



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências

## Caraterização Química de Produtos Naturais de Plantas Medicinais de Angola

Laura Isabel Nave Canelo

Tese para obtenção do Grau de Doutor em  
**Química**  
(3º ciclo de estudos)

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Doutora Dina Isabel Malheiros Dinis de Mendonça

Covilhã, Outubro de 2013





**UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR**  
Ciências

**Caraterização Química de Produtos Naturais de  
Plantas Medicinais de Angola**

**Laura Isabel Nave Canelo**

**Tese para a obtenção de Grau de Doutor em  
Química  
(3º ciclo de estudos)**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Doutora Dina Isabel Malheiros Dinis de Mendonça**

**Covilhã, Outubro de 2013**



# Dedicatória

A essência de um ser está na intimidade profunda, onde poucas pessoas conseguem chegar. Cada ser tem a sua própria identidade, a sua própria complexidade, digamos, a sua própria estequiometria humana que é única. É por isso que quero deixar aqui citado e dizer-te que só tu conheces a verdadeira essência do meu ser. Travámos muitas batalhas, viste-me chorar, rir, crescer, acreditar, desesperar, angustiada, e nos mais diversos tipos de sentimentos e reações que um ser humano pode ter. Mas foste tu, e só tu, que nunca desististe daquela flor quando estava murcha, que sempre acreditaste que ela voltava a florescer, foste tu que a levantaste, que a viste murchar vezes sem conta, mas, apesar de tudo, sempre acreditaste que essa flor conseguia travar e ultrapassar todas as batalhas.

A ti devo o poder da transformação, do acreditar, da luta e principalmente da honestidade, sim, da honestidade porque nós sabemos que, neste mundo onde todos falam uma linguagem diferente da nossa, isso raramente existe. Só tu conheces a pureza do meu ser, só tu acreditaste, sempre, que eu conseguia alcançar todos os meus sonhos e que eu conseguia chegar até aqui e é por isso que te deixo estas poucas palavras, pois não há palavras para descrever o que fizeste de mim e por mim.

Porque só tu conheces a verdadeira essência do meu ser.

OBRIGADA, Arnaldo.

Ao meu pai David e à minha mãe Maria Alexandrina porque são o suporte base da minha vida. A eles agradeço tudo o que sempre fizeram por mim e ao longo de toda a minha vida.

OBRIGADA, Pais.



# Agradecimentos

Uma Tese de Doutoramento é um longo caminho, com muitos percalços para ultrapassar. Este trabalho não teria sido possível sem a ajuda de muitas pessoas às quais agradeço o apoio dado.

Em primeiro lugar, à Prof<sup>a</sup>. Doutora Dina Isabel Malheiros Dinis de Mendonça, da Faculdade de Ciências da Universidade da Beira Interior, que me aceitou como sua orientanda. Por toda a sua disponibilidade demonstrada e todo o incansável apoio prestado, por todos os conhecimentos que me transmitiu e infinitas dúvidas que esclareceu, pelos conselhos e incentivos que me deu, pela preciosa ajuda na revisão deste trabalho e por aquilo que fez para que tudo decorresse da melhor forma possível, o meu obrigada.

À Professora Doutora Maria Isabel Almeida Ferra que, com a sua longa experiência, sempre me aconselhou a seguir o melhor caminho.

À Universidade da Beira Interior, pela aceitação do meu plano de doutoramento e todo o apoio prestado; ao Departamento de Química da Universidade da Beira Interior, integrado na unidade de I&D, Materiais Têxteis e Papeleiros, pela disponibilização das suas instalações e dos seus equipamentos em prol da realização do presente trabalho.

Ao Prof. Doutor António José Geraldês de Mendonça e à Prof<sup>a</sup>. Doutora Isolina Maria da Silva Cabral Gonçalves, que me incentivaram inicialmente a seguir este projeto.

Ao meu colega Mestre Nelson Fernandes, pelo companheirismo, troca de ideias e amizade.

Ao Dr. Luis António Ferreira Matias pela ajuda, apoio e colaboração na realização do trabalho experimental, e à D. Isabel Correia Lopes Aibéo, pela disponibilidade sempre presente em fornecer o material necessário.

À Doutora Carla Cruz, pela ajuda prestada na realização dos espetros de RMN.

Ao Prof. Doutor Jesus Miguel Lopez Rodilla e à Prof<sup>a</sup>. Doutora Maria Lúcia Almeida da Silva, pela disponibilidade demonstrada na cedência de materiais e ajuda necessária no laboratório.

Aos meus pais pelo incentivo que me deram para a realização deste trabalho.

---

A todos, MUITO OBRIGADA.



# Resumo

Neste trabalho foram estudadas as seguintes plantas medicinais angolanas: a raiz da *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh, a raiz da *Phragmanthera glaucocarpa* (Peyr.) Balle, recolhidas no Uíge, a parte aérea da *Croton gratissimus* Buch., recolhida na Quiita, a raiz da *Peltophorum africanum* Sond. e ramos da *Gymnosporia senegalensis* (Lam.) Loes., recolhidas na Humpata.

O material vegetal foi macerado e exaustivamente extraído a frio com metanol. Posteriormente, procedeu-se ao fracionamento do extrato de metanol em fração de hexano, clorofórmio e acetato de etilo. Por fracionamento destas frações, com misturas de vários solventes de polaridades crescentes, foram isolados diversos tipos de compostos.

Na raiz da *Piliostigma thonningii* foram isolados o  $\beta$ -sitosterol, ácido benzóico, ácido 3-O- $\beta$ -D-fucopiranosilquinóico, ácido 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquinóico e a vincosamida. Todos estes compostos, exceto o  $\beta$ -sitosterol, são pela primeira vez isolados no género *Bauhinia* e na *Piliostigma thonningii*.

A raiz da *Phragmanthera glaucocarpa* foi estudada, embora não tenham sido isolados quaisquer compostos.

Na parte aérea da *Croton gratissimus* foram isolados o 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -ol, o 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, ácido *cis*-óxico, germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol, *ent*-kaur-16-en-19-ol, ácido 15-metoxi-*neo*-clerodan-3,13-dien-15,16-olida-18-óico, sacarose e o *trans*-4-hidroxi-*N*-metilprolina pela primeira vez no género *Croton*. Foram ainda isolados o óxido de cariofileno, ácido *ent*-kaur-16-en-19-óico, espatulenol,  $\beta$ -sitosterol e lupeol, já isolados no género *Croton* e alguns nas folhas da *Croton gratissimus*.

Na raiz da *Peltophorum africanum* foram isolados dois compostos, o lupeol e o mallanósido A, que nunca foram isolados no género *Peltophorum*.

Nos ramos da *Gymnosporia senegalensis* foram isolados dois compostos, que nunca foram isolados no género *Gymnosporia* o 3 $\beta$ -hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona e o 3-*epi*-gloquidiol. O  $\beta$ -sitosterol e o 3 $\beta$ -hidroxi-lup-20(29)-en-30-al foram também isolados, sendo que o segundo é pela primeira vez isolado na *G. senegalensis*.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais angolanas, *Piliostigma thonningii*, *Phragmanthera glaucocarpa*, *Croton gratissimus*, *Peltophorum africanum*, *Gymnosporia senegalensis*.



# Abstract

Roots of *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh, roots of *Phragmanthera glaucocarpa* (Peyr.) Balle, collected in Uíge, aerial parts of *Croton gratissimus* Buch., collected in Quiita, roots of *Peltophorum africanum* Sond. and branches of *Gymnosporia senegalensis* (Lam.) Loes, both collected in Humpata, where studied in this work.

The vegetable material was macerated and exhaustively extracted with metanol. The metanol extract was partitioned and hexane, chloroform and ethyl acetate fractions were obtained. Fractionation of these fractions, with mixtures of various solvents with growing polarity, allowed the isolation of various types of compounds.

In the roots of *Piliostigma thonningii* were isolated  $\beta$ -sitosterol, benzoic acid, quinovic acid-3-O- $\beta$ -D-fucopyranoside, quinovic acid-3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranoside and vincoside lactam. All these compounds, except  $\beta$ -sitosterol, were isolated for the first time in the genus *Bauhinia* and in *Piliostigma thonningii*.

In the roots of *Phragmanthera glaucocarpa* was studied but compounds were not isolated.

In the aerial parts of *Croton gratissimus* were isolated 9 $\beta$ -hydroxy-18-methoxycaryolanol, 7 $\delta$ -methoxyopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, 6 $\alpha$ -methoxyeudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, *cis*-ozoic acid, germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol, *ent*-kaur-16-en-19-ol, 15-methoxy-*neo*-clerodan-3,13-dien-15,16-olide-18-oic acid, sucrose and *N*-methyl-*trans*-4-hydroxy-L-proline for the first time in the genus *Croton*. Were also isolated caryophyllene oxide, *ent*-kaur-16-en-19-oic acid, spathulenol,  $\beta$ -sitosterol and lupeol, already isolated in genus *Croton* and some in leaves of *Croton gratissimus*.

In the roots of *Peltophorum africanum* were isolated two compounds, lupeol and mallanoside A, these have never been isolated in genus *Peltophorum*.

In the branches of *Gymnosporia senegalensis* were isolated two compounds which were never isolated in genus *Gymnosporia*, 3 $\beta$ -hydroxy-20-oxo-30-norlupane e o 3-*epi*-glochidiol. O  $\beta$ -sitosterol and 3 $\beta$ -hydroxy-lup-20(29)-en-30-al, were also isolated, the second is for the first time isolated of *G. senegalensis*.

**Keywords:** Medicinal plants from Angola, *Piliostigma thonningii*, *Phragmanthera glaucocarpa*, *Croton gratissimus*, *Peltophorum africanum*, *Gymnosporia senegalensis*.



Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract	ix

# Índice

<b>Capítulo 1 - Revisão bibliográfica</b>	<b>1</b>
1.1. Química dos produtos naturais	1
1.2. <i>Piliostigma thonningii</i>	8
1.3. <i>Phragmanthera glaucocarpa</i>	14
1.4. <i>Croton gratissimus</i>	16
1.5. <i>Peltophorum africanum</i>	22
1.6. <i>Gymnosporia senegalensis</i>	26
1.7. Objetivos	30
1.7.1. Objetivos gerais	30
1.7.2. Objetivos específicos	30
<b>Capítulo 2 - Material e métodos</b>	<b>31</b>
2.1. Material vegetal	31
2.2. Preparação do extrato de metanol	31
2.2.1. Fracionamento do extrato de metanol	32
2.3. Materiais e reagentes	33
2.3.1. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$	33
2.3.2. Espectroscopia no infravermelho - FTIR	33
2.3.3. Espectrometria de massa de alta resolução	33
2.3.4. Atividade ótica	33
2.3.5. Técnicas cromatográficas	34
2.3.5.1. Cromatografia em coluna húmida	34
2.3.5.2. Cromatografia em coluna húmida com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ )	34
2.3.5.3. Cromatografia flash	34
2.3.5.4. Cromatografia em camada fina (c.c.f.)	34
2.3.5.5. Cromatografia em camada fina com $\text{AgNO}_3$	35
2.3.5.6. Reveladores utilizados	36
2.4. Fracionamento das diferentes frações	35
2.4.1. <i>Piliostigma thonningii</i>	35
2.4.1.1. Fracionamento da fração de hexano	35
2.4.1.2. Fracionamento da fração de clorofórmio	36

2.4.1.3. Fracionamento da fração de acetato de etilo	38
2.4.2. <i>Croton gratissimus</i>	40
2.4.2.1. Fracionamento da fração de hexano	40
2.4.2.2. Fracionamento da fração de clorofórmio	47
2.4.2.3. Fracionamento da fração de acetato de etilo	48
2.4.3. <i>Peltophorum africanum</i>	50
2.4.3.1. Fracionamento da fração de hexano	50
2.4.3.2. Fracionamento da fração de clorofórmio	51
2.4.3.3. Fracionamento da fração de acetato de etilo	52
2.4.4. <i>Gymnosporia senegalensis</i>	52
2.4.4.1. Fracionamento do extrato de metanol	52
2.5. Caracterização física e espectroscópica dos compostos	55
2.5.1. <i>Piliostigma thonningii</i>	55
2.5.1.1. Caracterização dos compostos da fração de hexano	55
2.5.1.2. Caracterização dos compostos da fração de clorofórmio	56
2.5.1.3. Caracterização dos compostos da fração de acetato de etilo	56
2.5.2. <i>Croton gratissimus</i>	57
2.5.2.1. Caracterização dos compostos da fração de hexano	57
2.5.2.2. Caracterização dos compostos da fração de clorofórmio	61
2.5.2.3. Caracterização dos compostos da fração de acetato de etilo	61
2.5.3. <i>Peltophorum africanum</i>	62
2.5.3.1. Caracterização dos compostos da fração de hexano	62
2.5.3.2. Caracterização dos compostos da fração de clorofórmio	62
2.5.4. <i>Gymnosporia senegalensis</i>	63
2.5.4.1. Caracterização dos compostos do extrato de metanol	63
<b>Capítulo 3 - Resultados e discussão</b>	<b>65</b>
3.1. Caracterização dos compostos isolados da <i>Piliostigma thonningii</i>	65
3.1.1. Compostos isolados na fração de hexano	65
3.1.1.1. A1 - $\beta$ -sitosterol	65
3.1.2. Compostos isolados na fração de clorofórmio	66
3.1.2.1. A2 - Ácido benzóico	66
3.1.3. Compostos isolados na fração de acetato de etilo	67
3.1.3.1. A3 - Ácido 3-O- $\beta$ -D-fucopiranosilquinóvico	67
3.1.3.2. A4 - Ácido 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquinóvico	70
3.1.3.3. A5 - Vincosamida	72
3.2. Caracterização dos compostos isolados da <i>Phragmanthera glaucocarpa</i>	74
3.3. Caracterização dos compostos isolados da <i>Croton gratissimus</i>	74
3.3.1. Compostos isolados na fração de hexano	74
3.3.1.1. B1- Óxido de cariofileno	74

3.3.1.2. B2a e B2b - 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol e 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol	76
3.3.1.3. B3 - 1 $\beta$ -Metoxicariolan-9 $\beta$ -ol	79
3.3.1.4. B4 - Ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-óico	84
3.3.1.5. B5 - Ácido <i>cis</i> -óxico	86
3.3.1.6. B6 - Espatulenol	88
3.3.1.7. B7 - Lupeol	90
3.3.1.8. B8 - Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol	92
3.3.1.9. B9 - $\beta$ -Sitosterol	93
3.3.1.10. B10 - <i>ent</i> -Kaur-16-en-19-ol	94
3.3.1.11. B11 - 7 $\delta$ -Metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol	95
3.3.1.12. B12 - Ácido 15-metoxi- <i>neo</i> -clerodan-3,13-dien-15, 16-olida-18-óico	97
3.3.2. Compostos isolados na fração de clorofórmio	99
3.3.2.1. B13 - 6 $\alpha$ -Metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol	99
3.3.3. Compostos isolados na fração de acetato de etilo	100
3.3.3.1. B14 - Sacarose	100
3.3.3.2. B15 - <i>trans</i> -4-Hidroxi- <i>N</i> -metilprolina	102
3.4. Caracterização dos compostos isolados da <i>Peltophorum africanum</i>	103
3.4.1. Compostos isolados na fração de hexano	103
3.4.1.1. C1 - Lupeol	103
3.4.2. Compostos isolados na fração de clorofórmio	103
3.4.2.1. C2 - Mallonanósido A	103
3.5. Caracterização dos compostos isolados da <i>Gymnosporia senegalensis</i>	105
3.5.1. Compostos isolados no extrato de metanol	105
3.5.1.1. D1 - $\beta$ -Sitosterol	105
3.5.1.2. D2 - 3 $\beta$ -Hidroxi-30- <i>nor</i> -lup-20-ona	105
3.5.1.3. D3 - 3- <i>epi</i> -Gloquidiol	107
3.5.1.4. D4 - 3 $\beta$ -Hidroxi-lup-20(29)-en-30-al	109
<b>Capítulo 4 - Conclusões e perspectivas futuras</b>	<b>113</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>117</b>
<b>Anexo</b>	<b>131</b>



# Lista de Figuras

<b>Figura 1.1:</b> Exemplos de produtos naturais de grande aplicação na indústria farmacêutica	2
<b>Figura 1.2:</b> Floração da <i>P. thonningii</i>	8
<b>Figura 1.3:</b> Países de África onde se encontra com mais abundância a <i>P. thonningii</i>	9
<b>Figura 1.4:</b> Estrutura do kaempferol	12
<b>Figura 1.5:</b> Exemplos de compostos isolados da <i>Piliostigma tonnigii</i> : piliostigmina (9); C-metilflavonóis (10-16); quercetina (17) e quecitrina (18)	12
<b>Figura 1.6:</b> D-3-O-metil-qui-ro-inositol	13
<b>Figura 1.7:</b> Diterpeno kaurano	13
<b>Figura 1.8:</b> Derivados de labdanos e griffonilida isolados na <i>Bauhinia thonningii</i>	13
<b>Figura 1.9:</b> <i>Phragmanthera glaucocarpa</i>	14
<b>Figura 1.10:</b> Distribuição da <i>P. glaucocarpa</i> em África	15
<b>Figura 1.11:</b> Estrutura da 3-O-B-glucopiranosilcianidina	15
<b>Figura 1.12:</b> <i>Croton gratissimus</i>	16
<b>Figura 1.13:</b> Distribuição geográfica da <i>Croton gratissimus</i> em África	17
<b>Figura 1.14:</b> Exemplos de esqueletos de diterpenos muito comuns no género <i>Croton</i>	18
<b>Figura 1.15:</b> Estrutura de esqueletos clerodanos encontrados no género <i>Croton</i>	18
<b>Figura 1.16:</b> Compostos isolados na casca do caule da <i>C. zambesicus</i>	20
<b>Figura 1.17:</b> Compostos isolados nas folhas da <i>C. zambesicus</i>	20
<b>Figura 1.18:</b> Exemplos de cembranolidas	21
<b>Figura 1.19:</b> Exemplos de cembranolidas isolados da casca do caule de <i>C. gratissimus</i>	22
<b>Figura 1.20:</b> <i>Peltophorum africanum</i>	23
<b>Figura 1.21:</b> Distribuição geográfica da <i>P. africanum</i> em África	23
<b>Figura 1.22:</b> Estrutura da bergenina isolada da <i>P. pterocarpum</i>	24
<b>Figura 1.23:</b> Estrutura do (+)-(S)-ar-turmerona da <i>P. dasyrachis</i>	24
<b>Figura 1.24:</b> Estrutura do ácido benzóico C-glicósido isolado da <i>P. dubium</i>	25
<b>Figura 1.25:</b> Cianomaclurinas isoladas a partir do cerne da <i>P. africanum</i>	25
<b>Figura 1.26:</b> Compostos isolados da <i>P. africanum</i>	26
<b>Figura 1.27:</b> <i>Gymnosporia senegalensis</i>	26
<b>Figura 1.28:</b> Distribuição da <i>Gymnosporia senegalensis</i> como <i>Maytenus senegalensis</i> em África	27
<b>Figura 1.29:</b> Estruturas de alguns compostos isolados da <i>G. montana</i>	28
<b>Figura 1.30:</b> Estrutura do ácido maitenóico isolado da <i>M. senegalensis</i>	29
<b>Figura 1.31:</b> Estrutura da pristimerina isolado da <i>M. senegalensis</i>	29
<b>Figura 2.1:</b> Esquema de obtenção do extrato de metanol	31
<b>Figura 2.2:</b> Esquema simplificado para a obtenção dos vários tipos de frações	32
<b>Figura 3.1:</b> Estrutura do $\beta$ -sitosterol	66

<b>Figura 3.2:</b> Estrutura do ácido benzóico	67
<b>Figura 3.3:</b> Estrutura do ácido 3-O-β-D-fucopiranosilquinóvico	69
<b>Figura 3.4:</b> Estrutura do ácido 3-O-α-L-ramnopiranosilquinóvico	71
<b>Figura 3.6:</b> Estrutura da vincosamida	73
<b>Figura 3.7:</b> Estrutura do óxido de cariofileno	75
<b>Figura 3.8:</b> Correlações escolhidas de HMBC de B2a	77
<b>Figura 3.9:</b> Estrutura do 7δ-metoxiopposit-4(15)-en-1β-ol (B2a)	77
<b>Figura 3.10:</b> Correlações escolhidas de HMBC de B2b	78
<b>Figura 3.11:</b> Estrutura do 6α-metoxieudesm-4(15)-en-1β-ol (B2b)	79
<b>Figura 3.12:</b> Correlações a longa distância HMBC dos metilos a δ 0,99 e 0,97 ppm	81
<b>Figura 3.13:</b> Representação da subestrutura A	81
<b>Figura 3.14:</b> Representação da subestrutura B	82
<b>Figura 3.15:</b> Representação da subestrutura C	82
<b>Figura 3.16:</b> Representação da subestrutura D	82
<b>Figura 3.17:</b> Formação da estrutura completa da molécula B3	83
<b>Figura 3.18:</b> Estrutura do 1β-metoxicariolan-9β-ol	84
<b>Figura 3.19:</b> Estrutura do ácido <i>ent</i> -kaur-16-en-19-óico	86
<b>Figura 3.20:</b> Estrutura do ácido <i>cis</i> -óxico	87
<b>Figura 3.21:</b> Estrutura do espatulenol	88
<b>Figura 3.22:</b> Estrutura do lupeol	90
<b>Figura 3.23:</b> Estrutura do germacra-4(15),5,10(14)-trien-1β-ol	93
<b>Figura 3.24:</b> Estrutura do <i>ent</i> -kaur-16-en-19-ol	95
<b>Figura 3.25:</b> Estrutura do 7δ-metoxiopposit-4(15)-en-1β-ol	96
<b>Figura 3.26:</b> Estrutura do ácido 15-metoxi- <i>neo</i> -cleroda-3,13-dien-15,16-olida-18-óico	98
<b>Figura 3.27:</b> Estrutura do 6α-metoxieudesm-4(15)-en-1β-ol	100
<b>Figura 3.28:</b> Estrutura da sacarose na forma α-D-glucopiranosil-β-D-frutofuranósido	101
<b>Figura 3.29:</b> Estrutura da <i>trans</i> -4-hidroxi- <i>N</i> -metilprolina	102
<b>Figura 3.30:</b> Estrutura do mallonanósido A	104
<b>Figura 3.31:</b> Estrutura do 3β-hidroxi-30- <i>nor</i> -lup-20-ona	107
<b>Figura 3.32:</b> Estrutura do 3- <i>epi</i> -gloquidiol	109
<b>Figura 3.33:</b> Estrutura do 3β-hidroxi-lup-20(29)-en-30-al	110

# Lista de Tabelas

Tabela 1.1: Compostos isolados no género <i>Bauhinia</i>	10
Tabela 2.1: Peso dos extratos de metanol das várias plantas	31
Tabela 2.2: Massas das diferentes frações obtidas	32
Tabela 2.3: Cromatografia Pi1 da <i>P. thonningii</i>	35
Tabela 2.4: Cromatografia Pi2 da <i>P. thonningii</i>	36
Tabela 2.5: Cromatografia Pi3 da <i>P. thonningii</i>	36
Tabela 2.6: Cromatografia Pi4 da <i>P. thonningii</i>	37
Tabela 2.7: Cromatografia Pi5 da <i>P. thonningii</i>	37
Tabela 2.7: Cromatografia Pi6 da <i>P. thonningii</i>	38
Tabela 2.9: Cromatografia Pi7 da <i>P. thonningii</i>	38
Tabela 2.10: Cromatografia Pi8 da <i>P. thonningii</i>	39
Tabela 2.11: Cromatografia Pi9 da <i>P. thonningii</i>	39
Tabela 2.12: Cromatografia Cro1 da <i>C. gratissimus</i>	40
Tabela 2.13: Cromatografia Cro2 da <i>C. gratissimus</i>	40
Tabela 2.14: Cromatografia Cro3 da <i>C. gratissimus</i>	41
Tabela 2.15: Cromatografia Cro4 da <i>C. gratissimus</i>	41
Tabela 2.16: Cromatografia Cro5 da <i>C. gratissimus</i>	41
Tabela 2.17: Cromatografia Cro6 da <i>C. gratissimus</i>	42
Tabela 2.18: Cromatografia Cro7 da <i>C. gratissimus</i>	42
Tabela 2.19: Cromatografia Cro8 da <i>C. gratissimus</i>	42
Tabela 2.20: Cromatografia Cro9 da <i>C. gratissimus</i>	43
Tabela 2.21: Cromatografia Cro10 da <i>C. gratissimus</i>	43
Tabela 2.22: Cromatografia Cro11 da <i>C. gratissimus</i>	43
Tabela 2.23: Cromatografia Cro12 da <i>C. gratissimus</i>	44
Tabela 2.24: Cromatografia Cro13 da <i>C. gratissimus</i>	44
Tabela 2.25: Cromatografia Cro14 da <i>C. gratissimus</i>	44
Tabela 2.26: Cromatografia Cro15 da <i>C. gratissimus</i>	45
Tabela 2.27: Cromatografia Cro16 da <i>C. gratissimus</i>	45
Tabela 2.28: Cromatografia Cro17 da <i>C. gratissimus</i>	45
Tabela 2.29: Cromatografia Cro18 da <i>C. gratissimus</i>	46
Tabela 2.30: Cromatografia Cro19 da <i>C. gratissimus</i>	46
Tabela 2.31: Cromatografia Cro20 da <i>C. gratissimus</i>	47
Tabela 2.32: Cromatografia Cro21 da <i>C. gratissimus</i>	47
Tabela 2.33: Cromatografia Cro22 da <i>C. gratissimus</i>	48
Tabela 2.34: Cromatografia Cro23 da <i>C. gratissimus</i>	48
Tabela 2.35: Cromatografia Cro24 da <i>C. gratissimus</i>	48
Tabela 2.36: Cromatografia Cro25 da <i>C. gratissimus</i>	49

Tabela 2.37: Cromatografia Cro26 da <i>C. gratissimus</i>	49
Tabela 2.38: Cromatografia Cro27 da <i>C. gratissimus</i>	49
Tabela 2.39: Cromatografia Pel1 da <i>P. africanum</i>	50
Tabela 2.40: Cromatografia Pel2 da <i>P. africanum</i>	50
Tabela 2.41: Cromatografia Pel3 da <i>P. africanum</i>	51
Tabela 2.42: Cromatografia Pel4 da <i>P. africanum</i>	51
Tabela 2.43: Cromatografia Pel5 da <i>P. africanum</i>	51
Tabela 2.44: Cromatografia Pel6 da <i>P. africanum</i>	52
Tabela 2.45: Cromatografia Pel7 da <i>P. africanum</i>	52
Tabela 2.46: Cromatografia Gym1 da <i>G. senegalensis</i>	53
Tabela 2.47: Cromatografia Gym2 da <i>G. senegalensis</i>	53
Tabela 2.48: Cromatografia Gym3 da <i>G. senegalensis</i>	53
Tabela 2.49: Cromatografia Gym4 da <i>G. senegalensis</i>	54
Tabela 2.50: Cromatografia Gym5 da <i>G. senegalensis</i>	54
Tabela 2.51: Cromatografia Gym6 da <i>G. senegalensis</i>	54
Tabela 2.52: Cromatografia Gym7 da <i>G. senegalensis</i>	55
Tabela 2.53: Cromatografia Gym8 da <i>G. senegalensis</i>	55
Tabela 2.54: Cromatografia Gym9 da <i>G. senegalensis</i>	55
Tabela 3.1: Distribuição dos carbonos de A1 no espectro de RMN de $^{13}\text{C}$	65
Tabela 3.2: Distribuição dos carbonos de A2 no espectro de RMN de $^{13}\text{C}$	67
Tabela 3.3: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto A3	68
Tabela 3.4: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto A4	70
Tabela 3.5: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto A5	73
Tabela 3.6: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B1	75
Tabela 3.7a: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B2a	77
Tabela 3.7b: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B2b	78
Tabela 3.8: Comparação dos valores de RMN de $^{13}\text{C}$ do 1-metoxicariolan-9-ol	80
Tabela 3.9: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B3	80
Tabela 3.10: Dados do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de B4 comparados com a literatura	85
Tabela 3.11: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B5	87
Tabela 3.12: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B6	89
Tabela 3.13: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B7	91
Tabela 3.14: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B8	92
Tabela 3.15: Dados do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de B10 comparados com a literatura	94
Tabela 3.16: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B11	96
Tabela 3.17: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B12	98
Tabela 3.18: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B13	99
Tabela 3.19: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B14	101
Tabela 3.20: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto B15	102
Tabela 3.21: Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto C2	104

<b>Tabela 3.22:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto D2	106
<b>Tabela 3.23:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto D3	108
<b>Tabela 3.24:</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e correlações de HMBC do composto D4	110

## Lista de acrónimos e símbolos

%	percentagem
AcOEt	acetato de etilo
c.c.f.	cromatografia em camada fina
cd	cada
COSY	Correlation Spectroscopy
Cro	<i>Croton gratissimus</i>
d	duplete
dd	duplo duplete
ddd	duplo duplo duplete
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
dm	decímetro
dq	duplo quarteto
dt	duplo tripleto
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
Gym	<i>Gymnosporia senegalensis</i>
Hex	hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HREIMS	High Resolution Electron Impact Mass Spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
Hz	hertz
$I_{rel}$	intensidade relativa
IV	Infravermelho
$J$	constante de acoplamento
L	litro
m	multiplete
Me	metilo
NOE	Nuclear Overhauser effect
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
°C	grau celsius
Pel	<i>Peltophorum africanum</i>
Pi	<i>Piliostigma tonningii</i>
ppm	partes por milhão
q	quarteto
RMN de $^{13}\text{C}$	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN de $^1\text{H}$	Ressonância magnética nuclear de protão
s	singuleto
sl	singuleto largo
t	tripleto

td	triplo dupleteo
TMS	tetrametilsilano
Tol	tolueno
$\alpha$	alfa
$\beta$	beta
$\delta$	desvio químico
$\lambda$	comprimento de onda
$\nu$	frequência



# Capítulo 1 - Revisão bibliográfica

## 1.1. Química dos produtos naturais

A química das plantas medicinais teve início em meados do séc. XIX. Nessa época, a química era considerada uma ciência moderna, através dos trabalhos concebidos por Lavoisier e Berzelius. Os estudos como o isolamento da morfina, a partir do ópio em plantas medicinais, eram principalmente dedicados ao isolamento e à determinação estrutural de constituintes químicos (Jachak e Saklani, 2007).

Nas plantas, além dos produtos do metabolismo primário, há, também, uma grande variedade de metabolitos secundários, ou seja, produtos naturais. Na maioria dos casos, não se sabe o seu papel biológico, mas apenas que eles representam uma enorme fonte de investigação para a química. Dezenas de milhares de produtos naturais têm sido descritos na literatura, mas num mundo onde estamos longe de documentar todas as espécies existentes, há milhares de compostos que estão, certamente, à espera de ser descobertos (Cannell, 1998).

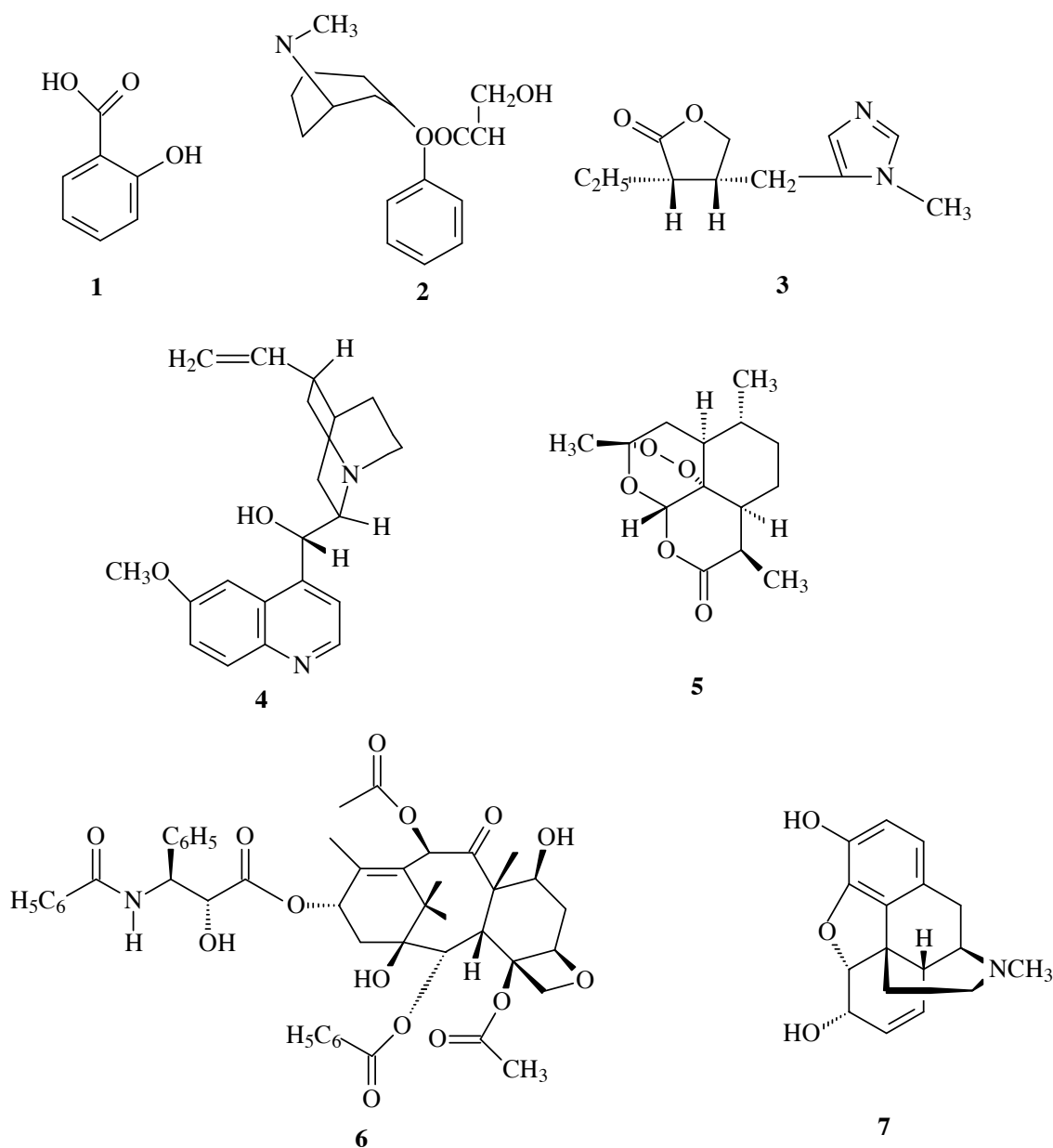
As substâncias químicas derivadas de plantas, microrganismos e animais, são utilizados para o tratamento de doenças desde a origem da medicina, devido ao conhecimento empírico da natureza pelos povos primitivos e indígenas, o que permitiu a descoberta de substâncias tóxicas e de muitos medicamentos ao longo do tempo (Viegas *et al.*, 2006). Os primeiros relatos escritos em relação ao uso de plantas medicinais estão datados de 2600 a.C., na Mesopotâmia, onde aproximadamente 1000 produtos, derivados do reino vegetal, eram utilizados para fins medicinais (Newman *et al.*, 2000).

Atualmente, o maior número de espécies vegetais encontra-se na região equatorial da América do Sul, da África e da Ásia. Na América do Sul, concentra-se a maior diversidade de plantas, 40000 espécies vegetais, sendo considerado um local de alta biodiversidade. No entanto, a flora planetária atual encontra-se ameaçada, o ritmo de extinção já atingiu uma taxa de 50 a 100 vezes superior às taxas médias observadas no passado, pelo que o perigo de se perder moléculas importantes para o desenvolvimento humano aumenta cada dia (Simões *et al.*, 2007).

As plantas medicinais foram adquirindo espaço e tornaram-se uma das fontes mais importantes de medicamentos, comprovando-se a sua enorme qualidade medicinal para a conservação da saúde humana e, ao mesmo tempo, foram obtendo respeito e maior espaço nas prateleiras das farmácias e casas especializadas na venda de produtos naturais (Tulp e Bohlin, 2004; Heinrich, 2003).

Para aumentar as probabilidades de sucesso na descoberta de novas moléculas com propriedades farmacológicas, tem-se considerado a aproximação à etnofarmacologia pela grande diversidade apresentada pelas plantas das áreas tropicais, relacionando, assim, as propriedades terapêuticas das plantas descritas pela população com estudos científicos

(Stepp, 2004; Benard e Do, 2004). Esse conhecimento etnofarmacológico, acumulado ao longo de nossa evolução, culminou com o desenvolvimento de fármacos de grande importância na medicina atual, tais como o ácido salicílico **1**, a atropina **2**, a pilocarpina **3**, a quinina **4**, a artemisinina **5**, o taxol **6** e a morfina **7** (figura 1) (Ganesan, 2008).



**Figura 1.1:** Exemplos de produtos naturais de grande aplicação na indústria farmacêutica (Ganesan, 2008).

De todas as estratégias utilizadas até agora para a seleção de plantas a serem investigadas em estudos farmacológicos e fitoquímicos, visando o desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, a etnofarmacologia é aquela que apresenta maiores possibilidades de sucesso (Maciel *et al.*, 2002). A etnobotânica é citada na literatura como um dos caminhos alternativos que mais tem evoluído nos últimos anos para a descoberta de produtos naturais

bioativos. Segundo Raskin *et al.* (2002), as plantas são a principal fonte de saúde para o ser humano, pelos seguintes motivos:

- A enorme capacidade das plantas em sintetizar misturas bioativas com estruturas diferentes e com múltiplas atividades terapêuticas;
- Baixo custo das plantas e a sua capacidade de fornecer metabólitos secundários;
- A abordagem única, por grandes bancos de moléculas, para a obtenção de novas entidades químicas para a descoberta de novos medicamentos, que visa a prevenção e tratamento de doenças, apresenta um retorno reduzido;
- Limitação de custo para síntese química de moléculas complexas bioativas;
- Perceção de que devido ao uso de plantas pela população ao longo da história, os produtos fitoquímicos fornecem um modo mais seguro para prevenção e tratamento das doenças.

Neste contexto, os produtos naturais de origem vegetal constituem uma estratégia para a inovação farmacêutica e competitividade do setor, tendo em vista a singularidade estrutural das substâncias encontradas nas plantas, patenteabilidade e o seu papel como protótipos moleculares para o desenvolvimento de novos fármacos (Oliveira e Braga, 2003). Estudos realizados sobre as fontes de novos medicamentos, entre 1981-2007, indicam que quase metade dos medicamentos aprovados desde 1994 são baseados em produtos naturais (Harvey, 2008).

As plantas naturais ou plantas medicinais contêm os produtos naturais que formam a base da medicina tradicional há milhares de anos, sendo muito usadas no tratamento e prevenção de infeções e doenças específicas (Cragg e Newman, 2005; Gupta *et al.*, 2008). O seu papel é muito importante no desenvolvimento de novos medicamentos e de produtos fitoterapêuticos, utilizados para o tratamento de novas doenças, mas também como agrotóxicos, cosméticos, suplementos alimentares e na conservação de alimentos (McChesney *et al.*, 2007; Igbinosa *et al.*, 2009).

Muitos são os corantes, antioxidantes e óleos essenciais hoje consumidos na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar. A utilização de corantes naturais como substituição dos corantes artificiais por diversos setores da indústria tem originado um crescente interesse pelos produtos provenientes do urucum (*Bixa orellana* L.). Os métodos rudimentares frequentemente aplicados para obtenção destes produtos tendem a ser substituídos por processos mais elaborados visando, não só reduzir os custos de processamento, mas também para agregar um maior valor ao pigmento. (Resende *et al.*, 2011).

O urucum é uma das principais fontes de corantes naturais utilizados mundialmente. Na indústria alimentar é aplicado como corante em derivados lácteos, produtos cárneos, doces, licores, gelados e margarinas. Os corantes obtidos do urucum apresentam versatilidade, estando disponíveis tanto na forma lipossolúvel como na hidrossolúvel. Sendo

assim, têm um amplo espectro de aplicação. Outros ramos industriais que também fazem uso das suas propriedades tintoriais são a indústria têxtil, a de tintas e vernizes (Cragg e Newman, 2005; Resende *et al.*, 2011).

A indústria alimentar, devido ao seu elevado volume de produção, é responsável por grande parte da procura de produtos naturais. Por outro lado, a indústria de cosméticos, com os seus distintos segmentos (perfumes, produtos capilares, maquilhagem, cosméticos dermatológicos, corporais e faciais) é outro grande mercado consumidor de produtos naturais.

Em geral, a escolha de uma determinada planta medicinal é feita através da abordagem etnofarmacológica. Uma vez definida a espécie vegetal a ser estudada, define-se também o local e o modo como é colhida. Após a colheita da planta escolhida, deve ser identificada por um botânico ou técnico especializado, sendo então a planta catalogada corretamente. Na etapa que determina o estudo fitoquímico, escolhe-se a parte da planta que será investigada (raiz, cascas do caule, caule, galhos, folhas, flores, frutos) e a quantidade de material a estudar. Num projeto que interligue a fitoquímica com a farmacologia, deve-se escolher para estudo a parte da planta que é utilizada na medicina tradicional. A secagem pode ser realizada ao sol, à sombra ou em estufa, sempre com circulação de ar. A armazenagem deve ser feita em sacos plásticos, acondicionados em caixas de papelão guardadas num local seguro, com uma baixa humidade e temperatura. A moagem só deverá ser efetuada na ocasião da preparação dos extratos. A preparação de extratos é feita geralmente por percolação (método de extração a frio), Soxhlet (método de extração a quente) ou ácido-base (Maciel *et al.*, 2002).

Atualmente, com o avanço científico e tecnológico, observa-se um desenvolvimento considerável de métodos e equipamentos de análise. A química de produtos naturais progrediu consideravelmente com a ajuda destas ferramentas analíticas modernas, tornando-se crescente o número de trabalhos fitoquímicos envolvendo a procura de produtos naturais bioativos (Pinto *et al.*, 2002). O isolamento e purificação de compostos naturais pode ser realizado através de diversas técnicas, tais como a cromatografia em coluna (CC), cromatografia em coluna a baixa pressão (LPLC), cromatografia a alta pressão (HPLC) e cromatografia em camada fina (Sarker *et al.*, 2006). As técnicas para a caracterização de compostos naturais mais utilizados são a ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massa (MS), espectroscopia de infravermelho (IV), ultravioleta (UV-VIS), atividade ótica e ponto de fusão. A difração de raio X de monocristal também é um método muito usado para a caracterização de compostos naturais, sempre que se obtenham compostos cristalinos (Cseke *et al.*, 2006; Sarker *et al.*, 2006).

A grande biodiversidade nas florestas tropicais, savanas e planícies em ambientes únicos de África, forneceu às culturas indígenas uma gama diversificada de plantas e, como consequência, uma riqueza de conhecimentos tradicionais sobre a utilização de plantas para fins medicinais, sendo também um verdadeiro tesouro em plantas naturais (Simon *et al.*, 2007). África, especialmente a África do Sul, possui uma enorme e rica diversidade de plantas. Há estudos que revelam que 25% do número total de plantas do mundo se encontra

em África. Sobre plantas medicinais de todo o continente africano, estudos efetuados demonstraram que mais de 5400 taxonomias de plantas medicinais e mais de 16300 medicamentos são usadas para o tratamento de doenças, ressaltando, assim, a importância destes recursos naturais no desenvolvimento socioeconómico do continente africano (Simon *et al.*, 2007; van Wyk, 2008). Muitas destas plantas apresentam substâncias orgânicas extratáveis em quantidades suficientes para serem economicamente viáveis como matérias-primas químicas ou matérias-primas para diversas aplicações científicas, tecnológicas e comerciais (Khevrodin, 2009).

Apesar de em África ainda ser muito usada a medicina tradicional, um dos segmentos da medicina que mais tem crescido é a fitoterapia, principalmente nos países desenvolvidos, onde as técnicas de aperfeiçoamento da tecnologia farmacêutica permitem um melhor controlo da qualidade de fitoterápicos, utilizando recursos modernos de identificação, determinação e quantificação de compostos químicos, tornando possível a produção de fitofármacos seguros e eficazes e com efeitos totalmente reproduzíveis (Yunes *et al.*, 2001; Pinto *et al.*, 2002). Assim, a fitoterapia é geralmente aceite como um sistema alternativo válido de terapia na forma de produtos farmacêuticos e alimentos funcionais, reconhecida e padronizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (Ahmad *et al.*, 2006). Vários estudos em todo o mundo, especialmente na Europa, têm sido desenvolvidos para alcançar os conhecimentos científicos nesta área (Ahmad *et al.*, 2006). A OMS estima que 80% dos países em desenvolvimento dependem de medicamentos tradicionais e medicamentos feitos à base de produtos naturais de plantas medicinais para os cuidados da saúde (Gupta *et al.*, 2008).

Durante o século XX, a pesquisa de novos compostos bioativos a partir de plantas voltou-se para a síntese e investigações semelhantes, principalmente utilizando a medicina combinatória e design computacional de fármacos. Apesar dos avanços da química, biologia molecular e pesquisa de genomas, as plantas medicinais permanecem ainda como uma importante alternativa de estudos, principalmente devido à sua grande diversidade química, sendo considerada a melhor fonte de produtos para a saúde humana devido à efetividade das plantas, dos efeitos colaterais apresentados com o uso de fármacos comerciais e o desenvolvimento da ciência e tecnologia surgida com a interação entre indústrias e universidades (Bhattaram *et al.*, 2002).

Assim, o futuro dos fármacos, oriundos de plantas, requer a utilização de métodos seguros para o isolamento, caracterização e exploração de métodos qualitativos e quantitativos que possam contribuir para uma eficiente descoberta, desenvolvimento e comercialização de fitoterápicos. Aliado a isto, existe a necessidade de utilizar sistemas regulatórios que garantam a segurança e atividade destes fitoquímicos e estudos toxicológicos, farmacocinéticos e farmacodinâmicos possibilitando a designação de dosagens lógicas (Bhattaram *et al.*, 2002).

O sucesso da investigação na química de produtos naturais depende do grau de interação de um grupo de pesquisa multidisciplinar nos quais fitoquímicos, botânicos sistemáticos, farmacologistas, toxicologistas, bioquímicos, médicos e microbiologistas

colaboram na tentativa de validar plantas medicinais, propiciando o conhecimento real da diversidade química, visando a obtenção de novos fármacos clínicos (Phillipson, 2001; Dixon, 2001).

A qualidade da matéria-prima vegetal usada como fitoterápico é de extrema importância, pois afeta diretamente a eficácia e a segurança desses medicamentos. Para melhorar a qualidade da matéria-prima, as indústrias estão a investir em cultivos de larga escala. Isto permite selecionar espécies com alto teor de princípios ativos, controlar pragas e contaminações por metais pesados, inseticidas, além de poderem controlar o clima, nutrientes e luminosidade. Todos esses fatores contribuem para manter a qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos derivados de plantas medicinais (Calixto, 2000). As plantas podem possuir centenas de constituintes, alguns deles presentes em concentrações mínimas. Os constituintes das plantas variam em função de fatores externos como temperatura, humidade, luminosidade, método de colheita, secagem e transporte. Com os avanços tecnológicos ocorridos em técnicas analíticas (HPLC, RMN, etc) é possível estabelecer critérios para padronizar e manter o controlo de qualidade dos fitoterápicos (Farias *et al.*, 1999).

Um fator importante na procura de novas moléculas depende da interação entre a química e a farmacologia. Neste sentido, um diferencial a ser observado é que o estudo químico siga o caminho dos resultados farmacológicos que indicam uma atividade mais importante, embora toda a composição química da planta deva ser explorada. Assim, o químico deve isolar e identificar os compostos dos extratos que apresentam a atividade investigada. Muitas vezes, a alta atividade biológica de um extrato não pode ser explicada apenas por uma substância, nem pela acumulação dos efeitos das substâncias ativas, sugerindo a ocorrência de efeitos sinérgicos ou a existência de outros componentes mais ativos, mas presentes em pequenas quantidades. Por esse motivo, o estudo farmacológico de frações enriquecidas não deve ser deixado de lado. Paralelamente a isso, torna-se indispensável o estabelecimento de um perfil químico (cromatográfico/espectrométrico) dessa fração enriquecida (Barata, 2003).

A presença de metabólitos secundários nas plantas é um exemplo de resposta evolutiva para um determinado ecossistema, destacando-se a função protetiva dos metabólitos secundários contra outros organismos e fatores ambientais. Assim, a relação entre a evolução química dos metabólitos e da ecologia, permite aumentar as possibilidades de algumas destas substâncias serem bons marcadores quimitaxonómicos. (Gottlieb, 1982) Estes marcadores quimitaxonómicos podem ser definidos como micromoléculas, ou seja, metabólitos secundários, ou até mesmo em alguns casos primários, que permitem a observação da diferença entre indivíduos em qualquer nível hierárquico, da classificação botânica, para a consolidação de filogenias estabelecidas (Wink, 2003).

O estabelecimento de relações filogenéticas em plantas a partir da composição química é dificultado por fatores ambientais e geográficos, onde irregularidades bioquímicas são mais facilmente identificadas em populações pequenas, através de grupos pouco

aparentados pelo isolamento de compostos em regiões geograficamente restritas (Gottlieb, 1982). Deste modo, a existência de variações populacionais em várias espécies leva à percepção de uma característica evidente desses indivíduos, isto é, apesar dos fenótipos serem semelhantes os seus genótipos são diferentes, constituindo populações quimicamente distintas que definem os chamados quimiotipos (Wink, 2003). Todas estas considerações definem a chamada quimiotaxonomia, taxonomia química, ou quimiosistemática, que muito resumidamente foi definida por Gottlieb (1982) como uma área da botânica cujo objectivo principal é a utilização de compostos químicos para a resolução de problemas de natureza taxonómica.

A medicina tradicional continua a ser o suporte de cuidados de saúde para a maior parte da população angolana. Toda a informação que se possa reunir sobre a composição química das plantas mais utilizadas pelos terapeutas tradicionais é importante para validar os usos e determinar a presença ou ausência de substâncias tóxicas.

Pelas razões acima referidas e a partir de estudos etnofarmacêuticos realizados anteriormente (Bossard, 1996) e tendo em conta a facilidade de acesso à planta, assim como a manutenção da sua integridade química no transporte desde Angola, foram escolhidas para este estudo as seguintes plantas: raiz da *Piliostigma thonningii*, raiz da *Phragmanthera glaucocarpa*, parte aérea da *Croton gratissimus*, raiz da *Peltophorum africanum* e ramos da *Gymnosporia senegalensis*.

Como algumas das plantas recolhidas foram já parcialmente estudadas em outras regiões de África, foi dada atenção à comparação entre a composição química da planta angolana e de outras espécimes recolhidas noutros países africanos. Esta comparação é importante uma vez que a atividade biológica advém dos compostos ativos presentes na planta e tem como consequência que diferentes composições originam diferentes atividades biológicas, pelo que uma planta utilizada numa região de África, para tratamento de uma determinada doença, pode noutra região, pela alteração da sua composição, não ter qualquer efeito.

Outra vertente importante no estudo da composição química de diferentes plantas da mesma espécie é a referente à sua quimiotaxonomia, que permite diferenciar duas populações da mesma planta pela escolha de marcadores quimiotaxonómicos bem diferenciados. Assim, marcadores taxonómicos foram escolhidos para as plantas angolanas que apresentaram composição química diferente de estudos já publicados.

## 1.2. *Piliostigma thonningii*

A *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh pertence à família das Caesalpinioideae (Jimoh e Oladiji, 2005; Egharevba e Kunle, 2010). Apesar da sua importância, a *Piliostigma thonningii*, que é um sinónimo de *Bauhinia thonningii*, é ameaçada pelo aumento de exploração de lenha e do carvão e pela medicina que usa esta planta para fins curativos. (Mwase e Mvula, 2011). As plantas pertencentes ao género *Bauhinia* são encontradas nas áreas tropicais do planeta, compreendendo aproximadamente 300 espécies, onde muitas destas, são denominadas “pata-de-vaca” ou “unha-de-vaca” (Achenbach *et al.*, 1988).



Figura 1.2: Floração da *P. thonningii* (Orwa *et al.*, 2009).

A *P. thonningii* é uma árvore perene e as suas flores, normalmente com cinco pétalas que são produzidas entre novembro e abril, podem ser brancas, de cor rosada, em tons de vermelho, roxo, laranja ou amarelo (Ozolua e Alonge, 2008; Mwase e Mvula, 2011) (figura 1.2).

Estas árvores podem atingir uma altura entre 6 a 12 m e os seus ramos entre 3 a 6 m. Os frutos são desenvolvidos a partir de um único carpelo envolvendo uma ou mais sementes de cor beje-acastanhado, lenhosos e a sua maturação é, geralmente, persistente entre Junho e Setembro (Madara *et al.*, 2010). As folhas têm um comprimento de 7,5-15 cm, são coriáceas, e fortemente reticuladas (Ozolua e Alonge, 2008; Mwase e Mvula, 2011).

Conforme se pode observar na figura 1.3, a *P. thonningii* tem uma ampla distribuição em África, incluindo em países como Malawi, Zimbabwe, Zâmbia, Botswana, Tanzânia e Namíbia (Mwase e Mvula, 2011).

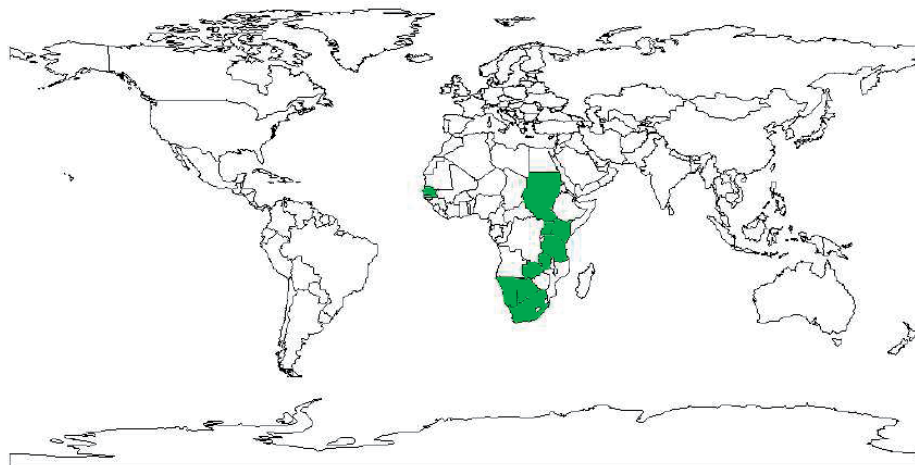


Figura 1.3: Países de África onde se encontra com mais abundância a *P. thonningii* (Orwa et al., 2009).

As sementes desta planta são uma boa fonte de antioxidantes, micronutrientes, ricas em proteína e glúcidos (Jimoh e Oladiji, 2005; Mwase e Mvula, 2011). O interior da casca da árvore é usada para fazer corda. As raízes, cascas e galhos são usados em muitos países africanos para o tratamento de úlceras, dores de estômago e como um antipirético. A casca da raiz é usada para o tratamento de diarreias e alívio das dores menstruais. (Mwase e Mvula, 2011). As raízes e galhos são também usados no tratamento de doenças respiratórias, febre, doenças provocadas por parasitas e picadas de cobras (Jimoh e Oladiji, 2005; Mwase e Mvula, 2011).

Alguns compostos das plantas do género *Bauhinia* foram e estão a ser estudados química e farmacologicamente e, com isto, alguns dos seus compostos foram isolados e identificados. Assim, diferentes classes de metabólitos com interesse medicinal têm sido referidos na literatura, podendo o género *Bauhinia* ser classificado, do ponto de vista quimiotaxonómico, como um acúmulo de lactonas, triterpenos, terpenóides, flavonoides, esteroides, taninos e quinonas. Apesar de muitos dos compostos presentes na *Bauhinia* serem conhecidos, pouco se sabe sobre a atividade farmacológica da maioria das substâncias isoladas do género *Bauhinia* (Silva e Cechinel Filho, 2002).

Através do levantamento bibliográfico realizado (tabela 1.1), até ao ano de 2002, sobre o género *Bauhinia* (Silva e Cechinel Filho, 2002), verificou-se que os estudos fitoquímicos sobre as espécies do género ainda são muito escassos. Das 300 espécies existentes, apenas *B. reticulada*, *B. tomentosa*, *B. thonningii*, *B. racemosa*, *B. purpurea*, *B. variegata*, *B. sirindhorniae*, *B. saccocalyx*, *B. guianensis*, *B. championii*, *B. galpinii*, *B. aurea*, *B. forficata*, *B. microstachya*, *B. megalandra*, *B. glauca*, *B. candicans*, *B. malabarica*, *B. splendens*, *B. hupehara*, *B. rufescens*, *B. manca*, *B. vahlii*, *B. tarapotensis*, *B. monandra*, *B. retusa*, *B. uruguayensis* e *B. ungulata* foram objeto de investigação fitoquímica.

Tabela 1.1: Compostos isolados no género *Bauhinia* (adaptado de Silva e Cechinel Filho, 2002).

Género	Classe	Composto	Ref.
<i>B. candicans</i>	Esteróides	sitosterol ; campesterol; estigmasterol; colesterol; estigmasta-3,5-dieno-7-ona; 3-O-B-glucosilsitosterol; 3-O-B-D-xiluronofuranosilsitosterol;	Iribarren <i>et al.</i> , 1983;
	Flavonóides	3-O-B-rutinosilkaempferol; 3-O-B-rutinosilkaempferol 7-O-ramnopiranosídeo	
	Alcalóides	trigonelina	
	Álcoois	triacontanol	
<i>B. championii</i>	Poliálcoois	3-O-metil-D-inositol (D-pinitol)	
	Benzenóides	ácido gálico	Chien-Chin <i>et al.</i> , 1985
Glicosídios	bauhinina		
<i>B. forficata</i>	Flavonóides	kaempferitrina;	Silva <i>et al.</i> , 2000;
	Esteróides	3-O- $\alpha$ -diraminosilkaempferol sitosterol	
<i>B. guianensis</i>	Esteróides	sitosterol; estigmasterol	Viana <i>et al.</i> , 2000
	Flavonóides	4-hidroxi-7-metoxiflavona	
	Quinonas	lapachol; di-hidro- $\alpha$ -lapachona	
<i>B. manca</i>	Esteróides	sitosterol; 3-O-B-D-glucosilsitosterol estigmasta-4-eno-3-ona; estigmasta-4-eno-3,6-diona ácido cinâmico; cinamoil-B-D-glucose; éster metílico do ácido (E)-4-hidroxi-cinâmico; éster metílico do ácido (E)-4-hidroxi-3-metoxicinâmico; ácido gálico, galato de metilo; éster metílico do ácido 4-hidroxi-2-metoxi-benzóico; éster metílico do ácido 4-hidroxi-3-metoxi-benzóico; éster metílico do ácido 3,4 di-hidroxi-benzóico; $\omega$ -Hidroxipropioguaiacona; siringaresinol; (7S,8R,8'R)-5,5-dimetoxilariciresinol	Achenbach <i>et al.</i> , 1988
	Benzenóides	apigenina; chrisoeriol ; 3,5-dimetoxiluteolina; kaempferol; isoliquiritigenina; 2-metoxi-isoliquiritigenina; 4- metoxi-isoliquiritigenina; echinatina; 2,4-di-hidroxi-4-metoxi-dihydrocalcona; (2S)-narigenina; (2S)-eriodictiol; (2S)-liquiritigenina; 7-metoxi-(2S)-liquiritigenina; 4 metoxi-(2S)-liquiritigenina; (2S)-7,4-di-hidroxi-flavona; (2S)-7,3-dimetoxi-4-hidroxi-flavona; (2S)-3,4-di-metoxi-7-hidroxi-flavona; (2S)-7,4-di-metoxi-3-hidroxi-flavona	
	Flavonóides	Obtustireno	
	Estilbenóides		
	Outros	5,7-di-hidroxicromona; (2R,3R)-3-O-galoilepicatequina	
<i>B. Reticulata</i>	Flavonóides	Quercetina	Rebate, 1938
<i>B. purpurea</i>	Flavonóides	isoquercitrina; quercetina; astragalina;	Ramachandran <i>et al.</i> , 1967;
	Aminoácidos	5,6-di-hidroxi-7-metoxi-flavona-6-O-B-D-xilopiranosídeo ácido aspártico; treonina; serina; ácido glutâmico; prolina; glicina; alanina; valina; metionina; isoleucina; leucina; tirosina; fenilalanina; histidina; cisteína; lisina; triptofano	
<i>B. racemosa</i>	Cromanos	pacharina; racemosol; des-O-metilracemosol	Prabhakar <i>et al.</i> , 1994
<i>B. rufescens</i>	Estilbenóides	5,6-di-hidro-11-metoxi-2,2,12-tri-metil-2H-nafto-[1,2E][1]-benzopirano-8,9-diol; 11-metoxi-2,2,12-tri-metil-2H-nafto-[1,2-E][1]benzopirano-8,9-diol; 1,7,8,12b-tetra-hidro-2,2,4-tri-metil-2H-benzo-[6,7]-ciclo-hepta-[1,2,3-de][1]benzopirano-5,10,11-triol	Maillard <i>et al.</i> , 1991

Gênero	Classe	Composto	Ref.
<i>B. splendens</i>	Esteróides	sitosterol; estigmasterol	Cechinel et al., 1995; Laux et al., 1985
	Ácidos gordos	ácido esteárico	
	Flavonóides	bausplendina; quercetina; rutina	
	Benzenóide	galato de etilo	
<i>B. tomentosa</i>	Flavonóides	isoquercitrina; quercetina; rutina	Row et al., 1954
<i>B. thoningii</i>	Lactona	grifonilida	Okwute et al., 1986
<i>B. uruguayensis</i>	Esteróides	estigmasta-1,3,5-trieno; estigmasta 3,5-dieno; campesterol;	Iribarren et al., 1989
		estigmasterol; sitosterol; estigmasta-4,6-dien-3-ona; sitosterol-	
		3-O- $\alpha$ -D-riburonofuranosil; 3-O-B-D-xilopiranosil-sitosterol;	
	3-O- $\alpha$ -D-xiluronofuranosil-sitosterol;		
Flavonóides	3-O-B-D-glucopiranosil-sitosterol;	3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-quercetina;	
	3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosil-kaempferol		
Aminoácidos	ácido aspártico; treonina; serina; ácido glutâmico; prolina;	glicina; alanina; valina; metionina; isoleucina; leucina; tirosina;	
	fenilalanina; histidina; colina		
	Outros	hidrocarbonetos; álcoois lineares	
<i>B. vahlii</i>	Esteróides	campesterol; estigmasterol; sitosterol	Sultana et al., 1985
	Flavonóides	quercetina; 3-glucosilquercetina; kaempferol; agatisflavona	
	Triterpenóides	ácido betulínico	
<i>B. megalandra</i>	Flavonóides	5,7,5'-tri-hidroxi-2'-O-ramnosilflavona;	González-Mujica et al., 2000
		5,7,2'-tri-hidroxi-5'-O-ramnosilflavona	
<i>B. variegata</i>	Esteróides	sitosterol	Gupta et al., 1980
	Triterpenóides	lupeol	
	Flavonóides	5,7-di-metoxi-4-ramnoglicosilnarigenina; 3-galactosilkaempferol; 3-ramnoglicosilkaempferol	

No extrato das folhas da *B. forficata* foram isolados o  $\beta$ -sitosterol, o kaempferol (figura 1.4), o 3,7-di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilkaempferol, 3,7-di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquercetina, 3-O-[ $\beta$ -D-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -L-ramnopiranosil]-7-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilkaempferol e 3-O-[ $\beta$ -D-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -L-ramnopiranosil]-7-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquercetina. A partir das flores, apenas o 3,7-di-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilkaempferol foi isolado (Pizzolatti et al., 2003).

