



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS



YANNE CELESTE SILVA DE MEDEIROS

**Estudo Fitoquímico e Farmacológico das Cascas de *Croton
lanjouwensis* Jablonszky (Euphorbiaceae)**

JOÃO PESSOA

2022

YANNE CELESTE SILVA DE MEDEIROS

**Estudo Fitoquímico e Farmacológico das Cascas de *Croton
lanjouwensis Jablonszky* (Euphorbiaceae)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de concentração Farmacoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

Coorientador: Yuri Mangueira do Nascimento

JOÃO PESSOA

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M488e Medeiros, Yanne Celeste Silva de.

Estudo Fitoquímico e Farmacológico das Cascas de
Croton lanjouwensis Jablonszky (Euphorbiaceae) / Yanne
Celeste Silva de Medeiros. - João Pessoa, 2022.
107 f. : il.

Orientação: Josean Fachine Tavares.

Coorientação: Yuri Mangueira do Nascimento.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. *Croton lanjouwensis*. 3.
Dima. 4. Diterpenos. 5. Taxa de inibição celular. I.
Tavares, Josean Fachine. II. Nascimento, Yuri Mangueira
do. III. Título.

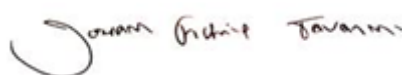
UFPB/BC

CDU 547.9(043)

YANNE CELESTE SILVA DE MEDEIROS

Estudo Fitoquímico e Farmacológico das Cascas de *Croton lanjouwensis* Jablonszky (Euphorbiaceae)

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Josean Fachine Tavares

Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba-Campus I
(Orientador)



Documento assinado digitalmente
YURI MANGUEIRA DO NASCIMENTO
Data: 09/11/2022 08:44:20-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento

Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba-Campus I
(Co-orientador)



Prof. Dr. Marcelo Cavalcante Duarte

Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba-Campus I
(Externo)

Harley da Silva Alves

Assinado de forma digital por Harley da Silva Alves
DN: cn=Harley da Silva Alves, o, ou=UEPB,
email=harley@servidor.uepb.edu.br, c=BR
Dados: 2022.11.04 10:46:13 -0300

Prof. Dr. Harley da Silva Alves

Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
Universidade Federal da Paraíba-Campus I
(Interno)

JOÃO PESSOA

2022

AGRADECIMENTOS

A Deus, por Sua graça capacitadora que me possibilitou chegar até aqui.

A minha mãe e ao meu pai, pelo incentivo, paciência e respeito as minhas escolhas. As minhas irmãs, pela alegria, motivação e existência. Sem vocês não teria conseguido terminar.

Ao meu amor e pai de Eric, por acreditar, apoiar e estar sempre presente. Sem vocês não teria conseguido terminar.

A Mirla, que é muito mais do que uma amizade, sempre me acompanhou em todas as jornadas da minha vida. Você é um anjo que me acompanha, não tenho palavras para descrever.

A minha CDA: Magda, Mirla, Amanda, Maria Rita e Patrícia. Meninas, vocês são essenciais na minha jornada de vida, obrigada por tanto e tudo.

A vizinhança: Isadora, Raquel, Marcus, Nando, Renata, que estão sempre prontos para me ajudar e torcendo. Meu muito obrigada por tudo e pelo apoio.

Ao apartamento 403: Dayane, Ivy e Lorrane, por toda escuta oferecida, diversão, conselho e acolhimento.

A minhas amigas Ingrid e Rafa que tanto me apoiam e se fazem presentes sempre que preciso. Vocês são mais do que amigas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Josean Fachine Tavares, pela paciência e ensinamentos.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento, a quem muito me ajudou com conhecimentos transmitidos, paciência e apoio.

Ao Prof. Dr. Marcelo Cavalcante Duarte e Prof. Dr. Harley da Silva Alves, pela disponibilidade e contribuição neste trabalho.

A Prof. Dra. Mariana Vieira Sobral, pela realização dos testes de atividade anticâncer.

A todos os professores, técnicos (em especial, Marcelo, Evandro e Carol) e funcionários (em especial, Sr. Ivan e Júnior) que fazem parte desse programa de pós-graduação, por tornarem possível a realização deste trabalho.

Aos meus amigos de pesquisa e parceiros de bancada, pela troca de conhecimentos, acolhimento e toda diversão que proporcionaram.

Ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB), pela minha formação.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB), pelo apoio estrutural.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

RESUMO

Os produtos naturais nunca foram esquecidos, mesmo com o apogeu dos compostos sintéticos, devido à sua importância para a produção de medicamentos. Dessa forma, não se pode deixar de lado o estudo de espécies vegetais, inclusive as do Brasil, país rico em biodiversidade e que abrange uma das maiores famílias das angiospermas, como a família Euphorbiaceae, a qual detém grande poder farmacológico, alimentício e econômico e apresenta cerca de 72 gêneros e de 1100 espécies. Dentre os gêneros *Croton* é um dos mais ricos em variedade de metabólitos secundários, com cerca de 350 espécies existentes no Brasil. A espécie *Croton lanjouwensis*, sinônimo da *C. matourensís* Aubl. não endêmica do Brasil, mas frequentemente encontrada no estado do Amazonas. Poucos estudos relatam sobre a fitoquímica da espécie, sendo mais bem estudado seu óleo essencial. Diante disto, este trabalho tem o objetivo de contribuir com o conhecimento fitoquímico sobre a espécie em destaque e ao gênero *Croton*, por meio do isolamento de metabólitos secundários da casca de *Croton lanjouwensis*, além de avaliar a atividade citotóxica de compostos isolados. Assim, as cascas foram submetidas a processos de secagem, pulverização, extração. Foram utilizadas técnicas cromatográficas para o isolamento dos seus constituintes químicos. As estruturas químicas das substâncias isoladas foram identificadas por meio das análises dos dados de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais. Neste estudo, foram isoladas cinco substâncias: metoxieugenol, elemicina, ácido hardwickiic, ácido 8(17)12E, 14-labdatrien-18-óico e o comunol, sendo as três últimas relatadas pela primeira vez nesta espécie. Foi avaliado a citotóxica do diterpeno labdano isolado (comunol) em linhagens celulares de melanoma (SK-MEL-28) e de leucemia promielocítica aguda (HL-60). Verificou-se inibição celular apenas para as células SK-MEL-28, com uma resposta de inibição celular de 2,02%. Por fim, este trabalho contribuiu para a ampliação do conhecimento químico e farmacológico da espécie *Croton lanjouwensis*, a qual demonstrou ser fonte de diterpenos.

Palavras-chaves: *Croton lanjouwensis*. Dima. Diterpenos. Taxa de inibição celular.

ABSTRACT

Natural products have never been forgotten, even with the heyday of synthetics, due to their importance for the synthesis, the research of new substances and the association with health. Thus, the study of species belonging to Brazil cannot be ignored, a country rich in biodiversity and which encompasses one of the largest family of angiosperm plants, such as the Euphorbiaceae family, which has great pharmacological, nutritional and economic power with about 72 genera and 1100 species. Among these, the genus *Croton* stands out, one of the richest in variety of secondary metabolites, with about 350 species existing in Brazil, rich in terpenes, with variable bioactivities. Even so, there are species that have been little studied, as an example, the species *Croton lanjouwensis*, synonymous with *C. matourensís Aubl.* not endemic from Brazil, but frequently found in the Amazonas. Few studies report the phytochemistry of the species, and its essential oil is better studied. Therefore, this work aims to contribute to the phytochemical knowledge of the featured species and the genus *Croton*, through the isolation of secondary metabolites from the bark of *Croton lanjouwensis*. Thus, the peels were subjected to drying, spraying, extraction and chromatographic techniques for the isolation of their chemical constituents. The chemical structures of the isolated substances were identified through the analysis of one and two-dimensional ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance data. In this study, five substances were isolated: methoxyeugenol, elemicin, hardwickiic acid, 8(17)12E, 14-labdatrien-18-oic acid and communol. The last three being reported for the first time in this species. The cytotoxicity of isolated labdane diterpene (communol) for melanoma (SK-MEL-28) and acute promyelocytic leukemia (HL-60) cell lines was evaluated. Checking cellular inhibition only for SK-MEL-28 cells, with 2.02% cellular inhibition rate response to communol. Finally, this work contributed to the expansion of the chemical knowledge of the species, *Croton lanjouwensis*, proving to be a source of diterpenes.

Keywords: *Croton lanjouwensis*. Dima. Diterpenes. Cell inhibition rate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de grupo de substâncias isoladas do gênero <i>Croton</i>	20
Figura 2. Estrutura do plaunotol	21
Figura 3. Folhas da espécie <i>Croton lanjouwensis</i>	22
Figura 4. Estrutura do ácido maravuico.....	24
Figura 5. Rota de biossíntese geral dos terpenos	25
Figura 6. Representação da ligação cabeça-cauda entre isopreno originando terpeno	26
Figura 7. Esqueleto dos tipos de diterpenos	28
Figura 8. Representação das substâncias isoladas da fração FCC100	33
Figura 9. Estrutura da substância CL-1	36
Figura 10. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1	37
Figura 11. Expansão do Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1	38
Figura 12. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1	39
Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-1	40
Figura 14. Estrutura da substância CL-2	41
Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-2... ..	43
Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-2	44
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2	45
Figura 18. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2	46
Figura 19. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2	47
Figura 20. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2	48
Figura 21. Estrutura do anel A/B decalina e alteração da configuração das metilas	49

Figura 22. Estrutura da substância CL-3	51
Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	53
Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3.....	54
Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	55
Figura 26. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	56
Figura 27. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	57
Figura 28. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3.	58
Figura 29. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	59
Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	60
Figura 31. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	61
Figura 32. Espectro de RMN do Mapa de Contorno de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H (500 MHz, CDCl_3) x ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	62
Figura 33. Espectro Mapa de Contorno Bidimensional de Correlação Heteronuclear HMBC ^1H (500 MHz, CDCl_3) x ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3	63
Figura 34. Espectro Mapa de Contorno Bidimensional de Correlação Direta HSQC ^1H (500 MHz, CDCl_3) x ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3.....	64
Figura 35. Estrutura da substância CL-4	67
Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	69

Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	70
Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	71
Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	72
Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	73
Figura 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	74
Figura 42. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	75
Figura 43. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	76
Figura 44. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	77
Figura 45. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4	78
Figura 46. Estrutura da substância CL-5	80
Figura 47. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	83
Figura 48. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	84
Figura 49. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	85
Figura 50. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	86
Figura 51. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	87

Figura 52. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	88
Figura 53. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	89
Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	90
Figura 55. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	91
Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	92
Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5	93

LISTA DE ESQUEMA

Esquema 1. Estrutura do diterpeno lábdano e rota de formação do diterpeno clerodano.....	29
Esquema 2. Representação da metodologia empregada.....	33

LISTA DE QUADRO

Quadro 1. Espécies da família Euphorbiaceae, constituintes químicos e atividade biológica.....	17
Quadro 2. Substâncias isoladas da casca e folhas de <i>Croton lanjouwensis</i> por Leão e colaboradores (1998)	22
Quadro 3. Substâncias isoladas das folhas de <i>Croton matourensis</i> por Compagnone (2010).....	23
Quadro 4. Substâncias isoladas do óleo essencial de <i>Croton lanjouwensis</i> por Lima e colaboradores (2018)	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Representação das frações coletadas.	31
Tabela 2. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1 com os dados da literatura Santos (2014).	36
Tabela 3. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2 com os dados da literatura Gracez e colaboradores (2009)	42
Tabela 4. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3 com os dados da literatura Símaro (2021)	51
Tabela 5. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4 com os dados da literatura Du e colaboradores (2001) e Tavares (2007)	67
Tabela 6. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5 com os dados da literatura Du e colaboradores (2001) e Brito e colaboradores (2020)	81
Tabela 7. Inibição do crescimento de linhas celulares HL-60 e SK-MEL-28.....	94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetato de etila
APT	<i>Attached Proton Test</i>
BB	<i>Broad band</i>
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
dl	Dupleto largo
dq	Duplo quarteto
EEB	Extrato etanólico bruto
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
<i>m</i>	Multipeto
MHz	Mega-hertz
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Spectroscopy</i>
PPgPNSB	Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
ppm	Partes por milhão
RMN 13C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN 1H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Simpleto
sl	Simpleto largo
t	Tripleto
TR	Tempo de retenção
δ	Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEORICO	16
2.1 Considerações sobre a família Euphorbiaceae.....	16
2.2 Gênero <i>Croton</i>	17
2.3 <i>Croton lanjouwensis</i>	21
2.4 Terpenos	25
3 OBJETIVO	30
3.1 objetivo geral.....	30
3.2 objetivo específico	30
4 PARTE EXPERIMENTAL	31
4.1 Material botânico.	31
4.2 Obtenção do extrato e fracionamento do extrato das cascas de <i>Croton lanjouwensis</i>	31
4.3 Isolamento e purificação por CLAE dos constituintes químicos de <i>Croton lanjouwensis</i>	32
4.4 Métodos espectroscópicos – caracterização de compostos.....	34
4.5 Ensaio biológico.	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1 Diterpenos.	35
5.1.1 Determinação estrutural da substância CL-1.....	35
5.1.2 Determinação estrutural da substância CL-2.....	41
5.1.3 Determinação estrutural da substância CL-3.....	49
5.1.4 Determinação estrutural da substância CL-4.....	66

5.1.5 Determinação estrutural da substância CL-5	70
6 ENSAIO BIOLÓGICO	94
7 CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIA	96

1. INTRODUÇÃO

A importância dos produtos naturais na medicina é indiscutível, pois fornece um grande arcabouço de substâncias ativas, seja por propriedade sinérgica em extrato, seja com constituintes isolados ou como modelo farmacofórico (CASANOVA; COSTA, 2017). Este desenvolvimento de fármacos oriundos de produtos naturais tem base dependente do conhecimento prévio da planta, apoiado na etnofarmacologia, classificação botânica e no conhecimento dos seus constituintes (ALEMIDA; MARTINEZ, 2017).

Por muito tempo os produtos naturais foram a única forma de recursos contra as enfermidades, porém após a revolução industrial a síntese de compostos orgânicos cresce e fornece muitos medicamentos de forma rápida e em sua maioria seguros, desmarcando o apogeu dos produtos naturais. Contudo, a maioria das moléculas orgânicas conhecidas, de alto valor em atividade e aplicação, advém de produtos naturais, as quais abraçam não só a química medicinal e a farmacologia, mas também a área alimentícia, cosmética, agroquímica, entre outros (PINTO, et al., 2002; ARAIS, 2012).

Além de servir de inspiração para a produção de compostos sintéticos, os produtos naturais possuem normalmente, baixo efeito adverso, maior potencial de atividade e baixo índice de resistência a microrganismos. Dessa forma, a pesquisa em produtos naturais nunca foi esquecida, seja devido a propriedade fornecida pelo conjunto de diversas moléculas ativas, seja pelo conhecimento para síntese ou ainda devido ao uso popular. Assim, vem crescendo a pesquisa por plantas medicinais, micromoléculas de plantas, organismos marinhos e microrganismos (ALVES, 2017).

Retratado no cenário atual, que destaca o segundo apogeu dos produtos naturais frente aos sintéticos, um movimento que ganha força, entre os vários mercados, observado principalmente no mercado farmacêutico, em virtude da associação popular de saúde ao natural, mas que agora acompanha uma exigência de eficácia, segurança e qualidade (DO NASCIMENTO, et al., 2017).

Apesar do uso de plantas ser uma prática milenar e um marco para a saúde, agora a população é mais entendida que se trata de diferentes substâncias químicas atuando em conjunto e, portanto, devendo ter cautela quanto a utilização, exigindo segurança. Além disso, é observado uma preocupação com o meio ambiente,

valorizando a biota para que a mesma não se torne escassa (SANTANA, 2021; BERLINCK, et al., 2017).

Esse processo pode ser alcançado com as pesquisas, que aborda uma cadeia de sustentabilidade, desde o plantio até o produto final, além da padronização e validação de testes, garantido eficácia e segurança. Porém, os investimentos brasileiros são incipientes quanto a sua fauna e flora que estão subjugadas a morte, sendo mais bem aproveitada pelo mercado exterior, que roda mundialmente 22 bilhões de US\$, crescendo cada vez mais (MACIEL et al, 2015; DO NASCIMENTOS, et al., 2017).

Mesmo possuindo essa grande biota o Brasil ainda importa produtos naturais, desvalorizando novamente sua biodiversidade (BOLSANI, 2016). Levantando a questão frente ao mercado, consumidores, empresários e pesquisadores mesmo com um país tão rico em biodiversidade não usufrui o potencial que lhe é oferecido.

Dessa forma procura-se estudar as plantas distribuídas em território brasileiro de importância econômica e medicinal, como as espécies da família Euphorbiaceae, a qual é formada por mais de 300 gêneros e distribuída nas regiões tropicais do globo, sendo, no Brasil, 72 gêneros e cerca de 1100 espécies dessa família que se destacam pelo grande potencial econômico, medicinal e alimentício. Entre essas destaca-se o gênero *Croton*, um dos mais ricos em variedade de metabólitos secundários e, por isso, um dos mais importantes dessa família, com cerca de 350 espécies existentes no Brasil.

Com importância também, no uso da medicina popular, o gênero possui algumas espécies com atividade terapêutica comprovada, como por exemplo o medicamento Kelnac® derivado do produto natural plaunatol da espécie *Croton sublyratus*. E ainda como um grupo funcionalmente importante dentro do ecossistema terrestre, sendo responsável por viabilizar solo para plantação, por suas características de crescimento e desenvolvimento rápidos, uso como matéria prima em construções e derivados de madeira. Além da característica de liberar seiva, usada em látex (LEÃO, et al., 1998; LEAL, 2008).

Porém, algumas espécies do gênero *Croton* são pouco estudadas quanto a sua composição, utilização e potencial de produtos bioativos. Como a *Croton lanwjuwensis*, sinônimo de *Croton matourensis*, encontrada, principalmente, na região da Amazônia e utilizada popularmente como depurativo, no tratamento de

infecções, fraturas e resfriados, sendo apenas as suas folhas as partes mais bem estudadas. Com descrição do óleo essencial desta espécie, as demais substâncias e partes da espécie são pouco estudadas assim como sua atividade biológica (LEAL, 2008; GUIMARÃES; SECCO, 2010; FRANCO, et al.,2011; TRINDADE E LAMEIRA, 2014).

Com isso, o presente trabalho tem o objetivo de estudar as cascas da espécie *Croton lanwjouwensis*, desvendando seu potencial, com investigações químicas visando o isolamento e caracterização de seus metabólitos micromoleculares, além de testes farmacológico. Isso é de extrema importância, considerando-se a riqueza em substâncias bioativas do gênero, principalmente as advindas da rota do mevalonato, como os terpenos, com suas atividades biológicas como anti-hipertensivos, anti-inflamatórios, antimaláricos, anticancerígenos, antimicrobianos, antiespasmódicos, antiulcerogênicos, antivirais e mio-relaxantes (SIQUEIRA, 2018).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações sobre a família Euphorbiaceae

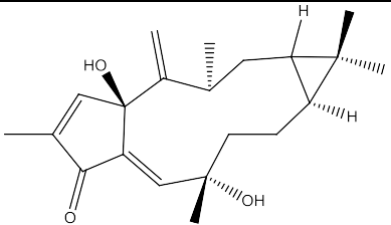
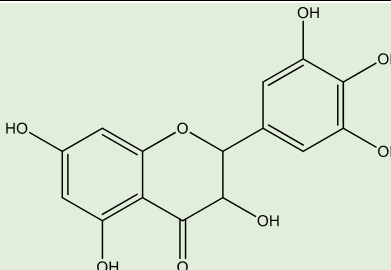
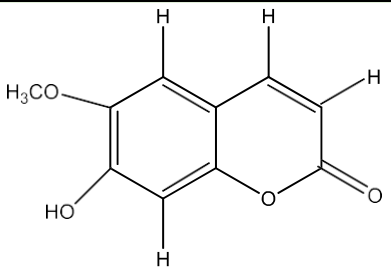
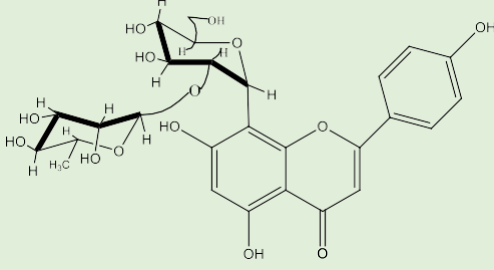
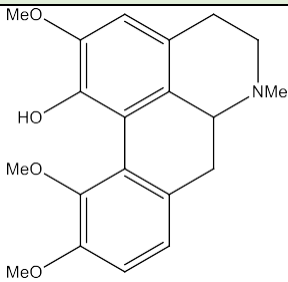
A família Euphorbiaceae é um grande grupo representativo das angiospermas, que se distribui predominantemente em regiões tropicais e subtropicais, sendo encontrada na região Indo-malaia, América, África, bacia do Mediterrâneo e Oriente Médio (SÁCHEZ, QUILUMBANGO, 2021; CRONQUIST, 1981).

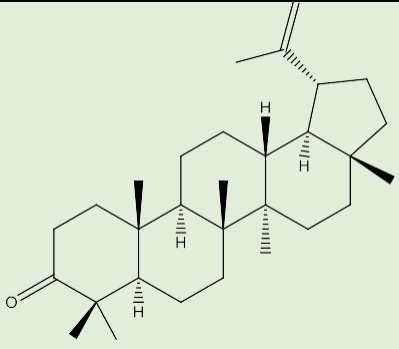
É a sexta maior família de plantas do mundo, a qual abrange cerca de 300 gêneros e 7500 espécies, explicando a sua grande distribuição geográfica e diversidade morfológica, que abrange plantas latentes ou não, sendo arbusto, árvores, subarbusto e ervas, além de espécies cactiformes, aquáticas e lianescentes, características que se distribui em 5 subfamílias: Phyllanthoideae, Oldfieldioideae, Acalyphoideae, Crotonoideae e Euphorbioideae (FERREIRA, 2014; LOPES, 2012; LIMA *et al.*, 2003; CRONQUIST, 1981).

O Brasil possui, 72 gêneros e cerca de 1100 espécies constituintes da família Euphorbiaceae, que se distribuem nos ecossistemas do Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga e Campos Rupestres. Essa família é de grande importância econômica, seja na alimentação como a *Manihot esculenta*, a “mandioca”, fonte da farinha de mandioca e da fécula ou goma seja na produção de óleos, como a *Ricinus communis*, a mamona, cujo óleo é utilizado como laxante natural e como matéria prima na produção de biodiesel, ou mesmo na produção de látex, como a *Hevea brasiliensis* a “seringueira”, por ser fonte natural de borracha (ALLEM, IRGANG, 1975; WATSON, 2008); e ainda por uso na medicina popular, graças a riqueza dos constituintes ativos da família como: flavonoides, saponinas, terpenos (di e triterpenoides), ésteres, alcaloides, glicosídeos cianogênicos, taninos, lecitinas e glicoproteínas (TRINDADE e LAMEIRA, 2014).

A diversidade de atividades biológicas das espécies de Euphorbiaceae, se dá pelos constituintes químicos isolados (Quadro 1) ou pelos fitocomplexos, os quais possibilitam testes biológicos preliminares, contra linhagens cancerígenas, citado nos estudos realizados com as espécies: *Euphorbia hirta* L., *Euphorbia tirucalli* L., *Euphorbia helioscopia* L., *Croton caudatus*, *Croton oblongifolius* (SHANTABI *et al.*, 2020; SAJON, 2019; ALEKSANDROV *et al.*, 2019; GARCÍA, GRIJALVA, 2021).

Quadro 1. Exemplos de espécies da família Euphorbiaceae, seus constituintes químicos e atividades biológicas

Espécies Euphorbiaceae	Constituintes químicos	Atividade biológica	Referência
<i>Jatropha multifida</i>	 Diterpenóide - Latirano macrocíclico	Antileishmanial	Folundon, et al., 2014
<i>Euphorbia tirucalli</i> L	 Flavonol – Ampelopsina	Antibacteriana	Lima et al., 2021
<i>Croton adenocalyx</i>	 Cumarina- 6–metoxi–7–hidroxicumarina	Hipotensor	Martins et al., 2000 De Lima et al., 2010
<i>Alchornea coelophylla</i>	 Glicosídeo- Apigenina	Antioxidante	Martínez, Mosquera, Niño, 2016
<i>Croton echinocarpus</i>	 Alcaloide - Cloridina	Antiviral	Athayde, 2013

<i>Jatropha multifida</i> L	 Triterpeno - Lupenona	Antifúngica	Tavares et al., 2019
--------------------------------	--	-------------	-------------------------

Fonte: Autoria própria

Dentro dessa grande diversidade química da família, se destaque o gênero *Croton*, que é o segundo maior e mais distinto quimicamente dos gêneros da família Euphorbiaceae. Representado por cerca de 1200 espécies, genericamente conhecidas como marmeleiros e velames ricas em metabólitos secundários da rota do mevalonato (GARCÍA, GRIJALVA, 2021; MEDEIROS, 2012; FERREIRA, 2014).

2.2 Gênero *Croton*

O gênero *Croton*, representado por cerca de 1200 espécies de plantas angiospermas, pertence à família Euphorbiaceae e a subfamília Crotonoideae formando um dos mais importantes grupos de plantas em termos econômicos, sociais e medicinais (SIQUEIRA, 2018).

Com muitas espécies conhecidas genericamente como marmeleiros e velames, se distribuem especialmente no Nordeste do Brasil e na África. No Brasil são encontradas principalmente na Caatinga e Cerrado (ALVES, 2017).

São conhecidas pelo látex vermelho e a presença de óleos voláteis além de suas características fitoquímicas, madeireira e ecológica. Proveniente do fácil crescimento dessas plantas, até mesmo em áreas pouco produtivas, com uma larga produção de flores e frutos sendo ideal a restauração de florestas degradadas (NETO, 2011; SALATINO et al., 2007).

Além de possuir uma madeira resistente e de qualidade empregada em diversos trabalhos de carpintaria e na indústria madeireira, são ainda utilizadas pela população no tratamento de doenças como: câncer, constipação intestinal, diarreia, diabetes, febre, hipertensão, inflamação, malária, dor e úlceras, dentre outras, reflexo da alta diversidade em espécies e de grupos químicos corroborando a importância etnofarmacológica e os benefícios farmacológicos do gênero (SIQUEIRA, 2018; SALATINO et al., 2007).

Entre os diferentes grupos químicos do gênero, se destaca os terpenoides. São os metabólitos secundários predominantes, principalmente os diterpenoides do tipo labdano e clerodano (MACIEL *et al.*, 2003). Mas, a fitoquímica do gênero revelou também a presença de: alcaloides, flavonoides, lignoides, proantocianidinas e fenilpropanoides (Figura 1) (SALATINO *et al.*, 2007; JONES 2003).

Essa diversidade química corresponde as diversas atividades biológicas das diferentes espécies de *Croton*, como relatado por Siqueira (2018): atividade anti-inflamatória e hemostática do látex (CAI *et al.*, 1991; CHEN *et al.*, 1994; JONES 2003; RISCO *et al.*, 2003), atividades imunomoduladora (RISCO *et al.*, 2003), antimutagênica (ROSSI *et al.*, 2003), antimicrobiana e antiviral (GUPTA *et al.*, 2008), antilipidêmica (FARIAS *et al.*, 1997; GRASSI-KASSISSE *et al.*, 2003), antioxidante (TIEPPO *et al.*, 2006), e no tratamento de infecções do trato gastrointestinal (HIRUMA-LIMA *et al.*, 2000; CAMPOS *et al.*, 2002), possuindo inclusive um medicamento, proveniente do produto natural plaunotol (Figura 2), isolado da espécie *Croton sublyratus* que se tornou um fármaco para o combate a úlceras (Kelnac®) (SALATINO *et al.*, 2007; ALDHAHER *et al.*, 2016).

Figura 1. Exemplos de grupo de substâncias isoladas do gênero *Croton*

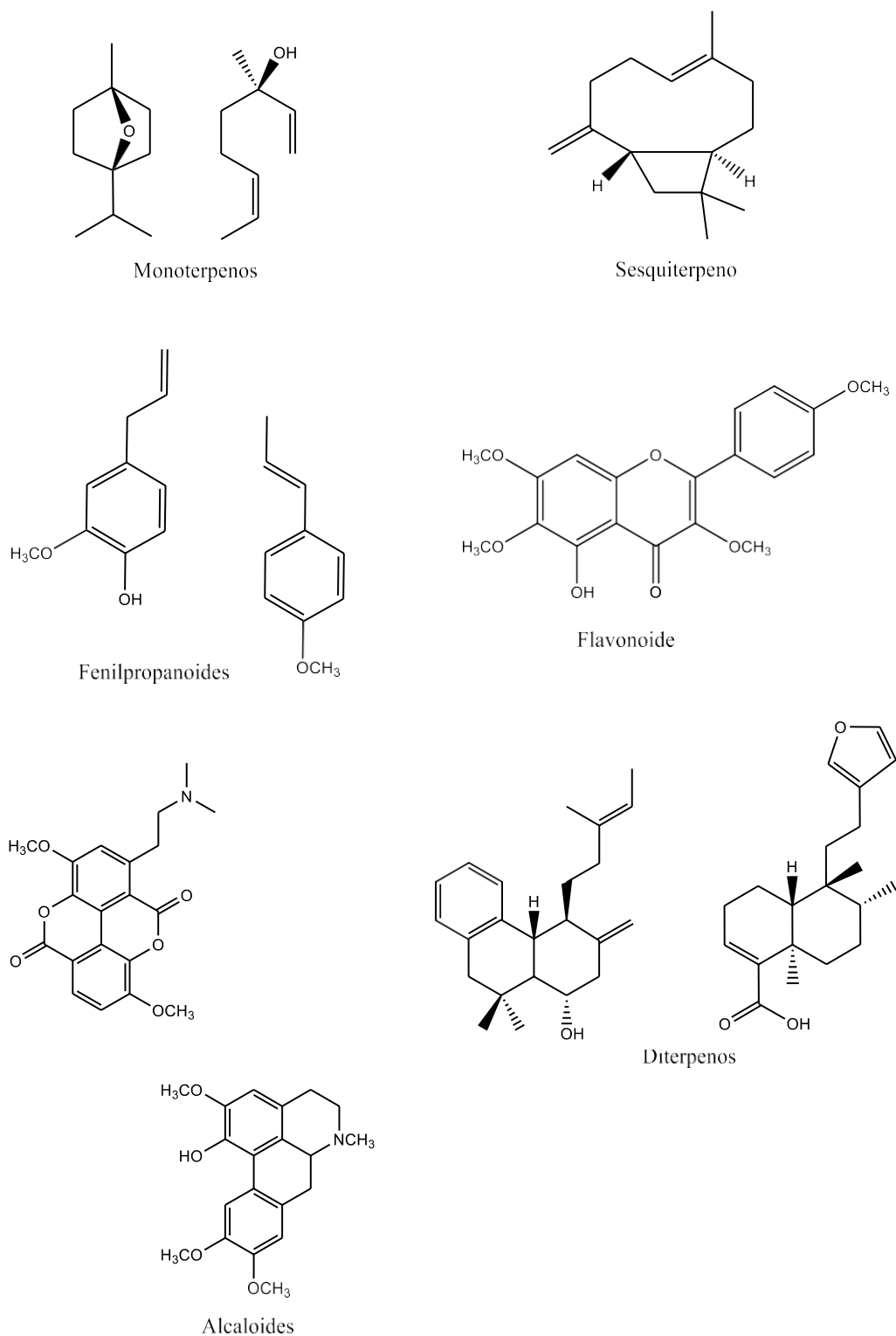
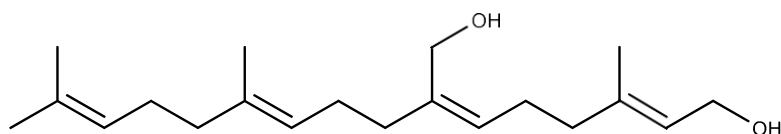


Figura 2. Estrutura do plaunotol

Plaunotol

Fonte: Autoria própria

Apesar do grande número de substâncias e de atividades biológicas de espécies do gênero *Croton* a maioria dos estudos se concentra nos óleos essenciais e nas partes aéreas da planta (BARRERA, GOMES, CASTIBLANO., 2006; SANTANA, 2011).

Esse fato quando associado a importância do gênero *Croton* e a falta de estudos para a espécie *Croton lanwjouwensis* se fez pertinente a investigação fitoquímica da mesma. Visto que as plantas interagem com o ambiente ao seu redor, por meios químicos ou biológicos que se modificam a partir de diversos fatores, como: fertilidade e tipo do solo, umidade, radiação solar, vento, temperatura, poluições atmosféricas, dentre outros, gerando respostas diferentes, metabólitos diferentes, atividades biológicas diferentes.

2.3 *Croton lanjouwensis*

Croton lanjouwensis (Figura 3) é uma espécie pouco conhecida e estudada, não endêmica do Brasil, mas bastante encontrada nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. É uma árvore que atinge cerca de 25 m de altura, 15 m de fuste, 40 cm de diâmetro. Frequentemente encontrada no Amazonas e que antes da nomeação por Jablonski, *Croton lanjouwensis* (Muell. Arg.) Jablonskí era conhecida por *C. matourensís* Aubl (LEÃO, et al., 1998; AGUIAR; PREISINGER, 2000).

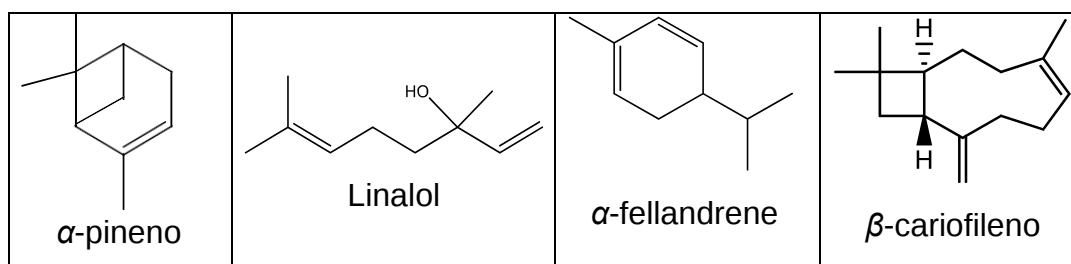
Figura 3. Folhas da espécie *Croton lanjouwensis*



Fonte: https://floredeguyane.piwigo.com/picture/?/2241/category/49-icroton_matourensis_i

Sendo consideradas sinônimos e conhecidas popularmente como “dima”, “orelha de burro”, “maravuvuia” e / ou “sangrad’água”, é utilizada na medicina popular como depurativo e no tratamento de infecções, fraturas e resfriado. Poucos estudos relatam a fitoquímica da espécie, como realizado por Leão e colaboradores (1998) que relatou os principais constituintes da casca e folhas, que foram α -pineno (72,2%), α -fellandrene (8,5%), linalol (14,5%), β -cariofileno (19,0%), (Quadro 2) (LEÃO, et al., 1998; AGUIAR; PREISINGER, 2000; LIMA, et al., 2018).

Quadro 2. Substâncias identificadas da casca e folhas de *Croton lanjouwensis* por Leão e colaboradores (1998).

