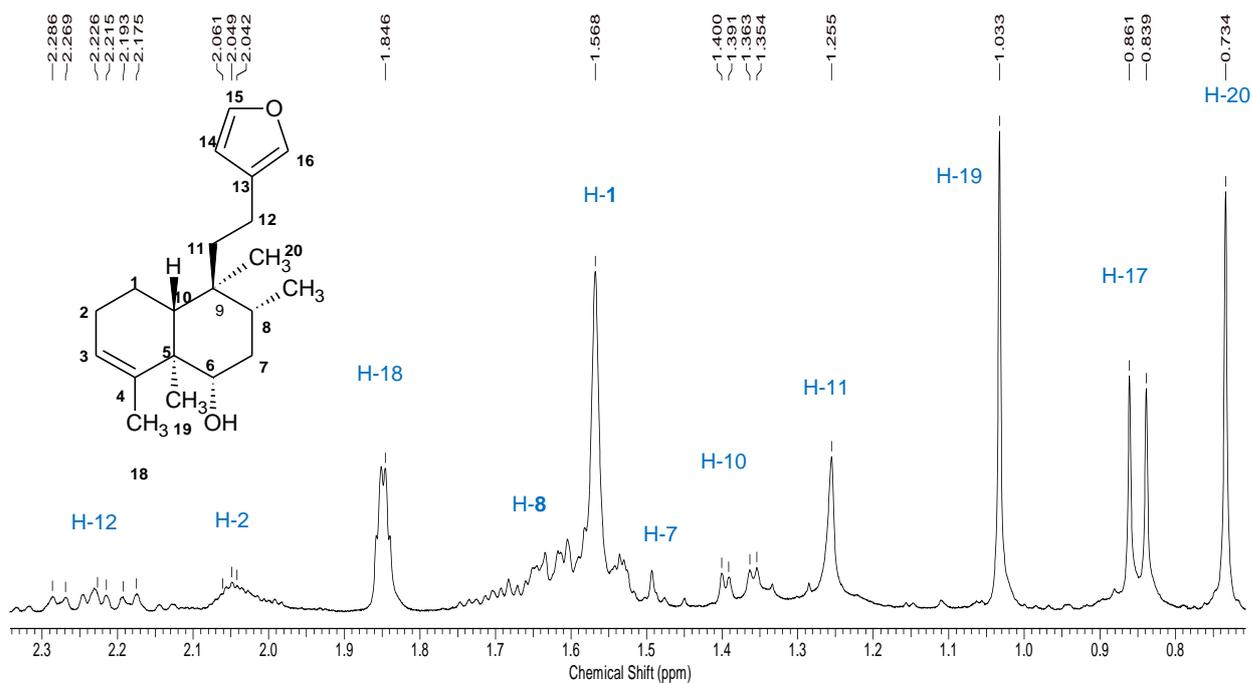


Figura 36. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300MHz), expansão em campo alto.

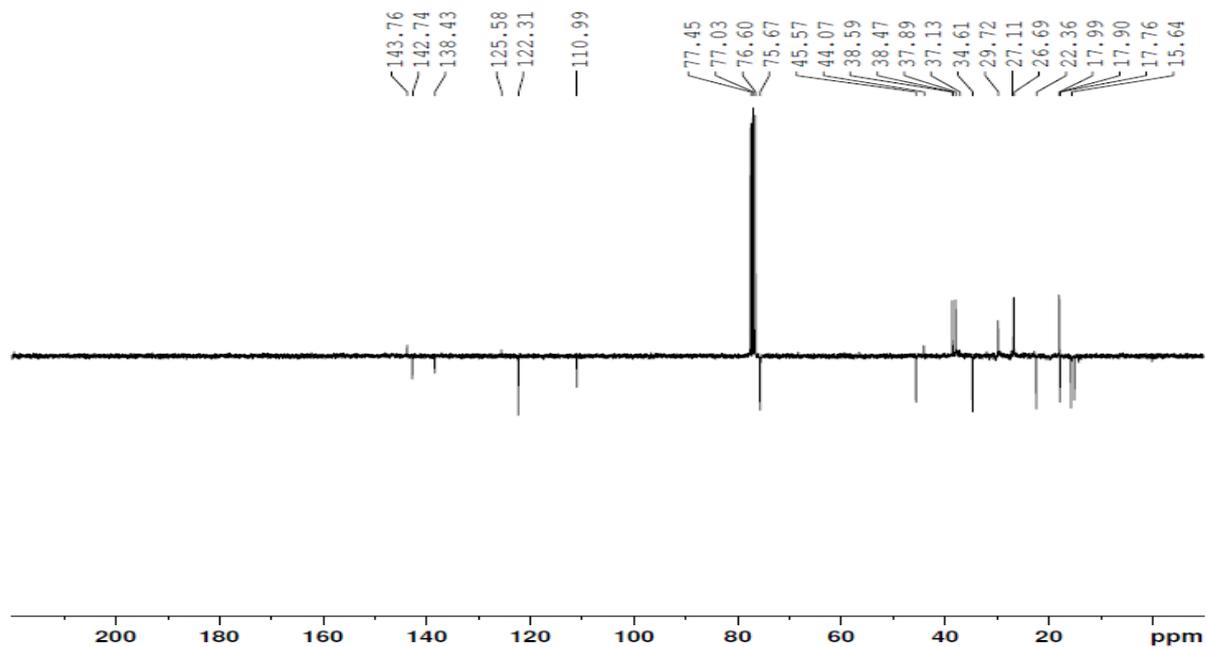


Figura 37. Espectro de APT de substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

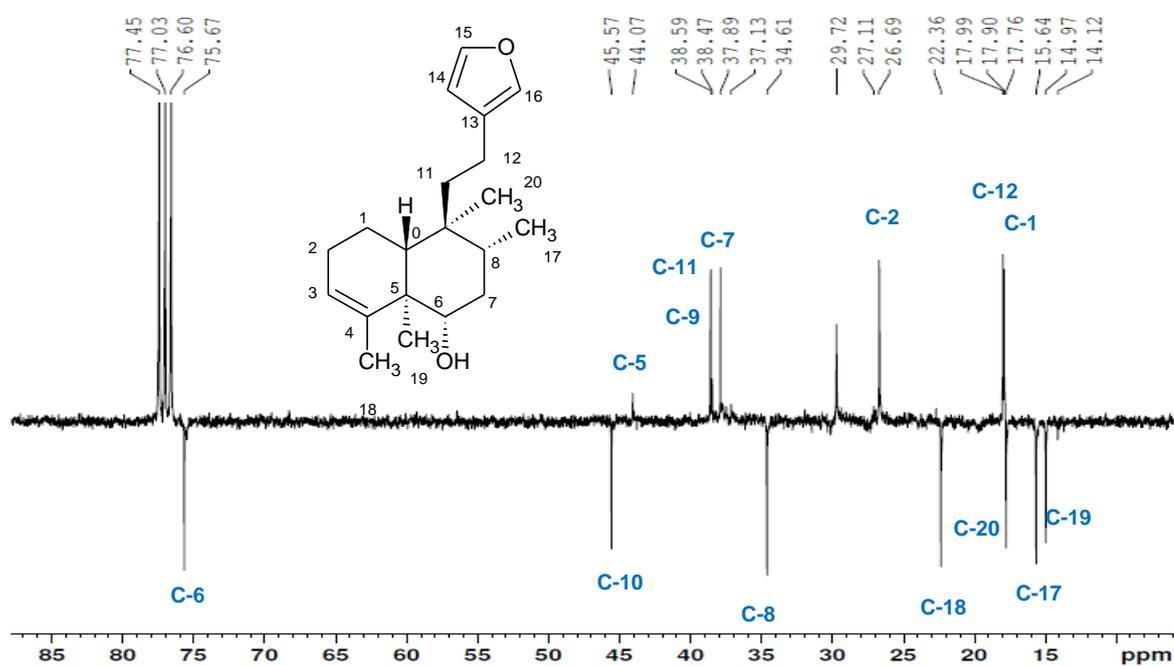


Figura 38. Espectro de APT da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

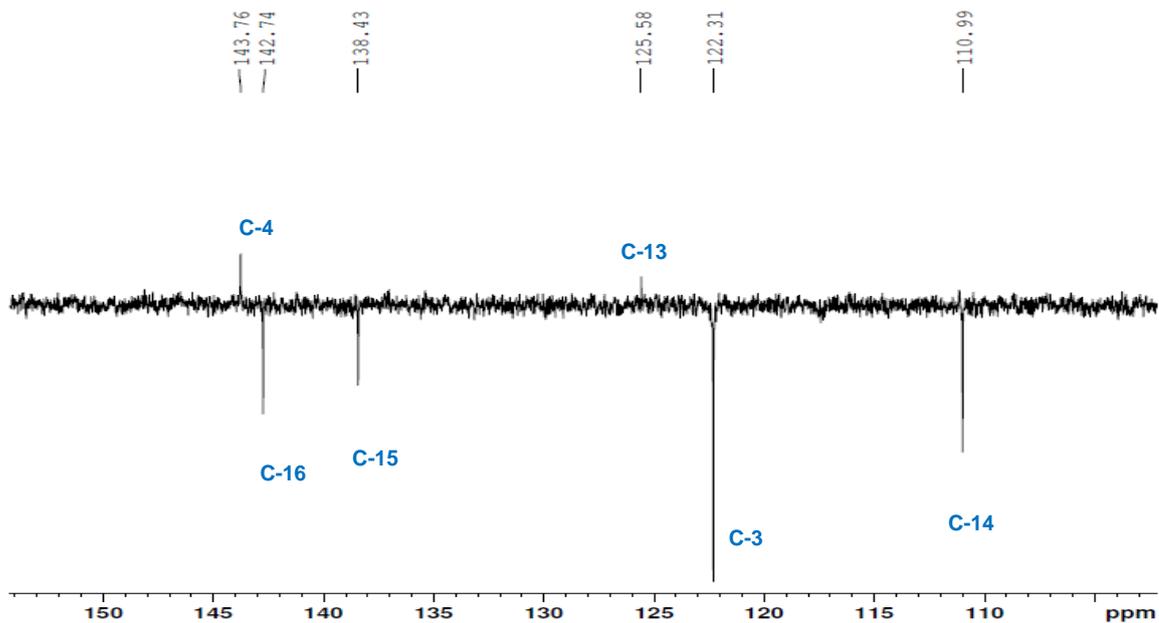


Figura 39. Espectro de APT da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300