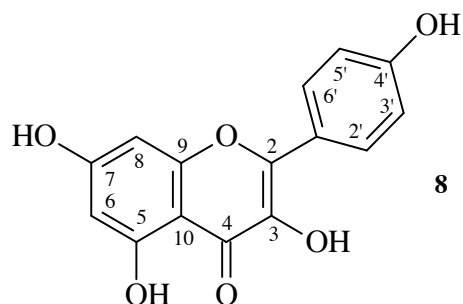


Figura 1.4: Estrutura do kaempferol (Pizzolatti *et al.*, 2003).

Um estudo comparativo entre diferentes partes da planta (folhas, caule e raízes), realizado por Silva *et al.* (2000), indicou a presença de esteróides e terpenos em todas as partes, predominantemente nas folhas. No entanto, o 3,7-di-*O*- $\alpha$ -L-ramnopiranosilkaempferol foi detetado exclusivamente nas folhas de *B. forficata*. Este derivado do kaempferol poderia, portanto, segundo os autores, ser considerado um marcador químico para o controlo da qualidade em preparações com as folhas de *B. forficata*, uma vez que não é encontrado em nenhuma outra parte da planta.

Os estudos sobre isolamento dos compostos químicos da *P. thonningii* ainda são escassos. Ibewuiké *et al.* (1996), encontraram nas folhas, piliostigmina (uma 2-fenoxicromona) (9) e três novos C-metilflavonóis, o 6,8-di-C-3-metilquercetina (10), 6-C-metil-3,7-metoxiquercetina (11) e 6,8-di-C-metil-3,7-dimetoxiquercetina (12). Também compostos conhecidos foram identificados como o 6-C-metil-3-metoxiquercetina (13), éter 6-C-metil-3,7,3-trimetoxiquercetina (14), 6,8-di-C-metil-3 metoxikaempferol (15), 6,8-di-C-metil-3,7-dimetoxikaempferol (16), quercetina (17) e a quercitrina (18) (figura 1.5).

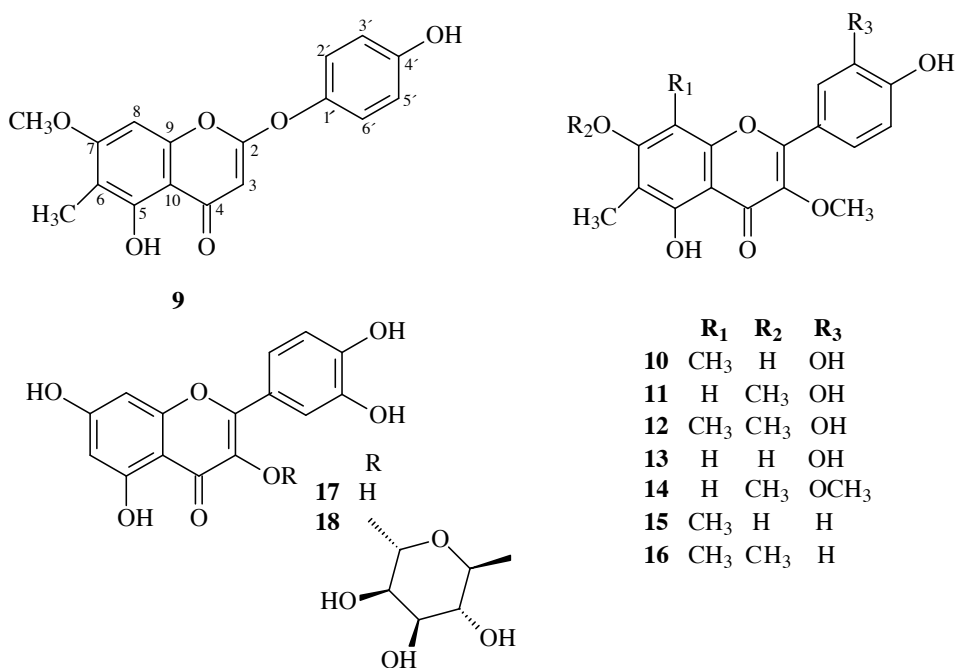


Figura 1.5: Exemplos de compostos isolados da *P. thonningii*: piliostigmina (9); C-metilflavonóis (10-16); quercetina (17) e quercitrina (18) (Ibewuiké *et al.*, 1996).

Na casca do caule o D-3-O-metil-qui-ro-inositol (**19**) também foi isolado nos estudos realizados por Asuzu *et al.*, (1999) (figura 1.6).

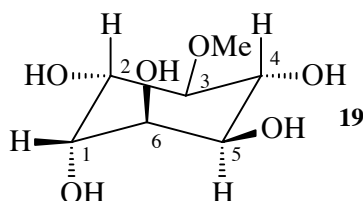
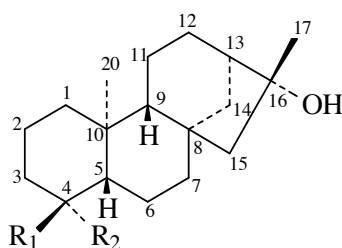


Figura 1.6: D-3-O-metil-qui-ro-inositol (Asuzu *et al.*, 1999).

Segundo Martin *et al.* (1997), dois diterpenos kauranos (**20**, **21**) (figura 1.7) foram isolados a partir das folhas da *P. thonningii*.

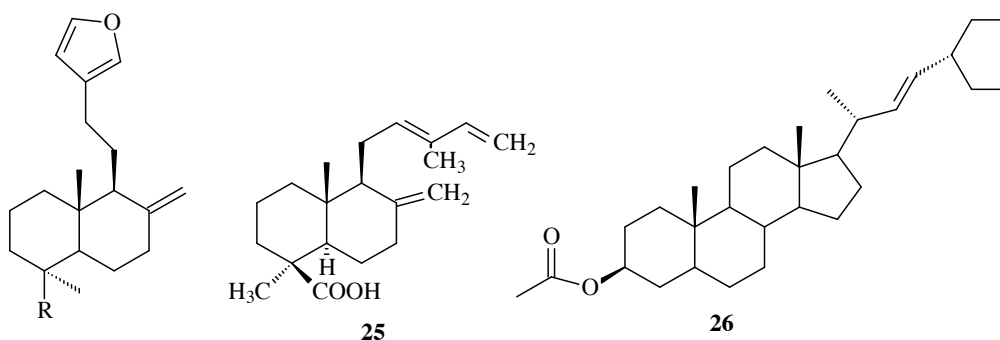


**20** R<sub>1</sub>=COOH, R<sub>2</sub>=Me-19

**21** R<sub>2</sub>=Me-18, R<sub>2</sub>=COOH

Figura 1.7: Diterpeno kaurano (Martin *et al.*, 1997).

Os restantes estudos encontrados sobre *P. thonningii* (figura 1.8) referem-se à raiz onde foram encontrados derivados de labdanos: ácido lambertianico (**22**), lambertianol (**23**), éster esteárico de lambertianol (**24**), o ácido *trans*-communico (**25**) e o 5 $\alpha$ -stigmasta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol (**26**) (Snatzke e Wolff, 1989). Uma griffonilida, também, foi isolada na casca do caule (Okwute *et al.*, 1986).



**22** COOH

**23** CH<sub>2</sub>OH

**24** CH<sub>2</sub>OCO(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>CH<sub>3</sub>

Figura 1.8: Derivados de labdanos e griffonilida isolados na *Bauhinia thonningii* (Snatzke e Wolff, 1989; Okwute *et al.*, 1986).

As sementes são ricas em compostos fenólicos, glicosídeos, saponinas, flavonóides, antraquinonas, taninos e esteróides (Jimoh e Oladiji, 2005). Nas vagens, a epicatequina e derivados do inositol foram também isolados (Baratta *et al.*, 1998).

### 1.3. *Phragmanthera glaucocarpa*

A *Phragmanthera glaucocarpa* (Peyr.) Balle. (figura 1.9) pertence à família das *Loranthaceae*. Esta família é composta por epifitas, comportando-se como hemi-parasitas em árvores silvestres ou cultivadas e em arbustos (Didier *et al.*, 2010).



Figura 1.9: *Phragmanthera glaucocarpa*

([http://ww2.bgbm.org/herbarium/view\\_large.cfm?SpecimenPK=25741&idThumb=222965&SpecimenSequenz=1&loan=0](http://ww2.bgbm.org/herbarium/view_large.cfm?SpecimenPK=25741&idThumb=222965&SpecimenSequenz=1&loan=0))

As *Loranthaceae* possuem cerca de 950 espécies, distribuídas em 77 géneros (Didier *et al.*, 2009). As plantas desta família infestam as outras plantas, interceptando o xilema e o floema, provocando efeitos nocivos sobre o hospedeiro e, por vezes, até mesmo a morte da planta parasitada (Arruda *et al.*, 2013). Algumas são consideradas como infestantes em florestas, plantações e pomares, uma vez que ao infestarem outras plantas reduzem e afetam consideravelmente a sua qualidade, provocando danos estruturais e económicos (Wahab *et al.*, 2010; Didier *et al.*, 2008). A sua disseminação é realizada por pássaros que consomem os seus pseudo-frutos (Soro *et al.*, 2010). As *Loranthaceae* afetam a viabilidade das outras plantas, pois retiram recursos essenciais como água, nutrientes inorgânicos e compostos orgânicos e são facilmente encontrados nos desertos africanos e na América do Sul (Devkota, 2005). Na *P. glaucocarpa* a variabilidade pode sobretudo incidir na variabilidade da sua pilosidade como, também, no comprimento das flores (Merxmüller, 1969).

A *P. glaucocarpa* é encontrada no sul de África, em Angola (Luanda e Pungo Adungo) e Namíbia (figura. 1.10) (Merxmüller, 1969).

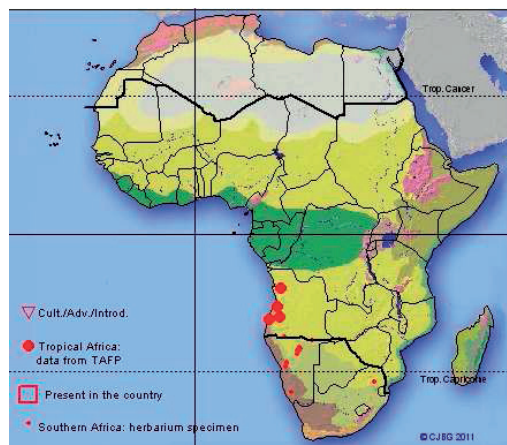


Figura 1.10: Distribuição da *P. glaucocarpa* em África (<http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=en&id=25250>).

Os viscos pertencentes à *Loranthaceae* são muito importantes para a medicina, no tratamento de problemas circulatórios e também contra o cancro. Os extratos destas plantas, já são muito utilizados na Europa na luta contra o cancro (Wahab *et al.*, 2010).

Uma análise fitoquímica preliminar, realizada para a *P. incana*, demonstrou que todos os extratos, com exceção do extrato de hexano do caule, possuíam glicósidos cardíacos. Os extratos de metanol das folhas e de hexano do caule apresentaram a presença de taninos. Apenas o extrato de metanol do caule possuía esteroides, enquanto os extratos de metanol das folhas e de metanol do caule revelaram a presença de flavonóides. Os outros extratos apresentaram resultados negativos relativamente à presença de alcalóides, saponinas, açúcares redutores e antraquinonas (Atewolara-Odule e Aiyelaagbe, 2013). Sobre compostos isolados no género *Phragmanthera* pouco se encontra na literatura, podendo destacar-se o isolamento da 3-O-B-glucopiranosilcianidina (figura 1.11) nas flores da *P. usuiensis* (Byamukama *et al.*, 2011).

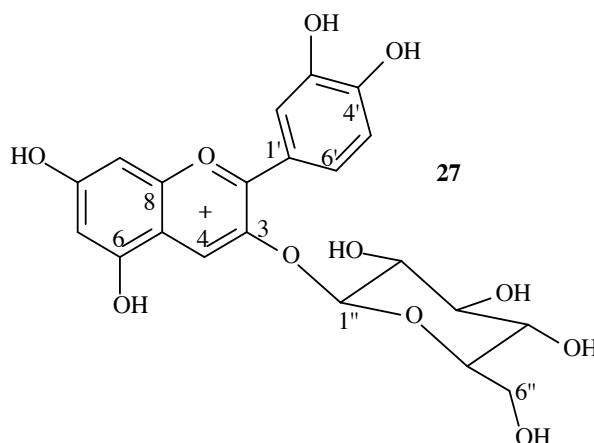


Figura 1.11: Estrutura da 3-O-B-glucopiranosilcianidina (Byamukama *et al.*, 2011).

Não há estudos na literatura sobre a *P. glaucocarpa*, no entanto, sobre o género *Phragmanthera* encontram-se, ainda, alguns estudos sobre o controlo da sua infestação, como o que foi realizado para a *P. capitata* (Didier *et al.*, 2010).

#### 1.4. *Croton gratissimus*

O género *Croton* L. pertence à família Euphorbiaceae e contém cerca de 1300 espécies (Santos *et al.*, 2010). Distribuída ao longo dos trópicos, cerca de 50 espécies são encontradas em África e apenas 10 são nativas do sudoeste da África (Mulholland *et al.*, 2010). Várias destas espécies desempenham, há muito tempo, um papel importante nos usos tradicionais de plantas medicinais na África, Ásia e América do Sul (Salatino *et al.*, 2007). Para muitos botânicos e ecologistas, o género *Croton* tem sido uma incógnita taxonómica devido ao grande tamanho do género, à proliferação de nomes e às dificuldades de acesso aos espécimes que se encontram depositados nos mais diversos herbários do mundo (Lima e Pirani, 2008).

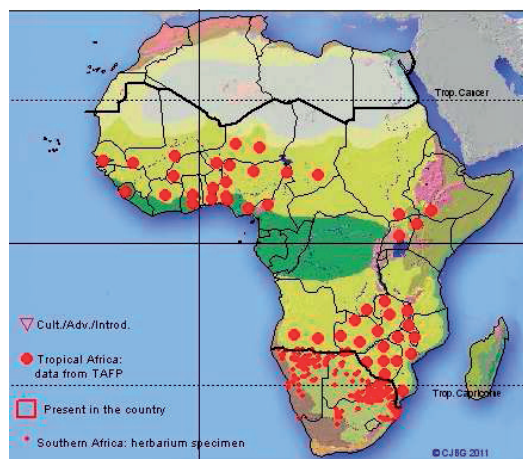


Figura 1.12: *Croton gratissimus* (Johnson, 2002).

No entanto, apesar da ampla utilização tradicional da *Croton gratissimus* Burch. (Euphorbiaceae) para fins medicinais, estudos científicos que validam as suas propriedades terapêuticas indígenas, ainda são muito escassos (van Vuuren e Viljoen, 2008). A *C. gratissimus* é uma espécie de folha caduca que ocorre em encostas rochosas na maior parte das regiões mais quentes e secas da África do Sul e as suas folhas produzem um agradável cheiro a lavanda (Mulholland *et al.*, 2010). A *C. gratissimus* é uma leguminosa que pertence à família Euphorbiaceae. As árvores são pequenas, elegantes e eventualmente desenvolvem uma certa cobertura. As suas folhas são brancas e prateadas por baixo, com manchas espalhadas, criando um efeito de sal e pimenta e contrastando com o verde brilhante da página superior. Estas folhas são elípticas, com um intenso castanho avermelhado e um tamanho de 30 mm. Quando envelhecem, estas folhas tornam-se alaranjadas e permanecem na árvore por várias semanas. As flores são pequenas, com “pompons” brancos e crescem

entre os meses de outubro e maio. Os frutos são atraentes e possuem três lóbulos em forma de cápsula (Figura 1.12) (Johnson, 2002; Grant *et al.*, 2006).

A distribuição geográfica (Figura 1.13) da *Croton gratissimus* na África do Sul encontra-se no Cape Norte, províncias do Noroeste, Gauteng, Norte do KwaZulu-Natal, Mpumalanga, províncias do Norte e partes do norte da África do Sul. Outras populações desta planta foram registadas, também, do centro para o norte da Botswana e Namíbia (van Vuuren, 2007; Setshogo *et al.*, 2003).



**Figura 1.13:** Distribuição geográfica de *Croton gratissimus* em África (<http://www.village.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=en&id=174104>).

Todas as partes da *C. gratissimus* são usadas para fins medicinais. As folhas são aromáticas e frequentemente utilizadas como infusões para tratar a tosse e a febre. As raízes são usadas para tratar problemas no peito, tosse, febre e doenças sexualmente transmissíveis, como sífilis. A casca da raiz é mais frequentemente usada para tratar sangramentos gengivais, distúrbios abdominais, inflamações da pele, dores de ouvidos e doenças no peito. As combinações da raiz e da casca são usadas para tratar distúrbios respiratórios (van Vuuren e Viljoen, 2008; Mulholland *et al.*, 2010).

Tendo em conta a grande dimensão do género *Croton* e a sua dispersão de estudos, não existem conclusões definitivas sobre a relação química entre estas espécies, referindo-se que a química do género *Croton* é diversa. Na literatura, estão descritos o isolamento de alcalóides, flavonóides, triterpenos, lignanos, benzenóides, poliprenóides, quinóides e um grande número de diterpenos. Os diterpenos são uma das classes de metabólitos secundários mais característica no género *Croton*, apresentando uma ampla ocorrência e alta diversidade estrutural. Os esqueletos estruturais mais comuns são (figura 1.14): labdanos, kauranos, seco-kauranos, cembranóides, clerodanos, neo-clerodanos, halimanos, isopimaranos, traquilobanos e ésteres de forbol (Salatino *et al.*, 2007).

Da maior parte dos compostos identificados, dá-se um destaque relevante aos diterpenos com esqueleto clerodano (Salatino *et al.*, 2007).

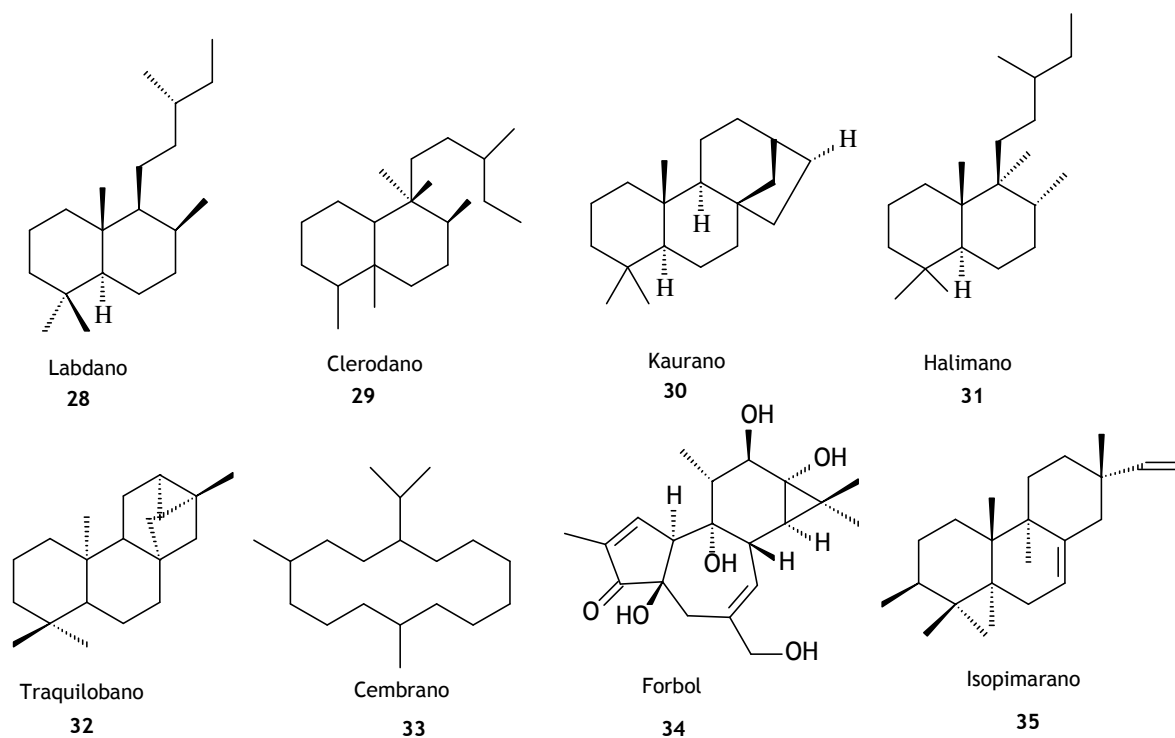


Figura 1.14: Exemplos de esqueletos de diterpenos muito comuns no género *Croton* (Salatino *et al.*, 2007).

Segundo Palmeira *et al.* (2006), o género *Croton* é bastante rico em diterpenos clerodanos, que podem ser encontrados em distintas partes das plantas, inclusive nos óleos essenciais. Para o género *Croton*, existem mais de uma centena de diterpenos clerodanos distintos cujas estruturas são referidas na literatura, porém estas seguem apenas quatro tipos de esqueletos (figura 1.15), que se distinguem através dos grupos existentes na cadeia lateral.

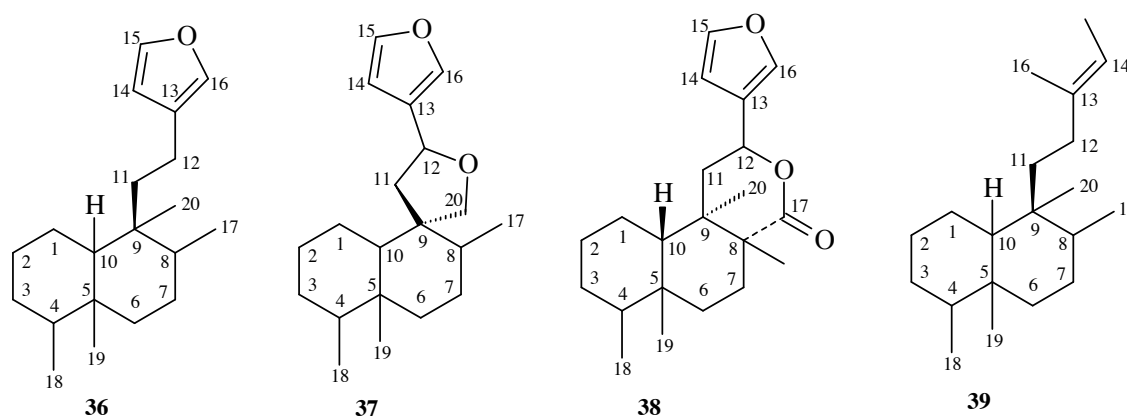


Figura 1.15: Estrutura de esqueletos clerodanos encontrados no género *Croton* (Palmeira *et al.*, 2006).

De uma forma geral, um número significativo de diterpenos do tipo clerodano apresenta atividades biológicas, tais como: inseticida, antimicrobiana, antiviral, psicotrópica, antiulcerogênica e antitumoral. Daí a elevada importância e insistente procura de esqueletos do tipo clerodano no gênero *Croton* (Marbberley, 2008).

Os estudos fitoquímicos do gênero *Croton* são bastante vastos, podendo encontrar-se variados compostos. Portanto, serão aqui referidos alguns estudos do gênero encontrados na literatura. Por exemplo, o óleo essencial das folhas da *C. gossypifolius* contém óxido  $\alpha$ -cedreno, espatulenol, valenceno, pentanoato de geranilo,  $\alpha$ -cadinol, germacreno-D e longifoleno (Suárez *et al.*, 2011).

Nos óleos essenciais das folhas da *C. palanostigma* foram identificados vários compostos como o linalol, cariofileno e metileugenol, nos óleos dos rebentos identificaram-se o  $\alpha$ -pineno, limoneno, sabineno e o  $\beta$ -pineno. No óleo dos ramos foram identificados o metileugenol, (*E*)-metiliseugenol,  $\alpha$ -pineno e (*E*)-cariofileno, no óleo da casca do caule encontraram-se o  $\alpha$ -pineno, metileugenol e (*E*)-metiliseugenol. No óleo dos frutos identificaram o linalol, metileugenol e  $\beta$ -elemeno (Brasil *et al.*, 2009).

Nos óleos da casca do caule da *C. cajucara*, foram isolados o ácido acetil aleuritólico (AAA), a *trans*-de-hidrocrotonina (DCTN), a *trans*-crotonina (TCN), a cajucarina A e B, a cajucarinolida e a sacarina (Silva *et al.*, 2012). Na casca também foram isolados *t*-cajucarina B, sacarina, *t*-crotonina, *t*-de-hidrocrotonina, cajucarina B e a cajucarinolida (Maciel *et al.*, 1998).

No extrato metanólico da casca do caule da *C. urucurana*, foram isolados o ácido acetil aleuritólico (AAA), o sigmasterol, o  $\beta$ -sitosterol, o campesterol, o  $\beta$ -sitosterol-*O*-glucósido, sonderianina, catequina e galocatequina (Peres *et al.*, 1997). Também em estudos dos óleos essenciais, a partir das cascas do caule, identificou-se o borneol, acetato de bornilo, 1-isopropil-7-metil-4-metileno-1,3,4,5,6,8-hexahidro-2H-naftalen-4a-ol, sesquicineol e epóxido de  $\gamma$ -gurjuneno (Simionatto *et al.*, 2007).

Na *C. hirtus* foi possível identificar, nos óleos essenciais das suas folhas, o espatulenol, (*E*)-cariofileno, bicilogermacreno,  $\alpha$ -cadinol, cubenol, germacreno D,  $\alpha$ -canideno,  $\delta$ -canideno e  $\alpha$ -humuleno (Lima *et al.*, 2012).

Nas folhas da *C. laevigatus* foram isolados o 3'-(4''-hidroxi-3'',5''-dimetoxifenil) propilbenzoato, o álcool di-hidrodehidrodiconiferil- $\beta$ -D-glucósido, o mirsinionósido C e o alangionósido J (Zou *et al.*, 2011).

Nas folhas da *C. oblongifolius* foram identificados oblongionósidos A-F, isolaram-se diferentes derivados glicosilados do kaempferol, kaempferitrina, clerpida A, icarisida F<sub>2</sub>, cantosida A, dendratemosida A e glochidioniósido D (Takeshige *et al.*, 2012). Na casca do caule de *C. oblongifolius* foram isolados o ácido *ent*-3,4-*seco*-17-oxo-kaur-4(19),15-dien-3-óico e o ácido *ent*-3,4-*seco*-kaur-4(19),16-dien-3-óico (Suwancharoen *et al.*, 2012). Também nesta planta, foram identificados compostos de esqueleto labdano, como o labda-7,12(*E*),14-trieno, labda-7,12(*E*),14-trien-17-al, labda-7,12(*E*),14-trien-17-ol e o ácido labda-7,12(*E*),14-trien-17-óico (Roengsumran *et al.*, 1999). Contudo, a casca do caule revelou ser uma enorme

fonte de compostos labdanos, já que os mesmos autores, mais tarde, conseguiram isolar o 2-acetoxi-3-hidroxiabda-8(17),12(E)-14-trieno, 3-acetoxi-3-hidroxiabda-8(17),12(E)-14-trieno e 2,3-acetoxi-3-hidroxiabda-8(17),12(E),14-trieno (Roengsumran *et al.*, 2001).

Através do extrato de hexano da parte aérea da *C. ciliatoglanduliferus*, isolou-se pela primeira vez a retusina (5-hidroxi-3,7,3',4'-tetrametoxiflavona) e o pachipodol (5,4'-di-hidroxi-3,7,3'-trimetoxiflavona) (González-Vázquez *et al.*, 2006).

A cascarillina, eluterina K, cascarilladiona, pseudoeluterina B e eluterina F foram isoladas a partir da casca do caule da *C. eluteria* (Appendino *et al.*, 2003). A partir das folhas da *C. tonkinensis* foi possível isolar-se dois dímeros simétricos, os crotonkinensis C e D (Thuong *et al.*, 2012).

Outros estudos revelam que através dos frutos da *C. macrostachyus* foi possível isolar um novo clerodano, a crotomacrina 1 e um crotepóxido (Tane *et al.*, 2004). A partir da parte aérea da *C. schiedeana* foi possível isolar os diterpenos *cis* e *trans*-de-hidrocrotolina (Puebla *et al.*, 2003).

Na *C. zambesicus* sinónimo de *C. gratissimus* já foram isolados a partir da casca do caule (figura 1.16) crotozambefuranos A, B e C (40, 41 e 42), o ácido 7B-acetoxitraquiloban-18-óico (43), o traquiloban-7B,18-diol (44), o betulinol, lupeol, sitosterol e derivados glicosilados traquilobanos (Ngadjui *et al.*, 2002).

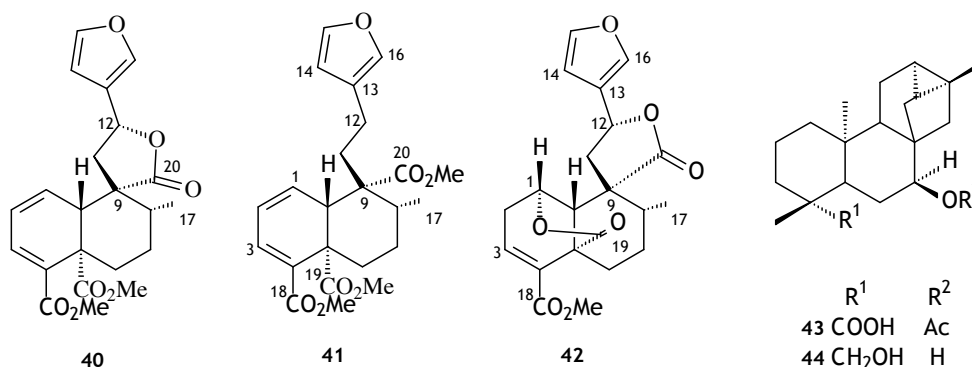


Figura 1.16: Compostos isolados na casca do caule da *C. zambesicus* (Ngadjui *et al.*, 2002).

Nas folhas da *C. zambesicus* (figura 1.17) foram identificados o *ent*-18-hidroxi-traquiloban-3-ona, *ent*-traquiloban-3-ona, isopimara-7,15-dien-3B-ol (45), *trans*-fitol (46), B-sitosterol,  $\alpha$ -amirina e estigmasterol (Block *et al.*, 2004).

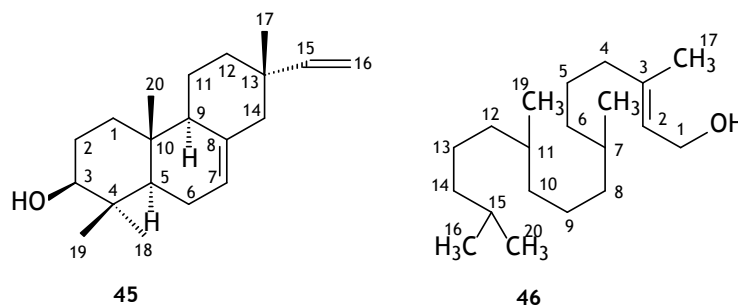
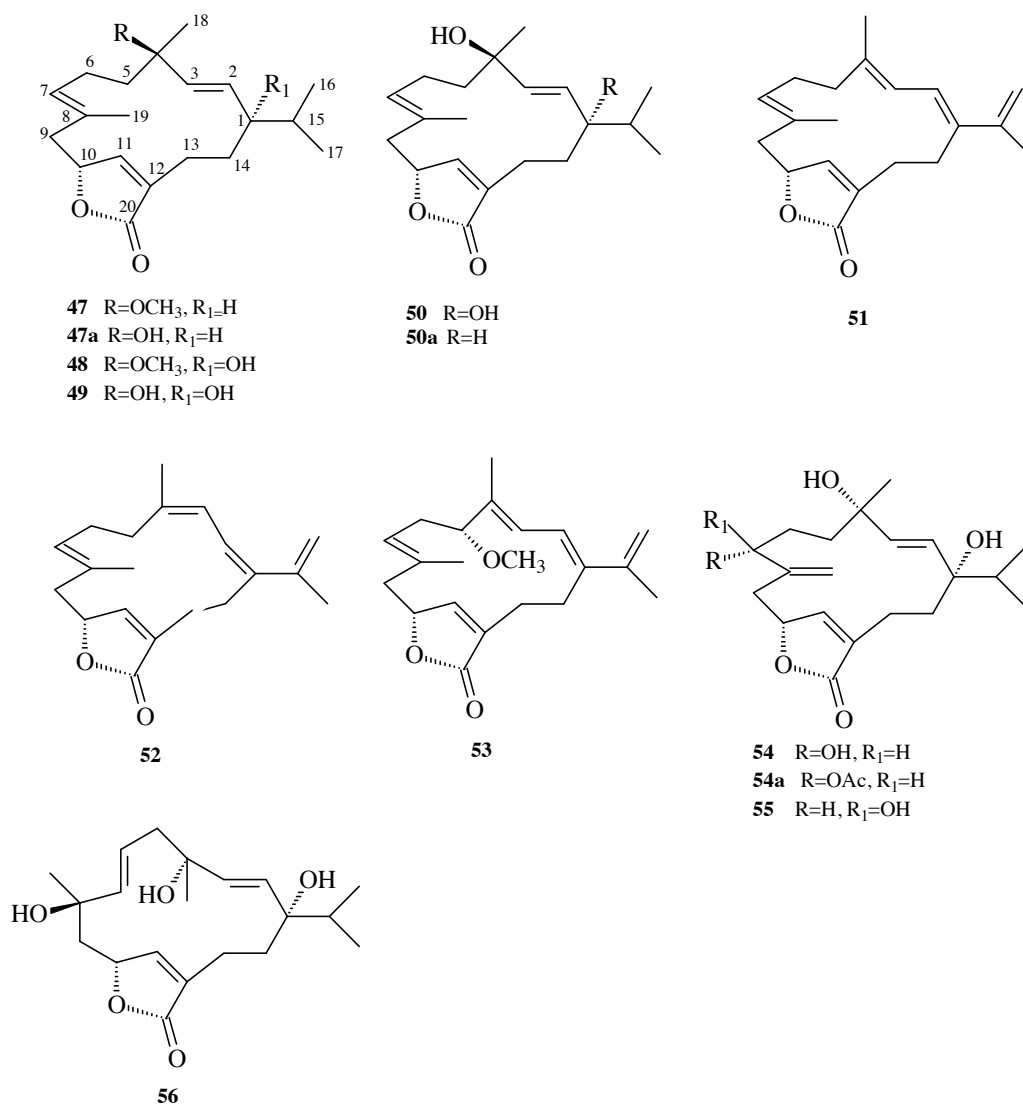


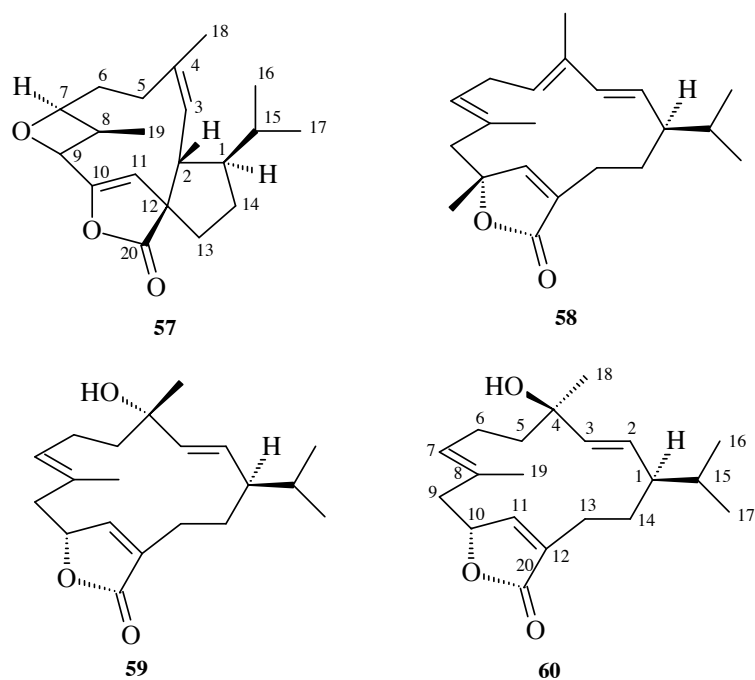
Figura 1.17: Compostos isolados nas folhas da *C. zambesicus* (Block *et al.*, 2004).

Estudos sobre *C. gratissimus* resultaram no isolamento de cembranolidas (figura 1.18), lupeol,  $\alpha$ -glutinol e 24-etilcolesta-4,22-dien-3-ona, a partir de folhas (Langat *et al.*, 2011).



**Figura 1.18:** Exemplos de cembranolidas: (-)-(1R\*,4R\*,10R\*)-4-metoxicembra-2(E),7(E),11(Z)-trien-20,10-olida (**47**), (-)-(1S\*,4R\*,10R\*)-1-hidroxi-4-metoxicembra-2(E),7(E),11(Z)-trien-20,10-olida (**48**), (-)-(1S\*,4S\*,10R\*)-1,4-di-hidroxicembra-2(E),7(E),11(Z)-trien-20,10-olida (**49**), (-)-(1S\*,4S\*,10R\*)-1,4-di-hidroxicembra-2(E),7(E),11(Z)-trien-20,10-olida (**50**), (+)-(10R\*)-cembra-1(E),3(E),7(E),11(Z),16-pentaen-20,10-olida (**51**), (+)-(10R\*)-cembra-1(Z),3(Z),7(E),11(Z),15-pentaen-20,10-olida (**52**), (+)-(5R\*,10R\*)-5-metoxicembra-1(E),3(E),7(E),11(Z),15-pentaen-20,10-olida (**53**), (+)-(1S\*,4S\*,7R\*,10R\*)-1,4,7-tri-hidroxicembra-2(E),8(19),11(Z)-trien-20,10-olida (**54**), (-)-(1S\*,4S\*,7S\*,10R\*)-1,4,7-tri-hidroxicembra-2(E),8(19),11(Z)-trien-20,10-olida (**55**), e (+)-(1S\*,4R\*,8S\*,10R\*)-1,4,8-tri-hidroxicembra-2(E),6(E),11(Z)-trien-20,10-olida (**56**) (Langat *et al.*, 2011).

A partir da casca do caule foram também isoladas cembranolidas (figura 1.19), lupeol,  $\alpha$ -glutinol e eudesm-4(15)-18,6 $\alpha$ -diol (Mulholland *et al.*, 2010).



**Figura 1.19:** Exemplos de cembranolidas isolados da casca do caule de *C. gratissimus*: (+)-[1*R*\*,2*S*\*,7*S*\*,8*S*\*,12*R*\*]-7,8-epoxi-2,12-ciclocembra-3(*E*),10(*Z*)-dien-20,10-olida (57), (+)-[1*R*\*,10*R*\*]cembra-2(*E*),4(*E*),7(*E*),11(*Z*)-tetraen-20,10-olida (58), (+)-[1*R*\*,4*S*\*,10*R*\*]-4-hidroxicembra-2(*E*),7(*E*),11(*Z*)-trien-20,10-olida (59), (-)-[1*R*\*,4*R*\*,10*R*\*]-4-hidroxicembra-2(*E*),7(*E*),11(*Z*)-trien-20,10-olida (60) (Mulholland *et al.*, 2010).

### 1.5. *Peltophorum africanum*

*Peltophorum africanum* Sond. é encontrada nos trópicos e no sudoeste de África. Esta planta pertence à família das Fabaceae (Bizimenyera *et al.*, 2005). A família Fabaceae é das maiores famílias de plantas com flores, com 750 géneros e aproximadamente 18000 espécies. É a terceira maior família de plantas com flores e está amplamente distribuída em todos os continentes, com uma grande variedade de habitats, onde muitas destas espécies são importantes na agricultura, sendo bastante viáveis a nível económico (Morris e Wojciechowski, 2004).

A *P. africanum* (figura 1.20) é uma árvore de pequeno e médio porte, geralmente entre 4-14 m, com folhas caducas que se encontram a baixas altitudes e em solos arenosos. A haste principal possui uma cor castanha, com aspecto áspero e cheio de fissuras, onde a maioria dos ramos se situam perto da sua base. As suas folhas são castanhas escuras, com um comprimento a variar entre 70-160 mm. Cada folha contém 4-9 pares de pinas e 8 a 22 pares de folíolos, que geralmente são verdes e sem brilho. Em relação às flores, esta árvore apresenta ramos de flores amarelas que se encontram nas extremidades dos ramos e que florescem entre fevereiro e setembro. A partir destas flores nascem pequenas bagas com 40-90 mm de comprimento, cobertas de pelos finos e aveludados (Schmidt *et al.*, 2002). Os

frutos possuem uma vagem plana, são elípticos e vão afinando para o ápice e base. O seu tamanho é de 10 x 2 cm com uma asa lenhosa muito fina acinzentada que, com a maturação, mudam de cor para castanho-escuro (Orwa *et al.*, 2009).



Figura 1.20: *Peltophorum africanum* (Schmidt *et al.*, 2002).

A *P. africanum* pode ser encontrada no norte e sul de KwaZulu-Natal, passando pela Suazilândia e Mpumalanga, e no centro-sul da África (figura 1.21) (Schmidt *et al.*, 2002). É cultivada no Quênia, Tanzânia, Madagascar, Austrália e Estados Unidos (Schmelzer e Gurib-Fakim, 2008).



Figura 1.21: Distribuição geográfica da *P. africanum* em África (Schmelzer e Gurib-Fakim, 2008).

A *P. africanum* é tradicionalmente utilizada para tratar o mesmo tipo de doenças no homem e animais domésticos (Bizimenyera *et al.*, 2008). As decocções da raiz e da casca são usadas para tratar feridas, cólicas (dores agudas), dor nas articulações e nas costas (dores crónicas), ascite e distúrbios abdominais, diarreia e disenteria, infertilidade e depressão (Bizimenyera *et al.*, 2007). A casca é usada para aliviar as cólicas, infusões da casca com folhas são tomados oralmente para aliviar uma variedade de desordens no estômago e libertar

parasitas intestinais. O vapor da decocção da casca é usado para tratar os olhos doridos. A raiz em pó é aplicada para acelerar a cura das feridas e também é tomada para tratar feridas na garganta. As folhas fervidas são usadas para aliviar dores de dentes. Misturas de partes da árvore são usadas para curar a infertilidade (Orwa *et al.*, 2009).

Os estudos fitoquímicos do género *Pelthoporum* ainda são muito escassos, no entanto pode destacar-se o isolamento da 3-O-β-D-galactopiranosilquercetina, no extrato das flores, e bergenina (figura 1.22) na *P. pterocarpum* (Raj *et al.*, 2012; Manaharan *et al.*, 2011).

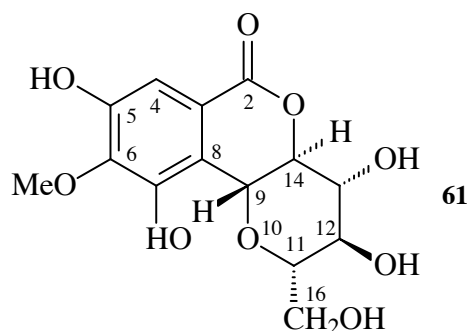


Figura 1.22: Estrutura da bergenina isolada da *P. pterocarpum* (Raj *et al.*, 2012).

Através da casca do caule da *P. dasyrachis* foi isolado o (+)-(*S*)-*ar*-turmerona (62) (figura 1.23) e através deste composto da planta foram sintetizados os seguintes compostos: (+)-(*S*)-di-hidro-*ar*-turmerona, (+)-(*7S,9S*)-*ar*-turmerol, (+)-(*7S,9R*)-*ar*-turmerol, (+)-(*7S,9S*)-di-hidro-*ar*-turmerol, (+)-(*7S,9R*)-di-hidro-*ar*-turmerol, (+)-(*S*)-*ar*-curcumeno e (+)-(*S*)-di-hidro-*ar*-curcumeno (Fujiwara *et al.*, 2010).

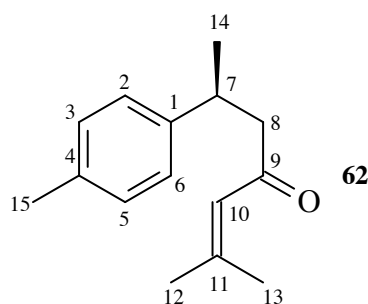


Figura 1.23: Estrutura do (+)-(*S*)-*ar*-turmerona da *P. dasyrachis* (Fujiwara *et al.*, 2010).

Também na casca do caule da *P. dasyrachis* foram isolados, pela primeira vez, a apigenina, (+)-2,3-*trans*-di-hidrokaempferol, 3-O-α-L-ramnosil(+)-2,3-*trans*-di-hidrokaempferol, (+)-4',7-dimetoxi-2,3-*trans*-di-hidroquercetina, (+)-2,3-*trans*-di-hidroquercetina, (-)-2,3-*trans*-3-O-α-L-ramnosil-di-hidroquercetina (Fujiwara *et al.*, 2011).

No extrato metanólico das folhas da *P. dubium* foi isolado um novo derivado do ácido benzóico, denominado ácido benzóico C-glicósido (Bahia *et al.*, 2010) (figura 1.24).

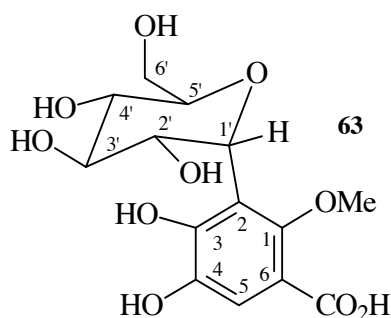


Figura 1.24: Estrutura do ácido benzóico C-glicósido isolado na *P. dubium* (Bahia *et al.*, 2010).

O éster do ácido *trans*-4-hidroxi-pípecolico foi isolado das sementes da *P. africanum* (Evans *et al.*, 1985). Vários flavonoides condensados, cianomaclurina, um tipo de profisetinidina-4-arilflavan-3-ol,  $\delta$ -lactonas, flavonóides condensados, pirano [3,2-C] benzopirano-6-(2H)-ona e um novo composto chamado de cianomaclurina (figura 1.25) foram isolados a partir do cerne (Bam *et al.*, 1988; Bam *et al.*, 1990).

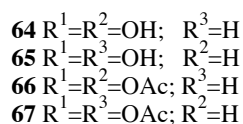
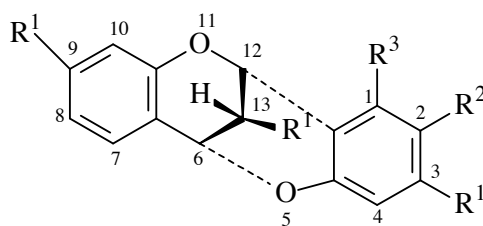


Figura 1.25: Cianomaclurinas isoladas a partir do cerne da *P. africanum* (Bam *et al.*, 1990).

Bergenina (**68**), norbergenina (**69**) e 11-*O*-(*E*)-*p*-coumaroilbergenina (**70**) (figura 1.26) foram isolados nos extratos de etanol da casca da *P. africanum* (Mebe e Makuhunga, 1992). Vários tipos de cianomaclurinas foram identificadas nas folhas da *P. africanum* (Khatab e Nasser, 1998).

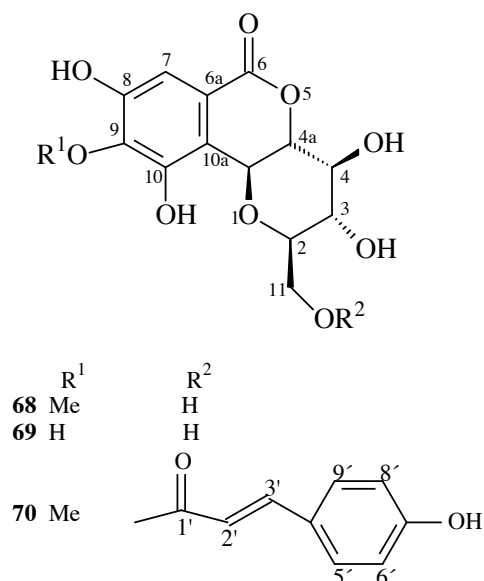


Figura 1.26: Compostos isolados da *P. africanum* (Mebe e Makuhunga, 1992).

### 1.6. *Gymnosporia senegalensis*

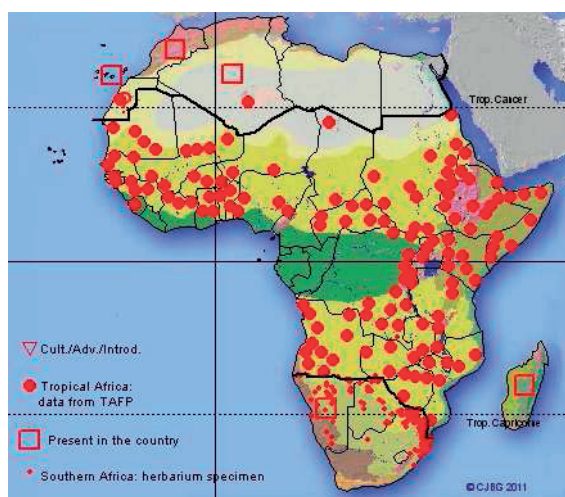
A *Gymnosporia senegalensis* (Lam.) Loes. (figura 1.27) é um arbusto que se encontra em áreas áridas das regiões tropicais e subtropicais da África e Ásia (Pistelli *et al.*, 1998). Esta planta pertence à família Celastraceae, que contém 98 gêneros e cerca de 1211 espécies, que possuem maior diversidade nos trópicos e subtropicais. Muitas espécies desta família são economicamente importantes tanto para a medicina tradicional como para a horticultura (Zhang *et al.*, 2012). Esta espécie possui uma vasta utilização na medicina tradicional africana e é utilizada por via interna e externa como anti-inflamatória, anti-tumoral, no tratamento das chagas, debilidade, desinterias, doenças sexualmente transmissíveis, dores de dentes, epilepsia, mordeduras de cobras, tosse, tuberculose, úlceras e como vermífugo (Serrano *et al.*, 2008).



Figura 1.27: *Gymnosporia senegalensis* (Arbonnier, 2004).

A *G. senegalensis* é um arbusto ou árvore pequena que possui uma altura que varia entre 5 a 8 m e tem um diâmetro de tronco de 20 cm. A casca desta planta é escamosa com tons de cinzento e vermelho. Os seus ramos são avermelhados ou esverdeados e terminam em forma de espinhos axilares ou terminais de 2 a 5 cm de comprimento, muitas vezes com folhas e frutos perto da ponta do ramo. As suas folhas são grossas e coriáceas, com formas muito variáveis, mas geralmente elípticas e possuem um comprimento entre 3-13 cm e 2-10 cm de diâmetro, com margem regular e finamente dentadas. O pecíolo é avermelhado com 6 a 15 mm de comprimento. As flores são brancas e esverdeadas, com cerca de 5 mm de diâmetro, 5 pétalas, 5 sépalas e 5 estames. Os seus frutos possuem uma cápsula ovóide, tanto como em forma de pêra, de cor amarelada, rosa ou vermelho, abrindo entre 2 a 5 válvulas (Arbonnier, 2004; Grant *et al.*, 2006).

*G. senegalensis* pode ser encontrada no KwaZulu-Natal, nordeste da Namíbia, em África, na Europa e no centro e sudoeste Asiático. Também pode ser encontrada em algumas ilhas do oceano Índico como Madagáscar, Seychelles e as ilhas Maurícias (Schmidt *et al.*, 2002) (figura 1.28).



**Figura 1.28:** Distribuição da *G. senegalensis* como *Maytenus senegalensis* em África (<http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=en&id=78612>).

A raiz e casca da *G. senegalensis* são tradicionalmente utilizadas na medicina popular em algumas regiões africanas para o tratamento de um certo número de doenças, incluindo dores no peito, reumatismo, picadas de cobras, diarreias, infecções oculares, dispepsia e feridas (Sosa *et al.*, 2007). Esta planta é também usada para a tuberculose, dores de garganta, de ouvidos e doenças venéreas. Ou seja, as raízes são usadas principalmente para a preparação de remédios tradicionais (Lindsey *et al.*, 2006). O uso tradicional desta planta no Sudão, Quênia ou Tanzânia demonstrou que os extractos das raízes, folhas e caules possuem actividade antiplasmódica, leishmanicida e antibacteriana (Sosa *et al.*, 2007).

São encontrados alguns estudos do género *Gymnosporia* na literatura. O isolamento dos lupanos 3-oxolup-20(29)-en-30-al, 3B-hidroxilup-20(29)-en-30-al e 30-hidroxilup-20(29)-en-ona verificou-se na casca do caule da *G. emarginata* (Wijeratne *et al.*, 1981).

Estudos realizados com os extratos de éter de petróleo e clorofórmio das folhas da *G. rothiana* revelaram a presença de terpenos e esteróides e o extrato metanólico demonstrou a presença de taninos condensados, flavanoides, saponinas, glicosídeos, alcaloides, proteínas e aminoácidos (Jain e Surana, 2009).

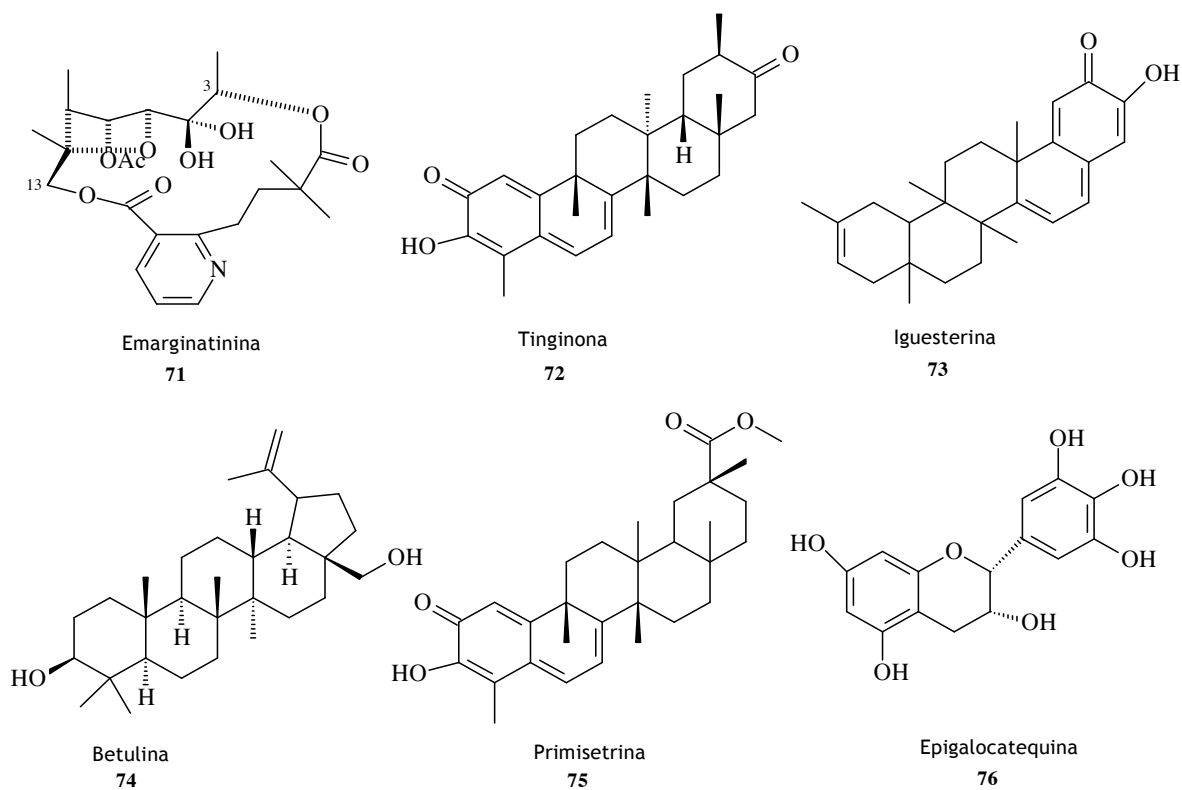


Figura 1.29: Estruturas de alguns compostos isolados da *G. montana* (Subrata e Suparna, 2012).

A *G. montana* foi por diversas vezes estudada devido ao seu potencial hepatoprotetivo e anti-cancerígeno. Nas folhas, foram isolados a tinginona, ácido 3-O-acetiloleanólico, hexacosano, hexacosanol, n-triacontanol, betulina,  $\beta$ -amirona,  $\beta$ -amirina,  $\delta$ -amirina,  $\beta$ -sitosterol, celacinnina e kaempferol. A presença de galactose, arginina, ácido glutâmico, alanina, prolina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico e ácido palmítico, também foi revelada nas folhas. No tronco, vários estudos revelaram que a sua composição química incluí o isolamento da iguesterina, pristimerina, tinginona,  $\beta$ -amirina,  $\beta$ -sitosterol, do ácido maitenoico, da emarginatina B e a maitansina. Nas raízes estudos demonstraram o isolamento da iguesterina, pristimerina, tinginona,  $\beta$ -amirina,  $\beta$ -sitosterol, ducitol, (-)epigalocatequina, emarginatina A e emarginatina G (figura 1.29) (Subrata e Suparna, 2012).

Os estudos fitoquímicos relativos a *G. senegalensis* são ainda raros, podendo destacar-se a presença do  $\beta$ -sitosterol, sacarose, glucose, xilose, dulcitol-L-exopoletina, escopoletina e preniletina nos estudos realizados na raiz desta planta (Pistelli *et al.*, 1998).

Na casca da raiz da *Maytenus senegalensis*, sinónimo de *G. senegalensis*, foi isolado o ácido 3-oxo-fridelan-20 $\alpha$ -óico ou ácido maitenoico (figura 1.30), composto muito estudado

devido às suas propriedades antibacterianas, anti-inflamatórias e atividades antimitóticas (Lindsey *et al.*, 2006). Sosa *et al.*, (2007), reportam ainda para o isolamento da lupenona,  $\beta$ -amirina e  $\beta$ -sitosterol nas raízes da *M. senegalensis*.

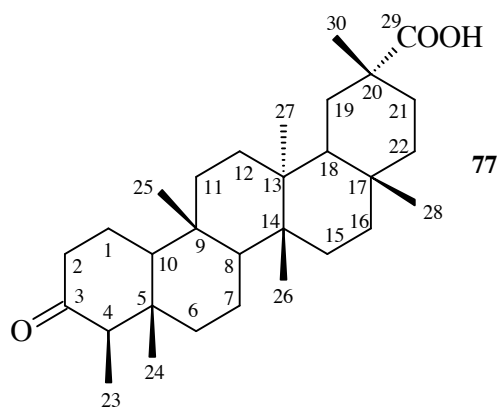


Figura 1.30: Estrutura do ácido maitenónico isolado da *M. senegalensis* (Lindsey *et al.*, 2006).

Também na casca da raiz (extrato de clorofórmio) da *M. senegalensis* foi isolada a pristimerina (figura 1.31) que demonstrou atividades antiplasmódicas, leishmanicidas e citotóxicas (Khalid *et al.*, 2007).

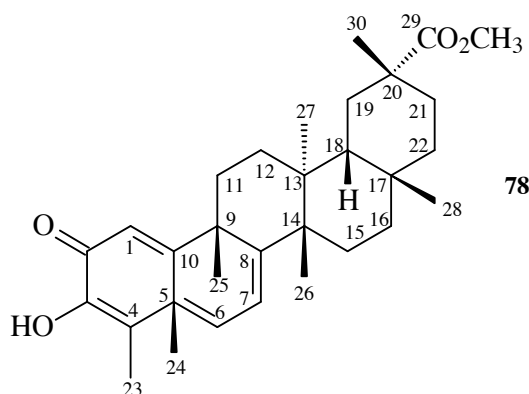


Figura 1.31: Estrutura da pristimerina isolado da *M. senegalensis* (Khalid *et al.*, 2007).

Do extrato metanólico da casca do caule da *M. senegalensis*, ainda foram isolados dois novos flavonoides-3-ol metilados e proantocianidinas (Hussein *et al.*, 1999).