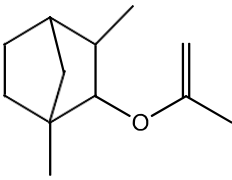
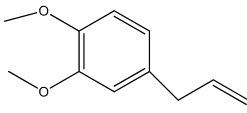
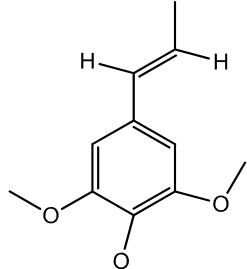
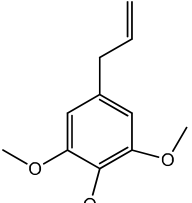
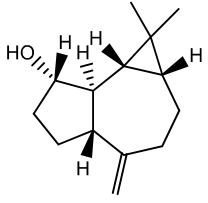
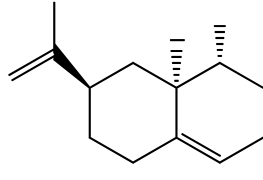


Fonte: Autoria própria

Em estudo mais recente, Compagnone (2010), encontrou que os principais compostos das folhas de *Croton matourensis*, coletada na Venezuela, são: acetato de fenquila, metileugenol, isoelemicina, elemicina, espatulenol e valenceno (Quadro 3). Em seu estudo, ainda foi observado o potencial citotóxico do óleo essencial das folhas, *in vitro*, em linhas celulares LoVo (carcinoma do

cólon humano) e HeLa (cervical humana câncer) demonstrando uma IC_{50} de 36,6 e 83,9 $\mu\text{g/mL}^{-1}$, respectivamente.

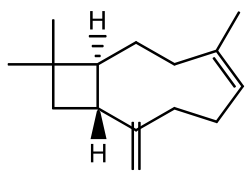
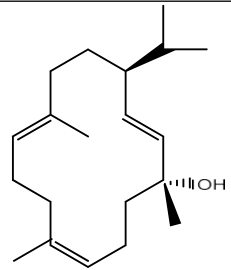
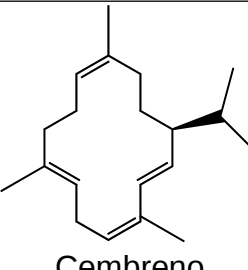
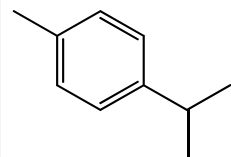
Quadro 3. Substâncias identificadas das folhas de *Croton matourensis* por Compagnone (2010).

		
Fenquila	Metileugenol	Isoeleticina
		
Elemicina	Espatulenol	Valenceno

Fonte: Autoria própria

Além disso, Lima e colaboradores (2018) estudaram a composição e citotoxicidade *in vivo* do óleo essencial de *Croton lanwajowensis*, coletada na Amazônia, que demonstraram taxas de inibição de massa tumoral de 34,6% a 55,9%. Porém, sua composição contava majoritariamente com cariofileno, thunbergol, cembreno, p-cimeno (Quadro 4).

Quadro 4. Substâncias identificadas do óleo essencial de *Croton lanwajowensis* por Lima e colaboradores (2018).

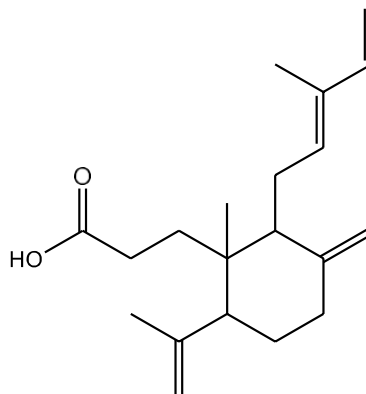
			
cariofileno	Thunbergol	Cembreno	p-cimeno

Fonte: Autoria própria

Contudo, não só monoterpenos e fenilpropanoides são relatados na fitoquímica dessa planta Schneider e colaboradores (1995) relataram um

diterpeno seco-labdano denominado ácido maravuico (Figura 4) isolado da casca de *C. matourensis*.

Figura 4. Estrutura do ácido maravuico



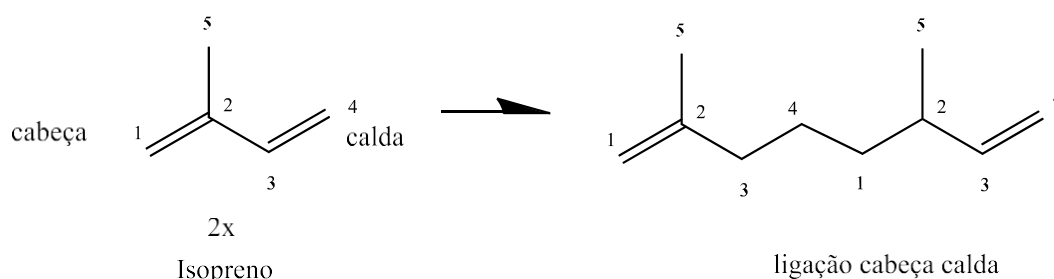
Ácido Maravuico
Fonte: Autoria própria

Além dos diterpenos oxigenados (+)-larixol, óxido de manoil, fitol, 3 α -hidroximanol, relatados no estudo de Bezerra e colaboradores (2020), quando o extrato das folhas foi obtido por dióxido de carbono supercrítico (SC-CO₂), demonstraram atividade anti-inflamatória, antioxidante e neuroprotetora em ratos. Em seu estudo ainda foi observado que a composição era alterada quando o extrato foi obtido por n-hexano, encontrando uma porcentagem menor dos diterpenos em relação ao SC-CO₂, ou uma composição majoritária de monoterpenos, sesquiterpenos e seus derivados oxigenados, sendo linalol (35,26-69,98%), (E)-cariofileno (6,53-9,94%), α -pineno (8,82%), quando por hidrodestilação.

Apesar dos poucos estudos da fitoquímica, dessa planta, é evidente o potencial que esta espécie tem em desempenhar um papel importante em produtos farmacêuticos. Como demonstrado pelos dados anteriormente citados, a busca por efeito anticancerígeno de *Croton matourensis* é viável visto a fitoquímica variável com o ambiente.

Além disso, como demonstrado na revisão feita por Salantino e colaboradores (2007) que de 1965 até 2005 foi relatado a presença de 105 compostos diterpênicos em espécies de *Croton*, faltando relato para espécie *C. lanjouwensis*, corroborando a falta de estudos com a mesma (ARAUJO et al., 2019; SALANTINO et al., 2007; LIMA et al., 2018).

Figura 6. Representação da ligação cabeça-cauda entre isopreno originando terpeno



Fonte: Autoria própria

Essa cadeia fundamental pode ainda ser cíclica ou acíclica e subdividi os terpenos, com base no número e na organização estrutural do esqueleto de isopreno, nas seguintes classes: hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (CARSON, HAMMER, 2011).

Entre o reino vegetal a classe de metabólitos secundários dos terpenos é principalmente encontrada em dicotiledôneas, sendo a família Euforbiaceae e o gênero *Croton*, um dos maiores detentores de terpenos, com destaque para os diterpenos, metabólitos formados por 4 unidades de isopreno, que se distribuem nos esqueletos do tipo (Figura 7): cembranóide, clerodano, neoclerodano, halimano, isopimarano, kaurano, labdano, phorbol e trachilobano (LOPES, 2012; MACIEL, et al., 2003).

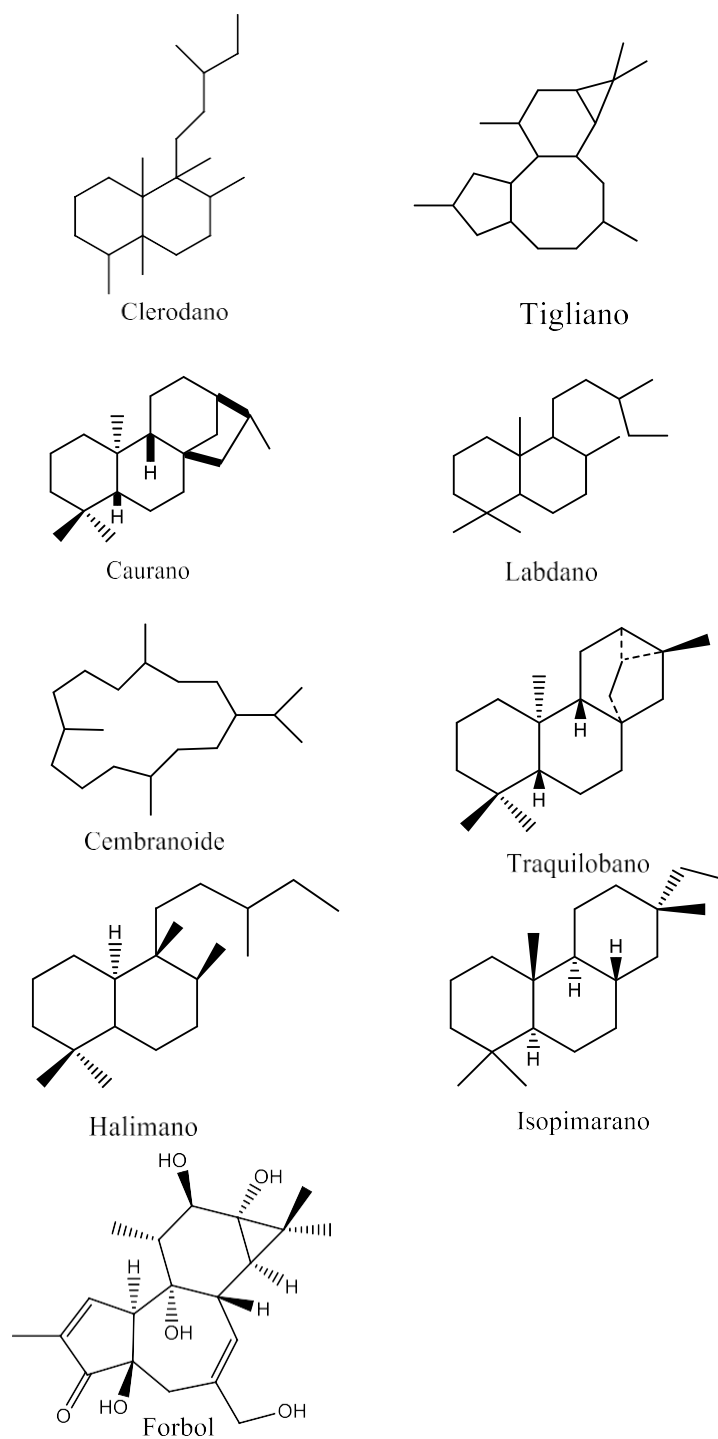
Dentro do gênero *Croton*, os diterpenos mais encontrados são do tipo clerodano e labdano (MACIEL et al., 2003). Segundo Peters (2010) labdano é um hidrocarboneto diterpênico bicíclico que contém uma estrutura central decalina e é o membro representativo do grupo de diterpenoides relacionados ao labdano (LRDs). Enquanto os clerodanos, como citado por Lopes (2012), se formam por rearranjo concertado do esqueleto labdano e podem existir na forma de *cis*-clerodanos, pela migração da metila 18, ou *trans*-clerodanos por migração da metila 19 (Esquema 01).

Essas moléculas possuem uma diversidade estrutural, decorrente de uma via metabólica passível de modificações, justificando a sua importância para a química, pois resulta em diferenças químicas sutis, como isômeros ópticos, que implicam fortemente nas propriedades biológicas, funções ecológicas e como protótipos na

síntese de substâncias bioativas. Essas moléculas possuem ainda aplicabilidade na indústria como, fixador de perfumes, solvente ou matéria-prima para a produção de tintas, graxas e ceras (Hartmann, 2007).

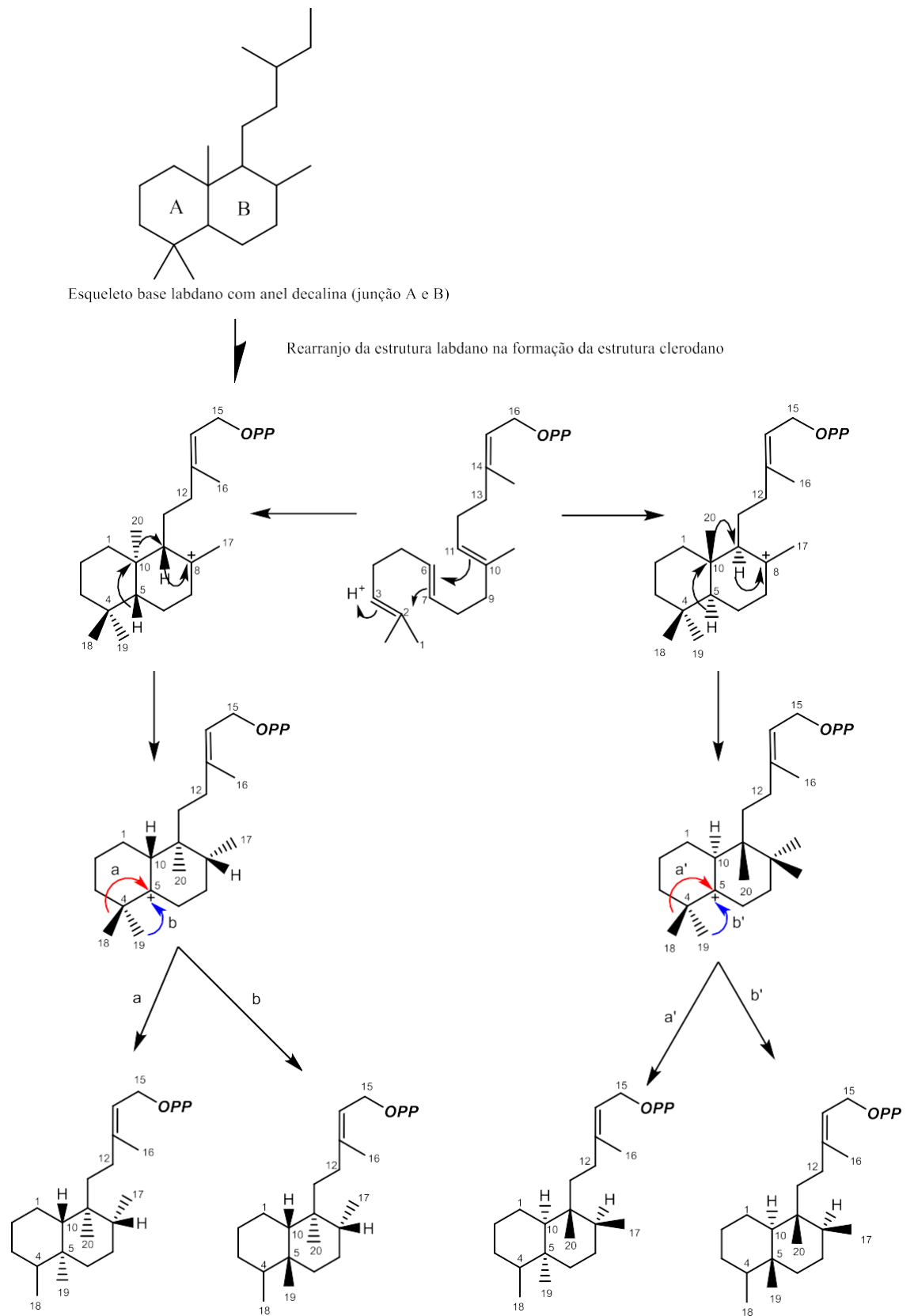
Entre as atividades biológicas desses diterpenos, reconhecidas na literatura, são descritas as seguintes: ação antibacteriana, antifúngica, atividade antimalárica, antibacteriana, anti-helmíntica, antineoplásica, antiviral (JUNIOR, CONSERVA, FILHO, 2006; SALANTINO et al., 2007; MEDEIROS, 2012; LOPES, 2012; LIMA, et al., 2018; NETO, 2011; FERREIRA 2014; ABREU, 2020).

Figura 7. Esqueleto dos tipos de diterpenos



Fonte: Autoria própria

Esquema 1. Estrutura do diterpeno lábdano e rota de formação do diterpeno clerodano



Fonte: Autoria própria

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Contribuir para o estudo fitoquímico e farmacológico de *Croton lanwjouwensis* a partir do extrato hexânico da sua casca.

3.2 Objetivos específicos

- Isolar metabólitos secundários, utilizando a técnica CLAE, das frações obtidas do extrato bruto hexânico da casca de *Croton lanwjouwensis*;
- Identificar as substâncias isoladas utilizando técnica de RMN uni e bidimensionais de ^1H e ^{13}C ;
- Avaliar a atividade citotóxica de diterpeno para linhagens celulares de melanoma (SK-MEL-28) e de leucemia promielocítica aguda (HL-60).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Matéria botânico

As cascas de *Croton lanjouwensis* foram coletados em uma fazenda particular em Manaus - AM, em julho de 2018. Uma exsicata foi depositada no Herbário do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) sob o código JBN-492. O registro de acesso no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (SISGEN) foi obtido sob o número A812037.

4.2 Obtenção do extrato e fracionamento do extrato das cascas de *Croton lanjouwensis*

Inicialmente 200 g das cascas de *C. lanjouwensis* foram secas em estufa com ar circulante a temperatura de 45°C durante 72 horas, estabilizando o material botânico. Após este procedimento o material foi pulverizado, obtendo-se um pó.

O pó das cascas, seco e pulverizado, foi submetido a uma maceração com hexano durante 72 horas, sendo este processo repetido por 4 vezes. Após esta primeira extração as cascas foram extraídas novamente com metanol da mesma forma anteriormente descrita. Assim, após este processo as soluções extrativas foram concentradas em rotavapor sob pressão reduzida a temperatura de 40°C, obtendo-se o extrato hexânico (43 g) e metanólico (73 g).

Seguiu-se com o extrato hexânico das cascas de *C. lanjouwensis* (10 g), em busca de terpenos, o qual foi acondicionado sobre o topo de uma coluna cromatográfica (CC) utilizando como fase estacionária sílica flash (60-200 µm) e como eluentes solventes puros e/ou em misturas binárias com gradiente crescente de polaridade: hexano, hexano:clorofórmio (7:3; 1:1; 3:7), clorofórmio, clorofórmio:acetato (7:3; 1:1; 3:7) e acetato.

Foram coletados 15 frações de 500 mL cada e, os resultados obtidos após o fracionamento cromatográfico são fornecidos na tabela abaixo.

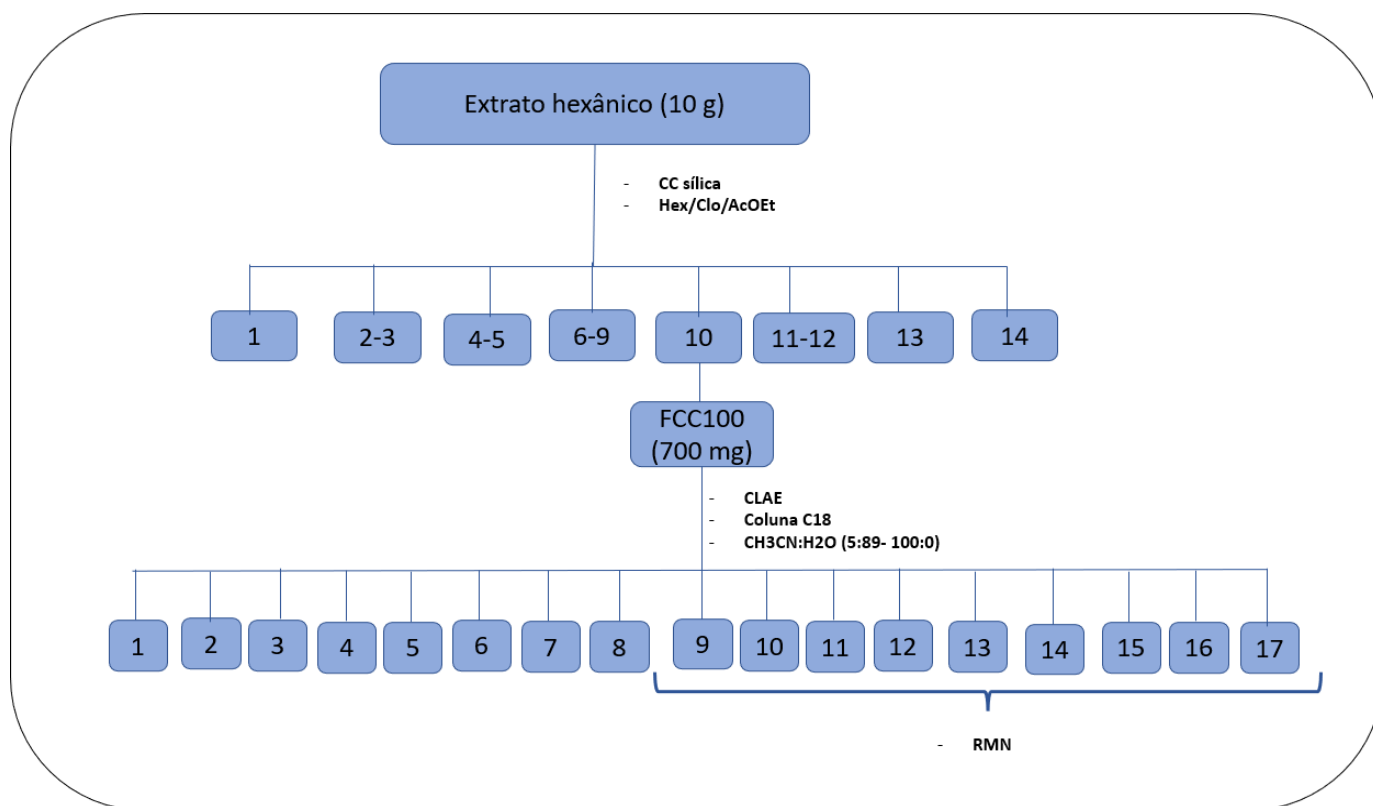
Tabela 1. Representação das frações coletadas

Frações	Solvente	Proporção (%)
1 (FHH100)	Hex	100%
2-3 (FHC730)	Hex: CHCl ₃	70:30
4-5 (FHC550)	Hex: CHCl ₃	50:50
6-9 (FHC370)	Hex: CHCl ₃	30:70
10 (FCC100)	CHCl ₃	100%
11-12 (FCA730)	CHCl ₃ : AcOEt	70:30
13 (FCA550)	CHCl ₃ : AcOEt	50:50
14 (FAA100)	AcOEt	100%

4.3 Isolamento e purificação por CLAE dos constituintes químicos de *C. lanjouwensis*

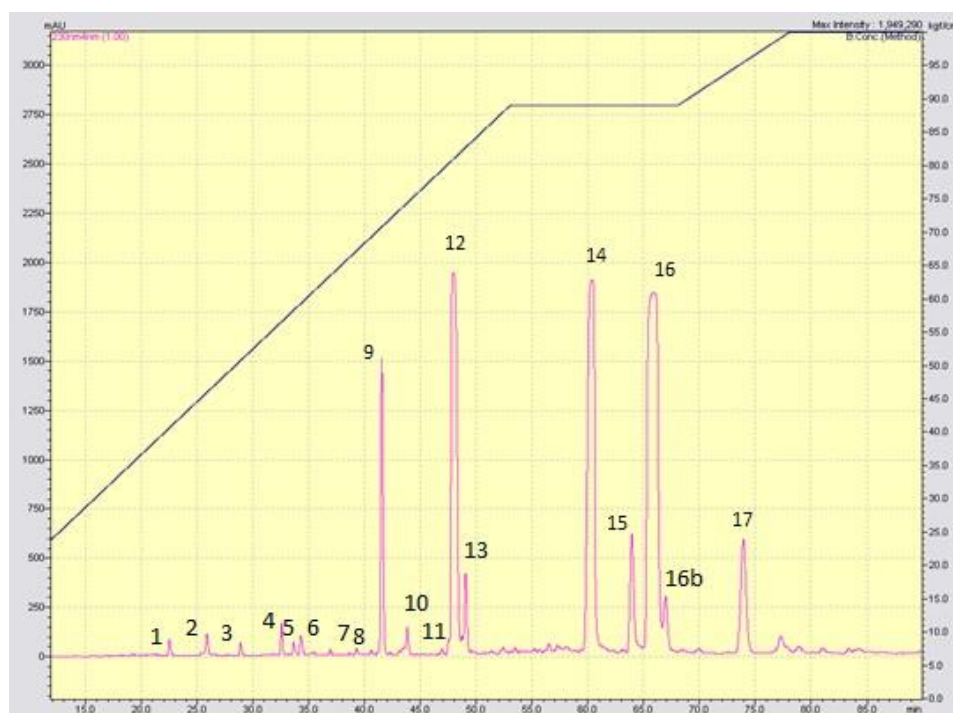
A fração FCC100 (fração 10, com 700 mg), foi submetida à análise cromatográfica em CLAE em escala analítica e posteriormente foi submetido a fracionamento em escala preparativa, utilizando uma coluna C-18 (YMC –250 mm x 20,0 mm e partículas de 5 µm), e o seguinte gradiente de eluição: solvente A = H₂O; Solvente B = CH₃CN; com o perfil de eluição = 0,0 – 53,0 min (5 - 89% de B); 53,0 - 68,0 min (89 - 89% de B); 78,0 - 88,0 min (100 - 100% de B), volume de injeção de 100 µL e taxa de fluxo de 8,0 mL/min.; e um tempo de corrida: 110 min; fornecendo 17 frações das quais, cinco se destacam pela massa, representadas na figura 8, sendo as escolhidas para as análises dos espectros de RMN H¹, permitindo a identificação de cinco compostos (CL-1, CL-2, CL-3, CL-4, CL-5). Os compostos isolados tiveram os seguintes tempos de retenção: 41.00 (CL-1– 17 mg); 47.00 (CL-2 – 12 mg); 60.00 (CL-3 – 140 mg); 63.00 (CL-4 – 1,3 mg); 73.00 (CL-5– 1,2 mg) (Esquema 2).

Esquema 2. Representação da metodologia empregada



Fonte: Autoria própria

Figura 8. Representação das substâncias isoladas da fração FCC100.



Fonte: Autoria própria

4.4 Métodos espectroscópicos – caracterização de compostos

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram registrados em espectrômetros, operando a 500 MHz (RMN de ^1H) e 125 MHz (RMN de ^{13}C). O solvente utilizado na dissolução das amostras foi o clorofórmio deuterado (CDCl_3). Os deslocamentos químicos foram registrados em partes por milhão e constante de acoplamento em Hertz (Hz). As multiplicidades dos deslocamentos químicos serão indicadas, como: s (simpleto), d (dubleto), dd (duplo dubleto), t (triplete) e m (multiplete).

Foi realizado também as técnicas de RMN bidimensionais, entre os quais COSY, HMBC e HSQC.

4.5 Ensaio biológico

O ensaio de redução de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) foi utilizado para avaliar a citotoxicidade do composto CL-5 (1,0 mg) contra linhagens de células tumorais. As células foram semeadas em placas de 96 poços a uma concentração de 3×10^5 células/mL (SK-MEL-28 - linha celular de melanoma) ou 5×10^5 células/mL (HL-60 - leucemia promielocítica aguda).

Após 24 horas, os compostos testados foram incubados a uma concentração de 25 μM com a suspensão de células por 72 horas. Após a incubação, foi adicionada solução de MTT (5 mg/mL). As placas foram incubadas durante 4 horas, depois os cristais de formazan produzidos foram dissolvidos durante a noite com uma solução de 10% de dodecil sulfato de sódio (SDS). A absorbância foi medida em espectrofotômetro com um comprimento de onda de 570 nm. Os experimentos foram realizados em triplicata e os valores de inibição de crescimento (%) foram calculados usando o software GraphPad Prism 8.0.1

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

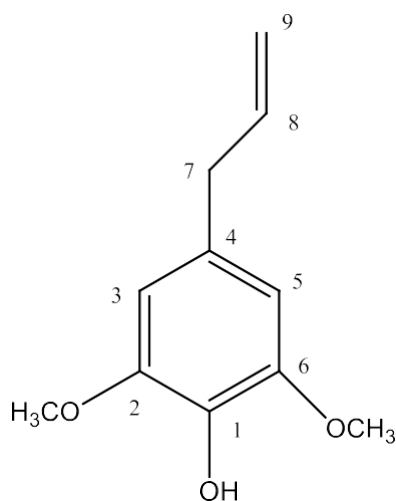
5.1 Determinação estrutural da substância CL-1

A substância CL-1 (1,7 mg) apresentou-se como um óleo amarelado.

A análise do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 10) revelou a presença de hidrogênios ligados a carbonos com hibridização sp^3 e hidrogênios aromáticos. Na expansão do espectro (Figura 11-12) foi possível observar apenas a presença de um único sinal em δ_{H} 6,41 (s, 2H, H-3 e H-5), na região de aromático. Sugerindo assim um anel tetra-substituído simétrico, quando associados aos sinais de metoxila em δ_{H} 3,85 (s, 6H) e do sinal de hidroxila em δ_{H} 5,36 (sl, 1H) (GRACEZ, et al., 2009). Apresentou ainda, um duplete em δ_{H} 3,31 (d, $J=10$ Hz, 2H, H-9a e H-9b) e dois multipletos em δ_{H} 5,09 (m, 2H, H-7) e δ_{H} 5,97 (m, 1H, H-8), indicativo de uma unidade propanoide ligada ao anel aromático (GRACEZ, et al., 2009; PAVIA, et al., 2010).

No espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) (Figura 13) foi possível observar a presença de 8 sinais. Sendo quatro carbonos não hidrogenados, três carbonos metínicos e dois carbonos metilênicos. Na região aromática observou-se o sinal em δ_{C} 105,0 que foi atribuído aos carbonos metilênicos C-3 e C-5, que estão mais blindados devido ao efeito doador dos grupos metoxilas (OCH_3) com presença confirmada pelo sinal em δ_{C} 56,8. Que quando associado aos outros três sinais na região aromática, relativos a carbonos tetrasubstituídos, em δ_{C} 131,0 (C-4), 132,9 (C-1), 146,9 (C-2 e C6) confirma a presença do anel aromático tetra-substituído. Ainda é possível observar um sinal em δ_{C} 115,6, que indica a presença de uma ligação dupla exocíclica além de um sinal em δ_{C} 40,2 para carbono metilênico e um carbono metínico em δ_{C} 137,5, referenciando a cadeia propanoide (GRACEZ, et al., 2009; PAVIA, et al., 2010).

Assim, esses sinais quando associados e comparados aos dados espectrais da literatura Santos (2014) (Tabela 2). Permitiu a identificação da substância CL-1 (Figura 9) como sendo o fenilpropanoide metoxieugenol, já relatado para o óleo essencial da espécie *Croton lanwjouwensis*.

Figura 9. Estrutura da substância CL-1

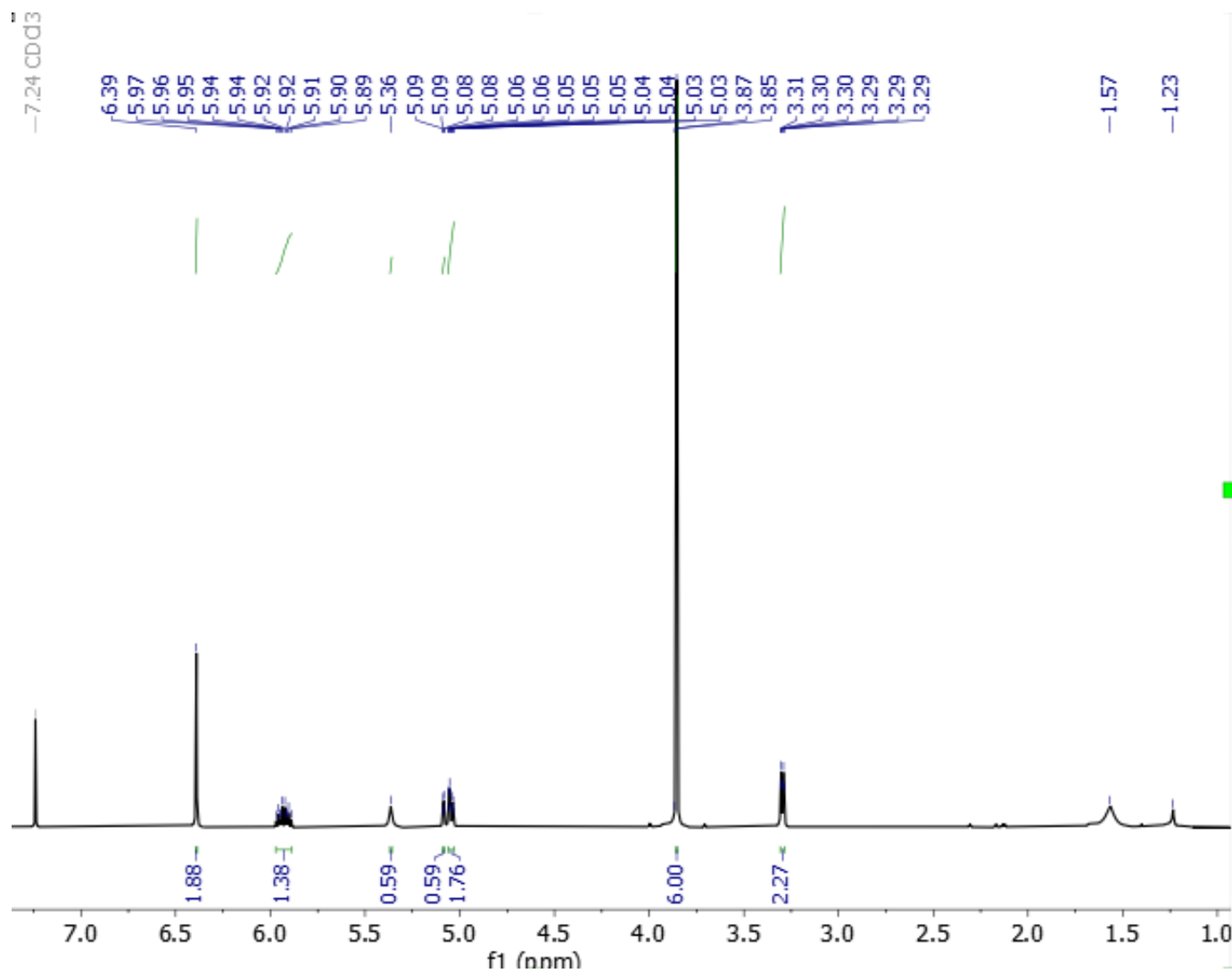
Fonte: Autoria própria

Tabela 2. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1 com os dados da literatura Santos (2014).