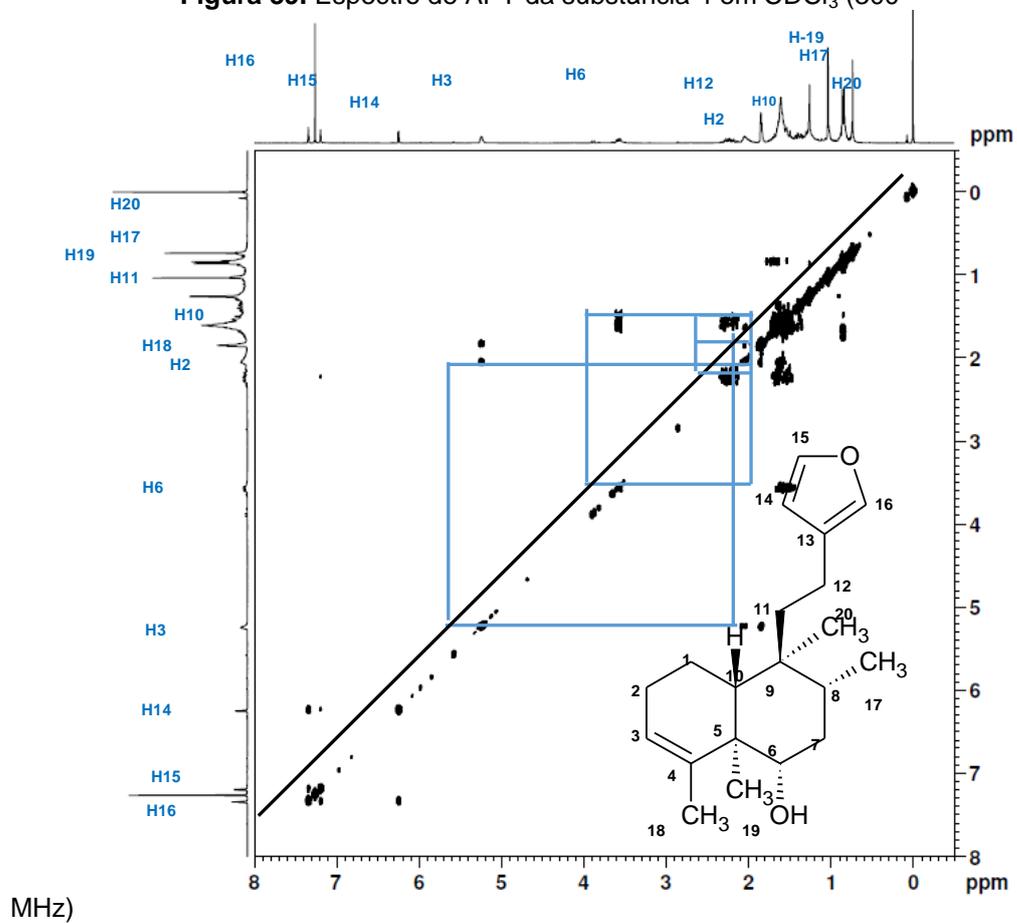


Figura 40. Espectro de COSY da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

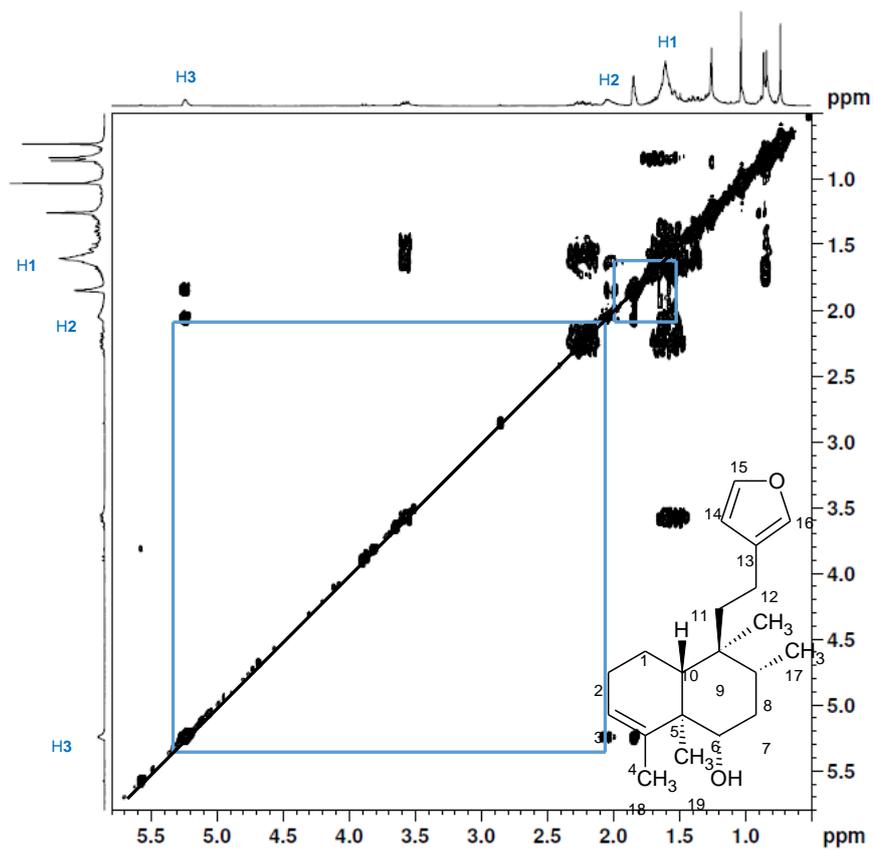


Figura 41. Espectro de COSY da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

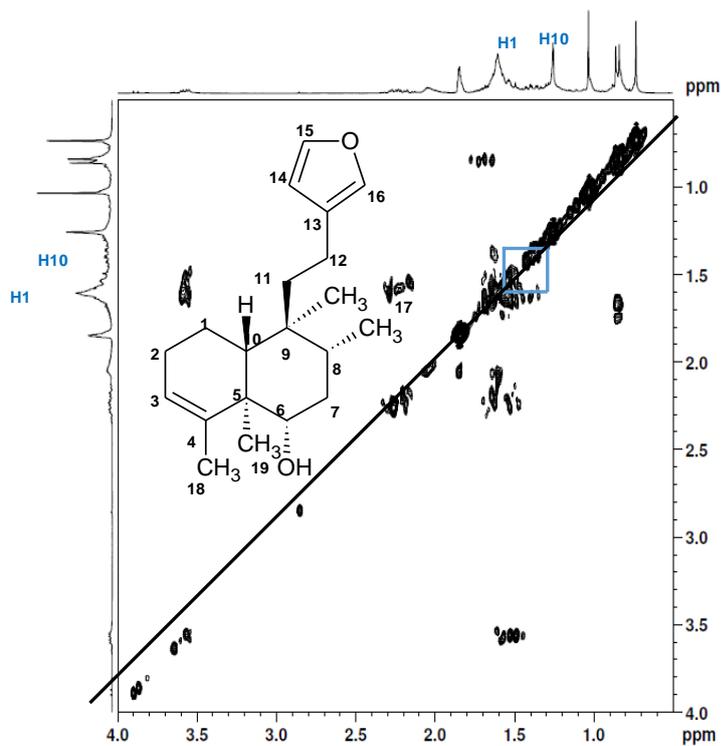


Figura 42. Espectro de COSY da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

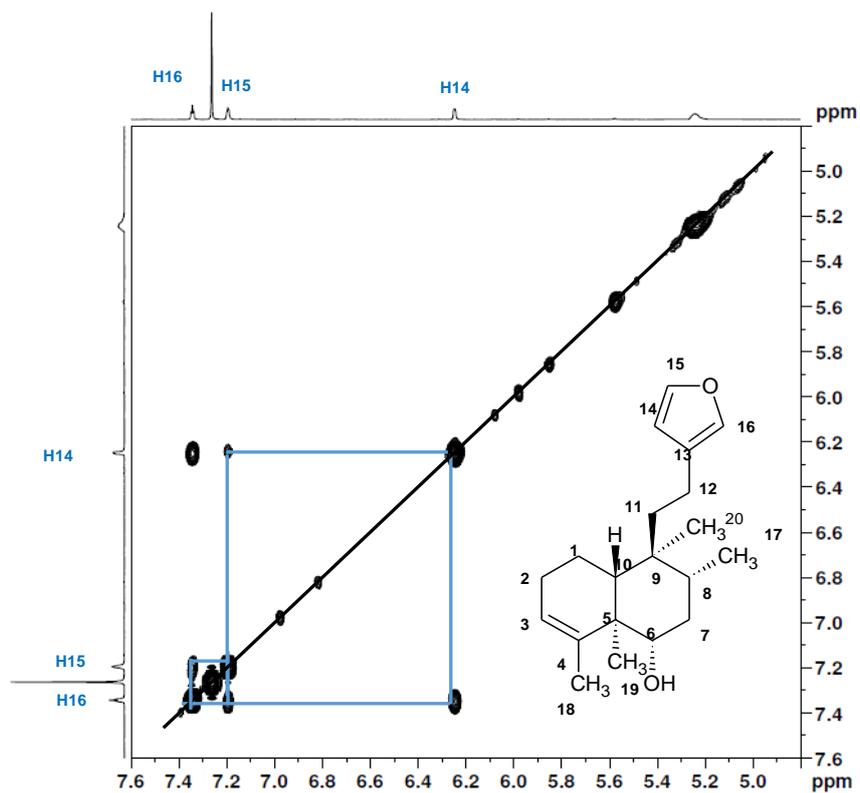


Figura 43. Espectro de COSY da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz) expansão.