Nas folhas da *M. senegalensis*, foram identificados alcalóides (estaquidrina, efedrina e nor-efedrina), alcanos e alcanóis, terpenos e esteróides (monoterpenos - terpineol, geraniol e linalol; triterpenos - pristimerina, ácido maitenónico; esteróides - betulina,  $\beta$ -amirina e  $\beta$ -sitosterol) e compostos fenólicos (ácido vanílico, ácido ferúlico, antocianinas, leucoantocianinas, heterósidos dos flavonóis kaempferol e quercetina e taninos condensados) (Serrano *et al.*, 2008).

## **1.7. Objetivos**

### **1.7.1. Objetivos gerais**

O trabalho realizado nesta Tese de Doutorado em Química visa obter compostos puros de plantas naturais provenientes de Angola com o propósito de isolar, purificar e caracterizar compostos das espécies em estudo.

### **1.7.2. Objetivos específicos**

- ✓ Preparar extratos vegetais das plantas naturais em estudo.
- ✓ Isolamento dos seus compostos através de métodos cromatográficos como a cromatografia em coluna, cromatografia em coluna a baixa pressão, cromatografia flash e cromatografia em camada fina (TLC).
- ✓ Caracterização dos compostos naturais por infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massa (MS) e atividade ótica.

## Capítulo 2 - Material e métodos

### 2.1. Material vegetal

As raízes da *Piliostigma thonningii* e da *Phragmanthera glaucocarpa* foram colhidas em Junho de 2010 no Uíge e depositadas no herbário de Luanda. A parte aérea da *Croton gratissimus* foi recolhida na Quiita em Julho de 2011 e um espécime foi depositado no herbário do Lubango. A raiz da *Peltophorum africanum* e os ramos da *Gymnosporia senegalensis* foram recolhidos em Julho de 2011 na Humpata e depositadas no herbário do Lubango.

### 2.2. Preparação do extrato de metanol

As plantas inteiras foram cortadas e moídas num moinho RetschMühle SM1 com um molde de 2,0 mm. Posteriormente, foram colocadas em balões de 10 L e 5 L consoante o peso e proporção de metanol a adicionar numa razão de 25 g de material vegetal para 100 mL de metanol. Deixou-se o produto a macerar durante 5 semanas para a *Piliostigma thonningii* (617,67 g) e *Phragmanthera glaucocarpa* (548,78 g) e 6 semanas para *Croton gratissimus* (797,7 g) e, *Peltophorum africanum* (1274,31 g) e a *Gymnosporia senegalensis* (290 g). Ao fim de cada uma das semanas, filtrou-se e evaporou-se o metanol do macerado até à secura (figura 2.1). Os extratos brutos obtidos para cada planta são apresentados na tabela 2.1.

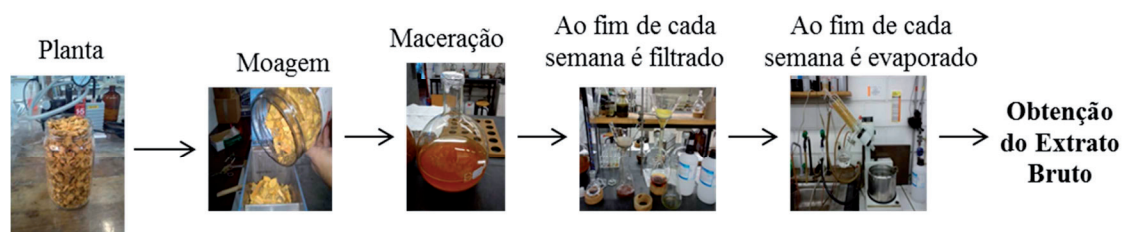


Figura 2.1: Esquema de obtenção do extrato de metanol.

Tabela 2.1: Peso dos extratos de metanol das várias plantas.

Planta	Peso do Extrato Bruto
<i>Piliostigma thonningii</i>	106,1 g
<i>Phragmanthera glaucocarpa</i>	78,0 g
<i>Croton gratissimus</i>	143,1 g
<i>Peltophorum africanum</i>	177,6 g
<i>Gymnosporia senegalensis</i>	19,7 g

### 2.2.1. Fracionamento do extrato de metanol

Este processo é realizado numa ampola de 2 L, onde se coloca o extrato de metanol misturado com 250 ml de MeOH e 50 ml de água e uma certa quantidade de hexano obtendo-se, os compostos mais apolares. Este hexano é evaporado num evaporador rotativo a  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  até à secura obtendo-se, assim, a fração de hexano. O que resta do extrato metanólico é evaporado para retirar o metanol, adicionada água, sendo de seguida recolocado na ampola e lavado com clorofórmio até se obter uma cor clara. O clorofórmio é evaporado quase até à secura é lavado com uma solução de NaCl a 1% (3 vezes) e seco com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro de forma a eliminar qualquer vestígio de água presente na fração, de seguida o clorofórmio é evaporado obtendo-se, assim, a fração de clorofórmio. Finalmente, na ampola resta o extrato aquoso que é então extraído com acetato de etilo de forma a obter os compostos mais polares que depois de evaporado dão origem à fração de acetato de etilo. O que resta na ampola de decantação, depois de evaporado, denomina-se fração aquosa. Na tabela 2.2 apresentam-se as massas obtidas para as diferentes frações. Na figura 2.2 apresenta-se um esquema sucinto do fracionamento efetuado para cada extrato de metanol.

Tabela 2.2: Massas das diferentes frações obtidas.

Frações	Plantas			
	<i>Piliostigma thonningii</i>	<i>Phragmanthera glaucocarpa</i>	<i>Croton gratissimus</i>	<i>Peltophorum africanum</i>
Hexano	2,6 g	1,3 g	27,9 g	4,9 g
Clorofórmio	24,5 g	4,1 g	19,8 g	36,2 g
Acetato de Etilo	12,4 g	11,1 g	22,6 g	83,3 g
Aquoso	45,2 g	45,9 g	27,8 g	25,7 g

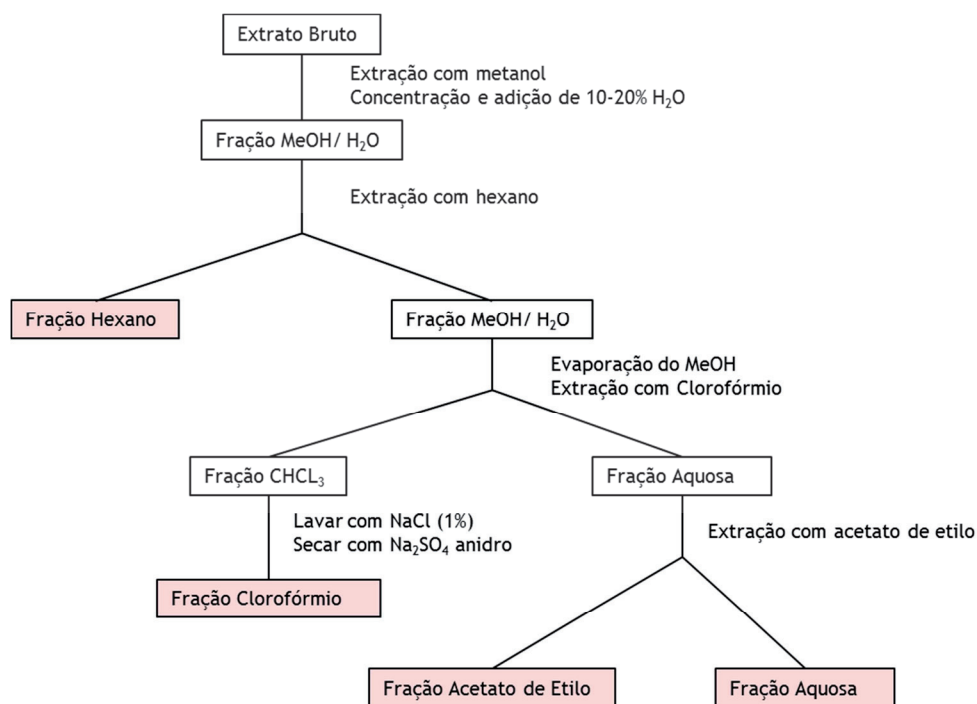


Figura 2.2: Esquema simplificado para a obtenção dos vários tipos de frações (Cannell, 1998).

Em relação à *Gymnosporia senegalensis* não foi realizado o fracionamento pois esta apresentou uma massa relativamente baixa (19,67 g) de extrato de metanol pelo que foi utilizado unicamente o extrato de metanol.

## 2.3. Materiais e reagentes

### 2.3.1. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e de $^{13}\text{C}$

Os espectros de RMN foram obtidos no Bruker Avance III de 400 MHz (400 MHz  $^1\text{H}$  e 100,6 MHz  $^{13}\text{C}$ ) e num Bruker Avance III de 600 MHz (600 MHz  $^1\text{H}$  e 150,9 MHz  $^{13}\text{C}$ ). Os deslocamentos químicos foram registrados em  $\delta$  (ppm), tomando-se como padrões de referência interna o  $\text{CHCl}_3$  residual ( $\delta$  7,25 ppm para o  $^1\text{H}$  e 77,00 ppm para o  $^{13}\text{C}$ ) ou o MeOH ( $\delta$  3,31 ppm para o  $^1\text{H}$  e 49,00 ppm para o  $^{13}\text{C}$ ). Os solventes deuterados utilizados nas análises foram o clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e o metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). As constantes de acoplamento ( $J$ ) foram citadas em Hertz (Hz).

### 2.3.2. Espectroscopia no infravermelho - FTIR

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos num Termo Scientific Nicolet iS10 FTIR com filme capilar em células de NaCl ou ATR usando um cristal de diamante.

### 2.3.3. Espectrometria de massa de alta resolução

Os espectros de massa de alta resolução (HREIMS) foram realizados num ESI-TOF com uma fonte de elétrons a uma energia de ionização de 70 eV, no Waters-Micromass Autospec M.

### 2.3.4. Atividade ótica

A atividade ótica foi determinada num instrumento ADP220 Automatic polarimeter - Bellington & Stanley Ltd., para a risca D do sódio, à temperatura ambiente, numa solução de clorofórmio e num cilindro de 0,5 dm de comprimento. A atividade ótica específica em função do comprimento de onda de raio D foi obtida conforme a seguinte equação (1):

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{\alpha}{c \cdot l} \quad (1)$$

Onde,

$c$  = concentração da amostra em g/ml;

$l$  = comprimento da célula em dm;

$t$  = temperatura ambiente a que foi realizada a análise;

$\alpha$  = atividade ótica angular nas condições de  $\lambda = 589$  nm e temperatura T.

### 2.3.5. Técnicas cromatográficas

#### 2.3.5.1. Cromatografia em coluna húmida

Para a cromatografia em coluna utilizou-se como adsorvente sílica gel Schalau G-60, 70-230 mesh (ref. 1.07734). A razão entre a substância a cromatografar e o adsorvente foi de 1:100. Foram utilizadas várias colunas de vidro, que variavam conforme o peso da amostra a purificar. As colunas de vidro foram enchidas com uma papa de adsorvente que é agitado e adicionado lentamente na coluna de forma a evitar a presença de bolhas de ar e quebras na sílica. Após enchimento da coluna com a papa, adicionou-se lentamente a amostra. A eluição foi realizada com misturas de solventes de polaridade crescente. A polaridade foi aumentada à medida que se verificava uma diminuição significativa da massa das frações obtidas. A composição destas frações foi avaliada por cromatografia em camada fina (c.c.f.).

#### 2.3.5.2. Cromatografia em coluna húmida com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ )

Para este tipo de cromatografia dissolve-se 10 g de nitrato de prata na menor quantidade de água possível. Misturaram-se 100 g de sílica com a solução de nitrato de prata num balão de vidro escuro e fundo redondo. Evapora-se a água contida no balão. Ativa-se durante 2h a  $120^\circ\text{C}$  e guarda-se a sílica num frasco escuro.

#### 2.3.5.3. Cromatografia flash

Este tipo de cromatografia foi realizado em colunas sob pressão usando como adsorvente sílica gel para cromatografia em flash Schalau G-60, 230-400 mesh (ref. Ge 0048). A razão entre a substância a cromatografar e o adsorvente foi de 1:100. As cromatografias foram realizadas em colunas de vidro associadas a uma bomba de pressão. A coluna enchia-se com um solvente convenientemente escolhido e usava-se a pressão para retirar todo o ar da sílica. Aplicava-se a amostra sobre a sílica e a coluna era reenchida com o solvente escolhido e eluída sob pressão, a uma velocidade de fluxo de  $\approx 5,0$  cm/min.

#### 2.3.5.4. Cromatografia em camada fina (c.c.f.)

As cromatografias em camada fina foram executadas em placas de sílica gel DC - Fertigfolien Alugram® Xtra Sil G/UV pré-preparadas em suporte de alumínio (Ref. 818.333). A separação dos compostos deu-se através de eluição de diferentes solventes e misturas de solventes.

As placas foram previamente analisadas por irradiação com luz U.V. de c.d.o.  $\lambda = 366$  nm, para visualizar as substâncias fluorescentes. A sua revelação deu-se, na maioria dos casos, através da pulverização da placa com uma solução de ácido fosfomolibdico em etanol a 5%, seguida de aquecimento a  $120^\circ\text{C}$  durante alguns minutos.

### 2.3.5.5. Cromatografia em camada fina com AgNO<sub>3</sub>

As cromatografias em camada fina - AgNO<sub>3</sub> foram também preparadas com placas de sílica gel DC - Fertigfolien Alugram® Xtra Sil G/UV (ref<sup>a</sup> 818.333) pré-preparadas em suporte de alumínio, que foram impregnadas com uma solução de AgNO<sub>3</sub> a 10%. Estas placas foram depois ativadas na estufa a 120°C durante alguns minutos, sendo depois reveladas da mesma forma que as anteriores.

### 2.3.5.6. Reveladores utilizados

1. 5 g de ácido fosfomolibdico eram dissolvidos em 100 ml de etanol e a solução colocada num pulverizador;

2. 30 ml de ácido sulfúrico dissolvidos em 70 ml de etanol e a solução colocada num pulverizador;

3. 3 g de vanilina dissolvidos em 100 ml de etanol e 1,5 ml de ácido sulfúrico e a solução colocada num pulverizador.

## 2.4. Fracionamento das diferentes frações

### 2.4.1. *Piliostigma thonningii*

#### 2.4.1.1. Fracionamento da fração de hexano

#### Cromatografia Pi1

A fração de hexano (2,6 g) foi cromatografada (tabela 2.3) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano (Hex)/acetato de etilo (AcOEt) de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (95:5) e metanol (MeOH), tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.3: Cromatografia Pi1 da *P. thonningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	210	12,28	
2	Hex/AcOEt (98:2)	990	57,89	A <sub>1</sub> +mist
3	Hex/AcOEt (95:5)	30	1,75	
4	Hex/AcOEt (9:1)	40	2,34	
5	Hex/AcOEt (8:2)	100	5,85	
6	Hex/AcOEt (7:3)	70	4,09	
7	Hex/AcOEt (6:4)	80	4,68	
8	AcOEt	60	3,51	
9	AcOEt/ MeOH (95:5)	60	3,51	
10	MeOH	70	4,09	

### Cromatografia Pi2

A fração 2 da cromatografia Pi1 (990 mg) foi recromatografada (tabela 2.4) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.4: Cromatografia Pi2 da *P. thoningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-5	Hexano	0	0	
6	Hex/AcOEt (98:2)	409	44,85	
7	“	166	18,20	
8	“	68	7,46	
9	“	38	4,17	
10-12	“	122	13,38	A <sub>1</sub> +mist
13-15	“	31	3,40	
16	“	3	0,32	
17-18	“	3	0,32	
19-20	“	0	0	
21	Hex/AcOEt (95:5)	4	0,44	
22-26	“	19	2,08	
27-30	“	2	0,22	
31-53	Vários	47	5,15	

### Cromatografia Pi3

As frações 10 a 12 da cromatografia Pi2 (122 mg) foram recromatografadas (tabela 2.5) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.5: Cromatografia Pi3 da *P. thoningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-22	Vários	40	33,90	
23-24	Hex/AcOEt (99:1)	14	11,86	
25	“	8	6,78	
26	“	4	3,39	
27-28	“	21	17,8	A <sub>1</sub>
29-31	“	11	9,32	
32-63	Vários	20	16,95	

#### 2.4.1.2. Fracionamento da fração de clorofórmio

### Cromatografia Pi4

A fração de clorofórmio (10 g) foi cromatografada (tabela 2.6) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (95:5), acetato de etilo/metanol (9:1) e metanol (MeOH), tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.6: Cromatografia Pi4 da *P. thoningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	10	0,14	
2	Hex/AcOEt (9:1)	10	0,14	
3	Hex/AcOEt (8:2)	30	0,42	
4	Hex/AcOEt (7:3)	10	0,14	
5	Hex/AcOEt (6:4)	10	0,14	
6	AcOEt	520	7,21	
7	AcOEt/ MeOH (95:5)	740	10,26	A <sub>2</sub> +mist
8	AcOEt/ MeOH (9:1)	1180	16,37	
9	MeOH	4700	65,19	

### Cromatografia Pi5

A fração 7 da cromatografia Pi5 (740 mg) foi recromatografada (tabela 2.7) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>)/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.7: Cromatografia Pi5 da *P. thoningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Clorofórmio	10	1,33	
2	“	20	2,67	
3	“	40	5,33	
4-5	“	170	22,67	A <sub>2</sub> +mist
6-8	“	30	4,00	
9	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95:5)	20	2,67	
10	“	50	6,67	
11	“	30	4,00	
12	“	20	2,67	
13	“	70	9,33	
14-15	“	50	6,67	
16	“	20	2,67	
17-18	Vários	40	5,33	
19	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	15	2,00	
20-21	“	10	1,33	
22	“	20	2,67	
23	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (8:2)	50	6,67	
24	“	15	2,00	
25	“	20	2,67	
26	“	20	2,67	
27-33	Vários	30	4,00	

### Cromatografia Pi6

As frações 4 e 5 da cromatografia Pi5 (170 mg) foram recromatografadas (tabela 2.7) em coluna de sílica gel e eluída com tolueno e misturas de tolueno (Tol)/clorofórmio de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.7: Cromatografia Pi6 da *P. thonningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-5	Tolueno	1	0,64	
6	Tol/ CHCl <sub>3</sub> (95:5)	5	3,18	
7-11	"	10	6,37	A <sub>2</sub>
12-33	Vários	13	8,28	
34-35	Tol/ CHCl <sub>3</sub> (6:4)	8	5,10	
36-37	"	13	8,28	
38-45	"	35	22,29	
46-49	"	12	7,64	
50-52	"	6	3,82	
53-56	"	6	3,82	
57-64	Vários	11	7,01	
65-67	Tol/ CHCl <sub>3</sub> (1:1)	7	4,46	
68-74	Clorofórmio	10	6,37	
75	Metanol	20	12,74	

#### 2.4.1.3. Fracionamento da fração de acetato de etilo

##### Cromatografia Pi7

A fração de acetato de etilo (12,40 g) foi cromatografada (tabela 2.9) numa coluna de sílica gel e eluído com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.9: Cromatografia Pi7 da *P. thonningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95:5)	990	13,75	A <sub>3</sub> +A <sub>4</sub> +mist
2	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	4050	56,25	A <sub>5</sub> +mist
3	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (7:3)	1880	26,11	
4	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (1:1)	130	1,81	
5	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (3:7)	60	0,83	
6	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (1:9)	50	0,69	
7	MeOH	40	0,56	

##### Cromatografia Pi8

A fração 1 da cromatografia Pi8 (990 mg) foi recromatografada (tabela 2.10) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.10: Cromatografia Pi8 da *P. thonningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-2	Clorofórmio	10	1,31	
3	“	6	0,78	
4-5	“	11	1,44	
6-7	“	6	0,78	
8	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (99:1)	4	0,52	
9	“	11	1,44	
10	“	17	2,22	
11-12	“	35	4,57	
13-20	“	94	12,27	
21-23	“	11	1,44	
24-26	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (98:2)	18	2,35	
27-30	“	81	10,57	
31-33	“	89	11,62	
34-36	“	103	13,45	A <sub>3</sub>
37-44	“	164	21,41	
45	“	81	10,57	A <sub>4</sub>
46-76	Vários	25	3,26	

### Cromatografia Pi9

A fração 2 da cromatografia Pi8 (4050 mg) foi recromatografada (tabela 2.11) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.11: Cromatografia Pi9 da *P. thonningii*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-22	Vários	21	0,71	
23-27	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95:5)	75	2,53	
28-32	“	84	2,83	
33-36	“	99	3,34	
37-53	“	836	28,20	
54-57	“	74	2,50	A <sub>5</sub>
58-64	“	65	2,19	
65	“	11	0,37	
66-72	“	71	2,39	
73-76	“	37	1,25	
77-78	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	104	3,51	
79-80	“	248	8,36	
81	“	238	8,03	
82-85	“	467	15,75	
86-90	“	202	6,81	
91-93	“	44	1,48	
94-122	Vários	289	9,75	

## 2.4.2. *Croton gratissimus*

### 2.4.2.1. Fracionamento da fração de hexano

#### Cromatografia Cro1

A fração de hexano (2,6 g) foi cromatografada (tabela 2.12) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (95:5) e (9:1) e metanol, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.12: Cromatografia Cro1 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	1160	11,63	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +B <sub>3</sub> + mist
2	Hex/AcOEt (98:2)	4370	43,82	B <sub>4</sub> +B <sub>5</sub> +B <sub>6</sub> +B <sub>7</sub> + mist
3	Hex/AcOEt (95:5)	818	8,20	B <sub>8</sub> +B <sub>9</sub> +B <sub>10</sub> + mist
4	Hex/AcOEt (9:1)	732	7,34	B <sub>11</sub> +mist
5	Hex/AcOEt (7:3)	1991	19,96	B <sub>12</sub> +mist
6	Hex/AcOEt (1:1)	227	2,28	
7	AcOEt	202	2,03	
8	AcOEt/ MeOH (95:5)	213	2,14	
9	AcOEt/ MeOH (9:1)	70	0,70	
10	Metanol	190	1,91	

#### Cromatografia Cro2

A fração 1 da cromatografia Cro1 (1160 mg) foi recromatografada (tabela 2.13) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.13: Cromatografia Cro2 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	308	26,57	
2-9	"	18	1,55	
10-11	Hex/AcOEt (99:1)	12	1,04	
12-16	Vários	101	8,71	
17-19	Hex/AcOEt (98:2)	23	1,98	
20-22	Hex/AcOEt (95:5)	8	0,69	
23-34	Vários	25	2,16	
35	Metanol	664	57,29	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> +mist

#### Cromatografia Cro3

A fração 35 da cromatografia Cro2 (664 mg) foi recromatografada (tabela 2.14) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.14: Cromatografia Cro3 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Clorofórmio	488	67,78	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> +mist
2	“	75	10,42	
3	“	24	3,33	
4-5	“	29	4,03	
6	“	6	0,83	
7	“	5	0,69	
8-9	“	4	0,56	
10	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (98:2)	6	0,83	
11	“	13	1,81	
12-20	Vários	40	5,56	
21-26	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	15	2,08	
27-36	Vários	15	2,08	

### Cromatografia Cro4

A fração 1 da cromatografia Cro3 (488 mg) foi recromatografada (tabela 2.15) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.15: Cromatografia Cro4 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-4	Hex/AcOEt (9:1)	34	8,83	
5	“	32	8,31	B <sub>1</sub>
6	“	37	9,61	
7	“	53	13,77	
8	Hex/AcOEt (8:2)	83	21,56	B <sub>2</sub> +mist
9	“	38	9,87	
10-15	“	57	14,81	B <sub>3</sub> +mist
16-32	Vários	51	13,25	

### Cromatografia Cro5

A fração 8 da cromatografia Cro4 (83 mg) foi recromatografada (tabela 2.16) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/clorofórmio de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.16: Cromatografia Cro5 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hex/ CHCl <sub>3</sub> (95:5)	0	0,00	
2-3	“	4	5,97	
4-6	“	4	5,97	
7	Hex/ CHCl <sub>3</sub> (9:1)	6	8,96	
8	“	6	8,96	
9	“	5	7,46	
10	“	5	7,46	
11	“	2	2,99	
12-16	“	4	5,97	B <sub>2</sub>
17-27	Vários	31	46,27	

### Cromatografia Cro6

A fração 10 a 15 da cromatografia Cro4 (57 mg) foi recromatografada (tabela 2.17) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.17: Cromatografia Cro6 da *Croton gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-5	Hex/AcOEt (9:1)	3	6,82	
6-7	"	0	0,00	
8	Hex/AcOEt (8:2)	8	18,18	B <sub>3</sub>
9	"	6	13,64	
9-16	"	5	11,36	
17-29	Vários	22	50,00	

### Cromatografia Cro7

A fração 2 da cromatografia Cro1 (4370 mg) foi recromatografada (tabela 2.18) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.18: Cromatografia Cro7 da *Croton gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	94	2,16	
2	"	737	16,90	
3	"	606	13,90	B <sub>4</sub> +mist
4	"	677	15,52	
5	"	533	12,22	
6	"	567	13,00	B <sub>5</sub> +mist
7	"	461	10,57	
8-12	"	644	14,77	B <sub>6</sub> +B <sub>7</sub> +mist
13-17	"	32	0,73	
18-26	Vários	10	0,23	

### Cromatografia Cro8

A fração 3 da cromatografia Cro7 (606 mg) foi recromatografada (tabela 2.19) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.19: Cromatografia Cro8 da *Croton gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-10	Hexano	12	2,15	
11	Hex/AcOEt (99:1)	111	19,89	
12	"	99	17,74	
13	"	49	8,78	
14-15	"	60	10,75	
16-18	"	63	11,29	B <sub>4</sub>
19-26	Vários	127	22,76	
27-40	"	37	6,63	

### Cromatografia Cro9

A fração 6 da cromatografia Cro7 (567 mg) foi recromatografada (tabela 2.20) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.20: Cromatografia Cro9 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-9	Hexano	5	1,10	
10	Hex/AcOEt (99:1)	135	29,67	
11	“	76	16,70	
12-18	“	147	32,31	
19-36	Vários	76	16,70	
37-38	Hex/AcOEt (8:2)	15	3,30	B <sub>5</sub>
39-40	Vários	1	0,22	

### Cromatografia Cro10

A fração 8 a 12 da cromatografia Cro7 (644 mg) foi recromatografada (tabela 2.21) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.21: Cromatografia Cro10 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-16	Vários	28	3,36	
17	Hex/AcOEt (99:1)	8	0,96	
18	“	14	1,68	
19-20	“	26	3,12	
21-23	Hex/AcOEt (98:2)	157	18,82	
24-25	“	103	12,35	
26-30	“	124	14,87	B <sub>7</sub> +mist
31-32	Hex/AcOEt (95:5)	111	13,31	
33-35	“	68	8,15	
36-39	“	30	3,60	
40	Hex/AcOEt (9:1)	10	1,20	
41	“	27	3,24	
42-46	“	45	5,40	B <sub>6</sub> +mist
47-58	Vários	83	9,95	

### Cromatografia Cro11

A fração 42 a 46 da cromatografia Cro10 (45 mg) foi recromatografada (tabela 2.22) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.22: Cromatografia Cro11 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-16	Vários	0	0,00	
17	Hex/AcOEt (9:1)	1	2,22	
18	“	5	11,11	B <sub>6</sub>
19-26	“	12	26,67	
27-38	Vários	2	4,44	

### Cromatografia Cro12

A fração 26 a 30 da cromatografia Cro10 (124 mg) foi recromatografada (tabela 2.23) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.23: Cromatografia Cro12 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-10	Vários	5	11,11	
11	Hex/AcOEt (99:1)	12	26,67	
12-14	“	58	128,89	B <sub>7</sub> +mist
15	Hex/AcOEt (98:2)	17	37,78	
16-36	Vários	14	31,11	

### Cromatografia Cro13

A fração 12 a 14 da cromatografia Cro12 (58 mg) foi recromatografada (tabela 2.24) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.24: Cromatografia Cro13 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-19	Vários	0	0,00	
20-24	Hex/AcOEt (98:2)	1	2,22	
25	Hex/AcOEt (95:5)	2	4,44	
26	“	6	13,33	B <sub>7</sub>
27-31	“	5	11,11	
32	Metanol	31	68,89	

### Cromatografia Cro14

A fração 3 da cromatografia Cro1 (818 mg) foi recromatografada (tabela 2.25) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.25: Cromatografia Cro14 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-12	Vários	3	0,34	
13	Hex/AcOEt (99:1)	25	2,81	
14-15	“	251	28,20	
16-17	“	195	21,91	B <sub>10</sub> +mist
18	“	25	2,81	
19-23	Hex/AcOEt (98:2)	245	27,53	B <sub>8</sub> +B <sub>9</sub> +mist
24-27	Hex/AcOEt (95:5)	73	8,20	
28-33	Vários	17	1,91	
34-56	“	56	6,29	

**Cromatografia Cro15**

A fração 19 a 23 da cromatografia Cro14 (245 mg) foi recromatografada (tabela 2.26) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.26: Cromatografia Cro15 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-21	Vários	0	0,00	
22	Hex/AcOEt (95:5)	1	0,49	
23	“	17	8,29	
24	“	37	18,05	
25-27	“	105	51,22	B <sub>8</sub> +B <sub>9</sub> +mist
28-30	Hex/AcOEt (9:1)	28	13,66	
31-46	Vários	17	8,29	

**Cromatografia Cro16**

A fração 25 a 27 da cromatografia Cro15 (105 mg) foi recromatografada (tabela 2.27) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.27: Cromatografia Cro16 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-26	Vários	17	16,50	
27-32	Hex/AcOEt (98:2)	2	1,94	
33-37	“	3	2,91	
38-42	“	13	12,62	B <sub>8</sub>
43-45	“	10	9,71	
46-52	“	31	30,10	B <sub>9</sub>
53-55	“	4	3,88	
56-80	Vários	23	22,33	

**Cromatografia Cro17**

A fração 16 a 17 da cromatografia Cro14 (195 mg) foi recromatografada (tabela 2.28) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.28: Cromatografia Cro17 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-27	Vários	14	8,28	
28	Hex/AcOEt (99:1)	29	17,16	
29	“	3	1,78	
30-31	“	10	5,92	B <sub>10</sub>
33-35	“	14	8,28	
36-41	“	28	16,57	
42-45	Hex/AcOEt (98:2)	33	19,53	
46-49	“	23	13,61	
50-82	Vários	15	8,88	

### Cromatografia Cro18

A fração 4 da cromatografia Cro1 (732 mg) foi recromatografada (tabela 2.29) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.29: Cromatografia Cro18 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-13	Vários	62	8,66	
14-15	Hex/AcOEt (95:5)	69	9,64	
16-18	“	84	11,73	
19-22	“	71	9,92	B <sub>11</sub> +mist
23-27	“	52	7,26	
28-30	Hex/AcOEt (9:1)	115	16,06	
31-36	“	61	8,52	
37-43	Hex/AcOEt (8:2)	82	11,45	
44-66	Vários	120	16,76	

### Cromatografia Cro19

A fração 19 a 22 da cromatografia Cro18 (71 mg) foi recromatografada (tabela 2.30) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.30: Cromatografia Cro18 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-13	Hex/AcOEt (8:2)	4	8,00	
14	“	3	6,00	
15-17	“	17	34,00	
18-20	“	3	6,00	
21-25	“	9	18,00	
26-30	“	5	10,00	
31-35	“	2	4,00	B <sub>11</sub>
36-45	“	4	8,00	
46-69	Vários	3	6,00	

### Cromatografia Cro20

A fração 5 da cromatografia Cro1 (1991 mg) foi recromatografada (tabela 2.31) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.31: Cromatografia Cro20 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-25	Vários	62	3,16	
26	Hex/AcOEt (8:2)	78	3,97	
27	“	110	5,60	
28	“	101	5,14	
29-30	“	150	7,63	B <sub>12</sub> +mist
31-32	“	184	9,36	
33-35	“	257	13,08	
36-39	“	183	9,31	
40-44	“	177	9,01	
45-51	Hex/AcOEt (7:3)	287	14,61	
52-63	Vários	170	8,65	
64-76	“	65	3,31	
77-90	“	120	6,11	
91-103	“	21	1,07	

### Cromatografia Cro21

A fração 29 a 30 da cromatografia Cro20 (150 mg) foi recromatografada (tabela 2.32) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.32: Cromatografia Cro21 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-12	Vários	1	0,96	
13	Hex/AcOEt (9:1)	2	1,92	
14-16	“	11	10,58	
17-19	“	18	17,31	B <sub>12</sub>
20-27	“	25	24,04	
28-29	Hex/AcOEt (8:2)	11	10,58	
30	“	3	2,88	
31-60	Vários	33	31,73	

#### 2.4.2.2. Fracionamento da fração de clorofórmio

### Cromatografia Cro22

A fração de clorofórmio (10 g) foi cromatografada (tabela 2.33) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (95:5), acetato de etilo/metanol (9:1) e metanol, tendo-se obtido os seguintes resultados:

**Tabela 2.33:** Cromatografia Cro22 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	0	0,00	
2	Hex/AcOEt (9:1)	10	0,11	
3	Hex/AcOEt (8:2)	120	1,29	
4	Hex/AcOEt (7:3)	490	5,27	B <sub>13</sub> +mist
5	Hex/AcOEt (6:4)	300	3,23	
6	AcOEt	1430	15,38	
7	AcOEt/Met (95:5)	4130	44,41	
8	AcOEt/Met (9:1)	670	7,20	
9	MeOH	2150	23,12	

### Cromatografia Cro23

A fração 4 da cromatografia Cro22 (490 mg) foi recromatografada (tabela 2.34) em coluna de sílica gel e eluída com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

**Tabela 2.34:** Cromatografia Cro23 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-9	Hex/AcOEt (95:5)	5	1,07	
10-12	“	0,8	0,17	B <sub>13</sub>
13-24	Vários	14	2,99	
25-28	Hex/AcOEt (8:2)	119	25,44	
29-32	Vários	83	17,74	
33-35	Hex/AcOEt (7:3)	66	14,11	
36-51	Vários	72	15,39	
52-65	“	79	16,89	
66-76	“	29	6,20	

#### 2.4.2.3. Fracionamento da fração de acetato de etilo

### Cromatografia Cro24

A fração de acetato de etilo (10 g) foi cromatografada (tabela 2.35) numa coluna de sílica gel e eluído com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

**Tabela 2.35:** Cromatografia Cro24 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Clorofórmio	10	0,10	
2	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (98:2)	0	0,00	
3	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	50	0,50	
4	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (7:3)	2040	20,54	
5	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (1:1)	6000	60,42	B <sub>14</sub> +B <sub>15</sub> +mist
6	Metanol	1830	18,43	

### Cromatografia Cro25

A fração 5 da cromatografia Cro24 (6000 mg) foi recromatografada (tabela 2.36) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.36: Cromatografia Cro25 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (7:3)	168	3,44	
2	"	99	2,03	
3	"	87	1,78	
4	"	192	3,93	
5-9	"	761	15,59	
10-13	Vários	375	7,68	
14-22	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (6:4)	318	6,52	B <sub>14</sub> +mist
23	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (1:1)	29	0,59	
24	"	156	3,20	
25	"	309	6,33	
26-36	"	2269	46,49	B <sub>15</sub> +mist
37	Metanol	118	2,42	

### Cromatografia Cro26

A fração 14 a 22 da cromatografia Cro25 (318 mg) foi recromatografada (tabela 2.37) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.37: Cromatografia Cro25 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (7:3)	90	40,72	
2	"	27	12,22	
3-4	"	25	11,31	
5-7	"	30	13,57	B <sub>14</sub>
8-10	Vários	32	14,48	
11-23	"	16	7,24	

### Cromatografia Cro27

A fração 26 a 36 da cromatografia Cro25 (2269 mg) foi recromatografada (tabela 2.38) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.38: Cromatografia Cro27 da *C. gratissimus*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (6:4)	165	24,89	
2	"	85	12,82	
3	"	36	5,43	
4	"	71	10,71	B <sub>15</sub>
5-6	"	199	30,02	
7	"	38	5,73	
8-10	"	33	4,98	
11-23	Vários	36	5,43	

### 2.4.3. *Peltophorum africanum*

#### 2.4.3.1. Fracionamento da fração de hexano

##### Cromatografia Pel1

A fração de hexano (4,9 g) foi cromatografada (tabela 2.39) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (95:5) e metanol, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.39: Cromatografia Pel1 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	430	11,68	
2	Hex/AcOEt (98:2)	490	13,32	
3	Hex/AcOEt (95:5)	350	9,51	C <sub>1</sub> +mist
4	Hex/AcOEt (9:1)	790	21,47	
5	Hex/AcOEt (8:2)	320	8,70	
6	Hex/AcOEt (7:3)	160	4,35	
7	Hex/AcOEt (6:4)	300	8,15	
8	AcOEt	170	4,62	
9	AcOEt/ MeOH (95:5)	110	2,99	
10	MeOH	560	15,22	

##### Cromatografia Pel2

A fração 3 da cromatografia Pel1 (350 mg) foi recromatografada (tabela 2.40) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.40: Cromatografia Pel2 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-5	Hexano	2	0,58	
6-7	Hex/AcOEt (99:1)	132	38,04	C <sub>1</sub> +mist
8-10	"	127	36,60	
11-17	Vários	45	12,97	
18-19	Hex/AcOEt (98:2)	4	1,15	
22-29	Vários	4	1,15	
30-33	"	4	1,15	
34-38	"	17	4,90	
39	Metanol	12	3,46	

##### Cromatografia Pel3

A fração 6 a 7 da cromatografia Pel2 (132 mg) foi recromatografada (tabela 2.41) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.41: Cromatografia Pel3 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-11	Hexano	7	7,53	
12	Hex/AcOEt (99:1)	2	2,15	
13-18	"	65	69,89	C <sub>1</sub> +mist
19-32	Vários	19	20,43	

#### Cromatografia Pel4

A fração 13 a 18 da cromatografia Pel3 (65 mg) foi recromatografada (tabela 2.42) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.42: Cromatografia Pel4 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-18	Vários	1	2,86	
19-20	Hex/AcOEt (98:2)	7	20,00	
21	"	4	11,43	
22-24	"	15	42,86	C <sub>1</sub>
25-26	"	4	11,43	
27-30	Hex/AcOEt (95:5)	3	8,57	
31-32	Vários	1	2,86	

#### 2.4.3.2. Fracionamento da fração de clorofórmio

#### Cromatografia Pel5

A fração de clorofórmio (10 g) foi cromatografada (tabela 2.43) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (95:5), acetato de etilo/metanol (9:1) e metanol, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.43: Cromatografia Pel5 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hexano	10	0,42	
2	Hex/AcOEt (9:1)	10	0,42	
3	Hex/AcOEt (8:2)	0	0,00	
4	Hex/AcOEt (7:3)	30	1,27	
5	Hex/AcOEt (6:4)	20	0,84	
6	AcOEt	50	2,11	
7	AcOEt/Met (95:5)	270	11,39	
8	AcOEt/Met (9:1)	400	16,88	C <sub>2</sub> +mist
9	MeOH	1580	66,67	

#### Cromatografia Pel6

A fração 8 da cromatografia Pel5 (400 mg) foi recromatografada (tabela 2.44) em coluna de sílica gel e eluída com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.44: Cromatografia Pel6 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (98:2)	7	1,88	
2	"	32	8,60	
3	"	7	1,88	
4	"	9	2,42	
5-6	"	16	4,30	
7	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95:5)	13	3,49	
8-9	"	76	20,43	
10	"	64	17,20	
11-12	"	24	6,45	C <sub>2</sub>
13	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	13	3,49	
14-16	"	24	6,45	
17-18	"	24	6,45	
19-20	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (8:2)	25	6,72	
21-25	Vários	38	10,22	

#### 2.4.3.3. Fracionamento da fração de acetato de etilo

##### Cromatografia Pel7

A fração de acetato de etilo (10 g) foi cromatografada (tabela 2.45) numa coluna de sílica gel e eluído com clorofórmio e misturas de clorofórmio/metanol de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.45: Cromatografia Pel7 da *P. africanum*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (95:5)	570	5,72	
2	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (9:1)	680	6,83	
3	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (7:3)	1390	13,96	
4	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (1:1)	2050	20,58	
5	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (3:7)	830	8,33	
6	CHCl <sub>3</sub> / MeOH (1:9)	4230	42,47	
7	Metanol	210	2,11	

Na fração de acetato de etilo não foram encontrados compostos puros, mas fez-se o estudo de todas as frações apresentadas na cromatografia Pel7.

#### 2.4.4. *Gymnosporia senegalensis*

##### 2.4.4.1. Fracionamento do extrato de metanol

##### Cromatografia Gym1

O extrato de metanol (10 g) foi cromatografado (tabela 2.46) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, acetato de etilo/metanol (9:1), acetato de etilo/metanol (1:1) e metanol, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.46: Cromatografia Gym1 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hex/AcOEt (95:5)	430	5,19	
2	Hex/AcOEt (8:2)	650	7,84	D <sub>1</sub> +D <sub>2</sub> +mist
3	Hex/AcOEt (1:1)	550	6,63	D <sub>3</sub> +D <sub>4</sub> +mist
4	AcOEt	100	1,21	
5	AcOEt/ MeOH (9:1)	280	3,38	
6	AcOEt/ MeOH (1:1)	6100	73,58	
7	MeOH	180	2,17	

### Cromatografia Gym2

A fração 2 da cromatografia Gym1 (650 mg) foi recromatografada (tabela 2.47) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.47: Cromatografia Gym2 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-2	Hex/AcOEt (95:5)	12	2,11	
3-4	"	68	11,95	
5	"	24	4,22	
6-9	"	99	17,40	D <sub>1</sub> +mist
10	"	36	6,33	
11-14	Hex/AcOEt (9:1)	232	40,77	D <sub>2</sub> +mist
15-21	"	77	13,53	
22-23	Hex/AcOEt (8:2)	14	2,46	
24-30	Vários	7	1,23	

### Cromatografia Gym3

A fração 6 a 9 da cromatografia Gym2 (99 mg) foi recromatografada (tabela 2.48) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.48: Cromatografia Gym3 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-13	Vários	13	13,83	
14-21	Hex/AcOEt (98:2)	4	4,26	
22-23	Hex/AcOEt (95:5)	13	13,83	
24	"	10	10,64	
25-28	"	49	52,13	D <sub>1</sub>
29	Metanol	5	5,32	

### Cromatografia Gym4

A fração 11 a 14 da cromatografia Gym2 (232 mg) foi recromatografada (tabela 2.49) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.49: Cromatografia Gym4 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hex/AcOEt (98:2)	8	5,97	
2-7	"	4	2,99	
8-9	"	2	1,49	
10-13	Hex/AcOEt (95:5)	4	2,99	
14-16	"	4	2,99	
17-19	Hex/AcOEt (9:1)	36	26,87	
20-22	"	55	41,04	D <sub>2</sub> +mist
23-27	Vários	21	15,67	

### Cromatografia Gym5

A fração 20 a 22 da cromatografia Gym4 (55 mg) foi recromatografada (tabela 2.50) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.50: Cromatografia Gym5 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-19	Vários	7	14,00	
20	Hex/AcOEt (9:1)	8	16,00	D <sub>2</sub>
21	"	8	16,00	
22-23	"	11	22,00	
24-26	Vários	16	32,00	

### Cromatografia Gym6

A fração 3 da cromatografia Gym1 (550 mg) foi recromatografada (tabela 2.51) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.51: Cromatografia Gym6 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hex/AcOEt (7:3)	10	1,91	
2-3	"	217	41,41	D <sub>4</sub> +mist
4	"	64	12,21	D <sub>3</sub> +mist
5-8	"	89	16,98	
9-14	Hex/AcOEt (6:4)	56	10,69	
15-20	"	71	13,55	
21-26	Vários	17	3,24	

### Cromatografia Gym7

A fração 4 da cromatografia Gym6 (64 mg) foi recromatografada (tabela 2.52) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.52: Cromatografia Gym7 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1-14	Vários	1	2,63	
15-16	Hex/AcOEt (8:2)	13	34,21	D <sub>3</sub>
17-19	"	8	21,05	
20-22	Hex/AcOEt (7:3)	6	15,79	
23-24	"	5	13,16	
25-29	Vários	5	13,16	

### Cromatografia Gym8

A fração 2 a 3 da cromatografia Gym6 (217 mg) foi recromatografada (tabela 2.53) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.53: Cromatografia Gym8 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hex/AcOEt (9:1)	1	0,51	
2-9	Vários	13	6,60	
10-13	Hex/AcOEt (8:2)	139	70,56	D <sub>4</sub> +mist
14-21	Vários	44	22,34	

### Cromatografia Gym9

A fração 10 a 13 da cromatografia Gym8 (139 mg) foi recromatografada (tabela 2.54) numa coluna de sílica gel e eluído com hexano e misturas de hexano/acetato de etilo de polaridades crescentes, tendo-se obtido os seguintes resultados:

Tabela 2.54: Cromatografia Gym9 da *G. senegalensis*.

Fração	Eluente	Peso (mg)	%	Observações
1	Hex/AcOEt (9:1)	7	5,34	
2-3	"	3	2,29	D <sub>4</sub>
4-6	"	3	2,29	
7-11	Vários	10	7,63	
12-13	Hex/AcOEt (8:2)	72	54,96	
14-16	"	28	21,37	
17-22	Vários	8	6,11	

## 2.5. Caracterização física e espectroscópica dos compostos

### 2.5.1. *Piliostigma thonningii*

#### 2.5.1.1. Caracterização dos compostos da fração de hexano

##### A1 - $\beta$ -Sitosterol

Da fração 27 a 28 da cromatografia Pi3, foram isolados 21 mg de um óleo incolor (A1) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3418, 3029, 2929, 2854, 1709, 1514, 1464, 1382, 1333, 1216, 1108, 1047, 1022, 959, 929, 757, 668.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 5,33 (1H, dt,  $J = 5,4$  Hz;  $J = 2,0$  Hz; H-6), 3,51 (1H, tdd,  $J = 11,0$  Hz;  $J = 5,3$ ;  $J = 4,0$  Hz, H-3), 0,99 (3H, s, Me-19), 0,82 (1H, d,  $J = 7,2$  Hz, Me-26), 0,80 (1H, d,  $J = 7,0$  Hz, Me-27), 0,66 (3H, s, Me-18).

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.1.

#### 2.5.1.2. Caraterização dos compostos da fração de clorofórmio

##### **A2 - Ácido benzóico**

Da fração 7 a 11 da cromatografia Pi6, foram isolados 10 mg de um óleo incolor (A2) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3584, 2924, 2360, 2342, 1709, 1687, 1601, 1584, 1454, 1426, 1326, 1292, 1180, 934, 707, 668.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.2.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.2.

#### 2.5.1.3. Caraterização dos compostos da fração de acetato de etilo

##### **A3 - Ácido 3-O-B-D-fucopiranosilquinóvico**

Da fração 34 a 36 da cromatografia Pi8, foram isolados 103 mg de um sólido amorfo amarelo (A3) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3878, 3868, 3851, 3830, 3814, 3756, 3748, 3742, 3654, 3627, 3585, 3418, 2359, 2097, 1660, 1651, 1633, 1557, 1538, 1455, 1385, 1284, 1069.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.3.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (150,9 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.3.

#### A4 - Ácido 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquinóvico

Da fração 45 da cromatografia Pi8, foram isolados 81 mg de um sólido amorfo amarelo (A4) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3417, 2927, 2231, 1643, 1693, 1452, 1386, 1225, 1054, 672.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.4.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (150,9 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.4.

#### A5 - Vincosamida

Da fração 54 a 57 da cromatografia Pi9, foram isolados 74 mg de um sólido amorfo amarelo (A5) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3363, 2926, 2360, 2342, 1652, 1586, 1515, 1450, 1304, 1277, 1074, 895, 829, 746, 668.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.5.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.5.

### 2.5.2. *Croton gratissimus*

#### 2.5.2.1. Caracterização dos compostos da fração de hexano

#### B1 - Óxido de cariofileno

Da fração 5 da cromatografia Cro4, foram isolados 32 mg de um óleo incolor (B1) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3735, 3420, 3069, 2930, 2862, 2360, 2342, 1678, 1632, 1455, 1385, 1368, 1281, 1260, 1166, 1121, 1065, 1121, 1065, 1021, 998, 962, 938, 890, 863, 823, 761, 687, 668, 642.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.6.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.6.

### B2a e B2b - 7δ-Metoxiopposit-4(15)-en-1β-ol e 6α-Metoxieudesm-4(15)-en-1β-ol

Da fração 12 a 16 da cromatografia Cro5, foram isolados 4 mg de um óleo incolor (B2) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3435, 2934, 2870, 1713, 1651, 1463, 1384, 1180, 1093, 1019, 889.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.7a e 3.7b.

Espetro RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.7a e 3.7b.

### B3 - 1β-Metoxicariolan-9β-ol

Da fração 10 a 15 da cromatografia Cro4, foram isolados 8 mg de um óleo incolor (B3) com as seguintes propriedades:

$[\alpha]_D^{20} = + 25,0^\circ$  ( $CHCl_3$ ,  $c = 0,08$ )

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3419, 2955, 2870, 1713, 1685, 1464, 1367, 1252, 1215, 1173, 1093, 1078, 1015, 963, 915, 830, 755.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.9.

Espetro RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.9.

HR-micOTOF-MS  $m/z$ : íão-pseudomolecular a 221,18961 ( $[M - OCH_3]^+$ ,  $C_{15}H_{25}O$ , calc. 221,18999).

### B4 - Ácido *ent*-Kaur-16-en-19-óico

Da fração 16 a 18 da cromatografia Cro8, foram isolados 63 mg de um óleo incolor (B4) com as seguintes propriedades:

$[\alpha]_D^{20} = - 81,1^\circ$  ( $CHCl_3$ ,  $c = 0,074$ )

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3584, 3545, 3086, 2926, 2556, 2853, 2349, 2283, 1692, 1657, 1469, 1367, 1368, 1325, 1263, 1209, 1193, 1179, 1155, 1088, 1023, 955, 873, 798, 758.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: 4,79 (sl, 1H), 4,73 (sl, 1H), 1,23 (s, 3H), 0,94 (s, 3H).

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.10.

#### **B5 - Ácido cis-óxico**

Da fração 37 a 38 da cromatografia Cro9, foram isolados 15 mg de um óleo incolor (B5) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3549, 3416, 2929, 2650, 2360, 1702, 1643, 1459, 1387, 1238, 753.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.11.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.11.

#### **B6 - Espatulanol**

Da fração 8 da cromatografia Cro8, foram isolados 5 mg de um óleo incolor (B6) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3408, 2925, 2855, 2349, 1723, 1634, 1455, 1376, 1248, 1154, 1096, 915, 889, 672.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.12.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.12.

#### **B7 - Lupeol**

Da fração 26 da cromatografia Cro13, foram isolados 6 mg de um óleo incolor (B7) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3584, 3404, 3076, 2929, 2856, 1713, 1641, 1455, 1381, 1215, 1106, 1043, 1014, 984, 883, 757.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.13.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.13.

### B8 - Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1B-ol

Da fração 38 a 42 da cromatografia Cro16, foram isolados 13 mg de um óleo incolor (B8) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3412, 2960, 2870, 2360, 2342, 1717, 1464, 1385, 1262, 1216, 1175, 1038, 887, 802, 758, 668.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.14.

Espetro RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.14.

### B9 - $\beta$ -Sitosterol

Da fração 46 a 52 da cromatografia Cro16, foram isolados 31 mg de um óleo incolor (B9) com propriedades iguais às do composto A1.

### B10 - *ent*-Kaur-16-en-19-ol

Da fração 30 a 31 da cromatografia Cro17, foram isolados 10 mg de um óleo incolor (B10) com as seguintes propriedades:

$[\alpha]_D^{20} = -31,3^\circ$  ( $CHCl_3$ ,  $c = 0,064$ )

Espetro de IV,  $\nu_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3584, 3373, 3065, 2922, 2360, 2342, 1723, 1658, 1445, 1367, 1023, 878, 668.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: 4,78 (sl, 1H), 4,72 (sl, 1H), 3,73 (d, 1H), 3,44 (dd, 2H), 1,00 (s, 3H), 0,95 (s, 3H).

Espetro RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.15.

### B11 - 7 $\delta$ -Metoxiopposit-4(15)-en-1B-ol

Da fração 31 a 35 da cromatografia Cro19, foram isolados 2 mg de um óleo incolor (B11) com as seguintes propriedades:

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.16.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.16.

**B12 - Ácido 15-metoxi-neo-clerodan-3,13-dien-15,16-olida-18-óico**

Da fração 17 a 19 da cromatografia Cro21, foram isolados 18 mg de um óleo incolor (B12) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $v_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3586, 2919, 2500, 2360, 2342, 1770, 1686, 1636, 1455, 1367, 1214, 1078, 1023, 937, 756, 668.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.17.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.17.

2.5.2.2. Caraterização dos compostos da fração de clorofórmio

**B13 - 6 $\alpha$ -Metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol**

Da fração 10 a 11 da cromatografia Cro23, foram isolados 0,8 mg de um óleo incolor (B13) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $v_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3433, 3428, 2850, 1770, 1721, 1651, 1463, 1380, 1367, 1277, 1195, 1126, 1091, 1018, 890, 757.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.18.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (150,9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.18.

2.5.2.3. Caraterização dos compostos da fração de acetato de etilo

**B14 - Sacarose**

Da fração 5 a 7 da cromatografia Cro26, foram isolados 30 mg de um sólido amorfo (B14) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $v_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3287, 2930, 1651, 1263, 1104, 1042, 988, 924, 831.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.19.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.19.

#### **B15 - *trans*-4-Hidroxi-N-metilprolina**

Da fração 26 a 36 da cromatografia Cro27, foram isolados 71 mg de um óleo incolor (B15) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3404, 2360, 1625, 1404, 1073.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.20.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.20.

### **2.5.3. *Peltophorum africanum***

#### **2.5.3.1. Caracterização dos compostos da fração de hexano**

##### **C1 - Lupeol**

Da fração 22 a 24 da cromatografia Pel4, foram isolados 15 mg de um óleo incolor (C1) com propriedades iguais às do composto B7.

#### **2.5.3.2. Caracterização dos compostos da fração de clorofórmio**

##### **C2 - Mallanósido A**

Da fração 11 a 12 da cromatografia Pel6, foram isolados 24 mg de um óleo incolor (C2) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $\nu_{\text{máx}}^{\text{filme}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3385, 2919, 2361, 2341, 1698, 1608, 1508, 1461, 1421, 1372, 1347, 1332, 1267, 1233, 1124, 1089, 1070, 1026, 991, 963, 858, 817, 765, 723, 668, 649, 619, 613.

Espetro RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.21.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.21.

## 2.5.4. *Gymnosporia senegalensis*

### 2.5.4.1. Caracterização dos compostos do extrato de metanol

#### D1 - $\beta$ -Sitosterol

Da fração 25 a 28 da cromatografia Gym33, foram isolados 49 mg de um óleo incolor (D1) com propriedades iguais às do composto A1.

#### D2 - 3 $\beta$ -Hidroxi-30-nor-lup-20-ona

Da fração 20 da cromatografia Gym5, foram isolados 8 mg de um óleo incolor (D2) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $v_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3459, 2930, 2861, 1704, 1456, 1382, 1241, 1215, 1165, 1032, 1009, 756, 666.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.22.

Espetro RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.22.

#### D3 - 3-*epi*-Gloquidiol

Da fração 15 a 16 da cromatografia Gym7, foram isolados 8 mg de um óleo incolor (D3) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $v_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3584, 3384, 2927, 2360, 1713, 1456, 1380, 1040, 756.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.23.

Espetro RMN  $^{13}C$  (100,6 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.23.

#### D4 - 3 $\beta$ -Hidroxilup-20(29)-en-30-al

Da fração 2 a 3 da cromatografia Gym9, foram isolados 3 mg de um óleo incolor (D4) com as seguintes propriedades:

Espetro de IV,  $v_{máx}^{filme}$   $cm^{-1}$ : 3584, 3418, 2928, 2856, 1723, 1456, 1381, 1272, 1042, 757.

Espetro RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.24.

Espetro RMN  $^{13}\text{C}$  (100,6 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  ppm: Tabela 3.24.

## Capítulo 3 - Resultados e discussão

### 3.1. Caracterização dos compostos isolados da *Piliostigma thonningii*

Nesta parte do trabalho serão discutidos os compostos isolados (A) das cromatografias (Pi) encontrados na raiz da *Piliostigma thonningii* cuja origem e método de isolamento se encontra descrito anteriormente.

#### 3.1.1. Compostos isolados na fração de hexano

##### 3.1.1.1. A1 - $\beta$ -Sitosterol

Este composto foi obtido da fração 27 a 28 da cromatografia Pi3, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidróxilo a  $3418\text{ cm}^{-1}$ , da ligação =CH a  $3029\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=C a  $1709\text{ cm}^{-1}$  e de metilos a  $1382\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  demonstra um duplo tripleto a  $\delta$  5,33 ppm ( $J = 5,4; 2,0$  Hz; H-6) característico de um próton olefínico e a  $\delta$  3,51 ppm ( $J = 11,0; 5,3; 4,0$  Hz) um triplo duplo duplete correspondente ao próton geminal a um grupo hidróxilo característico de um núcleo esteroide (Rajput e Rajput, 2012) encontrando-se ligado ao C-3. Observou-se o aparecimento de dois singuletos a  $\delta$  0,99 e 0,66 ppm que correspondem aos metilos 19 e 18, respetivamente. Os restantes grupos metilo 21, 26, 27 e 29 encontram-se na cadeia lateral, sendo dois pertencentes a um grupo isopropilo (dupletos a  $\delta$  0,82 e 0,80 ppm;  $J = 7,2; 7,0$  Hz, respetivamente, Me-26 e 27).

**Tabela 3.1:** Distribuição dos carbonos de A1 no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

$\text{CH}_3$ (ppm)	$\text{CH}_2$ (ppm)	CH (ppm)	C (ppm)
11,8	21,1	29,1	36,6
12,0	23,0	31,9	42,3
18,8	24,3	36,2	140,7
19,0	26,1	45,8	
19,4	28,2	50,1	
19,8	29,7	56,0	
	31,6	56,8	
	31,9	71,8	
	33,9	121,7	
	37,3		
	39,8		
	42,2		

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.1) apresenta vinte e nove átomos de carbono dos quais seis metilos, onze metilenos, nove metinos (um olefínico e outro ligado ao hidróxilo) e

três carbonos quaternários (um olefínico) com desvios químicos a  $\delta$  140,7 ppm; 42,3 e 36,6 ppm dos C-5, C-13 e C-10 e ainda a  $\delta$  121,7 ppm um metino olefínico. A  $\delta$  71,8 ppm encontra-se um sinal de um metino bastante desblindado devido à presença de um grupo hidroxilo sobre este carbono. Pelo espectro de correlação direta C-H (HSQC) verifica-se a correlação entre o sinal de próton a 3,51 ppm e o sinal de  $^{13}\text{C}$  a 71,8 ppm em relação ao C-3 e entre 5,35 ppm e o sinal a 121,7 ppm em relação ao carbono C-6.

A identificação deste composto foi baseada nos seus dados espectrais em comparação com a literatura (Rajput e Rajput, 2012), sendo o composto identificado como  $\beta$ -sitosterol (figura 3.1).

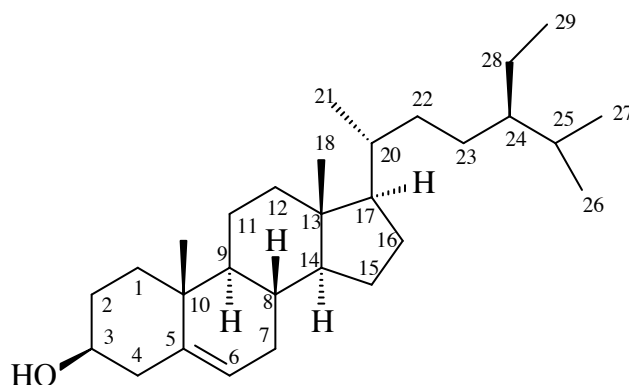


Figura 3.1: Estrutura do  $\beta$ -sitosterol.

Este composto é dos mais isolados em plantas e, apesar de não haver referências de que tenha sido encontrado na *P. thonningii* foi encontrado no género *Bauhinia*, da qual *Piliostigma* é sinónimo, por exemplo, Ragasa *et al.*, (2004) isolaram o  $\beta$ -sitosterol das folhas da *Bauhinia purpurea*.

### 3.1.2. Compostos isolados na fração de clorofórmio

#### 3.1.2.1. A2 - Ácido benzóico

Este composto foi obtido da fração 7 a 11 da cromatografia Pi6, sendo um sólido amorfo branco. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo de ácidos carboxílicos a  $3584\text{ cm}^{-1}$ , da ligação =CH de aromáticos a  $2924\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=O a  $1687\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  revelou um tripló triplete a  $\delta$  7,61 ppm ( $J = 7,4; 1,4\text{ Hz}$ ; H-5) e dois multipletos a  $\delta$  8,13 e 7,48 ppm correspondentes aos prótons H-3, H-7 e H-4, H-6, respetivamente. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.2) associado ao espectro DEPT apresentou cinco sinais correspondentes a sete carbonos, dois quaternários a  $\delta$  172,1 ppm e  $\delta$  129,3 ppm, correspondentes aos carbonos C-1 e C-2, respetivamente e três sinais de cinco metinos em

que o sinal a  $\delta$  130,2 ppm corresponde aos C-3 e C-7, a  $\delta$  128,5 ppm um sinal de C-4 e C-6 e finalmente a  $\delta$  133,8 ppm o metino de C-5. Com base nos dados dos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  comparados com os dados bibliográficos (Pretsch *et al.*, 1998) concluiu-se que o composto era o ácido benzóico (figura 3.2).

Tabela 3.2: Distribuição dos carbonos de A2 no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ .

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)
1	172,1	C	
2	129,3	C	
3	130,2	CH	8,13 (m)
4	128,5	CH	7,48 (m)
5	133,8	CH	7,61 (tt, $J = 7,4; 1,4$ )
6	128,5	CH	7,48 (m)
7	130,2	CH	8,13 (m)

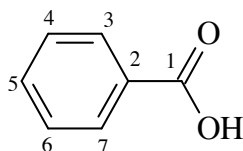


Figura 3.2: Estrutura do ácido benzóico.

O ácido benzóico não foi, até à data isolado no género *Bauhinia*, uma vez que não há referências que este composto esteja presente no género *Bauhinia*.

### 3.1.3. Compostos isolados na fração de acetato de etilo

#### 3.1.3.1. A3 - Ácido 3-O- $\beta$ -D-fucopiranosilquinóico

Este composto foi obtido da fração 34-36 da cromatografia Pi8, sendo um sólido amorfo amarelo. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo e de grupo hidroxilo de ácidos carboxílicos a  $3418\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=O de ácidos carboxílicos a  $1659\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.3) apresentou seis sinais de grupos metílicos, dos quais quatro singletos a  $\delta$  0,99 ppm; 0,94 ppm; 0,86 e 0,80 ppm correspondentes aos prótons dos metilos 23, 25, 26 e 24, respetivamente, Observou-se-se, ainda, dois metilos dupletos: a  $\delta$  0,89 ppm ( $J = 6,8\text{ Hz}$ ) correspondente ao metilo 30 e  $\delta$  0,87 ppm ( $J = 6,2\text{ Hz}$ ) atribuível ao metilo 29. Este padrão de metilos, quatro singletos e dois dupletos, aponta para uma estrutura do tipo ursano (Monte *et al.*, 2001). A presença de um multipletto a  $\delta$  5,58 ppm (H-12) correspondente a um hidrogénio olefínico e um duplo dupletto a  $\delta$  3,07 ppm ( $J = 11,2; 4,0\text{ Hz}$ ; H-3) correspondente ao hidrogénio geminal a um grupo oxigenado reforça mais uma vez a

presença de um esqueleto ursano (Monte *et al.*, 2001). Os sinais multipletos a  $\delta$  3,57; 3,55; 3,42 ppm correspondem aos prótons H-5', H-4', H-3' e H-2' e os dupletos a  $\delta$  4,20 ppm ( $J = 7,8$  Hz) e 1,22 ppm ( $J = 6,0$  Hz) apontam para a existência de um substituinte monossacárido.

Tabela 3.3: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto A3.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	40,0	CH <sub>2</sub>	1,66 (m)	5, 25
2	27,1	CH <sub>2</sub>	1,87 (m)	1, 4, 10
3	90,6	CH	3,07 (dd, $J = 11,2; 4,0$ )	4, 23, 24, 1'
4	40,1	C	-	-
5	57,0	CH	0,72 (dl, $J = 11,2$ )	3, 4, 6, 9, 10, 23, 24, 25
6	19,3	CH <sub>2</sub>	1,31 (m) 1,51 (m)	10
7	38,1	CH <sub>2</sub>	0,98 (m) 1,18 (m)	5, 8, 26
8	40,7	C	-	-
9	48,0	CH	2,19 (m)	5, 10, 11, 12, 14
10	37,9	C	-	-
11	23,9	CH <sub>2</sub>	1,86 (m) 1,94 (t, $J = 4,5$ )	8, 9, 12, 13
12	130,5	CH	5,58 (m)	9, 14
13	133,8	C	-	-
14	57,3	C	-	-
15	26,5	CH	1,63 (m)	8, 14
16	25,7	CH <sub>2</sub>	1,71 (m) 2,01 (m)	13, 14, 15, 28
17	49,5	C	-	-
18	55,5	CH	2,22 (m)	12, 13, 14, 19, 20, 28, 29
19	40,4	CH	0,90 (m)	-
20	38,3	CH	0,88 (m)	-
21	31,3	CH <sub>2</sub>	1,24 (m) 1,42 (m)	17, 20, 22
22	37,6	CH <sub>2</sub>	1,61 (m)	17, 28
23	28,6	CH <sub>3</sub>	0,99 (s)	3, 4, 5, 24
24	17,1	CH <sub>3</sub>	0,80 (s)	3, 4, 5, 23
25	16,9	CH <sub>3</sub>	0,94 (s)	5, 9, 10
26	19,1	CH <sub>3</sub>	0,86 (s)	8, 9, 14
27	179,1	C	-	-
28	181,6	C	-	-
29	18,2	CH <sub>3</sub>	0,87 (d, $J = 6,2$ )	18
30	21,6	CH <sub>3</sub>	0,89 (d, $J = 6,8$ )	19, 20, 21
1'	107,1	CH	4,20 (d, $J = 7,8$ )	3, 2', 5'
2'	75,3	CH	3,42 (m)	1', 3', 4'
3'	72,9	CH	3,42 (m)	1', 2'
4'	73,1	CH	3,55 (m)	2'
5'	71,6	CH	3,57 (m)	1', 3', 4', 6'
6'	17,0	CH <sub>3</sub>	1,22 (d, $J = 6,0$ )	4', 5'

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.3) associado ao espectro DEPT apresentou trinta e seis átomos de carbono, sendo, cinco metilos (um pertencente ao monossacárido), oito metilenos, doze metinos (cinco do monossacárido) e oito quaternários indicando, assim, a presença de um triterpeno funcionalizado. Os sinais observados a  $\delta$  181,6 e 179,1 ppm correspondentes a grupos carbonilo (C-28 e C-27, respetivamente) e os observados a  $\delta$  133,8 (C-13) e 130,5 ppm (C-12) correspondentes aos carbonos olefínicos em conjunto com os seis

sinais referentes a carbonos metílicos a  $\delta$  28,6 (C-23); 21,6 (C-30); 19,1 (C-26); 18,2 (C-29); 17,1 (C-24); 16,9 ppm (C-25) são similares ao padrão encontrado no triterpeno ácido quinóvico (Kitajima *et al.*, 2004). O carbono C-3 apresenta um sinal a  $\delta$  90,6 ppm, a desblindagem deste sinal sugere um ambiente altamente eletronegativo no átomo de carbono devido à ligação direta a um átomo de oxigênio provavelmente de um monossacárido. Os sinais que podem ser observados a  $\delta$  107,1; 75,3; 72,9; 73,1; 71,6 e 17,0 ppm correspondentes aos carbonos (C-1'), (C-2'), (C-3'), (C-4'), (C-5') e (C-6'), respectivamente, apontam para a presença de um derivado de um monossacárido. Em relação ao substituinte monossacárido, o valor da constante de acoplamento  $J_{H_{1'}-H_{2'}}$  igual a 7,8 Hz indica que a D-fucose se apresenta na configuração  $\beta$  (Safir *et al.*, 1998), a fucose como substituinte encontra-se em posição  $\beta$  no C-3 como se pode verificar pelos valores das constantes de acoplamento do H-3 ( $J = 11,2; 4,0$  Hz; H-3). Com base no anteriormente exposto e em conjunto com a informação do  $^1H-^1H$  COSY, HSQC, HMBC e por comparação com a literatura (Mostafa *et al.*, 2006) chegou-se à conclusão que o composto A4 é um derivado do ácido quinóvico denominado de ácido 3-O- $\beta$ -D-fucopiranosilquinóvico (figura 3.3).

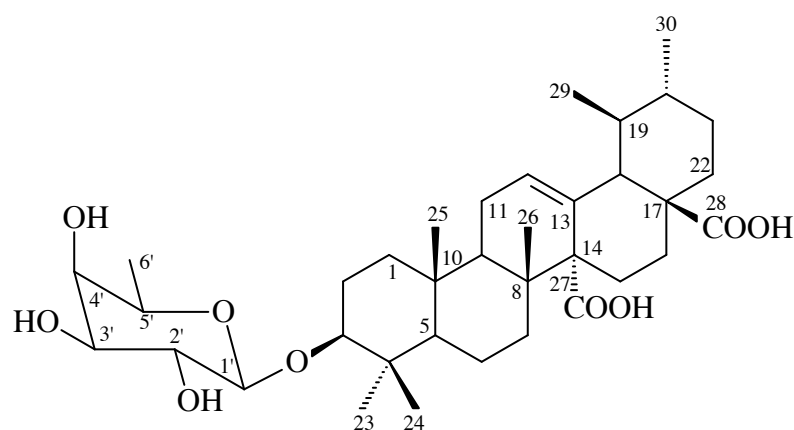


Figura 3.3: Estrutura do ácido 3-O- $\beta$ -D-fucopiranosilquinóvico.

Consultada a bibliografia constatou-se que os ácidos quinóvicos glicosilados são característicos da família Rubiaceae (Kang e Hao, 2006). No entanto, não há qualquer referência deste composto no gênero *Bauhinia* (família Leguminosae) pelo que se pode afirmar que o mesmo foi pela primeira vez isolado na *P. thonningii* sendo a mesma uma fonte de ácidos quinóvicos glicosilados. Por esta razão este composto pode ser utilizado como marcador taxonômico para a *P. thonningii*.

3.1.3.2. A4 - Ácido 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquinóico

Este composto foi obtido na fração 45 da cromatografia Pi8, sendo um sólido amorfo amarelo. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidróxilo a 3417  $\text{cm}^{-1}$ , da ligação C=O a 1693  $\text{cm}^{-1}$ , da ligação C=C a 1643  $\text{cm}^{-1}$ .

Tabela 3.4: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto A4.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	40,1	CH <sub>2</sub>	1,60 (m)	10
2	26,9	CH <sub>2</sub>	1,55 (m) 1,69 (m)	3, 4, 10
3	90,6	CH	3,97 (dd, $J = 11,5; J = 4,7$ )	2, 4, 5, 23, 24, 1'
4	40,3	C	-	-
5	56,9	CH	0,69 (m)	3, 4, 6, 7, 9, 10, 23, 24
6	19,7	CH <sub>2</sub>	1,27 (m) 1,44 (m)	5, 7, 8, 10
7	38,3	CH <sub>2</sub>	1,14 (m)	8, 14, 26
8	40,7	C	-	-
9	48,3	CH	2,15 (m)	1, 5, 7, 8, 11, 25, 26
10	38,2	C	-	-
11	24,1	CH <sub>2</sub>	1,83 (m) 1,91 (m)	8, 9, 10, 12, 13
12	130,7	CH	5,53 (dd, $J = 5,3; 2,5$ )	9, 11, 14, 18
13	134,1	C	-	-
14	57,5	C	-	-
15	26,7	CH	1,60 (m) 1,63 (m)	13, 14, 17, 27
16	26,0	CH <sub>2</sub>	1,98 (m)	15, 17, 18, 22, 28
17	49,8	C	-	-
18	55,8	CH	2,18 (m)	12, 13, 14, 17, 20, 29
19	40,7	CH	0,92 (m)	-
20	38,6	CH	0,91 (m)	-
21	31,5	CH <sub>2</sub>	1,18 (m) 1,37 (m)	17, 19, 20, 22
22	37,9	CH <sub>2</sub>	1,57 (m)	16, 17, 18, 21
23	29,0	CH <sub>3</sub>	0,84 (s)	3, 4, 5, 24
24	17,4	CH <sub>3</sub>	0,70 (s)	3, 4, 5, 23
25	17,2	CH <sub>3</sub>	0,90 (s)	1, 5, 9,10
26	19,4	CH <sub>3</sub>	0,81 (s)	7, 8, 9, 14
27	179,3	C	-	-
28	181,8	C	-	-
29	18,4	CH <sub>3</sub>	0,82 (d, $J = 7,2$ )	19
30	21,8	CH <sub>3</sub>	0,85 (d, $J = 5,4$ )	19, 20, 21
1'	104,6	CH	4,63 (d, $J = 1,8$ )	3, 2', 3', 5'
2'	72,7	CH	3,74 (dd, $J = 3,4; 1,8$ )	1', 3', 4'
3'	72,8	CH	3,56 (dd, $J = 9,5; 3,3$ )	4', 5'
4'	74,4	CH	3,29 (t, $J = 9,5$ )	2', 3', 5'
5'	70,2	CH	3,63 (dq, $J = 9,7; 6,3$ )	1', 3', 4', 6'
6'	18,1	CH <sub>3</sub>	1,15 (d, $J = 6,4$ )	4', 5'

O perfil do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.4) é bastante semelhante ao do composto A4. Os dois metilos dupletos apresentam ligeiras diferenças nos valores da constante de acoplamento a  $\delta$  0,85 ppm;  $J = 5,4$  Hz atribuível ao metilo 30 e a  $\delta$  0,82 ppm;  $J = 7,2$  Hz correspondente ao metilo 29, são pequenas diferenças que não invalidam a conclusão de que

a estrutura do composto é do tipo ursano como o composto anterior (Monte *et al.*, 2001). Da mesma forma, o multipletto do hidrogénio olefínico em H-12 do composto A4 é agora visível como duplo duplete a  $\delta$  5,53 ppm ( $J = 5,3; 2,5$  Hz). O duplo duplete a  $\delta$  3,97 ppm ( $J = 11,5; 4,7$  Hz; H-3) correspondente ao hidrogénio geminal a um grupo oxigenado que estará ligado a um monossacárido. O duplete a  $\delta$  4,63 ppm ( $J = 1,8$  Hz), os duplos dupletos 3,74 ppm ( $J = 3,4; 1,8$  Hz) e 3,56 ppm ( $J = 9,5; 3,3$  Hz), o triplete a 3,29 ppm ( $J = 9,5$  Hz), o duplo quarteto a 3,63 ppm ( $J = 9,7; 6,3$  Hz) e o duplete a  $\delta$  1,15 ppm ( $J = 6,4$  Hz), pertencem ao monossacárido da molécula.

O espetro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.4) associado ao espetro DEPT apresentou trinta e seis carbonos, sendo cinco metilos (um pertencente ao monossacárido), oito metilenos, doze metinos (cinco do monossacárido) e oito quaternários indicando, assim, a presença de um triterpeno funcionalizado. Os sinais que podem ser observados a  $\delta$  104,6; 72,7; 72,8; 74,4; 70,2 e 18,1 ppm correspondentes aos carbonos (C-1'), (C-2'), (C-3'), (C-4'), (C-5') e (C-6'), respetivamente, apontam para a presença de um derivado de um monossacárido. Em relação este substituinte, o valor da constante de acoplamento  $J_{\text{H1}'\text{-H2}'}$  igual a 1,8 Hz indica que a L-ramnose se apresenta na configuração  $\alpha$  (Safir *et al.*, 1998), a ramnose como substituinte encontra-se em posição  $\beta$  no C-3 como se pode verificar pelos valores das constantes de acoplamento do H-3 ( $J = 11,5; 4,7$  Hz; H-3) (Safir *et al.*, 1998) (figura 3.4).

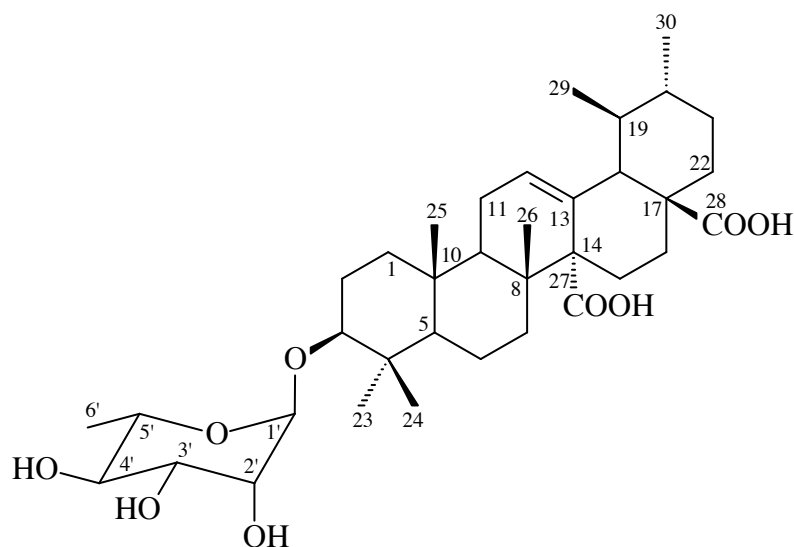


Figura 3.4: Estrutura do ácido 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquinóico.

Como anteriormente foi indicado, não há referências bibliográficas da presença de ácidos quinóicos glicosilados no género *Bauhinia*. Assim, a presença deste composto em mais de uma fração na raiz desta planta, reforça a ideia já estabelecida anteriormente, que a raiz da *P. thonningii* é uma boa fonte de ácidos quinóicos glicosilados e que este composto pode, também, ser um marcador taxonómico desta planta.

### 3.1.3.3. A5 - Vincosamida

Este composto foi obtido da fração 54 a 57 da cromatografia Pi9, sendo um sólido amorfo alaranjado. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3363\text{ cm}^{-1}$ , da ligação da ligação C=O de amidas a  $1652\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.5; figura A1) revelou quatro sinais aromáticos a  $\delta$  7,30 ppm; 7,25 ppm (d,  $J = 8,1\text{ Hz}$ ), 7,00 ppm (td,  $J = 7,5\text{ Hz}$ ;  $J = 1,1\text{ Hz}$ ) e 6,92 ppm (td,  $J = 7,5\text{ Hz}$ ;  $J = 1,0\text{ Hz}$ ), correspondendo aos prótons H-9, H-12, H-11 e H-10, respetivamente, sugerem a estrutura de um alcalóide indol (Erdelmeier *et al.*, 1991). Os sinais observados a  $\delta$  7,30 ppm,  $\delta$  5,24 (dd,  $J = 10,2$ ;  $1,9\text{ Hz}$ ); 5,29 ppm (dd,  $J = 17,3$ ;  $1,8\text{ Hz}$ ) e o sinal do duplo tripleto  $\delta$  5,57 ppm ( $J = 17,1$ ;  $10,2\text{ Hz}$ ) correspondem aos prótons olefínicos da molécula (H-17, H-18 e H-19, respetivamente). Os sinais de dupletos a  $\delta$  4,50 ( $J = 8,0\text{ Hz}$ ), 3,19 ( $J = 8,7\text{ Hz}$ ), correspondentes a H-1' e H-3', o duplo duplete a  $\delta$  3,56 ( $J = 11,9$ ;  $5,8$ ), o tripleto a  $\delta$  2,89 ( $J = 8,6\text{ Hz}$ ) (H-6' e H-2'), os dois multipletos a  $\delta$  3,79 e 3,12 ppm (H-6' e H-4'), e um singuleto largo a  $\delta$  3,24 ppm (H-5') pertencem a uma unidade de um monossacárido.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.5; figura A1) associado ao espectro DEPT (figura A2) apresentou vinte e oito átomos de carbono, sendo cinco metilenos (um  $\text{sp}^2$  e um ligado a oxigénio), quinze metinos (sete ligados a oxigénio, dois de ligações duplas e quatro aromáticos) e seis quaternários (um de uma amida, um de uma ligação dupla e quatro aromáticos). Os sinais observados a  $\delta$  122,7; 112,5; 120,4 e 119,0 ppm de quatro metinos aromáticos conjugados com os sinais de quatro carbonos quaternários aromáticos a  $\delta$  110,6; 129,0; 135,0 e 138,0 ppm confirmam a existência na molécula de um esqueleto indol (Erdelmeier *et al.*, 1991). Os sinais observados a  $\delta$  100,7; 74,6; 78,2; 71,6; 78,5 e 62,9 ppm correspondentes aos carbonos (C-1'), (C-2'), (C-3'), (C-4'), (C-5') e (C-6'), respetivamente, apontam para a presença de um derivado da glucose. Com base no valor do carbono anomérico a  $\delta$  100,7 ppm e o correspondente valor da constante de acoplamento do próton anomérico  $J_{\text{H1}'\text{-H2}'}$  igual a 8,0 Hz indica que a D-glucose se apresenta na configuração  $\beta$  (Safir *et al.*, 1998). Os sinais observados a  $\delta$  55,4 ppm, 27,6 e 25,2 ppm correspondentes aos carbonos C-3, C-14 e C-15, em conjunto com os sinais a  $\delta$  45,0 e 98,3 ppm (C-20 e C-21) indicam a presença do alcaloide indol estrictosamida ou vincosamida, estruturas epiméricas em C-3 (Meng *et al.*, 2013; Abreu e Pereira, 2001; Aimi *et al.*, 1982). É possível definir qual dos epímeros corresponde a esta molécula uma vez que as duas estruturas têm como posição fixa o H-15 e o H-20 na face  $\beta$  da molécula, a correlação NOESY (figura A4) entre H-3 e H-15 não é visível mas a correlação H-3/H-20 está presente indicando que a molécula é o epímero  $\beta$ , ou seja, o composto é a vincosamida (Meng *et al.*, 2013).

O estudo detalhado dos espectros de RMN-2D  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC (figuras A3 e A4) e a informação derivada da literatura (Aimi *et al.*, 1982) confirmaram a conclusão inicial, pelo que, se afirma que o composto A5 é o epímero 3 $\beta$ - do alcalóide indólico glicosilado conhecido com o nome de vincosamida. (figura 3.5).

Tabela 3.5: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto A5.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	-	-	-	-
2	135,0	C	-	-
3	55,4	CH	4,97 (dl, $J = 5,6$ )	2, 7, 14, 15, 22
4	-	-	-	-
5	45,0	CH <sub>2</sub>	2,60 (m) 4,86 (dd, $J = 12,6; 5,9$ )	2, 3, 6, 7, 8, 22
6	22, 4	CH <sub>2</sub>	2,58 (m) 2,85 (m)	2, 5, 7, 8
7	110,6	C	-	-
8	129,0	C	-	-
9	119,0	CH	7,30 (m)	7, 8,10, 11, 13
10	120,4	CH	6,92 (td, $J = 7,5;1,0$ )	8, 9, 11, 12
11	122,7	CH	7,00 (td, $J = 7,5; 1,1$ )	9, 12, 13
12	112, 5	CH	7,25 (d, $J = 8,1$ )	8, 10, 11
13	138,0	C	-	-
14	27,6	CH <sub>2</sub>	1,95 (td, $J = 14,6,0$ ) 2,37 (ddd, $J = 14,2; 4,6; 2,1$ )	2, 3, 15, 16, 20
15	25,2	CH	2,72 (ddd, $J = 12,0; 5,8; 2,7$ )	3, 14, 16, 17, 19, 20
16	109,5	C	-	-
17	149,4	CH	7,30 (m)	15, 16, 21, 22
18	120,8	CH <sub>2</sub>	5,24 (dd, $J = 10,2; 1,9$ ) 5,29 (dd, $J = 17,3; 1,8$ )	19, 20
19	134,6	CH	5,57 (dt, $J = 17,1; 10,2$ )	15, 18, 20, 21
20	45,0	CH	3,01 (td, $J = 12,4; 4,7$ )	-
21	98,3	CH	5,33 (d, $J = 1,8$ )	15, 17, 1'
22	167,3	C	-	-
1'	100,7	CH	4,50 (d, $J = 8,0$ )	'2', 3', 21
2'	74,6	CH	2,89 (t, $J = 8,6$ )	'1', 3', 4'
3'	78,2	CH	3,19 (d, $J = 8,7$ )	'2', 4', 5'
4'	71,6	CH	3,12 (m)	'2', 3', 5', 6'
5'	78,5	CH	3,24 (sl)	'4'
6'	62,9	CH <sub>2</sub>	3,56 (dd, $J = 11,9; 5,8$ ) 3,79 (m)	4',5'

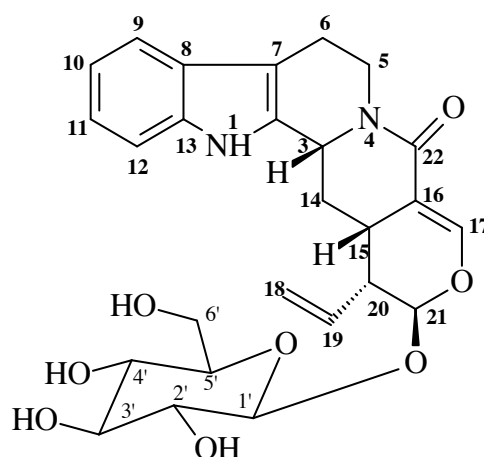


Figura 3.6: Estrutura da vincosamida.

A vincosamida é pela primeira vez isolada no género *P. thoningii* e no género *Bauhinia*, no entanto outro tipo de alcalóides indóis (alcalóides  $\beta$ -carbonilos) foram isolados na *Bauhinia unguolata* L (Maia Neto *et al.*, 2008). Dada a raridade da presença de alcaloides no

gênero *Bauhinia* e pelo anteriormente descrito, pode considerar-se a vincosamida como marcador taxonômico da *P. thoningii* recolhida no Uíge.

### **3.2. Caraterização dos compostos isolados da *Phragmanthera glaucocarpa***

Os extratos de hexano, clorofórmio e acetato de etilo da raiz desta planta foram estudados contudo, não foram isolados compostos.

### **3.3. Caraterização dos compostos isolados da *Croton gratissimus***

Nesta parte do trabalho serão discutidos os compostos isolados (B) das cromatografias (Cro) encontrados na parte aérea da *Croton gratissimus*, cujas propriedades já foram descritas em capítulos anteriores.

#### **3.3.1. Compostos isolados na fração de hexano**

##### **3.3.1.1. B1 - Óxido de cariofileno**

Este composto foi obtido da fração 5 da cromatografia Cro4, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características da ligação =CH a  $3069\text{ cm}^{-1}$  e da ligação C=C a  $1678\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  evidenciou três sinais singuletos a  $\delta$  1,18 ppm;  $\delta$  0,99 e 0,97 ppm correspondentes aos grupos metilos da molécula (H-12; H-14 e H-15, respetivamente). Observou-se, também, um duplo duplete a  $\delta$  2,85 ppm ( $J = 10,6; 4,3\text{ Hz}$ ) atribuído ao protão H-5 e um duplo duplo tripleto a  $\delta$  2,23 ppm ( $J = 12,2; 8,3; 4,3\text{ Hz}$ ) atribuído ao protão H-6. Os sinais a  $\delta$  4,84 (d,  $J = 1,6\text{ Hz}$ ) e 4,96 ppm (sl) do H-13 indicam a presença de uma dupla ligação exocíclica na molécula (Ragasa *et al.*, 2003).

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.6) associado ao espectro DEPT apresentou quinze átomos de carbono, sendo três metílicos, seis metílicos (um  $\text{sp}^2$ ), três metínicos (um oximetino) e três carbonos quaternários (um  $\text{sp}^2$  e outro ligado a um oxigénio). Os sinais observados a  $\delta$  151,8 e 112,6 ppm correspondentes aos carbonos C-8 e C-13 são caraterísticos da dupla ligação exocíclica, assim como os sinais a  $\delta$  59,8 e 63,7 ppm, correspondentes aos carbonos C-4 e C-5, funcionalizados com oxigénio indicam a presença na molécula de um epóxido. Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e

em conjunto com a informação derivada da literatura (Ragasa *et al.*, 2003) chegou-se à conclusão que o composto B1 é o óxido de cariofileno (figura 3.6).

Tabela 3.6: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B1.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	50,7	CH	1,75 (t, $J = 9,9$ )	2, 3, 8, 9, 11, 14, 15
2	27,2	CH <sub>2</sub>	1,41 (m)	1, 3, 4, 9
			1,63 (m)	
3	39,1	CH <sub>2</sub>	0,95 (m)	-
			2,08 (m) <sup>*</sup>	
4	59,8	C	-	-
5	63,7	CH	2,85 (dd, $J = 10,6; 4,3$ )	3, 4, 6
6	30,2	CH <sub>2</sub>	1,30 (m)	3, 4, 5, 7, 8
			2,23 (ddt, $J = 12,2; 8,3; 4,3$ )	
7	29,8	CH <sub>2</sub>	2,10 (m) <sup>*</sup>	1, 2, 4, 5, 12
			2,32 (m)	
8	151,8	C	-	-
9	48,7	CH	2,15 (m)	1, 2, 7, 8, 10, 13
10	39,7	CH <sub>2</sub>	1,60 (m)	1, 8, 9, 11, 14, 15
			1,67 (m)	
11	33,9	C	-	-
12	17,0	CH <sub>3</sub>	1,18 (s)	3, 4, 5
13	112,6	CH <sub>2</sub>	4,84 (d, $J = 1,6$ )	7, 8, 9
			4,96 (sl)	
14	21,6	CH <sub>3</sub>	0,99 (s)	1, 10, 11, 15
15	29,9	CH <sub>3</sub>	0,97 (s)	1, 10, 11, 14

\*intercambiáveis

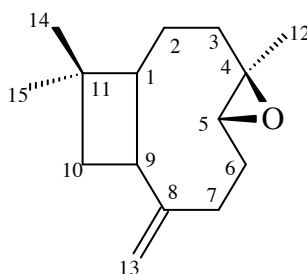


Figura 3.7: Estrutura do óxido de cariofileno.

Não foram encontradas referências de que o óxido de cariofileno tenha sido encontrado na *C. gratissimus*. No entanto, este composto pode ser encontrado no género *Croton* como, por exemplo, na composição dos óleos essenciais extraídos da casca do caule da *C. draco* (Setzer *et al.*, 2007) e da *C. sellowii* (Palmeira *et al.*, 2004), da raiz da *C. sellowii* (Palmeira *et al.*, 2004), e das folhas da *C. ovalifolius* (Meccia *et al.*, 2000).

### 3.3.1.2. B2a e B2b - 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol e 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol

Estes compostos foram identificados na mistura que se obteve nas frações 12 a 16, da cromatografia Cro5, sendo a mistura um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a 3435 cm<sup>-1</sup>, da ligação C=C a 1651 cm<sup>-1</sup>.

O espectro de RMN de <sup>1</sup>H (tabelas 3.7a e 3.7b; figura A5) sugere a presença de dois grupos metoxilo devido à existência de dois singuletos a  $\delta$  3,30 e 3,16 ppm, para além destes, encontram-se quatro metilos dupletos a  $\delta$  0,94; 0,93; 0,88 e 0,85 ppm (d,  $J = 6,9$  Hz, cada) e dois metilos singuleto a  $\delta$  0,70 e 0,64 ppm. Este espectro apresenta ainda dois sinais de dois hidrogénios geminais a grupos hidroxilo a  $\delta$  3,55 (m) e 3,39 ppm (dd,  $J = 11,5; 4,7$  Hz) além de dois sinais de dois hidrogénios bastante desblindados a  $\delta$  3,55 (m) e 2,72 ppm (dd,  $J = 8,1$  Hz;  $J = 3,6$  Hz). No espectro são ainda observados sinais de dois metilenos terminais a  $\delta$  4,94 ppm (q,  $J = 1,6$  Hz), 4,85 ppm (m), 4,83 ppm (m) e 4,77 (q,  $J = 1,8$  Hz).

O espectro de RMN de <sup>13</sup>C (tabelas 3.7a e 3.7b; figura A5) associado ao espectro DEPT (figura A6) aferiu 32 átomos de carbono sendo oito metilos (dois metoxilos), dez metilenos (dois metilenos terminais), dez metinos (quatro ligados a oxigénio) e quatro quaternários (dois olefínicos). Dos quatro metinos oxigenados dois encontram-se ligados aos dois metoxilos, assim sendo, os dois restantes devem estar ligados a dois hidroxilos. Confirma-se a presença das duas ligações duplas terminais pelos sinais de dois metilenos sp<sup>2</sup> a  $\delta$  109,0 e 107,4 ppm juntamente com os carbonos quaternários sp<sup>2</sup> a  $\delta$  146,0 e 144,6 ppm.

Uma análise mais superficial do espectro de RMN de <sup>13</sup>C parece indicar que estamos na presença de um triterpeno com dois grupos metoxilo como substituintes, mas uma análise mais cuidada do mesmo revela que esta amostra apresenta funcionalizações duplicadas: dois metilenos terminais, dois hidroxilos, dois metoxilos, dois metilos singuleto e quatro metilos duplete; esta última sai fora dos padrões normais dos esqueletos triterpenos em que geralmente apresentam mais metilos singuleto que metilos duplete. Pelo anteriormente indicado, chega-se à conclusão que muito provavelmente esta amostra contém dois isómeros, dois sesquiterpenos, cada um com um hidroxilo, um metoxilo, um metileno terminal, dois metilos duplete e um metilo singuleto.

Os espectros de RMN-2D HSQC (figura A7) e HMBC (figura A8) da mistura permitiram concluir que um dos compostos, a partir de agora designado B2a, apresentava três metilos [ $\delta$  0,64 (s, H-14), 0,94 e 0,88 ppm (d,  $J = 6,9$  Hz cada: H-13 e H-12);  $\delta$  12,2; 20,9; 16,2 ppm respetivamente], um metileno terminal [ $\delta$  4,85 (m) e 4,77 ppm (q,  $J = 1,8$  Hz; H-15);  $\delta$  107,4 e 146,0 ppm], um hidrogénio geminal a um grupo oxigenado a  $\delta$  3,55 ppm (m;  $\delta$  79,3 ppm; H-1) e um grupo metoxilo [ $\delta$  3,30 (s); 60,8 ppm; 7-OCH<sub>3</sub>] que são característicos de um esqueleto oppositano (Yang *et al.*, 2007). A presença do grupo isopropilo do esqueleto oppositano é revelada pela correlação entre os dois metilos duplete [0,94 e 0,88 ppm (d,  $J = 6,9$  Hz cada);  $\delta$  20,9; 16,2 ppm respetivamente] com o metino  $\delta$  31,2 ppm, sendo que este isopropilo se encontra ligado ao carbono que suporta o metoxilo como se conclui das correlações a três ligações entre os dois metilos do isopropilo e o C-7 (figura 3.8). O grupo

hidroxilo encontra-se ligado ao C-1 como revalam as correlações de HMBC do sinal a  $\delta$  3,55 ppm (H-1) com o Me-14 ( $\delta$  12,2 ppm) e o CH<sub>2</sub>-9 ( $\delta$  37,1 ppm).

Tabela 3.7a: Dados de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e correlações de HMBC do composto B2a.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{HH}$ in Hz)	HMBC
1	79,3	CH	3,55 (m)	9, 14
2	31,8	CH <sub>2</sub>	1,50 (m)	1, 3
3	39,1	CH <sub>2</sub>	2,29 (m)	1, 2, 4, 5, 15
4	146,0	C	-	-
5	55,3	CH	1,82 (m)	1, 3, 4, 6, 7, 10, 15
6	39,0	CH	2,38 (ddt, $J = 10,7; 5,5; 2,6$ )	5, 8, 11
7	91,5	CH	2,72 (dd, $J = 8,1; 3,6$ )	5, 6, 8, 11, 12,13, -OCH <sub>3</sub>
8	26,0	CH <sub>2</sub>	1,35 (m)	7,10,14
			1,85 (m)	
9	37,1	CH <sub>2</sub>	1,33 (m)	5, 6, 8, 10, 14
			1,69 (m)	
10	49,3	C	-	-
11	31,2	CH	1,74 (m)	6
12	16,2	CH <sub>3</sub>	0,88 (d, $J = 6,9$ )	7, 11, 13
13	20,9	CH <sub>3</sub>	0,94 (d, $J = 6,9$ )	7, 11, 12
14	12,2	CH <sub>3</sub>	0,64 (s)	1, 5, 9, 10
15	107,4	CH <sub>2</sub>	4,77 (q, $J = 1,8$ )	3, 5
			4,85 (m)	
-OCH <sub>3</sub>	60,8	CH <sub>3</sub>	3,30 (s)	7

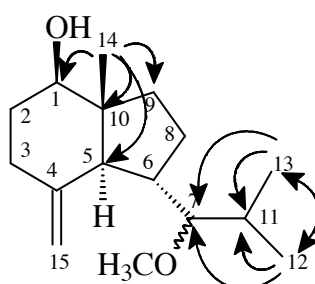


Figura 3.8: Correlações escolhidas de HMBC de B2a.

Com base nos dados dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HSQC, HMBC (figuras A7, A8) e em conjunto com a informação derivada da literatura (Yang *et al.*, 2007; Al-Rehaily *et al.*, 2002) chegou-se à conclusão que o composto B2a é o 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol (figura 3.9).

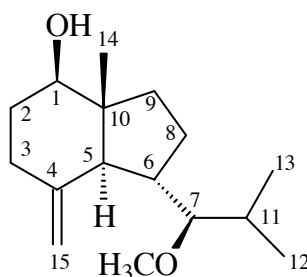


Figura 3.9: Estrutura do 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol (B2a).

Resta, assim, analisar o outro componente da mistura designado B2b o qual apresenta um perfil de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  com algumas semelhanças com B2a tendo três metilos [ $\delta$  0,70 (s, H-14), 0,93 e 0,85 ppm (d,  $J = 6,9$  Hz cada; H-13 e H-12);  $\delta$  11,7; 21,2; 16,0 ppm respetivamente], um metileno terminal [ $\delta$  4,94 (q,  $J = 1,6$  Hz) e 4,83 ppm (m, H-15);  $\delta$  109,0 e 144,6 ppm], um hidrogénio geminal a um grupo oxigenado a  $\delta$  3,39 ppm (dd;  $J = 11,5$  e 4,7;  $\delta$  79,4 ppm H-1) e um grupo metoxilo [ $\delta$  3,16 (s); 52,6 ppm; 6-OCH<sub>3</sub>]. No entanto, é no espectro de RMN-2D HMBC que se evidenciam as diferenças entre estes dois esqueletos, a diferença reside na posição dos carbonos 6 e 7, a presença do grupo isopropilo é revelada pela correlação entre os dois metilos duplete [ $\delta$  0,93 e 0,85 ppm (d,  $J = 6,9$  Hz cada);  $\delta$  21,2; 16,0 ppm respetivamente] com o metino  $\delta$  25,7 ppm mas, este grupo isopropilo apresenta correlação com um metino a  $\delta$  46,3 ppm e não apresenta correlação com o C-6 que suporta o grupo metoxilo (figura 3.10) ao contrário do que acontece no composto B2a. O grupo hidroxilo encontra-se ligado ao C-1 como revelam as correlações HMBC do sinal a  $\delta$  3,39 ppm (H-1) com o Me-14 ( $\delta$  11,7 ppm), CH<sub>2</sub>-9 ( $\delta$  36,3 ppm) e com o CH<sub>2</sub>-2 a  $\delta$  32,0 ppm.

Tabela 3.7b: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B2b.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	79,4	CH	3,39 (dd, $J = 11,5; 4,7$ )	2, 5, 9, 10, 14
2	32,0	CH <sub>2</sub>	1,82 (m)	1, 3, 4, 10, 14
3	35,1	CH <sub>2</sub>	2,05 (m)	2, 4, 5, 15
4	144,6	C	-	-
5	51,1	CH	1,89 (m)	1, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 15
6	74,8	CH	3,56 (m)	4, 5, 6, 11, -OCH <sub>3</sub>
7	46,3	CH	1,46 (m)	3, 7
8	18,4	CH <sub>2</sub>	1,20 (m) 1,53 (m) 1,85 (m)	1,6, 7, 9, 10
9	36,3	CH <sub>2</sub>	1,07 (m) 1,88 (m)	1, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14
10	42,1	C	-	-
11	25,7	CH	2,13 (m)	6, 8, 12, 13
12	16,0	CH <sub>3</sub>	0,85 (d, $J = 6,9$ )	7, 11, 13
13	21,2	CH <sub>3</sub>	0,93 (d, $J = 6,9$ )	7, 11, 12
14	11,7	CH <sub>3</sub>	0,70 (s)	1, 5, 9, 10
15	109,0	CH <sub>2</sub>	4,83 (m) 4,94 (q, $J = 1,6$ )	3, 4, 5
-OCH <sub>3</sub>	52,6	CH <sub>3</sub>	3,16 (s)	6

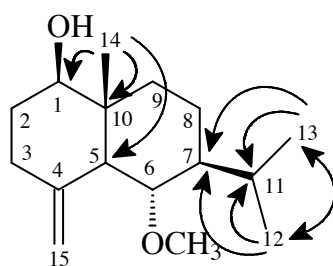


Figura 3.10: Correlações escolhidas de HMBC de B2b.

Assim sendo, os dois esqueletos são isômeros constitucionais diferindo na forma do anel B em que em B2a é um ciclopentano e em B2b é um ciclo-hexano, sendo que B2b apresenta um esqueleto eudesmano. Com base nos dados dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Itokawa *et al.*, 1983) chegou-se à conclusão que o composto B2b é o 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol (figura 3.11).

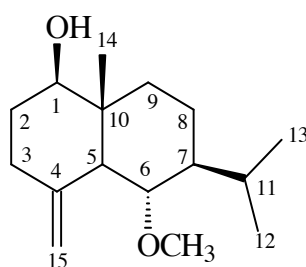


Figura 3.11: Estrutura do 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol (B2b).

Não foram encontradas referências de que os compostos 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol e 6 $\alpha$ -metoxi-eudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol tenha sido isolados na *C. gratissimus*. No entanto, há que salientar que foram isolados compostos com esqueleto do tipo eudesmano num estudo fitoquímico realizado para as folhas da *C. gratissimus* onde se isolou o eudesm-4(15)-en-1 $\beta$ ,6 $\alpha$ -diol (Langat *et al.*, 2011); quanto a esqueletos opositanos não há qualquer referência do seu isolamento no género *Croton*.

### 3.3.1.3. B3 - 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -ol

Este composto foi obtido na fração 8 da cromatografia Cro8, sendo um óleo incolor com  $[\alpha]_D^{20} = +25,0^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 0,08$ ) No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3419\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.9; figura A9) apresentou sinais de deslocamentos químicos de metilos singuleto a  $\delta$  0,99; 0,97 e 0,90 ppm (H-14, H-13 e H-15) e um metoxilo a  $\delta$  3,14 ppm. A  $\delta$  3,44 ppm encontra-se um tripleto largo ( $J = 3,2\text{ Hz}$ ) atribuível a um oximetino.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.9; figura A9) associado ao espectro DEPT (figura A10) verificou-se a presença de quinze átomos de carbono, sendo quatro metilos (um metoxilo), seis metilenos, três metinos (um ligado a hidroxilo) e três carbonos quaternários (um ligado a uma função oxigenada). Neste espectro verificou-se a presença dos sinais de um metoxilo a  $\delta$  50,1 ppm, um carbono quaternário a  $\delta$  75,3 ppm (C-1) que se encontrará ligado, provavelmente, ao metoxilo e um metino bastante desblindado a  $\delta$  72,4 ppm (C-9) provavelmente ligado ao grupo hidroxilo revelado no espectro de IV.

Tabela 3.8: Comparação dos valores de RMN de  $^{13}\text{C}$  do 1-metoxicariolan-9-ol.

Posição (C)	$\delta\text{ C}$ (ppm) $\beta$	$\delta\text{ C}$ (ppm) $\beta$ (Abraham <i>et al.</i> , 1990)	$\delta\text{ C}$ (ppm) $\alpha$ (Zhu <i>et al.</i> , 2008)
1	75,3	77,3	75,3
2	38,6	48,8	38,6
3	36,2	39,1	27,9
4	35,3	37,0	35,3
5	44,8	48,5	44,7
6	20,8	23,6	20,8
7	35,8	37,3	35,8
8	39,0	37,8	39,0
9	72,4	75,0	72,4
10	27,9	28,8	28,0
11	28,1	25,8	36,1
12	40,4	42,9	40,3
13	20,6	20,1	20,6
14	30,4	31,0	30,4
15	26,7	30,2	26,7
-OCH <sub>3</sub>	50,1	49,4	50,1

Por comparação dos dados obtidos do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  com os da literatura chegou-se à conclusão que o composto B3 era um derivado cariolano com o substituinte hidroxilo em  $\beta$ , no entanto comparando com os dados bibliográficos para o mesmo composto biosintetizado (Abraham *et al.*, 1990) verificaram-se discrepâncias que eram menores quando comparadas com o isômero  $\alpha$  (Zhu *et al.*, 2008). Assim, revelou-se necessário um estudo exaustivo de RMN 1D e 2D para elucidar a estrutura deste composto.

Tabela 3.9: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B3.

Posição (C)	$\delta\text{ C}$ (ppm)	Tipo de C	$\delta\text{ H}$ (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	75,3	C	-	-
2	38,6	CH	2,12 (ddd, $J = 12,2; 10,5$ )	3, 5, 6, 11
3	36,2	CH <sub>2</sub>	1,54 (m) 1,66 (dd, $J = 9,4; 7,5$ )	1, 2, 4, 5, 13, 14
4	35,3	C	-	-
5	44,8	CH	1,90 (m)	1, 4, 6, 7, 13, 14
6	20,8	CH <sub>2</sub>	1,34 (m) 1,50 (m)	1, 5, 7, 8, 15
7	35,8	CH <sub>2</sub>	1,13 (m) 1,40 (m)	1, 5, 6, 8, 9
8	39,0	C	-	-
9	72,4	CH	3,44 (tl, $J = 3,2$ )	7, 10, 11, 12, 15
10	27,9	CH <sub>2</sub>	1,77 (ddd, $J = 5,6; 3,4; 1,9$ ) 2,12 (dddd, $J = 14,4; 11,4; 5,6; 2,9$ )	1, 8, 9, 11
11	28,1	CH <sub>2</sub>	1,56 (m) 1,72 (m)	1, 2, 9, 10
12	40,4	CH <sub>2</sub>	1,38 (m) 1,50 (m)	1, 7, 8, 9, 11, 15
13	20,6	CH <sub>3</sub>	0,97 (s)	3, 4, 5, 14
14	30,4	CH <sub>3</sub>	0,99 (s)	3, 4, 5, 13
15	26,7	CH <sub>3</sub>	0,90 (s)	7, 8, 9, 12
-OCH <sub>3</sub>	50,1	CH <sub>3</sub>	3,14 (s)	1

O espectro de massa de alta resolução ESI-TOF apresentou um ião pseudomolecular a  $m/z$  221,18961 ( $[M - OCH_3]^+$ ,  $C_{15}H_{25}O$ , calc. 221,18999), este pseudo-ião molecular resulta da perda pela molécula de um grupo metoxilo assim sendo, deduz-se que a fórmula molecular do composto é  $C_{16}H_{28}O_2$ , apresentando três graus de insaturação que correspondem a 3 anéis da molécula uma vez que os espectros de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$  não apresentam evidência de qualquer outro tipo de insaturações.

Através do espectro bidimensional de correlação heteronuclear direta  $^1H$ - $^{13}C$  - HSQC (tabela 3.9; figura A11) verificou-se que os átomos de carbono a  $\delta$  20,6; 26,7 e 30,4 ppm apresentam correlações com os sinais singletos a  $\delta$  0,97; 0,90 e 0,99 ppm, respetivamente, indicando tratarem-se de três grupos metilo. Verifica-se que o metino a  $\delta$  72,4 ppm correlaciona com o tripleto aparente largo a  $\delta$  3,44 ppm colocando, assim o grupo hidroxilo sobre este carbono.

No espectro bidimensional de correlação heteronuclear  $^1H$ - $^{13}C$  a longa distância (HMBC) (tabela 3.9; figura A12) foi possível identificar a correlação a duas ligações dos dois metilos  $\delta$  0,99 e 0,97 ppm com o carbono quaternário a  $\delta$  35,3 ppm e as correlações a três ligações entre o metilo  $\delta$  0,99 ppm, e o carbono do metilo a  $\delta$  0,97 ppm ( $\delta$  20,6 ppm) e o metilo  $\delta$  0,97 ppm com o carbono do metilo  $\delta$  0,99 ppm ( $\delta$  30,4 ppm) (tabela 3.9) formando a seguinte subestrutura (figura 3.12):

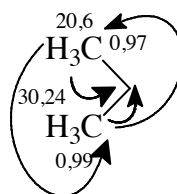


Figura 3.12: Correlações a longa distância HMBC dos metilos a  $\delta$  0,99 e 0,97 ppm.

A partir das correlações heteronucleares  $^1H$ - $^{13}C$  a longa distância (HMBC) a duas e três ligações dos metilos a  $\delta$  0,99 e 0,97 ppm obtém-se a seguinte subestrutura A (figura 3.13):

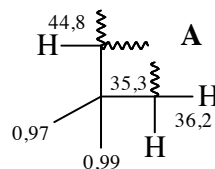


Figura 3.13: Representação da subestrutura A.

Se à subestrutura A se adicionar as correlações HMBC de  $^1H$  para  $^{13}C$  do metino a  $\delta$  44,8 ppm e do metileno a  $\delta$  36,2 ppm obtém-se a subestrutura B (figura 3.14):

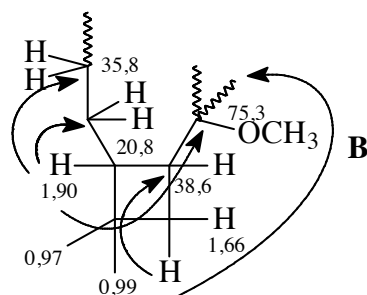


Figura 3.14: Representação da subestrutura B.

É possível visualizar outra parte da estrutura (figura 3.15) a partir das correlações heteronucleares  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a longa distância (HMBC) a duas e três ligações do metilo a  $\delta$  0,90 ppm (tabela 3.8):

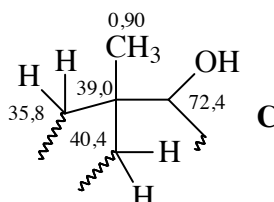


Figura 3.15: Representação da subestrutura C.

A subestrutura C pode ser expandida se se analisar as correlações de HMBC do metino a  $\delta$  3,44 ppm e dos hidrogénios do metileno a  $\delta$  40,4 ppm (tabela 3.8) obtendo-se a subestrutura D (figura 3.16):

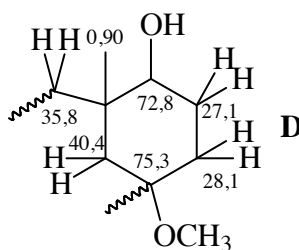


Figura 3.16: Representação da subestrutura D.

Comparando a subestrutura B com a subestrutura D verifica-se que têm dois carbonos em comum o metileno a  $\delta$  35,8 ppm e o carbono quaternário a  $\delta$  75,3 ppm. Isto indica que as duas subestruturas são aditivas formando a estrutura completa da molécula. (figura 3.17).

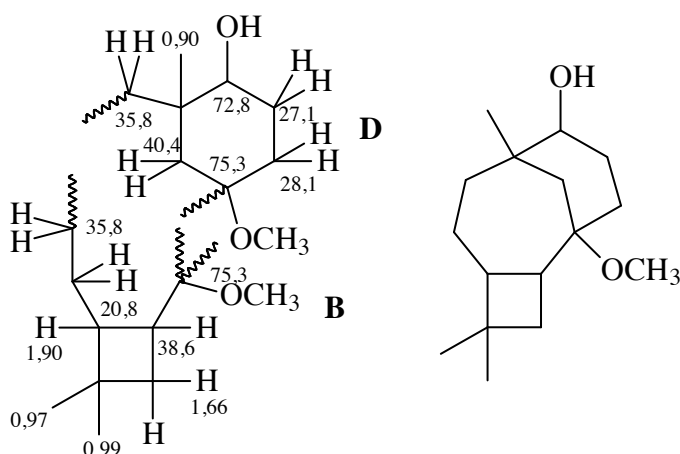


Figura 3.17: Formação da estrutura completa da molécula B3.

Verifica-se que a molécula apresenta três anéis como se previa pela sua fórmula molecular. Consultada a bibliografia concluiu-se que este esqueleto era um cariolano ou isocariolano (Zhu *et al.*, 2008; Heyman *et al.*, 1994a e 1994b).

O espectro de RMN bidimensional NOESY (figura A12) permitiu definir a estereoquímica do composto. Todos os cariolanos e isocariolanos apresentam uma estereoquímica  $\beta$  para o metilo 15 (Zhu *et al.*, 2008) então a correlação NOESY que se observa no espectro entre os hidrogénios do metilo 15 e H-12 definem que H-12 se encontra na face  $\beta$  da molécula pelo que a molécula é um cariolano (Zhu *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2013). As correlações de NOESY entre H-2/H-13 e H-5/H-14 determinam que o anel 4/7 é *trans*-fundido (Huang *et al.*, 2013). A orientação do grupo hidroxilo é definida pela ausência de correlação NOESY entre H-9/H-15, o que justifica que H-9 estará na face  $\alpha$  da molécula e consequentemente o grupo hidroxilo será  $\beta$  (Zhu *et al.*, 2008). Esta configuração  $\beta$  do OH é ainda reforçada pelo valor da constante de acoplamento do tripleto aparente do H-9 de 3,2 Hz por oposição às constantes de acoplamento do mesmo sinal na configuração  $\alpha$  que apresentam um duplo duplete com uma constante de acoplamento de 11,7 e 3,6 Hz (Zhu *et al.*, 2008). Quando o OH se encontra em  $\alpha$  existe um acoplamento axial-axial e um axial-equatorial entre H-9 e H-10 (dd;  $J = 11,7$  e 3,6 Hz) enquanto, que quando o OH se encontra em  $\beta$  a posição axial de H-10 está distorcida levando a uma configuração pseudo-equatorial destes dois hidrogénios em relação ao H-9 (t aparente,  $J = 3,2$  Hz). A estereoquímica do 1-OMe acompanha a estereoquímica do Me-15 como  $\beta$ , o que está de acordo com a literatura (Zhu *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2013).

Por tudo o acima descrito e consultada a literatura, verificou-se que este composto era o 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -ol (figura 3.18)

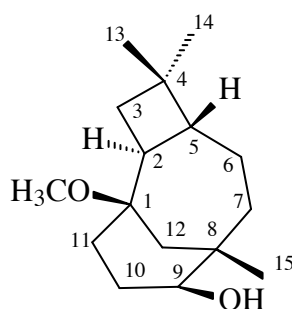


Figura 3.18: Estrutura do 18-metoxicariolan-9B-ol.

Até à data, não há qualquer referência na literatura de esqueletos do tipo cariolano para o género *Croton*. Assim, pode considerar-se este composto como marcador quimiotaxonómico da *C. gratissimus* Burch (Quiita).

#### 3.3.1.4. B4 - Ácido *ent*-kaur-16-en-19-óico

Este composto foi obtido da fração 16 a 18 da cromatografia Cro8, sendo um óleo incolor, com  $[\alpha]_D^{20} = -81,1^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 0,074$ ). No espectro de IV observam-se bandas características do grupo hidroxilo de ácido carboxílicos a  $3545\text{-}2556\text{ cm}^{-1}$ , da ligação  $=\text{CH}_2$  a  $3086\text{ cm}^{-1}$ , da ligação  $\text{C}=\text{C}$  a  $1657\text{ cm}^{-1}$ , da ligação  $\text{C}=\text{O}$  de ácidos carboxílicos a  $1692\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  revelou dois metilos singuletos a  $\delta$  1,23 e 0,94 ppm correspondendo aos prótons H-18 e H-20, respetivamente, dois singuletos largos a  $\delta$  4,79 e 4,73 ppm (H-17), que segundo a literatura (Henriete *et al.*, 2002) são atribuídos aos dois hidrogénios da ligação dupla exocíclica localizada entre H-16 e H-17.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.10) associado ao espectro DEPT apresentou vinte átomos de carbono, sendo dois metilos, dez metilenos (um olefínico), três metinos e cinco quaternários (um olefínico e um carboxílico). A presença de três carbonos quaternários a  $\delta$  44,2 (C-8); 43,7 (C-4) e 39,7 ppm (C-10), três metinos a  $\delta$  57,1 (C-5); 55,1 (C-9) e 43,8 ppm (C-13) associada à presença de unicamente dois metilos a  $\delta$  29,0 (C-18) e 15,6 ppm (C-20) parece apontar para um esqueleto kaurano (Velandia *et al.*, 1998). A hipótese de um esqueleto kaurano é reforçada pela presença na molécula de uma dupla ligação exocíclica [( $\delta$  155,9 (C-16); 103,1 ppm (C-17)] e de um ácido carboxílico [( $\delta$  184,8 ppm (C-19)] que se devem originar a partir dos dois metilos em falta neste esqueleto, este tipo de funcionalizações é muito característicos deste esqueleto.

Tabela 3.10: Dados do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de B4 comparados com a literatura (Henriete *et al.*, 2002).

Posição (C)	Tipo de C	$\delta$ C (ppm)	$\delta$ C (ppm) literatura
1	CH <sub>2</sub>	40,7	40,7
2	CH <sub>2</sub>	19,1	19,1
3	CH <sub>2</sub>	37,8	37,8
4	C	43,7	43,7
5	CH	57,1	57,1
6	CH <sub>2</sub>	21,8	21,8
7	CH <sub>2</sub>	41,3	41,3
8	C	44,2	44,2
9	CH	55,1	55,1
10	C	39,7	39,7
11	CH <sub>2</sub>	18,4	18,4
12	CH <sub>2</sub>	33,1	33,1
13	CH	43,8	43,8
14	CH <sub>2</sub>	39,7	39,7
15	CH <sub>2</sub>	49,0	48,9
16	C	155,9	155,9
17	CH <sub>2</sub>	103,1	102,9
18	CH <sub>3</sub>	29,0	28,9
19	C	184,8	184,3
20	CH <sub>3</sub>	15,6	15,6

O composto apresenta um perfil de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  idêntico ao de um ácido kaur-16-enóico em que o grupo ácido carboxílico poderá situar-se no C-18 ou C-19. Para definir a sua posição terá de se verificar o desvio químico do metilo adjacente e do metino C-5; quando o composto é um C-18 óico o metilo adjacente apresenta um desvio químico de  $\delta$  17,8 ppm e o C-5 um  $\delta$  50,0 ppm; quando o grupo ácido carboxílico se encontra em C-19 o metilo tem um valor de  $\delta$  29,0 ppm e o C-5 um valor de  $\delta$  57,2 ppm. Uma vez que o metilo deste composto tem um valor de  $\delta$  29,0 e o metino  $\delta$  57,1 ppm conclui-se que o composto isolado é um ácido kaur-16-en-19-óico. (Silva *et al.*, 2012; Rahman e Ahmad, 1992). Uma vez que a atividade ótica do composto é negativa isso significa que ele pertence à serie *ent* do kaurano (Silva *et al.*, 2012) pelo que será um *ent* kaurano.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e em conjunto com a informação derivada da literatura (Henriete *et al.*, 2002) chegou-se à conclusão que o composto B4 é o ácido *ent*-kaur-16-en-19-óico (figura 3.19).

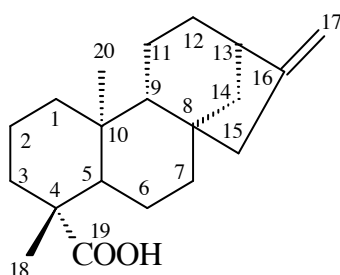


Figura 3.19: Estrutura do ácido *ent*-kaur-16-en-19-óico.

Não foram encontradas referências de que o ácido *ent*-kaur-16-en-19-óico tenha sido isolado na *C. gratissimus*. No entanto, há que salientar que os compostos com esqueleto do tipo kaurano são muito comuns no género *Croton* (Salatino *et al.*, 2007). De acordo com a literatura, pode verificar-se que este composto já foi isolado na casca do caule da *C. pseudopulchellus* (Langat *et al.*, 2012).

#### 3.3.1.5. B5 - Ácido *cis*-óxico

Este composto foi obtido da fração 37 a 38 da cromatografia Cro9, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidróxilo de ácidos carboxílicos a  $3549\text{-}2650\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=C a  $1643\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=O de ácidos carboxílicos a  $1702\text{ cm}^{-1}$ .

No espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.11) foi possível observar dois sinais dupletos a  $\delta$  4,82 ppm ( $J = 1,6\text{ Hz}$ ); 4,49 ppm ( $J = 1,6\text{ Hz}$ ) correspondentes ao protão H-17 característicos de uma dupla ligação exocíclica, do duplo duplete a  $\delta$  6,78 ppm ( $J = 17,3; 10,8\text{ Hz}$ ) e os duplo duplete a  $\delta$  5,17 ppm ( $J = 17,3; 1,6\text{ Hz}$ ) e a  $\delta$  5,08 ppm ( $J = 10,8; 1,7\text{ Hz}$ ), correspondentes aos protões H-15 e H-14, que são típicos de diterpenos do tipo labdano com uma ligação dupla terminal na cadeia lateral (Liu *et al.*, 2011); o tripleto a 5,29 ppm é característico de outra ligação dupla. O composto apresenta, ainda, sinais de dois metilos singuletos a  $\delta$  1,15 ppm e 0,75 e de um metilo duplete a  $\delta$  1,76 ( $J = 1,4\text{ Hz}$ ) que se deve encontrar sobre ligação dupla.

No espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.11) foi possível observar a presença de vinte carbonos, sendo três metilos, oito metilenos (dois terminais), quatro metinos (dois  $\text{sp}^2$ ) e cinco quaternários (dois  $\text{sp}^2$  e um carboxílico). Os deslocamentos químicos dos três metilos [ $\delta$  19,7 (C-16); 16,1 (C-19) e 14,7 ppm (C-20)] os dois metinos [ $\delta$  57,3 (C-9) e 49,4 (C-5) ppm] e os carbonos quaternários a  $\delta$  47,5 (C-4) e 38,9 ppm (C-10) em conjunto com o metileno terminal a  $\delta$  108,3 ppm (C-17) e o ácido carboxílico a  $\delta$  184,3 ppm (C-18) parecem estabelecer a existência de dois anéis A e B fundidos numa decalina do tipo labdano, em que dois dos metilos foram transformados num ácido carboxílico e numa ligação dupla exocíclica (Stipanovic *et al.*, 1979). A cadeia lateral deste labdano apresenta mais duas ligações duplas a  $\delta$  133,8 (C-14); 131,8 (C-13); 131,3 (C-12) e 113,3 (C-15) ppm, sendo que o metilo 16

apresenta valores compatíveis com um posicionamento sobre uma das ligações duplas ( $\delta$  1,76 ppm;  $\delta$  19,7 ppm).