Dados espectrais de RMN de CL-1			Dados espectrais Santos (2014)	
C	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H
1	132,9	-	132,8	-
2	146,9	-	146,8	-
4	131,0	-	130,9	-
6	146,9	-	146,8	-
CH				
3	105,1	6,39, s, 2H	105,0	6,41, s, 2H
5	105,1	6,39, s, 2H	105,0	6,41, s, 2H
8	137,5	5,97, m, 1H	137,5	5,85-6,05, m, 1H
CH₂				
7	40,3	3,31, d, 2H, J= 10 Hz	40,2	5,04-5,14, m, 2H
9	115,6	5,09, m, 2H	115,6	3,33, d, 2H, J=6,5 Hz
ArOH		5,36, sl, 1H		5,41, s, 1H
OCH₃	56,2	3,85, s, 6H	56,1	3,87, s, 6H

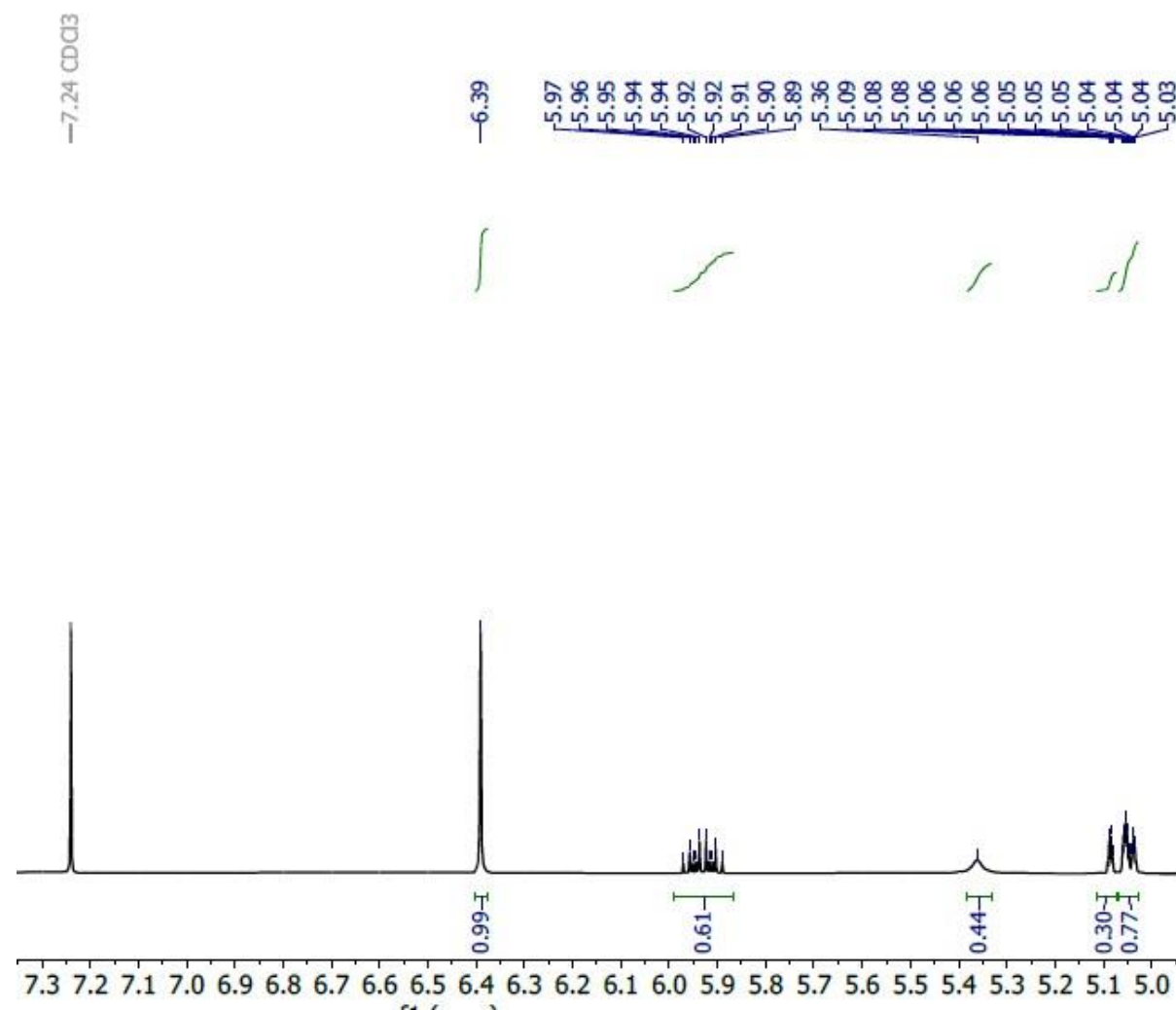
Fonte: Autoria própria

Figura 10. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1



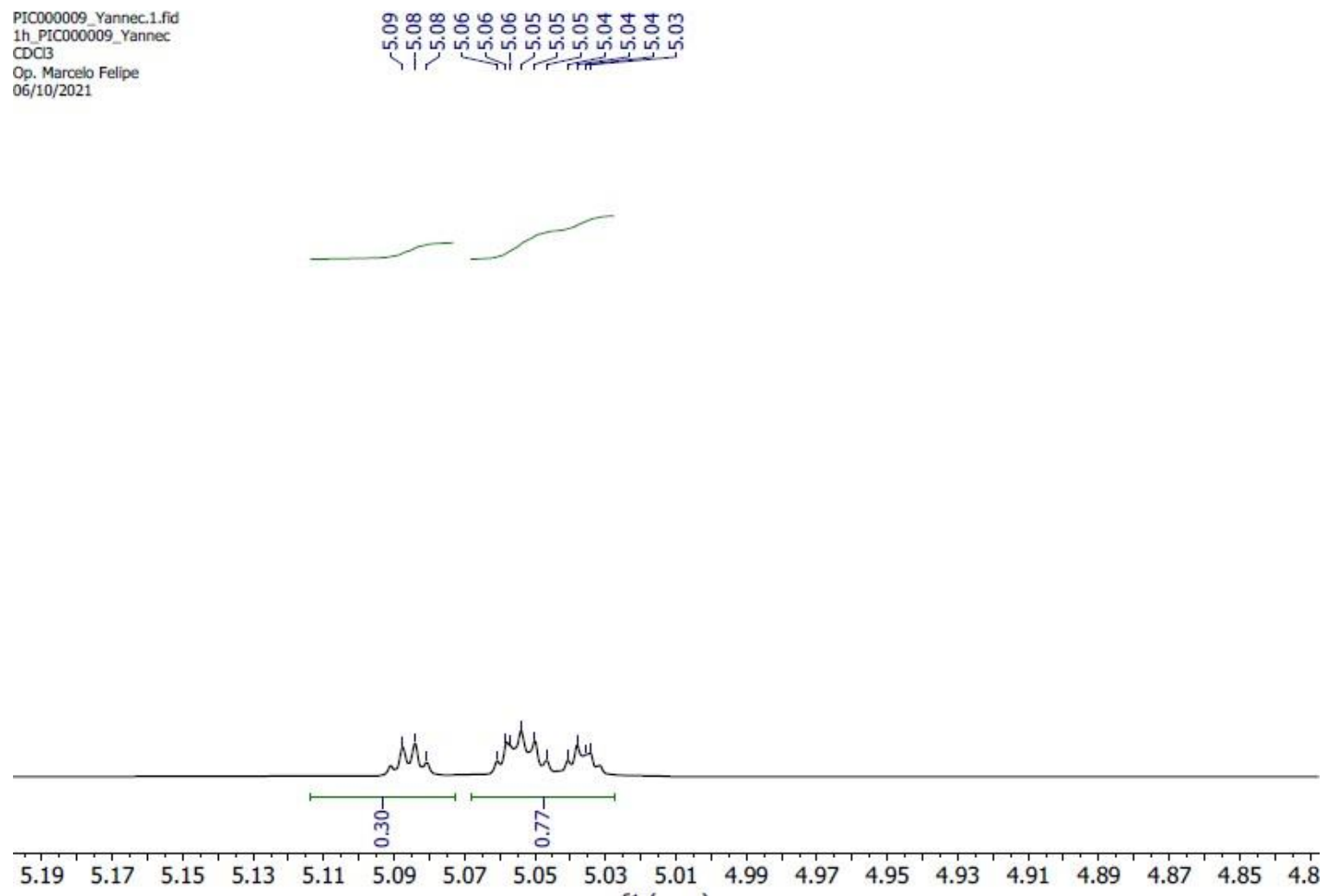
Fonte: Autoria própria

Figura 11. Expansão do Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1



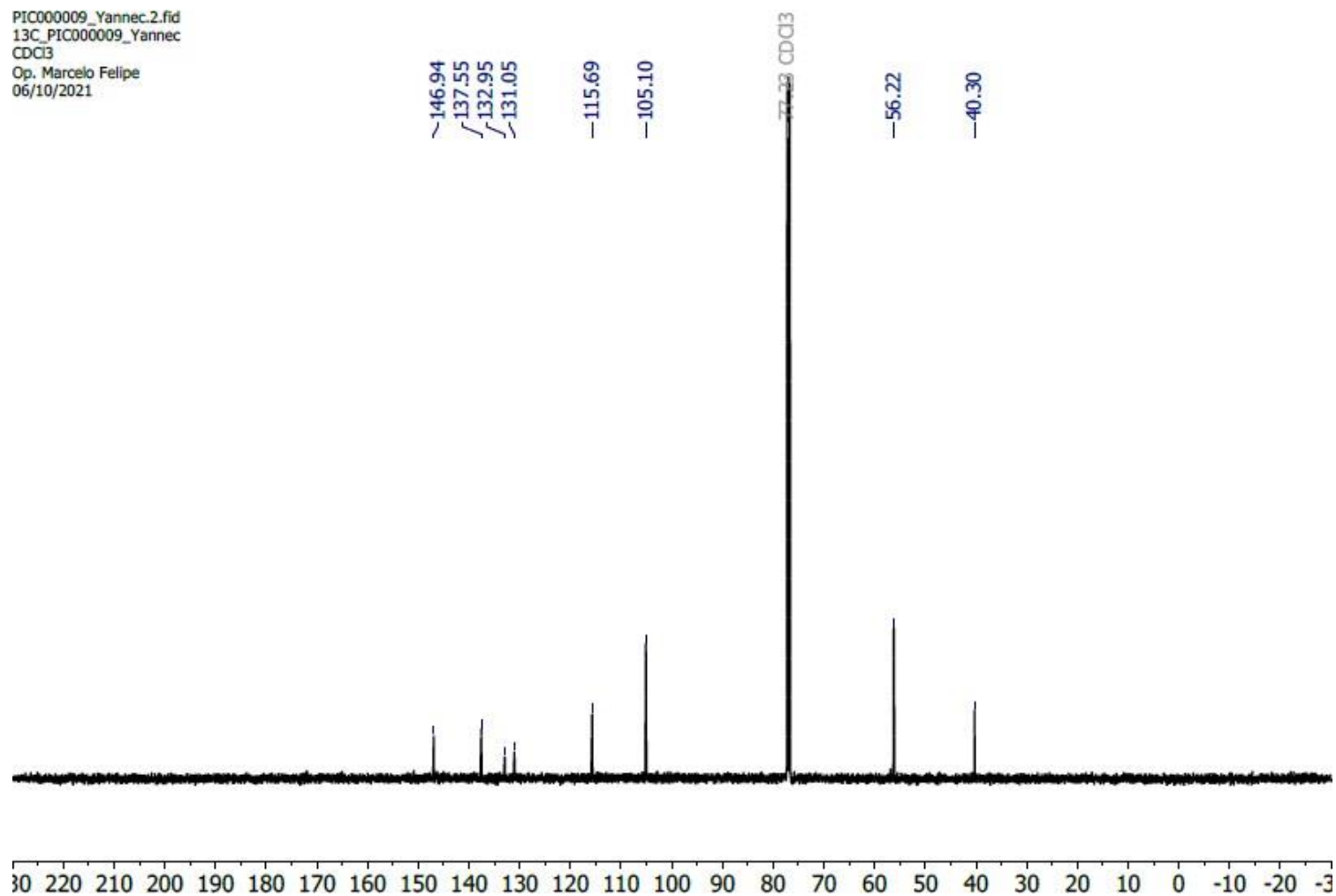
Fonte: Autoria própria

Figura 12. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-1



Fonte: Autoria própria

Figura 13. Expansão do espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-1



Fonte: Autoria própria

5.2 Determinação estrutural da substância CL-2

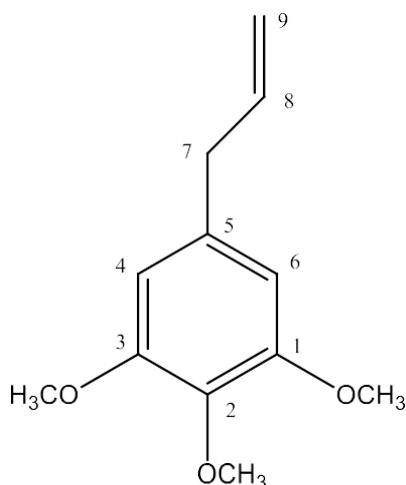
A substância codificada como CL-2 (12 mg) apresentou-se como um óleo incolor.

No espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 17) observou-se um único sinal na região de aromáticos, em δ_{H} 6,39 (s, 2H, H-4 e H-6). A associação desses sinais juntos aos 3 sinais de metoxilas em δ_{H} 3,83 (s, 6H) e δ_{H} 3,80 (s, 3H), sugere um anel aromático tetra-substituído simétrico. Ainda é possível observar um duplete em δ_{H} 3,32 (d, $J=5$ Hz, 2H, H-7), e dois multipletos em δ_{H} 5,99 (m, 1H, H-8) e δ_{H} 5,12 (m, 1H, H-9), indicativos de uma unidade propenil ligada ao anel aromático (GRACEZ, et al., 2009; PAVIA, et al., 2010).

No espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) (Figura 16) foi possível observar 9 sinais de carbono. Sendo 4 sinais de carbono não hidrogenado, 3 carbonos metínicos e 2 carbonos metilênicos. Os três sinais, na região de aromáticos, relativos a carbonos tetrasubstituídos em δ_{C} 153,3 (C-1; C-3), 136,0 (C-2), 136,4 (C-5) com o sinal aromático em δ_{C} 105,6 (C-4; C-6) confirma a presença do anel aromático tetra-substituído. Os sinais em δ_{C} 137,4, 116,2 e 40,7 indicam a presença de uma ligação dupla exocíclica e um carbono metilênico, referenciando a cadeia propanoide. Ainda é possível observar dois sinais de metoxilas, um em δ_{C} 56,2 e outro em δ_{C} 61,0, estericamente impedida em C-2 (GRACEZ, et al., 2009; PAVIA, et al., 2010).

Esses sinais quando associados e comparados aos dados espectrais da literatura Gracez e colaboradores (2009) (Tabela 3). Permitiu a identificação da substância CL-2 (Figura 14) como sendo o fenilpropanoide elemicina, já relatado para o óleo essencial da espécie *Croton lanwjouwensis*.

Figura 14. Estrutura da substância CL-2



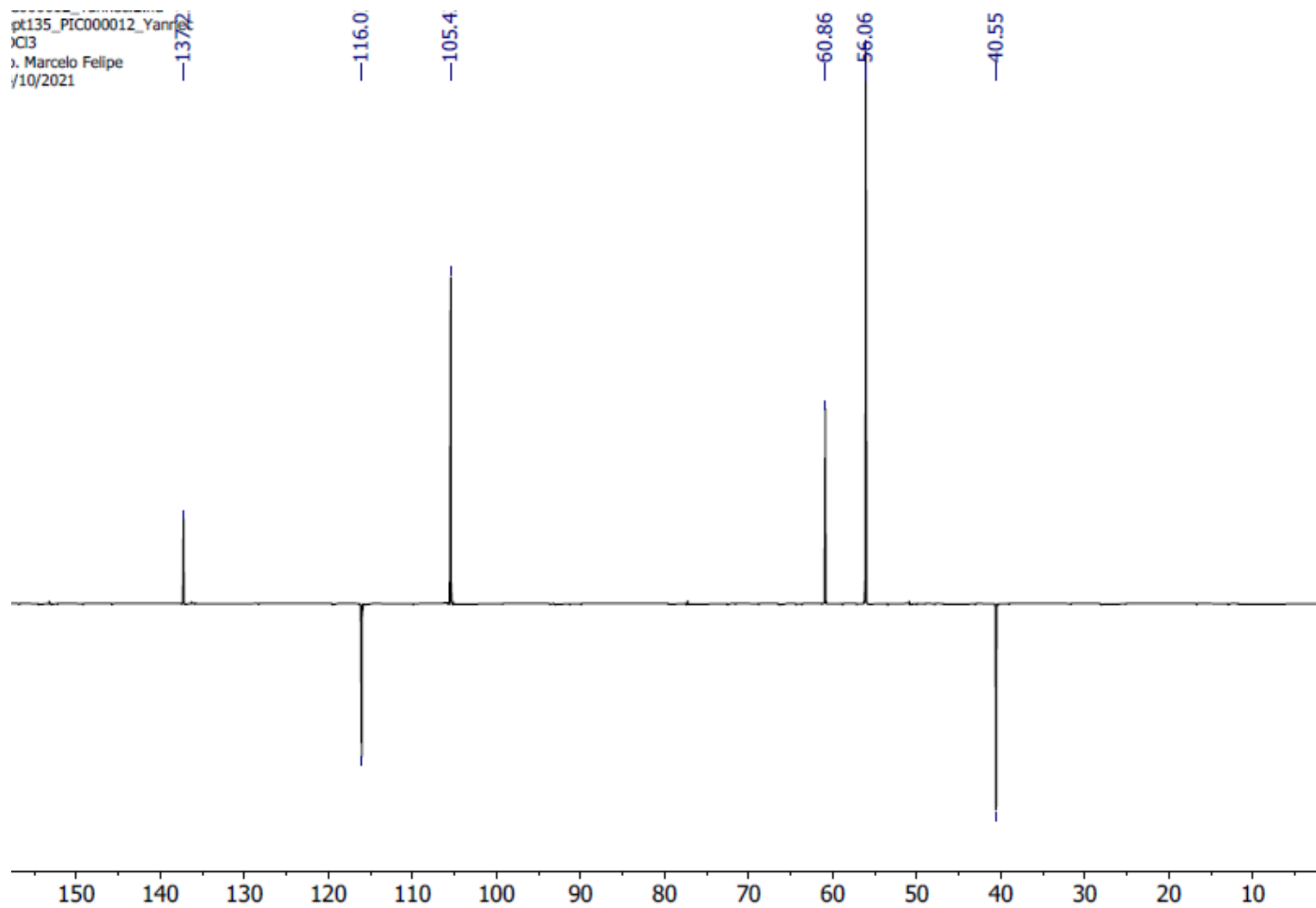
Fonte: Autoria própria

Tabela 3. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2 com os dados da literatura Gracez e colaboradores (2009)

Dados espectrais de RMN de CL-2			Dados espectrais Gracez e colaboradores (2009)	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	153,3	-	153,0	-
2	136,0	-	136,0	-
3	153,3	-	153,0	-
5	136,4	-	136,4	-
CH				
4	105,6	6,39, s, 2H	105,6	6,42, s
6	105,6	6,39, s, 2H	105,6	6,42, s
8	137,4	5,99, m	137,2	5,97, m
CH₂				
7	40,7	3,32, d, J=5 Hz	40,8	3,34, d, J=6,7 Hz
9	116,2	5,12, m	116,0	5,10, m
OCH₃				
1	56,2	3,83, s	56,0	3,86, s
2	61,0	3,80, s	60,8	3,83, s
3	56,2	3,83, s	56,0	3,86, s

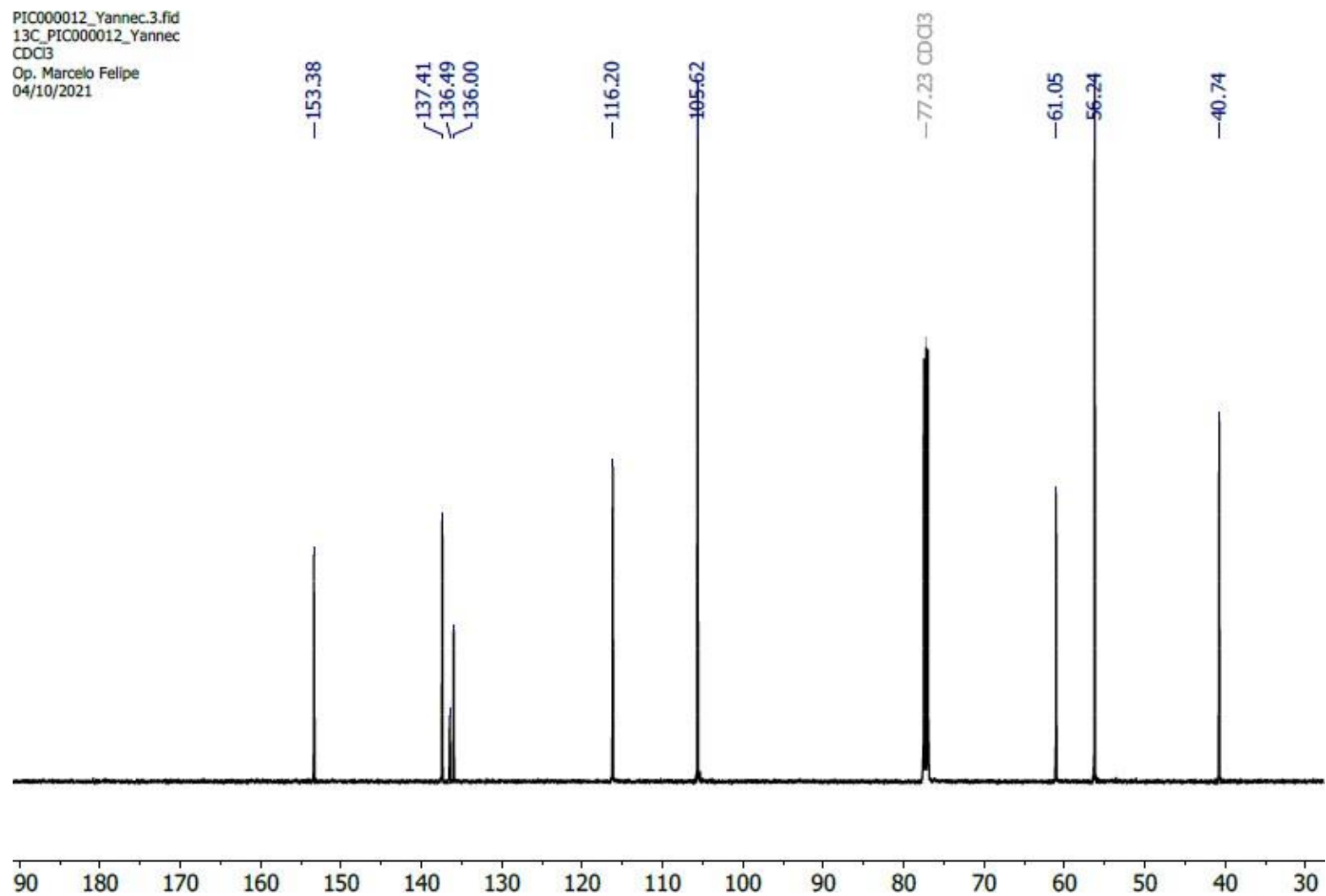
Fonte: Autoria própria

Figura 15. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-2



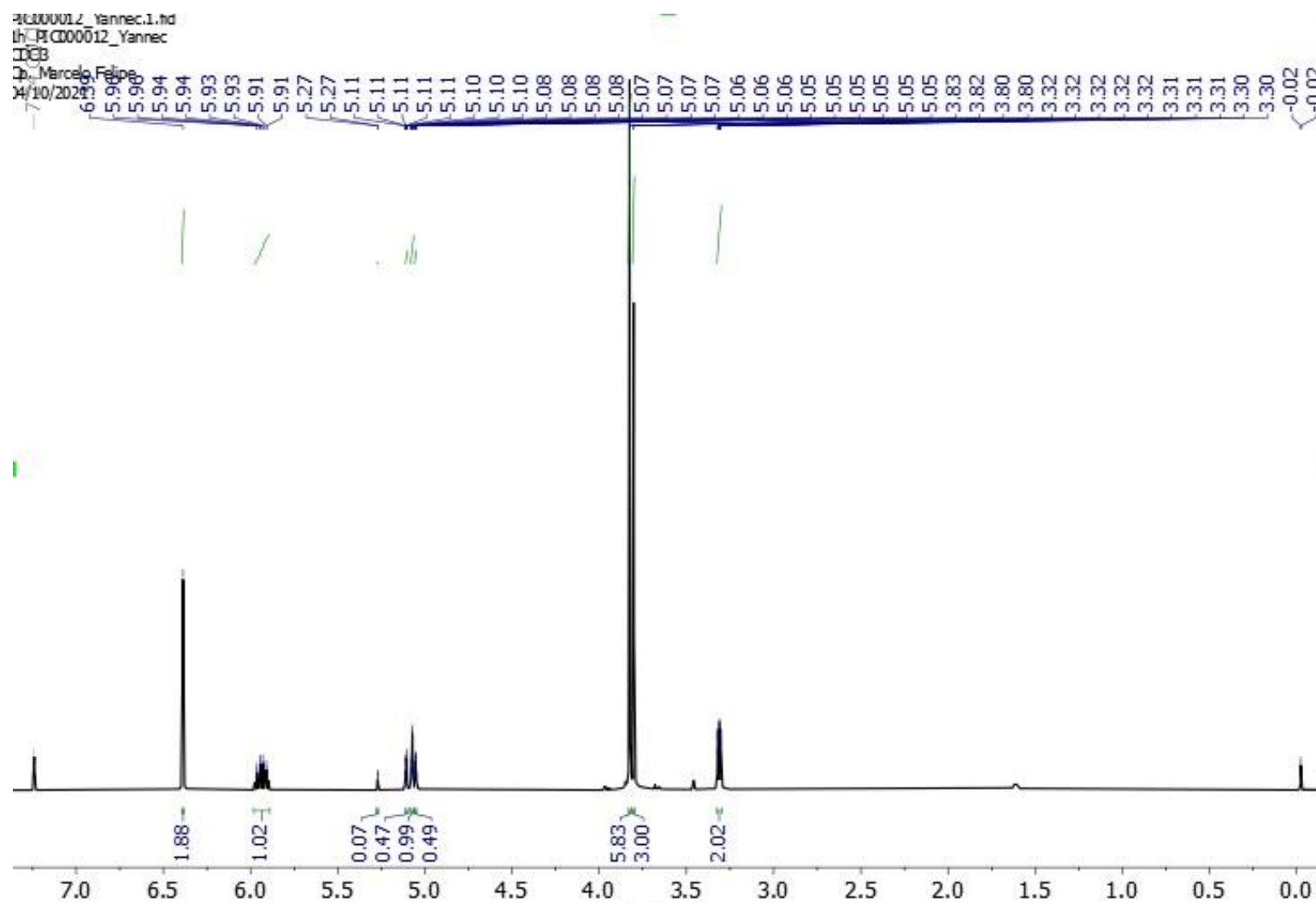
Fonte: Autoria própria

Figura 16. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-2



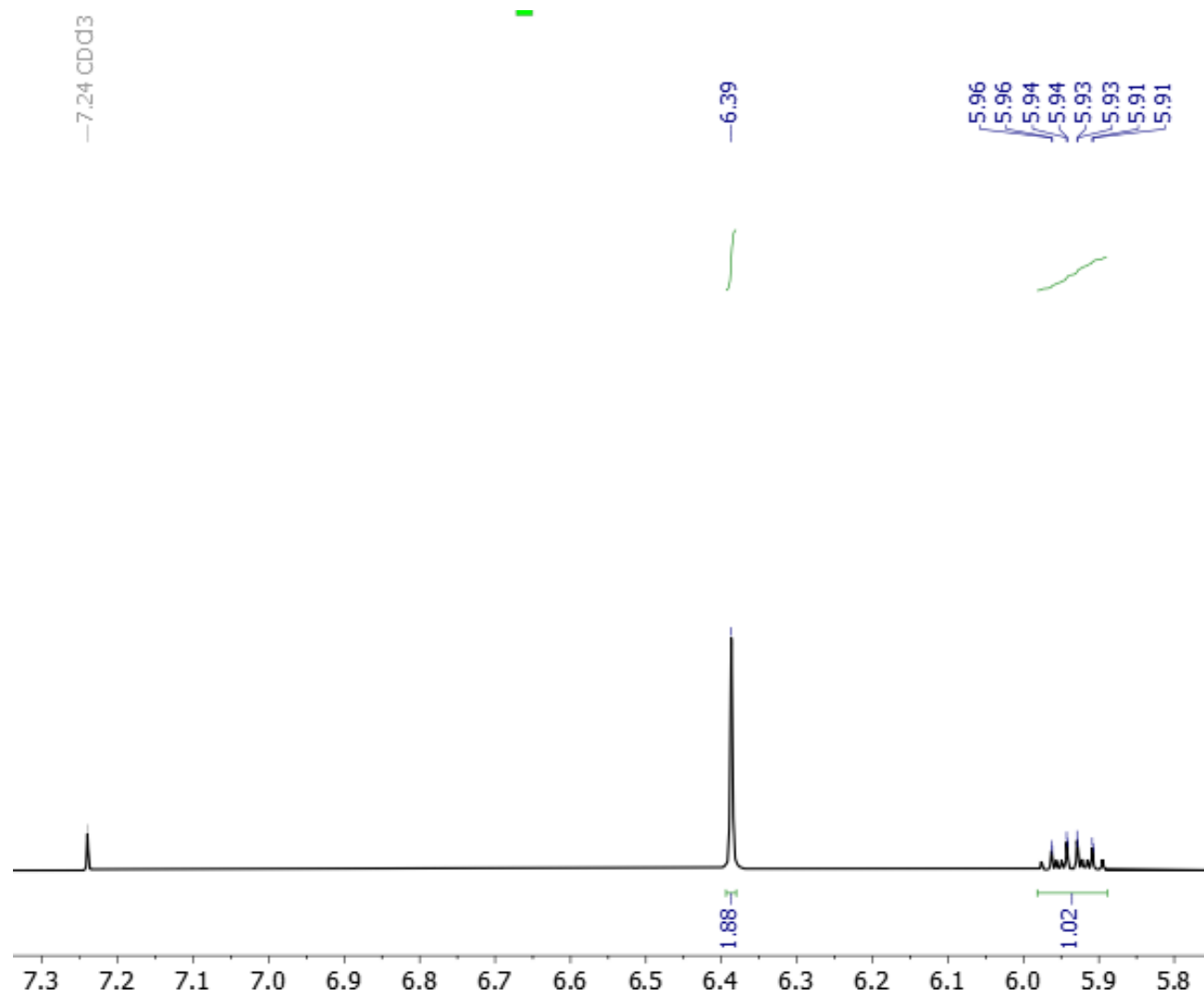
Fonte: Autoria própria

Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2



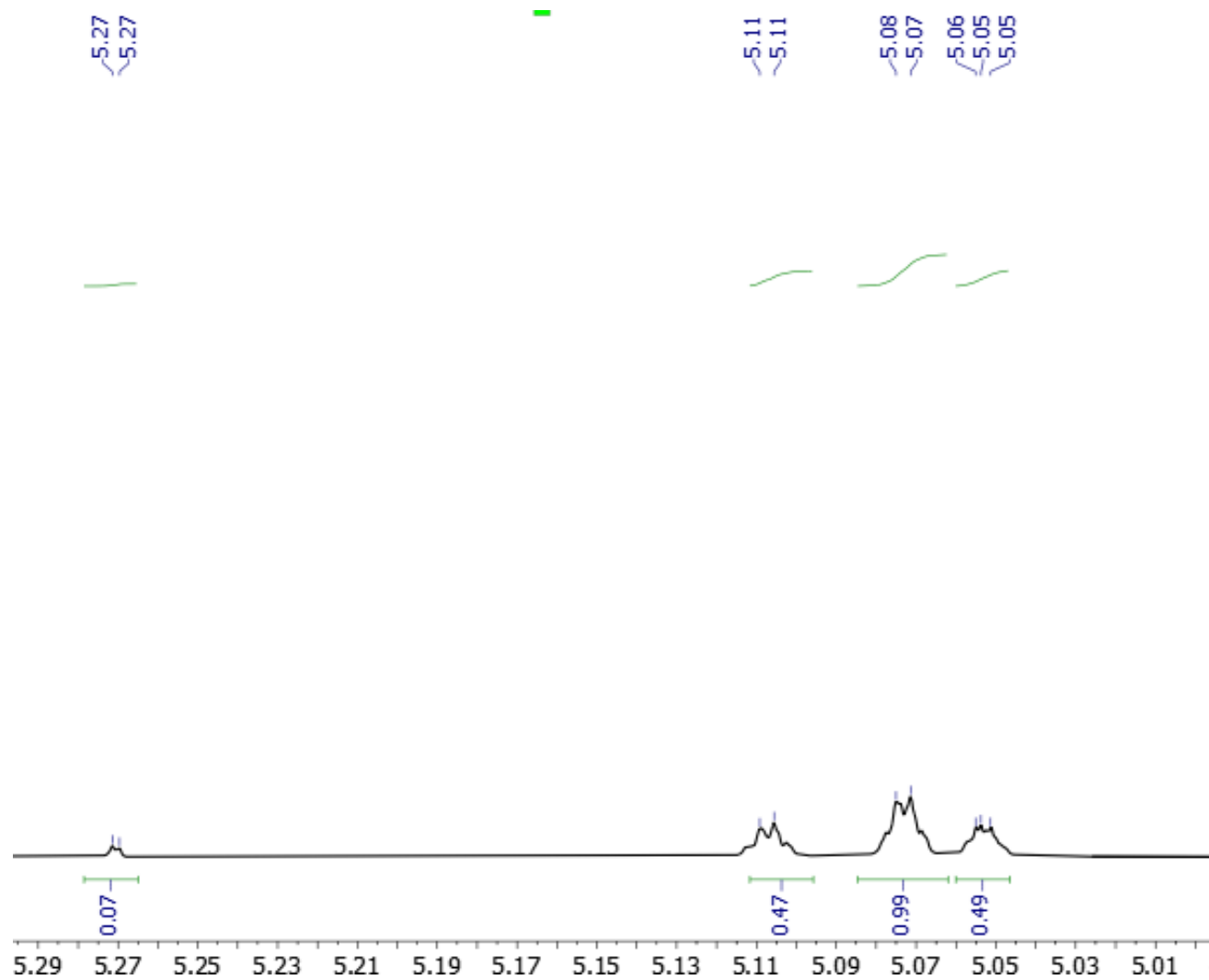
Fonte: Autoria própria

Figura 18. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2



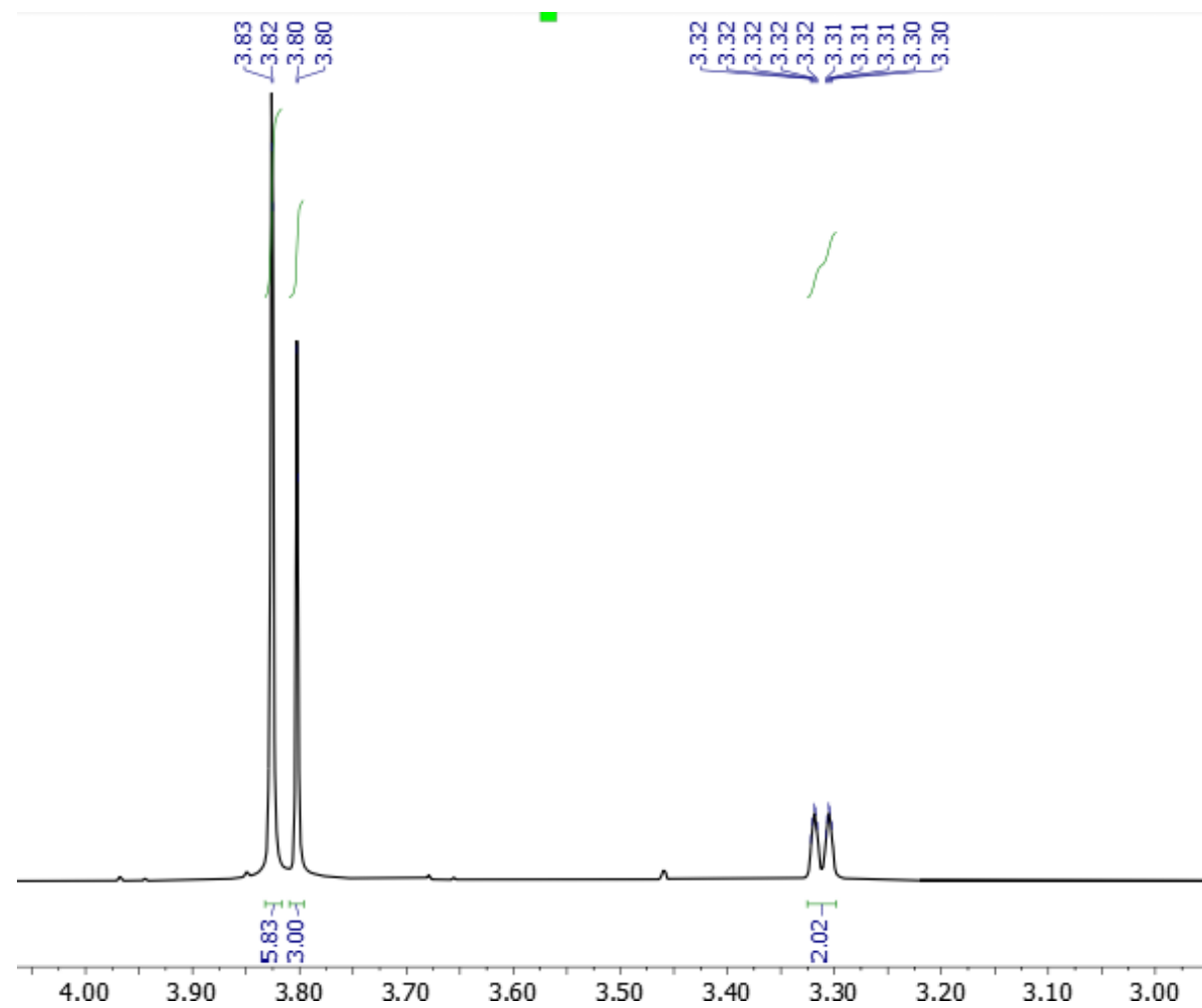
Fonte: Autoria própria

Figura 19. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2



Fonte: Autoria própria

Figura 20. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-2



Fonte: Autoria própria

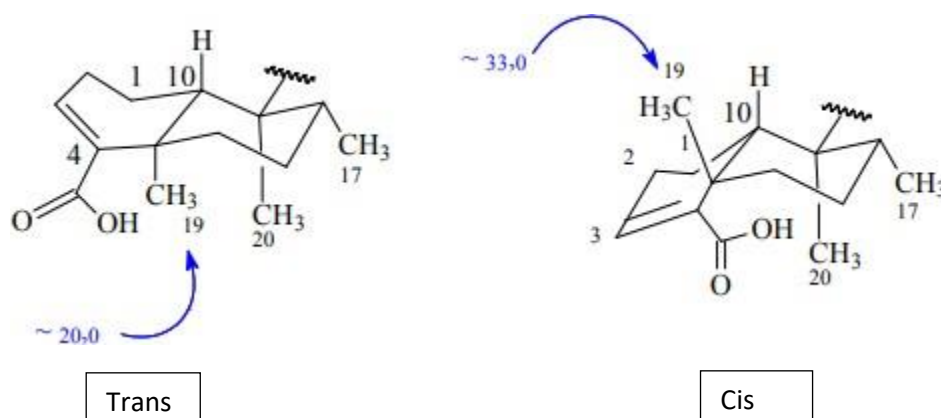
5.3 Determinação estrutural da substância CL-3

A substância codificada como CL-3 (202 mg), apresentou-se como um cristal branco.

No espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) (Figura 23) foi possível observar 20 sinais. Destes, cinco sinais foram atribuídos a carbonos não hidrogenados, seis sinais de carbonos metínicos, seis sinais de carbonos metilênicos e três sinais de carbonos metílicos. Os sinais em δ_c 46,8 e 36,4 foram atribuídos para os carbonos metínicos C-10 e C-8, sugestivos de esqueleto de diterpeno clerodano (ÁVILA, 2015; MEDEIROS, 2012; PINTO, 2009; SANTOS, et al., 2007). Já os sinais em δ_c 38,8, 141,4 e 37,8 foram atribuídos para os carbonos não hidrogenados C-9, C-4 e C-5, confirmado pela ausência do sinal no espectro de RMN ^{13}C -DEPT 135 (125 MHz, CDCl_3) (Figura 24), sinais também sugestivos de estrutura carbônica de diterpeno clerodano (ÁVILA, 2015; MEDEIROS, 2012; PINTO, 2009; SANTOS, 2007). Quando somado aos deslocamentos químicos de carbono em δ_c 111,1, 142,9, 140,2 e 125,7, característicos de anel furano, sugere então uma estrutura de diterpenóide clerodano furânico (PAVIA, et al., 2010).

Ainda pelos dados espectrais de RMN de ^{13}C , foi possível identificar não só a estrutura, mas também a estereoquímica desse tipo de diterpeno clerodano, a partir de mudanças singulares nos dados espectrais de RMN de ^{13}C . Segundo Santos e colaboradores (2007) a fusão dos anéis A/B na decalina pode ser diferenciada em Cis ou Trans pelo sinal da CH_3 -19, pois quando a fusão encontra-se em Cis esta metila tende a um deslocamento aproximado de ~ 33.0 ppm enquanto que na Trans é de ~ 20.0 ppm. Como demonstrado abaixo (Figura 21):

Figura 21. estrutura do anel A/B decalina e alteração da configuração das metilas



Fonte: Adaptado de Medeiros (2012)

No espectro de RMN de ^{13}C do P-14 (Figura 24) é possível observar que a metila 19 está atribuída a um deslocamento em 20,1 ppm, condizente com uma configuração Trans-decalina. Além disso, as configurações das metilas 17 e 20, inseridas nos centros quirais C-8 e C-9, respectivamente, podem estar em conformações diferentes entre si, gerando um deslocamento químico alterado para a metila 20. Assim quando essas encontram-se em configuração Cis, a metila 20 corresponde a um deslocamento $\sim 18,0$ ppm, enquanto que em Trans o deslocamento químico é de $\sim 20,0$ ppm. No espectro de RMN de ^{13}C a metila 20 foi atribuída a um deslocamento de δ_{C} 18,8, condizente com uma configuração Trans entre CH_3 -17 e CH_3 -20.

No espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) (Figura 25) e suas expansões (Figura 26-31) apresentou sinais em δ_{H} 6,25 (brs, 1H), 7,34 (t, $J=1,7$ Hz, 1H), 7,19 (brs, 1H) característicos de anel furano. Observou-se também, sinal de hidrogênio olefínico, conjugado com carbonila, em δ_{H} 6,87 (dd, $J=4,7$ e $2,9$ Hz, 1H) para o H-3. Além de três sinais referentes a metilas sendo eles δ_{H} 0,82 (d, $J=6,6$ Hz, 3H), 1,25 (s, 3H) e 0,75 (s, 3H) que corroboraram com esqueleto de diterpenos clerodanos e, ainda, sinais múltiplos observados entre δ_{H} 1,15 e 2,46 que foram atribuídos aos demais hidrogênios alifáticos (MEDEIROS, 2012).

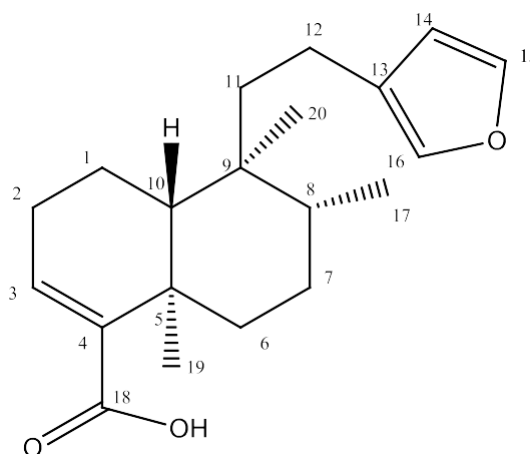
O deslocamento químico em δ_{H} 0,82 (d, $J=6,6$ Hz, 3H) por correlações diretas observadas no espectro de HSQC (Figura 34) foi atribuído a CH_3 -17, sendo um dado relevante desse espectro pois corrobora que o deslocamento em δ_{H} 0,75 (s, 3H) que é atribuído a CH_3 -20. Demonstrando ser compatível com diterpenos clerodanos da série *ent*, pois quando da série normal a metila CH_3 -20 sofre proteção e absorve em $\delta_{\text{H}} \sim 0,57$ ppm (PINTO, 2009).

Esses dados podem ser confirmados pela observação no espectro heteronuclear HMBC (RMN $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$, 500 e 125 MHz, CDCl_3) (Figura 32-33) que confirma a posição dos substituintes. Como a presença da CH_3 -17, devido a correlação do sinal δ_{H} 0,82 com o sinal em δ_{C} 36,4 (C-8), a duas ligações de distância e com o sinal em δ_{C} 27,6 (C-7), a três ligações de distância. E a relação do sinal δ_{H} 0,75 da CH_3 -20 com os sinais em δ_{C} 36,4 (C-8) e 46,8 (C-10), a três ligações de distância. Como também é possível observar relação do sinal δ_{H} 1,25 da CH_3 -19 com os sinais em δ_{C} 141,4 (C-4) e 46,8 (C-10) a três ligações de distância, provando

as posições das metilas. Além do sinal em δ_H 6,87 (H-3) que se relaciona com o sinal em δ_C 173,0 (C-18), a três ligações de distância, provando a localização do ácido. Ainda é possível observar que o anel furano teve sua localização provada pela relação do sinal em δ_H 2,35 (H-12) com o sinal em δ_C 125,7 (C-13), a duas ligações de distância.

Assim, a substância CL-3, isolada pela primeira vez na espécie *Croton lanjouwensis*, foi identificada como ácido (-)-hardwickiic a partir de dados de RMN comparados a literatura (Tabela 3) (LOPES, 2012; MAROYI 2017; CRENTSIL, et al., 2020; SÍMARO, 2021).

Figura 22. Estrutura da substância CL-3



Fonte: Autoria própria

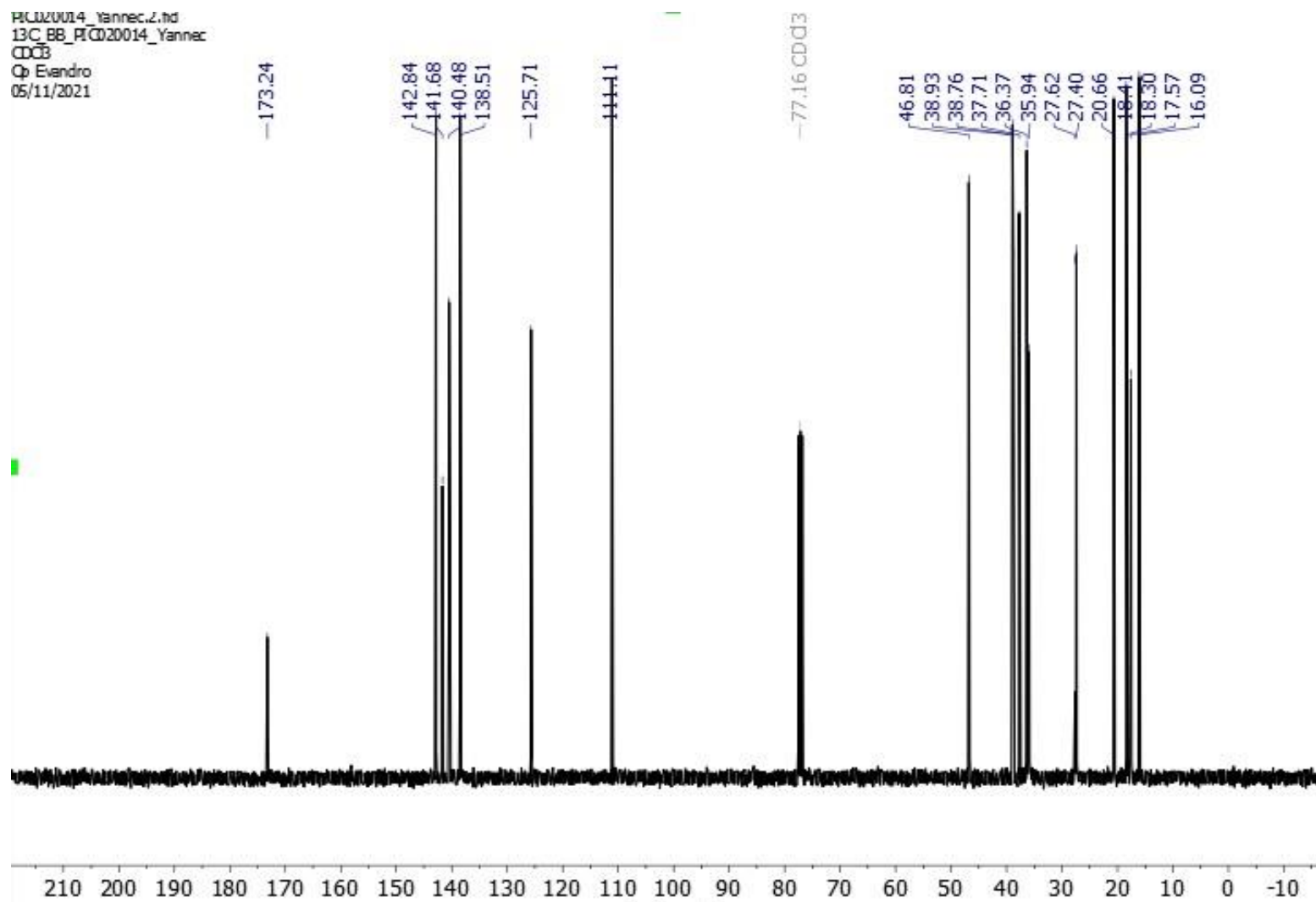
Tabela 4. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, $CDCl_3$) x 1H (500 MHz, $CDCl_3$) da substância CL-3 com os dados da literatura Símaro (2021).

Dados espectrais de RMN de CL-3			Dados espectrais Símaro (2021)	
C	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H
4	141,4	-	141,5	-
5	37,8	-	37,6	-
9	38,8	-	38,8	-
13	125,7	-	125,6	-
18	173,0	-	172,9	-
CH				
3	138,5	6,87(1H, dd, $J= 4,7; 2,9$ Hz)	138,4	6,86 (dd, $J= 4,0; 2,8$ Hz)
8	36,4	1,50 (m, 2H)	36,2	-
10	46,8	1,39 (m, 1H)	46,6	-
14	111,1	6,25 (1H, m)	111,0	6,26 (1H, m)
15	142,9	7,34 (1H, t, $J=1,7$ Hz)	142,7	7,35 (1H, t, $J= 1,6$ Hz)
16	140,2	7,19 (1H, s)	140,3	7,20 (sl)
CH₂				
1	17,6	1,70 (m,1H)	17,4	-

2	27,4	1,41 (m, 2H)	27,5	-
6	36,0	2,46 (dt, $J=13,3$; $3,3$ Hz, 1H) 1,20 (td, $J=12,9$; $4,2$ Hz, 1H)	35,8	-
7	27,6	1,47-1,43 (m, 2H)	27,3	-
11	39,0	1,60-1,53 (m, 2H)	38,6	-
12	18,3	2,23 (m, 1H) 2,35 (m, 2H)	18,3	-
CH₃				
17	16,1	0,82 (3H, d, $J=6,6$ Hz)	16,0	0,83 (d, $J=6,4$ Hz)
19	20,7	1,25 (s, 3H)	20,5	1,26 (s)
20	18,8	0,75 (s, 3H)	18,2	0,76 (s)

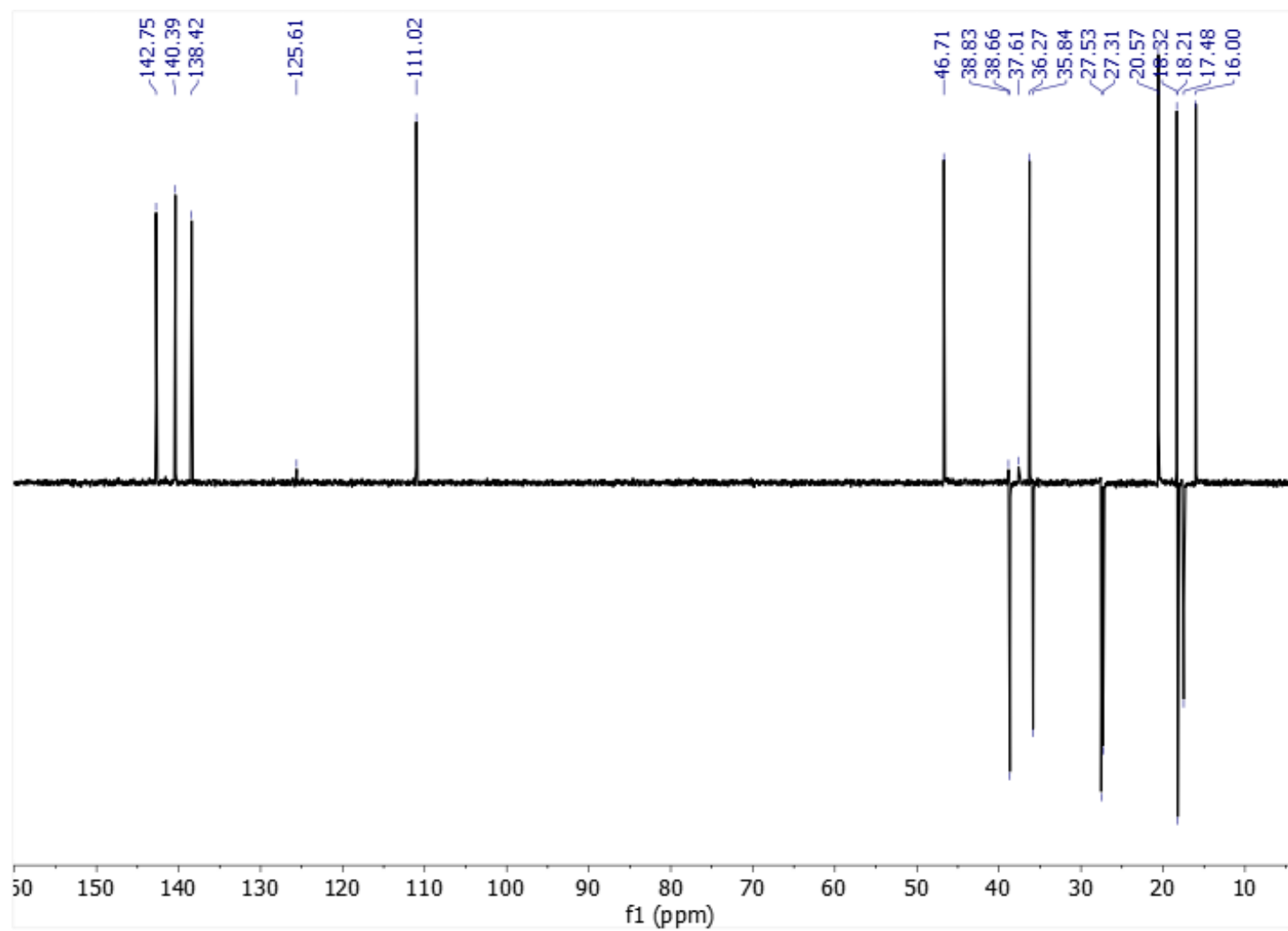
Fonte: Autoria própria

Figura 23. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



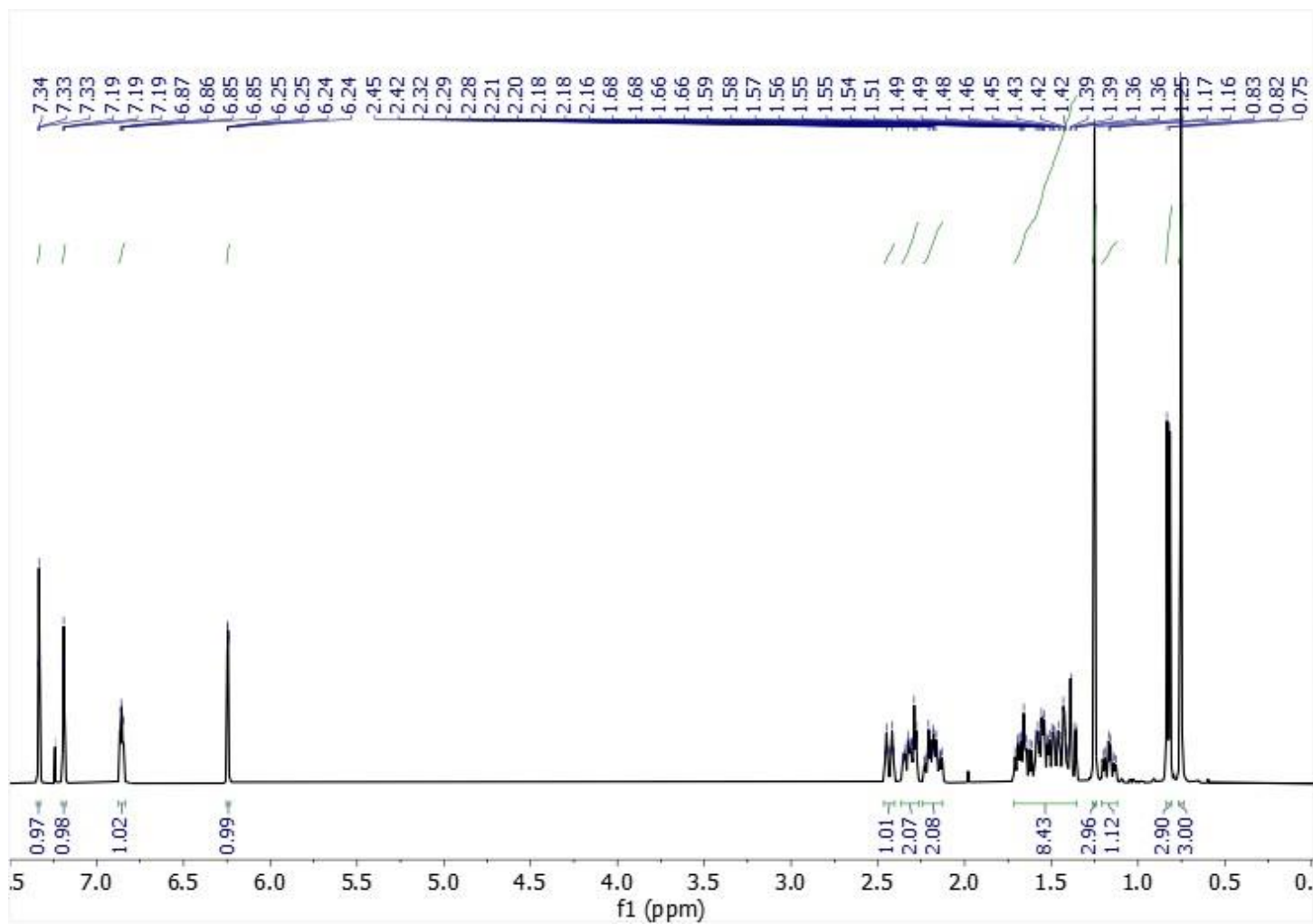
Fonte: Autoria própria

Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C -DEPT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