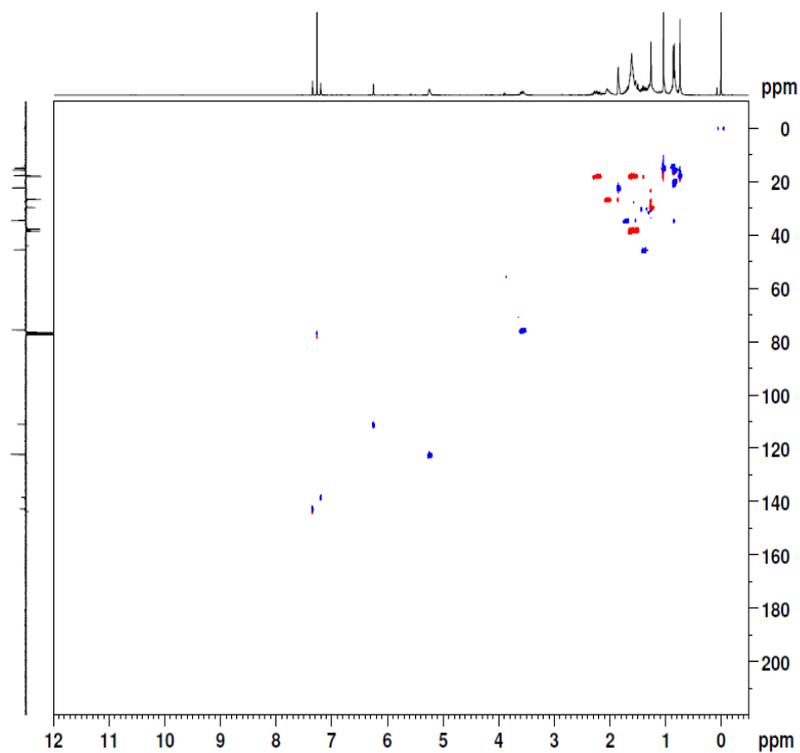


Figura 44. Espectro de HSQC da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

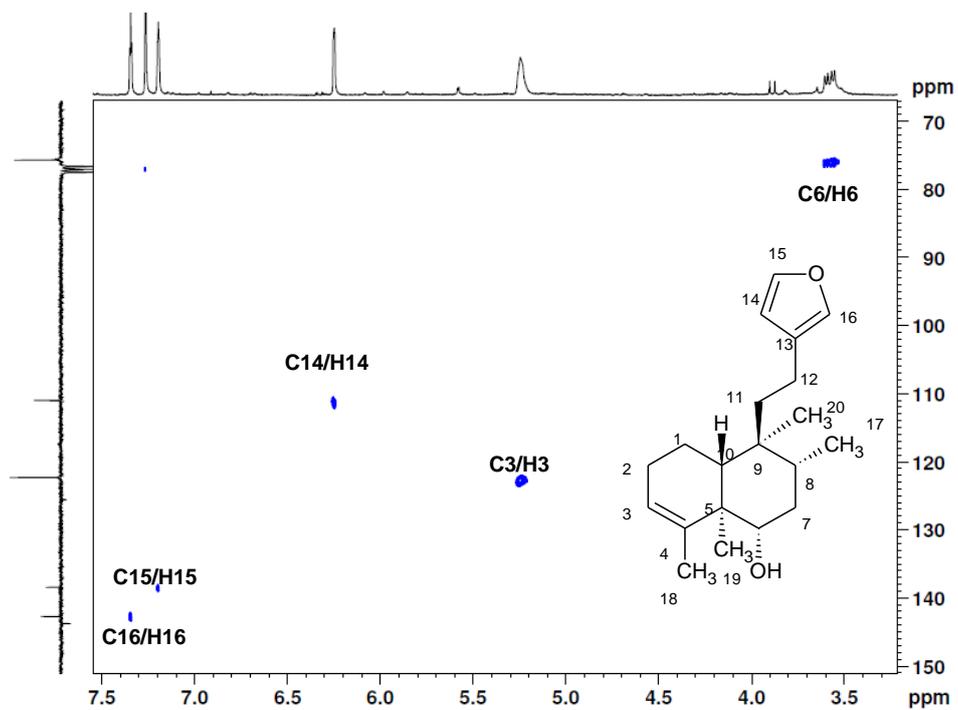


Figura 45. Espectro de HSQC da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

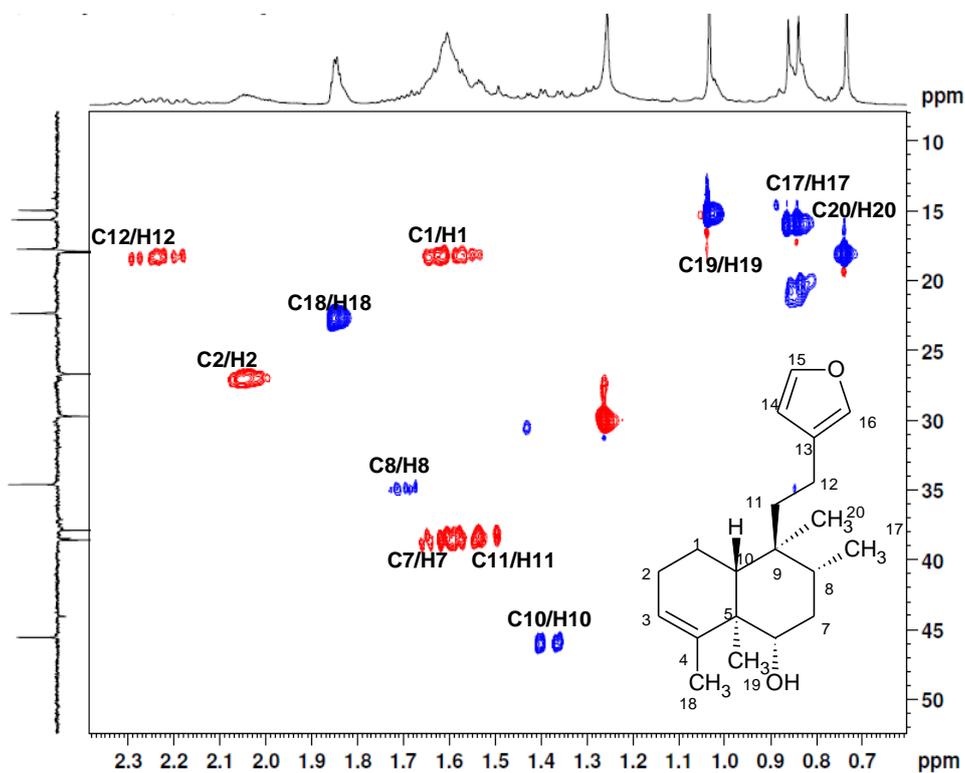


Figura 46. Espectro de HSQC da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

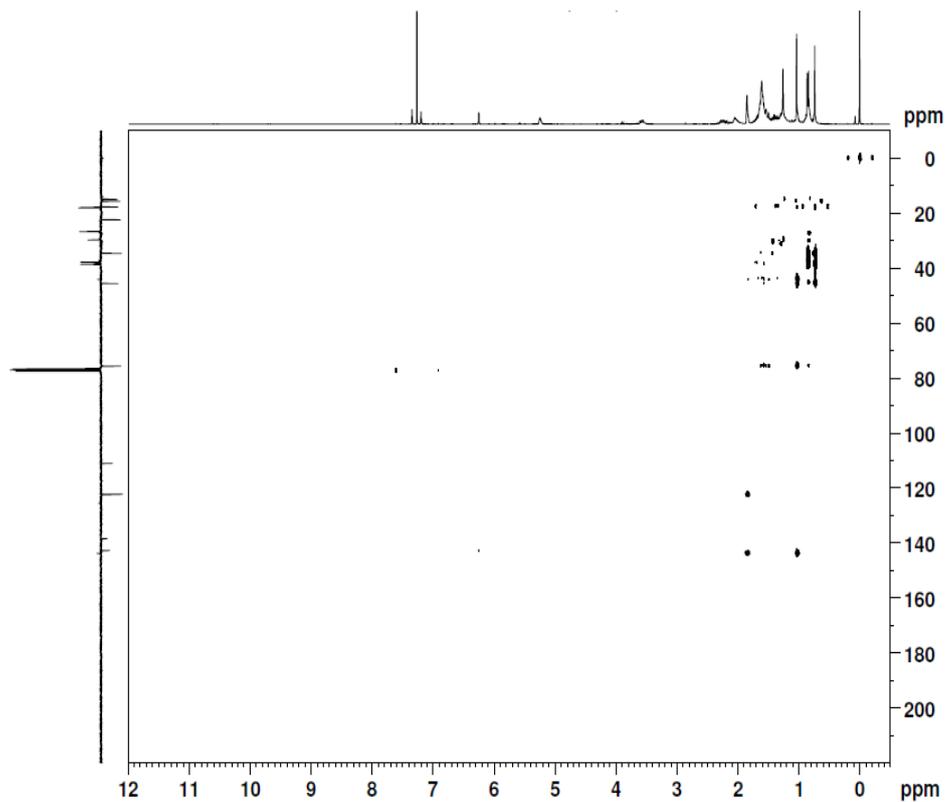


Figura 47. Espectro de HMBC da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