Tabela 3.11: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B5.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	38,1	CH <sub>2</sub>	1,81 (m)	4, 5, 8, 10, 20
2	18,4	CH <sub>2</sub>	1,60 (m)	1
3	37,1	CH <sub>2</sub>	1,62 (m) 1,78 (m)	1, 4, 5
4	47,5	C	-	-
5	49,4	CH	1,98 (dd, $J = 12,4; 2,9$ )	1, 4, 6, 9, 10, 18, 19, 20
6	26,6	CH <sub>2</sub>	1,34 (m) 1,47 (qd, $J = 12,9; 4,5$ )	1, 4, 5
7	37,6	CH <sub>2</sub>	2,06 (td, $J = 13,5; 13,1; 5,6$ ) 2,34 (m)	5, 6, 8, 9, 17
8	147,8	C	-	-
9	57,3	CH	1,81 (m)	5, 8, 10, 12, 17, 20
10	38,9	C	-	-
11	21,9	CH <sub>2</sub>	2,18 (m) 2,40 (ddd, $J = 14,8; 7,3; 3,4$ );	8, 9, 12, 13
12	131,3	CH	5,29 (t, $J = 6,8$ )	9, 14, 16
13	131,8	C	-	-
14	133,8	CH	6,78 (dd, $J = 17,3; 10,8$ )	13, 16
15	113,3	CH <sub>2</sub>	5,08 (dd, $J = 10,8; 1,7$ ) 5,17 (dd, $J = 17,3; 1,6$ )	13, 14
16	19,7	CH <sub>3</sub>	1,76 (d, $J = 1,4$ )	12, 13, 14
17	108,3	CH <sub>2</sub>	4,49 (d, $J = 1,6$ ) 4,82 (d, $J = 1,6$ )	7, 8, 9
18	184,3	C	-	-
19	16,1	CH <sub>3</sub>	1,15 (s)	3, 4, 5, 18
20	14,7	CH <sub>3</sub>	0,75 (s)	5, 9, 10

Na literatura encontram-se descritos dois tipos de labdanos com estas características: os ácidos comunicos (Barrero *et al.*, 2012; Stipanovic *et al.*, 1979) e os ácidos ózicos (Stipanovic *et al.*, 1979). Até agora, dependendo da posição das ligações duplas na cadeia lateral foram isolados cinco ácidos comunicos (Barrero *et al.*, 2012) e dois ácidos ózicos (Stipanovic *et al.*, 1979), a diferença entre estes dois tipos de ácidos reside na posição do ácido carboxílico. Nos ácidos comunicos o grupo ácido carboxílico encontra-se em C-19 enquanto, que nos ózicos se encontram em C-18. A presença do grupo ácido carboxílico em C-18 ou C-19 pode ser atribuída pelo valor do metilo geminal a este grupo; se este grupo se encontra em C-18 o metilo 19 terá um valor perto de  $\delta$  16,6 ppm, se pelo contrário se encontra em C-19 o metilo 18 terá um valor de aproximadamente  $\delta$  29 ppm (Stipanovic *et al.*, 1979). Uma vez que o desvio químico do metilo geminal ao ácido carboxílico é de 16,1 ppm pode concluir-se que este composto é um ácido ózico (Stipanovic *et al.*, 1979).

Conhecem-se dois ácidos ózicos o *cis* e o *trans*, que diferem unicamente na forma de substituição da ligação dupla em C-12, 13. Em termos de desvio químico a diferença entre os dois reside nos valores de C-12, 13, 14 e 15. No *cis* estes carbonos encontram-se em torno de

$\delta$  131,2; 131,6; 133,8 e 113,1 ppm (C-12,13,14 e 15, respetivamente) e para o *trans*  $\delta$  113,4; 133,4; 141,5 e 109,7 ppm (C-12,13,14 e 15, respetivamente) (Barrero *et al.*, 2012; Stipanovic *et al.*, 1979). Comparando estes valores de desvio químico com os do composto isolado, conclui-se que o B5 é um *cis*.

Com base nos valores dos espetros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Barrero *et al.*, 2012; Stipanovic *et al.*, 1979) chegou-se à conclusão que o composto B5 é o ácido labda-8(17),12(Z),14-trien-18-óico (figura 3.20) conhecido com ácido *cis*-óxico.

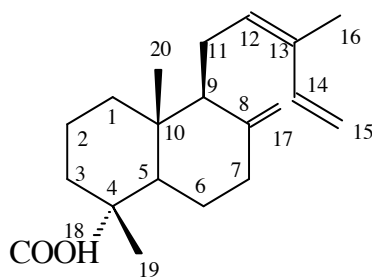


Figura 3.20: Estrutura do ácido *cis*-óxico.

Não foram encontradas referências de que o ácido *cis*-óxico tenha sido isolado na *C. gratissimus*. No entanto, é de referir que os compostos com esqueleto do tipo labdano são muito comuns no género *Croton* (Salatino *et al.*, 2007) e tem aumentado o interesse nestes compostos, neste género, devido às suas propriedades citotóxicas, anti-HIV-1 e antitumorais (Ngadjui *et al.*, 2002).

#### 3.3.1.6. B6 - Espatulanol

Este composto foi obtido na fração 8 da cromatografia Cro8, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3408\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=C a  $1634\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.12) revelou absorções de três metilos singuletos a  $\delta$  1,04; 1,03; 1,27 ppm, em que este último é geminal a uma função oxigenada, e dois singuletos de uma ligação dupla exocíclica a  $\delta$  4,68 e 4,65 ppm, correspondentes aos prótons H-12, H-13, H-14 e H-15, respetivamente. Os sinais a  $\delta$  0,46 ppm (dd,  $J = 11,3$  e  $9,5$  Hz) e a  $\delta$  0,70 ppm (ddd,  $J = 11,3$ ;  $9,4$ ;  $6,1$  Hz), correspondentes aos prótons H-6 e H-7, respetivamente, são característicos de um anel ciclopropano (Meira *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2003).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.12) foi possível observar a presença de quinze átomos de carbonos, sendo três metilos (um geminal a uma função oxigenada), cinco metilenos (um de uma ligação dupla), quatro metinos e três quaternários (um de uma ligação dupla). O sinal a  $\delta$  81,0 ppm (C-4) foi atribuído ao carbono quaternário ligado ao oxigénio. Os

sinais a  $\delta$  153,4 e 106,3 ppm, correspondentes aos carbonos C-10 e C-15 são características da dupla ligação exocíclica. Pode-se concluir a partir do número de carbonos do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  e da informação retirada do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  que este composto é um sesquiterpeno com um anel ciclopropano o que aponta para a existência de um esqueleto aromadendrano (Meira *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2003) com um grupo hidroxilo e uma ligação dupla exocíclica.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Ragasa *et al.*, 2003; Meira *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2003) chegou-se à conclusão que o composto B6 é o espatulenol (figura 3.21).

Tabela 3.12: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B6.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	53,2	CH	2,19 (td, $J = 14,4; 5,8$ )	5, 6, 10, 15
2	26,7	CH <sub>2</sub>	1,61 (m) 1,91 (m)	1, 3, 4, 5, 10
3	41,8	CH <sub>2</sub>	1,57(m) 1,76 (m)	1, 2, 4
4	81,0	C	-	-
5	54,4	CH	1,30 (m)	1, 4, 6,10, 11
6	29,9	CH	0,46 (dd, $J = 11,3; 9,5$ )	4, 8, 11, 12
7	27,5	CH	0,70 (ddd, $J = 11,3; 9,4; 6,1$ )	11, 12
8	24,8	CH <sub>2</sub>	1,00 (m) 1,97 (m)	6, 7, 9, 10
9	38,9	CH <sub>2</sub>	2,03 (m) 2,41 (dd, $J = 13,3; 6,2$ )	1, 7, 8, 10, 15
10	153,4	C	-	-
11	20,3	C	-	-
12	28,7	CH <sub>3</sub>	1,04 (s)	6, 7, 11, 13
13	16,4	CH <sub>3</sub>	1,03 (s)	6, 7, 11
14	26,1	CH <sub>3</sub>	1,27 (s)	3, 4, 5
15	106,3	CH <sub>2</sub>	4,65 (s) 4,68 (s)	1, 9

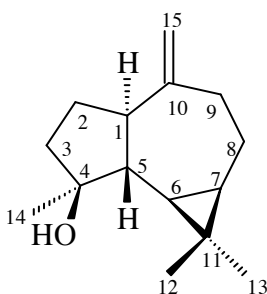


Figura 3.21: Estrutura do espatulenol.

Não foram encontradas referências de que o espatulenol tenha sido isolado na *C. gratissimus*. No entanto, este composto foi isolado em várias espécies do género *Croton* como nos óleos essenciais das folhas *C. gossypifolius* (Suárez *et al.*, 2011), *C. hirtius* (Lima *et al.*, 2012), *C. matourensis* (Compagnone *et al.*, 2010) e *C. heterocalyx* (Moreno *et al.*, 2009).

### 3.3.1.7. B7 - Lupeol

Este composto foi obtido na fração 26 da cromatografia Cro13, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3404\text{ cm}^{-1}$ , da ligação  $=\text{CH}_2$  a  $3076\text{ cm}^{-1}$ , da ligação  $\text{C}=\text{C}$  a  $1641\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.13) revelou um duplete e um duplo quarteto a  $\delta$  4,68 ( $J = 2,4\text{ Hz}$ ) e 4,55 ppm ( $J = 2,7; 1,4\text{ Hz}$ ) em H-29, característicos de hidrogénios olefínicos e o sinal duplo duplete a  $\delta$  3,18 ( $J = 11,2; 5,1\text{ Hz}$ ) referente a um hidrogénio geminal ao grupo hidroxilo correspondente a H-3. O espetro revela ainda sinais de sete metilos singuletos a  $\delta$  1,67; 1,02; 0,95; 0,93; 0,82; 0,78 e 0,75 ppm, correspondem aos prótons H-30, H-26, H-23, H-27, H-25, H-28 e H-24, respetivamente.

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.13) permitiu comprovar a natureza triterpenica desta substância através da presença de trinta sinais de carbono, sendo sete metilos (um sobre ligação dupla), onze metilenos (um  $\text{sp}^2$ ), seis metinos (um ligado a oxigénio) e seis quaternários (um  $\text{sp}^2$ ). Entre os sinais observados, destacam-se os sinais a  $\delta$  109,3 ppm (C-29) e a  $\delta$  150,9 ppm (C-20), que são característicos dos carbonos olefínicos dos triterpenos com esqueleto lupano (Souza *et al.*, 2001), bem como o sinal a  $\delta$  79,0 ppm, característico do carbono oximetínico C-3, e os metilos a  $\delta$  28,0; 19,3; 18,0; 16,1; 16,0; 15,3 e 14,5 ppm, correspondentes aos carbonos C-23, C-30, C-28, C-25, C-26, C-24 e C-27.

Com base nos valores dos espetros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Souza *et al.*, 2001) chegou-se à conclusão que o composto B7 é o lupeol (figura 3.22).

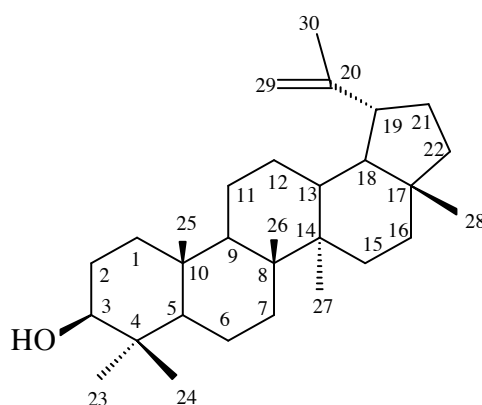


Figura 3.22: Estrutura do lupeol.

Tabela 3.13: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B7.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	38,7	CH <sub>2</sub>	0,89 (m) 1,66 (m)	3, 5, 10, 25
2	27,4	CH <sub>2</sub>	0,99 (m) 1,36 (m)	23, 25
3	79,0	CH	3,18 (dd, $J = 11,2; 5,1$ )	4, 23, 24
4	38,0	C	-	-
5	55,3	CH	0,69 (m)	1, 10, 25
6	18,3	CH <sub>2</sub>	1,38 (m) 1,51 (m)	23, 25
7	34,2	CH <sub>2</sub>	1,37 (m) 2,29 (m)	-
8	40,8	C	-	-
9	50,4	CH	1,26 (m)	25
10	37,1	C	-	-
11	20,9	CH <sub>2</sub>	1,25 (m) 1,40 (m)	-
12	25,1	CH <sub>2</sub>	1,04 (m) 1,64 (m)	-
13	38,0	CH	1,63 (m)	14, 19
14	42,8	C	-	-
15	27,4	CH <sub>2</sub>	1,58 (m) 1,66 (m)	13, 14, 27
16	35,6	CH <sub>2</sub>	1,47 (m) 1,67 (m)	17, 18
17	43,0	C	-	-
18	48,3	CH	1,35 (m)	16, 22
19	48,0	CH	2,37 (td, $J = 11,0; 6,0$ )	13, 18, 20, 21, 29, 30
20	150,9	C	-	-
21	29,8	CH <sub>2</sub>	1,90 (m)	-
22	40,0	CH <sub>2</sub>	1,18 (m) 1,35 (m)	17, 21, 28
23	28,0	CH <sub>3</sub>	0,95 (s)	3, 4, 5, 24
24	15,3	CH <sub>3</sub>	0,75 (s)	3, 4, 5, 23
25	16,1	CH <sub>3</sub>	0,82 (s)	-
26	16,0	CH <sub>3</sub>	1,02 (s)	7, 8, 9, 14
27	14,5	CH <sub>3</sub>	0,93 (s)	8, 13, 14, 15
28	18,0	CH <sub>3</sub>	0,78 (s)	16, 17, 18, 22
29	109,3	CH <sub>2</sub>	4,55 (dq, $J = 2,7; 1,4$ ) 4,68 (d, $J = 2,4$ )	19, 30
30	19,3	CH <sub>3</sub>	1,67 (sl)	19, 20, 29

Através da revisão da literatura verificou-se que este composto já foi isolado nas folhas da *C. gratissimus* (Langat *et al.*, 2011), daí não ser uma surpresa o facto de estar presente na parte aérea desta planta. O lupeol foi, também, encontrado em várias espécies do género *Croton*, como por exemplo na composição química das folhas da *C. heterocalyx* (Moreno *et al.*, 2009).

## 3.3.1.8. B8 - Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1B-ol

Este composto foi obtido na fração 38 a 42 da cromatografia Cro16, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3412\text{ cm}^{-1}$ , das ligações =CH a  $3086\text{ cm}^{-1}$ , das ligações C=C a  $1671\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.14) revelou dois metilos dupletos a  $\delta$  0,89 ( $J = 6,8$  Hz) e 0,81 ppm ( $J = 6,8$  Hz) em H-12 e H-13, respetivamente, correspondentes a um grupo isopropilo. Observou-se, ainda, um hidrogénio geminal a oxigénio como duplo duplo a  $\delta$  3,76 ppm ( $J = 11,8; 4,0$  Hz), dois protões olefínicos, um duplo a  $\delta$  5,98 ppm ( $J = 15,8$  Hz) e um duplo duplo a  $\delta$  5,42 ppm ( $J = 15,8; 10,3$  Hz) que apresentam uma constante de acoplamento de  $J = 15,8$  Hz indicando que são protões olefínicos *trans* vicinais, correspondentes a H-5 e H-6, respetivamente. Os sinais do singuleto largo a  $\delta$  5,26 ppm e do duplo a  $\delta$  4,98 ppm ( $J = 2,0$  Hz), correspondem a uma dupla ligação exocíclica atribuível aos protões em H-14 e os singuletos largos a  $\delta$  4,91 e 4,83 ppm correspondem aos protões H-15 de outra dupla ligação exocíclica.

Tabela 3.14: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B8.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	76,0	CH	3,76 (dd, $J = 11,8; 4,0$ )	3, 9, 10, 14
2	36,2	CH <sub>2</sub>	1,69 (m) 2,03 (m)	1, 3, 4, 5, 9, 10
3	29,9	CH <sub>2</sub>	2,19 (ddd, $J = 13,0; 5,6; 2,7$ ) 2,42 (td, $J = 13,0; 4,9$ )	1, 2, 4, 5, 15
4	146,8	C	-	-
5	129,7	CH	5,98 (d, $J = 15,8$ )	2, 3, 4, 7, 8, 15
6	138,0	CH	5,42 (dd, $J = 15,8; 10,3$ )	4, 7, 8, 11, 15
7	52,5	CH	1,79 (m)	5, 6, 8, 11, 12, 13
8	36,2	CH <sub>2</sub>	1,63 (m) 2,04 (m)	1, 5, 6, 7, 9, 10, 14
9	34,5	CH <sub>2</sub>	1,63 (m) 2,61 (m)	1, 6, 7, 8, 10, 14
10	153,5	C	-	-
11	31,8	CH	1,47 (dt, $J = 13,6; 6,8$ )	6, 7, 8, 12, 13
12	20,7*	CH <sub>3</sub>	0,89 (d, $J = 6,8$ )	7, 11, 13
13	20,5*	CH <sub>3</sub>	0,81 (d, $J = 6,8$ )	7, 11, 12
14	110,6	CH <sub>2</sub>	4,98 (d, $J = 2,0$ ) 5,26 (sl)	1, 9, 10
15	112,9	CH <sub>2</sub>	4,83 (s) 4,91 (sl)	2, 3, 4, 5

\*intercambiáveis

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.14) permitiu comprovar a presença de quinze sinais de carbono, sendo dois metilos, seis metilenos (dois  $\text{sp}^2$ ), cinco metinos (dois  $\text{sp}^2$  e um geminal a um hidroxilo) e dois quaternários  $\text{sp}^2$ . Neste espetro foi possível, também, observar os carbonos olefínicos a  $\delta$  153,5; 146,8; 138,0; 129,7; 112,9 e 110,6 ppm, correspondendo aos carbonos C-10, C-4, C-6, C-5, C-15 e C-14. Observou-se um carbono

oxigenado a  $\delta$  76,0 ppm correspondente ao carbono C-1. A ausência de carbonos quaternários  $sp^3$  indica que este sesquiterpeno será do tipo macrocíclico em que dois dos metilos se transformaram em ligações duplas exocíclicas e os outros dois metilos, que apresentam correlação HMBC a duas ligações com o metino a  $\delta$  31,8 ppm constituem um grupo isopropilo (Brown *et al.*, 2003; Kwon *et al.*, 2001), já anteriormente referenciado no espectro de RMN de  $^1H$ .

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$ ,  $^1H$ - $^1H$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Brown *et al.*, 2003; Kwon *et al.*, 2001) chegou-se à conclusão que o composto B8 é o germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol (figura 3.23).

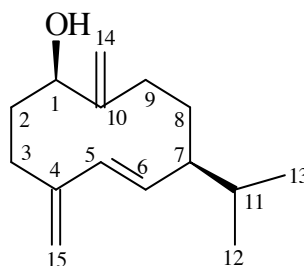


Figura 3.23: Estrutura do germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol.

Não foram encontradas referências de que o germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol tenha sido encontrado na *C. gratissimus*. Um composto relativamente semelhante já foi isolado na casca da raiz da *C. pseudopulchellus*, composto este denominado por germacra-4(15)-5,10(14)-trien-9 $\beta$ -ol, em que a diferença reside apenas na posição do grupo hidroxilo (Langat *et al.*, 2012).

#### 3.3.1.9. B9 - $\beta$ -Sitosterol

Este composto foi obtido na fração 46 a 52 da cromatografia Cro16, sendo um óleo incolor. Os espectros de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  são iguais aos do composto A1 isolado na *P. thonningii* pelo que se considerou que B9 é o  $\beta$ -sitosterol. O  $\beta$ -sitosterol é um composto muito comum em plantas, foi isolado nas folhas da *C. zambesicus* (Block *et al.*, 2004), sinónimo de *C. gratissimus*. No entanto, também pode ser encontrado em várias espécies do género *Croton* como, por exemplo, na parte aérea da *C. draco* (Murillo *et al.*, 2001).

3.3.1.10. B10 - *ent*-Kaur-16-en-19-ol

Este composto foi obtido da fração 30 a 31 da cromatografia Cro17, sendo um óleo incolor com  $[\alpha]_D^{20} = -31,3^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ,  $c = 0,064$ ). No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3373 \text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  revelou dois metilos singletos a  $\delta$  1,00 e 0,95 ppm correspondendo aos prótons H-18 e H-20, dois singletos largos a  $\delta$  4,78 e 4,72 ppm, de dois hidrogénios da ligação dupla exocíclica (Henriete *et al.*, 2002) e dois sinais de hidrogénios geminais a oxigénio um duplo duplete a  $\delta$  3,44 ppm ( $J = 11,0; 1,2 \text{ Hz}$ ) e um duplete a  $\delta$  3,73 ppm ( $J = 11,0 \text{ Hz}$ ).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.15) associado ao espectro DEPT apresentou vinte átomos de carbono, sendo dois metilos, onze metilenos (um  $\text{sp}^2$  e um geminal a um grupo hidroxilo), três metinos e quatro quaternários (um  $\text{sp}^2$ ). Os dois espectros de RMN são muito semelhantes aos do composto B4 exceto em relação à ausência do grupo ácido carboxílico e o aparecimento de um metileno oxigenado, a comparação entre os espectros dos dois compostos revela a substituição do grupo ácido carboxílico por um grupo hidroxilo em C-19.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e em conjunto com a informação derivada da literatura (Henriete *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2012; Rahman e Ahmad, 1992) chegou-se à conclusão que o composto B10 é o *ent*-kaur-16-en-19-ol (figura 3.24).

Tabela 3.15: Dados do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de B10 comparados com a literatura (Henriete *et al.*, 2002).

Posição (C)	Tipo de C	$\delta$ C (ppm)	$\delta$ C (ppm) literatura
1	CH <sub>2</sub>	40,5	40,8
2	CH <sub>2</sub>	18,3	18,3
3	CH <sub>2</sub>	35,6	35,8
4	C	38,7	38,7
5	CH	56,8	56,9
6	CH <sub>2</sub>	20,5	21,6
7	CH <sub>2</sub>	41,6	41,4
8	C	44,2	44,2
9	CH	56,2	56,3
10	C	39,2	39,3
11	CH <sub>2</sub>	18,2	18,2
12	CH <sub>2</sub>	33,2	33,3
13	CH	44,0	44,0
14	CH <sub>2</sub>	39,7	39,7
15	CH <sub>2</sub>	49,1	49,3
16	C	156,1	155,6
17	CH <sub>2</sub>	103,1	102,9
18	CH <sub>3</sub>	27,1	27,1
19	CH <sub>2</sub>	65,6	65,6
20	CH <sub>3</sub>	18,1	18,1

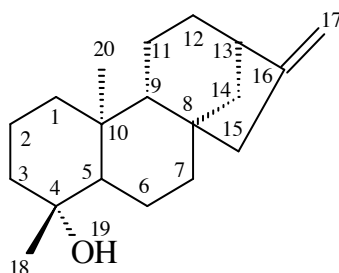


Figura 3.24: Estrutura do *ent*-kaur-16-en-19-ol.

Não foram encontradas referências de que o *ent*-kaur-16-en-19-ol tenha sido isolado na *C. gratissimus*. Não entanto, como referido anteriormente, há que salientar que os compostos com esqueleto do tipo kaurano são muito comuns no género *Croton* (Salatino *et al.*, 2007).

#### 3.3.1.11. B11 - 7 $\delta$ -Metoxiopposit-4(15)-en-18-ol

Este composto foi obtido das frações 31 a 35 das cromatografias Cro19, sendo um óleo incolor.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabelas 3.16; figura A13) sugere a presença de um grupo metoxilo pelo singuleto a  $\delta$  3,30 ppm, apresenta ainda dois metilos dupletos a  $\delta$  0,95 e 0,88 ppm (d,  $J = 6,8$  Hz, cada), correspondentes a H-13 e H-12, respetivamente e um metilo singuleto a  $\delta$  0,64 ppm (H-14). Este espectro apresenta, também, um sinal de um hidrogénio geminal a um grupo hidroxilo a  $\delta$  3,56 ppm (dd,  $J = 11,9; 4,9$  Hz), correspondente a H-1. Neste espectro são ainda observados sinais de dois protões de um metileno terminal a  $\delta$  4,85 ppm e 4,77 (q,  $J = 1,8$  Hz, cada), correspondentes a H-15.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabelas 3.16; figura A13) associado ao espectro DEPT (figura A14) aferiu 16 átomos de carbono sendo quatro metilos (um metoxilo), cinco metilenos (um metileno terminal), cinco metinos (dois ligados a oxigénio) e dois quaternários (um olefínico).

Os espectros de RMN-2D, HSQC (figura A15) e HMBC (figura A16) do composto permitiram concluir que este composto apresentava três metilos [ $\delta$  0,64 (s, H-14), 0,95 e 0,88 ppm (d,  $J = 6,8$  Hz cada: H-13 e H-12);  $\delta$  12,3; 21,0; 16,3 ppm, respetivamente], um metileno terminal [ $\delta$  4,85 (q,  $J = 1,8$  Hz; H-15) e 4,77 ppm (q,  $J = 1,8$  Hz; H-15);  $\delta$  107,4 e 146,0 ppm], um hidrogénio geminal a um grupo oxigenado a  $\delta$  3,56 ppm (dd,  $J = 11,9; 4,9$  Hz;  $\delta$  79,3 ppm; H-1) e um grupo metoxilo [ $\delta$  3,30 (s); 60,8 ppm; 7-OCH<sub>3</sub>] que são característicos de um esqueleto oppositano (Yang *et al.*, 2007). A presença do grupo isopropilo do esqueleto oppositano é revelada pela correlação de HMBC entre os dois metilos duplete [0,95 e 0,88 ppm (d,  $J = 6,8$  Hz cada);  $\delta$  21,0; 16,3 ppm, respetivamente] com o metino  $\delta$  31,3 ppm sendo que este isopropilo se encontra ligado ao carbono que suporta o metoxilo como se conclui das correlações a três ligações entre os dois metilos do isopropilo e o C-7 (tabela 3.16). O grupo

hidroxilo encontra-se ligado ao C-1 como revalam as correlações de HMBC do sinal a  $\delta$  3,56 ppm (H-1) com o Me-14 ( $\delta$  12,3 ppm), CH<sub>2</sub>-9 ( $\delta$  37,1 ppm) e CH<sub>2</sub>-2 ( $\delta$  31,9 ppm).

Tabela 3.16: Dados de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e correlações de HMBC do composto B11.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{HH}$ in Hz)	HMBC
1	79,3	CH	3,56 (dd, $J = 11,9; 4,0$ )	2, 5, 9, 10, 14
2	31,9	CH <sub>2</sub>	1,24 (m) 1,48 (m)	1, 3
3	34,9	CH <sub>2</sub>	2,04 (td, $J = 13,7; 5,6$ ) 2,30 (ddd, $J = 13,7; 5,4; 2,0$ )	1, 2, 4, 5, 15
4	146,0	C	-	-
5	55,3	CH	1,82 (m)	1, 3, 4, 6, 7, 10, 14, 15
6	39,0	CH	2,38 (m)	5, 7
7	91,5	CH	2,77 (dd, $J = 8,1; 3,6$ )	5, 6, 8, 11, 12,13, -OCH <sub>3</sub>
8	26,1	CH <sub>2</sub>	1,35 (m) 1,85 (m)	6, 7, 9, 10
9	37,1	CH <sub>2</sub>	1,33 (m) 1,69 (m)	5, 6, 8, 14
10	49,3	C	-	-
11	31,3	CH	1,74 (m)	6, 7
12	16,3	CH <sub>3</sub>	0,88 (d, $J = 6,8$ )	7, 11, 13
13	21,0	CH <sub>3</sub>	0,95 (d, $J = 6,8$ )	7, 11, 12
14	12,3	CH <sub>3</sub>	0,64 (s)	1, 5, 9, 10
15	107,4	CH <sub>2</sub>	4,77 (q, $J = 1,8$ ) 4,85 (q, $J = 1,8$ )	3, 4, 5
-OCH <sub>3</sub>	60,8	CH <sub>3</sub>	3,30 (s)	7

Com base nos dados dos espectros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HSQC, HMBC (figuras A15 e A16) e em conjunto com a informação derivada da literatura (Yang *et al.*, 2007; Al-Rehaily *et al.*, 2002) chegou-se à conclusão que o composto B11 é o 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol (figura 3.25).

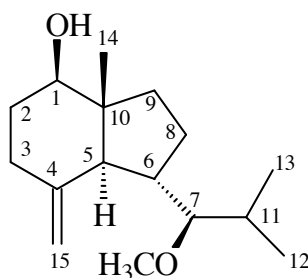


Figura 3.25: Estrutura do 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol.

Este composto já tinha sido identificado numa mistura (B2a). Como foi referido anteriormente não existem referências na bibliografia sobre a presença de opositanos no género *Croton*. Por outro lado, a ocorrência de opositanos em plantas é extremamente rara pelo que este composto é um bom marcador taxonómico da *C. gratissimus* (Quiita).

3.3.1.12. B12 - Ácido 15-metoxi-*neo*-clerodan-3,13-dien-15, 16-olida-18-óico

Este composto foi obtido da fração 17 a 19 da cromatografia Cro21 como uma mistura epimérica em que alguns dos sinais aparecem duplicados nos espectros de RMN, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo de um ácido carboxílico a  $3586-2500\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=O de uma  $\gamma$ -lactona a  $1770\text{ cm}^{-1}$  de um ácido carboxílico  $\alpha,\beta$ -insaturado a  $1686\text{ cm}^{-1}$  e de ligação C=C a  $1636\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.17) indicou a presença de dois tripletos largos a  $\delta$  6,75 e 5,71 ( $J = 1,4\text{ Hz}$ ) ppm que podem corresponder aos prótons H-14 e H-15 de uma lactona  $\alpha,\beta$  insaturada C-13/C-16 (Krishna *et al.*, 1999). Observaram-se, também, dois metilos singuletos a  $\delta$  1,23 e 0,75 ppm e um metilo duplete a 0,80 ( $J = 6,1\text{ Hz}$ ), correspondentes aos hidrogênios H-19 e H-20 e H-17 que são característicos de um anel A/B *trans* fundido de um esqueleto do tipo clerodano (Santos *et al.*, 2007; Krishna *et al.*, 1999) e, ainda, um tripleto largo a 6,83 ppm ( $J = 2,2\text{ Hz}$ ) de um metino olefínico e um metilo singuleto a  $\delta$  3,55/3,56 ppm, característico da presença de um grupo metoxilo.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.17) associado ao espectro DEPT apresentou vinte e seis sinais correspondentes a vinte e um átomos de carbono de dois epímeros, sendo cinco metilos (dois metoxilos epiméricos), oito metilenos (dois epiméricos), sete metinos (quatro  $\text{sp}^2$  epiméricos, um ligado a metoxilo) e seis quaternários (dois de ligação dupla, um de uma lactona e um de um ácido carboxílico). Entre os sinais observados a  $\delta$  46,7; 38,8; 37,6 e 36,3 ppm correspondentes aos carbonos C-10, C-9, C-5 e C-8, respectivamente, são compatíveis com o esqueleto diterpeno do tipo clerodano (Santos *et al.*, 2007). A correlação de HMBC do sinal a  $\delta$  3,55 ppm com  $\delta$  102,5 ppm coloca esta substituição em C-15. Os sinais a 139,3 ppm (C-13), 141,2/141,3 ppm (C-14), 102,5 ppm (C-15), 171,4 ppm (C-16) e do metoxilo a 57,0/57,1 ppm, obtida pelas correlações de HMBC observadas para os sinais a 6,75 ppm (H-14) e 5,71 ppm (H-15) confirmam a presença de um substituinte metoxi-lactona com um substituinte  $\alpha$ -alquila (Krishna *et al.*, 1999; Omosa *et al.*, 2010); a presença de dois sinais de metoxilo 57,0/57,1 ppm confirma a existência de uma mistura epimérica (Omosa *et al.*, 2010).

Segundo a literatura, em diterpenos clerodanos quando C-17 e C-20 estão em configuração *cis*, o deslocamento químico de C-20 é  $\delta \approx 18,0\text{ ppm}$ , enquanto, que, na configuração *trans* toma o valor de  $\delta \approx 26,0\text{ ppm}$  (Santos *et al.*, 2007; Omosa *et al.*, 2010; Krishna *et al.*, 1999); Como o sinal observado para C-20 neste espectro foi de  $\delta 18,2\text{ ppm}$  confirma-se uma configuração *cis* entre C-20 e C-17, pelo que se trata de um *neo*-clerodano.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}-^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Sing *et al.*, 1988; Krishna *et al.*, 1999; Omosa *et al.*, 2010) chegou-se à conclusão que o composto B12 é o ácido 15-metoxi-*neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olida-18-óico (figura 3.26).

Tabela 3.17: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B12.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	17,4	CH <sub>2</sub>	1,45 (m) 1,65 (m)	3, 5, 9, 10
2	27,4	CH <sub>2</sub>	2,29 (m)	1, 4, 10
3	140,2/140,3*	CH	6,83 (tl, $J = 2,2$ )	1, 2, 4, 5, 18
4	144,2	C	-	-
5	37,6	C	-	-
6	35,7	CH <sub>2</sub>	1,12 (m) 2,42 (m)	4, 7, 8, 10, 19
7	27,2	CH <sub>2</sub>	1,41 (m)	5
8	36,3	CH	1,51 (m)	6, 10, 12
9	38,8	C	-	-
10	46,7	CH	1,31 (dl, $J = 11,8$ )	2, 4, 5, 8, 9, 19, 20
11	35,7/35,8*	CH <sub>2</sub>	1,62 (m)	8, 9
12	19,0	CH <sub>2</sub>	2,04 (m) 2,19 (m)	11, 16
13	139,3	C	-	-
14	141,2/141,3*	CH	6,75 (tl)	12, 13, 15, 16
15	102,5	CH	5,71 (tl)	13, 16, -OCH <sub>3</sub>
16	171,4	C	-	-
17	15,9	CH <sub>3</sub>	0,80 (d, $J = 6,1$ )	7, 8, 9
18	172,0	C	-	-
19	20,5	CH <sub>3</sub>	1,23 (s)	4, 5, 10
20	18,2	CH <sub>3</sub>	0,75 (s)	9, 10, 11
-OCH <sub>3</sub>	57,0/57,1*	CH <sub>3</sub>	3,55 (s) 3,56 (s);	15

\*duplicação de sinal devido à presença de dois epímeros.

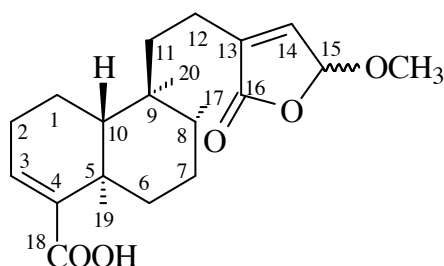


Figura 3.26: Estrutura do ácido 15-metoxi-*neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olida-18-óico.

Não foram encontradas referências de que o ácido 15-metoxi-*neo*-cleroda-3,13-dien-15,16-olida-18-óico tenha sido isolado na *C. gratisissimus*. No entanto, os compostos com esqueleto do tipo clerodano são muito comuns no género *Croton* (Salatino *et al.*, 2007) e tem aumentado o interesse em compostos com este tipo de esqueleto neste género *Croton* devido às suas propriedades citotóxicas, anti-HIV-1 e antitumorais (Ngadjui *et al.*, 2002).

### 3.3.2. Compostos isolados na fração de clorofórmio

#### 3.3.2.1. B13 - 6 $\alpha$ -Metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol

Este composto foi obtido da fração 10 a 12 da cromatografia Cro23, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a 3433  $\text{cm}^{-1}$ , da ligação C=O a 1770  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabelas 3.18; figura A17) sugere a presença de um grupo metoxilo pela presença de um singuleto a  $\delta$  3,17 ppm além dos sinais de dois dupletos a  $\delta$  0,94 e 0,86 ppm (d,  $J = 7,0$  Hz, cada), correspondentes a H-13 e H-12, respetivamente, e um metilo singuleto a  $\delta$  0,71 ppm (H-14). Este espectro apresenta ainda um sinal de um hidrogénio geminal a um grupo hidroxilo a  $\delta$  3,40 ppm (dd,  $J = 11,7; 4,7$  Hz), correspondente a H-1. Neste espectro são ainda observados sinais de dois hidrogénios de um metileno terminal a  $\delta$  4,95 ppm (q,  $J = 1,6$  Hz) e 4,85 (d,  $J = 2,5$  Hz), correspondentes a H-15. Este espectro é semelhante ao do composto anteriormente identificado numa mistura, o composto B2b.

Tabela 3.18: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B13.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	79,5	CH	3,40 (dd, $J = 11,7; 4,7$ )	9, 14
2	32,1	CH <sub>2</sub>	1,50 (m) 1,83 (m)	1, 3, 10,
3	35,1	CH <sub>2</sub>	2,07 (dl, $J = 5,1$ ) 2,29 (ddd, $J = 13,2; 5,1; 2,3$ )	2, 4, 15
4	144,6	C	-	-
5	51,2	CH	1,90 (m)	4, 6, 7, 10, 14, 15
6	74,9	CH	3,55 (t, $J = 10,6$ )	5, 7, OCH <sub>3</sub>
7	46,3	CH	1,48 (m)	6
8	18,4	CH <sub>2</sub>	1,54 (m)	7, 9, 10
9	36,3	CH <sub>2</sub>	1,08 (td, $J = 12,9$ ) 1,89 (m)	1, 5, 6, 8, 10, 14
10	42,0	C	-	-
11	25,7	CH	2,12 (m)	12, 13
12	15,9	CH <sub>3</sub>	0,86 (d, $J = 7,0$ )	7, 11, 13
13	21,1	CH <sub>3</sub>	0,94 (d, $J = 7,0$ )	7, 11, 12
14	11,7	CH <sub>3</sub>	0,71 (s)	1, 5, 9, 10
15	109,0	CH <sub>2</sub>	4,85 (d, $J = 2,5$ ) 4,95 (q, $J = 1,6$ )	3, 5
-OCH <sub>3</sub>	52,6	CH <sub>3</sub>	3,17 (s)	7

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabelas 3.18; figura A17) associado ao espectro DEPT (figura A18) aferiu dezasseis átomos de carbono sendo quatro metilos (um metoxilo), cinco metilenos (um metileno terminal), cinco metinos (dois ligados ao oxigénio) e dois quaternários (um olefínico).

Os espectros de RMN-2D HSQC (figura A19) e HMBC (figura A20) do composto permitiram concluir que este composto apresentava três metilos [ $\delta$  0,71 (s, H-14), 0,94 e 0,86 ppm (d,  $J = 7,0$  Hz cada: H-13 e H-12);  $\delta$  11,7; 21,1; 15,9 ppm respetivamente], um metileno

terminal [ $\delta$  4,95 (sl; H-15) e 4,85 ppm (sl; H-15);  $\delta$  109,0 e 144,6 ppm], um hidrogénio geminal a um grupo oxigenado a  $\delta$  3,40 ppm (dd,  $J = 11,7; 4,7$  Hz;  $\delta$  79,5 ppm; H-1) e um grupo metoxilo [ $\delta$  3,17 (s); 52,6 ppm]. Observou-se que existia uma correlação entre os dois metilos duplete [ $\delta$  0,94 e 0,86 ppm (d,  $J = 7,0$  Hz cada);  $\delta$  21,1; 15,9 ppm respetivamente] com o metino  $\delta$  25,7 ppm (C-11) e com o metino a  $\delta$  46,3 ppm (C-7) e não apresenta correlação com o C-6 que suporta o grupo metoxilo (tabela 3.18) o que é característico de um esqueleto eudesmano. O grupo hidroxilo encontra-se ligado ao C-1 como revalam as correlações de HMBC do sinal a  $\delta$  3,40 ppm (H-1) com o Me-14 ( $\delta$  11,7 ppm) e CH<sub>2</sub>-9 ( $\delta$  36,3 ppm).

Com base nos dados dos espetros de RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY, HSQC, HMBC (figuras A19 e A20) e em conjunto com a informação derivada da literatura (Itokawa *et al.*, 1983) chegou-se à conclusão que o composto B13 é o 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol (figura 3.27).

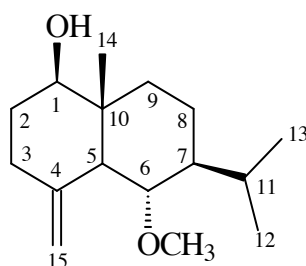


Figura 3.27: Estrutura do 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol.

Este composto já tinha sido identificado na mistura (B2). Um outro eudesmano foi já isolado na *C. gratissimus*, o 6 $\alpha$ -eudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -diol (Langat *et al.*, 2011).

### 3.3.3. Compostos isolados na fração de acetato de etilo

#### 3.3.3.1. B14 -Sacarose

Este composto foi obtido da fração 5 a 7 da cromatografia Cro26, sendo um sólido amorfo. No espectro de IV observam-se absorções características de grupos hidroxilo a 3287 cm<sup>-1</sup>.

O espetro de RMN de <sup>1</sup>H (tabela 3.19) verificou-se a presença de sinais entre  $\delta$  4,18 a 3,36 ppm, na região característica dos açúcares pelo que é uma indicação que a molécula deverá ser um açúcar (Moccelini *et al.*, 2009). A presença de um protão anomérico duplete a  $\delta$  5,40 ppm ( $J = 3,8$  Hz) correspondente a H-1 e um duplo duplete a  $\delta$  3,43 ppm ( $J = 9,8$  Hz; 3,8 Hz) correspondente a H-2. Observaram-se, ainda, sinais de dois dupletos a  $\delta$  3,66 e 3,61 ppm ( $J = 12,2$  Hz cd) e um duplete a 4,18 ppm ( $J = 8,2$  Hz).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.19) associado ao espectro DEPT apresentou doze átomos de carbono, sendo três metilenos (três oximetilenos), oito metinos e um quaternário. Neste espectro foi possível observar os sinais a  $\delta$  93,6 ppm (C-1) de um carbono anomérico que é típico de um açúcar terminal (reductor), que neste caso é devido à constante de acoplamento de  $J = 3,8$  Hz, confirma a presença da  $\alpha$ -D-glucose (Agrawal, 1992). O sinal a  $\delta$  105,3 ppm (C-2') de um carbono quaternário é característico de um resíduo  $\beta$ -D-frutose (Agrawal, 1992) indica que o dissacarídeo é a sacarose na forma  $\alpha$ -D-glucopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranosídeo.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Nakano *et al.*, 1986) confirmou-se que o B14 é o  $\alpha$ -D-glucopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranosídeo ou dissacarídeo sacarose. (figura 3.28).

Tabela 3.19: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B14.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	93,6	CH	5,40 (d, $J = 3,8$ )	2, 3, 5, 2'
2	73,2	CH	3,43 (dd, $J = 9,8; 3,8$ )	3, 4
3	74,4	CH	3,83 (m)	4
4	71,3	CH	3,36 (t, $J = 9,5$ )	3, 5, 6
5	74,6	CH	3,71 (m)	1, 4
6	62,2	CH <sub>2</sub>	3,71 (m)	4
			3,81 (m)	
1'	64,0	CH <sub>2</sub>	3,61 (d, $J = 12,2$ ) 3,66 (d, $J = 12,2$ )	2', 3'
2'	105,3	C	-	-
3'	79,3	CH	4,18 (d, $J = 8,2$ )	4'
4'	75,7	CH	4,02 (m)	3', 5'
5'	83,8	CH	3,76 (m)	2', 4'
6'	63,4	CH <sub>2</sub>	3,76 (m)	.

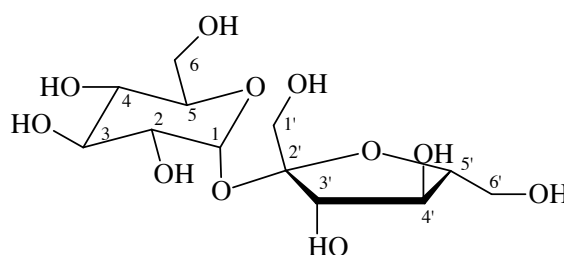


Figura 3.28: Estrutura da sacarose na forma  $\alpha$ -D-glucopiranosil- $\beta$ -D-frutofuranosídeo.

Não foram encontradas referências de que a sacarose tenha sido isolada na *C. gratissimus* ou mesmo no género *Croton*. Contudo, não se pode ignorar o facto de as plantas produzirem metabolitos primários, pelo que não é de estranhar o isolamento da sacarose nesta planta.

3.3.3.2. B15 - *trans*-4-Hidroxi-*N*-metilprolina

Este composto foi obtido da fração 4 da cromatografia Cro27, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características de grupos hidroxilo a  $3405\text{ cm}^{-1}$ , de C=O de ácidos carboxílicos a  $1625\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.20; figura A21) apresenta um triplo tripleto a  $\delta$  4,50 ppm ( $J = 4,6; 2,2\text{ Hz}$ ) de um hidrogénio geminal a grupo hidroxilo e um metilo ligado a nitrogénio a  $\delta$  3,02 ppm.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.20; figura A21) associado ao espectro DEPT (figura A22) apresentou seis átomos de carbono, sendo um metilo (ligado a nitrogénio) dois metilenos (um ligado a nitrogénio), dois metinos (um ligado a um grupo hidroxilo) e um quaternário (de um ácido carboxílico). Neste espectro foi possível observar os sinais a  $\delta$  172,8 ppm de um ácido carboxílico, a  $\delta$  44,0 ppm do metilo a  $\delta$  3,02 ppm, que apresentava correlações de HMBC com o metino a 71,9 ppm (4,07; dd;  $J = 10,8; 7,4$ ; C-2) e o metileno a 64,2 ppm [3,09 (dt,  $J = 12,6; 2,0$ ) e 3,84 (dd,  $J = 12,5; 4,6$ ); C-5], a presença de um oximetino a 70,9 ppm e um outro metileno menos desblindado a 40,3 ppm apontam para a estrutura de uma prolina *N*-metilada (Moustapha *et al.*, 2011). A posição do ácido carboxílico como substituinte em C-2 foi confirmada pelas correlações de HMBC de H-2 com 2-COOH.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC (figuras A23 e A24) e em conjunto com a informação derivada da literatura (Moustapha *et al.*, 2011) confirmou-se que o B15 *trans*-4-hidroxi-*N*-metilprolina (figura 3.29).

Tabela 3.20: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto B15.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	-	-	-	-
2	71,9	CH	4,07 (dd, $J = 10,8; 7,4$ )	3, N-CH <sub>3</sub> , 2-COOH
3	40,3	CH <sub>2</sub>	2,17 (ddd, $J = 13,8; 10,8; J = 4,8$ ) 2,47 (ddt, $J = 13,8; J = 2,0$ )	2, 4, 5, 2-COOH
4	70,9	CH	4,50 (tt, $J = 4,6; 2,2$ )	2, 5
5	64,2	CH <sub>2</sub>	3,09 (dt, $J = 12,6; 2,0$ ) 3,84 (dd, $J = 12,5; 4,6$ )	3, 4, N-CH <sub>3</sub>
2-COOH	172,8	C	-	-
N-CH <sub>3</sub>	44,0	CH <sub>3</sub>	3,02 (s)	2, 5

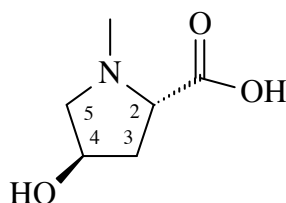


Figura 3.29: Estrutura da *trans*-4-hidroxi-*N*-metilprolina

Não foram encontradas referências de que a *trans*-4-Hidroxi-*N*-metilprolina tenha sido isolada na *C. gratissimus* ou mesmo no género *Croton*.

### 3.4. Caracterização dos compostos isolados da *Peltophorum africanum*

Nesta parte do trabalho serão discutidos os compostos isolados (C) das cromatografias (Pel) encontrados na parte aérea da *Peltophorum africanum*, cujas propriedades já foram descritas em capítulos anteriores.

#### 3.4.1. Compostos isolados na fração de hexano

##### 3.4.1.1. C1 - Lupeol

Este composto foi obtido da fração 22 a 24 da cromatografia Pel4, sendo um óleo incolor. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  são semelhantes a B7 que foi anteriormente isolado na *C. gratissimus* (B7) pelo que a sua caracterização química remete a 3.3.7.

Não foram encontradas referências de que o lupeol tenha sido isolado quer na *P. africanum* quer no género *Peltophorum*.

#### 3.4.2. Compostos isolados na fração de clorofórmio

##### 3.4.2.1. C2 - Mallanósido A

Este composto foi obtido da fração 11 a 12 da cromatografia Pel6, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3385\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=O a  $1698\text{ cm}^{-1}$ , da ligação C=C a  $1608$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.21; figura A25) apresenta um singuleto a  $\delta$  7,09 ppm (H-6), sugerindo a presença de um anel aromático penta-substituído (Kiem *et al.*, 2010) e um grupo metoxilo a  $\delta$  3,91 ppm (s). O duplete observado a  $\delta$  4,96 ppm (H-1'), que apresenta uma constante de acoplamento de 10,5 Hz indica-nos que estamos perante uma estrutura C-glucopiranosil (El-Sayed *et al.*, 2006), que pode ser confirmada através da presença do oximetileno a  $\delta$  4,02 ppm e 3,69 ppm correspondente a H-6', assim como os oximetinos que se encontram no intervalo 4,96 a 3,44 ppm (Kiem *et al.*, 2010).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.21; figura A25) associado ao espectro DEPT (figura A26) apresentou catorze átomos de carbono, sendo um metilo de (um metoxilo), um oximetileno, seis metinos (três oximetinos e um aromático) seis quaternários (um carboxilo e cinco aromáticos). A presença de um anel aromático penta-substituído é confirmada pela presença dos sinais a  $\delta$  153,3; 149,4; 142,2; 119,4; 117,3 e 111,0 ppm. O metoxilo a  $\delta$  60,9 ppm ( $\delta$  3,91 ppm) encontra-se como substituinte de C-4 o que se confirma pela correlação de HMBC do sinal a  $\delta$  3,91 ppm com o C-4. O substituinte ácido carboxílico encontra-se ligado ao C-1 como indica a correlação de HMBC entre o H-6 e o carbono a  $\delta$  165,8 ppm.

Através do espectro de HMBC (figura A27) foi possível observar as correlações existentes entre o singuleto  $\delta$  4,96 ppm (H-1') e os sinais  $\delta$  149,4; 119,4 e 117,3 ppm correspondentes a C-3, C-2 e C-1, respetivamente, o que confirma a presença de uma ligação C-B-glucopiranosilo com o anel aromático. Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC (figuras A26 e A27) e em conjunto com a informação derivada da literatura (Kiem *et al.*, 2010) chegou-se à conclusão que o C2 é o ácido 3,5-di-hidroxi-4-metoxi-2-C-B-D-glucopiranosilbenzóico, ao qual foi atribuído o nome de mallonanósido A. (figura 3.30).

Tabela 3.21: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto C2.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	119,4	C	-	-
2	117,3	C	-	-
3	149,4	C	-	-
4	142,2	C	-	-
5	152,3	C	-	-
6	111,0	CH	7,09 (s)	1, 2, 4, 5, 1-COOH
1'	74,2	CH	4,96 (d, $J = 10,5$ )	1, 2, 3, 2', 3', 5'
2'	81,4	CH	4,07 (dd, $J = 10,5; 9,5$ )	2, 1', 3'
3'	75,6	CH	3,85 (m)	2', 4'
4'	71,8	CH	3,44 (tl, $J = 9,1$ )	3', 5', 6'
5'	83,0	CH	3,67 (m)	1', 3', 4', 6'
6'	62,8	CH <sub>2</sub>	3,69 (m) 4,02 (m)	4', 5'
1-COOH	165,8	C	-	-
4-OCH <sub>3</sub>	60,9	CH <sub>3</sub>	3,91 (s)	4

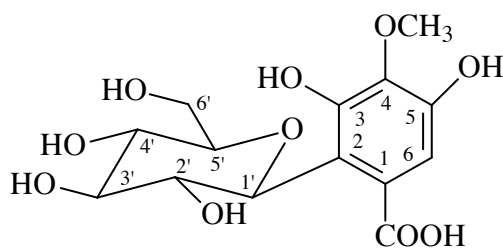


Figura 3.30: Estrutura do mallanósido A.

Não foram encontradas referências de que o mallonanósido A tenha sido encontrado na *P. africanum* nem no género *Pheltophorum*. Esta é unicamente a segunda vez que este composto é isolado, dado que a primeira vez foi encontrado no extrato metanólico obtido das folhas da *Mallotus nanus* (Kiem *et al.*, 2010), pelo que a *P. africanum* constitui a segunda fonte conhecida deste composto raro.

### 3.5. Caracterização dos compostos isolados da *Gymnosporia senegalensis*

Nesta parte do trabalho serão discutidos os compostos isolados (D) das cromatografias (Gym) encontrados na parte aérea da *Gymnosporia senegalensis*, cujas propriedades já foram descritas em capítulos anteriores.

#### 3.5.1. Compostos isolados no extrato de metanol

##### 3.5.1.1. D1 - $\beta$ -Sitosterol

Este composto foi obtido da fração 25 a 28 da cromatografia Gym3, sendo um óleo incolor. Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  são iguais aos do composto A1 isolado na *P. thonningii* pelo que se considerou que D1 é o  $\beta$ -sitosterol. Este composto foi anteriormente isolado na raiz da *Maytenus senegalensis* (Sosa *et al.*, 2005), sinónimo de *Gymnosporia senegalensis*.

##### 3.5.1.2. D2 - 3 $\beta$ -Hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona

Este composto foi obtido da fração 20 da cromatografia Gym5, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a  $3459\text{ cm}^{-1}$  e da ligação C=O a  $1704\text{ cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.22) revelou um duplo duplete de um oximetino a  $\delta$  3,18 ( $J = 11,3\text{ Hz}$ ;  $J = 4,9\text{ Hz}$ ) referente ao hidrogénio H-3, sinal característico de um triterpeno com substituição em 3 $\beta$ -OH (Araújo e Chaves, 2005). Foi possível observar, também, um triplo duplete a  $\delta$  2,56 ppm ( $J = 11,3\text{ Hz}$ ;  $J = 5,9\text{ Hz}$ ), correspondente ao próton H-19, a desblindagem deste sinal será devida à proximidade ao carbonilo. Observaram-se ainda, metilos singletos a  $\delta$  2,14; 1,00; 0,95; 0,95; 0,81; 0,76 e 0,75 ppm, correspondem aos prótons H-29, H-26, H-23, H-27, H-25, H-28 e H-24, respetivamente.

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.22) associado ao espectro DEPT revela a presença de vinte e nove átomos de carbono, sendo sete metilos (um ligado a um carbonilo), dez metilenos, seis metinos (um ligado a um hidroxilo) e seis quaternários (um de um carboxilo). Entre os sinais observados, destacam-se os sinais a  $\delta$  78,9 ppm (C-3) correspondente ao carbono oximetínico e o sinal a  $\delta$  212,9 ppm (C-20) que sugere a presença de um carbonilo característico de esqueletos do tipo lupano (Araújo e Chaves, 2005). É também possível verificar o desaparecimento do metilo 30 e o aparecimento de um grupo carbonilo no C-20 o que implica que esta estrutura será de um *nor*-lupano. Através do espectro de HMBC foi possível observar as seguintes correlações: do triplo duplete a  $\delta$  2,56 ppm (H-19) com  $\delta$  221,9 ppm (C-20) e a  $\delta$  27,6 ppm (C-21), assim como o tripleto a  $\delta$  1,80 ppm (C-18) que correlaciona com C-19, C-20 e C-28. A posição do grupo hidroxilo foi confirmada pelas

correlações de HMBC entre  $\delta$  3,18 ppm (H-3) com  $\delta$  38,9; 28,0; 15,4 ppm (C-4, C-23 e C-24 respetivamente).

Com base nos valores dos espetros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação retirada da literatura (Ali *et al.*, 2005; Araújo e Chaves, 2005) chegou-se à conclusão que o composto D2 é o 3 $\beta$ -hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona (figura 3.31).

**Tabela 3.22:** Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto D2.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	38,7	CH <sub>2</sub>	0,88 (m) 1,63 (m)	-
2	27,2*	CH <sub>2</sub>	-	-
3	78,9	CH	3,18 (dd, $J = 11,3; 4,9$ )	4, 23, 24
4	38,9	C	-	-
5	55,3	CH	0,68 (m)	6, 24, 25
6	18,3	CH <sub>2</sub>	1,38 (m)	5, 9
7	34,2	CH <sub>2</sub>	1,40 (m) 2,29 (m)	-
8	40,7	C	-	-
9	50,3	CH	1,27 (m)	25, 26
10	37,2	C	-	-
11	20,9	CH <sub>2</sub>	1,25 (m) 1,41 (m)	8, 9, 10
12	27,3*	CH <sub>2</sub>	-	-
13	37,0	CH	1,57 (m)	14, 18, 27
14	42,7	C	-	-
15	27,4*	CH <sub>2</sub>	-	-
16	35,0	CH <sub>2</sub>	1,47 (m)	-
17	43,1	C	-	-
18	49,7	CH	1,80 (t, $J = 11,4$ )	12, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 28
19	52,6	CH	2,56 (td, $J = 11,3; 5,9$ )	13, 18, 20, 21
20	212,9	C	-	-
21	27,6	CH <sub>2</sub>	2,03 (m)	22
22	39,9	CH <sub>2</sub>	1,34 (m) 1,47 (m)	-
23	28,0	CH <sub>3</sub>	0,95 (s)	3, 4, 5, 24
24	15,4	CH <sub>3</sub>	0,75 (s)	4, 5, 23
25	16,0	CH <sub>3</sub>	0,81 (s)	1, 5, 9, 10
26	15,9	CH <sub>3</sub>	1,00 (s)	7, 8, 9, 14
27	14,5	CH <sub>3</sub>	0,95 (s)	8, 9, 14, 15
28	18,0	CH <sub>3</sub>	0,76 (s)	16, 17, 18, 22
29	29,2	CH <sub>3</sub>	2,14 (s)	19, 20

\*intercambiáveis

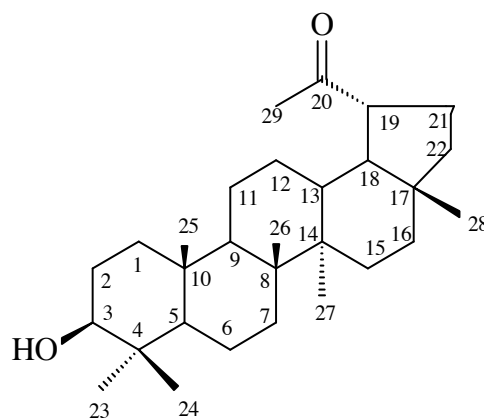


Figura 3.31: Estrutura do 3 $\beta$ -hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona.

Não foram encontradas referências que indiquem que o 3 $\beta$ -hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona tenha sido isolado na *G. senegalensis*, e é a primeira vez que é isolado um esqueleto *nor*-lupano no género *Gymnosporia*.

#### 3.5.1.3. D3 - 3-*epi*-Gloquidiol

Este composto foi obtido da fração 15 a 16 da cromatografia Gym7, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a 3404  $\text{cm}^{-1}$ , da ligação C=C a 1640  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.23) revelou um duplo quarteto a  $\delta$  4,54 ppm ( $J = 2,4; 1,4$  Hz) e um duplete a  $\delta$  4,66 ( $J = 2,4$ ) em H-29, característicos de dois hidrogénios olefínicos geminais e os sinais de dois oximetinos a  $\delta$  3,23 (dd;  $J = 12,1; 4,4$  Hz) referente ao hidrogénio H-3, sinal caraterístico de um triterpeno 3 $\beta$ -OH (Araújo e Chaves, 2005) e a 3,41 (dd;  $J = 11,3; 4,6$  Hz) que pelo valor da constante de acoplamento indica, também, uma orientação  $\beta$  (Araújo e Chaves, 2005). Foi possível observar, também, um duplo tripleto a  $\delta$  2,35 ppm ( $J = 11,0; 5,5$  Hz), correspondente ao protão H-19. Este espetro apresentou ainda sinais de metilos singuletos a  $\delta$  1,66; 1,03; 0,94; 0,93; 0,89; 0,77 e 0,73 ppm, correspondem aos protões H-30, H-26, H-23, H-27, H-25; H-28 e H-23, respetivamente.

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.23) associado ao espetro DEPT permitiu comprovar a natureza triterpenica desta substância através da presença de trinta sinais de carbono, sendo sete metilos (um sobre ligação dupla), dez metilenos (um  $\text{sp}^2$ ), sete metinos (dois ligados a um hidroxilo) e seis quaternários (um  $\text{sp}^2$ ). Entre os sinais observados, destacam-se os sinais a  $\delta$  109,5 ppm (C-29) e a  $\delta$  150,8 ppm (C-20), que são característicos de uma ligação dupla presente em muitos dos triterpenos com esqueleto lupano (Souza *et al.*, 2001), bem como o sinal a  $\delta$  75,8, característico do carbono oximetínico a C-3 e um outro oximetino a  $\delta$  79,0 ppm (C-1).

Através do espectro de HMBC foi possível observar as seguintes correlações: dos sinais a  $\delta$  4,66 e 4,54 ppm (H-29) com  $\delta$  48,0 ppm (C-19) e a  $\delta$  19,2 ppm (C-30) o que confirma a presença da ligação dupla terminal entre o C-20 e o C-29. A posição do grupo hidroxilo a  $\delta$  3,23 ppm (H-3) foi confirmada pelas correlações de HMBC entre este sinal e os sinais a  $\delta$  27,8 e 14,9 ppm (C-23 e C-24 respetivamente) enquanto, que, o grupo hidroxilo a  $\delta$  3,41 ppm (H-1) foi confirmada pelas correlações de HMBC entre este sinal e os sinais a  $\delta$  38,0; 51,5; 43,6 e 19,9 ppm (C-2, C-9, C-10 e C-25 respetivamente).