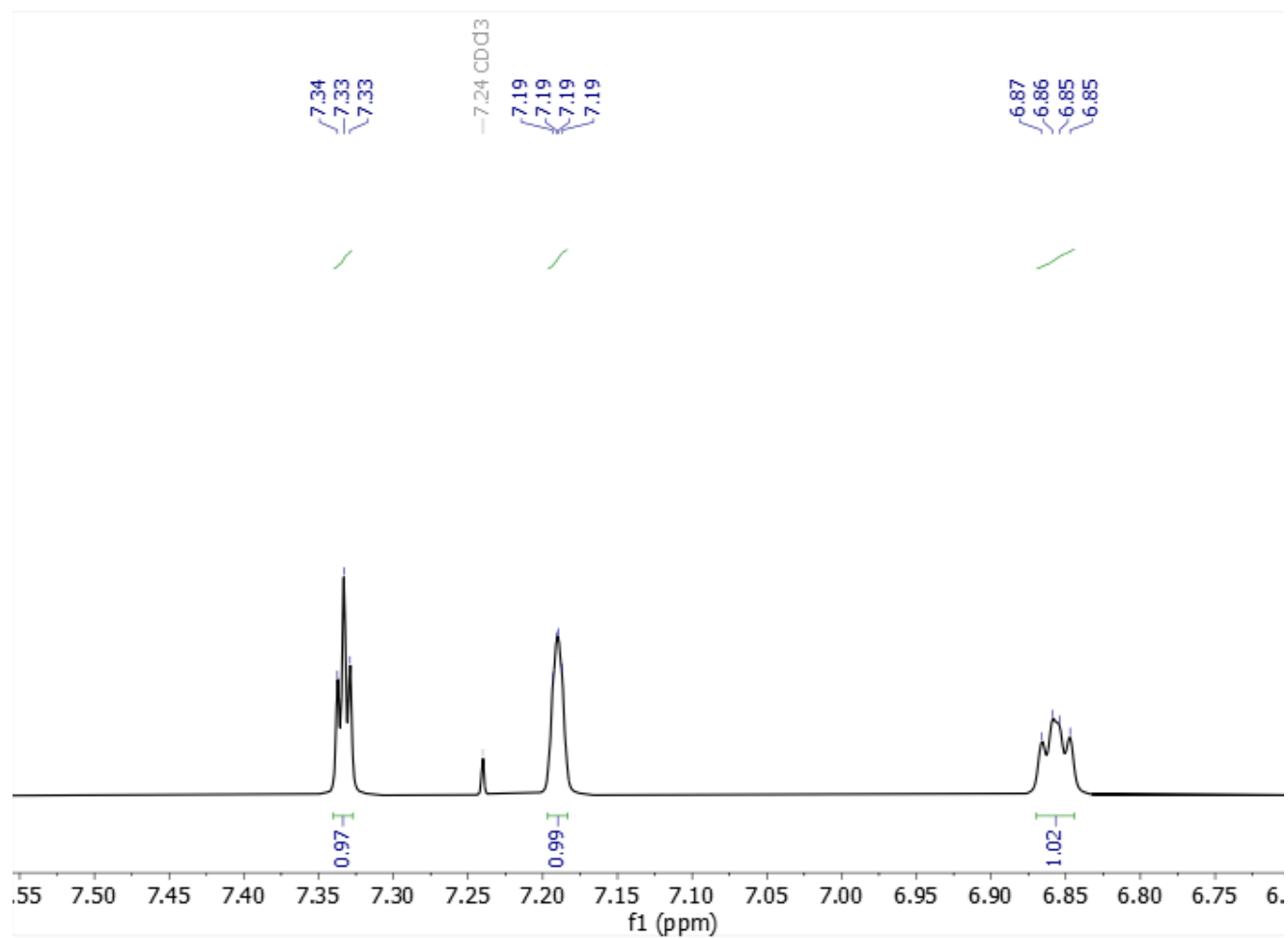
Fonte: Autoria própria

Figura 25. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



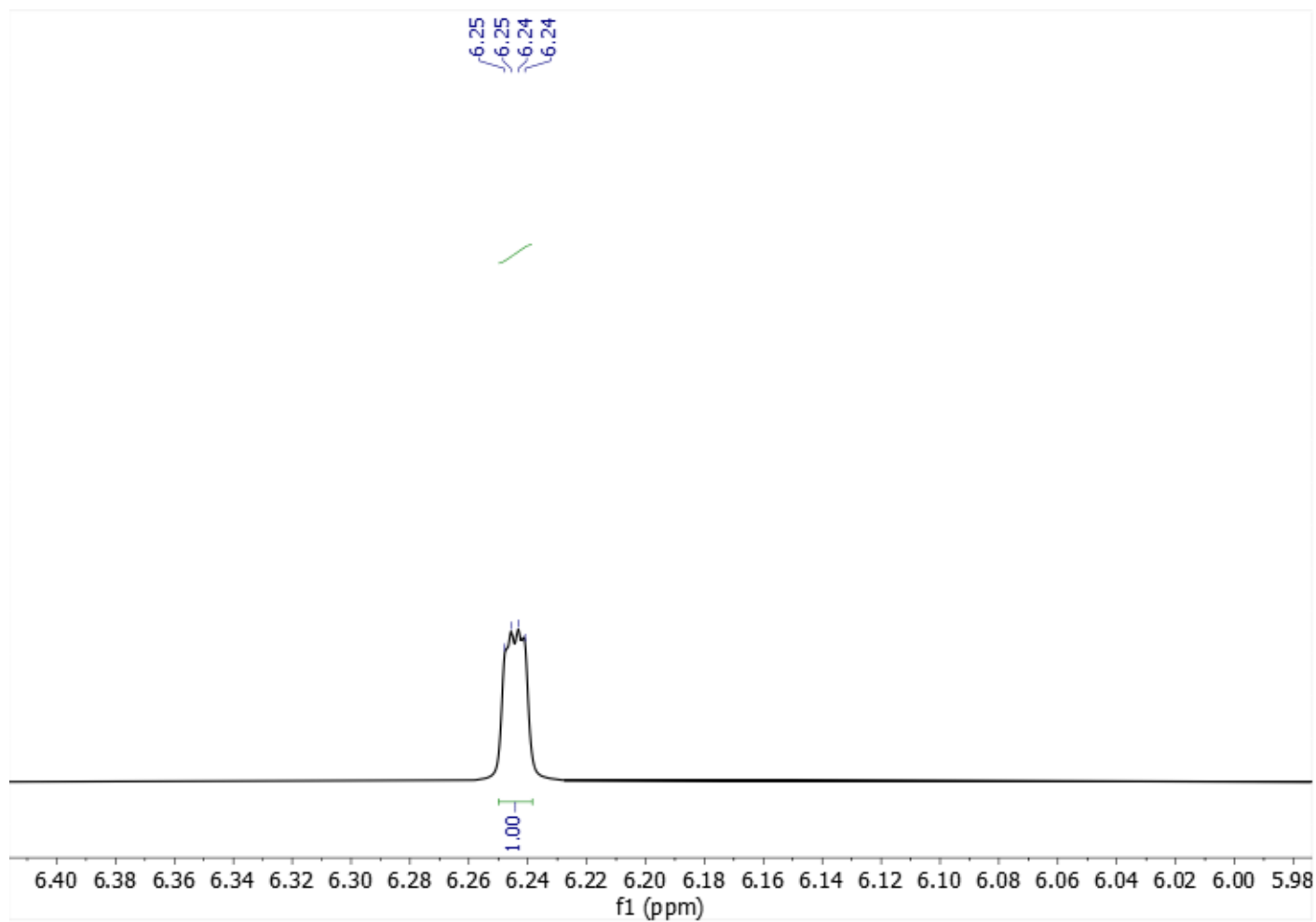
Fonte: Autoria própria

Figura 26. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



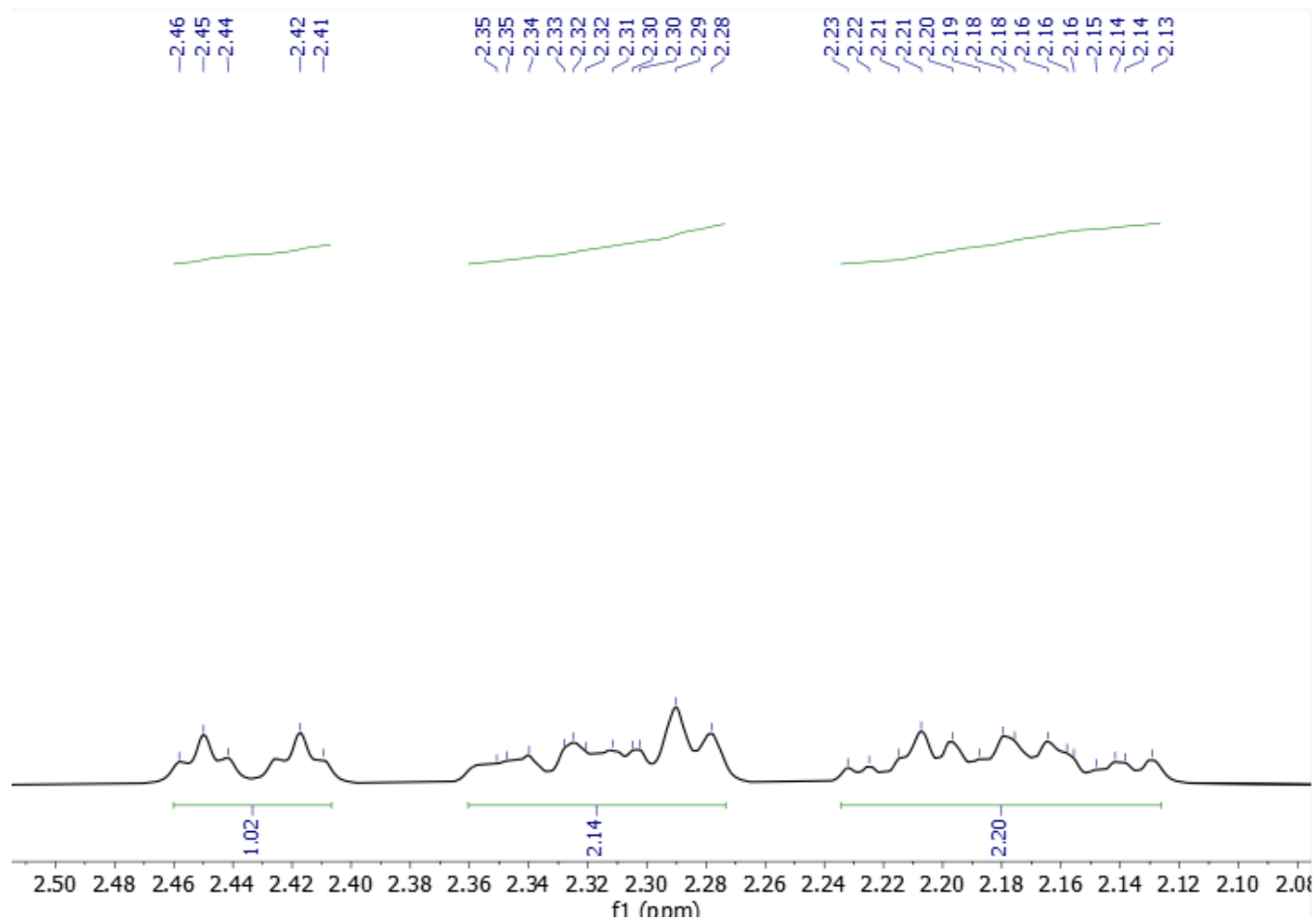
Fonte: Autoria própria

Figura 27. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



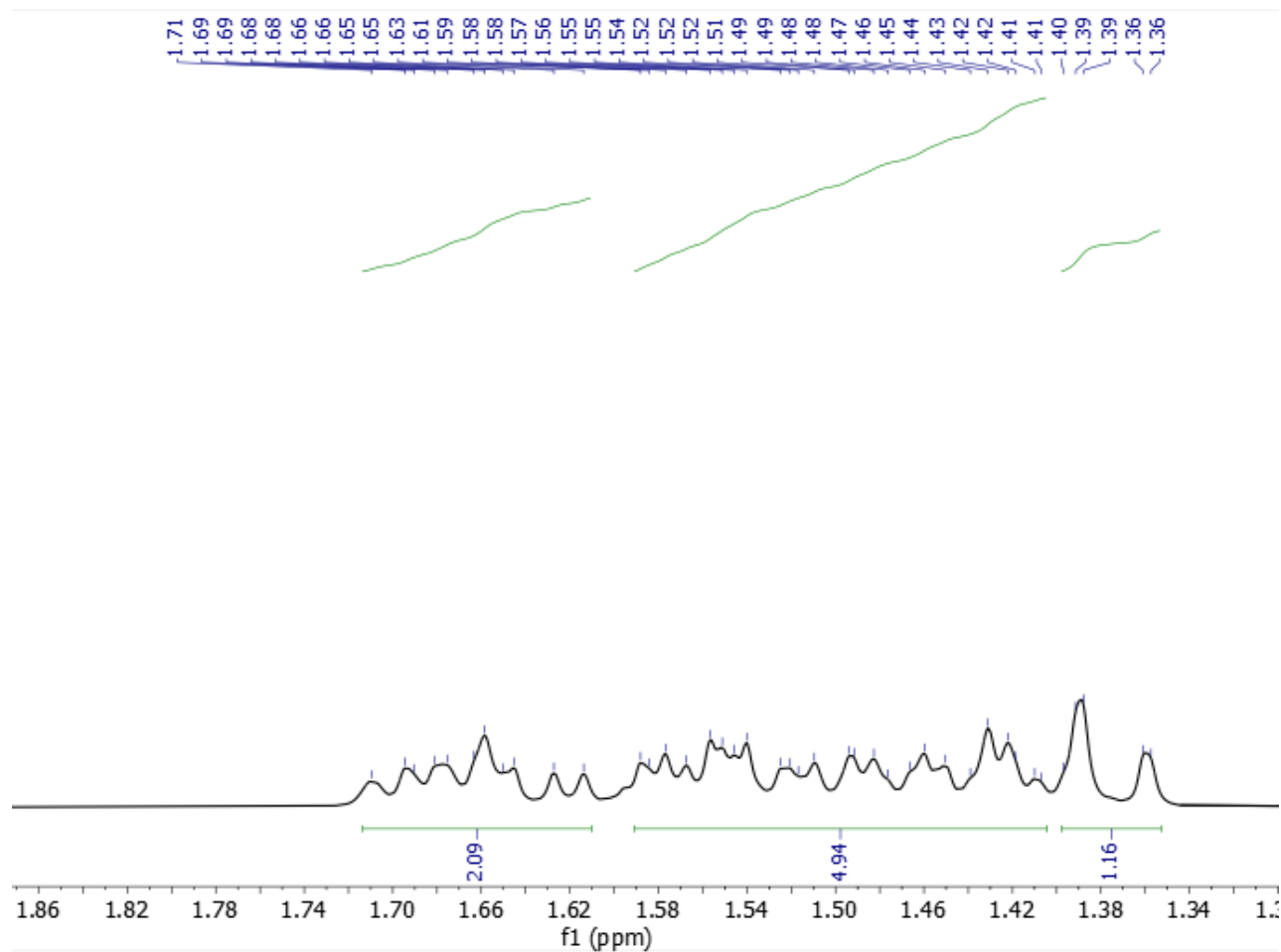
Fonte: Autoria própria

Figura 28. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



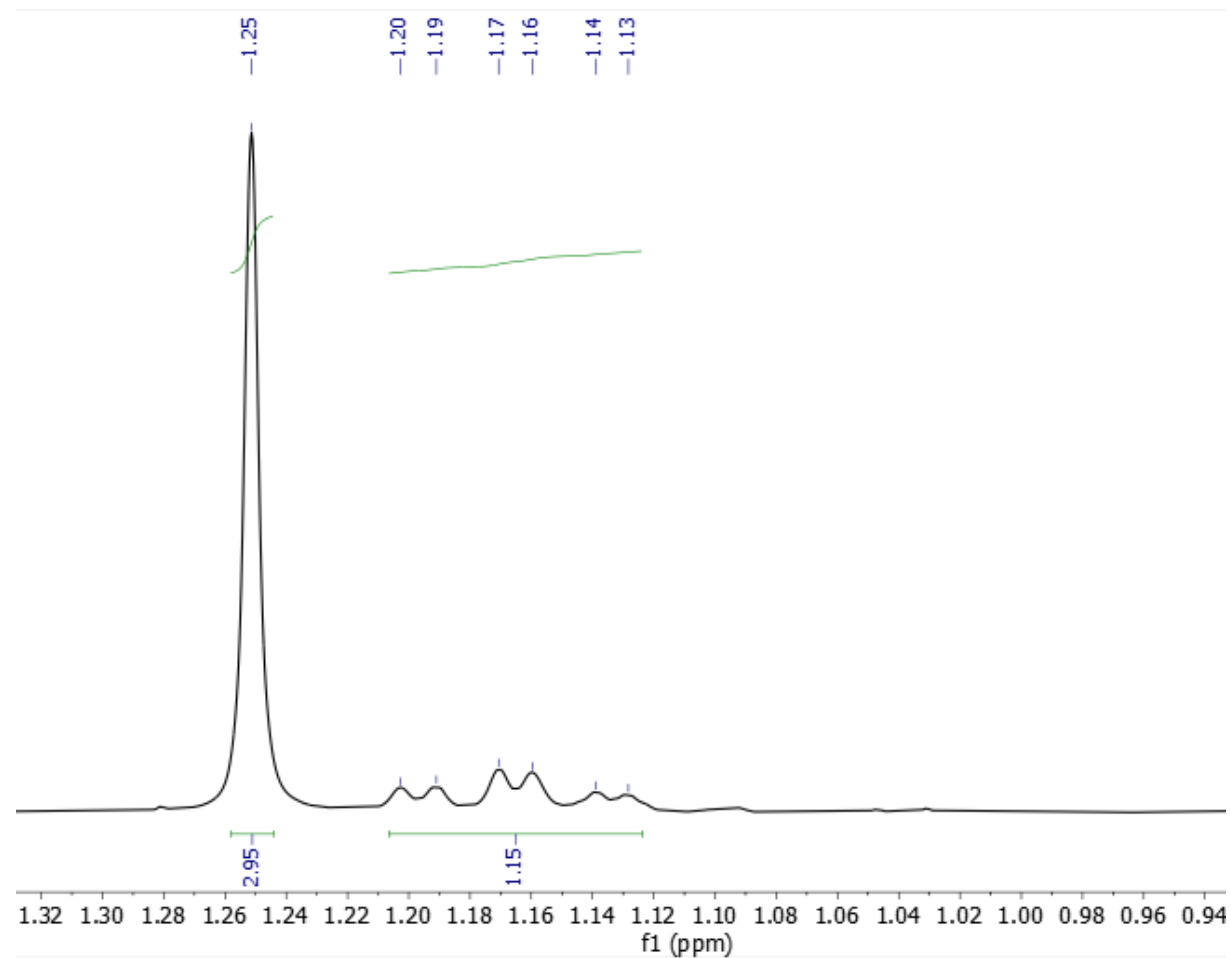
Fonte: Autoria própria

Figura 29. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



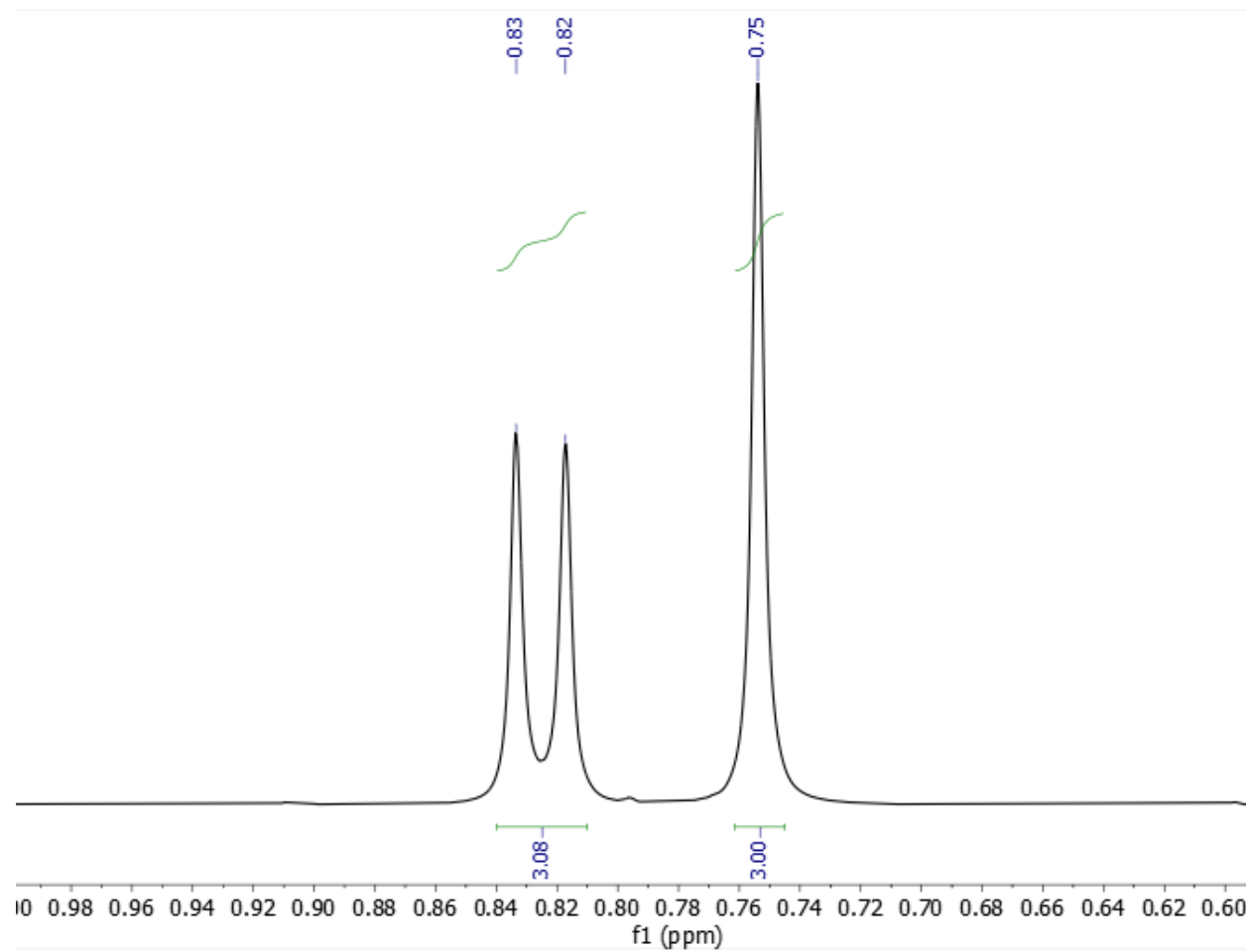
Fonte: Autoria própria

Figura 30. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



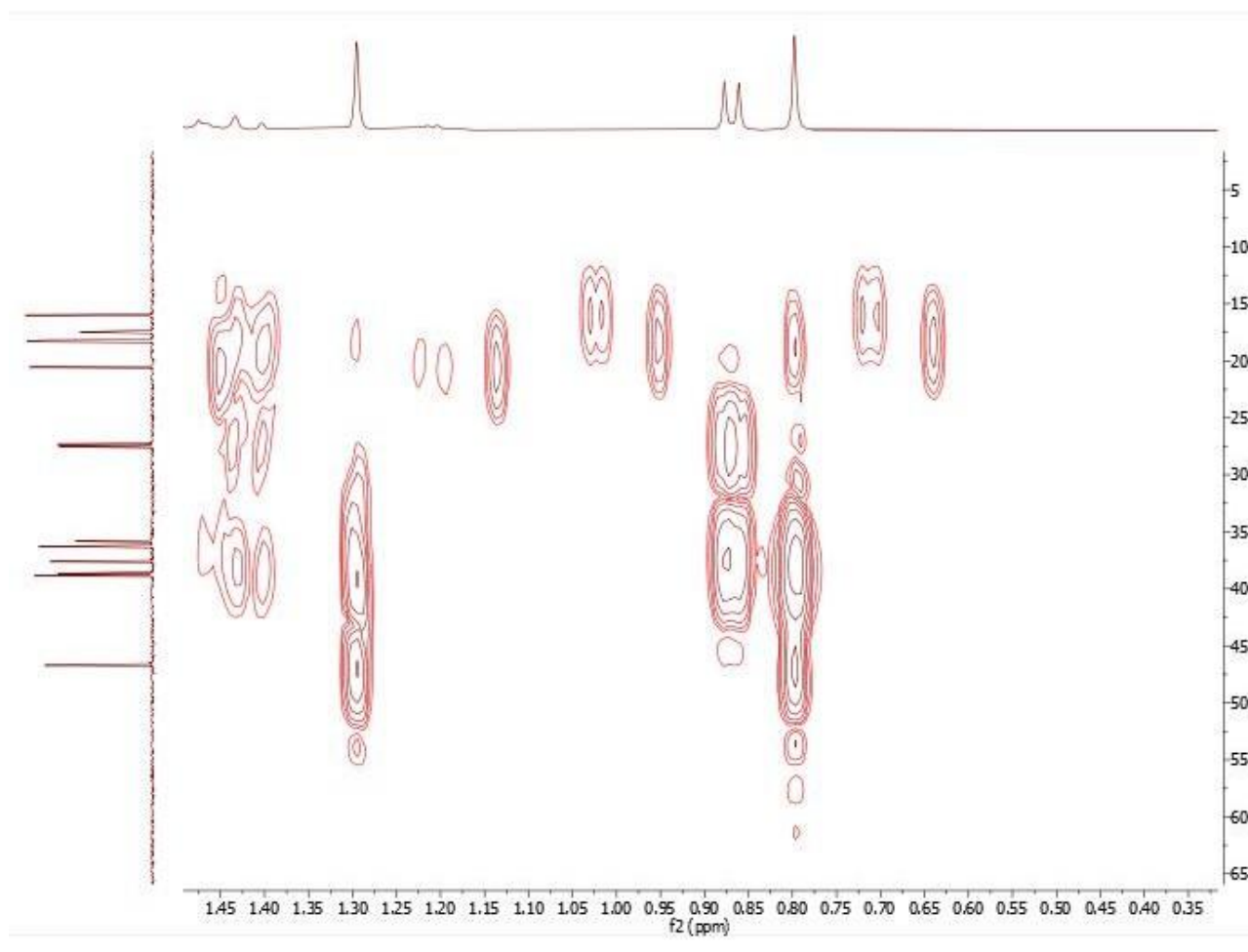
Fonte: autoria própria

Figura 31. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



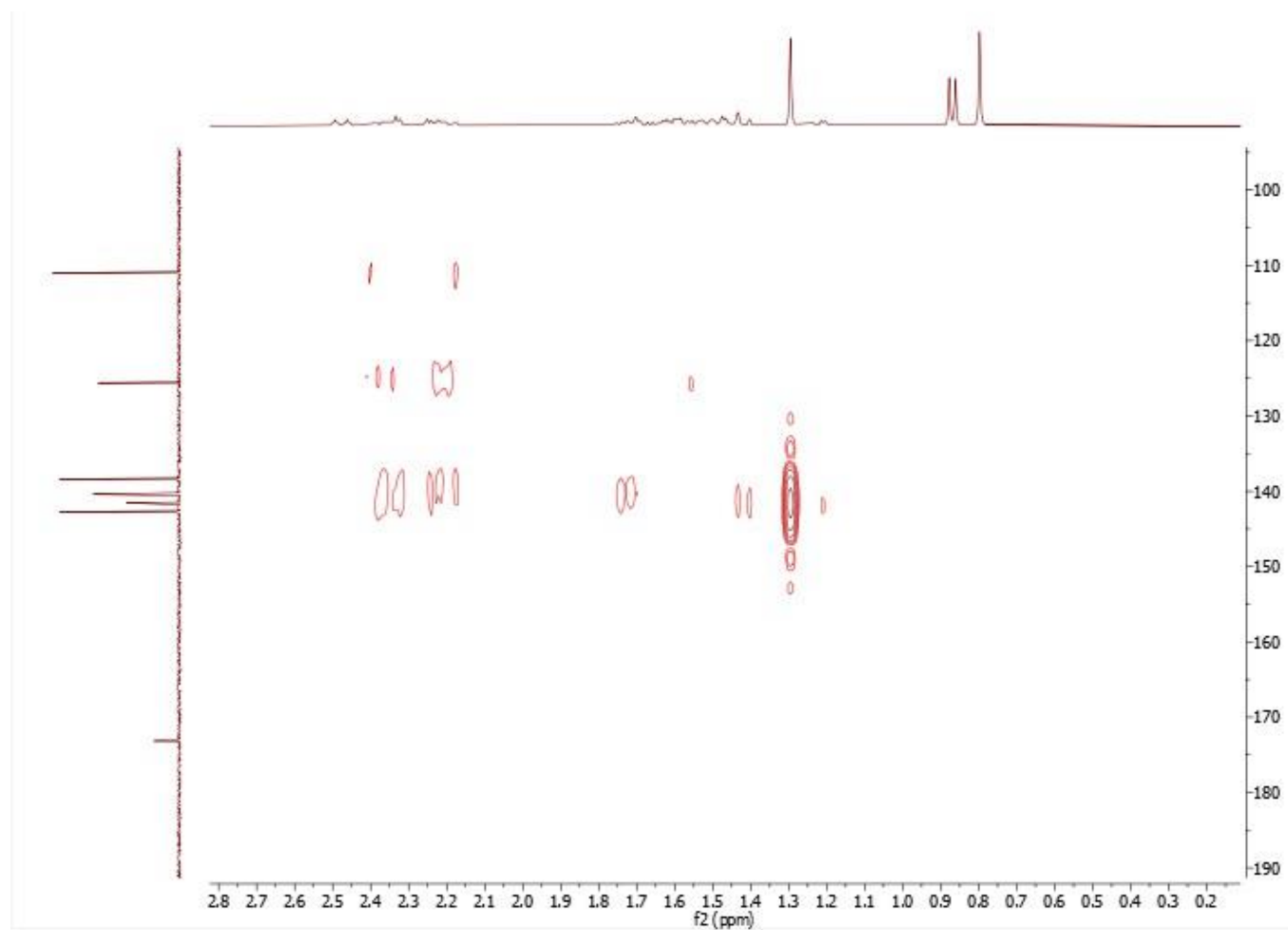
Fonte: Autoria própria

Figura 32. Espectro de RMN-HMBC ^1H (500 MHz, CDCl_3) x ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



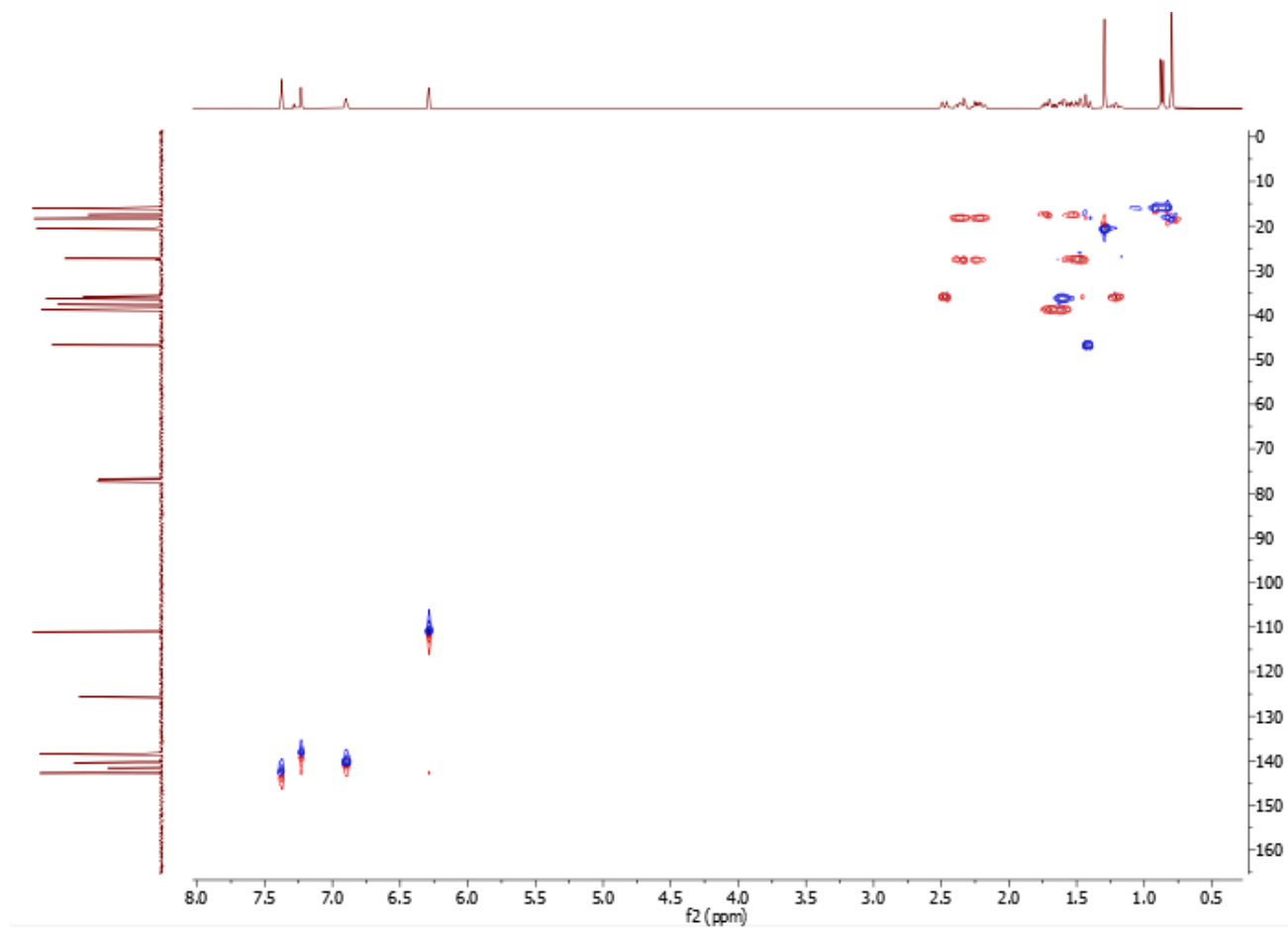
Fonte: Autoria própria

Figura 33. Espectro de RMN-HMBC ^1H (500 MHz, CDCl_3) x ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



Fonte: Autoria própria

Figura 34. Espectro de RMN-HSQC ^1H (500 MHz, CDCl_3) x ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-3



Fonte: Autoria própria

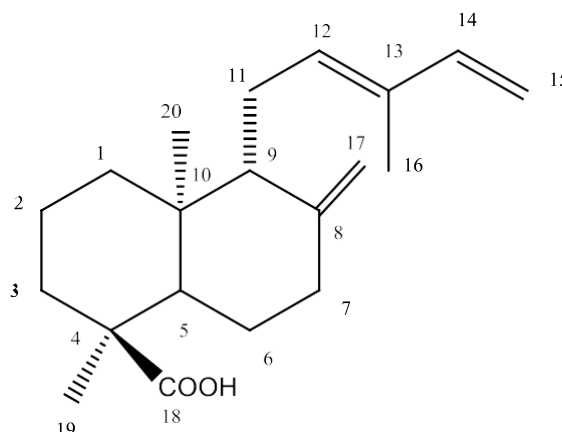
5.4 Elucidação estrutural da substância CL-4

A substância codificada como CL-4, apresentou-se como um óleo incolor com rendimento (39 mg).

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 38) foi possível observar 20 sinais de carbonos. Sendo cinco sinais de carbono não hidrogenado, quatro carbonos metínico, oito carbonos metilênicos e três carbonos metílicos. Os sinais em δ_{C} 57,1 e 49,5 atribuídos aos C-5 e C-9, que caracterizam uma estrutura de diterpeno lábdano e, ainda, os sinais em δ_{C} 147,9 e 108,3 atribuídos aos C-8 e C-17 caracteriza a presença de uma ligação exocíclica, bem sugestiva de esqueleto lábdano (MEDEIROS, 2012; DUARTE, 2009; TAVARES, 2007). Foi possível observar também a presença de 3 metilas, em δ_{C} 12,0, 16,5 e 14,8 para C-16, C-19, C-20 e ausência de um sinal de metila, justificando uma substituição confirmada com presença de sinal característico de ácido carboxílico, em δ_{C} 185,7 para C-18.

Foi possível observar no espectro de RMN de ^1H e suas expansões (Figura 40-45) os sinais de hidrogênios olefínicos em δ_{H} 5,39 (tl, $J= 6,6$ Hz, 1H) e 6,31 (dd, $J= 17,4, 10,7$ Hz, 1H), representativo de dupla trissubstituída, para os hidrogênios H-12 e H-14. Além do sinal em δ_{H} 5,03 (d, $J= 17,3$ Hz, 1H) e 4,86 (d, $J= 10,8$ Hz, 1H), característico de dupla monosubstituída, para os 2H em H-15. E o sinal em δ_{H} 4,46 e 4,81 (sl, 1H) indicando dupla exocíclica, para os hidrogênios H-17. Sinais que justificam a presença de 3 ligações duplas características de estruturas de diterpenos lábdanos (MEDEIROS, 2012; DUARTE, 2009; TAVARES, 2007). Além de três sinais referentes a metilas sendo eles δ_{H} 1,73 (brs, 3H), 1,15 (s, 3H) e 0,75 (s, 3H) e, ainda, sinais múltiplos observados entre δ_{H} 1,23 e 2,39 que foram atribuídos aos demais hidrogênios alifáticos.

Corroborando com esqueleto de diterpeno lábdano e identificando a substância CL-4, após comparação com a literatura, como o ácido ent-8(17)12E, 14-labdatrien-18-óico já identificado no extrato hexânico de *Croton stipuliformis* porém, descrito pela primeira vez para a espécie *Croton lanjouwensis* (Tabela 5). (DU, et al., 2001; TAVARES, 2007; FRANCO, 2011).

Figura 35. Estrutura da substância CL-4

Fonte: Autoria própria

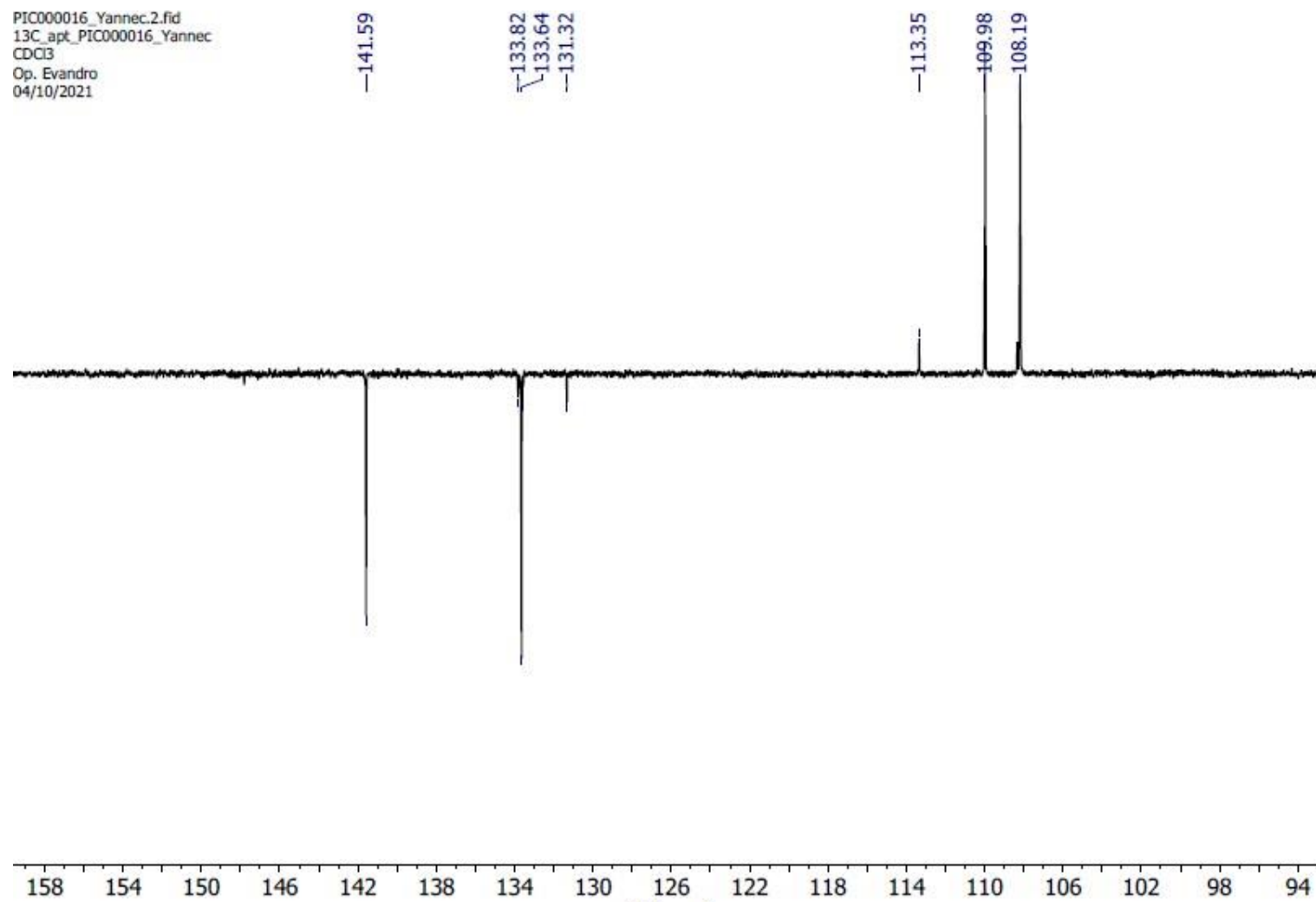
Tabela 5. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância CL-4 com os dados da literatura Du e colaboradores (2001).

Dados espectrais de RMN de CL-4			Dados espectrais Du e colaboradores (2001) e Tavares (2007)	
C	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H
4	47,6	-	47,5	-
8	147,9	-	147,8	-
10	38,9	-	38,8	-
13	133,8	-	133,5	-
18	185,7	-	185,3	-
CH				
5	57,0	1,99 (dd, $J= 0$ e 1,5 Hz)	57,0	2,01 (dd, $J= 12,4$ e 2,7 Hz)
9	49,4	1,87-1,75 (m, 4H)	49,4	1,82 (s)
12	133,6	5,39 (t, $J= 6,6$ Hz, 1H)	133,6	5,41 (1H, t, $J= 6,4$ Hz)
14	141,7	6,31 (dd, $J= 17,4, 10,7, 1$ H)	141,6	6,33 (1H, dd, $J= 17,4$ e 10,8 Hz)
CH₂				
1	38,2	1,87-1,75 (m, 4H) 1,22-1,17 (m, 2H)	38,1	1,24 (m)
2	18,6	1,85-1,76 (m, 4H)	18,4	1,86 (sl)
3	37,7	1,61 (m, 2H)	37,6	1,65 (d, $J=4,7$ e 1,84 Hz)
6	26,7	1,37 (m, 1H) 1,48 (m, 1H)	26,6	1,40 (m) 1,50 (m)
7	37,2	2,39-2,29 (m, 2H)	37,1	-

		2,08 (m,1H)		
11	23,1	2,39-2,29 (m, 2H) 2,16 (m, 1H)	23,0	-
15	110,1	5,03 (t, J= 17,3 Hz, 1H) 4,86 (d, J= 10,8Hz, 1H)	109,9	5,05 (1H, d, J= 17,4 Hz) 4,88 (1H,d, J=10,8 Hz)
17	108,3	4,46 (brs, 1H) 4,81 (brs, 1H)	108,2	4,48 (1H,s) 4,83 (1H,s)
CH₃				
16	12,0	1,73 (brs, 3H)	16,4	1,76, s
19	16,5	0,75 (s, 3H)	14,7	0,76, s
20	14,8	1,15 (s, 3H)	11,6	1,16, s