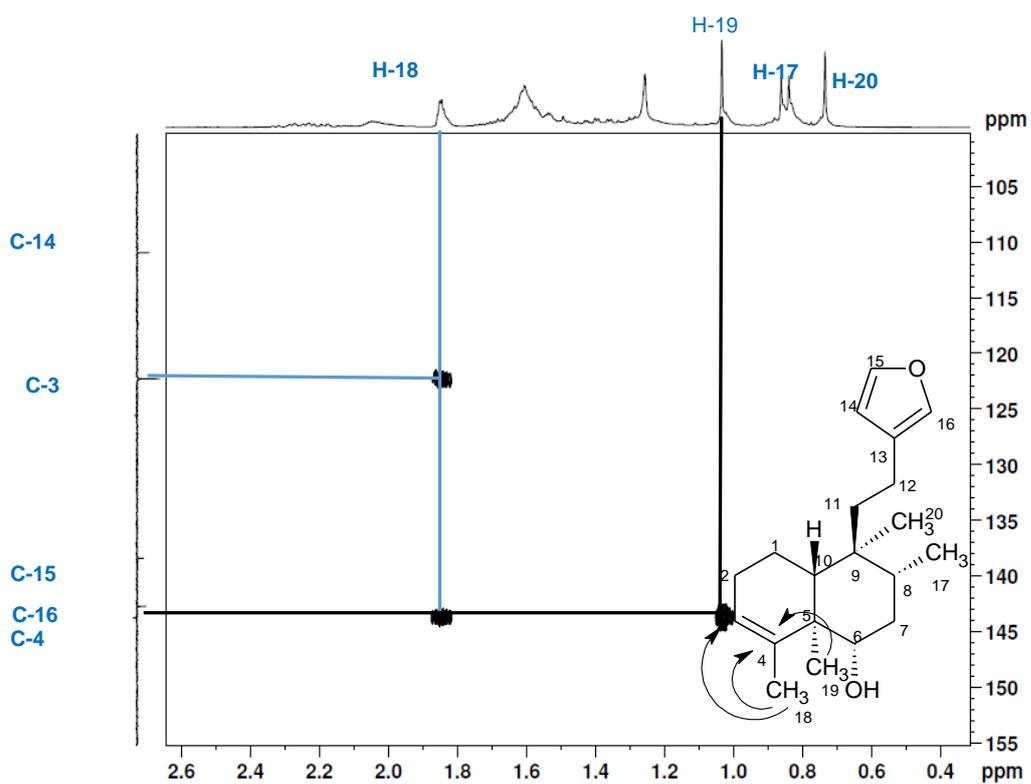
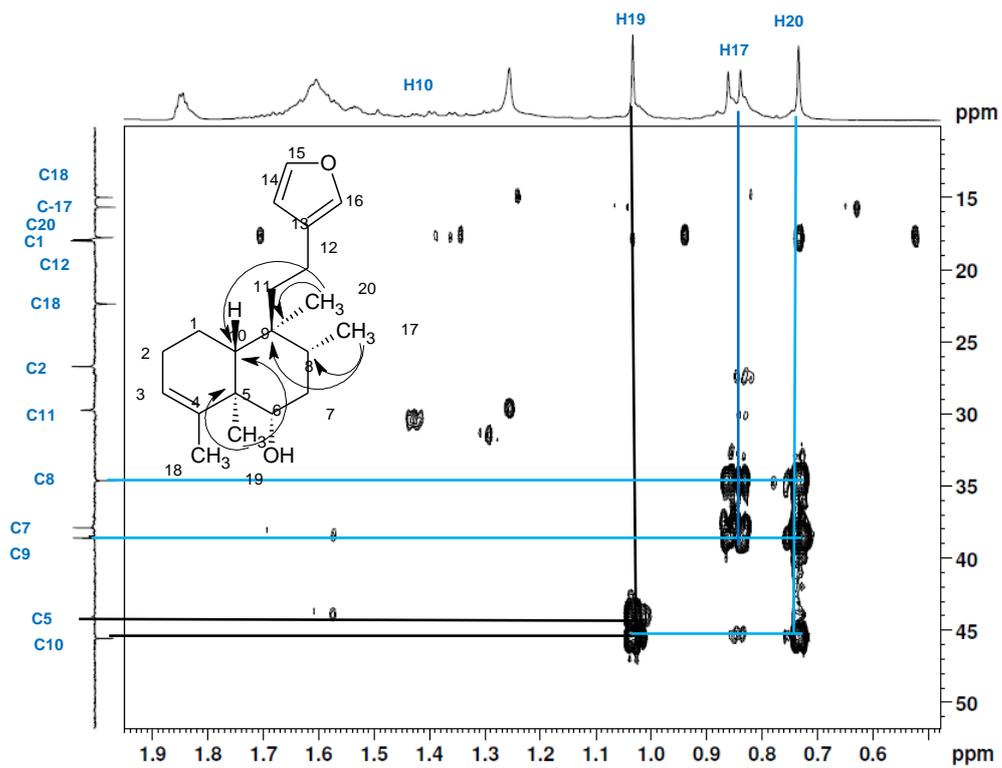


Figura 48. Espectro de HMBC da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

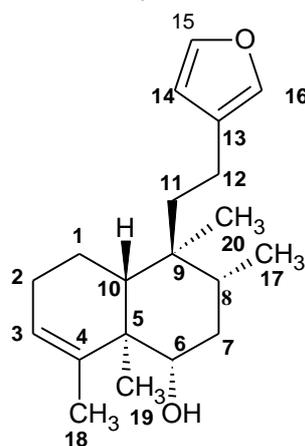


**Figura 49.** Espectro de HMBC da substância 4 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

**Tabela 5.** Dados de RMN de 1D e 2D de  $^1\text{H}$  e APT (300 MHz, em  $\text{CDCl}_3$ , respectivamente) de substância 4 (6 $\alpha$ -hidroxiannonena) obtida de *C. echioides*. Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$				$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}^*$	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [m, J (Hz)]	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ [m, J (Hz)]
1	17,9	1,53 (m)			18,0	
		1,56 (m)				
2	26,7	2,00 (m)			26,7	
		2,03 (m)				
3	122,3	5,24 (s)		H18	122,0	5,30 (s)
4	143,8	3,60 (m)	H18	H19	143,8	
5	44,1		H19		44,4	
6	75,7	3,60 (m)			75,5	3,66 (dd, J = 7,0; 11,0)
7	38,5	1,58 (m)			38,4	
8	34,6	1,75 (m)	H17	H20	34,6	
9	38,6		H20	H17	38,6	
10	45,6	1,44 (dd, J = 2,7; 11,1)		H19 H20	45,5	
11	38,4	1,22 (m)			37,9	
12	18,0	2,22 (m)			18,0	
13	125,6				125,5	
14	110,9	6,25 (m)			110,9	6,30 (m)
15	138,4	7,20 (s)			138,3	7,40 (m)
16	142,7	7,35 (m)			142,8	7,28 (s)
17	15,6	0,85 (d, J = 6,6)			15,6	0,85 (d, J = 6,0)
18	22,4	1,85 (m)			15,0	1,87 (s)
19	15,0	1,03 (s)			22,3	1,05 (s)
20	17,8	0,75 (s)			17,7	0,75 (s)

\*SILVEIRA & MCCHESENEYT, 1994 (200 MHz, 50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



**Figura 50.** Substância 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6-ol (Substância 4) isolada da casca do caule de *Croton echiooides*.

#### 4.1.5. Substância 5

A substância 5 foi obtida como cristais brancos em forma de agulha. A revelação em CCDA mostrou teste positivo com o reagente de Lieberman.

Os espectros de RMN da substância 5 apresentaram características espectroscópicas semelhantes às da substância 4, no entanto, o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 51 e 52) mostrou um sinal adicional em  $\delta_{\text{H}}$  3,94 ppm referente ao H-7. Os acoplamentos vicinais  $J_{6,7} = 4,0$  Hz e  $J_{7,8} = 4,0$  Hz indicam uma configuração cis para posição equatorial. A análise do espectro de APT em  $\text{CDCl}_3$  (Figura 53) também apresentaram semelhanças, com exceção de uma absorção em  $\delta_{\text{C}}$  75,7 ppm, atribuída ao C-7.

As correlações podem ser observadas nos espectros de HMBC (Figura 54, 55 e 56).

Com os dados de RMN de 2D foi possível observar as correlações e determinar a estrutura da substância. O espectro de massas (Figura 57) mostrou um pico em 300  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ , referente a perda de água na substância, para a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$ . A substância apresentou um  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -50,00$  ( $\text{CH}_3\text{Cl}$ ,  $c = 0,1$ ). Os dados de RMN de  $^1\text{H}$  e APT estão na tabela 6.