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Souza *et al.*, 2001; Araújo e Chaves, 2005) chegou-se à conclusão que os compostos D3 é o lup-20(29)-eno-1 $\beta$ ,3 $\beta$ -diol conhecido como 3-*epi*-gloquidiol (figura 3.32).

Tabela 3.23: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto D3.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	79,0	CH	3,41 (dd, $J = 11,3; 4,6$ )	2, 9, 10, 25
2	38,0	CH <sub>2</sub>	1,59 (m) 1,82 (m)	1, 3, 4, 10
3	75,8	CH	3,23 (dd, $J = 12,1; 4,4$ )	23, 24
4	38,9	C	-	-
5	53,1	CH	0,56 (dd, $J = 11,3; 2,6$ )	4, 6, 7, 9, 10, 24, 25
6	18,0	CH <sub>2</sub>	1,54 (m)	1, 3, 4, 7, 10
7	34,1	CH <sub>2</sub>	1,36 (m)	-
8	42,9	C	-	-
9	51,5	CH	1,49 (m)	5, 26
10	43,6	C	-	-
11	23,8	CH <sub>2</sub>	1,34 (m) 2,15 (m)	9, 12, 13
12	25,1	CH <sub>2</sub>	1,12 (m) 1,65 (m)	11, 27
13	37,6	CH	1,66 (m)	8, 12, 17, 18, 19, 27
14	41,4	C	-	-
15	27,5	CH <sub>2</sub>	1,00 (m) 1,61 (m)	-
16	35,6	CH <sub>2</sub>	1,47 (m)	8, 15, 17, 18
17	42,9	C	-	-
18	48,3	CH	1,32 (m)	13, 16, 17, 19, 20, 28
19	48,0	CH	2,35 (dt, $J = 11,0; 5,5$ )	13, 18, 20, 21, 29, 30
20	150,8	C	-	-
21	29,8	CH <sub>2</sub>	1,89 (m)	18, 19, 22
22	40,0	CH <sub>2</sub>	1,17 (m) 1,38 (m)	16, 17, 19, 21
23	27,8	CH <sub>3</sub>	0,94 (s)	2, 3, 4, 5, 24
24	14,9	CH <sub>3</sub>	0,73 (s)	3, 4, 5, 23
25	11,9	CH <sub>3</sub>	0,89 (s)	5, 9, 10
26	16,2	CH <sub>3</sub>	1,03 (s)	7, 8, 9, 14
27	14,5	CH <sub>3</sub>	0,93 (s)	8, 14
28	18,0	CH <sub>3</sub>	0,77 (s)	16, 18, 22
29	109,5	CH <sub>2</sub>	4,54 (dq, $J = 2,4; 1,4$ ) 4,66 (d, $J = 2,4$ )	19, 30
30	19,2	CH <sub>3</sub>	1,66 (sl)	19, 20, 29

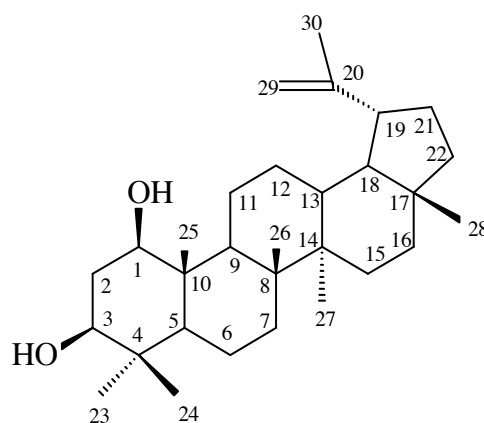


Figura 3.32: Estrutura do 3-*epi*-gloquidiol.

Não foram encontradas referências de que o 3-*epi*-gloquidiol tenha sido isolado na *G. senegalensis* ou mesmo no género *Gymnosporia*. No entanto, no género *Gymnosporia* já foram isolados compostos com esqueletos do tipo lupano (Wijeratne *et al.*, 1981).

#### 3.5.1.4. D4 - 3 $\beta$ -Hidroxi-lup-20(29)-en-30-al

Este composto foi obtido da fração 2 a 3 da cromatografia Gym9, sendo um óleo incolor. No espectro de IV observam-se absorções características do grupo hidroxilo a 3418  $\text{cm}^{-1}$ , da ligação C=O a 1723  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (tabela 3.24) revelou um metilo duplete a  $\delta$  1,07 ppm ( $J = 6,9$  Hz) e o sinal duplo duplete a  $\delta$  3,23 ( $J = 11,3; 5,0$  Hz) referente ao hidrogénio H-3, sinal caraterístico de um triterpeno 3 $\beta$ -OH (Araújo e Chaves, 2005). Foi possível observar, também, um quadruplo duplete a  $\delta$  2,60 ppm ( $J = 6,9; 3,3$  Hz), correspondente ao protão H-20 que apresenta correlação  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY com o metilo duplete a  $\delta$  1,07 ppm. Os singuletos a  $\delta$  1,03; 0,96; 0,91; 0,83; 0,76 e 0,75 ppm, correspondem aos protões H-26, H-24, H-27, H-25; H-23 e H-28, respetivamente. Apresentou-se, ainda um duplete muito desblindado a  $\delta$  9,86 ppm ( $J = 2,0$  Hz) caraterístico de um aldeído (H-30) (Wijeratne *et al.*, 1981).

A análise dos dados de RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabela 3.24) permitiu comprovar a natureza triterpenica desta substância através da presença de trinta sinais de carbono, sendo sete metilos, nove metilenos, oito metinos (um aldeído, e um ligado a um hidroxilo) e seis quaternários. Dos sinais observados, destaca-se o sinal a  $\delta$  207,2 ppm (C-30) característico de um grupo aldeído. Quer o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  quer o de RMN  $^{13}\text{C}$  deste composto apresentam muitas caraterísticas comuns com os do lupeol, a diferença reside na existência, neste composto, de um grupo aldeído e a ausência da ligação dupla terminal do lupeol, assim pode considerar-se que este composto apresenta uma estrutura de esqueleto lupano.

Com base nos valores dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC e em conjunto com a informação derivada da literatura (Souza *et al.*, 2001; Araújo e Chaves, 2005;

Hui e Li, 1977) chegou-se à conclusão que os compostos D4 é o 3 $\beta$ -hidroxi-lup-20(29)-en-30-al (figura 3.33).

Tabela 3.24: Dados de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e correlações de HMBC do composto D4.

Posição (C)	$\delta$ C (ppm)	Tipo de C	$\delta$ H (ppm) ( $J_{\text{HH}}$ in Hz)	HMBC
1	38,7	CH <sub>2</sub>	0,91 (m) 1,68 (m)	-
2	27,4	CH <sub>2</sub>	-	-
3	78,9	CH	3,19 (dd, $J = 11,3; 5,0$ )	23, 24
4	38,9	C	-	-
5	55,2	CH	0,69 (m)	4, 10, 24, 25
6	18,3	CH <sub>2</sub>	1,39 (m) 1,52 (m)	-
7	34,3	CH <sub>2</sub>	1,39 (m)	-
8	40,8	C	-	-
9	49,9	CH	1,29 (m)	-
10	37,1	C	-	-
11	20,9	CH <sub>2</sub>	1,30 (m) 1,50 (m)	-
12	25,1	CH <sub>2</sub>	1,43 (m) 1,90 (m)	18
13	37,9	CH	1,73 (m)	15
14	43,0	C	-	-
15	27,2	CH <sub>2</sub>	-	-
16	35,2	CH <sub>2</sub>	1,31 (m) 1,48 (m)	14
17	43,1	C	-	-
18	42,7	CH	1,87 (m)	-
19	49,0	CH	1,43 (m)	18, 20
20	49,0	CH	2,60 (qd, $J = 6,9; 3,7$ )	29
21	27,6	CH <sub>2</sub>	-	-
22	40,0	CH <sub>2</sub>	1,11 (m) 1,39 (m)	18, 19, 20, 21
23	28,0	CH <sub>3</sub>	0,96 (s)	3, 4, 5, 24
24	15,4	CH <sub>3</sub>	0,76 (s)	3, 4, 5, 23
25	16,1	CH <sub>3</sub>	0,83 (s)	1, 5, 9, 10
26	16,0	CH <sub>3</sub>	1,03 (s)	7, 8, 9, 14
27	14,3	CH <sub>3</sub>	0,91 (s)	8, 13, 14, 15
28	17,7	CH <sub>3</sub>	0,75 (s)	16, 17, 18
29	14,5	CH <sub>3</sub>	1,07 (d, $J = 6,9$ )	19, 20, 30
30	207,2	CH	9,86 (d, $J = 2,0$ )	-

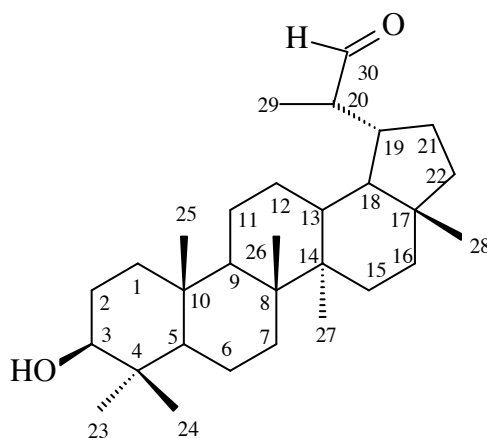


Figura 3.33: Estrutura do 3 $\beta$ -hidroxi-lup-20(29)-en-30-al.

Não foram encontradas referências de que o 3 $\beta$ -hidroxi-lup-20(29)-en-30-al tenha sido isolado na *G. senegalensis*. No entanto é importante salientar que este composto já foi isolado na casca do caule da *G. emarginata* (Wijeratne *et al.*, 1981), reforçando, assim, a ideia de que o género *Gymnosporia* é uma fonte de compostos de esqueletos lupanos.



## Capítulo 4 - Conclusões e perspectivas futuras

Neste trabalho foram estudadas:

- Raízes da *Piliostigma thonningii* (Uíge)
- Parte aérea da *Croton gratissimus* (Quiita)
- Raiz da *Peltophorum africanum* (Humpata)
- Ramos da *Gymnosporia senegalensis* (Humpata)
- Raiz da *Phragmanthera glaucocarpa* (Uíge)

Para as três últimas não foram encontrados estudos na literatura para as partes das plantas utilizadas.

Sobre a *Peltophorum africanum* são conhecidos estudos da composição química das sementes (Evans *et al.*, 1985), cerne (Bam *et al.*, 1988; Bam *et al.*, 1990), casca (Mebe e Makuhunga, 1992) e folhas (Khatib e Nasser, 1998), não existe nenhum estudo para a sua raiz. A partir do extrato de metanol que foi fracionado em frações de hexano, clorofórmio e acetato de etilo, foram isolados o lupeol (fração de hexano) e o mallanósido A (fração de clorofórmio). O lupeol é um composto que se encontra em muitas plantas, no entanto, é esta a primeira vez que é isolado no género *Peltophorum*. Quanto ao mallanósido A foi encontrado pela primeira vez nas folhas da *Mallotus nanus* (Kiem *et al.*, 2010), sendo esta a segunda vez que é isolado. Dada a quantidade de composto que foi isolado pode considerar-se que a raiz da *P. africanum* é uma fonte natural deste composto. O mallanósido A pertence à classe dos ácidos benzoicos glicosilados, este tipo de composto foi anteriormente encontrado na *P. dubium* pelo que estes compostos podem ser considerados marcadores quimiotaxonómicos destas espécies.

Em relação à *Gymnosporia senegalensis* e ao seu sinónimo *Maytenus senegalensis* são conhecidos estudos sobre a raiz (Pistelli *et al.*, 1998; Sosa *et al.*, 2007), casca da raiz (Khalid *et al.*, 2007; Hussein *et al.*, 1999) e folhas (Serrano *et al.*, 2008), mas não se encontra nenhum estudo sobre os ramos. A partir do extrato de metanol foram isolados o  $\beta$ -sitosterol, o 3 $\beta$ -hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona, 3-*epi*-gloquidiol e o 3 $\beta$ -hidroxi-lup-20(29)-en-30-al. O 3 $\beta$ -hidroxi-lup-20(29)-en-30-al já foi isolado no género *Gymnosporia* mas o 3 $\beta$ -hidroxi-30-*nor*-lup-20-ona e o 3-*epi*-gloquidiol nunca foram isolados neste género; e é, também, a primeira vez que um composto de esqueleto *nor*-lupano é isolado no género.

Não existem reportados quaisquer estudos sobre a *Phragmanthera glaucocarpa*, apenas existe um estudo sobre outra espécie do género *Phragmanthera* (Byamukama *et al.*, 2011). Apesar desta planta ser utilizada pelos terapeutas tradicionais em Angola, não foi isolado qualquer composto na sua raiz.

Em relação à *Piliostigma thonningii* existem vários estudos sobre as folhas (Ibewuike *et al.*, 1996; Martin *et al.*, 1997), casca do caule (Asuzu *et al.*, 1999; Okwute *et al.*, 1986), sementes (Jimoh e Oladiji, 2005), vagens (Baratta *et al.*, 1998) e da raiz (Snatzke e Wolff, 1989). A partir do extrato de metanol fracionado em fração de hexano, clorofórmio e acetato de etilo, foram isolados o  $\beta$ -sitosterol (fração de hexano), ácido benzoico (fração de clorofórmio), ácido 3-O- $\beta$ -D-fucopiranosilquinóico, ácido 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquinóico e a vincosamida (fração de acetato de etilo). Todos os compostos, exceto o  $\beta$ -sitosterol, são pela primeira vez isolados no género *Bauhinia*.

Os dois derivados do ácido quinóico foram anteriormente testados como inibidores da fosfodiesterase I (Mostafa *et al.*, 2006), tendo apresentado uma significativa atividade inibidora da fosfodiesterase I. Assim, pode afirmar-se que devido à presença destes compostos na raiz, a *P. thonningii* apresenta atividade inibidora da fosfodiesterase I, abrindo uma nova via de utilização para esta planta.

O primeiro estudo sobre as raízes da *P. thonningii* foi realizado numa população recolhida na região de Wollega, na Etiópia (Snatzke e Wolff, 1989), e demonstrou que a composição química da raiz desta população era constituída pelo ácido lambertianico, lambertianol, éster esteárico de lambertianol, ácido *trans*-communico e 5 $\alpha$ -estigmasta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol. Como se pode verificar, a composição química da população de Wollega é radicalmente diferente da composição química da raiz recolhida no Uíge, Angola, pelo que cada uma das populações constituem um quimiotipo. Propõe-se, então, que desde agora a raiz da *P. thonningii* seja diferenciada por quimiotipos entre *P. thonningii* (Wollega) e *P. thonningii* (Uíge). Propõe-se, também, uma vez que os alcaloides são raramente encontrados no género *Bauhinia* e na família Leguminosae (Neto *et al.*, 2008), que o alcalóide indol vincosamida seja considerado o marcador quimiotaxonómico da *P. thonningii* (Uíge).

Da parte aérea (ramos, folhas e flores) da *Croton gratissimus* foram isolados catorze compostos:

- ✓ óxido de cariofileno
- ✓ 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -ol
- ✓ ácido *ent*-kaur-16-en-19-óico
- ✓ ácido *cis*-ózico
- ✓ espatulenol
- ✓ lupeol
- ✓ germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol
- ✓  $\beta$ -sitosterol
- ✓ *ent*-kaur-16-en-19-ol
- ✓ 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol
- ✓ ácido 15-metoxi-*neo*-clerodan-3,13-dien-15,16-olida-18-óico
- ✓ 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol
- ✓ Sacarose
- ✓ *trans*-4-hidroxi-*N*-metilprolina

em que os onze primeiros foram isolados na fração de hexano, o 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol foi isolado na fração de clorofórmio e os restantes na fração de acetato de etilo.

São isolados pela primeira vez no género *Croton* o 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -ol, ácido *cis*-óxico, germacra-4(15),5,10(14)-trien-1 $\beta$ -ol, *ent*-kaur-16-en-19-ol, 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, ácido 15-metoxi-*neo*-clerodan-3,13-dien-15,16-olida-18-óico, sacarose e o *trans*-4-hidroxi-*N*-metilprolina.

Sobre a *Croton gratissimus* e o seu sinónimo *Croton zambesicus* existem vários estudos realizados nas folhas (Block *et al.*, 2004; Langat *et al.*, 2011) e casca do caule (Ngadjui *et al.*, 2002; Mulholland *et al.*, 2010). No entanto, verifica-se que a composição das folhas da *C. gratissimus* recolhidas em Durban, África do Sul, é constituída essencialmente por cembranolidas (Langat *et al.*, 2011), enquanto que as folhas da *C. zambesicus* recolhidas em Cotonou, Benim, é constituída essencialmente por traquilobanos e isopimaranos. Embora este estudo da *C. gratissimus* recolhida na Quiita, Angola, se centre na parte aérea e não só nas folhas, se a população da Quiita fosse equivalente à população de Durban ou de Cotonou as cembranolidas ou os traquilobanos teriam que estar presentes, pois uma parte do material vegetal são as folhas. No entanto, não foi encontrado qualquer composto com este tipo de esqueletos, podendo assim afirmar-se que possivelmente se está perante um quimiotipo distinto dos dois anteriores, mas mais estudos serão necessários.

Sugere-se que para a identificação quimiotaxonómica desta população, sejam usados como marcadores quimiotaxonómicos o 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -ol e o 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol, pois é a primeira vez que são isolados esqueletos deste tipo no género *Croton* e estes esqueletos são muito raros nas plantas em geral.

Na continuação deste estudo, será importante estudar toda a *P. thonningii* para verificar se a diferença de composição entre as populações Wollega e Uíge se estende a outras partes da planta e ainda testar o extrato da raiz para verificar a sua atividade como inibidora da fosfodiesterase I.

Quanto à *P. glaucocarpa*, onde não foi possível isolar qualquer composto, dado que na literatura não existem estudos reportados e a planta é utilizada pelos terapeutas tradicionais, será importante estudar outras partes da planta.

Em relação à *C. gratissimus* será importante estudar, unicamente, as folhas da população Quiita para confirmar a existência dos quimiotipos propostos. Estes estudos devem alargar-se ao resto da planta, para determinar se a diferença da composição química se estende a outras partes da planta.



# Bibliografia

- Abraham, W.R., Ernst, L., Arfmann, H.A., 1990. Rearranged Caryophyllenes by Biotransformation with *Chaetomium cochliodes*. *Phytochemistry*, 29, 757-763.
- Abreu, P., Pereira, A., 2001. New indole alkaloids from *Sarcocephalus latifolius*. *Nat. Prod. Lett.*, 15, 43-48.
- Achenbach, H., Stöcker, M., Constenla, A.M., 1988. Flavonoids and other constituents of *Bauhinia manca*. *Phytochemistry*, 27, 1835-1841.
- Aderogba, M.A., McGaw, L.J., Ogundaini, A.O., Eloff, J.N., 2008. Cytotoxicity Study of antioxidant flavonoids from *Bauhinia tomentosa* leaf extract. *Nigerian J. Nat. Prod. Med.*, 12, 50-4.
- Agrawal, P.K., 1992. NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides. *Phytochemistry*, 31, 3307-3330.
- Ahmad, I., Aqil, F., Owais, M., 2006. *Modern Phytomedicine: turning medicinal plants into drugs*. WILEY-VCH, Weinheim.
- Aimi, N., Shito, T., Fukushima, K., Itai, Y., Aoyama, C., Kunisawa, K., Sakai, S., Haginiwa, J., Yamasaki, K., 1982. Studies of plants containing indole alkaloids. VIII. Indole alkaloid glycosides and other constituents of the leaves of *Uncaria rhynchophylla* Miq. *Chem. Pharm. Bull.*, 30, 4046-4051.
- Ali, M.S., Ahmed, S., Ibrahim, S.A., Tareen, R.B., 2005. Characterization and Bioscreening of a New Triperpenoid and a Flavanone Isolated from *Salvia nubicola*. *Chem. Biodivers.*, 2, 910-916.
- Al-Rehaily, A.J., Ahmad, M.S., Mossa, J.S., Muhammad, I., 2002. New axane and oppositane sesquiterpenes from *Teclea nobilis*. *J. Nat. Prod.*, 65, 4-6.
- Appendino, G., Borrelli, F., Capasso, R., Campagnuolo, C., Fattorusso, E., Petrucci, F., Tagliabatella-Scafati, O., 2003. Minor Diterpenoids from Cascarilla (*Croton eluteria* Bennet) and Evaluation of the Cascarilla Extract and Cascarillin Effects on Gastric Acid Secretion. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6970-6974.
- Araújo, D.S., Chaves, M.H., 2005. Triterpenóides Pentacíclicos das folhas de *Terminalia brasiliensis*. *Quim. Nova*, 28, 996-999.
- Arbonnier, M., 2004. *Trees, Shrubs and Lianas of West African Dry Zones*. 1st Edn., CIRAD, Margraf Publishers GMBH MNHN, USA.
- Arruda, R., Lunardelli, C., Kitagawa, C., Caires, C.S., Teodoro, G.S., Mourão, F.A., 2013. Two mistletoes are too many? Interspecific occurrence of mistletoes on the same host tree. *Acta Bot. Bras.*, 27, 226-230.
- Asuzu, I.U., Gray, A.I., Waterman, P.G., 1999. The anthelmintic activity of D-3-O-methylchiroinositol isolated from *Piliostigma thonningii* stem bark. *Fitoterapia*, 70, 77-79.

- Atewolara-Odule, O.C., Aiyelaagbe, O.O., 2013. Antimicrobial Properties and Phytochemical Studies of Extracts of *Phragmanthera incana* (Schum) Balle [Loranthaceae] Grown in Nigeria. *Inter. J. Res. Chem. Envir.*, 3, 203-207.
- Bahia, M.V., David, J.M., Resende, C.L., Guedes, L.S.M., David, P.J. 2010. A C-glucoside benzoic acid derivative from the leaves of *Peltophorum dubium*. *Phytochemistry Lett.*, 3, 168-170.
- Bam, M., Ferreira, D., Brandt, E.V., 1988. Novel cyanomaclurin analogue from *Peltophorum africanum*. *Phytochemistry*, 27, 3704- 3705.
- Bam, M., Malan, J.C.S., Young, D.A., Brandt, E.V., Ferreira, D., 1990. Profisetinidin-type 4-arylflavin-3-ols and related  $\delta$ -lactones. *Phytochemistry*, 29, 283-287.
- Barata, G., 2003. Medicina popular obtém reconhecimento científico. *Revista Ciência e Cultura*, 3, 12.
- Baratta, M.T., Ruberto, G., Tringali, C. 1999. Constituents of the pods of *Piliostigma thonningii*. *Fitoterapia* 70, 205-208.
- Barrero, A.F., Herrador, M.M., Artenga, P., Artenga, J.F., Artenga, A.F., 2012. Communic Acids: Occurrence, Properties and Use as Chirons for the Synthesis of Bioactive Compounds. *Molecules*, 17, 1448-1467.
- Benard, P., Do, Q.T., 2004. Pharmacognosy and reverse pharmacognosy: a new concept for accelerating natural drugs discovery. *I drugs*, 17, 1017-1027.
- Bhattaram, V.A., Graefe, U., Kohlert, C., Veit, M., Derendorf, F., 2002. Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products. *Phytomedicine*, 9, 1-33.
- Bizimenyera, E.S., Aderogba, M.A., Eloff, J.N., Swan, G.E., 2007. Potential of Neuroprotective antioxidant based therapeutics from *Peltophorum Africanum* Sond. (Fabaceae). *Afr. J. Trad.*, 4, 99 - 106.
- Bizimenyera, E.S., Meyer, S., Naidoo, V., Eloff, J.N., Swan, G.E., 2008. Efficacy of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *J. Anim. Vet. Adv.*, 7, 364-371.
- Bizimenyera, S.E., Swan, G.E., Chikoto, H., Eloff, J.N., 2005. Rationale for using *Peltophorum africanum* (Fabaceae) extracts in veterinary medicine. *Tydskr. S. Afr. vet. Ver.*, 76, 54-58.
- Block, S., Baccelli, C., Tinant, B., Van Meervelt, L., Rozenberg, R., Habib J.J.L., Liabrès, G., De Pauw-Gillet, M.C., Quetin-Lectercg, J., 2004. Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry*, 65, 1165-1171.
- Bossard, E., 1996. *Medicine traditionnelle au Centre et a l'Ouest de l'Angola*, vol. 1. Ministério da Ciência e Tecnologia, Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisbon.
- Brasil, D.S.B., Muller, A.H., Guilhon, G.M.S.P., Alves, C.N., Andrade, E.H.A., Silva, J.K.R., Maia, J.G.S., 2009. Essential Oil Composition of *Croton palanostigma* Klotzsch from North Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, 20, 1188-1192.

- Brown, G.D., Liang, G.Y., Sy, L.K., 2003. Terpenoids from the seeds of *Artemisia annua*. *Phytochemistry*, 64, 303-323.
- Byamukama, R., Jordheim, M., Kiremire, B.T., Andersen, O.M., 2011. Primitive Anthocyanin from Flowers of three Hemiparasitic African Mistletoes. *Arch. App. Sci. Res.*, 3, 1-5.
- Calixo, J.B. 2000. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 33, 179-189.
- Cannell, R.J.P., 1998. Natural products isolation: methods in biotechnology. Totowa: Humana Press, 4, pp. 473.
- Cechinel Filho, V., Breviglieri, E., Filho, A.W., Santos, A.R.S. 1995. Estudo fitoquímico e avaliação preliminar da atividade analgésica de *Bauhinia splendens*. *Rev. Bras. Farm.*, 76, 115.
- Cechinel Filho, V., Yunes, R.A. 1997. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. *Quim. Nova*, 21, 99-105.
- Chien-Chin, C., Chen, Y-P., Hsu, H-Y., Lee, K-H., Tani, S., McPhail, A.T., 1985. Bauhinin, a New Nitrile Glucoside from *Bauhinia championii*. *J. Nat. Prod.*, 48, 933.
- Compagnone, R.S., Chavez, K., Mateu, E., Orsini, G., Arvelo, F., Suárez, A., 2010. Composition and Cytotoxic Activity of Essential Oils from *Croton matourensis* and *Croton micans* from Venezuela. *Rec. Nat. Prod.* 4, 101-108.
- Costa, V.C.O., Tavares, J.F., Queiroga, C.S., Castello-Branco, M.V.S., Diniz, M.F.F.M., Lima, C.U.G.B., Santos, B.V.O., Pita, J.C.L.R., Silva, M.S., Sette, I.M.F., 2012. Constituintes químicos das folhas de *Rollinia leptopetala* R. E. FRIES. *Quim. Nova*, 35, S1-S5.
- Cragg, G.M., Newman, D.J., 2005. Biodiversity: A continuing source of novel drug leads. *Pure Appl. Chem.*, 77, 7-24.
- Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S., Duke, J.A., Brielmann, H.L., 2006. *Natural Products from Plants. Second Edition.* CRC Press, NW.
- Devkota, M.P., 2005. Biology of mistletoes and their status in Nepal Himalaya. *Himalayan J. Sci.*, 3, 85-88.
- Didier, D.S.D., Laurier, E.O.N., Ndongo, D., Jules, P.R., Victor, T., Henri, F., Georges, S., Akoa, A., 2009. Artificial infestations of *Tapinanthus ogowensis* (Engler) Danser (*Loranthaceae*) on three host species in the Logbessou Plateau (Douala, Cameroon). *Afri. J. Biotechnol.*, 8, 1044-1051.
- Didier, S.D., Ndongo, D., Jules, P.R., Desiré, T.V., Henri, F., Georges, S., Akoa, A., 2008. Parasitism of host trees by the *Loranthaceae* in the region of Douala (Cameroon). *Afri. J. Environ. Sci. Technol.*, 2, 371-378,
- Didier, S.D., Zenabou, N., Mony, R., Joseph, B.I., Akoa, A. 2010. A parasitic study of *Phragmanthera capitata* (Sprengel) S. Balle (*Loranthaceae*) in the anthropic environments: The case of the Ndogbong chieftain's compound orchard (Douala, Cameroon). *Afr. J. Agri. Res.*, 5, 2051-2055.

- Dixon, R.A., 2001. Phytochemistry in the genomics and post-genomics eras. *Phytochemistry*, 57, 145-148.
- Egharevba, H.O., Kunle, F.O., 2010. Preliminary Phytochemical and Proximate Analysis of the leaves of *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne-Redhead. *Ethnobotanical Leaflets*, 14, 570-77.
- El-Sayed, N.H., Ammar, N.M., Al-Okbi, S.Y., El-Kassem, L.T., Mabry, T.J., 2006. Antioxidant activity and two new flavonoids from *Washingtonia filifera*. *Nat. Prod. Res.*, 20, 57-61.
- Erdelmeier, C.A., Wright, A.D., Orjala, J., Baumgartner, B., Rali, T., Sticher, O. 1991. New indole alkaloid glycosides from *Nauclea orientalis*. *Planta Med.*, 57, 149-152.
- Evans, S.V., Shing, T.K.M., Aplin, R.T., Fellows, L.E., Fleet, G.W.J., 1985. Sulphate ester of trans-4-hydroxypipicolinic acid in seeds of *Peltophorum*. *Phytochemistry*, 24, 2593-2596.
- Farias, M.R., Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 1999. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. *Farmacognosia - da planta ao medicamento*. Santa Catarina: Editora da UFSC, 197-220.
- Fujiwara, M., Yagi, N., Miyazawa, M., 2010. Acetylcholinesterase Inhibitory Activity of Volatile Oil from *Peltophorum dasyrachis* Krurz ex Bakar (Yellow Batai) and Bisabolane-Type Sesquiterpenoids. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 2824-2829.
- Fujiwara, M., Yagi, N., Miyazawa, M., 2011. Tyrosinase inhibitory constituents from the bark of *Peltophorum dasyrachis* (yellow batai). *Nat. Prod. Res.*, 25, 1540-1548.
- Ganesan, A., 2008. The impact of natural products upon modern drug discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2, 306-317.
- González-Mujica, F., Motta, N., Perdomo, E., Méndez, J., Hasegawa, M., 2000. Inhibición de la neoglucogénesis y de la glucosa-6-fosfatasa hepática por flavonas purificadas a partir de hojas de *Bauhinia megalandra*. *Rev. Latinoam. Quim.*, 28, 127-128.
- González-Vázquez, R., King, D.B., Aquilar, M.I., Diego N., Lotina-Hennsen B., 2006. Pachypodol from *Croton ciliatoglanduliferus* Ort. As Water-Splitting Enzyme Inhibitor on Thylakoids. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 1217-1221.
- Gottlieb, O.R., 1982. *Micromolecular evolution, systematics and ecology, na essay ento novel botanycal diciplene*. Springer Berlin Heidelberg, New York.
- Grant, R., Thomas, V., Gogh, J.V., 2006. *Sappi tree spotting: Lowveld, including Kruger National Park*. 3<sup>st</sup> Ed., Johannesburg, Jacana.
- Gupta, A.K., Vidypat, T.J., Chauhan, J.S., 1980. Chemical examination of the stem of *Bauhinia divaricata*. *Planta Med.*, 38, 174.
- Gupta, M., Mandowara, D., Jain, S., 2008. Medicinal Plants Utilized by Rural Women of Rajasthan. *Asian Agri-History*, 12, 321-326.
- Harvey, A.L., 2008. Natural products in drug discovery. *Drug Discov. Today*, 13, 19-20.

- Heinrich, M., 2003. Ethnobotany and natural products: the search for new molecules new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures? *Curr. Top. Med. Chem.*, 3, 29-42.
- Henriete, S.V., Takahashi, J.A., Oliveira, A.B., Chiari, E., Boaventura, M.A., 2002. Novel Derivatives of Kaurenoic Acid: Preparation and Evaluation of their Trypanocidal Activity. *J. Braz. Chem. Soc.*, 13, 151-157.
- Heymann, H, Tezuka, Y, Kikuchi, T, Supriyatna, S., 1994a. Constituents of *Sindora sumatrana* Miq I. Isolation and NMR spectral analysis of sesquiterpenes from the dried pods. *Chem. Pharm. Bull.*, 42, 138-146.
- Heymann, H, Tezuka, Y, Kikuchi, T, Supriyatna, S., 1994b. Constituents of *Sindora sumatrana* Miq II. Isolation and NMR spectral analysis of sesquiterpenes from the dried pods. *Chem. Pharm. Bull.*, 42, 941-946.
- [http://ww2.bgbm.org/herbarium/view\\_large.cfm?SpecimenPK=25741&idThumb=222965&SpecimenSequenz=1&loan=0](http://ww2.bgbm.org/herbarium/view_large.cfm?SpecimenPK=25741&idThumb=222965&SpecimenSequenz=1&loan=0). Acedido em: 22/01/2011.
- <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=an&id=25250>. Acedido em: 26/09/2013.
- <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=an&id=174104>. Acedido em: 26/09/2013.
- <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/details.php?langue=an&id=78612>. Acedido em: 26/09/2013.
- Huang, H., Gao, X.J., Liu, J., Li, S., Han, Y.F., Zhou, B.C., Xia, M., 2013. A new caryolane sesquiterpene from *Heteropappus altaicus* (Willd.) Novopokr. *Nat. Prod. Res.*, 27, 350-355.
- Hui, W.H., Li, M.M., 1977. Six New Triterpenoids and Other Triterpenoids and Steroids from Three *Quercus* Species of Hong Kong. *J. C. S. Perkin I*, 897-904.
- Hussein, G., Nakamura, N., Meselhy, M.R., Hattori, M., 1999. Phenolics from *Maytenus senegalensis*. *Phytochemistry*, 50, 689-694.
- Ibewuike, J.C., Ogundaini, A.O., Ogungbamila, F.O., Martin, M., Gallard, J., Bohlin, L., Pais M., 1996. Piliostigmin, a 2-phenoxychromone, and C-methylflavonols from *Piliostigma thonningii*. *Phytochemistry*, 43, 687-690.
- Igbinosa, O.O., Igbinosa, E.O., Aiyegoro, O.A., 2009. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). *Afr. J. Pharm. Pharmaco.*, 3, 058-062.
- Iribarren, A.M., Pomilio, A.B., 1983. Components of *Bauhinia candicans* Benth. *J. Nat. Prod.*, 46, 752-753.
- Iribarren, A.M., Pomilio, A.B., 1987. Sitosterol. 3-O- $\alpha$ -D-xyluronofuranoside from *Bauhinia candicans*. *Phytochemistry*, 26, 857 - 858.
- Iribarren, A.M., Pomilio, A.B., 1989. Steroidal glycosides, flavonoids and other components of *Bauhinia uruguayensis*. *Assoc. Quim. Argent.*, 77, 461.

- Itokawa, H., Matsumoto, H., Mihashi, S., 1983. Isolation of oppositane and cycloeudesmane-type sesquiterpenoids from *Torilis japonica* D. C. Chem. Lett., 1253-1256.
- Jachak, S.M., Saklani, A. 2007. Challenges and opportunities in drug discovery from plants. Curr. Sci., 92, 1251-1257.
- Jain, A.S., Surana, S.J., 2009. Antiulcerogenic effects of *Gymnosporia rothiana*. Oriental Pharm. Exp. Med., 9, 238-244.
- Jimoh, F.O., Oladiji, A.T., 2005. Preliminary Studies on *Piliostigma thonningii* seeds: Proximate analysis, mineral composition and phytochemical screening. African J. Biotechnol., 4, 1439-1442.
- Johnson, D. & S. Gardening with Indigenous Trees. 2002. Struik Publishers, Cape Town.
- Kang, W., Hao, X., 2006. Triterpenoid saponins from *Mitragyna rotundifolia*. Biochem. Syst. Ecol., 34, 585-587.
- Khalid, S.A., Friedrichsen, G.M.F., Christensen, S.B., Tahir, A.E., Satti, G.M., 2007. Isolation and characterization of pristimerin as the antiplasmodial and antileishmanial agente of *Maytenus senegalensis* (Lam.) Exell. Arkivoc, 129-134.
- Khattab, A.M., Nasser, M.I., 1998. Phytochemical and molluscidal studies on *Peltophorum africanum* and *Sesbania sesban*. Bull. Nat. Res. Council, Egypt, 23, 401-407.
- Khevrodin, H., 2009. Isolation and identification of new eleven constituents from medicinal plant. Inter. J. Nut. Metab., 1, 014-019.
- Kiem, P.V., Mai, N.T., Minh, C.V., Khoi, N.H., Dang, N.H., Thao, N.P., Cuong, N.X., Nam, N.H., Nhiem, N. X., Heyden, Y.V., Quetin-Leclercq, J., Kim, G.N., Jang, H.D., Kim, Y.H., 2010. Two New-C-Glucosyl Benzoic Acids and Flavonoids from *Mallotus nanus* and Their Antioxidant Activity. Arch. Pharm. Res., 33, 203-208.
- Kitajima, M., Hashimoto, K., Sandoval, M., Aimi, N., Takayama, H., 2004. New oleanan-type triterpene and cincholic acid glycosides from Peruvian "Uña de Gato" (*Uncaria tomentosa*). Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 52, 1258-61.
- Krishna, V., Singh, P., 1999. A clerodane derivative from *Grangea maderaspatana*. Phytochemistry, 52, 1341-1343.
- Kwon, H.C., Choi, S.U., Lee, K.R., 2001. Phytochemical Constituents of *Artemisia stolonifera*. Arch Pharm. Res., 24, 312-315.
- Langat, M.K., Crouch, N.R., Pohjala, L., Tammela, P., Smith, P.J., Mulholland, D.A., 2012. *ent*-Kauren-19-oic acid derivatives from the stem bark of *Croton pseudopulchellus* Pax. Phytochemistry Lett., 5, 414-418.
- Langat, M.K., Crouch, N.R., Smith, P.J., Mulholland, D.A. 2011. Cembranolides from the Leaves of *Croton gratissimus*. J. Nat. Prod., 74, 2349-2355.
- Laux, D.O., Stefan, G.M., Gottlieb, O.R., 1985. Bausplenden dimethylenedioxyflavone from *Bauhinia splendens*. Phytochemistry, 24, 1081.
- Lima, L.R., Pirani, J.R., 2008. Revisão taxonômica de *Croton* sect. *Lamprocroton* (Müll.Arg.) Pax (Euphorbiaceae s.s.). Biota Neotrop., 8, 177-230.

- Lima, S.G., Medeiros, L.B.P., Cunha, C.N.L.C., Silva, D., Andrade, N.C., Neto, J. M. M., Lopes, J.A.D., Steffen, R.A., Araújo, B.Q., Reis, F.A.M., 2012. Chemical composition of essential oils of *Croton hirtius* L'Her from Piauí (Brazil). *J. Essent. Oil Res.*, 24, 371-376.
- Lindsey, K.L., Budesinsky, M., Kohout, L., van Staden. J., 2006. Antibacterial activity of maytenonic acid isolated from the root-bark of *Maytenus senegalensis*. *S. Afr. J. Bot.*, 72, 473-477.
- Liu, Y., Nair, G.M., 2011. Labdane diterpenes in *Curcuma mangga* rhizomes inhibit lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumour cell proliferation. *Food Chem.*, 124, 527:532.
- Maciel, M.A.M., Cortez, J.K.P.C., Gomes, F.E.S., 2006. O Género *Croton* e Aspectos Relevantes de Diterpenos Clerodanos. *Revista Fitos*, 2, 54 -73.
- Maciel, M.A.M., Pinto, A.C., Brabo. S.N., Silva, M.N., 1998. Terpenoids from *Croton cajucara*. *Phytochemistry*, 49, 823-828.
- Maciel, M.A.M., Pinto, A.C., Veiga, V.F., Grynderg, N.F., Echevarria, A., 2002. Medicinal plants: the need for multidisciplinary scientific studies. *Quim. Nova*, 25, 429-438.
- Madara, A.A., Ajayi, J.A., Salawu, O.A., Tijani, A.Y., 2010. Anti-malarial activity of ethanolic leaf extract of *Piliostigma thonningii* Schum. (*Caesalpiniaceae*) in mice infected with *Plasmodium berghei berghei*. *Afr. J. Biotechnol.*, 9, 3475-3480.
- Maia Neto, M., Andrade Neto, M., Braz Filho, R., Lima, M.A.S., Silveira, E.R., 2008. Flavonoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia unguolata* L. *Biochem. Syst. Ecol.*, 36, 227.
- Maillard, M.P., Recio-Iglesias, M.C., Saadou, M., Stoekli Evans H., Hostettmann K., 1991. Novel Antifungal Tetracyclic Compounds from *Bauhinia rufescens* LAM. *Helv. Chim. Acta*, 74, 791.
- Manaharan, T., Teng, L.L., Appleton, D., Ming, C.H., Masilamani T., Palanisamy U.D., 2011. Antioxidant and antiglycemic potencial of *Peltophorum pterocarpum* plant parts. *Food Chem.*, 129, 1355-1361.
- Marbberley, D.J., 2008. *Mabberley's Plant-Book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classifications and Uses*. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Marinho, A.M.R., Marinho, P.S.B., Rodrigues Filho, E., 2009. Esteroides produzidos por *Penicillium herquei*, um fungo endofítico isolado dos frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae). *Quim. Nova* 32, 1710-1712.
- Martin, M.T., País, M., Ogundaini, A.O., Ibewuilke, J.C., Ogungbamila, F.O., 1997. Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR Assignment of a kaurane Diterpene from *Piliostigma thonningii*. *Magn. Reson. Chem.*, 35, 896-898.
- McChesney, J.D., Venkataraman, S.K., Henri, J.T., 2007. Plant natural products: Back to the future or into extinction?. *Phytochemistry*, 68, 2015-2022.
- Mebe, P.P., Makuhunga, P., 1992. 11-(E)-p-coumaric acid ester of bergenin from *Peltophorum africanum*. *Phytochemistry*, 31, 3286-3287.

- Meccia, G., Rojas, L.B., Rosquete, C., San, F. A., 2000. Essential oil of *Croton ovalifolius* Vahl from Venezuela. *Flavour Fragr. J.*, 15, 144-146.
- Meira, M., David, J.M., David, J.P., Araújo, S.V., Regis, T.I., Giulietti, A.M., Queiróz, L.P., 2008. Constituintes químicos de *Ipomoea subincana* Meisn. (Convolvulaceae). *Quim. Nova*, 31, 751-754.
- Meng, Z.Q., Liu, W.J., Li, Z., Na, S.Y., Ding, G., Wang, Z.Z., Xiao, W., Xu, J.Y. 2013. Transformation of strictosamide to vincoside lactam by acid catalysis. *Chin J. Nat. Med.*, 11, 188-92.
- Merxmüller, H.H., 1969. *Mitteilungen der Botanischen Staatssammlung München*. Band VII, 7-8, 167-168.
- Moccelini, S.K., Silva, V.C., Ndiaye, E.A., Sousa Jr. P.T., Vieira, P.C., 2009. Estudo fitoquímico das cascas das raízes de *Zanthoxylum rigidum* Humb. & Bonpl. Ex Willd (Rutaceae). *Quim. Nova*, 32, 131-133.
- Monte, F.J.Q., Oliveira, E.F., Braz Filho, R., 2001. Triterpenóides Pentacíclicos de *Mentha villosa*: Identificação estrutural e atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogénio e carbono. *Quim. Nova* 24, 491-500.
- Moreira, I.C., Lago, J.H.G., Young, M.C.M., Roque, N.F., 2003. Antifungal Aromadendrane Sesquiterpenoids from the Leaves of *Xylopiá brasiliensis*. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14, 828-831.
- Moreno, P.R.H., Lima, M.E.L., Caruzo M.B.R., Torres D.S.C., Cordeiro I., Young, M.C.M., 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from *Croton heterocalyx* Baill. (Euphorbiaceae s. s.) Leaves. *J. Essent. Oil Res.*, 21, 190-192.
- Morris, T.J., Wojciechowski, M.F., 2004. Supertree Analysis of the Plant Family Fabaceae. Internship: Report Number: 04-21, Arizona State University.
- Mostafa, M., Nahar, N., Mosihuzzaman, M., Sokeng, S.D., Fatíma, N., Atta-Ur-Rahman, Choudhary, M.I., 2006. Phosphodiesterase-I inhibitor quinovic acid glycosides from *Bridelia ndellensis*. *Nat. Prod. Res.* 20, 686-92.
- Moustapha, B., Gutiérrez-Avella, D.M., Fuentes-Ordaz, R., Castañeda-Moreno, R., Martínez, M., 2011. Chemical Constituents of the Mexican Mistletoe (*Psittacanthus calyculatus*). *Molecules*, 16, 9397-9403.
- Mulholland, D.A., Langat, M.K., Crouch, N.R., Coley, H.M., Mutambi, E.M., Nuzillard, J.M., 2010. Cembranolidés from the stem bark of the southern African medicinal plant, (Euphorbiaceae). *Phytochemistry*, 71, 1381-1386.
- Murillo, R.M., Jakupovic, J., Rivera, J., Castro, V.H., 2001. Diterpenes and other constituents from *Croton draco* (Euphorbiaceae). *Rev. Biol. Trop.*, 49, 259-264.
- Mwase, F.W., Mvula, T., 2011. Effect of seed size and pre-treatment methods of *Bauhinia thonningii* Schum. on germination and seedling growth. *Afr. J. Biotechnol.*, 10, 5143-5148.
- Nakano, K., Murakami, K., Takaishi, Y., Tomimatsu, T., 1986. Feruloyl Sucrose Derivatives from *Heloniopsis orientalis*. *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 5005-5010.

- Newman, T.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Nat. Prod. Rep.*, 17, 215-234.
- Ngadjui, B.T., Abegaz, B.M., Keumedjio, F., Keumedjio, G.N., Foleefoc, G.N., Kapche, G.W., 2002. Diterpenoids from stem bark of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry*, 60, 345-349.
- Okwute, S.K., Ndukwe, G.I., Watanabe, K., Ohno, N., 1986. Isolation of griffonilide from the stem bark of *Bauhinia thonningii*. *J. Nat. Prod.*, 49, 716-717.
- Oliveira, A.B., Braga, F.C. 2003. Produtos naturais bioativos de plantas brasileiras e sua contribuição para o desenvolvimento da química medicinal. *Arq. Bras. Fitomed. Científica*, 1, 49-58.
- Omosa, L.K., Midiwo, J.O., Derese S., Yenesew, A., Peter, M.G., Heydenreich, M., 2010. neo-Cleodane diterpenoids from the leaf exudate of *Dodonaea angustifolia*. *Phytochemistry Lett.*, 3, 217-220.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A., 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. Disponível em: <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>. Acedido em: 22/01/2011.
- Ozolua, R.I., Alonge, P., 2008. Aqueous and ethanol leaf-extracts of *Piliostigma thonningii* (Schum) increase locomotor activity in Sprague-Dawley rats. *Afr. J. Biotechnol.*, 7, 73-76.
- Palmeira Jr, S.F., Moura, F.S., Alves, V.L., Oliveira, F.M., Bento, E.S., Conserva, L.M., Andrade, E.H.A., 2004. Neutral components from hexane extracts of *Croton sellowii*. *Flavour Fragr. J.*, 19, 69-71.
- Palmeira, J.S.F., Conserva, L.M., Barbosa, F.J.M., 2006. Clerodane diterpenes from *Croton* species: Distribution and a Compilation of their and <sup>13</sup>C NMR. *Nat. Prod. Commun.*, 4, 319-344.
- Peres, M.T., Delle, M.F., Cruz, A.B., Pizzolatti, M.G., Yunes, R.A. 1997. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharmacol.*, 56, 223-226.
- Phillipson, J.D. 2001. Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*, 56, 237-243.
- Pinto, A.C., Silva D.H.S., Bolzani, S.V., Lopes, N.P., Epifânio, R.A., 2002. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quim. Nova*, 25, 45-61.
- Pistelli, L., Venturi, R., Marsili, A., Morelli, I., 1998. Alkaloids and coumarins from *Gymnosporia senegalensis* var. *spinosa* (Celastraceae). *Biochem. Syst. Ecol.*, 26, 677- 679.
- Pizzolatti, M.G., Cunha, A.J., Szpoganicz, B., Sousa, E., 2003. Flavonóides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* (LEGUMINOSAE). *Quim. Nova*, 26, 466-469.
- Prabhakar, P., Gandhidasan, R., Raman, P.V., Krishnasamy, N.R., Nanduri S. 1994. A tetracyclic 2,2-dimethylchroman from the roots of *Bauhinia racemosa*. *Phytochemistry*, 36, 817.

- Pretsch, E., Thomas, C., Joseph, S., Wilhelm, S., 1998. Tablas para la determinación estructural por métodos espectroscópicos. 1ª edición, Springer-Verlag Ibérica, Barcelona, pp. 122 e 210.
- Puebla, P., López, J.L., Guerrero, M., Carrón, R., Martín, M.L., San, Román L., San Feliciano A., 2003. Neo-clerodane diterpenoids from *Croton schiedeanus*. *Phytochemistry*, 62, 551-555.
- Ragasa, C.Y., Ganzon, J., Hofileña, J., Tamboong, B., Rideout, J.A., 2003. A New Furanoid Diterpene from *Caesalpinia pulcherrima*. *Chem. Pharm. Bull.*, 51, 1208-1210.
- Ragasa, C.Y., Hofileña, J., Rideout, J.A., 2004. Secondary Metabolites from *Bauhinia purpurea*. *Philippine J. Sci.*, 133, 1-5.
- Rahman, A., Ahmad, V. U., 1992. <sup>13</sup>C-NMR of Natural Products, vol. 2. Plenum Press, New York.
- Raj, M.K., Duraipandivan, V., Agastian, P., Ignacimuthu, S., 2012. Antimicrobial activity of bergenin isolated from *Peltophorum pterocarpum* DC. Flowers. *Asian Pacific J. Trop. Biom.*, S901-S904.
- Rajput, A.P., Rajput, T.A., 2012. Isolation of Stigmasterol and B-Sitosterol from Chloroform Extract of Leaves of *Corchorus fascicularis* Lam. *International J. Biol. Chem.*, 6, 130-135.
- Ramachandran, R., Joshi, B.C., 1967. Chemical examination of *Bauhinia purpurea* flowers. *Curr. Sci.*, 21, 574.
- Raskin, I., Ribnicki, D.M., Komamytsky, S., Ilic, N., Polev, A., Borisjuk, N., Brinker, A., Moreno, D.A., Ripoll, C., Yakoby, N., O'Neal J.M., Cornwell, T., Pastor I., Fridlender, B., 2002. Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotech.*, 20, 522-531.
- Rebate, J., 1938. *J. Pharm. Chin.*, 28, 435. Cit. por Silva, K.L., Cechinel Filho, V., 2002. Plantas do género *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. *Quim. Nova*, 25, 449-454.
- Resende, T.N., Silva, M.C., Leandro, W.M., Santana, E.S., Moreira, R.R.L.S., Vescovi, L.B., 2011. Crescimento e produção de urucum (*Bixa orellana* L.) em função de diferentes doses de kefir no sistema de produção orgânico. *Resumos do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia*, 6, 1-5.
- Roengsumran, S., Petsom, A., Kuptiyanuwat, N., Vilaivan, T., Ngamrojnavanich, N., Chaichantipyuth, C., Phuthong, S., 2001. Cytotoxic labdane diterpenoids from *Croton oblongifolius*. *Phytochemistry*, 56, 103-107.
- Roengsumran, S., Petsom, A., Sommit, D., Vilaivan, T., 1999. Labdane diterpenoids from *Croton oblongifolius*. *Phytochemistry*, 50, 449-453.
- Row, L.R., Viswanadham, N., 1954. Colouring matter of the flower petals of *Bauhinia tomentosa* linn. *Proc. Indian. Acad. Sci.*, 39, 240.
- Safir, O., Fkih-Teouani, S., Tommasi, N., Aquino, R., 1998. Saponins from *Zygophyllum gaetulum*. *J. Nat. Prod.*, 130-134.

- Salatino, A., Salatino, M.L.F., Giuseppina N., 2007. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). J. Brazil. Chem. Soc., 18, 11-33.
- Santos, A.G., Perez, C.C., Tininis, A.G., Bolzani, V.S., Cavalheiro, A.J., 2007. Clerodane Diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Swartz. Quim. Nova, 30, 1100-1103.
- Santos, H.S., Furtado, E.F., Bertini, L.M., Bandeira, P.N., Albuquerque, M.R.J.R., Menezes, J.E.S.A., Trevisan, M.T.S., Lemos, T.L.G., 2010. Chemical Composition and Cholinesterase inhibition of essential oils of three chemotypes from *Croton zehntneri*. Rev. Latinoamer. Quim., 38, 1.
- Sarker, S.D., Latif, Z., Gray, A.I., 2006. Natural Products Isolation. Second Edition. Humana Press Inc., New Jersey.
- Schmelzer, G.H., Gurib-Fakim, A., 2008. Prota: Medicinal Plants 1. Wageningen, Netherlands.
- Schmidt, E., Lötter, M., McClelland, W., 2002. Trees and Shrubs of Mpumalanga and Kruger National Park. Jacana, Johannesburg, South Africa.
- Serrano, R., Gomes, E.T., Silva, O., 2008. Identificação botânica de *Maytenus senegalensis* folha como fármaco vegetal. Workshop *Plantas Medicinais e Fitoterapêuticas nos Trópicos*. IICT /CCCM.
- Setshogo, M.P., Venter, F., 2003. Trees of Botswana: names and distribution. (Southern African Botanical Diversity Network Report) N°. 18. Pretoria. University of Botswana Herbarium, Gaborone.
- Setzer, W.N., Stokes, S.L., Bansal, A., Haber, W.A., Caffrey, C.R., Hansell, E., McKerrow, J.H., 2007. Chemical Composition and Cruzain Inhibitory Activity of *Croton draco* Bark Essential Oil from Monteverde Costa Rica. Nat. Prod. Commun., 2, 685-689.
- Silva, D.M., Costa, E.V., Nogueira, P.C.L., Moraes, V.R.S., Cavalcanti, S.C.H., Salvador, M.J., Ribeiro, L.H.G., Gadelha, F.R., Barison, A., Ferreira, A.G., 2012. *ent*-Kaurane diterpenoids and other constituents from the stem of *Xylopiia laevigata* (Annonaceae). Quim. Nov., 35, 1570-1576.
- Silva, F.R., Szpoganicz, B., Pizzolatti, M.G., Willrich, M.A., Sousa, E., 2002. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacol., 83, 33-37.
- Silva, F.R., Wisniewewski Junior, A., Cechinel Filho, V., Nunes, D.S., 2012. Chemical composition of essential oil from the bark of *Croton cajucara* Benth. Acta Sci-Technology, 34, 325-329.
- Silva, K., Biavatti, M.W., Leite, S.N., Yunes R.A., Monache F.D., Cechinel Filho, V., 2000. Phytochemical and Pharmacognostic investigation of *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae). Z. Naturforsch., 55, 478-480.
- Silva, K.L., Cechinel Filho, V., 2002. Plantas do género *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. Quim. Nova, 25, 449-454.
- Simionatto, E., Bolzani, V.F.L., Morel, A.F., Poppi, N.R., Raposo Júnior, J.L., Stuker, C.Z., Peruzzo, G.M., Peres, M.T.L.P., Hess, S.C., 2007. Chemical composition and

- evaluation of antibacterial and antioxidante activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) stem bark. J. Braz. Chem. Soc., 18, 879-885.
- Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosman, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R., 2007. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da UFSC-UFRGS.
- Simon J. E., Koroch A.R., Acquaye D., Jefthas E., Juliani R., Govindasamy R. Medicinal Crops of Africa. Issues in new crops and new uses. J. Janick and A. Whipkey (eds.). ASHS Press, Alexandria, VA, 2007.
- Singh, P., Jain, S., Jakupovic, J., 1988. Clerodane derivatives from *Grangea maderaspatana*. Phytochemistry, 27, 1537-1539.
- Snatzke, F., Wolff, P., 1989. Constituents of the roots os *Piliostigma tonningii* (Leguminosae). Bull. Chem. Soc. Ethiopia, 3, 135-138.
- Soro, K., Soro, D., N'Guessan, K., Gnahoua, G.M., Traoré, D., 2010. Parasitisme des *Loranthaceae* sur les hévéas en zone forestière des sous-préfectures de Gagnoa et d'Ourahagio, en Côte d'Ivoire. J. Anim. Plant Sci., 6, 597- 604.
- Sosa, S., Morelli, C.F., Tubaro, A., P. Cairolì, G. Speranza, P. Manitto., 2007. Anti-inflammatory activity of *Maytenus senegalensis* root extracts and of maytenoic acid. Phytomedicine, 14, 109-114.
- Sousa, E., Szpoganicz, B., Pizzolatti, M.G., 1998. VI Encontro de Química da Região Sul da Sociedade Brasileira de Química, Maringá, Brasil.
- Souza, A.D.L., Rocha, A.F.I., Pinheiro, M.L.B., Andrade, C.H.S., Galotta, A.L.A.Q., Santos, M.P.S.S., 2001. Constituintes Químicos de *Gustavia augusta* L. (Lecythidaceae). Quim. Nova, 24, 439-442.
- Stepp, J.R., 2004. The role of weeds as sources of pharmaceuticals. J. Ethnopharmacol., 92, 163-166.
- Stipanovic, R. D., O'Brien, D. H., Rogers, C.E., Thompson, T.E., 1979. Diterpenoid Acids, (-)-*cis*-and (-)-*trans*-Ozic Acid, in Wild Sunflower, *Helianthus occidentalis*. J. Agric. Food. Chem., 27, 458-459.
- Suárez, A.I., Oropeza, M., Vásquez, L., Tillett, S., Compagnone, R.S., 2011. Chemical composition of the essential oil of *Croton gossypifolius* from Venezuela. Nat. Prod. Commun., 6, 97-99.
- Subrata, D., Suparna, D., 2012. *Gymnosporia montana*, A potencial hepatoprotective and anticancer drug-An overview. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Reseach, 5, 20-24.
- Sultana, S., Ilyas, M., Kamil, M., Shaida, W.A., 1985. Chemical investigation of *Bauhinia vahlii* (Leguminosae). J. Indian Chem. Soc., 62, 337-338.
- Suwancharoen, S., Chonvanich, O., Roengsumran, S., Pornpakakul, S., 2012. *seco*-Kaurane skeleton diterpenoids from *Croton oblongifolius*. Chem. Nat. Compd., 48, 583-586.

- Takahashi, N., Fukushi, E., Onodera, S., Benkeblia, N., Nishimoto, T., Kawabata, J., Shiomi, N., 2007. Three novel oligosaccharides synthesized using *Thermoanaerobacter brockii* kojibiose phosphorylase. *Chem. Cent. Journal*, 1, 18.
- Takehige, Y., Kawakami, S., Matsunami, K., Otsuka, H., Lhieochaiphant, D., Lhieochaiphant, S., 2012. Oblongionosides A-F, megastigmane glycosides from the leaves of *Croton oblongifolius* Roxburgh. *Phytochemistry*, 80, 132-136.
- Tane, P., Tatsimo, S., Connolly, J.D., 2004. Crotomacrine, a new clerodane diterpene from the fruits of *Croton macrostachyus*. *Tetrahedron Lett.*, 45, 6997-6998.
- Thuong, P.T., Pham, T.H., Le, T.V., Dao, T.T., Dang, T.T., Nguyen, Q.T., Oh, W.K., 2012. Symmetric dimers of ent-kaurane diterpenoids with cytotoxic activity from *Croton tonkinensis*. *Bioorgan. Med. Chem. Lett.*, 22, 1122-1124.
- Tulp, M., Bohlin, L., 2004. Unconventional natural sources for future drug discovery. *Drug Discov. Today*, 9, 450-458.
- van Vuuren, S.F., 2007. The Antimicrobial Activity and Essential Oil Composition of Medicinal Aromatic Plants Used in African Traditional Healing. A thesis submitted to the Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, PhD Thesis, Johannesburg.
- van Vuuren, S.F., Viljoen, A.M. 2008. *In vitro* evidence of phyto-synergy for plant part combinations of *Croton gratissimus* (Euphorbiaceae) used in African traditional healing. *J. of Ethnopharmacol.*, 119, 700-704.
- van Wyk, B.E., 2008. A broad review of commercially important southern African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, 119, 342-355.
- Velandia, J.R., Carvalho, M.G., Braz-Filho, R., 1998. Ácido ent-16 $\alpha$ ,17-diidroxicauran-19-óico isolado de *Ouratea semiserrata* e os desafios estereoquímicos dos carbonos quirais C-4 e C-16. *Quim. Nov*, 21, 397-404.
- Viana, E.P., Santa Rosa, R.S., Almeida, S.S.M.S., Santos, L.S., 2000. Resumos da 23<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Caxambu, Brasil.
- Viegas, J.C., Bolzani, V.B., Barreiro, E.J., 2006. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quim. Nova*, 29, 326-337.
- Vijayakumari, K., Siddhuraju, P., Janardhanan, K., 1997. Chemical composition, amino acid content and protein quality of the little-known legume *Bauhinia purpurea* L. *J. Sci. Food Agr.*, 73, 279-286.
- Wahab, O.M., Ayodele, A.E., Moody, J.O., 2010. TLC phytochemical screening in some Nigerian *Loranthaceae*. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 2, 64-70.
- Wijeratne, D.B.T., Kumar, V., Sultanbawa, M.U.S., 1981. 3-oxolup-20(29)-en-30-al, a New Lupane from *Gymnosporia emarginata* (Celastraceae). *J. C. S. Perkin I*, 2724-2726.
- Wink, M., 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogeny perspective. *Phytochemistry*, 64, 3-19.