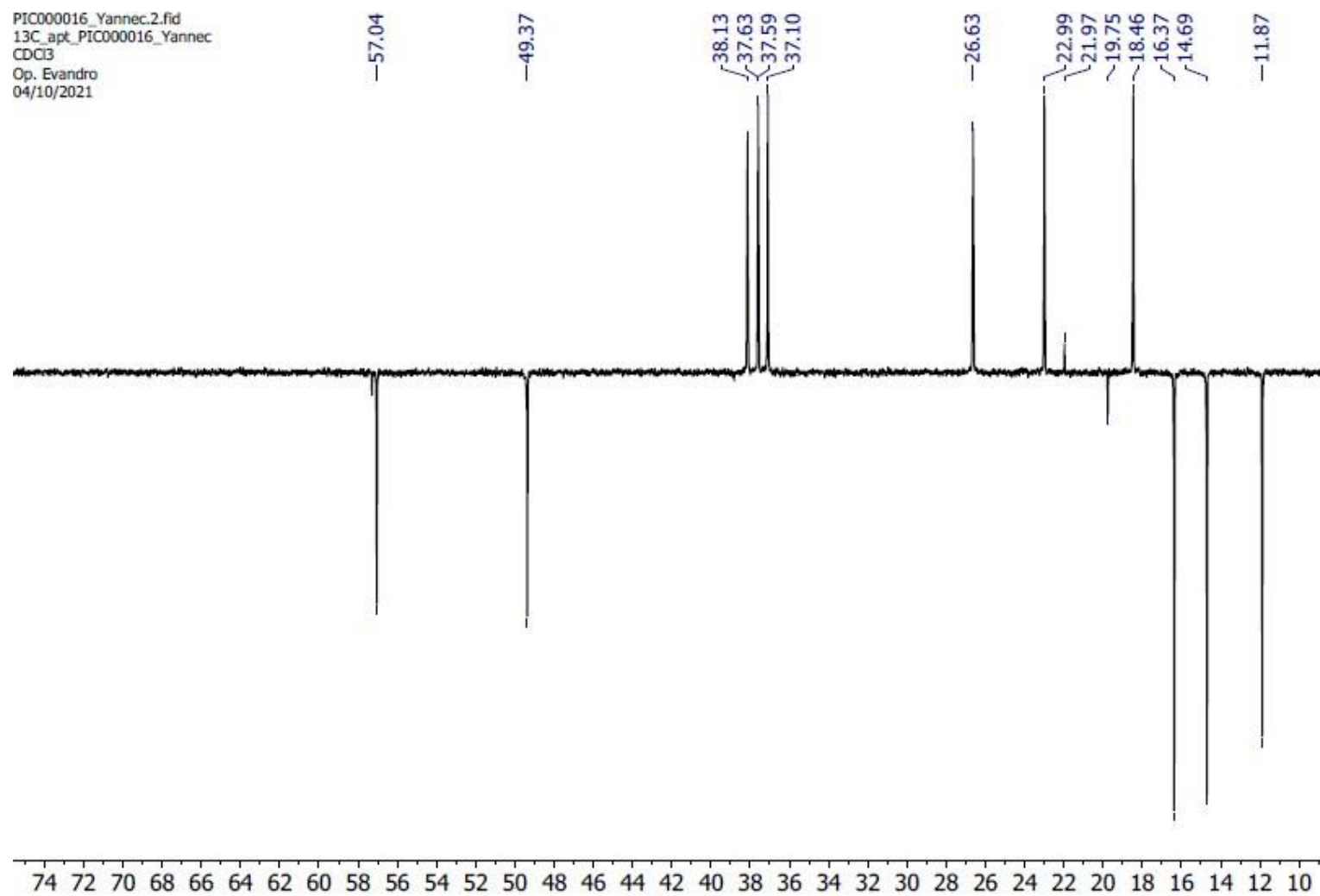
Fonte: Autoria própria

Figura 36. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



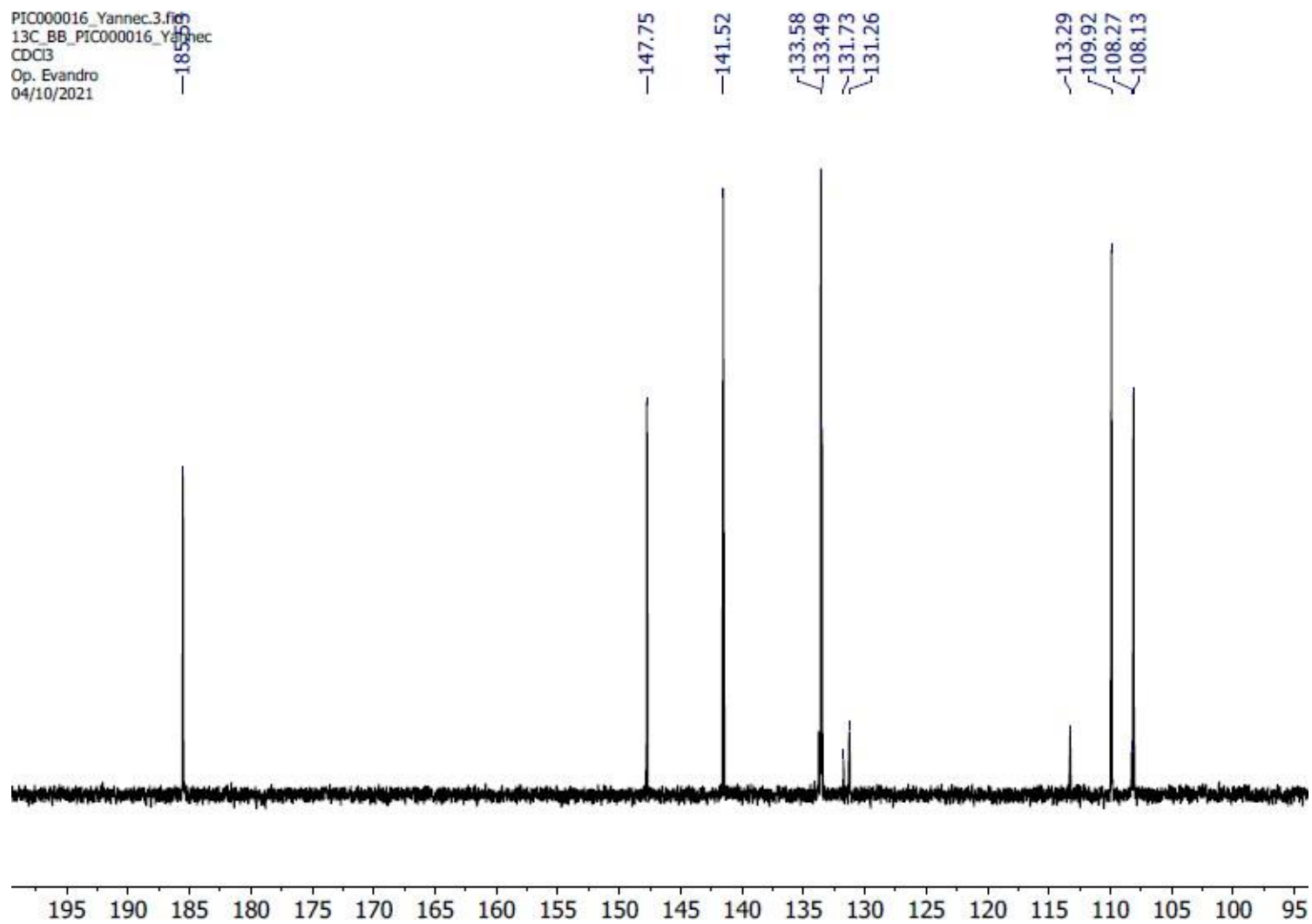
Fonte: Autoria própria

Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



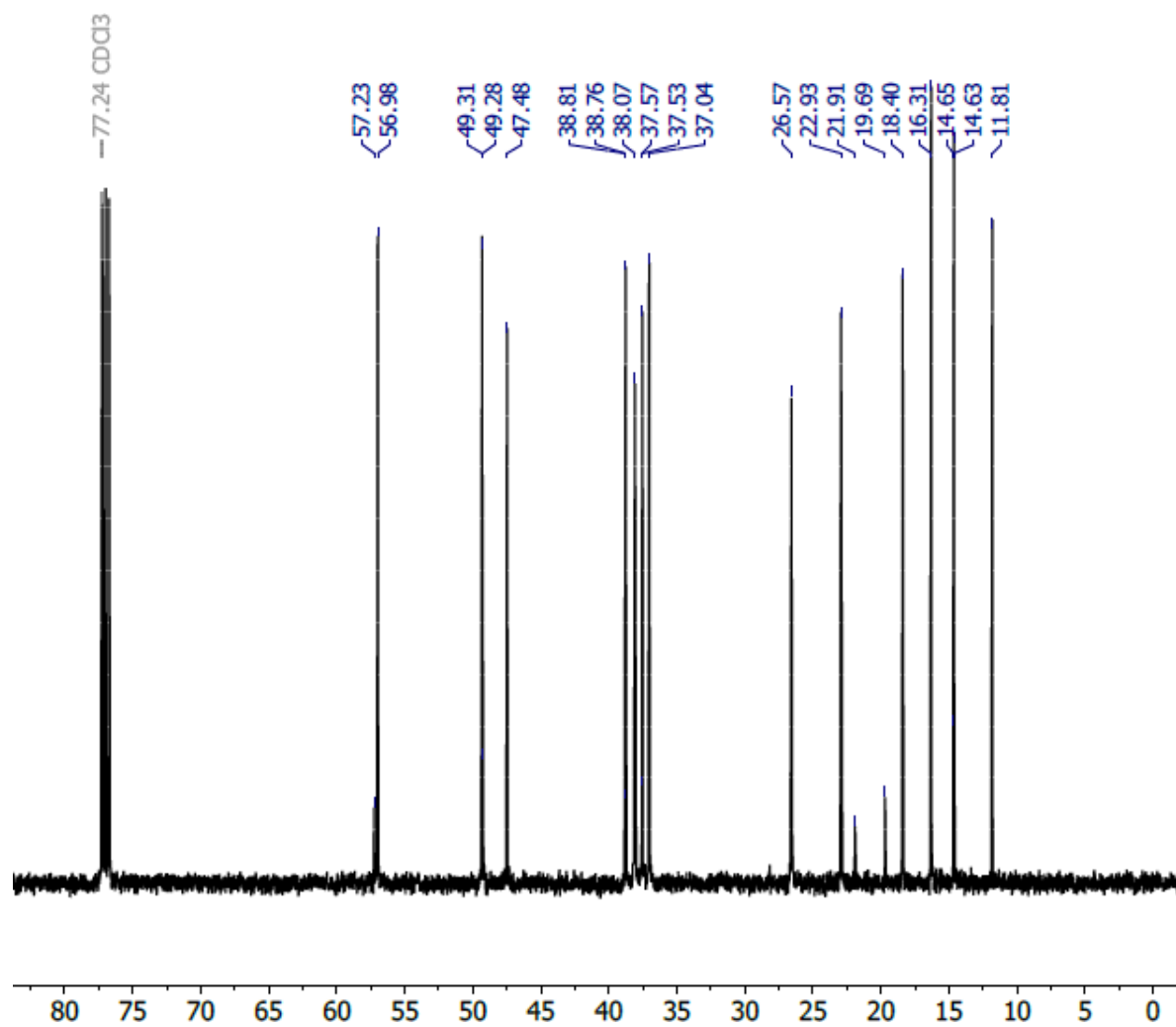
Fonte: Autoria própria

Figura 38. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



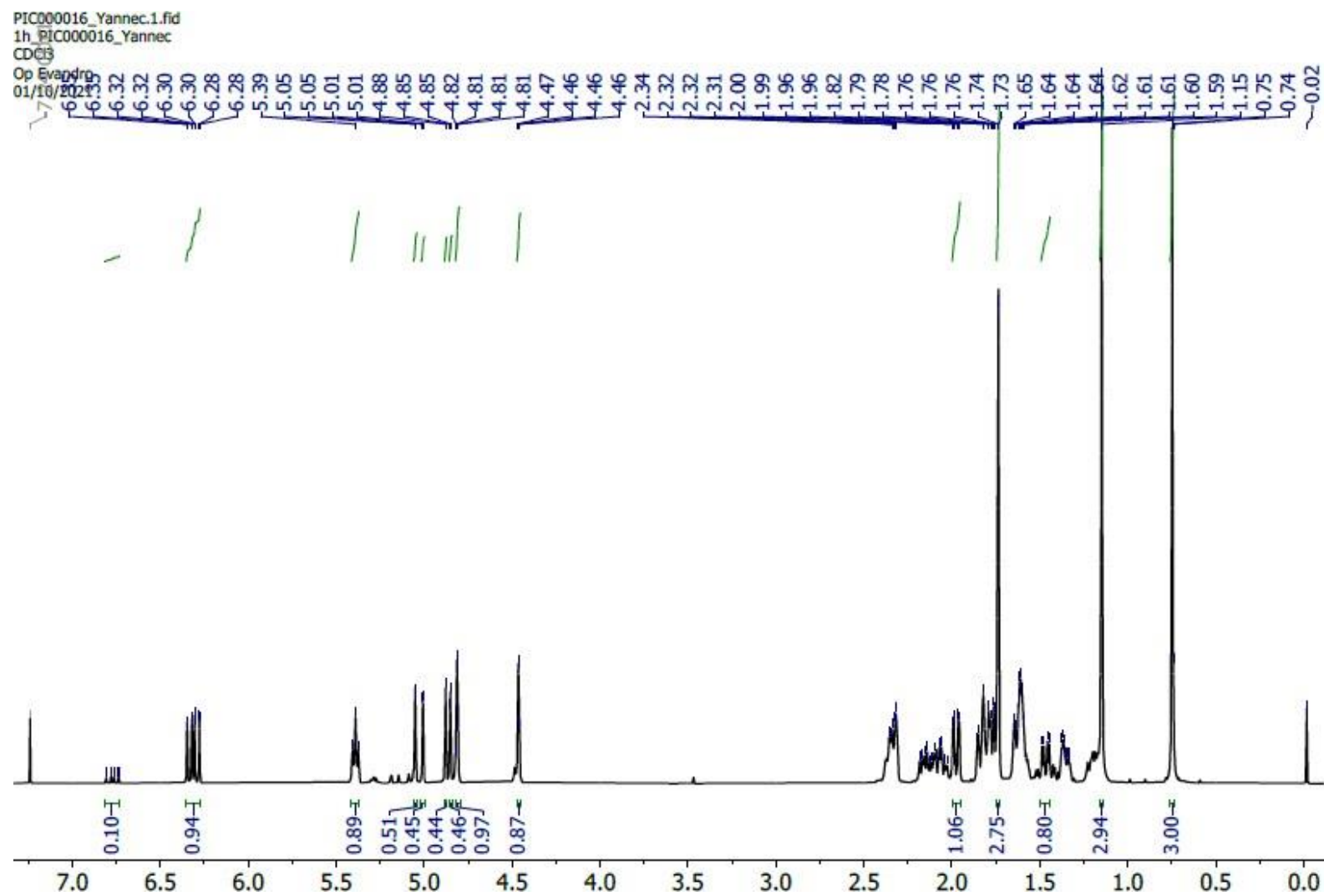
Fonte: Autoria própria

Figura 39. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



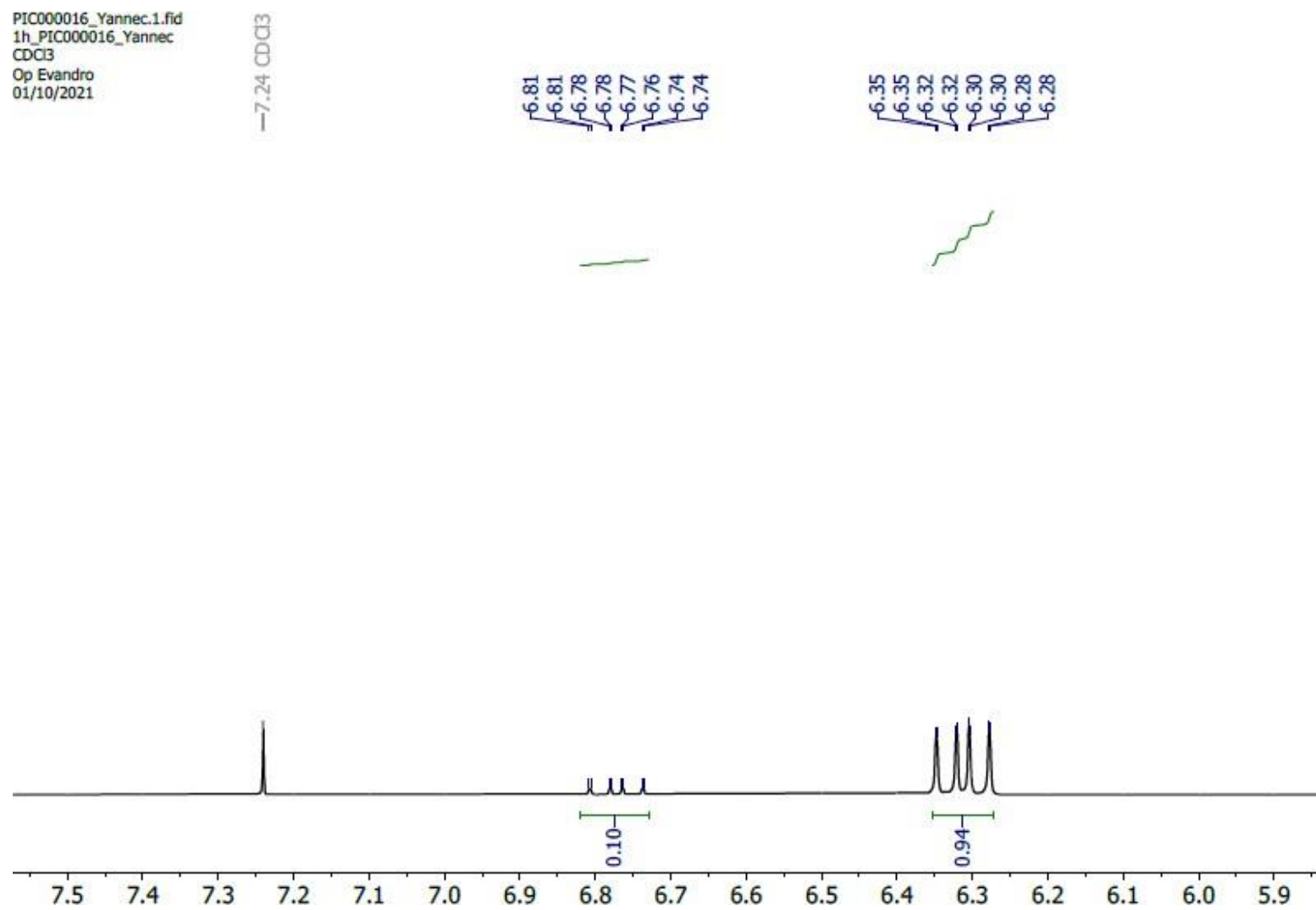
Fonte: Autoria própria

Figura 40. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



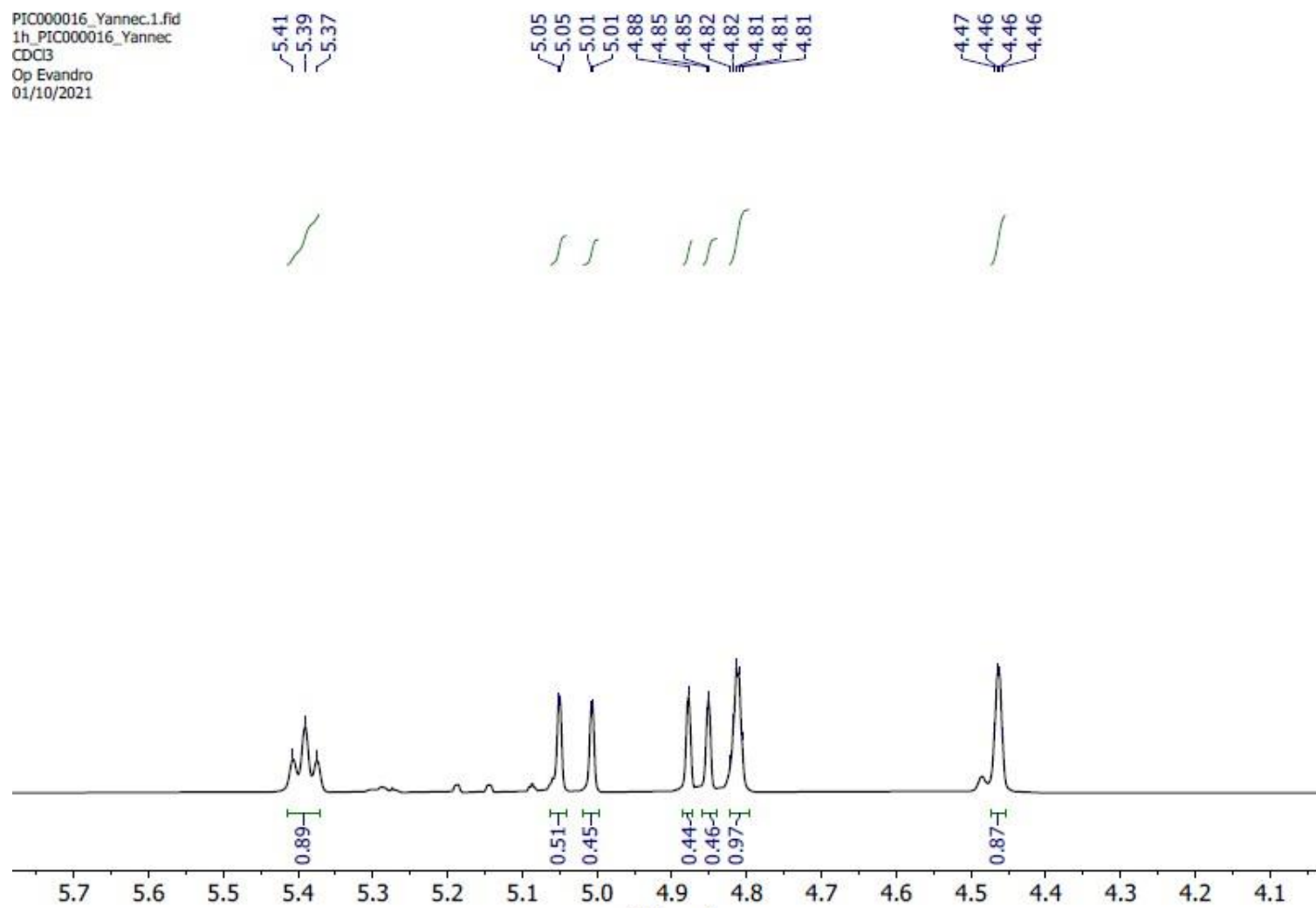
Fonte: Autoria própria

Figura 41. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



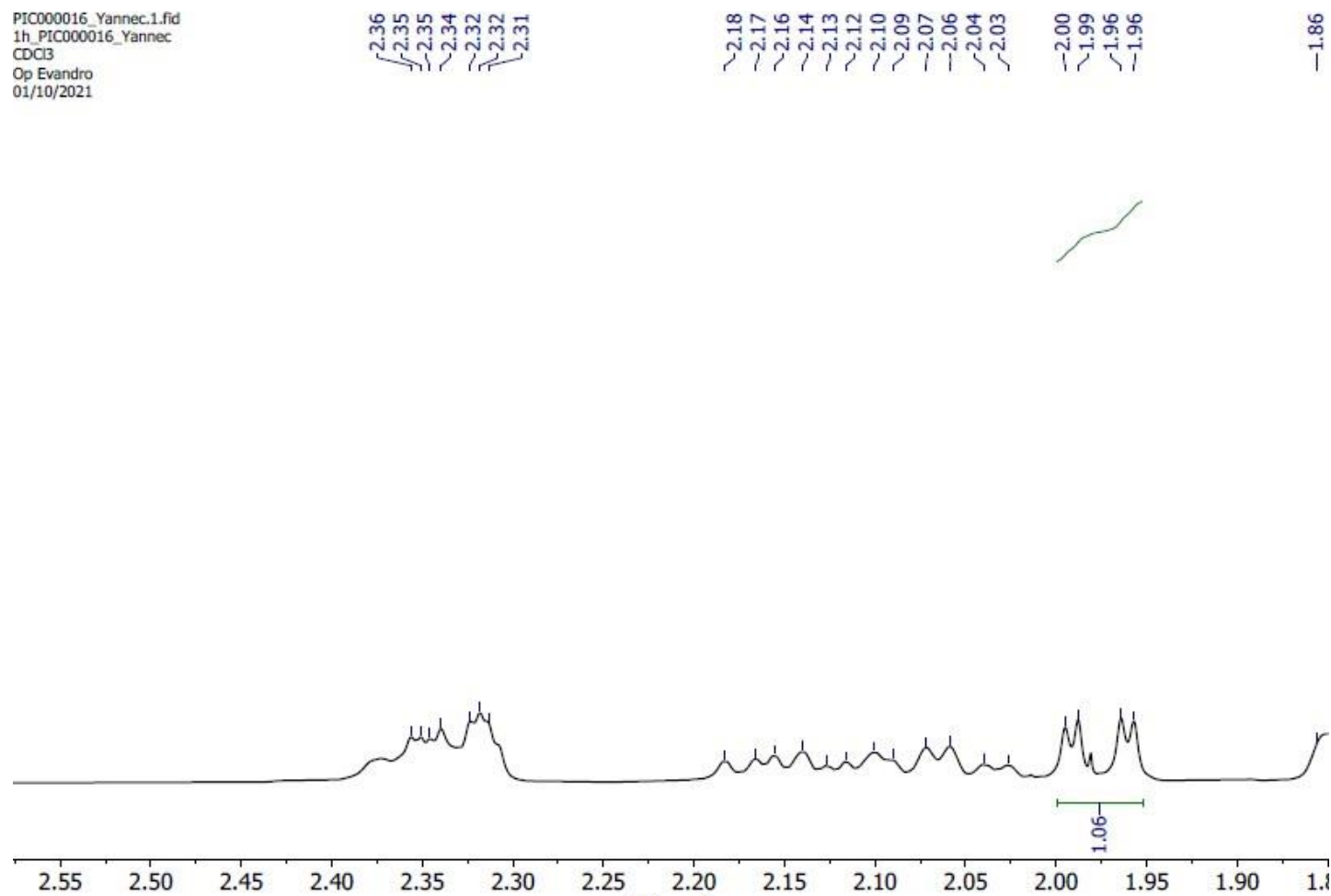
Fonte: Autoria própria

Figura 42. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



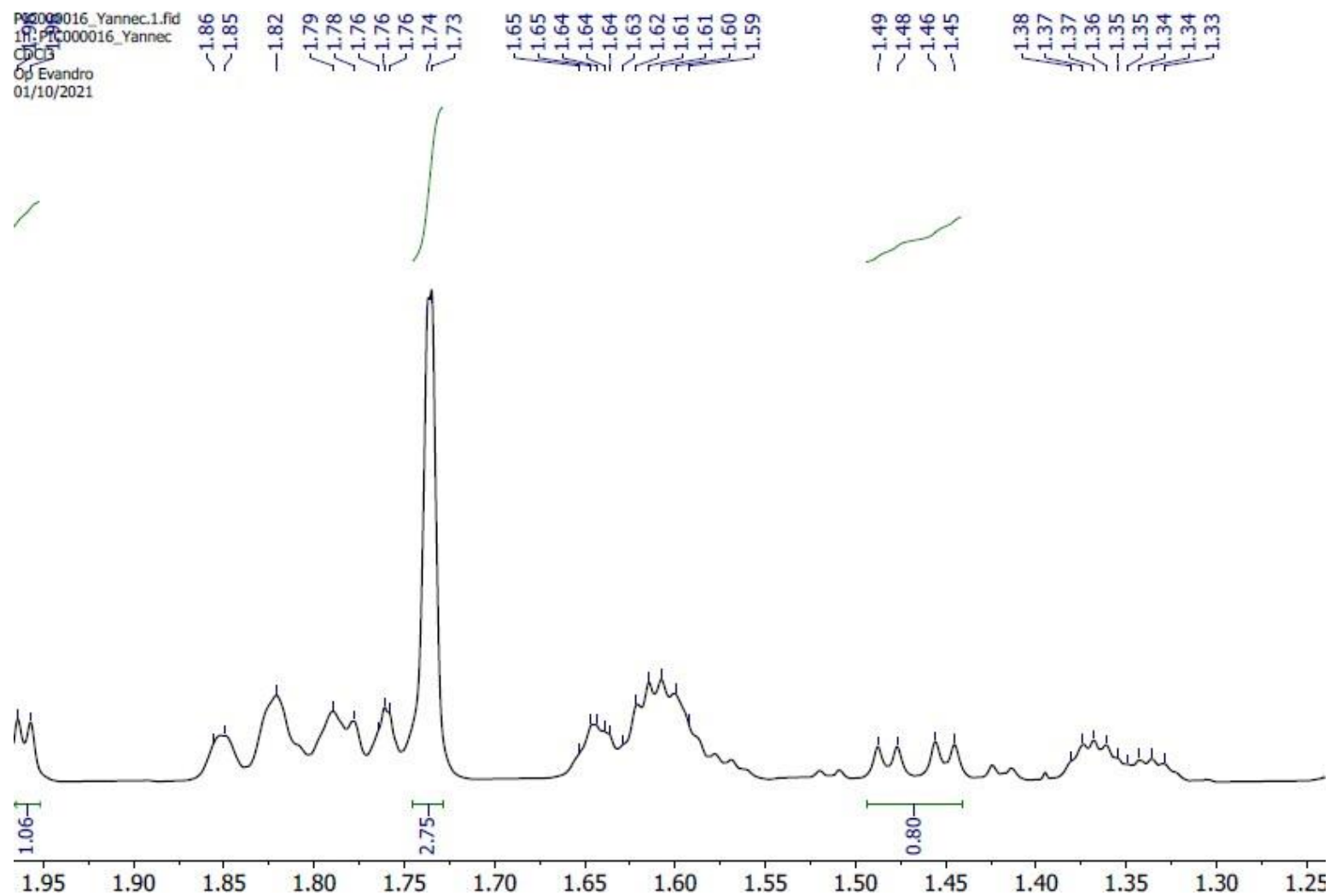
Fonte: Autoria própria

Figura 43. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



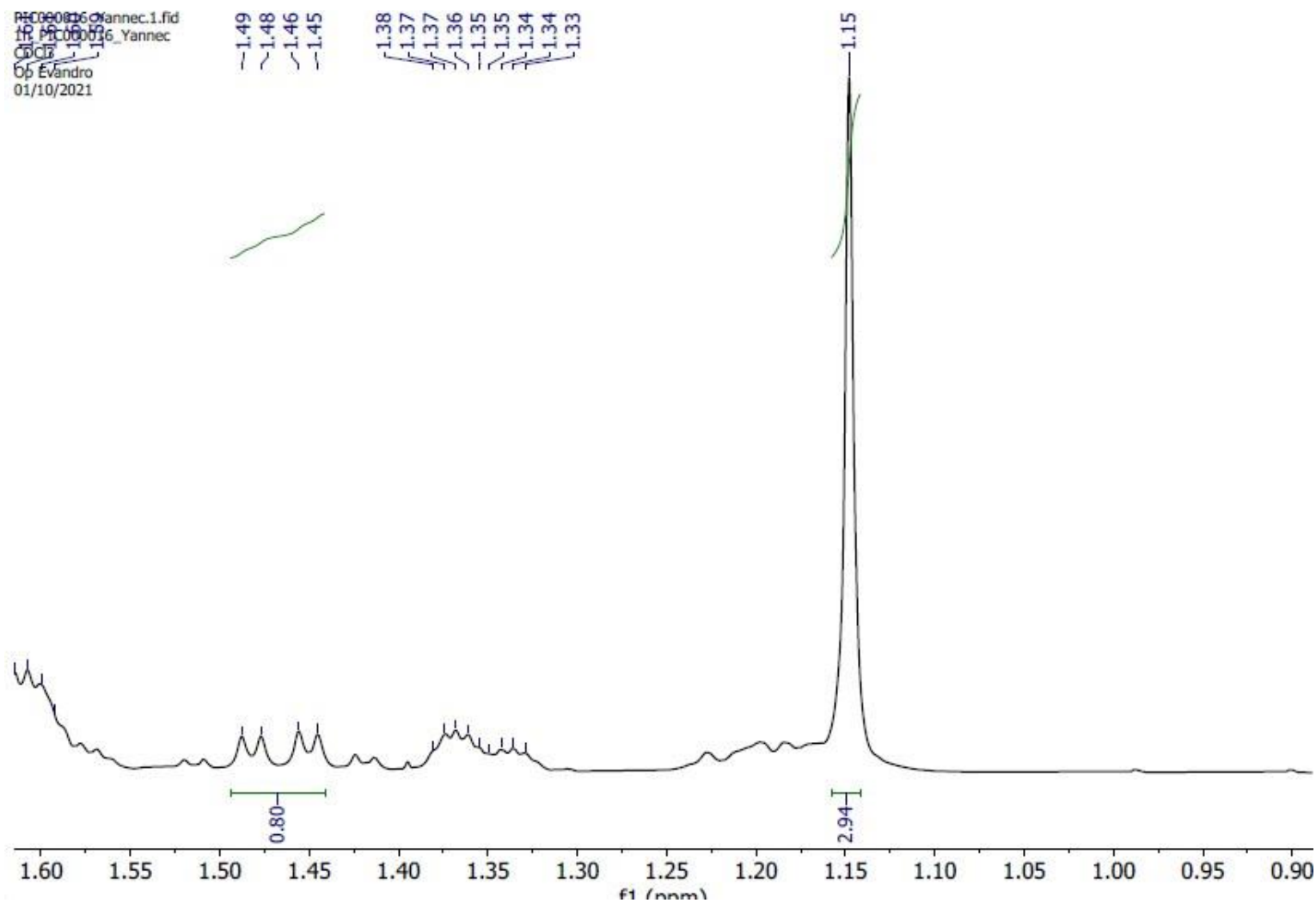
Fonte: Autoria própria

Figura 44. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



Fonte: Autoria própria

Figura 45. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-4



Fonte: Autoria própria

5.5 Determinação estrutural da substância CL-5

A substância codificada como CL-5, apresentou-se como um óleo incolor (1,2 mg).

No espectro de RMN de ^{13}C -BB (Figura 57) foi possível observar 20 sinais de carbonos. Sendo cinco sinais de carbono não hidrogenado, quatro carbonos metínico, oito carbonos metilênicos e três carbonos metílicos. Os sinais em δ_{C} 57,2 e 48,6 foram atribuídos aos carbonos metínicos C-5 e C-9 e o sinal em δ_{C} 38,1 ao carbono não hidrogenado C-10, que caracterizam um diterpeno lábdano (MEDEIROS, 2012; DUARTE, 2009; TAVARES, 2007). Ainda é possível identificar uma ligação exocíclica entre C-8 e C-17, que apresentam sinais em δ_{C} 148,5 e 107,8. Além da presença de 3 metilas, em δ_{C} 17,8, 15,1 e 12,0 para C-16, C-19, C-20 com justificativa de substituição pela ausência de um sinal de metila com presença de um sinal característico de CH_2OH , em δ_{C} 72,3 para C-18.

Indicando ainda que a metila (CH_3 -20) se encontra em posição Cis a metila (CH_3 -19) e trans ao grupo oximetileno. Pois, segundo Shorichin e colaboradores (1980), quando a metila 20 apresenta um deslocamento $\sim 15,8$ ppm encontra-se em posição Cis e que a metila 19 quando em deslocamento de até $\sim 18,0$ ppm também encontra-se em posição Cis, junto da metila CH_3 -20. Mas, que o grupo oximetileno quando em deslocamento de até $\sim 72,3$ ppm encontra-se em posição trans as metilas CH_3 -20 e CH_3 -19 (SHORICHIN, et al., 1980). Dados que corrobora com os encontrados no trabalho, indicado que as metilas CH_3 -20 e CH_3 -19 estão em posição Cis e que o grupo oximetileno encontra-se trans.

Foi possível observar no espectro de RMN de ^1H e suas expansões (Figura 47-53) os sinais de prótons olefínicos em δ_{H} 5,39 (t, $J = 6,6\text{Hz}$, H-12), δ_{H} 6,35 (dd, $J = 10,3, 17,8$, H-14), δ_{H} 5,02 (d, $J = 17,4\text{ Hz}$, H-15) e δ_{H} 4,85 (d, $J = 10,6\text{ Hz}$, H-15) e δ_{H} 4,44 (d, $J = 1,6\text{Hz}$, H-17) e δ_{H} 4,80 (d, $J = 1,7\text{Hz}$, H-17) caracterizando, respectivamente, sinais de dupla trisubstituída, monosubstituída e exocíclica, conjunto característico de estrutura de diterpenos lábdanos (MEDEIROS, 2012; DUARTE, 2009; TAVARES, 2007). Além de três sinais referentes a metilas sendo eles, um sinal sobreposto em δ_{H} 0,75 (s, 6H), confirmando a presença de duas metilas (CH_3 -19 e 20), e o sinal em δ_{H} 1,73 (brs, 3H) confirmando a terceira metila (CH_3 -16). Ainda, é observado sinais múltiplos entre δ_{H} 1,08 e 2,35 que foram atribuídos aos demais hidrogênios alifáticos e um sinal característico de hidrogênio oximetínico em δ_{H} 3,40 (d, $J = 10,9\text{Hz}$, 1H) e 3,10 (d, $J = 10,8\text{ Hz}$, 1H).

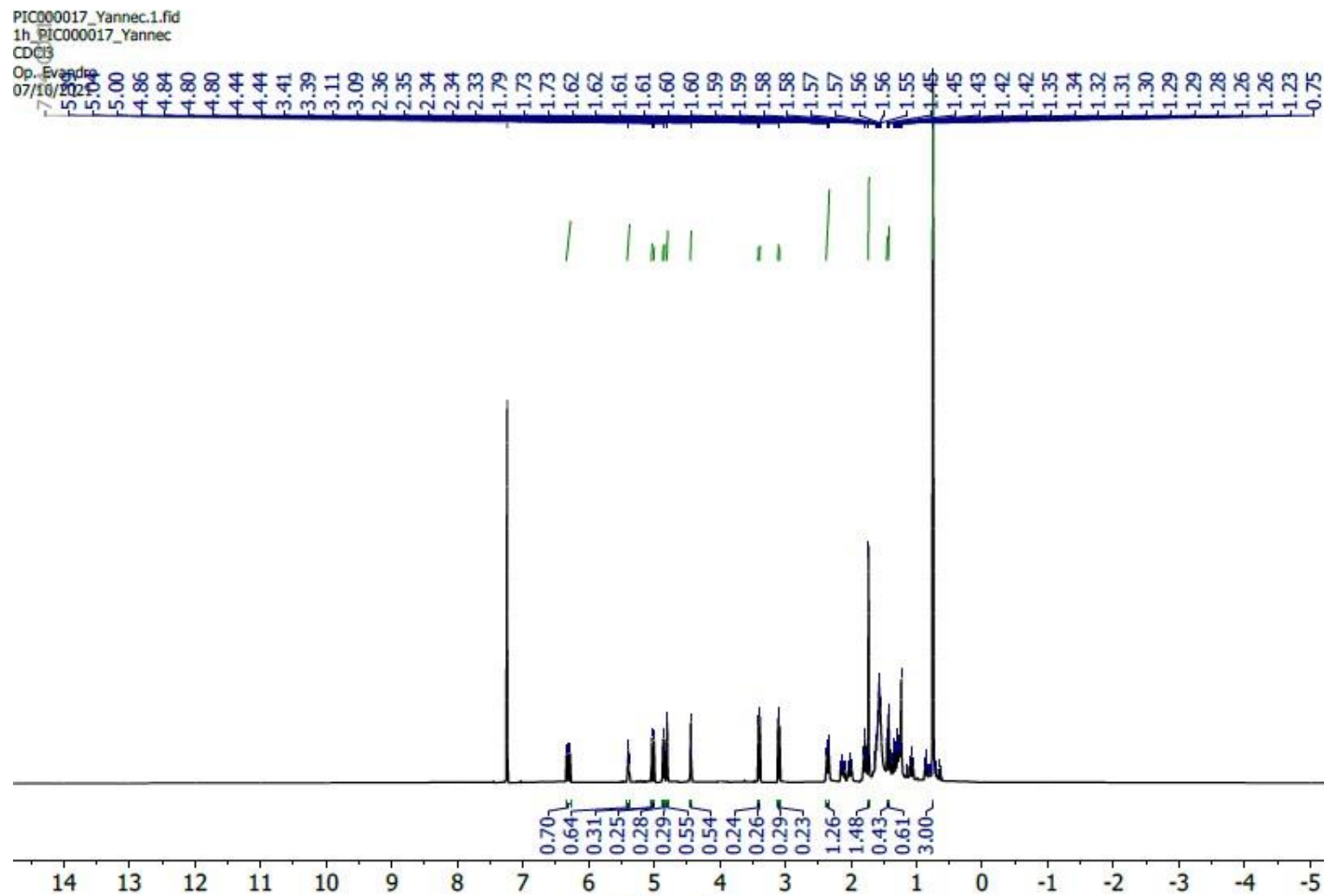
Tabela 6. Comparação dos dados espectrais de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) x ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância CL-5 com os dados da literatura Brito e colaboradores (2020).