Com base nos dados obtidos e na comparação com os dados da literatura foi possível identificar a substância como 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6,7-ol, conhecida como 6 $\alpha$ -7 $\alpha$ -dihidroxiannonena (Figura 58). Esse terpeno foi isolado anteriormente na espécie *Ptychopetalum olacoides* (TANG et al., 2009), no entanto é o primeiro relato na espécie *Croton echiooides*.

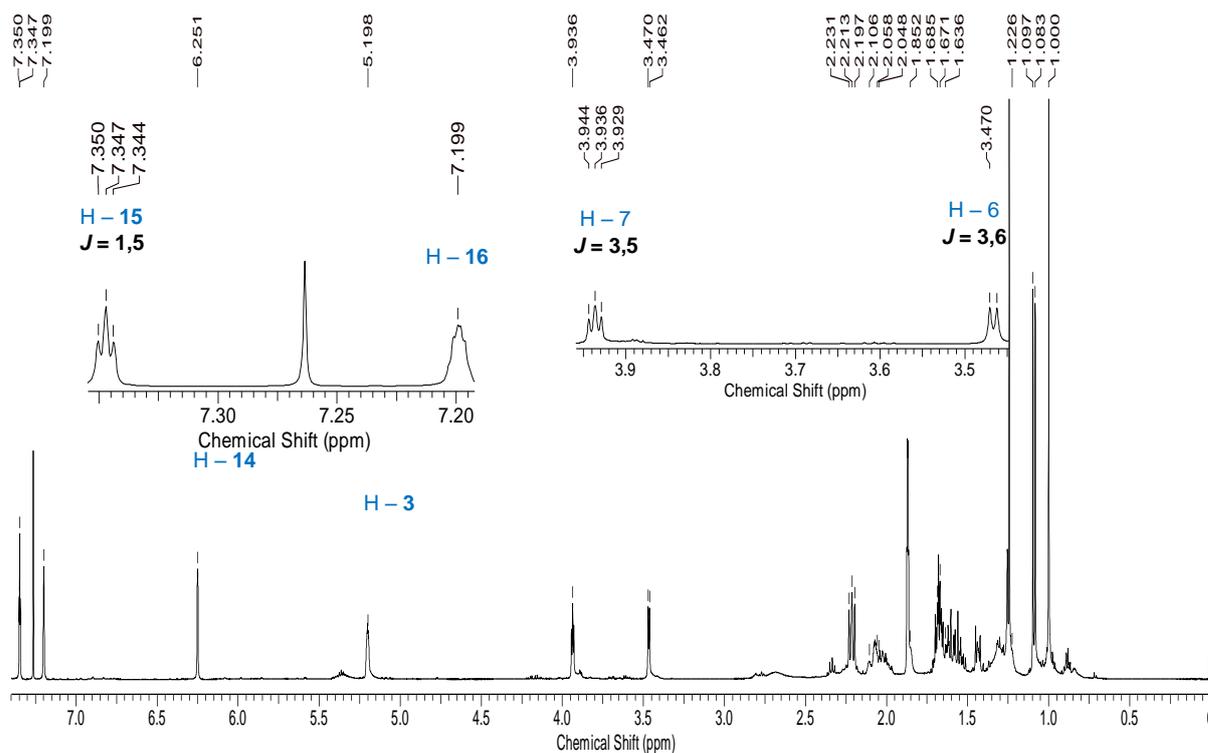


Figura 51. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 5 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz).

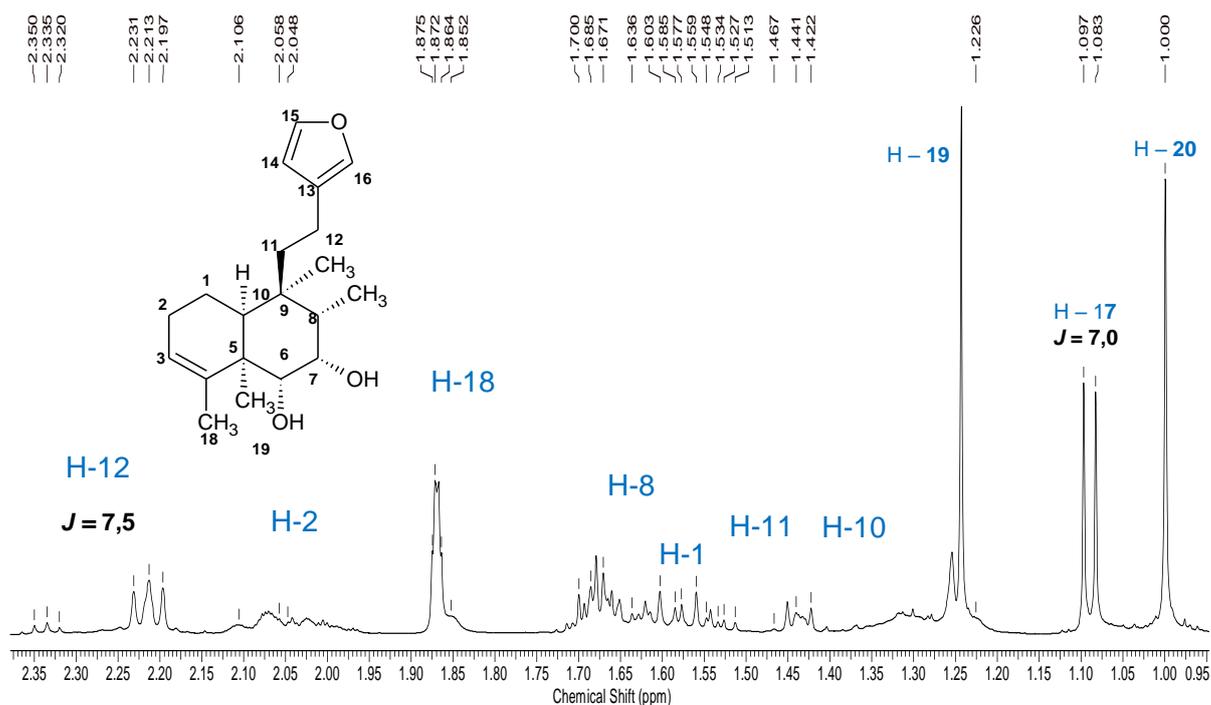


Figura 52. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  da substância 5 em  $\text{CDCl}_3$  (300 MHz)

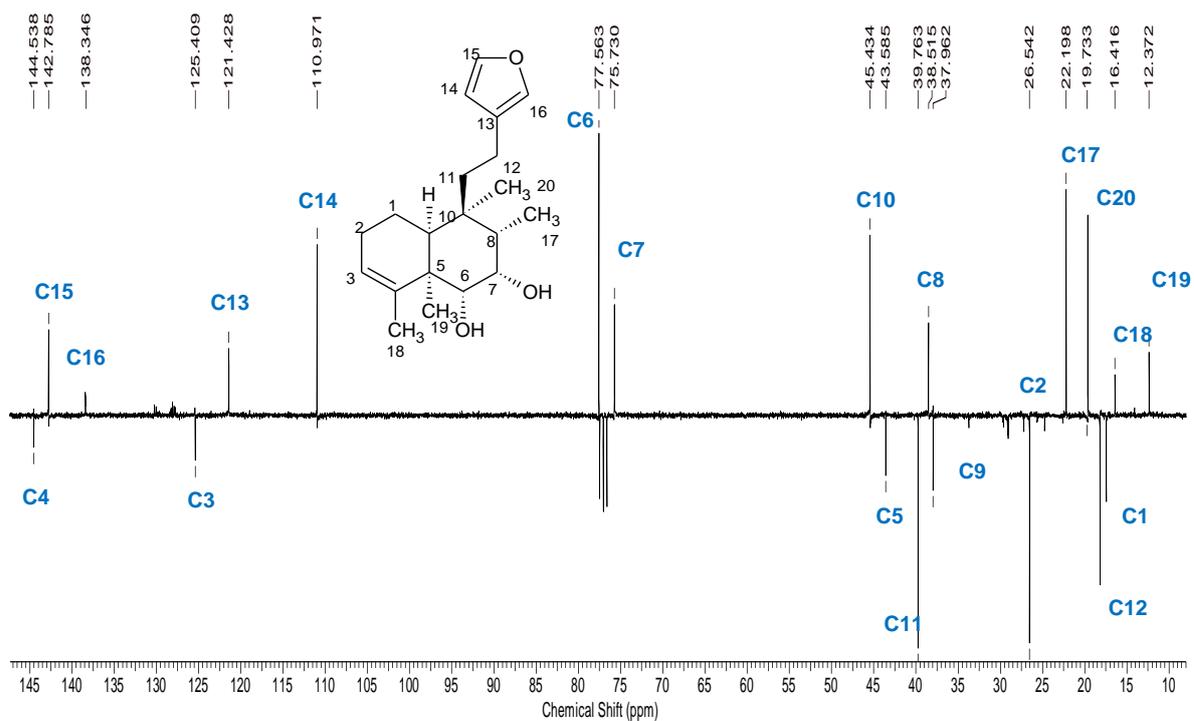


Figura 53. Espectro de APT da substância 5 em  $\text{CDCl}_3$  (300MHz)