- Yadava, R.N., Tripathi, P., 2000. A novel flavone glycoside from the stem of *Bauhinia purpurea*. *Fitoterapia*, 71, 88-90.
- Yang, M.C., Lee, K.H., Kim, K.H., Choi, S.U., Lee, K.R., 2007. Lignan and Terpene Constituents from the Aerial Parts of *Saussurea pulchella*. *Arch. Pharm. Res.*, 30, 1067-1074.
- Yunes, R.A., Pedrosa, R.C., Cechinel Filho, V., 2001. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim. Nova*, 24, 147-152.
- Zhang, X., Zhang, Z., Stützel, T., 2012. Aril development in Celastraceae. *Feddes Repertorium*, 122, 445- 455.
- Zhu, Y., Zhao, Y., Huang, G.D., Wu, W.S., 2008. Four New Compounds from *Sinacalia tangutica*. *Helv. Chim. Acta*, 91, 1894:1901.
- Zou, G.A., Aisa, H.A., Zhang, H.W., Yang, J.S., Zou, Z.M., 2011. Chemical Composition of *Croton laevigatus*. *Chem. Nat. Compd.*, 47, 993-994.

# **Anexo**



A5-Vincosamida

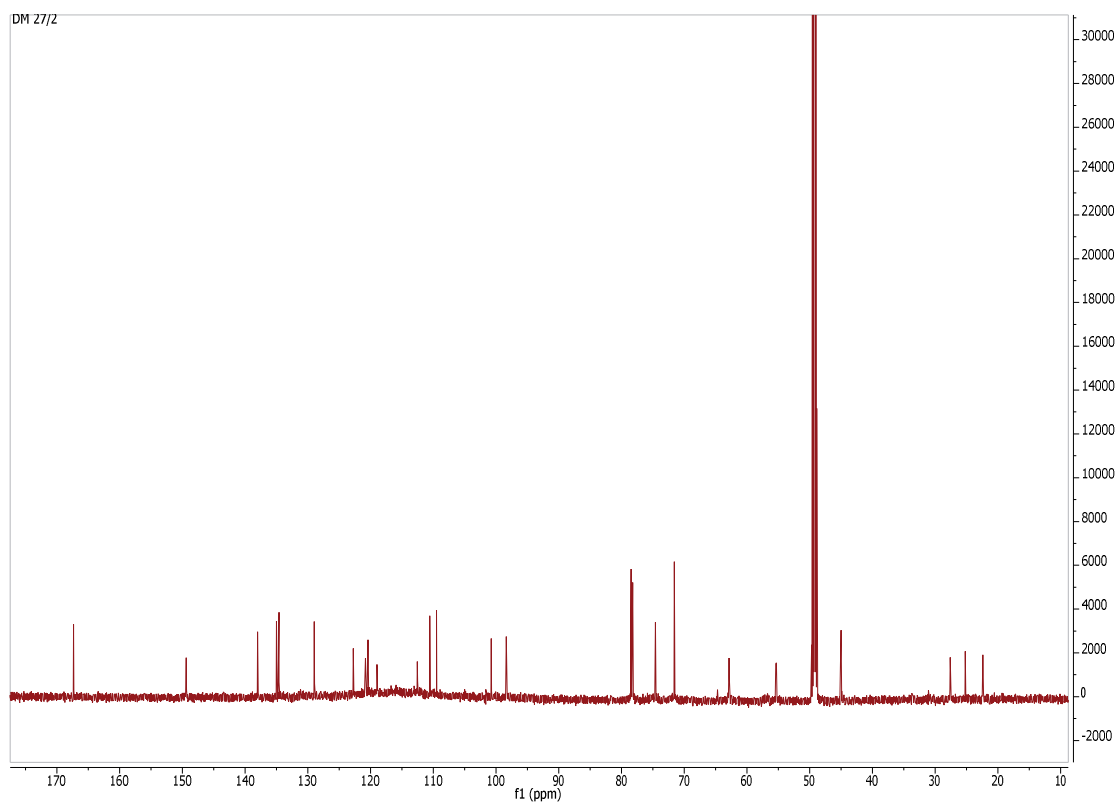
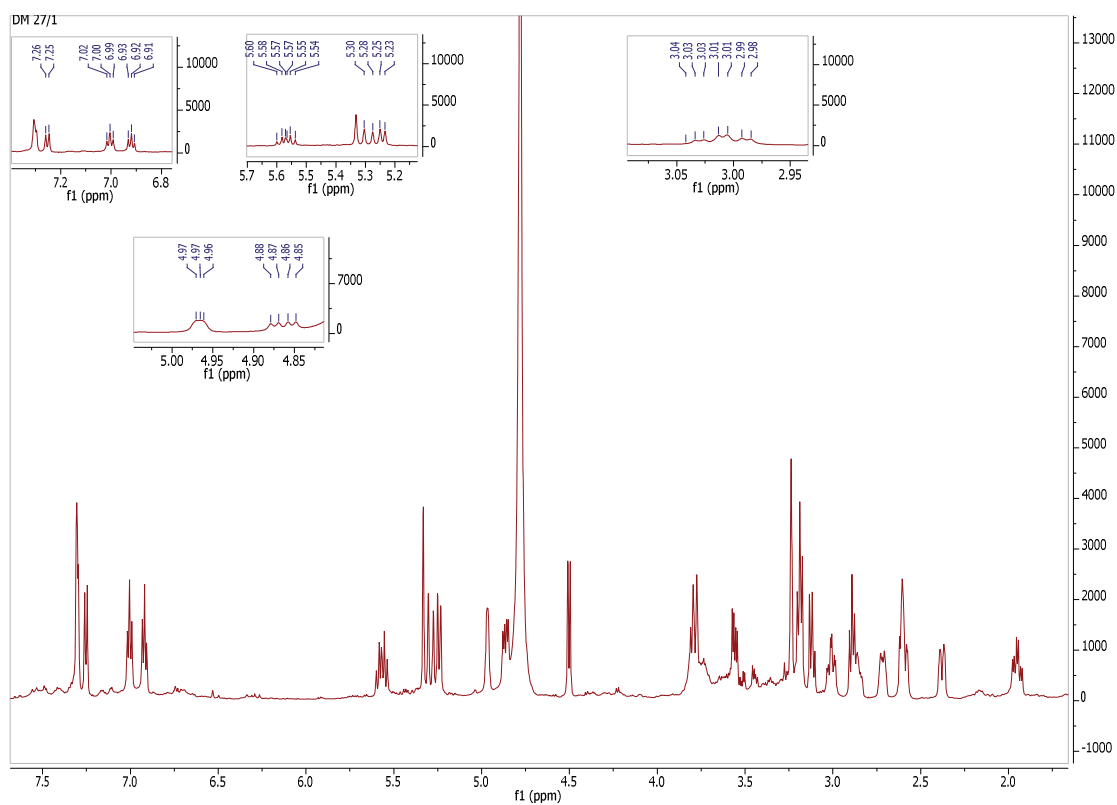


Figura A1: Espectros de RMN <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C de A5.

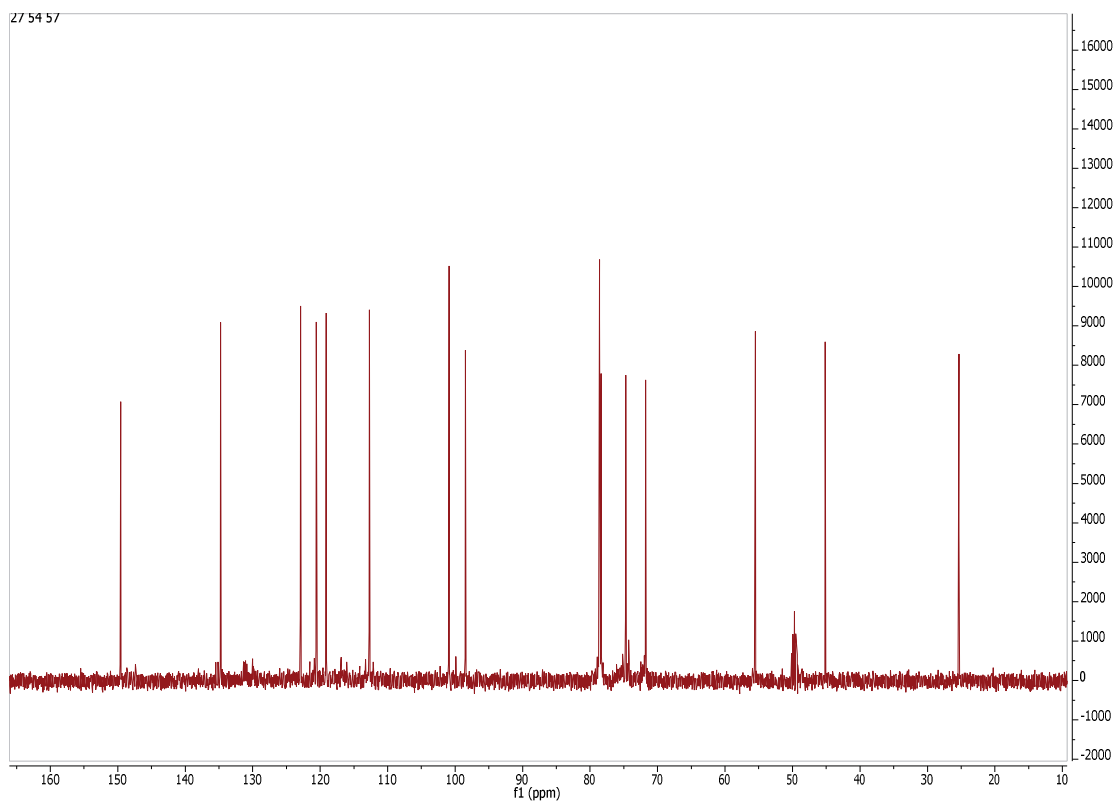
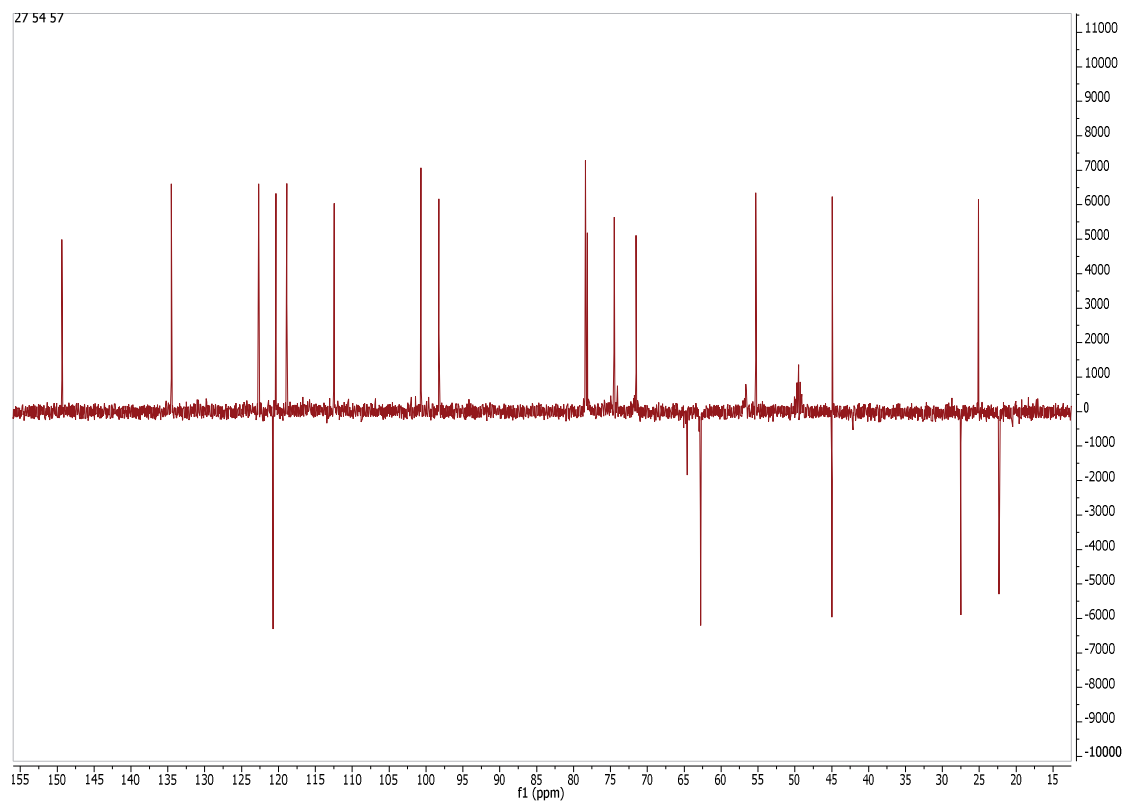


Figura A2: Espetros de DEPT 135° e 90° de A5.

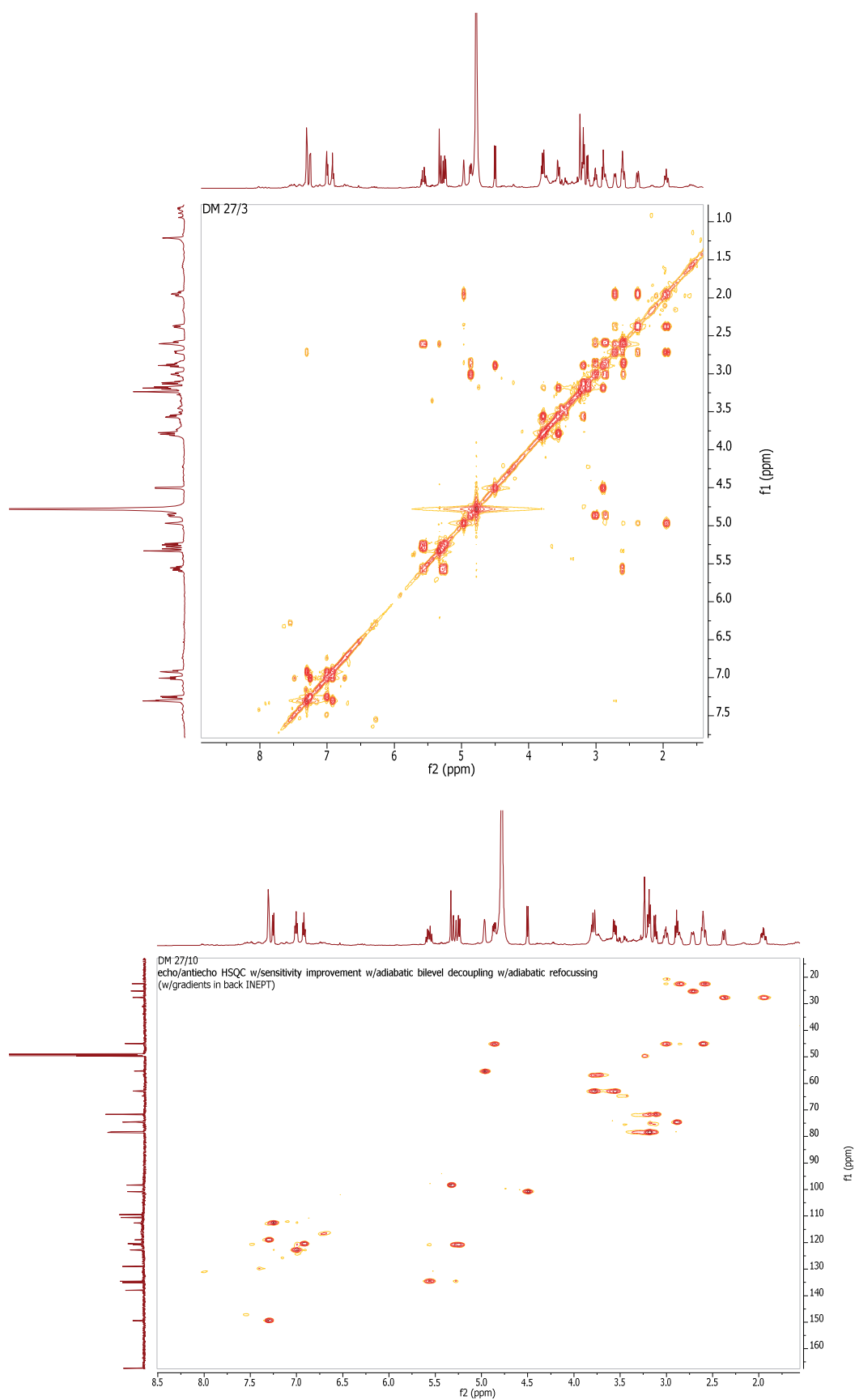


Figura A3: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de A5.

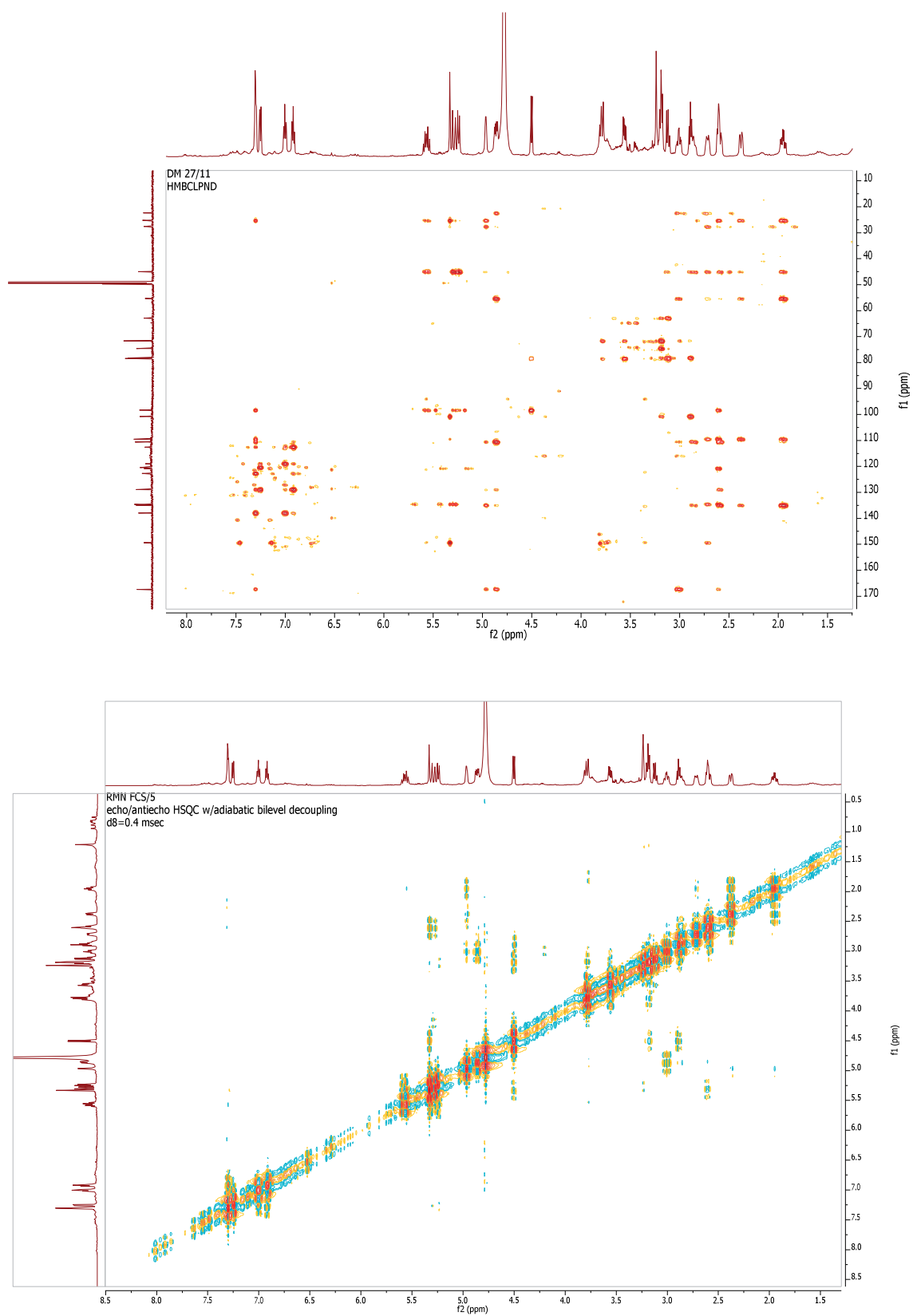
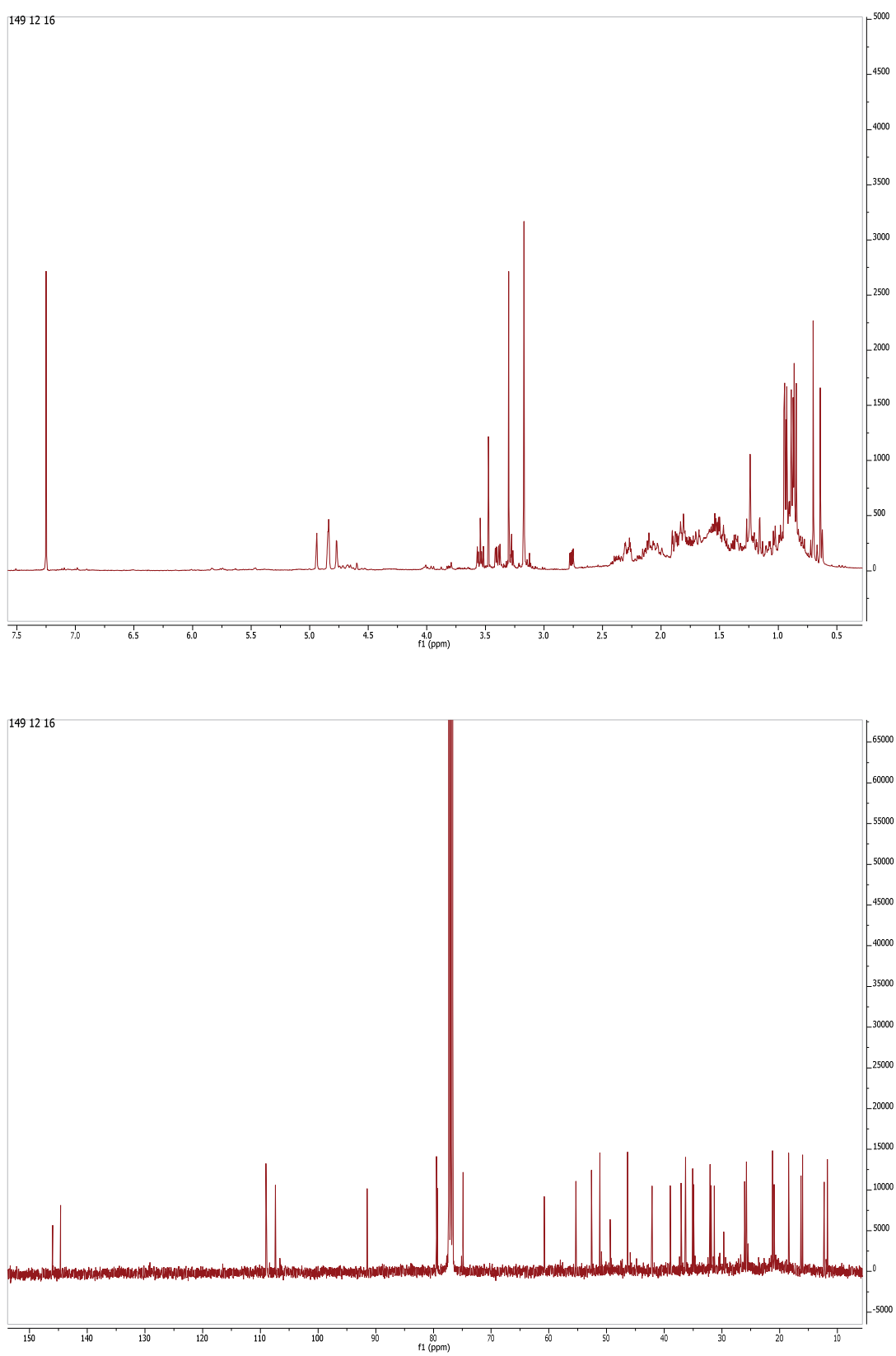


Figura A4: Espectros de HMBC e NOESY de A5.

B2a e B2b - 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -ol e 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -olFigura A5: Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de B2a E B2b.

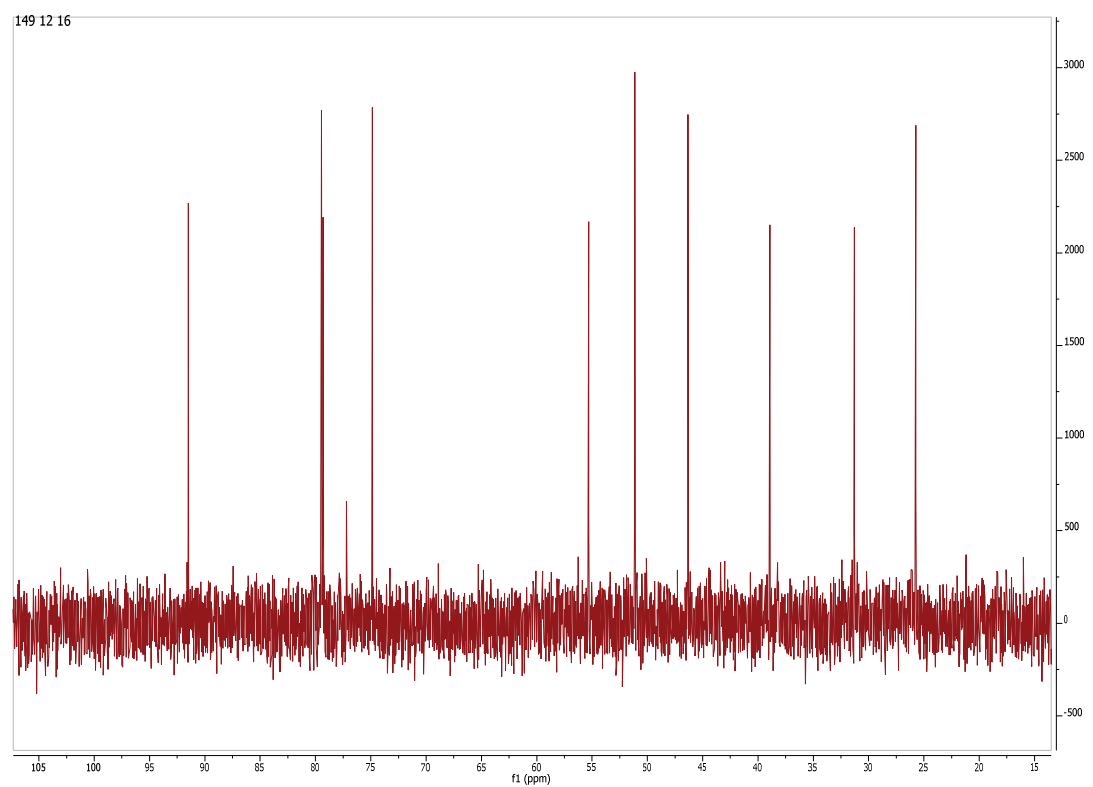
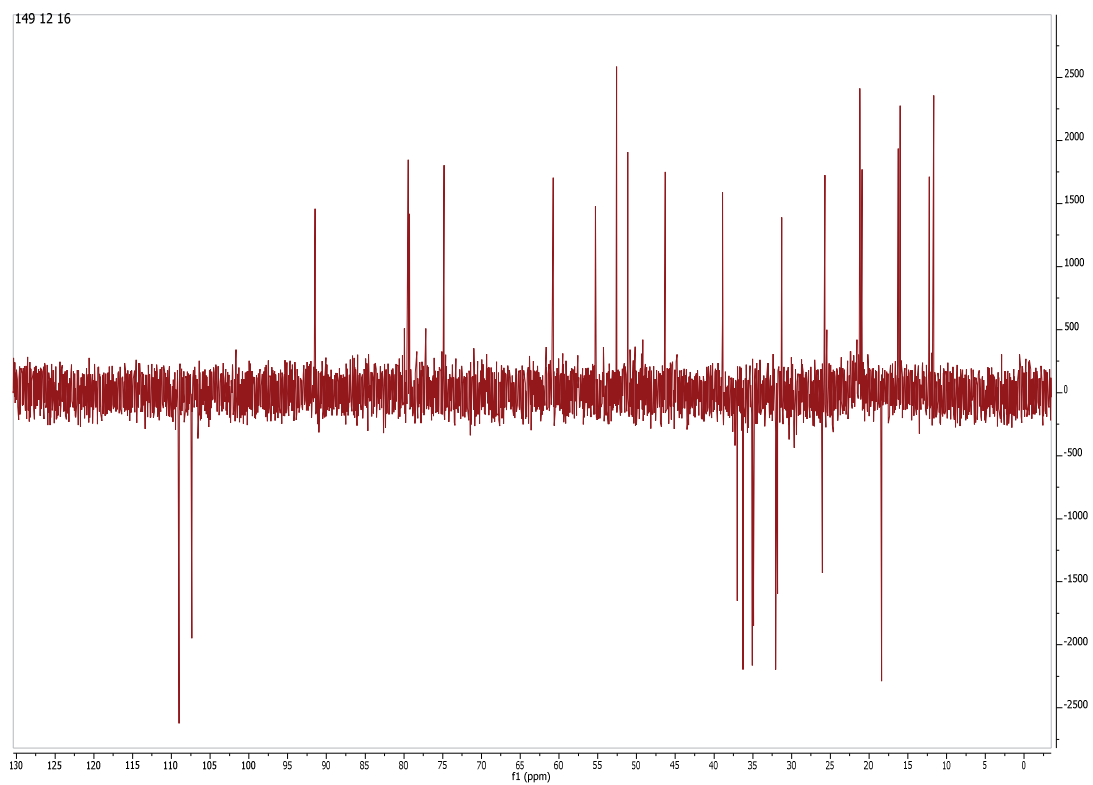


Figura A6: Espectros de DEPT 135° e 90° de B2a E B2b.

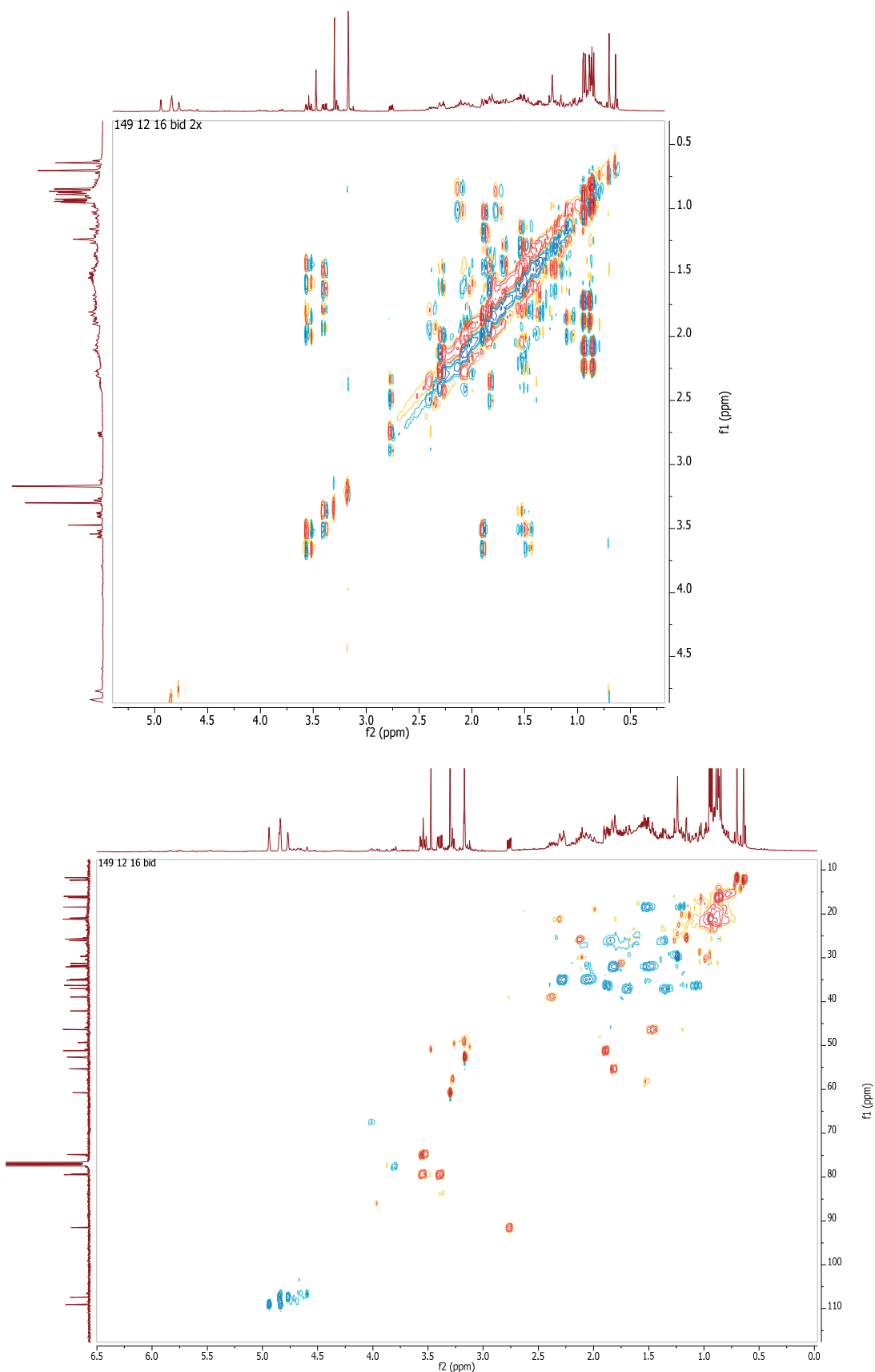


Figura A7: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de B2a E B2b.

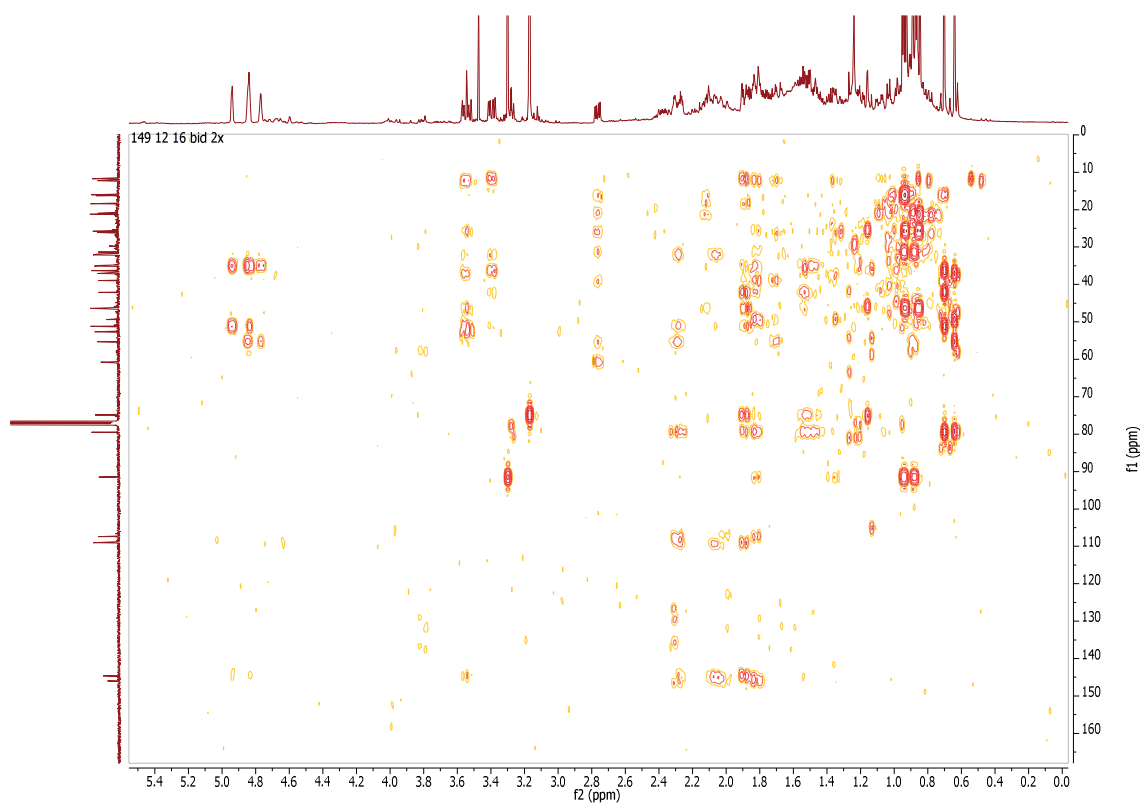
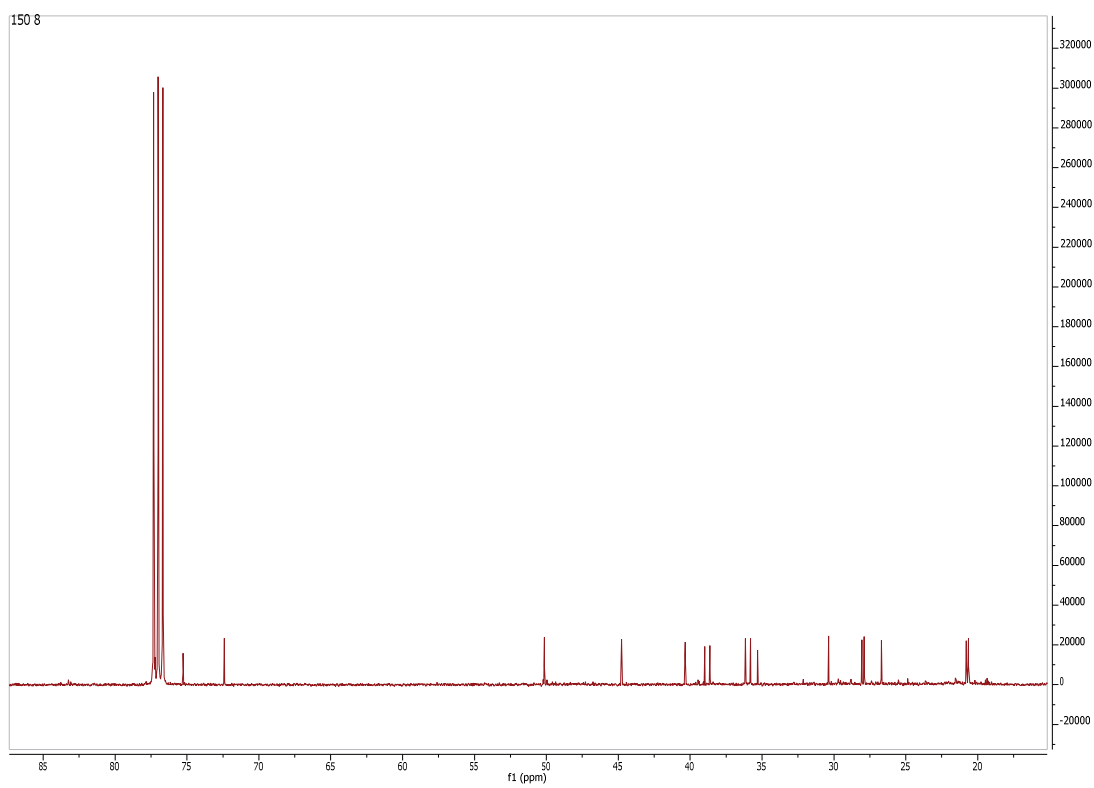
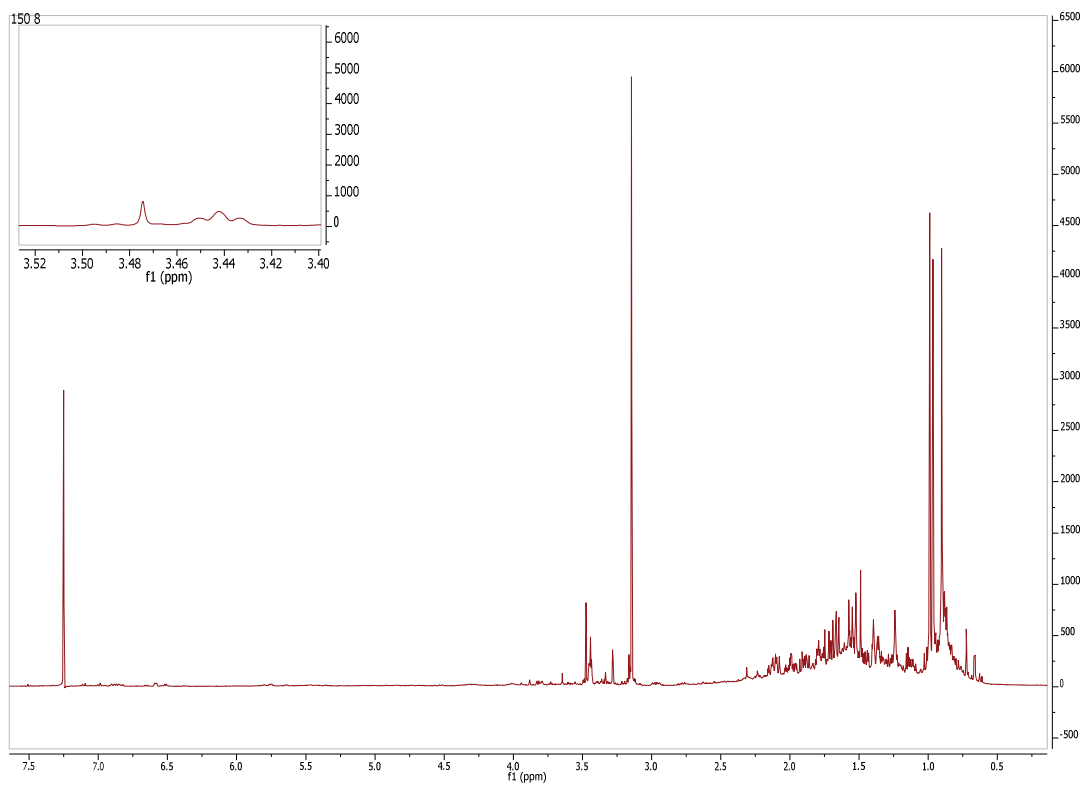


Figura A8: Espectro de HMBC de B2a E B2b.

B3 - 1 $\beta$ -metoxicariolan-9 $\beta$ -olFigura A9: Espetros de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de B3.

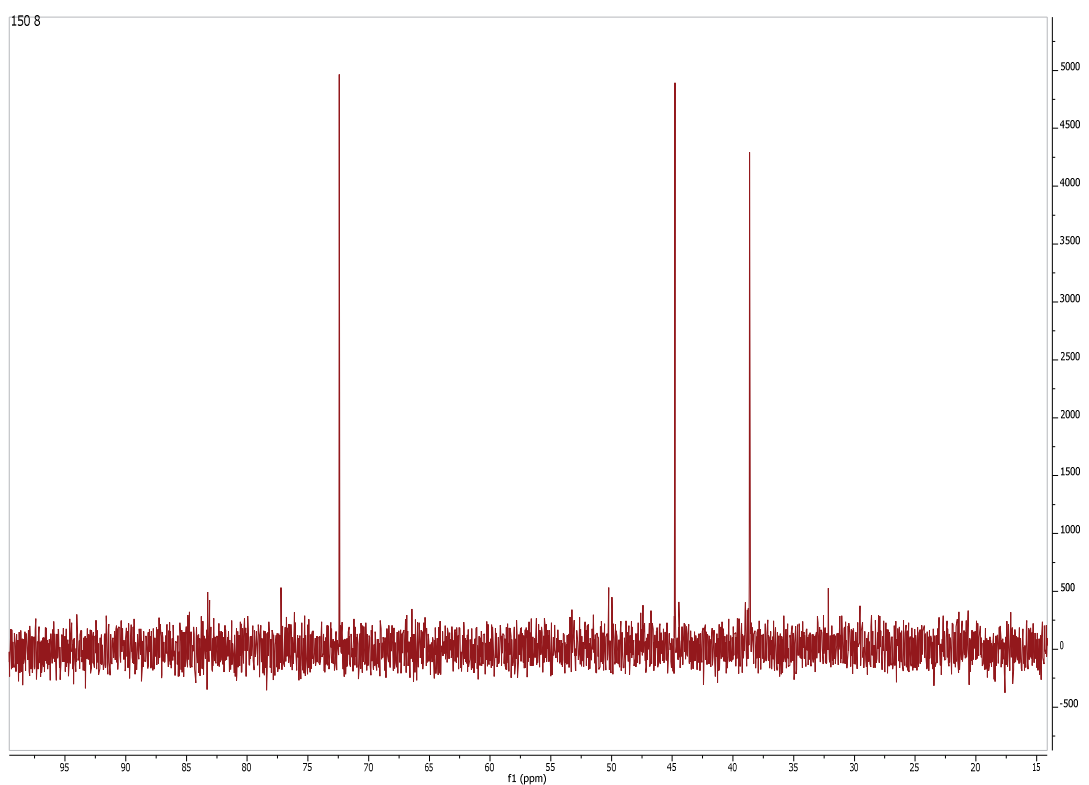
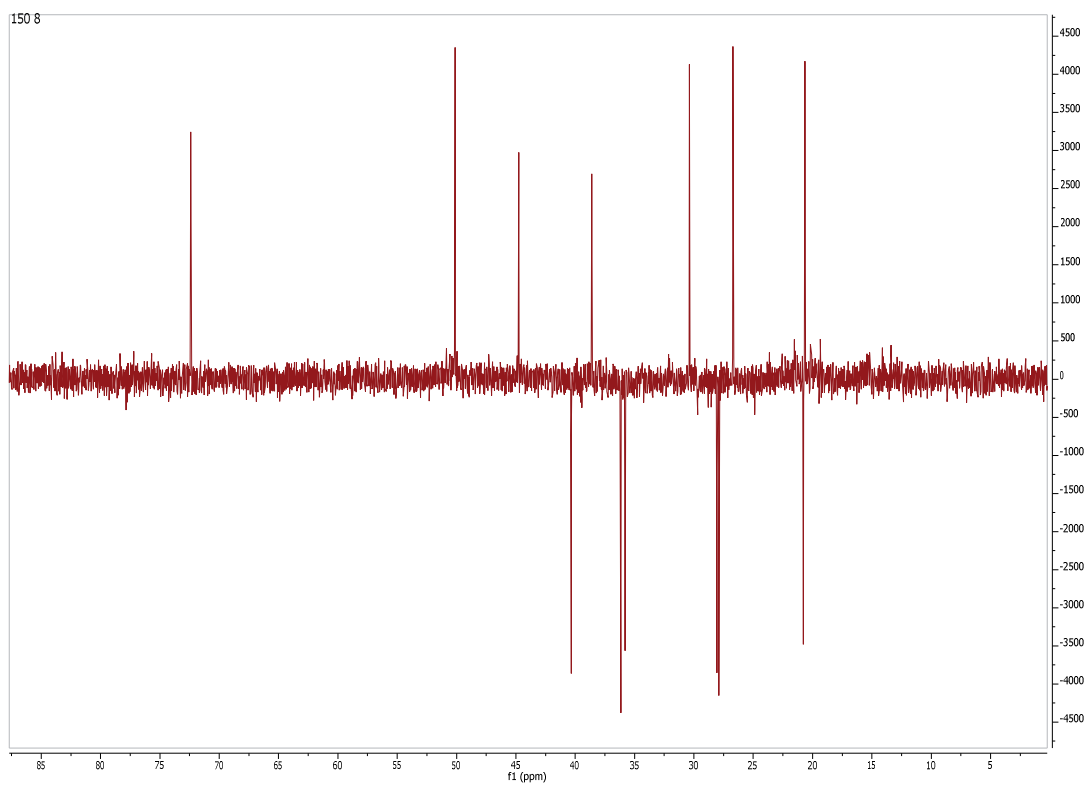
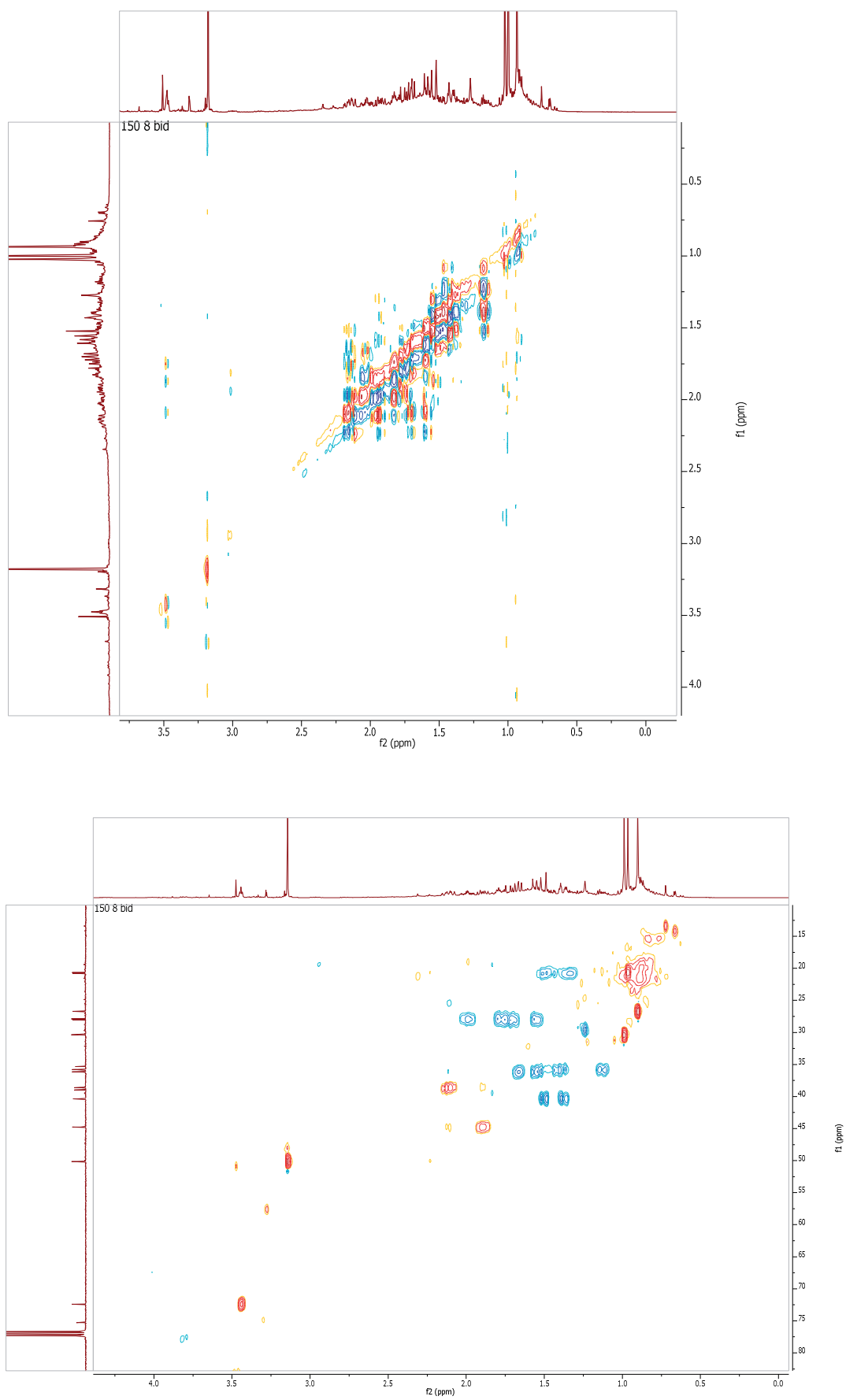


Figura A10: Espectros de DEPT 135° e 90° de B3.

Figura A11: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de B3.

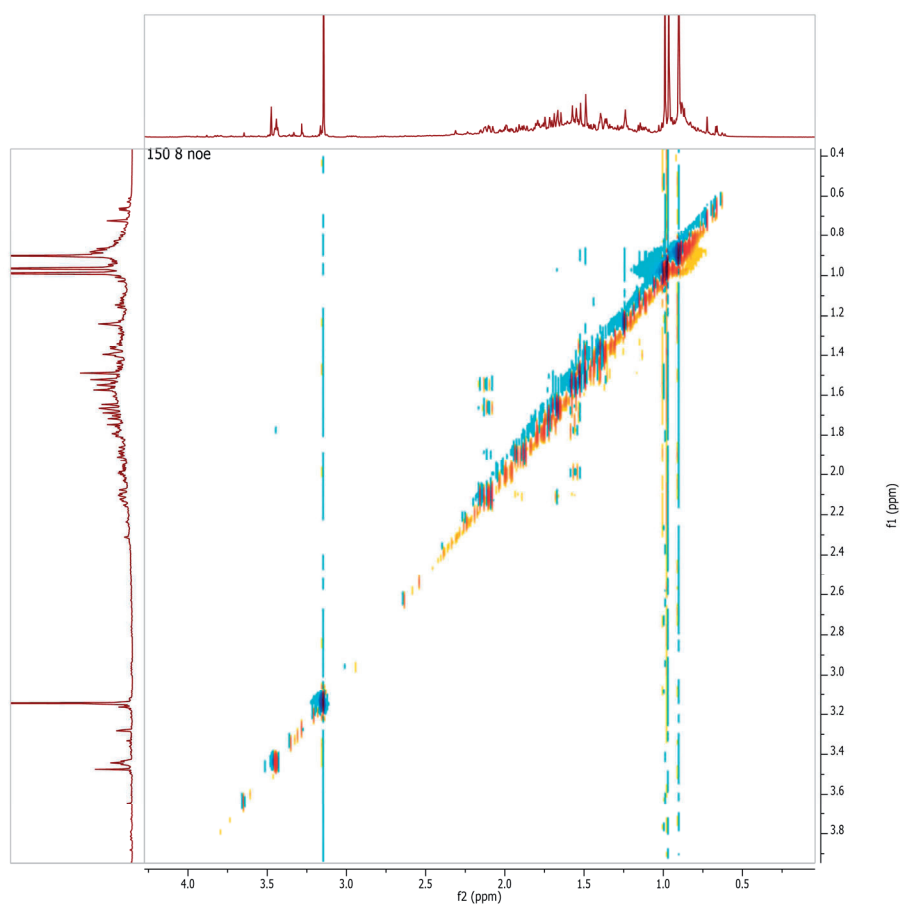
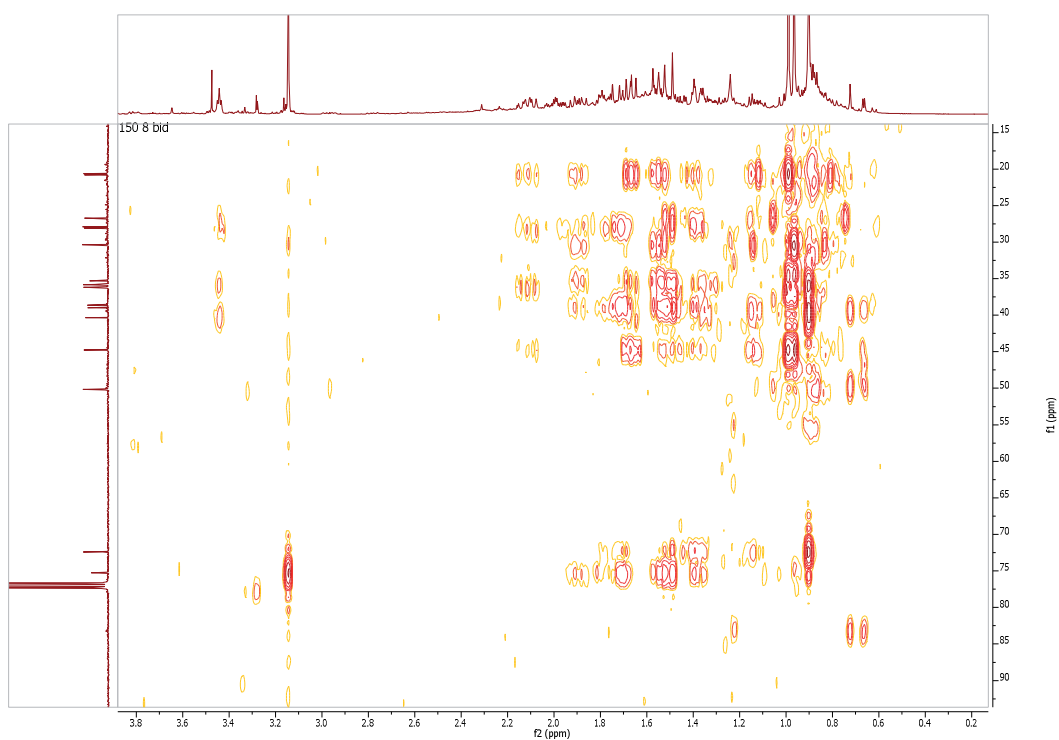
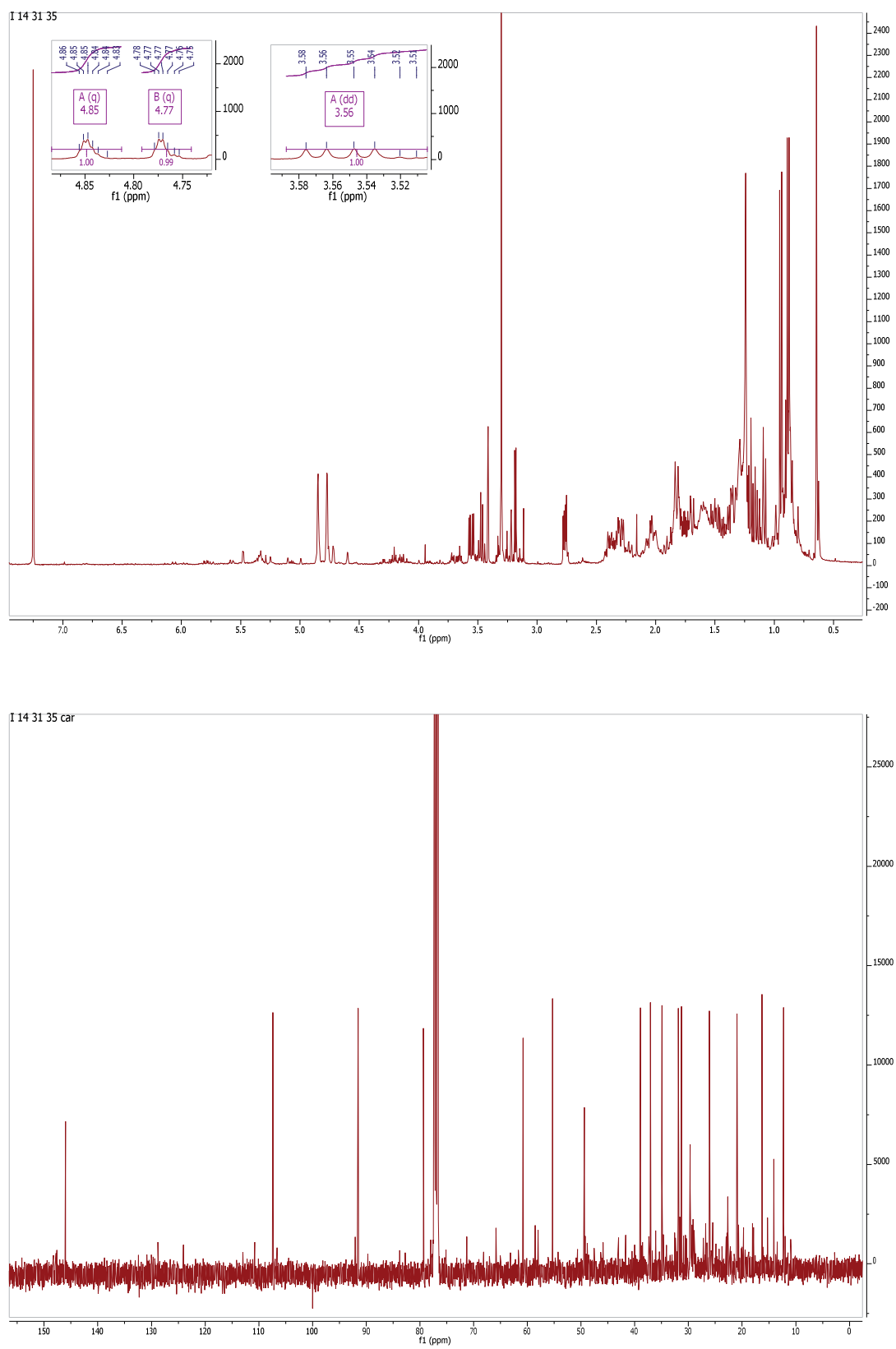


Figura A12: Espetros de HMBC e NOESY de B3.

B11 - 7 $\delta$ -metoxiopposit-4(15)-en-1 $\beta$ -olFigura A13: Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de B11.