Dados espectrais de RMN de CL-5			Dados espectrais de Du e colaboradores (2001) e Brito e colaboradores (2020)	
C	δ_{C}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{C}
4	39,6	-	-	39,5
8	148,5	-	-	148,2
10	38,1	-	-	38,1
13	133,5	-	-	133,3
CH				
5	57,2	1,33 (dd, $J = 12,8, 4,3$ Hz, 1H)	1,28 (1H, m, H-5)	57,1
9	48,6	1,83 – 1,74 (m, 4H)	1,77–1,86 (4H, m)	48,5
12	134,2	5,39 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H)	5,41 (1H, t, $J = 6,4$ Hz)	133,9
14	141,8	6,35 (dd, $J = 10,3, 17,8$ Hz, 1H)	6,33 (1H, dd, $J = 17,3, 10,6$ Hz)	141,6
CH₂				
1	38,8	1,83 – 1,74 (m, 4H) 1,08 (td, $J = 12,7, 4,6$ Hz, 1H)	1,77–1,86 (4H, m) 1,13 (1H, td, $J = 12,3, 5,4$ Hz)	38,8
2	18,8	1,44 (dd, $J = 12,5, 3,0$ Hz, 2H)	1,52 (2H, m)	18,8
3	37,8	1,83 – 1,74 (m, 4H) 0,86 (t, $J = 6,7$ Hz, 1H)	1,77–1,86 (4H, m) 1,01-1,95 (1H, m)	37,9
6	24,1	1,38 (m, 1H) 1,83 – 1,74 (m, 4H)	1,77–1,86 (4H, m) 1,32 (1H, td, $J = 12,6, 4,1$ Hz,)	24,1
7	35,6	2,35 (m, 2H) 2,02 (dd, $J = 12,9, 3,5$ Hz, 1H)	1,96 (1H, td, $J = 12,8, 6,7$ Hz) 2,42–2,37 (2H, m)	35,5
11	23,3	2,35 (m, 2H) 2,13 (m, 1H)	2,42–2,37 (2H, m) 2,13 (1H, ddd, $J = 16,5, 11,0, 6,8$ Hz)	23,3
15	109,9	5,02 (d, $J = 17,4$ Hz, 1H)	5,03 (1H, d, $J = 17,3$ Hz, H-15a),	109,7

		4,85 (d, $J = 10,6$ Hz, 1H)	4,88 (1H, d, $J = 10,6$ Hz, H-15b)	
17	107,8	4,80 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H) 4,44 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)	4,81 (1H, brq, $J = 1,5$ Hz, H17a) 4,46 (1H, brq, $J = 1,5$ Hz, H17b)	107,6
CH₃				
16	17,8	1,73 (brs, 3H)	1,75 (3H, s)	17,7
19	15,1	0,75 (s, 6H)	0,77 (3H, s)	15,0
20	12,0	0,75 (s, 6H)	1,16 (3H, s)	11,9
CH₂OH				
18	72,3	3,40 (d, $J = 10,9$ Hz, 1H) 3,10 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H)	3,11 (1H, d, $J = 10,9$ Hz, H18a) 3,42 (1H, d, $J = 10,9$ Hz, H18b)	72,1