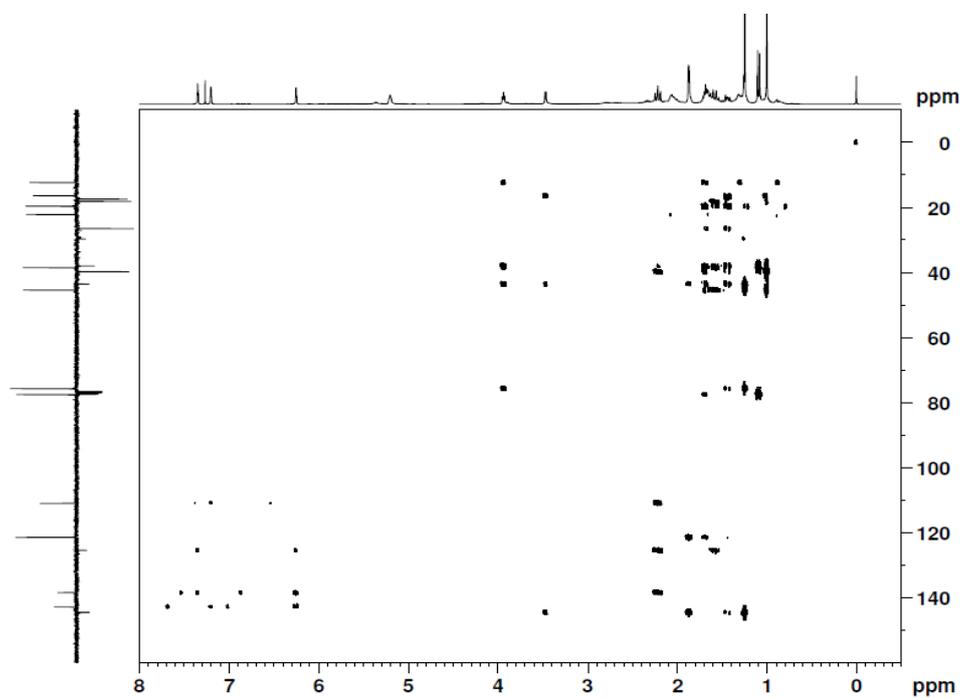


Figura 54. Espectro de HMBC da substância 5 em  $\text{CDCl}_3$  (300MHz).

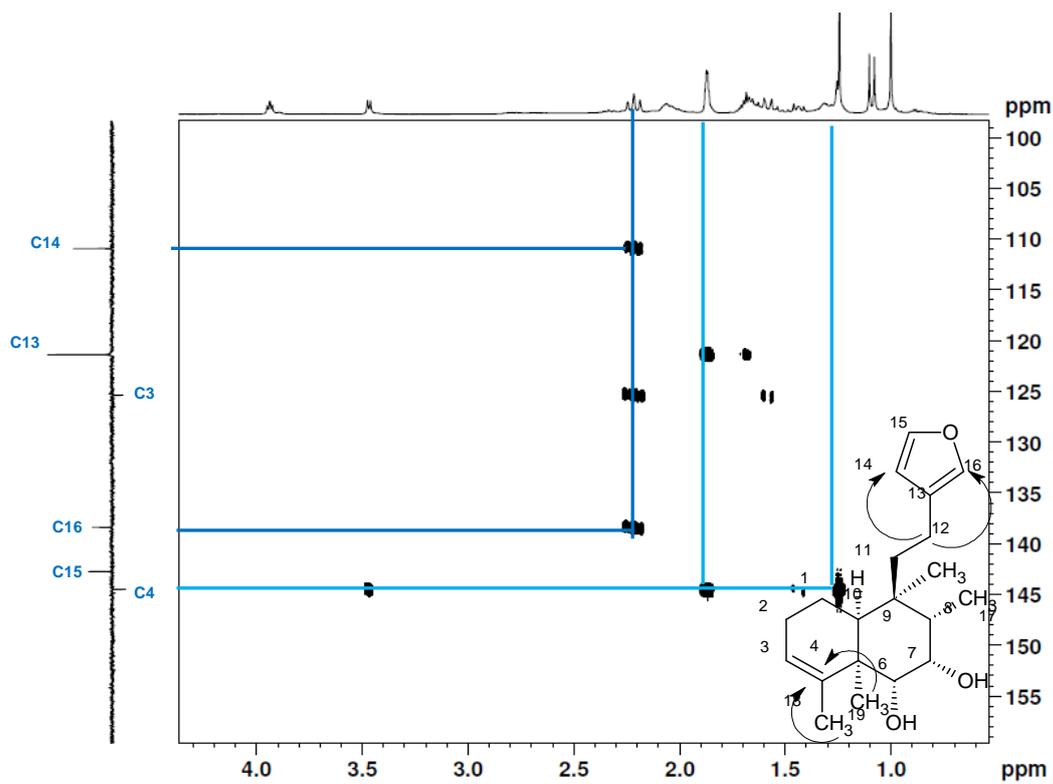


Figura 55. Espectro de HMBC da substância 5 em CDCl<sub>3</sub> (300 MHz).

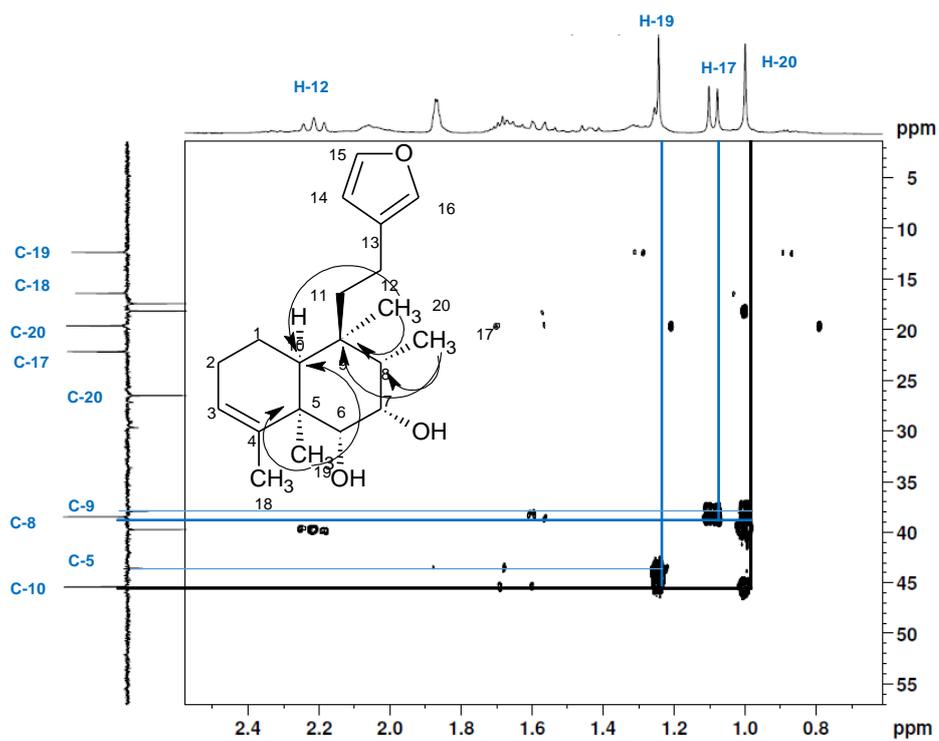


Figura 56. Espectro de HMBC da substância 5 em CDCl<sub>3</sub> (300 MHz).

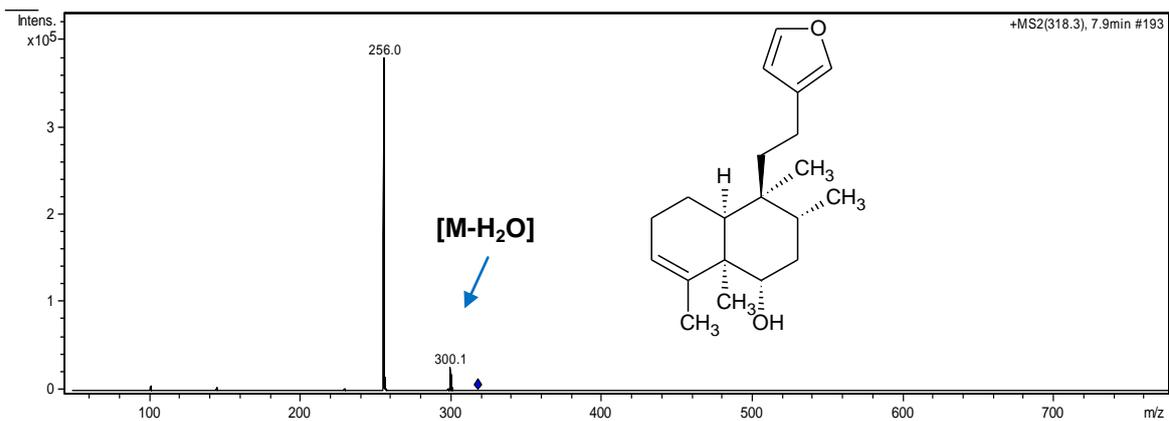
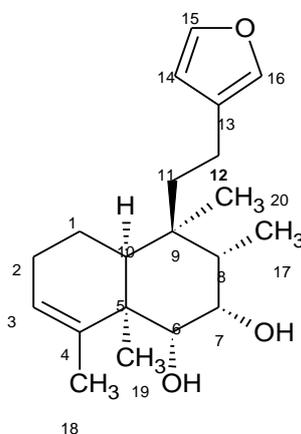


Figura 57. Espectro de massas (ESI-MS<sup>+</sup>) da substância 5.

**Tabela 6.** Dados de RMN de 1D e 2D de  $^1\text{H}$  e APT (300 MHz, em  $\text{CDCl}_3$ , respectivamente) da substância 5 (6 $\alpha$ -7 $\alpha$ -hidroxiannonena) obtida de *C. echioides*. Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm.