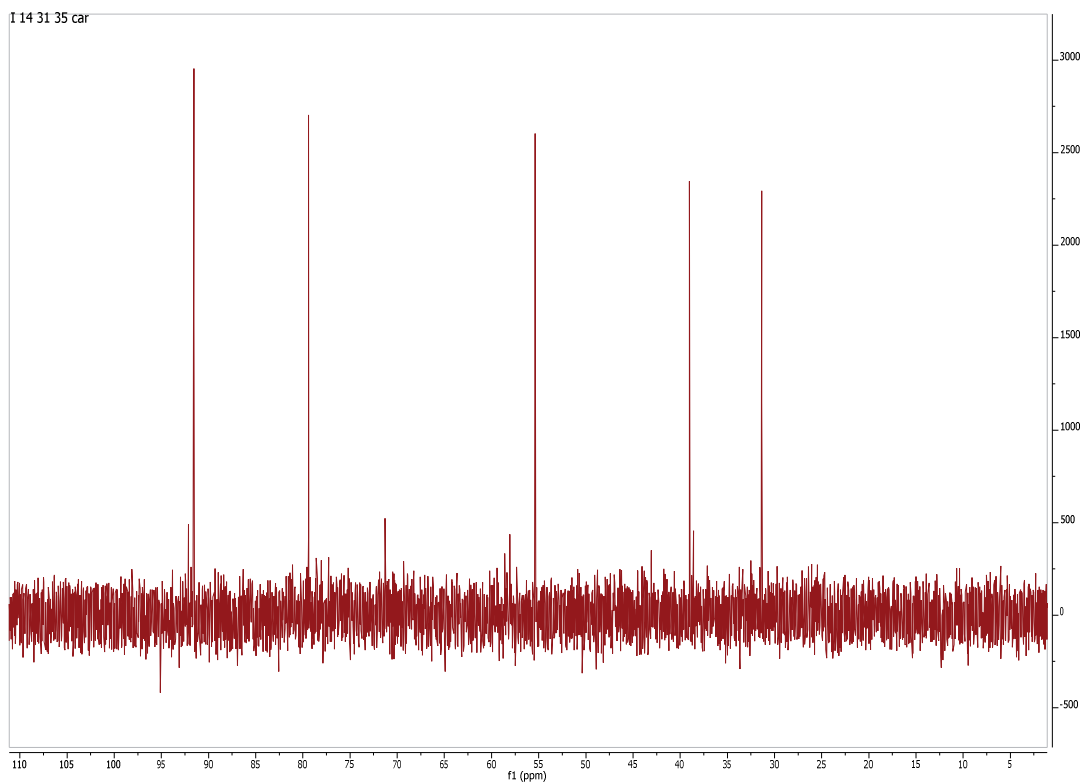
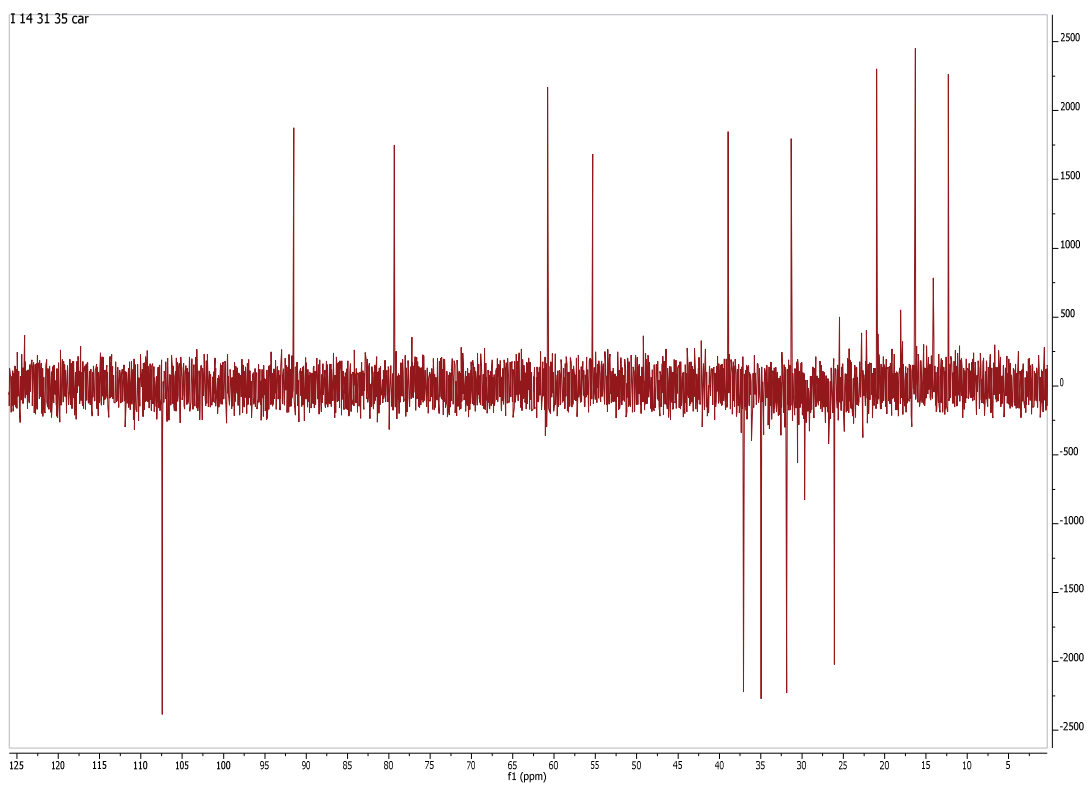


Figura A14: Espetros de DEPT 135° e 90° de B11.

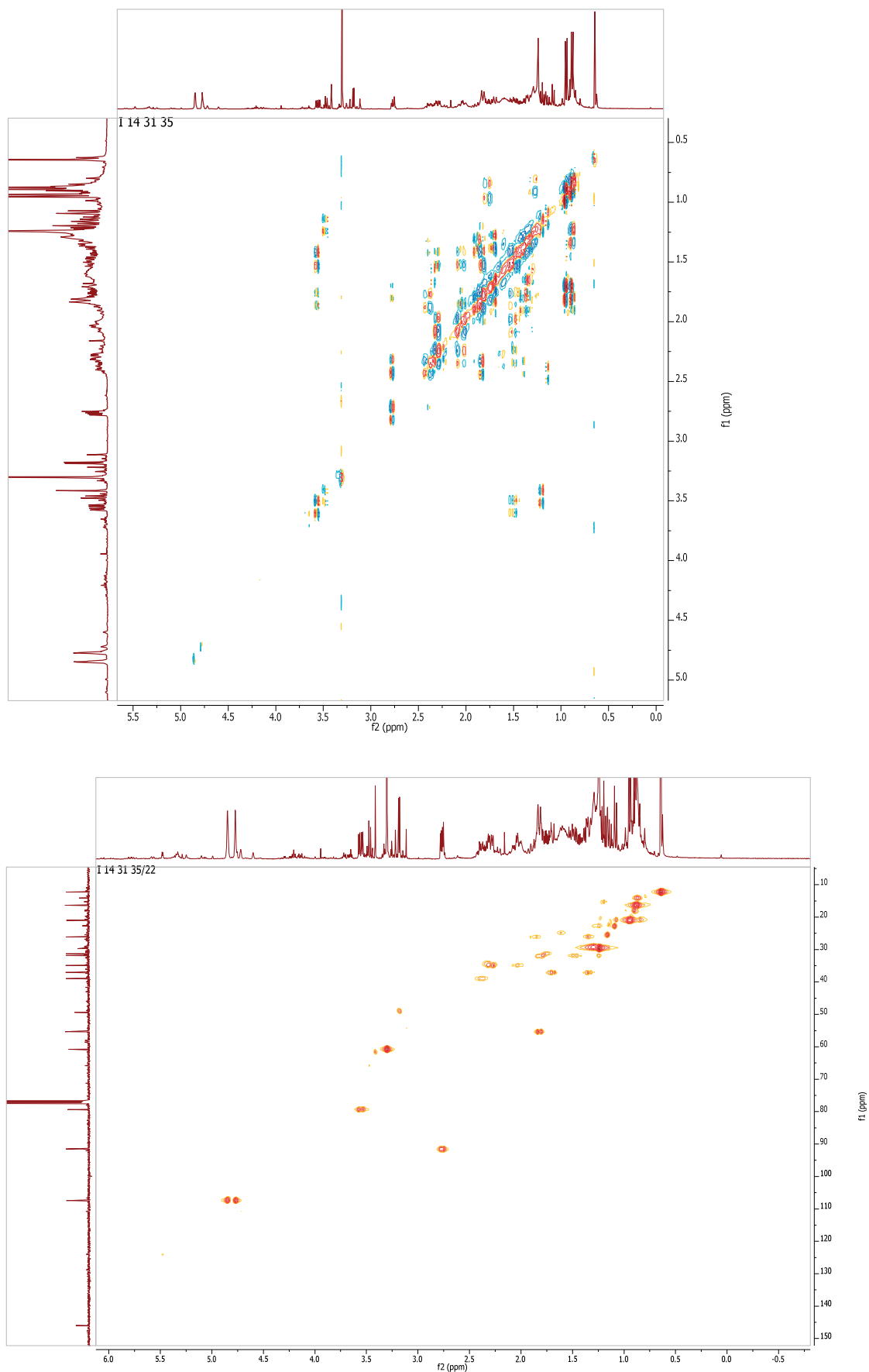


Figura A15: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de B11.

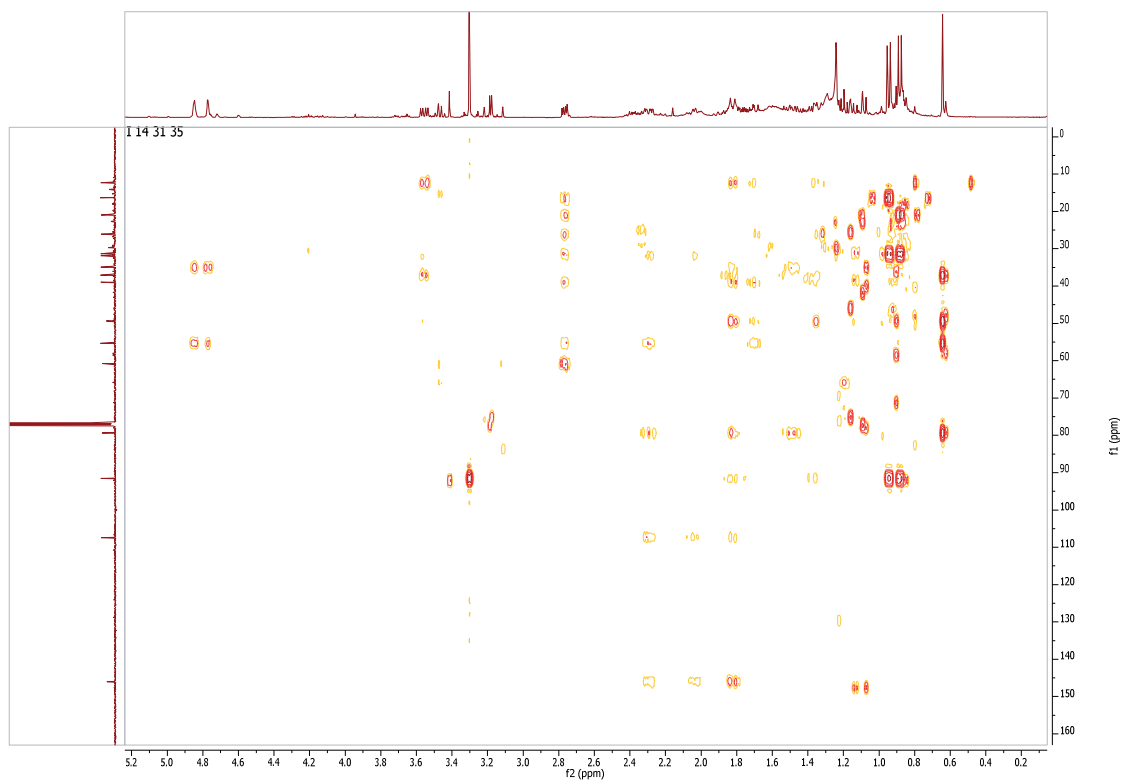
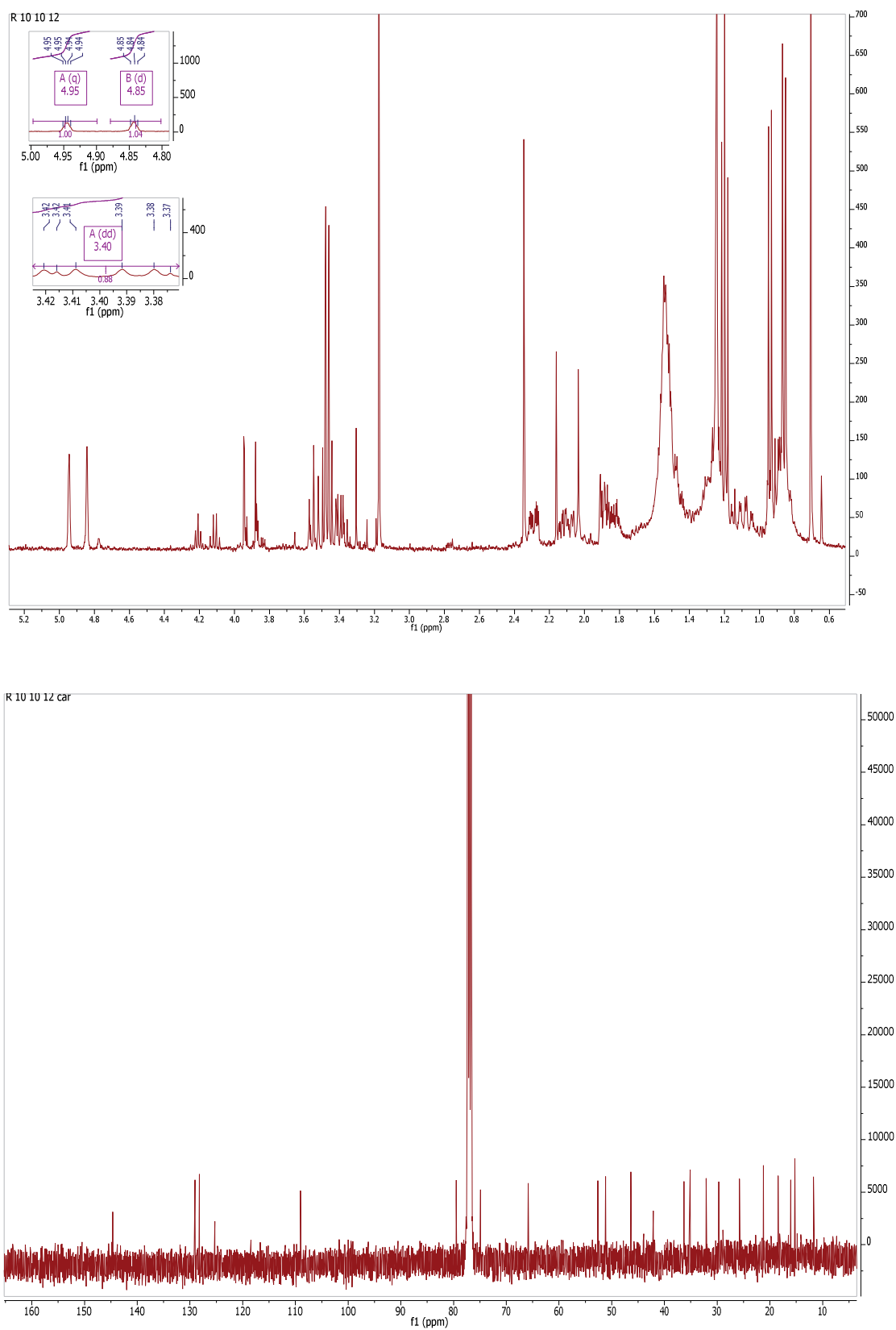


Figura A16: Espectro de HMBC de B11.

B13 - 6 $\alpha$ -metoxieudesm-4(15)-en-1 $\beta$ -olFigura A17: Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de B13.

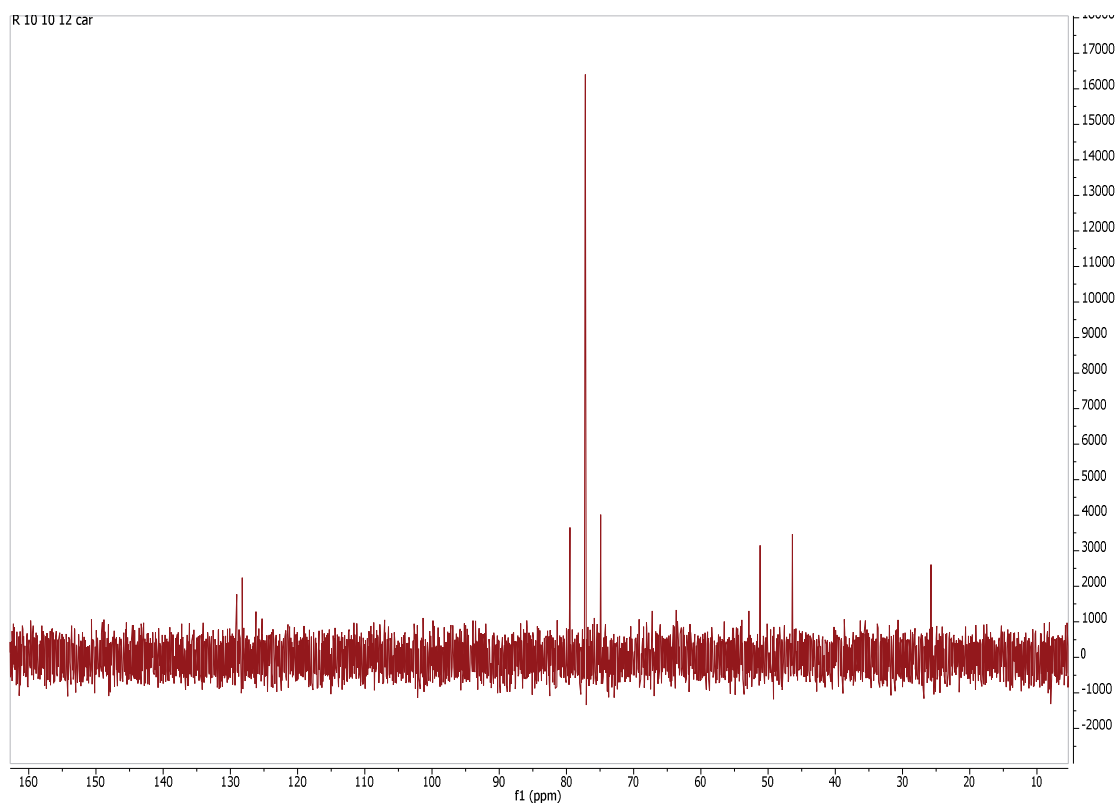
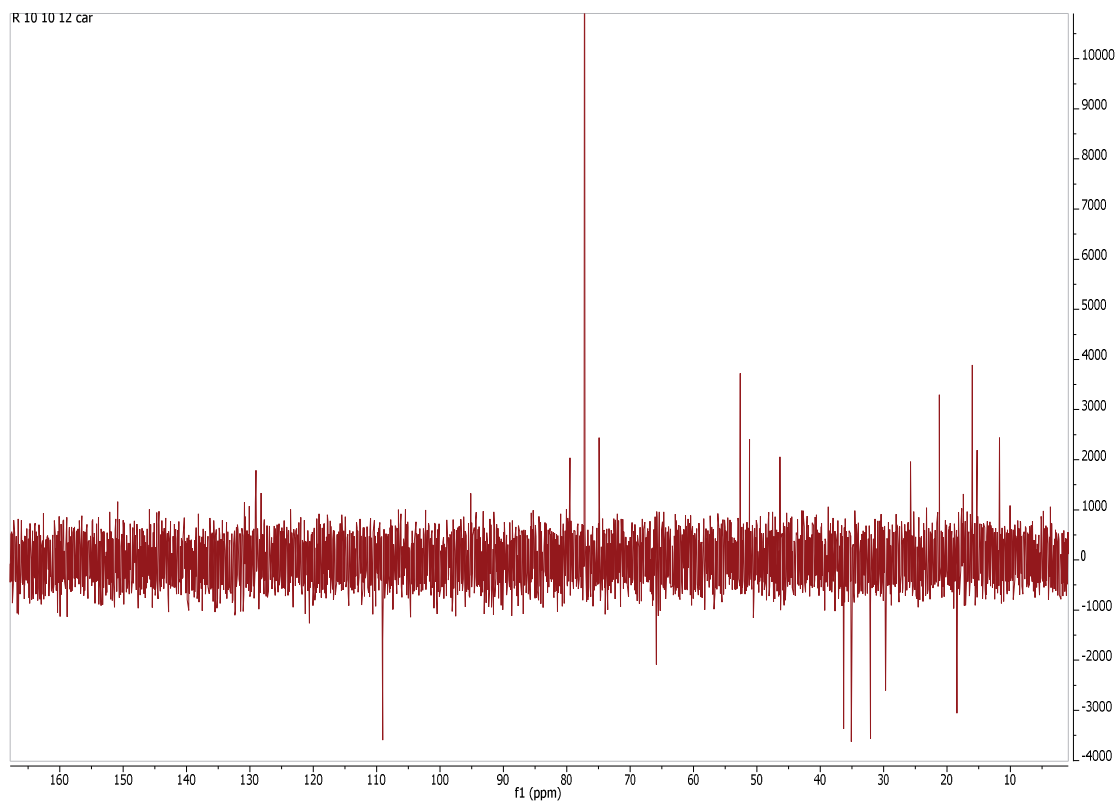


Figura A18: Espectros de DEPT 135° e 90° de B13.

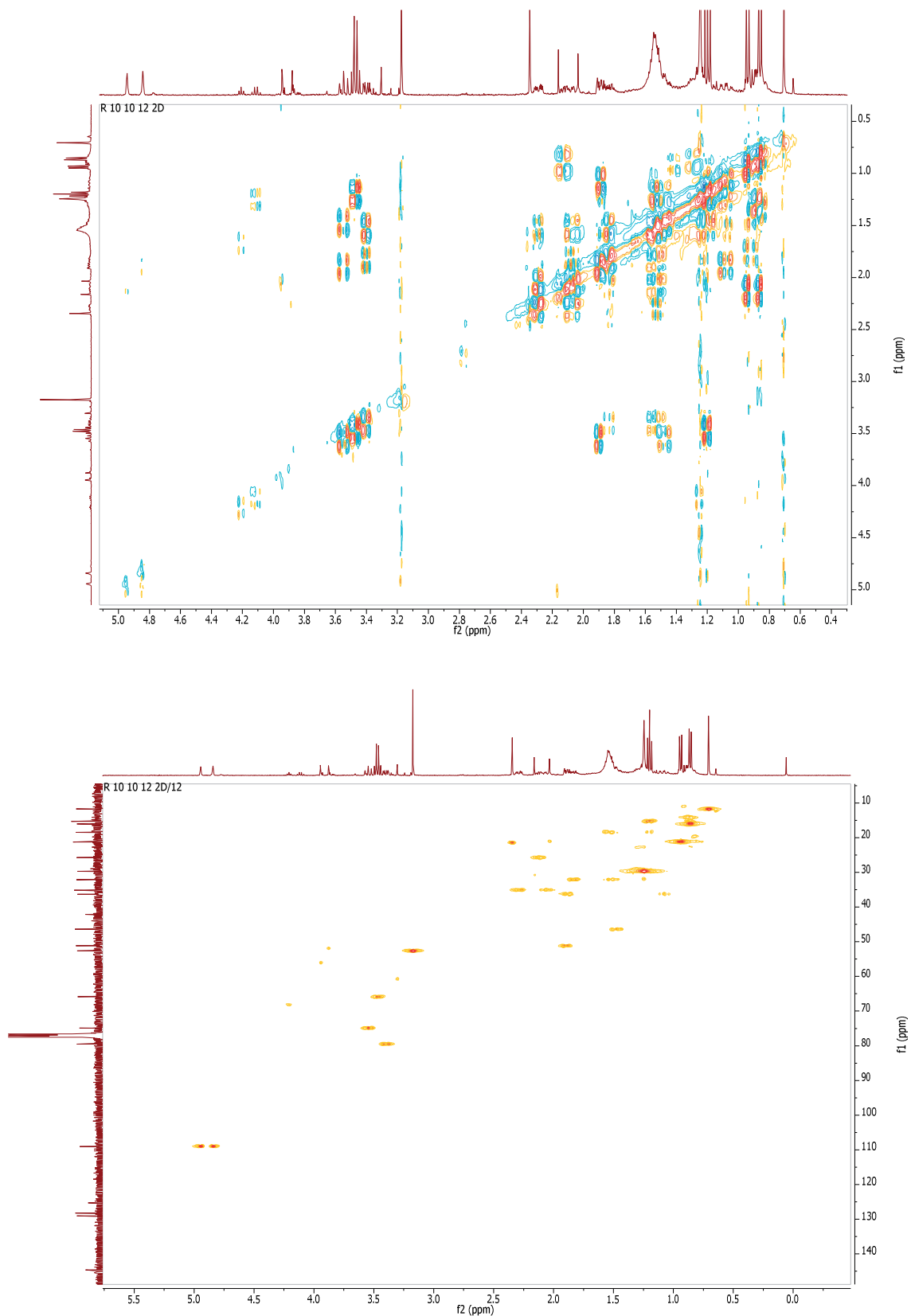


Figura A19: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de B13.

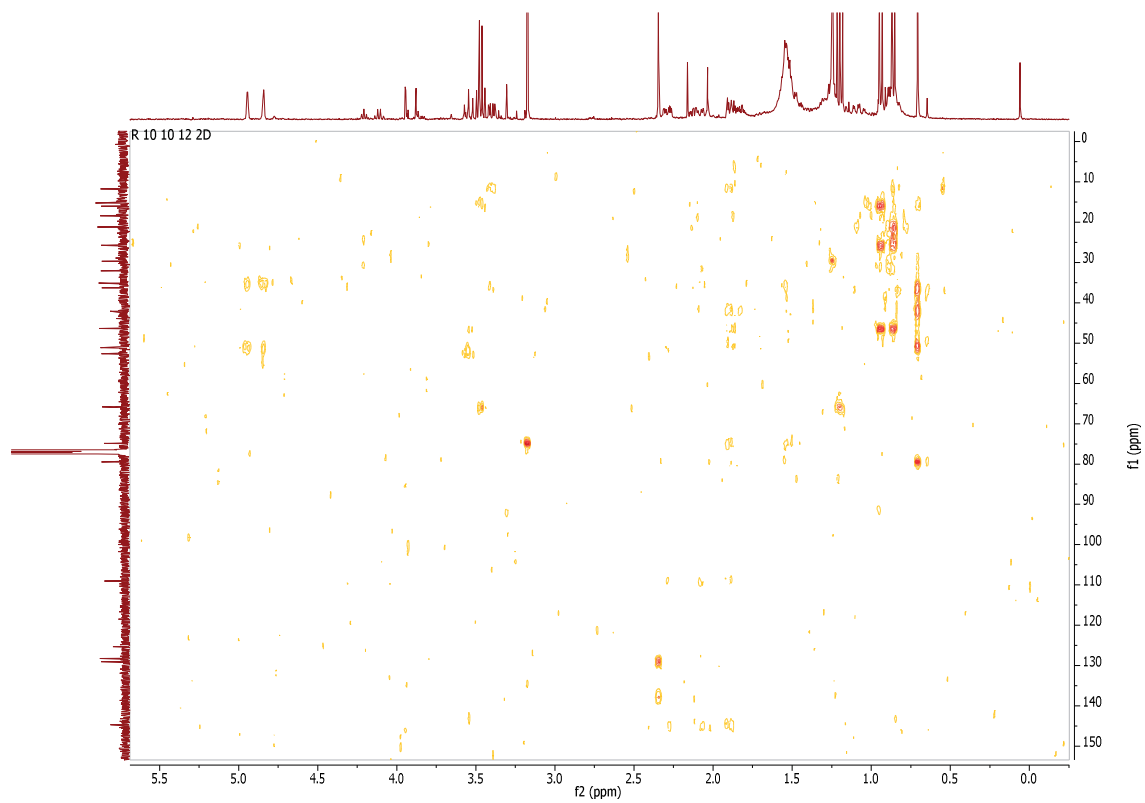
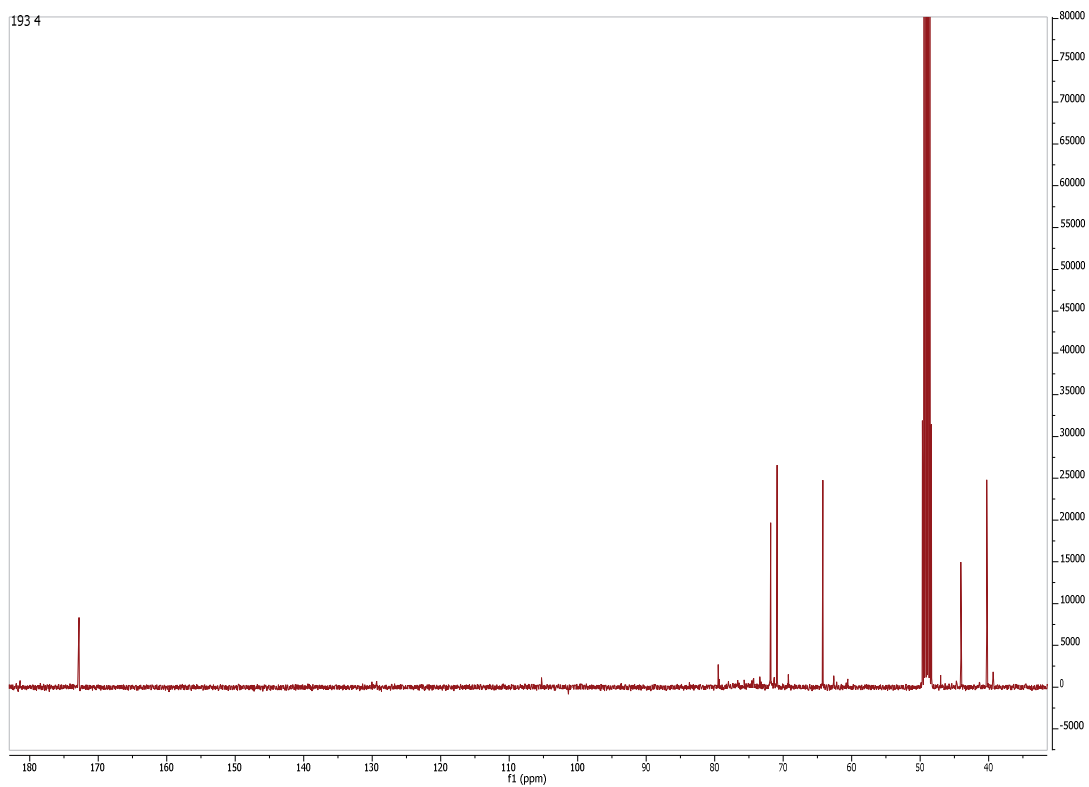
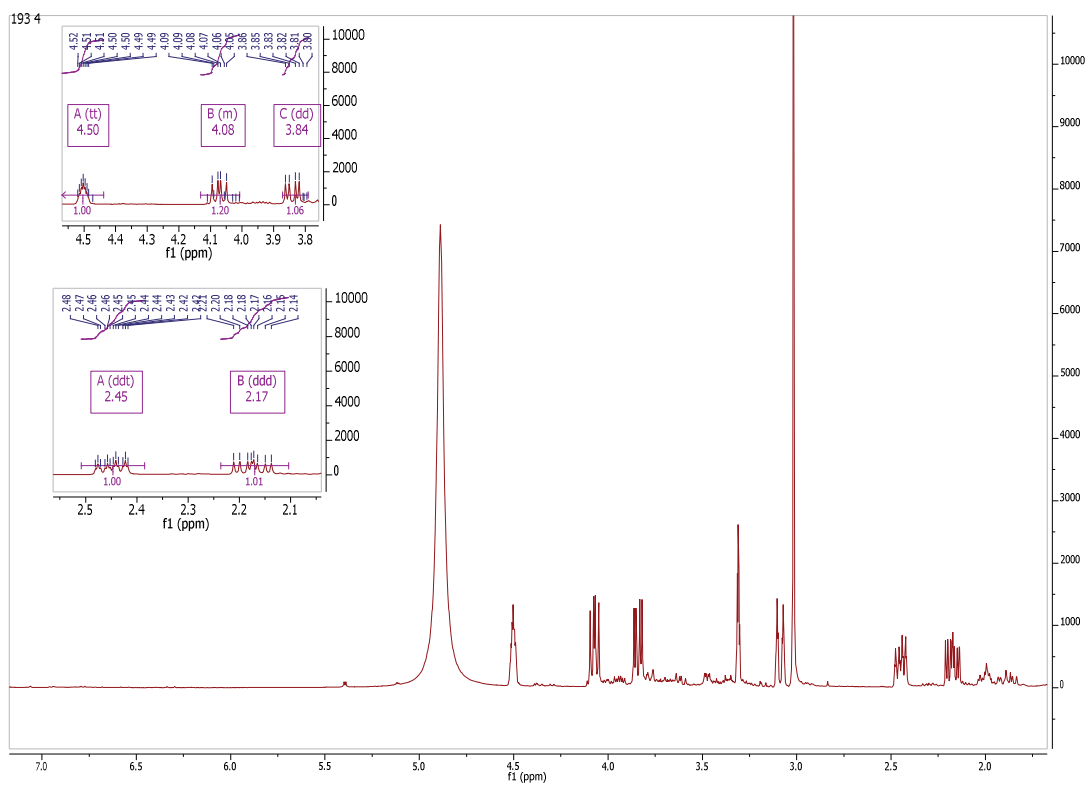


Figura A20: Espectros de HMBC de B13.

B15 - *trans*-4-hidroxi-*N*-metilprolinaFigura A21: Espectros de RMN <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C de B15.

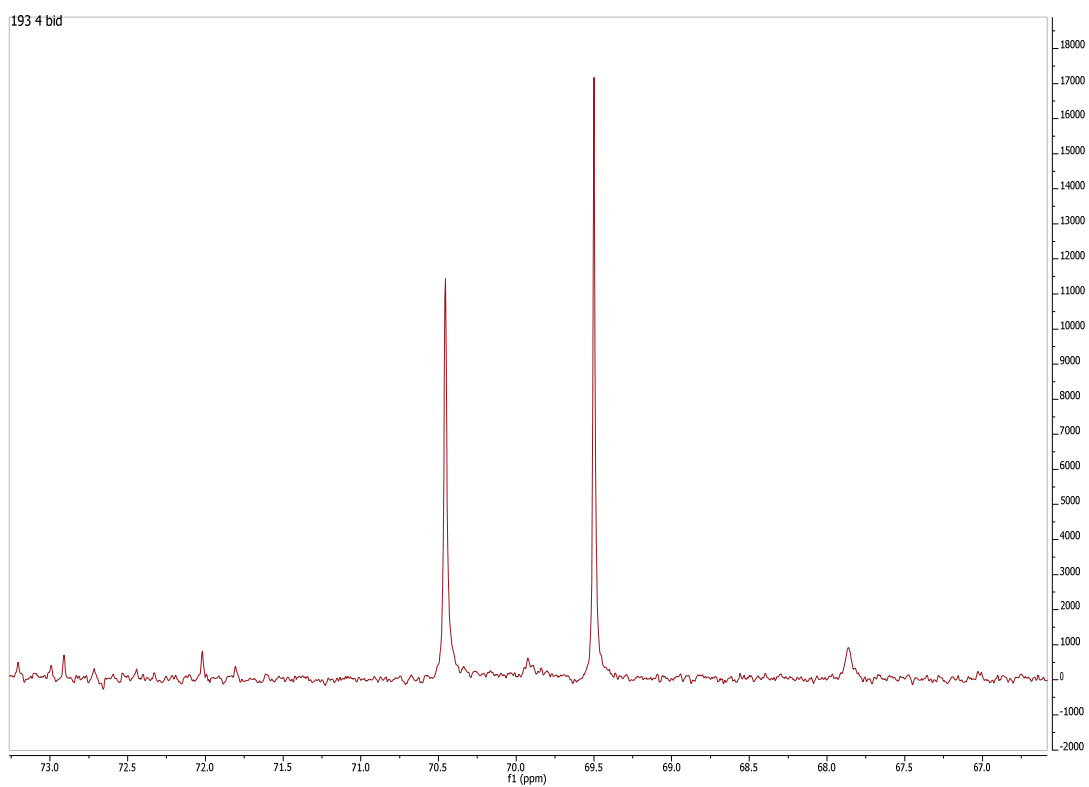
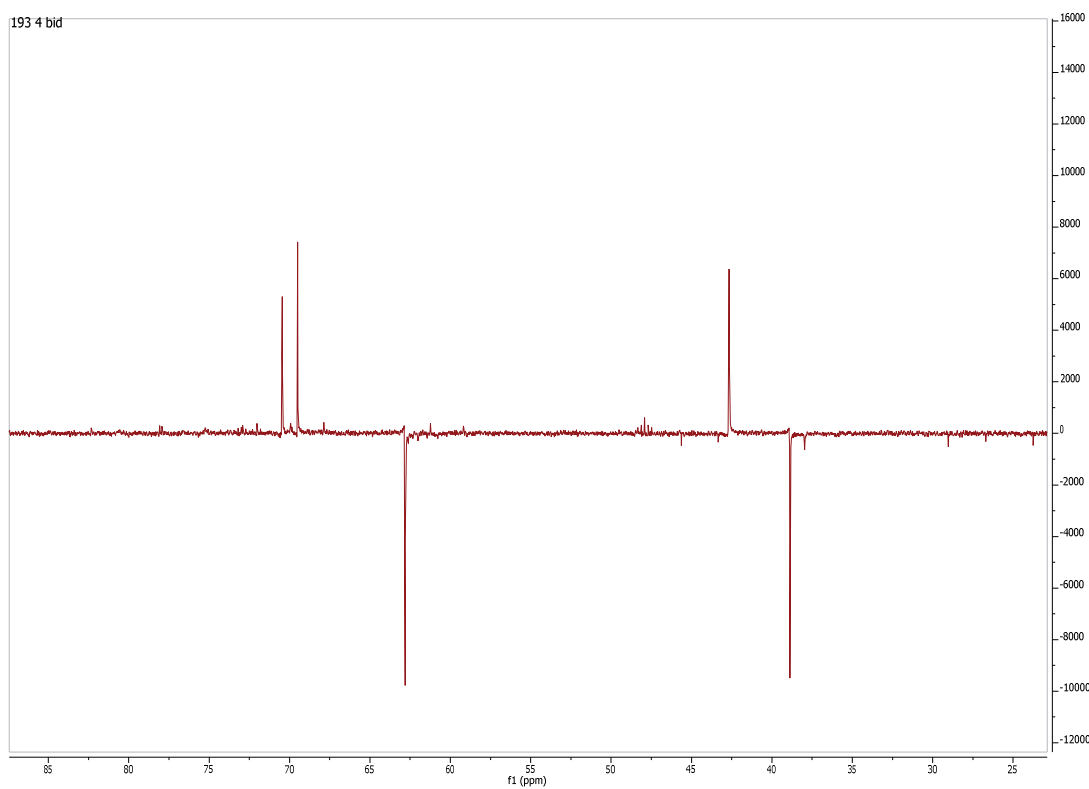
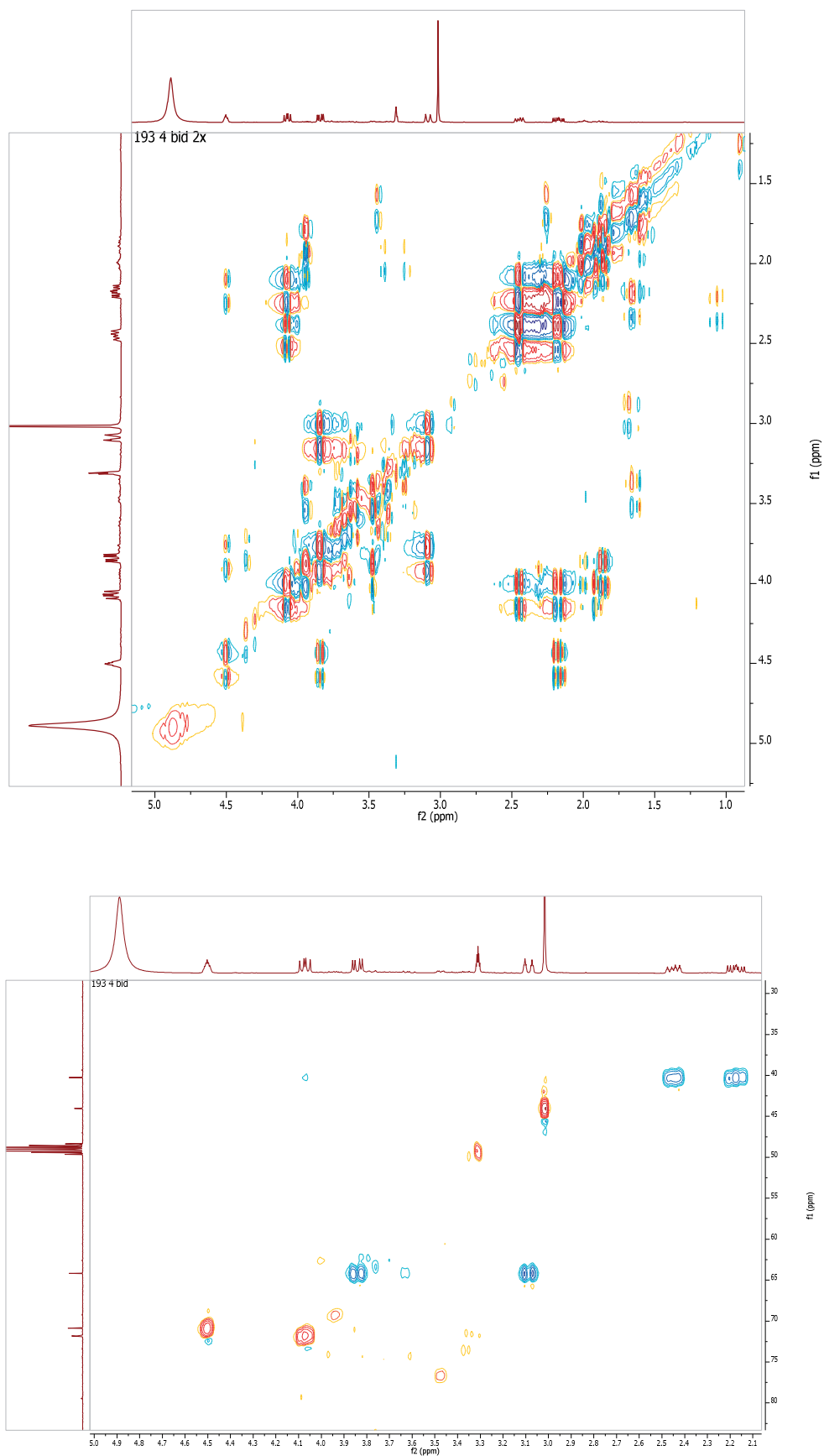


Figura A22: Espetros de DEPT 135° e 90° de B15.

Figura A23: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de B15.

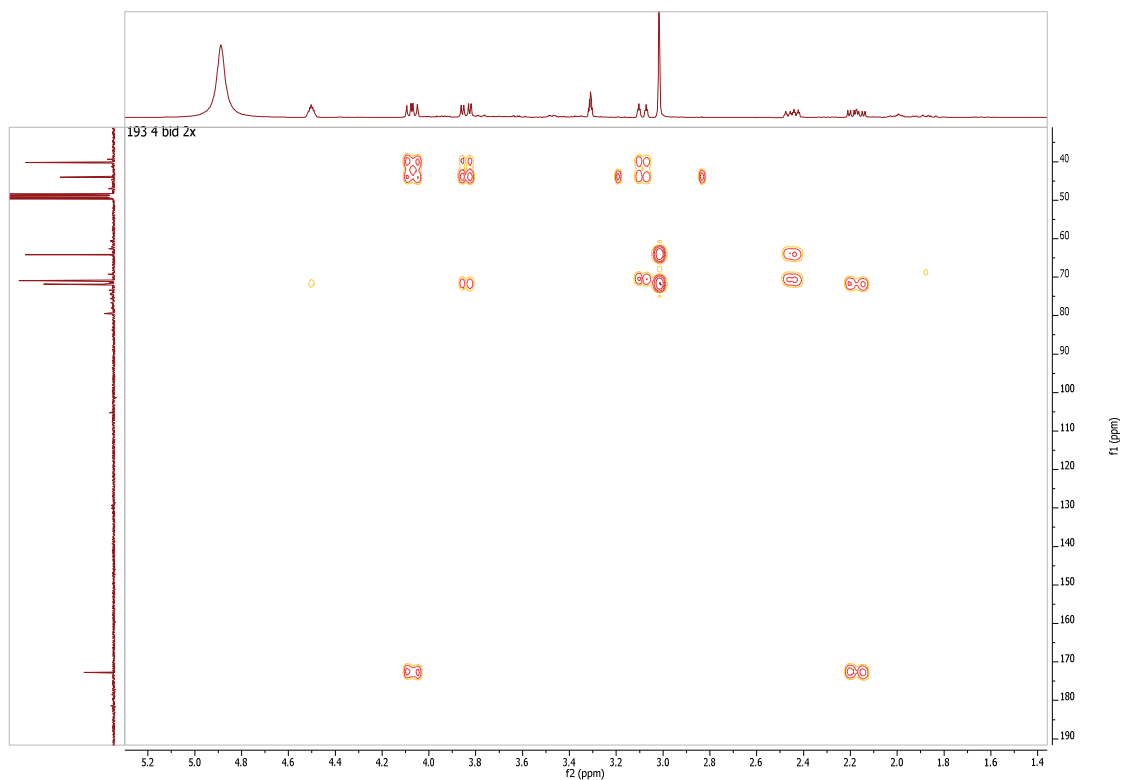
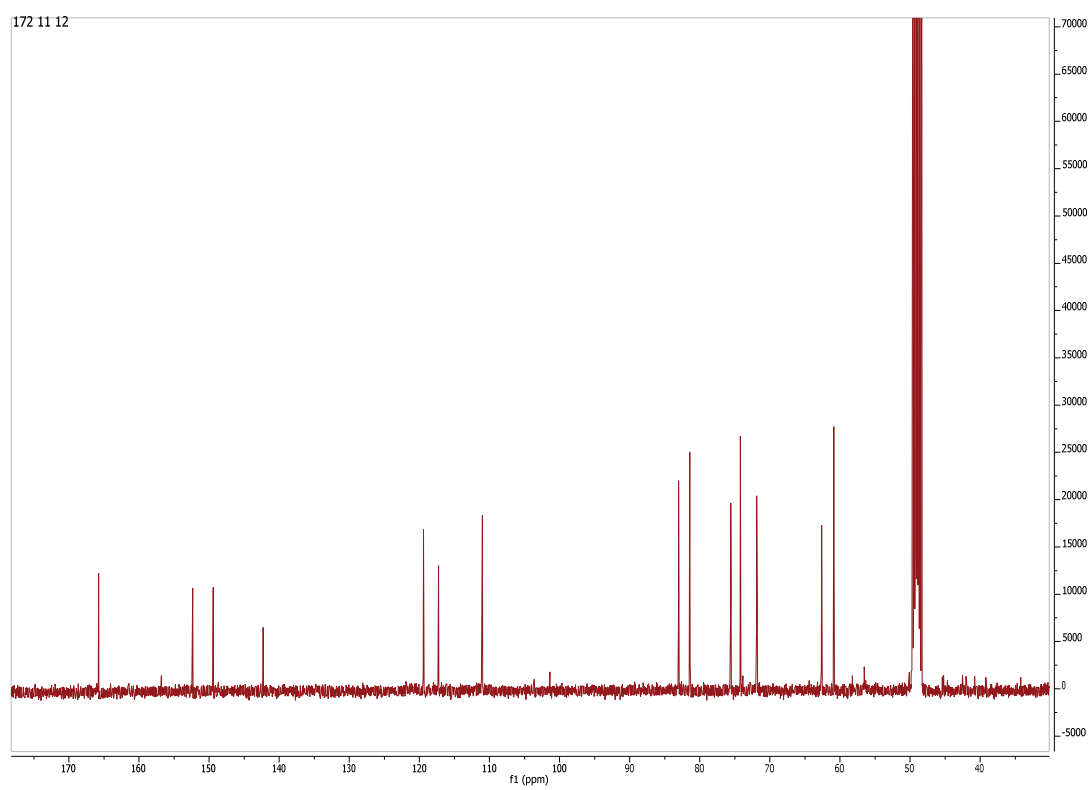
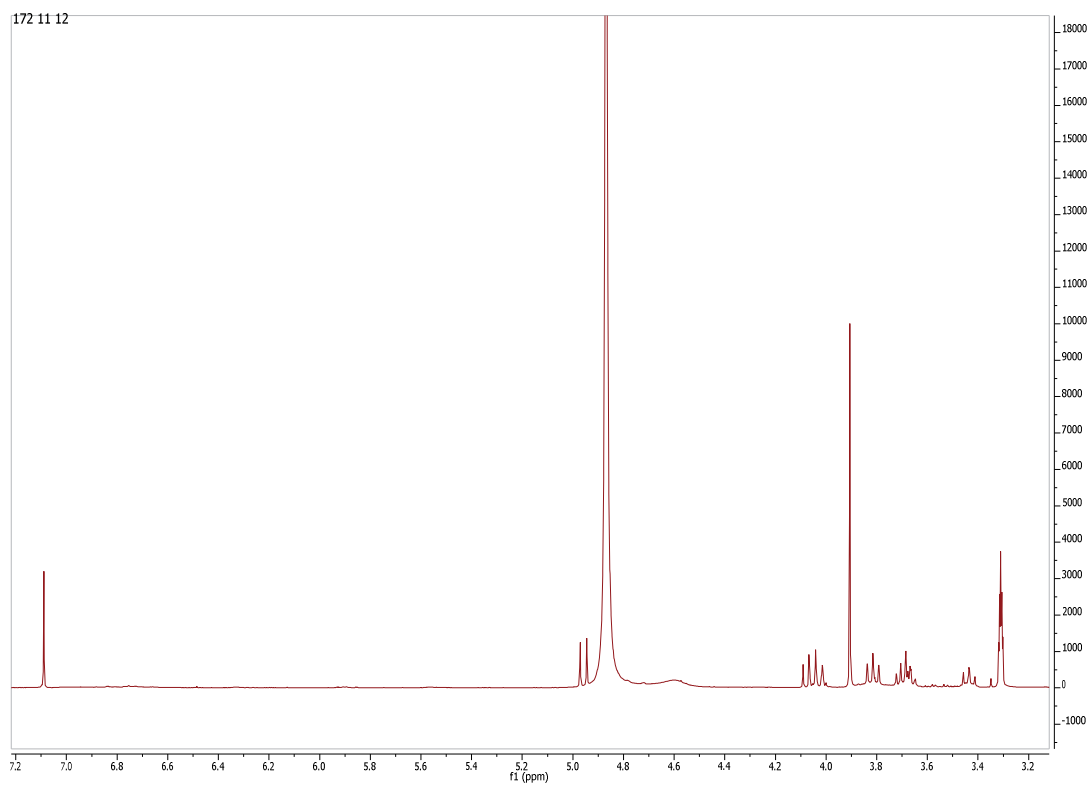


Figura A24: Espectros de HMBC de B15.

## C2 - Mallanósido A

Figura A25: Espectros de RMN  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  de C2.

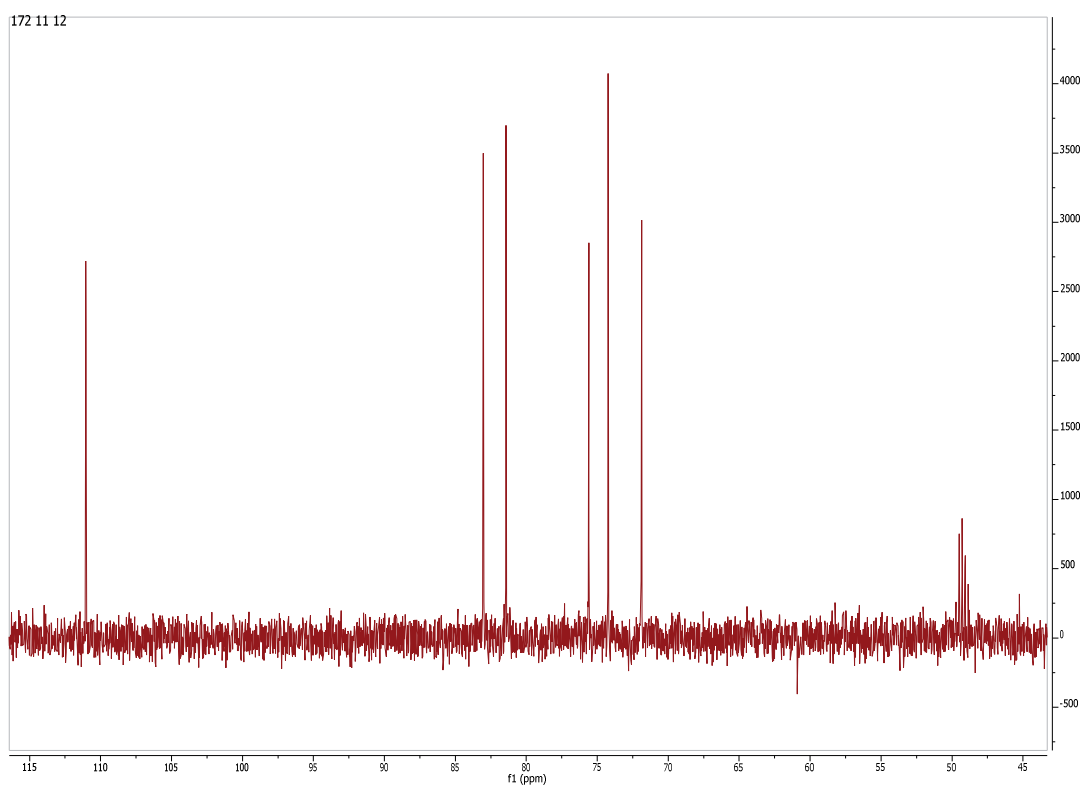
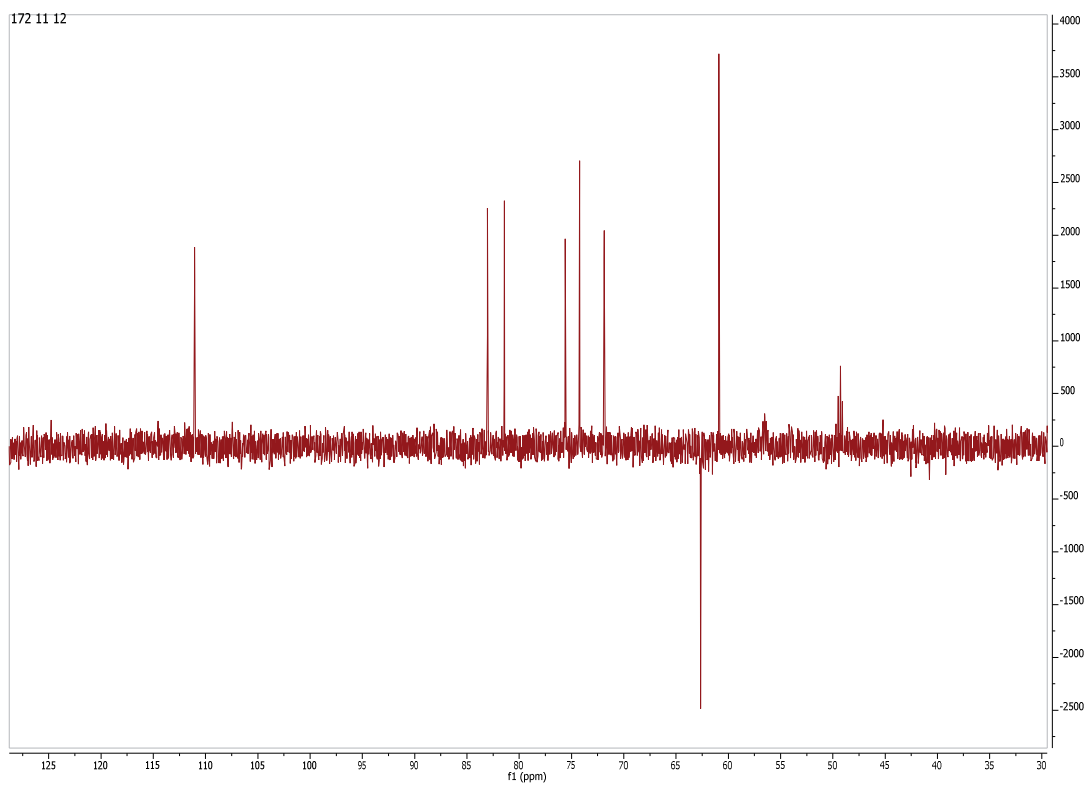


Figura A26: Espectros de DEPT 135° e 90° de C2.

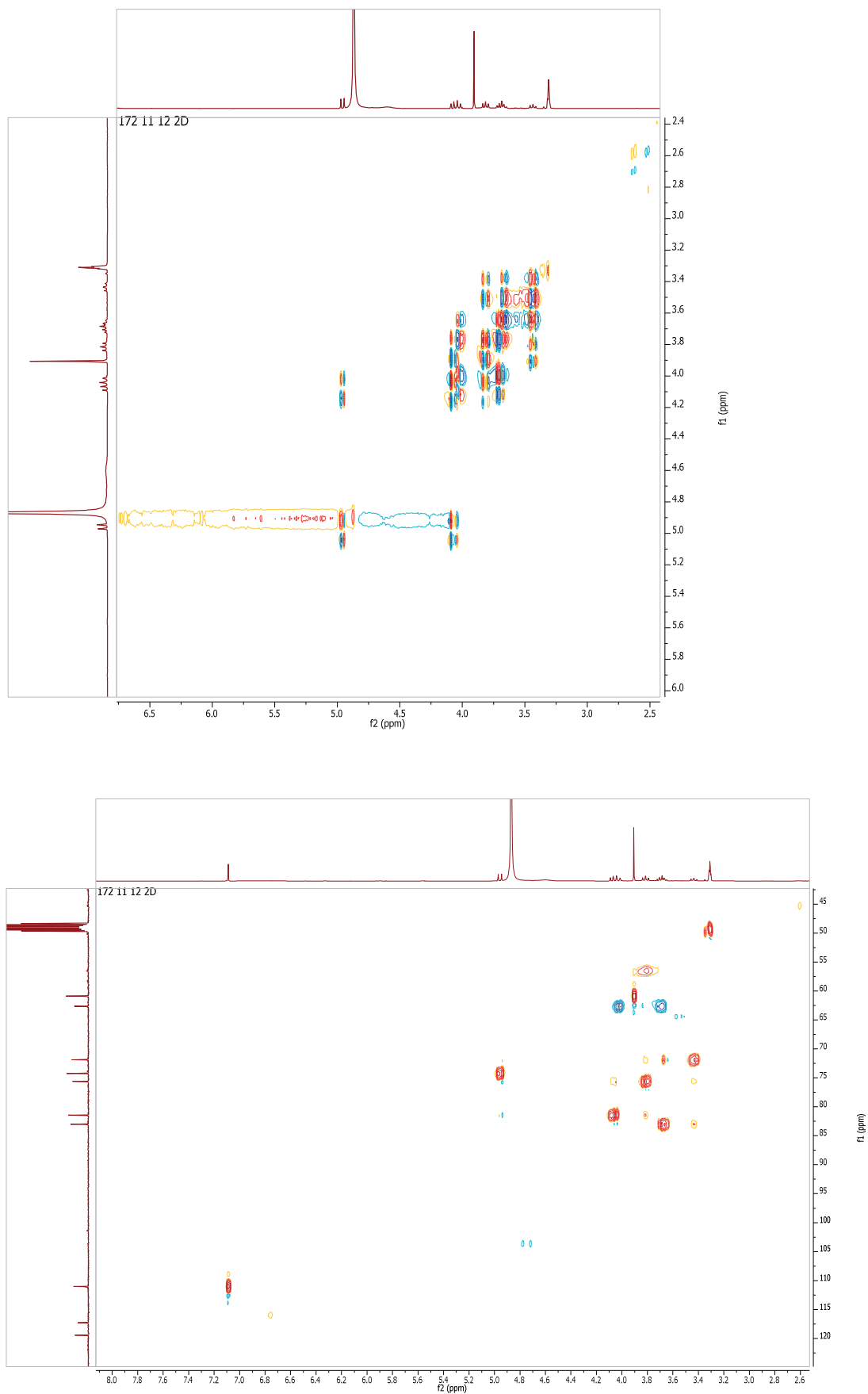


Figura A26: Espectros de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY e HSQC de C2.

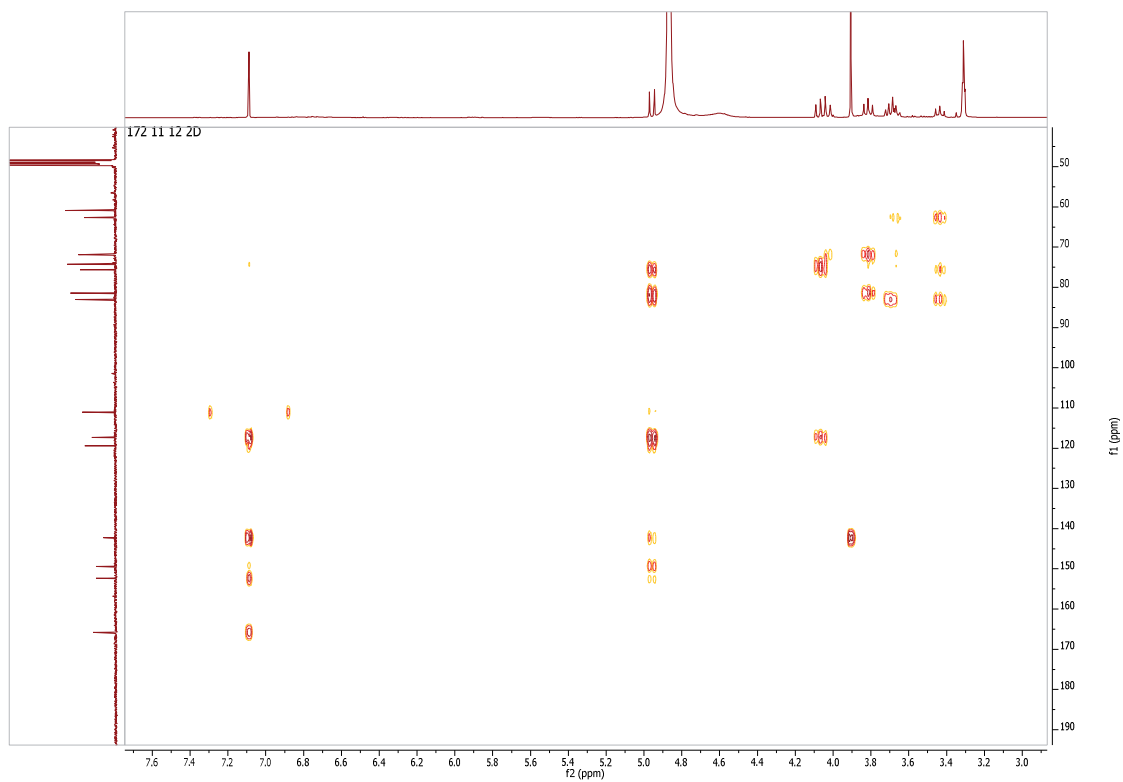


Figura A27: Espetros de HMBC de C2.