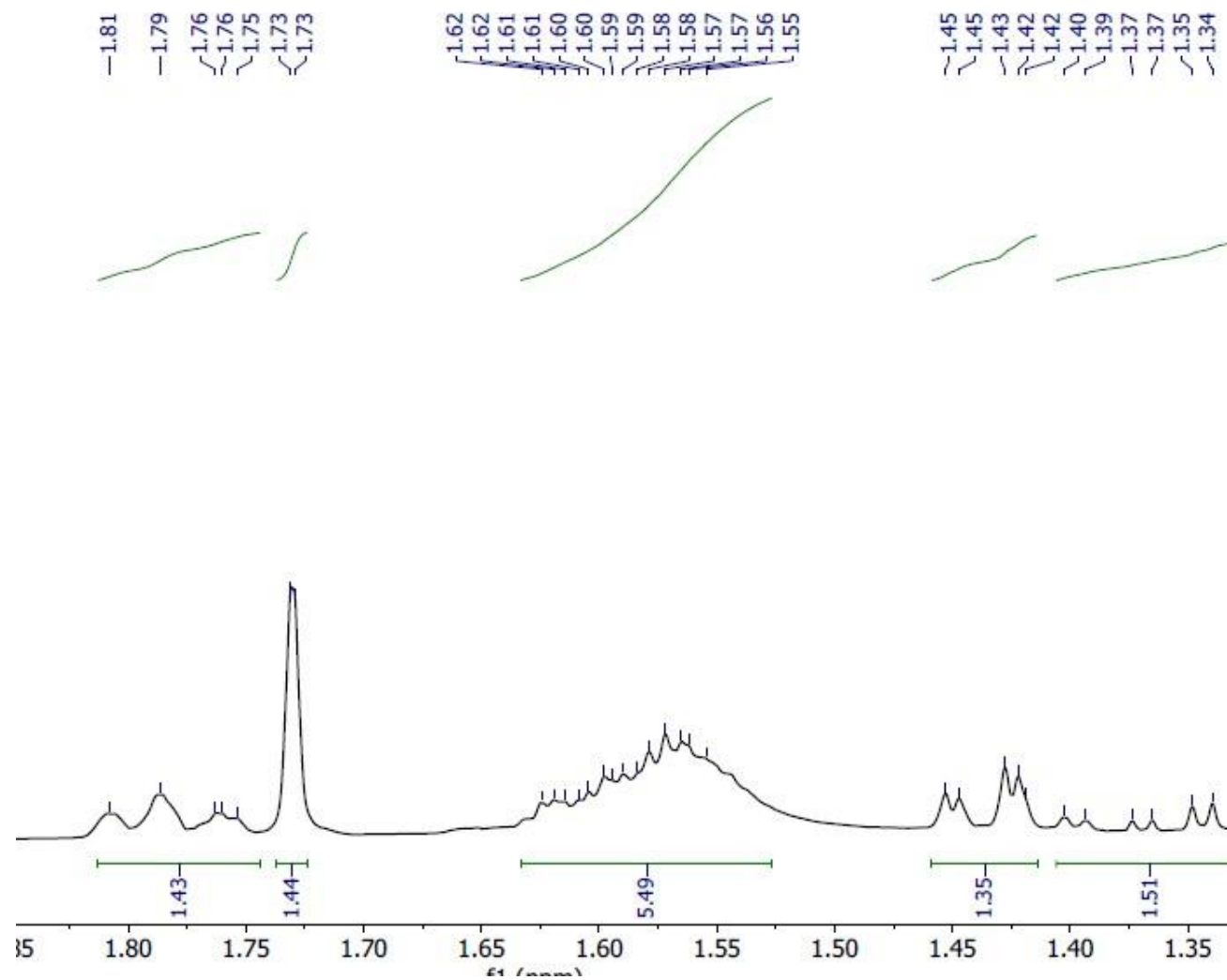
Fonte: Autoria própria

Figura 47. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



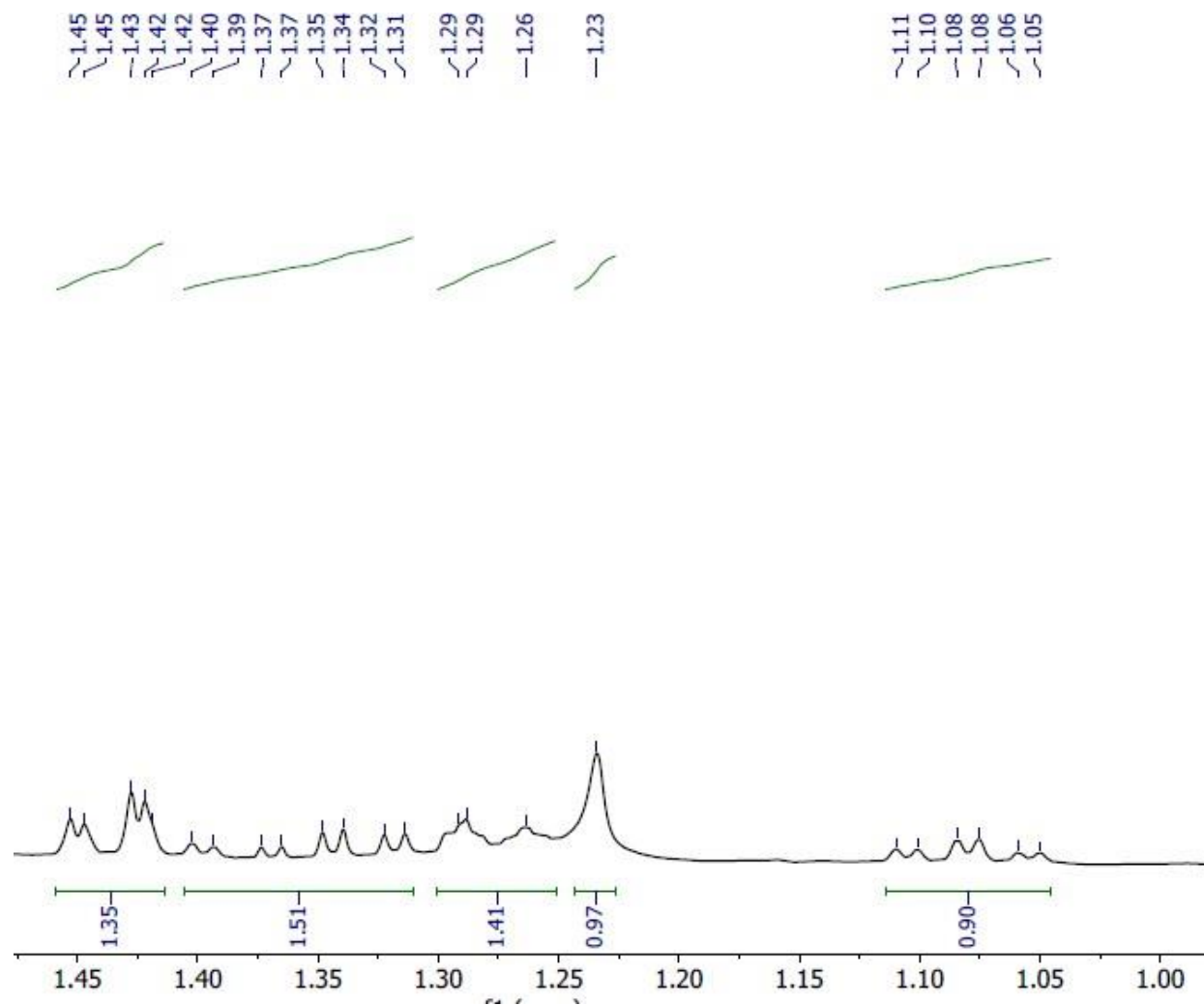
Fonte: Autoria própria

Figura 48. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



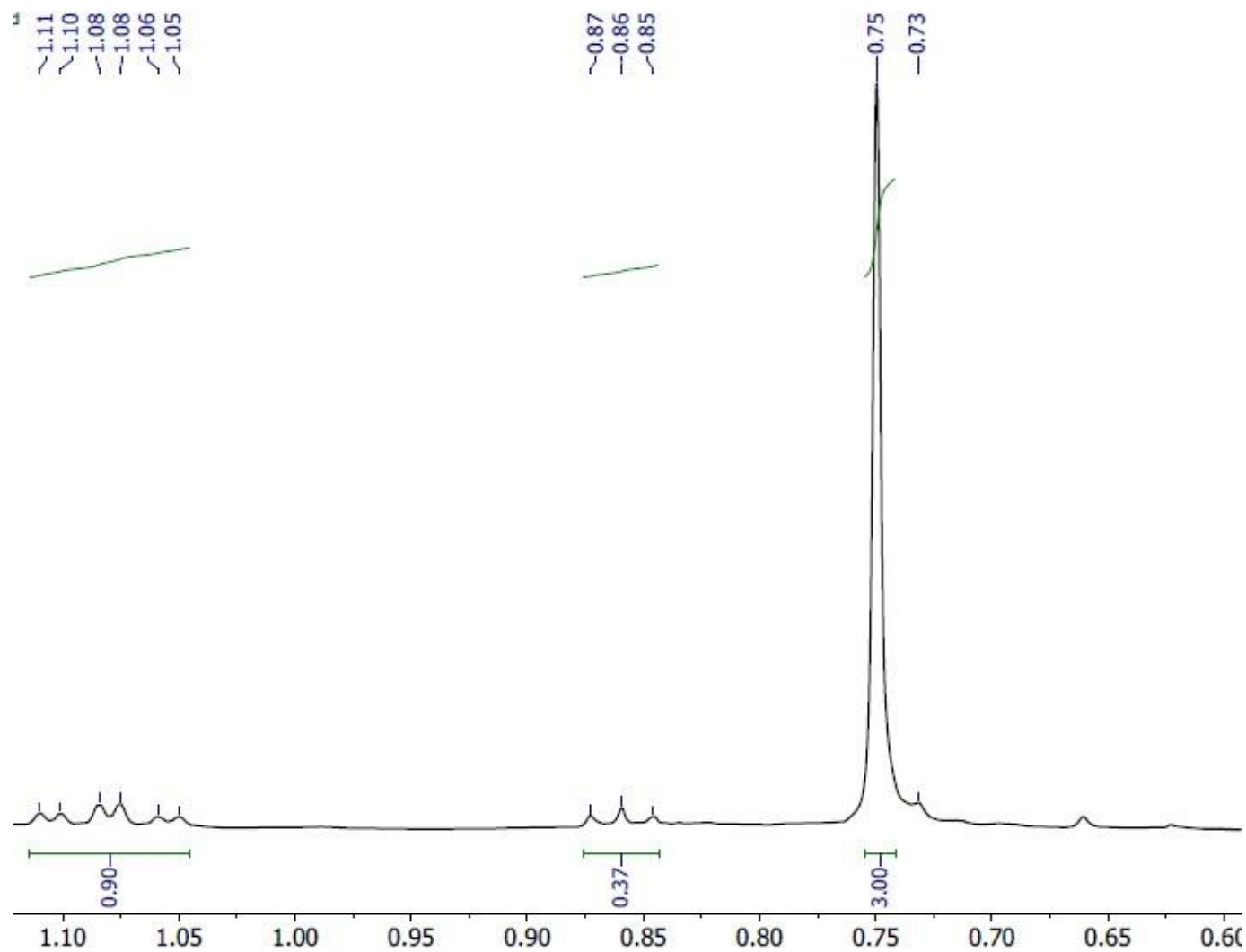
Fonte: Autoria própria

Figura 49. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



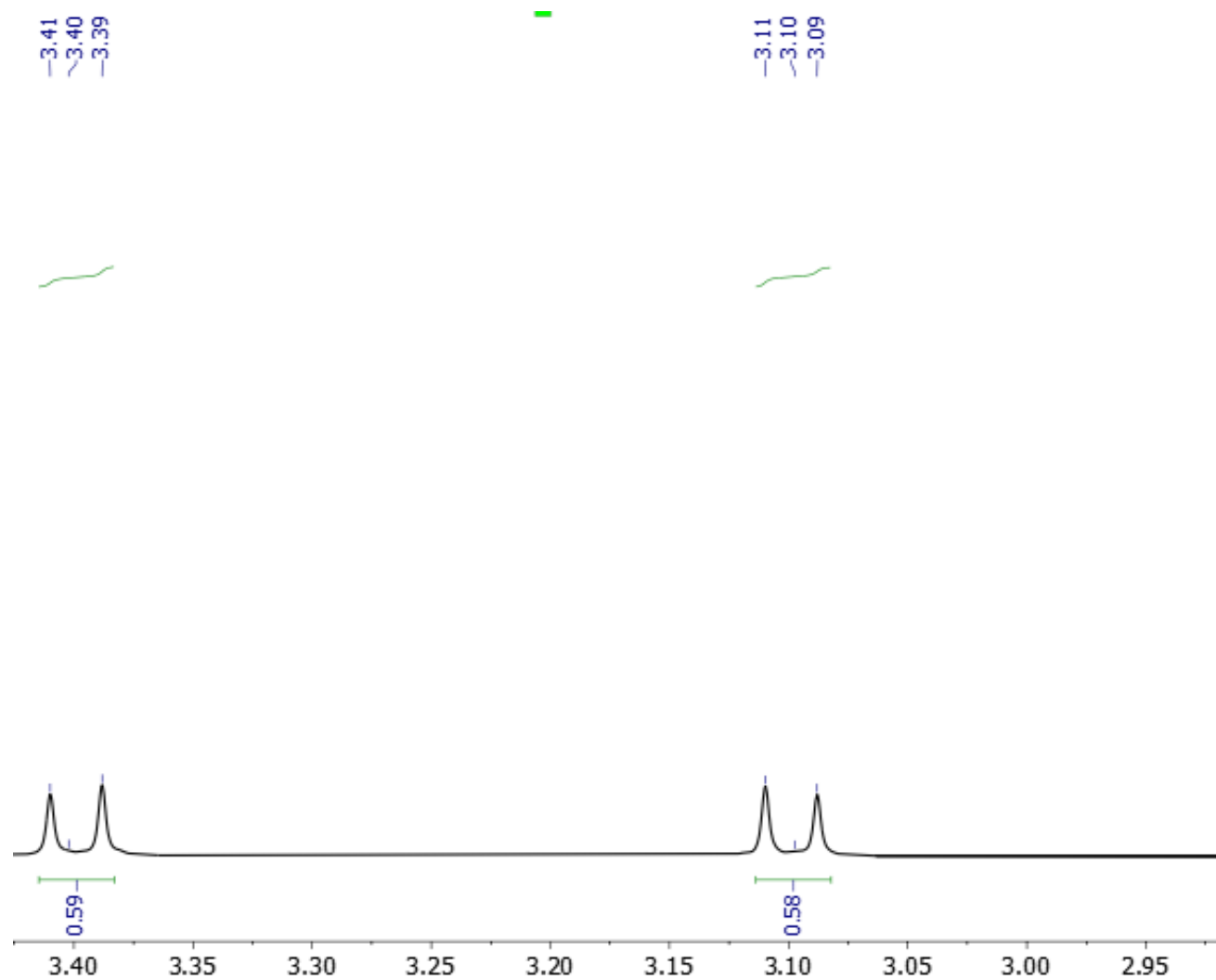
Fonte: Autoria própria

Figura 50. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



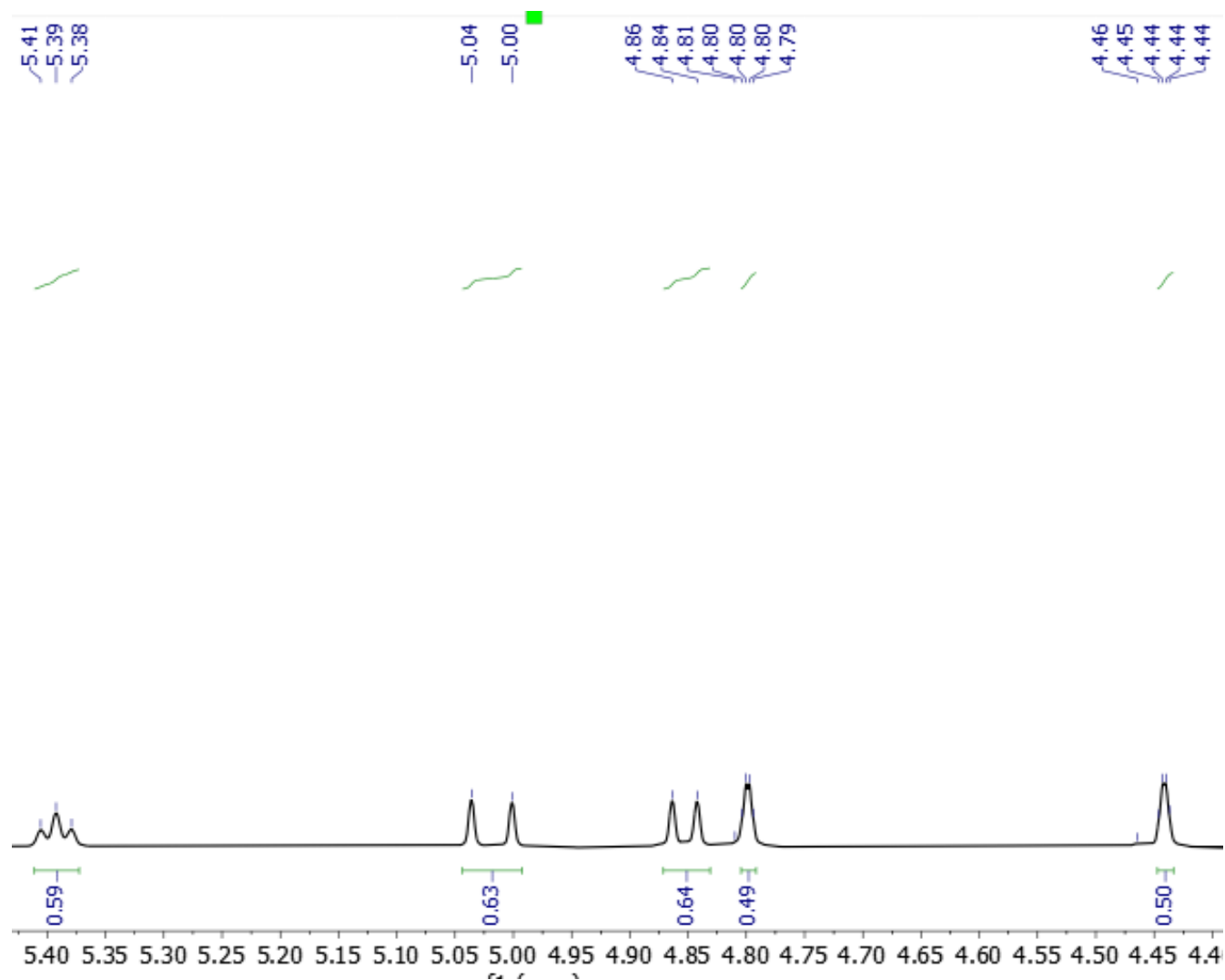
Fonte: Autoria própria

Figura 51. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



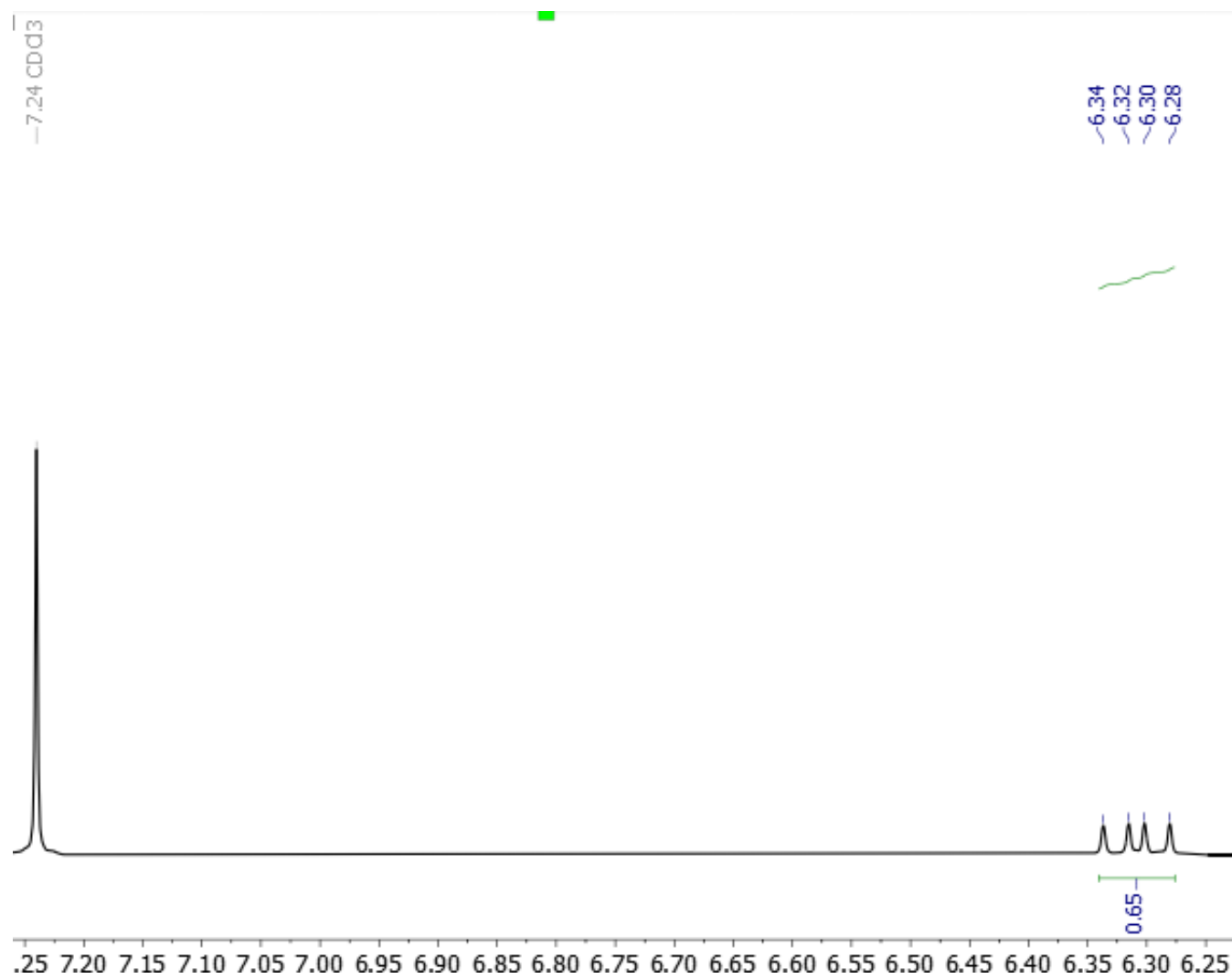
Fonte: Autoria própria

Figura 52. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



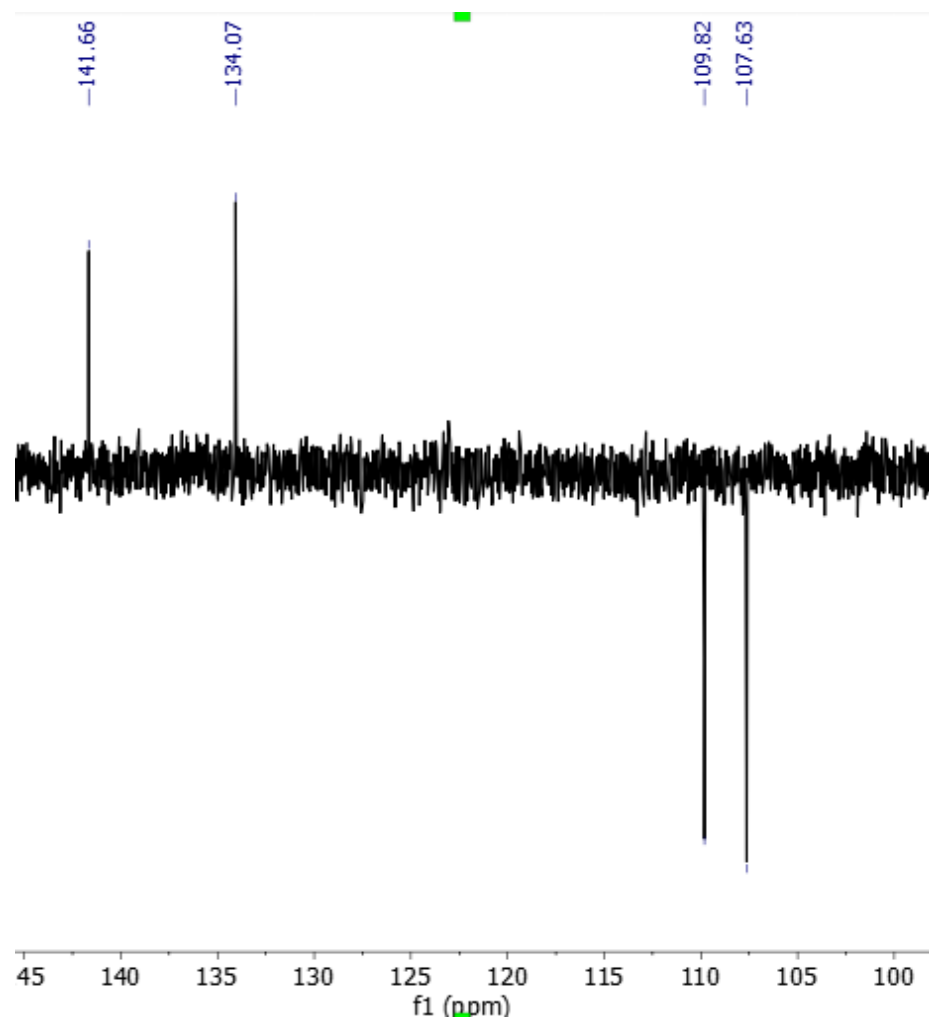
Fonte: Autoria própria

Figura 53. Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



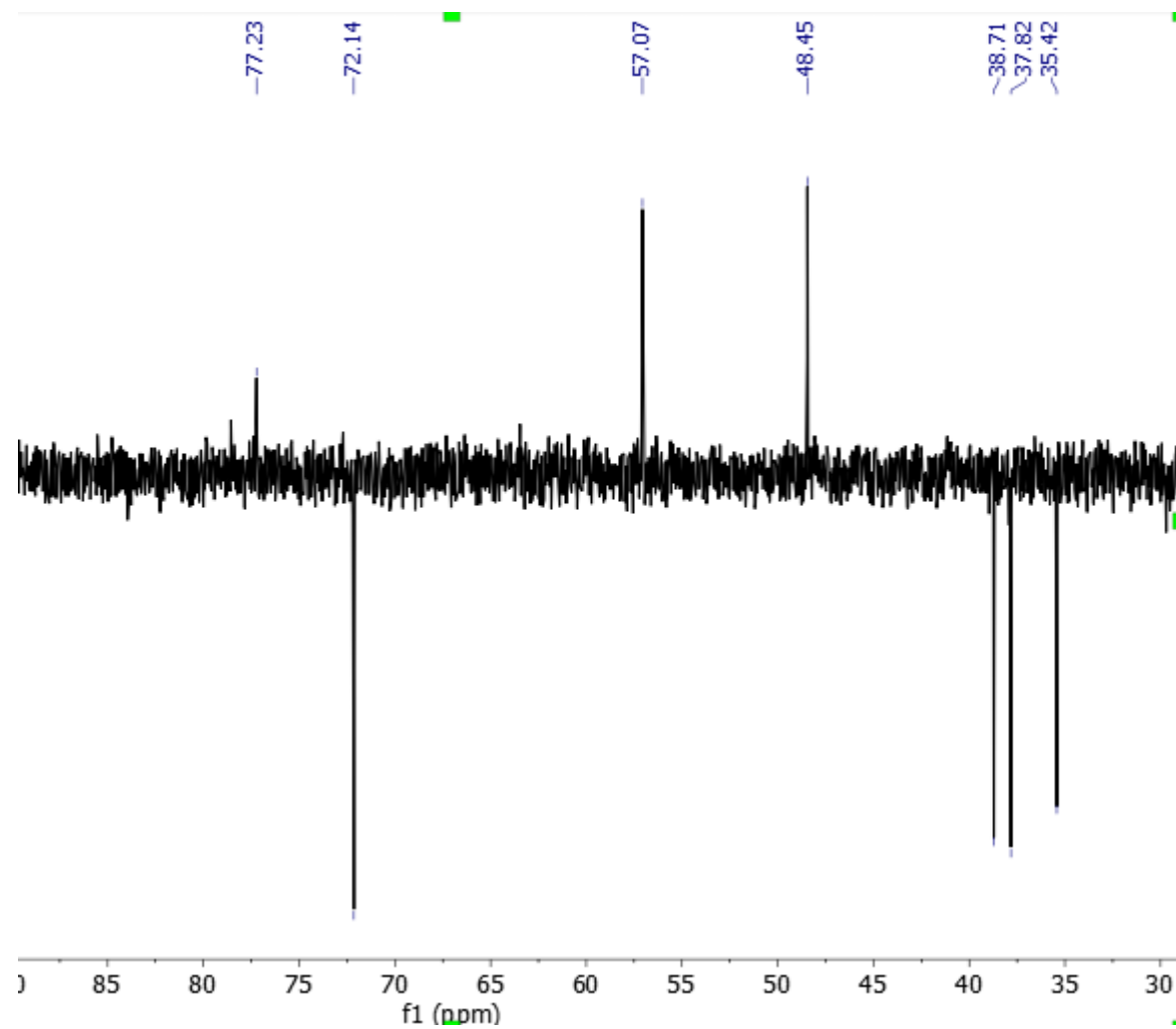
Fonte: Autoria própria

Figura 54. Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



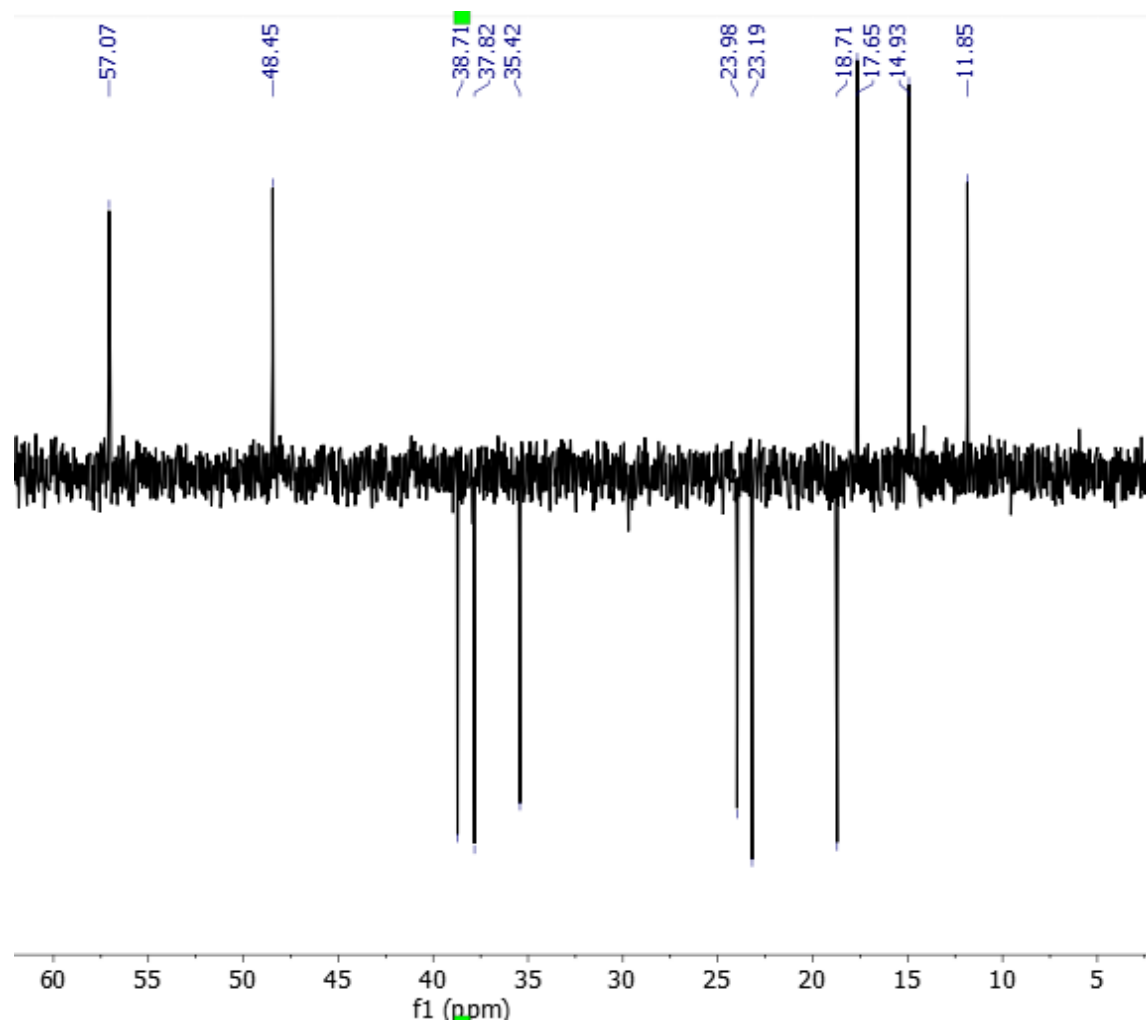
Fonte: Autoria própria

Figura 55. Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



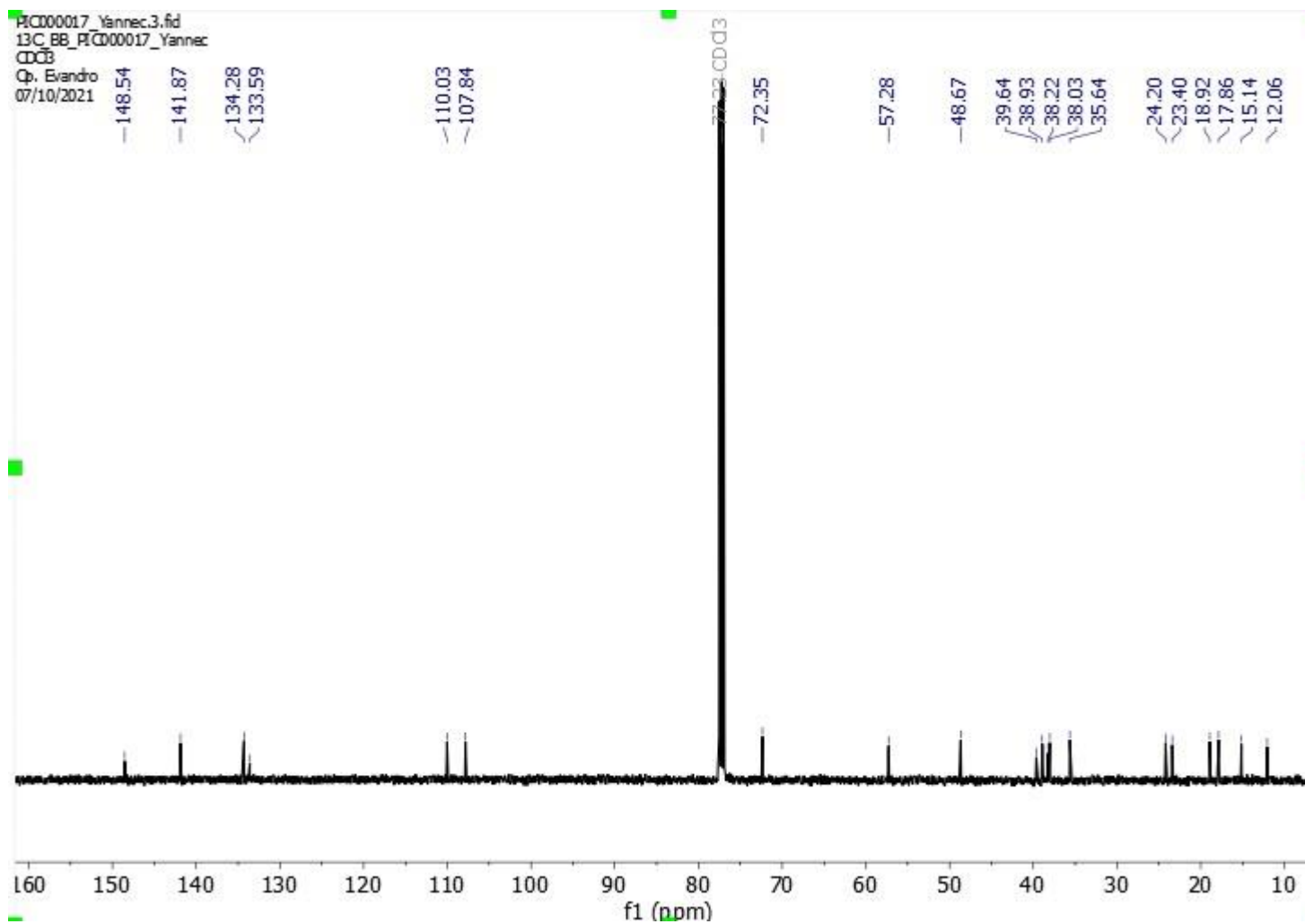
Fonte: Autoria própria

Figura 56. Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT-135 (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



Fonte: Autoria própria

Figura 57. Espectro de RMN de ^{13}C -BB (125 MHz, CDCl_3) da substância CL-5



Fonte: Autoria própria

6. ENSAIO BIOLÓGICO

O teste de citotoxicidade foi avaliado com o diterpeno do tipo labdano derivado do ácido communol (CL-5) para as linhagens celulares de melanoma (SK-MEL-28) e de leucemia promielocítica aguda (HL-60), a uma concentração de 25 μ M, apresentando inibição de crescimento de acordo com a tabela abaixo (Tabela 7):

Tabela 7. Inibição do crescimento de linhas celulares HL-60 e SK-MEL-28

COMPOSTO	INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO (%)	
	HL-60	SK-MEL-28
CL-5	0,0	2,02

Os dados foram analisados com o software GraphPad Prism 8.0.1

Observou-se que o composto não apresentou citotoxicidade contra as linhas celulares HL-60 e SK-MEL-28. Mesmo os diterpenos sendo moléculas passíveis de apresentar atividade anticâncer, principalmente do tipo lábdano e clerodano como nos estudos para derivados do ácido communol relatado por Chen e colaboradores (1997) e Perry e colaboradores (1994), que exibiram forte atividade citotóxica em um bioensaio de artémia ($DL_{50} = 0,16 \mu\text{g/mL}$) e atividade citotóxica contra células BSC-1 ($IC_{50} < 280 \text{ ng/ml}$), respectivamente (BARREIRO, et al., 2012).

Dessa forma a possibilidade para atividade antitumoral em outras linhagens celulares ficam em aberto, visto que derivados do ácido communol apresentam atividade biológica antitumoral. Bem como: antibacteriana, hipolipemiante, relaxante do músculo liso além do potencial para scafoolds (BARREIRO, et al., 2012; HANSON, 2011).

Que devido os centros quirais são moléculas passíveis de mudanças, sendo principalmente utilizadas na síntese de ativos antitumorais, e como também antioxidantes na derivação, por exemplo, em abietano, ambrox e outros fixadores de perfume, herbicidas podolactona, entre outros, apresentando processos mais curtos e eficientes (JEON, et al., 2006; KO, et al., 2006; ZANG, et al., 2007).

7. CONCLUSÃO

A partir do estudo fitoquímico do extrato hexano da casca de *Croton lanjouwensis* foi possível isolar cinco substâncias, sendo: dois fenilpropanoide, um diterpeno clerodano e dois diterpenos lábdanos. Identificadas através de métodos espectroscópicos de RMN de ^1H , ^{13}C e comparações com os dados relatados na literatura como sendo: metoxieugenol, elemicina, ácido hardwickiic, ácido 8(17)12E, 14-labdatrien-18-óico e o communol. Destes, todos os diterpenos foram relatados pela primeira vez na espécie, aferindo que a mesma apresenta uma composição característica do gênero, rica principalmente em fenilpropanoides e diterpenos, possivelmente distribuídos por toda a planta, visto que algumas dessas também estão presente no óleo essencial (OE).

Foi realizado teste biológico da substância CL-5, pela escassez em estudos e a potencialidade dos derivados do ácido communol porém, os resultados demonstraram uma inibição celular de 2,02%, para a linhagem SK-MEL-28.

Diante disto, este trabalho contribuiu com a ampliação do conhecimento fitoquímico da espécie *Croton lanjouwensis* a qual é pouco estudada e com relatos quase que apenas voltados ao OE, revelando-a bioprodutora de fenilpropanoides e diterpenos, o que corrobora com a quimiofenética do gênero e da família Euphorbiaceae

REFERÊNCIAS

- ABREU, Lucas Silva. **Investigação fitoquímica e bioatividade de espécies de Euphorbiaceae da Caatinga**. Tese de Doutorado. 2020.
- AGUIAR, M.; PREISINGER, H. Traits of leaf anatomy of *Croton lanjouwensis* Jablonsky (Euphorbiaceae) in different strata of the plant. In: GERMAN-BRAZILIAN WORKSHOP ON NEOTROPICAL ECOSYSTEMS. ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS OF COOPERATIVE RESEARCH, p. 344, 2002.
- ALDHAHER, A. H. S.; LAGANT, M. K.; SCHWIKKARD, S. L.; CAREW, M.; MULHOLLAND, D. A. New terpenoids from *Croton dichogamus* Pax. **Planta Medica**, v. 82, n. S 01, p. P167, 2016.
- ALEKSANDROV, MIHAIL; MAKSIMOVA, VIKTORIJA; KOLEVA GUDEVA, LILJANA. Review of the anticancer and cytotoxic activity of some species from genus Euphorbia. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 84, n. 1, p. 1-5, 2019.
- ALLEM, A. C.; IRGANG, B. E. Flora ilustrada do Rio Grande do Sul: Euphorbiaceae. Boletim do Instituto Central de Biociências, série botânica, v. 34, n.4, p. 1-97, 1975.
- ALVES, Iasmine Andreza Basilio dos Santos. **Estudo farmacognóstico e etnofarmacológico de *Croton cordiifolius* Bail.(Euphorbiaceae)**. Tese de Doutorado, 2017.
- ARRAIS, L. G. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana e farmacológica de *Croton pulegioides* Baill.(Euphorbiaceae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2012.
- ATHAYDE, Natália Ravanelli. **Perfil químico e atividades biológicas de *Croton echinocarpus* Baill. e *Croton vulnerarius* Müll. Arg.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2013.
- AWALE, S., LU, J., KALAUNI, S. K., KURASHIMA, Y., TEZUKA, Y., KADOTA, S., & ESUMI, H. Identification of arctigenin as an antitumor agent having the ability to eliminate the tolerance of cancer cells to nutrient starvation. **Cancer research**, v. 66, n. 3, p. 1751-1757, 2006.
- BAI, M., WU, L. J., CAI, Y., WU, S. Y., SONG, X. P., CHEN, G. Y., HAN, C. R.. One new lignan derivative from the *Combretum alfredii* Hance. **Natural product research**, v. 31, n. 9, p. 1022-1027, 2017.
- BARRERO, A. F., HERRADOR, M. M., ARTEAGA, P., ARTEAGA, J. F., & ARTEAGA, A. F. Communic acids: occurrence, properties and use as chirons for the synthesis of bioactive compounds. **Molecules**, v. 17, n. 2, p. 1448-1467, 2012.
- BERLINCK, R. G., BORGES, W. D. S., SCOTTI, M. T., & VIEIRA, P. C. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.
- BEZERRA, F.W.F.; SALAZAR, M.L.A.R.; FREITAS, L.C.; SANTANA DE OLIVEIRA. M.; DOS SANTOS, I.R.C.; DIAS, M.N.C.; GOMES-LEAL, W.; ANDRADE, E.H.A.;

FERREIRA, G.C.; CARVALHO JR., R.N. Chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory and neuroprotective effect of *Croton matourensis* Aubl. leaves extracts obtained by supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, 2020, 165, pp. 104992

BOLZANI, Vanderlan da S. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 68, n. 1, p. 04-05, 2016.

BRAZ FILHO, Raimundo. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

BUSTOS-BRITO, C., NIETO-CAMACHO, A., HERNANDEZ-ORTEGA, S., RIVERA-CHÁVEZ, J., QUIJANO, L., & ESQUIVEL, B. Structural elucidation of malonylcommunol and 6 β -hydroxy-trans-communic acid, two undescribed diterpenes from *Salvia cinnabarina*. First examples of labdane diterpenoids from a Mexican *Salvia* species. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1808, 2020.

C. S. ARAÚJO, G. N. VASCONCELOS, L. G. CORUMBÁ, E. B. SANTANA, L. J. G. FARIA, C. M. L. COSTA. ANÁLISE DA OBTENÇÃO DE BIOATIVOS NA SECAGEM DE CROTON MATOURENSIS. In: XXXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS PARTICULADOS ENEMP 2019, 2019, Belém. **Anais eletrônicos**. Campinas, Galoá, 2019. Disponível em: <<https://proceedings.science/enemp-2019/papers/analise-da-obtencao-de-bioativos-na-secagem-de-croton-matourensis>>. Acesso em: 31 ago. 2022.

CAI, Y.; EVANS, F.J.; ROBERTS, M.F.; PHILLIPSON, J.D.; ZENK, M.H.; GLEBA, Y.Y. Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*. **Phytochemistry**, v.30, p.2033-2040, 1991.

CAMPOS, A. R.; ALBUQUERQUE, F. A. A.; RAO, V. S. N.; MACIEL, M. A. M; PINTO, A. C. Investigations on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. **Fitoterapia**, v. 73, n. 2, p. 116-120, 2002.

CAMPOS, M.C.O.; SALOMÃO, K.; CASTRO-PINTO, D.B.; LEON, L.L.; BARBOSA, H.S.; MACIEL, M.A.M. *Croton cajucara* crude extract and isolated terpenes: activity on *Trypanossoma cruzi*. **Parasitology Research**, v.107(5), p.1193-1204, 2010.

CAPISTRANO, Sergio Helano Barbosa; LOIOLA, Maria Iracema Bezerra. Flora do Ceará, Brasil: Krameriaceae. **Rodriguésia**, v. 66, n. 3, p. 905-912, 2015.

CARNEIRO, L.J., TASSO, T.O., SANTOS, M.F.C., GOULART, M.O., BASTOS, J.K., PARREIRA, R.L.T., ORENHA, R.P., VENEZIANI, R.C.S. Copaifera multijuga, Copaifera pubiflora and Copaifera trapezifolia Oleoresins: chemical characterization and in vitro cytotoxic potential against tumoral cell lines. **J. Braz. Chem. Soc.** 2020.

CARNEIRO, Liedson Tavares de Sousa. **Estrutura geográfica da interação entre abelhas coletoras de óleo e Krameria Loeffl.(Krameriaceae): funcionalidade e integração fenotípica de caracteres florais**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.2017

CARSON, C.F.; HAMMER, K.A. Chemistry and bioactivity of essential oils. In: THORMAR, H. Lipids and essential oils as antimicrobial agents. **West Sussex: John Wiley & Sons**, Cap. 9, p. 203-238, 2011.

CASANOVA, L. M.; COSTA, S. S. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 2, p. 575-595, 2017.

CHANG, C. I., CHEN, C. C., CHAO, C. Y., WANG, S. Y., CHANG, H. S., SUNG, P. J., KUO, Y. H. Sesquiterpenoids and Diterpenoids from the Wood of *Cunninghamia konishii* and Their Inhibitory Activities against NO Production. **Molecules**, 2016, 21(4), 490.

CHEN, R.; ZHANG, Y.; FANG, S. Inhibitors of human DNA polymerase β isolated from Jack Rorrea (*Torreya jackii*). **Zhongcaoyao** 1997, 28, 707–710.

CHEN, Z.; CAI, Y.; PHILLIPSON, D. Studies on the anti-tumor, anti-bacterial and wound-healing properties of dragon's blood. **Planta Medica**, v.60, p.541-545, 1994.

COMPAGNONE, R.S.; CHAVEZ, K.; MATEU, E.; ORSINI, G.; ARVELO, F.; SUÁREZ, A.I. Composition and cytotoxic activity of essential oils from *Croton matourensis* and *Croton micans* from Venezuela. **Rec. Nat. Prod.** 2010, 4, 101–108.

COSTA-LIMA, J.L. *Krameriaceae* in Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em:
<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB8092>>. Acesso em: 14 mar. 2021

CRENTSIL, J. A., YAMTHE, L. R. T., ANIBEA, B. Z., BRONI, E., KWOFIE, S. K., TETTEH, J. K. A., & OSEI-SAFO, D. Leishmanicidal potential of hardwickiic acid isolated from *croton sylvaticus*. **Frontiers in pharmacology**, v.11, 2020.

CRONQUIST, A. An Integrated system of classification of Flowering plants. Columbia University Press, NY, 1981.

DE ALMEIDA, Marcia Rosa; MARTINEZ, Sabrina Teixeira. Química de Produtos Naturais: Plantas que testemunham histórias. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 3, 2017.

DE CASTRO LIRA NETO, Amaro. **Caracterização genética de espécies de Croton (Euphorbiaceae) ocorrentes no Nordeste brasileiro**. Tese de Doutorado, 2011.

DE LIMA, Emilly JSP. Efeito antitumoral do óleo essencial das folhas de *Croton matourensis* Aubl. (Euphorbiaceae). **Molecules**, v. 23, n. 11, pág. 2974, 2018.

DE LIMA, M. D. F. R., CAVALCANTE, L. A., DE ARAÚJO COSTA, E. C. T., DE VERAS, B. O., DA SILVA, M. V., CAVALCANTI, L. N., & ARAÚJO, R. M. Bioactivity flavonoids from roots of *Euphorbia tirucalli* L. **Phytochemistry Letters**, v. 41, p. 186-192, 2021.

- DE S. VARGAS, F.; D. O. DE ALMEIDA, P.; ARANHA, E.; DE A. BOLETI, A.; NEWTON, P.; DE VASCONCELOS, M.; JUNIOR, V.; LIMA, E. Biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *Copaifera* spp. Oleoresins. **Molecules**, v. 20, n.4, p. 6194-6210, 2015.
- DO NASCIMENTO, L. M. et al. A percepção dos consumidores em relação às estratégias de marketing desenvolvidas por uma empresa de produtos naturais e orgânicos. **Revista Brasileira de Marketing**, v. 16, n. 2, p. 168-179, 2017.
- DOSTERT, N., CACERES, F., BROKAMP, G., & WEIGEND, M. Propagación in situ de ratania-*Krameria lappacea* (Krameriaceae): factores limitantes de la propagación natural y efectos de resiembra. **Revista peruana de biología**, v. 25, n. 1, p. 29-34, 2018.
- DU, J., WANG, M. L., CHEN, R. Y., & YU, D. Q. Two new bislabdane-type diterpenoids and three new diterpenoids from the roots of *Cunninghamia lanceolata*. **Planta medica**, v. 67, n. 06, p. 542-547, 2001.
- FALODUN, A., IMIEJE, V., ERHARUYI, O., JOY, A., LANGER, P., JACOB, M., HAMANN, M. Isolation of antileishmanial, antimalarial and antimicrobial metabolites from *Jatropha multifida*. **Asian pacific journal of tropical biomedicine**, v. 4, n. 5, p. 374-378, 2014.
- FARIAS, R.A.F.; RAO, V.S.N.; VIANA, G.S.B.; MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C. Hypoglycemic effect of *trans*-dehydrocrotonin, a nor-clerodane dipertene from *Croton cajucara*. **Planta Medica**, v.63, p.558-560, 1997.
- FELIPE, L. O., & BICAS, J. L. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017.
- FERNANDES, M., GIULIETTI, A. M., DE OLIVEIRA, R. P., & DE LIMA, C. T.. Flora of Bahia: Krameriaceae. **SITIENTIBUS série Ciências Biológicas**, v. 14, 2014.
- FERREIRA, Sávio Benvindo. **Investigação dos efeitos antimicrobiano, citotóxico e genotóxico do óleo essencial das partes aéreas de *Croton tricolor* Klotsch ex Baill (Euphorbiaceae)**. 2014.
- FRANCO, M. S., CORDERO, C. P., MORANTES, S. J., ARISTIZABAL, F., & OSORIO, C. Cytotoxic labdane diterpenoids isolated from the hexane fraction of the *Croton stipuliformis* stem bark. **Vitae**, v.18, n.2, p.173-182, 2011.
- GARCEZ, F. R., GARCEZ, W. S., HAMERSKI, L., & MIGUITA, C. H. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Química Nova**, v. 32, p. 407-411, 2009.
- GIMENES, Miriam; LOBÃO, Cybelle da S. A polinização de *Krameria bahiana* BB Simpson (Krameriaceae) por abelhas (Apidae) na restinga, BA. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 440-445, 2006.
- GIULIETTI, Ana M.; PIRANI, J. Rubens. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil.

In: **Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.** p. 39-69, 1988.

GRASSI-KASSISSE, D.M.; WOLF-NUNES, V.; MIOTTO, A.M.; FARIAS-SILVA, E.; BRITO, A.R.M.S.; NUNES, D.S.; SPADARI-BRATFISCH, R.C. Sensitivity to β -adrenoceptor agonists of adipocytes from rats treated with an aqueous extract of *Croton cajucara* Benfh. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.55, p.253-257, 2003.

GUIMARAES, L.A.; SECCO, R.S. As espécies de *Croton* L. sect. *Cyclostigma* Griseb. e *Croton* L. sect. *Luntia* (Raf.) G. L. Webster subsect. *Matourenses* G. L. Webster (Euphorbiaceae s.s.) ocorrentes na Amazônia brasileira. **Acta Amaz.**, v. 40, n. 3, p. 471-487, 2010.

GUPTA, D.; BLEAKLEY, B.; GUPTA, R.K. Dragons blood: botany, chemistry and therapeutic uses. **Journal of ethnopharmacology**, v.115, p.361-380, 2008.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, n. 22-24, p. 2831-2846, 2007.

HAYASHI, K., NARUTAKI, K., NAGAOKA, Y., HAYASHI, T., & UESATO, S. Therapeutic effect of arctiin and arctigenin in immunocompetent and immunocompromised mice infected with influenza A virus. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 33, n. 7, p. 1199-1205, 2010.

SIQUEIRA, Leticia Maria Martins. **Influência da granulometria no rendimento, composição química e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Croton matourensis*** AUBL. Dissertação de Tese, 2018.

JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) – a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research. **Journal of alternative and complementary medicine**, v. 9, p.877-896, 2003.

JÚNIOR, Sebastião F. Palmeira; CONSERVA, Lucia M.; FILHO, José Maria Barbosa. Clerodane diterpenes from *Croton* species: distribution and a compilation of their ¹³C NMR spectral data. **Natural Product Communications**, v. 1, n. 4, p. 1934578X0600100410, 2006.

KIM, J. Y., HWANG, J. H., CHA, M. R., YOON, M. Y., SON, E. S., TOMIDA, A., ... & PARK, H. R. Arctigenin blocks the unfolded protein response and shows therapeutic antitumor activity. **Journal of cellular physiology**, v. 224, n. 1, p. 33-40, 2010.

LEAL, R. S. Estudo **Etnofarmacológico e Fitoquímico das espécies medicinais *Cleome spinosa* Jacq., *Pavonia varians* Moric e *Croton cajucara* Benth.** Tese (Doutorado em Química) – Centro de química, 2008.

LEÃO, I. M. S.; ANDRADE, C. H.; PINHEIRO, M. L. B. Essential oil of *Croton lanjouwensis* Jablonski from Brazilian Amazonian region. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 6, p. 643-644, 1998.

LIMA, E.; ALVES, R. F.; ELIA, G. M. A.; ANUNCIACÃO, T. A.; SILVA, V. R.; SANTOS, L. S.; SOARES, M. B. P.; CARDOZO, M. N. D.; COSTA, E. V.; SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P. Antitumor Effect of the Essential Oil from the Leaves of *Croton matourensis* Aubl. (Euphorbiaceae). **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2974, 2018.

LIMA, L.R.; PIRANI, J. R. O gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) na Cadeia do LIMA, S. G. D., CITÓ, A. M., LOPES, J. A., NETO, J. M., CHAVES, M. H., & SILVEIRA, E. R. Fixed and volatile constituents of genus *Croton* plants: *C. Adenocalyx* baill – Euphorbiaceae. **Rev. Latinoam. Quim.**, v. 38, n. 3, p. 133-144, 2010.

LOPES, E. L.; NETO, M. A.; SILVEIRA, E. R. Flavonoids and sesquiterpenes of *Croton pedicellatus* Kunth. **Química Nova**, v. 35, n. 11, p. 2169-2172, 2012.

LOPES, Elton Luz. Contribuição ao conhecimento químico de *Croton pedicellatus* Kunth. Tese de Doutorado, 2012.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R. Spectral Assignments and Reference Data: NMR and structure review of some natural Furoclerodanes. **Magn. Reson. Chem.**, v. 41, p.278. 2003.

MAROYI, Alfred. Ethnopharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological properties of *Croton macrostachyus* Hochst. Ex Delile: a comprehensive review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.

MARTÍNEZ, César A.; MOSQUERA, Oscar M.; NIÑO, Jaime. Apigenin glycoside: an antioxidant isolated from *Alchornea coelophylla* pax & k. Hoffm.(euphorbiaceae) leaf extract. **Universitas Scientiarum**, v. 21, n. 3, p. 247-257, 2016.

MARTINS, A. P., SALGUEIRO, L. R., GONÇALVES, M. J., VILA, R., TOMI, F., ADZET, T., CASANOVA, J.. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Bark Oil of *Croton stellulifer*, an Endemic Species from S. Tome e Principe. **Planta Med.**, v. 66, p. 647-650, 2000.

MC-CAUGHEY-ESPINOZA, D., REYES-OLIVAS, Á., AYALA-ASTORGA, G., LUGO-GARCÍA, G., OCHOA-MEZA, A., & PACHECO-OLVERA, A. Análisis químico proximal de *Krameria erecta* del Estado de Sonora. **Abanico Veterinario**, v. 9, 2019.

MCMURRY, J. 7º Ed. *Química Orgânica - Combo*. São Paulo: Cengage Learning, 2011. 1344 p.

MEDEIROS, Vivianne Marcelino. **Estudo fitoquímico de *Croton growioides* Baill. e revisão da ocorrência das principais classes de metabólitos do gênero *Croton***. Tese, 2012

OLIVEIRA-TAVARES, N. N., LEMOS, A. S., PEREIRA, A. P. O., FABRI, R. L., & CHEDIER, L. M. Atividade Antifúngica do Látex de *Jatropha multifida* L.(Euphorbiaceae) e de Lupenona isolada de suas Folhas. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 5, p. 1579-1590, 2019.

PALMA ROJAS, C., JARA SEQUEL, P., GARCÍA, M., VON BRAND, E., & ARAYA JAIME, C. Karyological study in the Chilean rhatany *Krameria cistoidea* Hook. & Arn. (Krameriaceae). **BAG, J. basic appl. genet.(Online)**, p. 21-25, 2019.

PERRY, N.B.; FOSTER, L.M. Antitumor lignans and cytotoxic resin acids from a New Zealand gymnosperm, *Libocedrus plumosa*. **Phytomedicine** 1994, 1, 233–237.

PETERS, R.J. Two rings in them all: The labdane-related diterpenoids. *Nat. Prod.*

PILAR, Bruna Cocco. Efeitos do óleo de linhaça e da lignana Secoisolariciresinol diglicosídeo (SDG) em um modelo de síndrome metabólica em ratos Wistar. 2017.

PINTO, A. C., SILVA, D. H. S., BOLZANI, V. D. S., LOPES, N. P., & EPIFANIO, R. D. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química nova**, v. 25, p. 45-61, 2002.

RÍOS, José Luis; GINER, Rosa M.; PRIETO, José M. Novos achados sobre a bioatividade de lignanas. **Estudos em química de produtos naturais**, v. 26, p. 183-292, 2002.

RISCO, E.; GHIA, F.; VILA, R.; IGLESIAS, J.; ALVAREZ, E.; CANIGUERAL, S. Immunomodulatory activity and chemical characterization of sangre de drago (Dragon's blood) from *Croton lechleri*. **Planta Medica**, v.69, p.785-794, 2003.

ROSSI, D.; BRUNI, R.; BIANCHI, N.; CHIARABELLI, C.; GAMBARI, R.; MEDICI, A.; LISTA, A.; PAGANETTO, G. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* (Muell.Arg.) latex. **Phytomedicine**, v.10, n.2, p.139-144, 2003.

SAJON, S.R. In silico study of mapk inhibition based lead identification from the isolated compounds of *Croton oblongifolius* roxb for the treatment of hepatocellular carcinoma. **Pharmacology**, v.1, p. 301-318, 2019.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SALATINO, ANTONIO; SALATINO, MARIA L. FARIA; NEGRI, GIUSEPPINA. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian chemical society**, v. 18, p. 11-33, 2007.

SÁNCHEZ GARCÍA, M; QUILUMBANGO GRIJALVA, C. Anticancer Secondary Metabolites Found in Native Ecuadorian Plant Species *Uncaria tomentosa* DC.(Rubiaceae), *Croton lechleri* Müll. Arg.(Euphorbiaceae), and *Equisetum giganteum* L.(Equisetaceae). In: **Innovations in Biotechnology for a Sustainable Future**. p. 377-401, 2021.

SANTOS, A. G.; PEREZ, C. C.; TININIS, A. G.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO A. T. Clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Swartz. **Química nova**, v. 30, n.5, p. 1100-11-3, 2007.

SANTOS, DITERPENOS CASBANOS E ACETOFENONAS DE *Croton nepetaefolius* (EUPHORBIACEAE). Tese de Doutorado, 2007.

SANTOS, Elane Cristina Silva dos. Investigação do potencial tóxico do extrato etanólico de *krameria tomentosa* a. St. Hill sobre o sistema reprodutor de ratos e ratas e suas proles. 2016.

SANTOS, Érica Luiz dos. **Biossíntese de neolignanais em *Ocotea catharinensis* e filogenia molecular de Lauraceae**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2014

SCHNEIDER, C., BREITMAIER, E., DE C. BAYMA, J., DE FRANCA, L. F., KNEIFEL, H., & KREBS, H. C. Maravuiic acid, a new seco-labdane diterpene from *Croton matourensis*. **Liebigs Annalen**, p.709–710, 1995..

SCHOLZ, Eberhard; RIMPLER, Horst. Proanthocyanidins from *Krameria triandra* root. **Planta Med**, v. 55, n. 4, p. 379-384, 1989.

SHANTABI, L., JAGETIA, G. C., MOIRANGTHEM, D. S., & NONGALLEIMA, K. Anticancer activity of an ethnomedicinal plant *Croton caudatus* Geiseler, Kam sabut in cultured HeLa cells. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 23, p. 101500, 2020.

SIMPSON, B. ET AL. Krameriaceae. *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil*. Vol. 1. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p.1129, 2010.

SIMPSON, Beryl B. A new species of *Krameria* (Krameriaceae) from Bahia, Brazil. **Brittonia**, v. 39, n. 2, p. 198-200, 1987.

SIMPSON, Beryl B. Krameriaceae. **Flora Neotropica**, p. 1-108, 1989.

SIMPSON, Beryl B. The past and present uses of rhatany (*Krameria*, Krameriaceae). **Economic Botany**, v. 45, n. 3, p. 397-409, 1991.

SIMPSON, Beryl B.; SEIGLER, David S.; NEFF, John L. Lipids from the floral glands of *Krameria*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 7, n. 3, p. 193-194, 1979.

SIQUEIRA, L. M. M. **RENDIMENTO, INFLUÊNCIA DA GRANULOMETRIA NO; DO ÓLEO, ESSENCIAL**. 2018. Tese de Doutorado.

SOARES, N., SANTOS, P., VIEIRA, V., PIMENTA, V., & ARAÚJO, E. Técnicas de prospecção fitoquímica e sua importância para o estudo de biomoléculas derivadas de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, n. 24, 2016.

SUN, Z. L., HE, J. M., WANG, S. Y., MA, R., KHONDKAR, P., KAATZ, G. W., ... & MU, Q. Benzocyclohexane oxide derivatives and neolignans from *Piper betle* inhibit efflux-related resistance in *Staphylococcus aureus*. **RSC advances**, v. 6, n. 49, p. 43518-43525, 2016.

SWARUP, V., GHOSH, J., MISHRA, M. K., & BASU, A. Novel strategy for treatment of Japanese encephalitis using arctigenin, a plant lignan. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, n. 3, p. 679-688, 2008.

TAVARES, J. F. **Estudo fitoquímico de *Xylopia langsdorffiana* St.-Hil. & Tul e *Fusaea longifolia* (Aubl.) Saff.: Isolamento, Caracterização Estrutural e Atividade Biológica.** João Pessoa-Universidade Federal da Paraíba. 2007. Tese de Doutorado.

TIEPPO, M.; PORAWSKI, M.; SALVADOR, M.; MOREIRA, A.J.; COLLADO, P.S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; MARRONI, N.P. *Croton cajucara* Benth. Leaf extract scavenges the stable free radical DPPH and protects against oxidative stress induced by paraquat. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v.29, n.1, p.161-5, 2006.

TRINDADE, M.J.S.; LAMEIRA, O.A. Species from the Euphorbiaceae family used for medicinal purposes in Brazil. *Rev. Cubana Plan. Medicinales*, v.19, p.292–309, 2014.

VILLARREAL-GARCÍA, L. E., ORANDAY-CÁRDENAS, A., GARZA-RAMOS, M. A., RIVAS-MORALES, C., VERDE-STAR, M. J., GÓMEZ-TREVIÑO, J. A., & TORRES-DE LA CRUZ, V. Neolignanos de *Krameria ramosissima* (A. Gray) S. Watson con actividad contra *Porphyromonas gingivalis*, evaluación citotóxica y mutagénica. **Revista mexicana de ciencias farmacéuticas**, v. 45, n. 2, p. 69-76, 2014.

VIZZOTTO, Márcia; KROLOW, A. C. R.; WEBER, Gisele Eva Bruch. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTEC-E)**, 2010.

WATSON, L; DALLWITZ, M. J. The families of flowering plants descriptions, illustrations, identification, and information retrieval, 2008. Disponível em: < <http://delta-intkey.com> > acesso em: 04/04/2022.

ZÁLEŠÁK, František; BON, David Jean-Yves Denis; POSPÍŠIL, Jiří. Lignans and Neolignans: Plant secondary metabolites as a reservoir of biologically active substances. **Pharmacological research**, v. 146, p. 104284, 2019.

ZHANG, J., CHEN, J., LIANG, Z., & ZHAO, C. New lignans and their biological activities. **Chemistry & biodiversity**, v. 11, n. 1, p. 1-54, 2014.

ZHANG, W., WANG, X., LIU, Y., TIAN, H., FLICKINGER, B., EMPIE, M. W., & SUN, S. Z. Dietary flaxseed lignan extract lowers plasma cholesterol and glucose concentrations in hypercholesterolaemic subjects. **British Journal of Nutrition**, v. 99, p. 1301-1309, 2008.

GARCEZ, F. R., GARCEZ, W. S., HAMERSKI, L., & MIGUITA, C. H. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Química Nova**, v. 32, p. 407-411, 2009.

ÁVILA, Fábio do Nascimento. Contribuição ao Conhecimento Químico de *Plectranthus ornatus* Codd. 2015.