C	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$				$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}^*$	
	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H} [m, J (\text{Hz})]$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H} [m, J (\text{Hz})]$
1	17,4	1,66 (m) 1,69 (m)			17,4	1,66 (m) 1,68 (m)
2	26,5	2,07 (m) 2,02 (m)			26,5	2,09 (m) 2,01 (m)
3	121,4	5,20 (m)			121,4	5,20 (s)
4	144,5		H18	H19	144,5	
5	43,6		H19		43,5	
6	75,7	3,47 (d, $J = 4,0$ )			75,7	3,47 (d, $J = 3,6$ )
7	77,5	3,94 (t, $J = 4,0$ )	H17		77,5	3,94 (dd, $J = 3,6; 3,6$ )
8	38,5	1,70 (m)		H17	38,4	1,70 (qd, $J = 7,1; 3,6$ )
9	37,8		H20		37,4	
10	45,4	1,44 (m)		H20	45,4	1,44 (dd, $J = 9,4; 4,7$ )
11	39,8	1,57 (m) 1,60 (m)			39,7	1,56 (m) 1,60 (m)
12	18,2	2,2 (m) 2,3 (t, $J = 7,5$ )			18,1	2,21 (m) 2,22 (m)
13	125,4				125,4	
14	110,9	6,2 (m)		H12	110,7	6,25 (dd, $J = 3,2; 0,8$ )
15	142,8	7,35 (t, $J = 1,5$ )			142,7	7,35 (dd, $J = 3,2; 1,6$ )
16	138,4	7,2 (m)		H12	138,4	7,26 (dd, $J = 1,6; 0,8$ )
17	22,2	1,09 (d, $J = 7,0$ )			22,2	1,87 (s)
18	16,4	1,87 (m)			16,4	1,24 (s)
19	12,4	1,24 (s)			12,3	1,09 (d, $J = 7,1$ )
20	19,6	1,00 (s)			19,6	1,00 (s)

\*TANG et al., 2009 (600 MHz, 150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



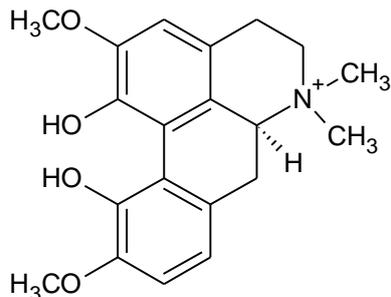
**Figura 58.** Substância 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6,7-ol (Substância 5), isolada da casca de *Croton echioides*.

## 5. CONCLUSÃO

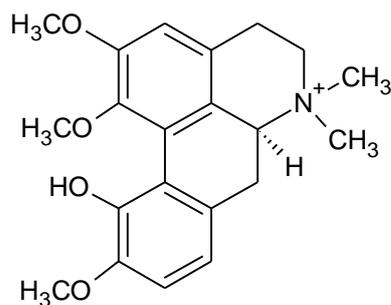
O estudo da casca do caule de *Croton echioides* resultou, no isolamento de cinco substâncias, dois alcaloides e três terpenos, que foram identificadas como sendo as substâncias 5,6,6a,7-tetrahydro-1,11-dihidroxi-2,10-dimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio (Substância 1), 5,6,6a,7-tetrahydro-11-hidroxi-1,2,10-trimetoxi-6,6-dimetil-4H-dibenzoquinolínio (Substância 2), 3 $\beta$ -lup-20(29)-en-3-ol (Substância 3), 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6-ol (Substância 4) e 15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6,7-ol (Substância 5).

Quatros das substâncias isoladas (1, 2, 4 e 5) são relatados pela primeira vez na espécie *Croton echioides*.

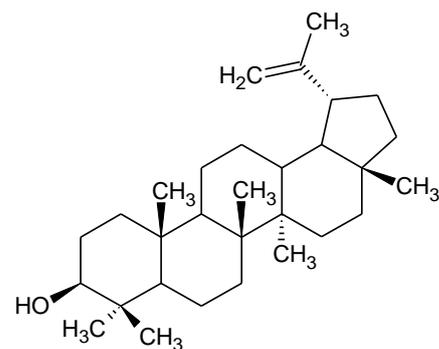
O presente trabalho foi de grande relevância, contribuindo significativamente para o estudo químico da espécie *Croton echioides*, não relatados anteriormente na literatura.



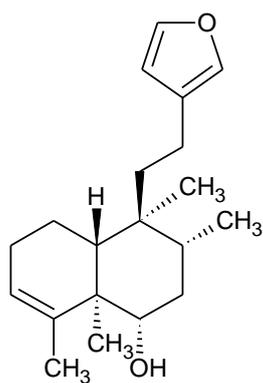
5,6,6a,7-tetrahydro-1,11-dihidroxi-  
2,10-dimetoxi-6,6-dimetil-4H-  
dibenzoquinolínio



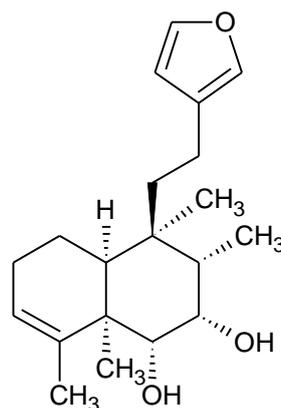
5,6,6a,7-tetrahydro-11-dihidroxi-  
1,2,10-dimetoxi-6,6-dimetil-4H-  
dibenzoquinolínio



3 $\beta$ -lup-20(29)-em-3-ol



15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-6-  
ol



15,16-epoxi-3-13(16)-clerodano-  
6,7-ol

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDON, A. P. V., LEAL-CARDOSO, J. H., COELHO-DE-SOUZA, A. N., MORAIS, S. M., SANTOS, C. F., Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on mice, **Brasilian Journal of Medicinal and Biological Research**, 35 (10), 1215-1219, 2002.

AGRA, M. F., FREITAS, P. F., BARBOSA-FILHO, J. M., Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17 (1), 114-140, 2007.

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, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18 (3), 472-508, 2008.

ARAÚJO-JÚNIOR, V. T., SILVA, M. S., CUNHA, E. V. L., AGRA, M. F., ATHAYDE-FILHO, P. F., VIEIRA, I. J. C., BRAZ-FILHO, R., BARBOSA-FILHO, J. M., Muscicapines, a new class of Guaiane-Type Sesquiterpene alkaloids from *Croton muscicapa*, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 16 (38), 553-557, 2005.

AREVALO, C., LOTTI, C., PICCINELLI, A.L., RUSSO, M., RUIZ, I., RASTRELLI, L., Magnoflorine and phenolic derivatives from the leaves of *Croton xalapensis* L. (Euphorbiaceae), **Natural Product Communications**, 4 (12), 1697-700, 2009.

ATTIOUA, B. K., HARISOLO, R., BOTI, J. B., ADIKO, V. A., TONZIBO, F. Z., DJAKOURE, L. A., Isolation and Identification of Alkaloids from *Croton lobatus*, **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 13 (2), 1-4, 2012.

AZIMOVA, S. S., Natural compounds Alkaloids, Plant Sources, Structure and Properties, **Springer**, ISBN 978-1-4614-0560-3, 358, 2013.

BERRY, P. E., HIPPI, A. L., WURDACK, K. J., VAN Ee B., RIINA, R., Molecular Phylogenetics of the Giant Genus *Croton* and Tribe Crotonaeae (Euphorbiaceae sensu stricto) Using ITS and TRNL-TRNF DNA Sequence Data, **American Journal of Botanic**, 92 (9), 1520-1534, 2005.

BURGER, W. & HUFT, M., Flora Costaricensis, Family11: Euphorbiaceae, **Fieldiana Botany**, 36, 1-180, 1995.

CARUZO, M. B. R., VAN EE, B. W.,CORDEIRO, I., BERRY, P. E., RIINA, R., Molecular phylogenetics and character evolution of the “sacaca” clade: Novel relationships of *Croton* section Cleodora (Euphorbiaceae), **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 60 (2), 193–206, 2011.

CORDELL, G.A., QUINN-BEATTIE, M. L., FARNSWORTH, N. R., The potential of alkaloids in drugs discovery, **Phytotherapy Research**, 15 (3), 183-205, 2001.

COSTA, J. G. M., RODRIGUES, F. F. G., ANGÉLICO, E. C., PEREIRA, C. K. B., SOUZA, E. O., CALDAS, G. F. R. , SILVA, M. R., SANTOS, N. K. A., MOTA, M. L., SANTOS, P. F., Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol), **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18 (4), 583-586, 2008.

COUTINHO, H. D., MATIAS, E. F., SANTOS, K. K., SANTOS, F. A., MORAIS-BRAGA, M. F., SOUZA, T. M., ANDRADE, J. C., SOUZA, C. E., TINTINO, S. R., GUEDES, G. M., FALCÃO-SILVA, V. S., SIQUIERA-JÚNIOR, J. P., COSTA, J. G., Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Croton campestris* and *Ocimum gratissimum* L., **Biomédica**, 31 (4), 608-612, 2011.

DE ALMEIDA, T. S., ROCHA, J. B. T., RODRIGUES, F. F. G., CAMPOS, A. R., COSTA, J. G. M., Chemical composition antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils, **Industrial Crops and Products**, 44, 630-633, 2013.

DE MARINO, S., GALA, F., ZOLLO, F., VITALINI, S., FICO, G., VISIOLI, F., IORIZZI, M., Identification of Minor Secondary Metabolites from the Latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and Evaluation of Their Antioxidant Activity, **Molecules**, 13 (6), 1219-1229, 2008.

DE MORAIS, S. M., JÚNIOR, F. E. A. C., SILVA, A. R. A., NETO, J. S. M., Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do Nordeste do Brasil, **Química Nova**, 29 (5), 907-910, 2006.

EL BABILI, F., FABRE, N., MOULIS, C., FOURASTE, I., Molluscicidal activity against *Bulinus truncates* of *Croton campestris*, **Fitoterapia**, 77, 384-387, 2006.

FRODIN, D.G., History and concepts of big plant genera, **Taxon**, 53 (3), 753–776, 2004.

GALLO, M. B. C. & SARACHINE, M.J., Biological activities of lupeol, **International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, 3 (1), 46-66, 2009.

HARVEY, A. L., RUANGELIE, E., QUINN, R. J., The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era, **Nature Reviews Drug Discovery**, 14, 111-129, 2015.

HELUANI, C. S., CATALAN, C. A. N., HERNÁNDEZ L. R., TAPIA E. B., NATAN P.J., Three new diterpenoids based on novel sarcopetalene skeleton from *Croton sarcopetalus*, **Journal of Natural Products**, 63 (2), 222-225, 2000.

LIU, H-F., DENG, Y-F., LIAO, J-P, Foliar trichomes of *Croton* L. (Euphorbiaceae: Crotonoideae) from China and its taxonomic implications, Bangladesh, **Journal of Plant Taxonomy**, 20 (1), 85-94, 2013.

LOPES, L. E., NETO, M. A., SILVEIRA, E. R., PESSOA, O. D. L., Flavonoides e Sesquiterpenos de *Croton pedicellatus* Kunth, **Química Nova**, 35 (11), 2169-2172, 2012.

LUCENA, M. F. A. & SALES, M. F., Tricomas Foliare em Espécies de *Croton* L. (Crotonoideae-Euphorbiaceae), **Rodriguésia**, 57 (1), 11-25. 2006.

MILANOWSKI, D. J., WINTER, R. E. K., ELVIN-LEWIS, M. P. F., LEWIS, W. H., Geographic Distribution of Three Alkaloid Chemotypes of *Croton lechleri*, **Journal of Natural Products**, 65(6), 814-819, 2002.

NARDI, G. M., FELIPPI, R., DALBÓ, S., SIQUEIRA-JUNIOR, J. M., ARRUDA, D. C., DELLE MONACHE, F., TIMBOLA, A. K., PIZZOLATTI, M. G., CKLESS, K., RIBEIRO-DO-VALE, R. M., Anti-inflammatory and antioxidante effects of *Croton celtidifolius* bark, **Phytomedicine**, 10 (2-3), 176-84, 2003.

NISHANTA, R., HARRIS, C. S., TOWERS, G. H. N., Antimicrobial activity of plants collected from serpentine out crops in Sri Lanka, **Pharmaceutical Biology**, 40 (3), 235-244, 2002.

NOVELLO, C. R., MARQUES, L. C., MIYAZAKI, C. R., MILANEZE-GUTIERRE, M. A., CARNEIRO-TORRES, D.S. SARRAGIOTTO, M.H. JOÃO C. P. DE MELLO, J. C. P., Morphoanatomy and pharmacognostic study of the wood of *Croton echioides*, the Northeastern Marapuama, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 22(5), 946-956, 2012.

OBERLIES, N. H., BURGEUES, J. P. NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R., PETERSON, R. W., SOERJATO, D. D., FARNSWORTH, N. R., KINGHORN. A. D., WANI, M. C., WALL, M. E., Novel biactive clerodane

diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, 65 (2), 95 -99, 2002.

OLIVEIRA AC, LEAL-CARDOSO J.H., SANTOS C.F., MORAIS S. M., COELHO-DE-SOUSA N. A., Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice, **Brazilian Journal Medical and Biological Research**, 34 (11),1471-1474, 2001.

PATEL, M., & MISHRA, S. M., Magnoflorine from *Tinospora cordifolia* stem inhibits  $\alpha$ -glucosidase and is antiglycemic in rats, **Journal of Functional Foods**, 4 (1), 79-86, 2012.

PIETERS, L. BRUYNE, T., CLAEYS, M., VLIETINCK, A., CALOMME, M., VANDENBERGHE, D., Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from South American Dragon's Blood (*Croton* spp.) as an inhibitor of cell proliferation, **Journal of Natural Products**, 56 (6), 899-906, 1993.

PRAKASH, C. V. S. & PRAKASH, I., Isolation and structural characterization of lupane triterpenes from *Polypodium vulgare*, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 1 (1), 23-27, 2012.

RISCO, E., GHIA, F., VILA, R., IGLESIAS, J., ALVAREZ, E., CANIGUERAL, S., Immunomodulatory activity and chemical characterisation of sangre de drago (dragon's blood) from *Croton lechleri*, **Planta médica**, 69 (9), 758-794, 2003.

SANTOS, P. M. L., SCHRIPEMA, J., KUSTER, R. M., Flavonoides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae), **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15 (4), 321-325, 2005.

SECCO, R.S.; CORDEIRO, I.; SENNA-VALE, L.; SALES, M.F.; LIMA, L.R.; MEDEIROS, D.; SÁ HAIAD, B.; OLIVEIRA, A.S.; CARUZO, M.B.R.; CARNEIRO-TORRES, D., BIGIO, N.C., An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae s. l. in Brazil., **Rodriguésia**, 63 (1), 227-242, 2012.

SILVA, J. S., SALES, M. F., GOMES, A. P. S., TORRES-CARNEIRO, D. S., Sinopse das espécies de *Croton* L.(Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil, **Acta Botanica Brasilica**, 24 (2), 441-453, 2010.

SILVA, S. L. C., GUALBERTO, S. A., MACEDO, G. E. L., SILVEIRA, T. C., SILVA, D. C., Plantas medicinais usadas pela comunidade do povoado de laços (Tanhaçú/Bahia) e encontradas na floresta nacional contendas do sincroná, **Revista Caatinga**, Mossoró, 25 (3), 130-136, 2012.

SILVEIRA, E. R. & MCCHESENEYT, 6,7 Oxygenated neo-clerodano furan diterpenes from *Croton sonderinus*, **Phytochemistry**, 36 (6), 1457-1463, 1994.

SIMIONATTO, E., BONANI, V. F. L., MOREAL, A. F., ROPPI, N. R., RAPOSO JÚNIOR, J. L., STUKER, C. Z., Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidante activites of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) stem bark, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 18 (5), 879-885, 2007.

SINGH, A., BAJPAI, V., SRIVASTAVA, M., ARYA, K. R., KUMAR, B., Rapid profiling and structural characterization of bioactive compounds and their distribution in different parts of *Berberis petiolaris* Wall. ex G. Don applying hyphenated mass spectrometric techniques, **Rapid Communications Mass Spectrometry**, 28 (19) , 2089-2100, 2014.

SODRÉ, R. C., SILVA, M. J., SALES, M. F., *Croton* L. (Euphorbiaceae) no Parque Estadual da Serra Dourada, Goiás, Brasil, **Rodriguésia**, 65 (1), 221-234, 2014.

SUÁREZ, A. L., BLANCO, Z., COMPAGNONE, R. S., SALAZAR-BOOKAMAN, M. M., ZAPATA, V., ALVARADO, C., Anti-inflammatory activity of *Croton cuneatus* aqueous extract, **Journal of Ethnopharmacology**, 105 (1-2), 99-101, 2006.

TANG, W., KUBO, M., HARADA, K., HIOKI, H. FUKUYAMA Y., Novel NGF-potentiating diterpenoides from a Brazilian medicinal plant, *Ptychopetalum olacoides*, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 19 (3), 882-886, 2009.

THUONG, P. T., PHAM, T. H. M., LE, T. V. T., DAO, T. T., DANG, T. T., NGUYEN, Q. T., OH, K. W., Symmetric dimers of *ent*-kaurane diterpenoids with cytotoxic activity from *Croton tonkinensis*, **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 22 (2), 1122-1124, 2012.

UBILLAS, R., JOLAD, S. D., BRUENING, R. C., KERNAN, M. R., KING, S. R., SESIN, D. F., BARRET, M. STODDART, C. A., FLASTER, T., SP-303, An antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago), **Phytomedicine**, 1 (2), 77-106, 1994.

VADLAPUDI, V., In vitro antimicrobial activity of methanolic extract of selected indian medicinal plants, **Pharmacophore**, 1 (3), 214-219, 2010.

VIEGAS, JR. C., Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos, **Química Nova**, 26 (3), 390-400, 2003.

WANG, G., ZHANG, H., LIU, H., YUE, J. Laevinoids A and B: Two Diterpenoids with an Unprecedented Backbone from *Croton laevigatus*, **Organic Letters**, 15 (18), 4880-4883, 2013.

WEBSTER, G. L. Synopsis of the genera and suprageneric tax of Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 81 (1), 33-144, 1994.

WERINGER, B., LAGNIKA, L., VONTHRON-SENECHEAU, C., ADJOBIMEY, J., GBENOU, J., MOUDACHIROU, M., BRUN, R., ANTON, R., SANNI, A., Evaluation of ethnobotanically selected Benin medicinal plants for their *in vitro* antiplasmodial activity, **Journal of Ethnopharmacology**, 90 (2), 279-284, 2004.

WURDACK, K. J. & DAVIS, C. C., Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrante clades in the angiosperm tree of life, **American Journal of Botany**, 96 (8), 1551-1570, 2009.

YUSOFF, M., HAMID, H., HOUGHTON, P., Anticholinesterase inhibitory of quaternary alkaloids from *Tinospora crispa*, **Molecules**, 19 (1), 1201-1211, 2012.

ZHAO, J., FANF, F. YU, L. WANG, G., YANG, L., Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton crassifolius* etanol extract, **Journal of Ethnopharmacology**, 142 (2), 367-373, 2012.