

Universidade Estadual Paulista-UNESP

“Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Química de Araraquara

Departamento de Química Orgânica

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO
GÊNERO *Casearia* E DE ALGUMAS DE SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

**Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos necessários para a obtenção
do título de Doutor em Química**

Araraquara-SP

2010

Gerardo Magela Vieira Júnior

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO
GÊNERO *Casearia* E DE ALGUMAS DE SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

**Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos necessários para a obtenção
do título de Doutor em Química**

Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro

Orientador

Dr. Nivaldo Boralle

Co-orientador

Araraquara-SP

2010

FICHA CATALOGRÁFICA

Vieira Júnior, Gerardo Magela

V658c Contribuição ao estudo dos metabólitos secundários do gênero *Casearia* e de algumas de suas atividades biológicas / Gerardo Magela Vieira Júnior. – Araraquara : [s.n], 2010
364 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química

Orientador: Alberto José Cavaleiro

Co-orientador: Nivaldo Boralle


1. Produtos naturais. 2. *Casearia gossypiosperma*. 3. *Casearia obliqua*. 4. *Casearia rupestris*. 5. *Casearia decandra*. I. Título.

GERARDO MAGELA VIEIRA JUNIOR


Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química.

Araraquara, 10 de março de 2010.

BANCA EXAMINADORA




Prof. Dr. Alberto José Cavalcheiro (Orientador)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara




Profª Drª Isabele Rodrigues Nascimento
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCar, São Carlos



Profª Drª Maria das Graças Lins Brandão
Faculdade de Farmácia – UFMG, Belo Horizonte



Profª Drª Mariana Helena Chaves
Centro de Ciências da Natureza – UFPI, Teresina

CURRÍCULO

GERARDO MAGELA VIEIRA JÚNIOR (magelavj@iq.unesp.br)

DADOS PESSOAIS

Nascimento: 04/05/1982

Nacionalidade: brasileira

Naturalidade: Piauí

Filiação: Gerardo Magela Vieira e Maria do Socorro Silva Vieira

Estado civil: solteiro

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Doutorado em Química em andamento no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista.

Título do trabalho: "Contribuição ao Estudo dos Metabólitos Secundários do Gênero *Casearia* e de algumas de suas Atividades Biológicas"

Orientação: Prof. Dr. Alberto José Cavaleiro; Financiamento: FAPESP

Início: março de 2007.

Mestrado em Química, área de concentração Química Orgânica, Universidade Federal do Piauí.

Título da Dissertação: "Estudo químico e atividades citotóxica e antioxidante de *Dipteryx lacunifera* Ducke (Leguminosae-Papilionoideae)" – 2007.

Orientação: Profa. Dra. Mariana Helena Chaves; Financiamento: CNPq

Início: fevereiro de 2005; conclusão: fevereiro de 2007.

Bacharel e Licenciado em Química, Universidade Federal do Piauí.

Início: maio de 1999; conclusão: fevereiro de 2005 e dezembro de 2006.

EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL

Bolsas concedidas

1. Bolsista de Iniciação Científica – CNPq (2001-2002)

Título do projeto: "Estudo das propriedades físico-químicas da resina de almécega (*Protium heptaphyllum*)".

2. Bolsista de Iniciação Científica – UFPI (2002-2003)

Título do projeto: "Estudo químico e microbiológico da espécie *Dipteryx sp.*(Fabaceae)".

3. Bolsista de Iniciação Científica – CNPq (2003-2004)

Título do projeto: "Estudo químico e microbiológico da espécie *Dipteryx sp.*(Fabaceae)".

4. Bolsista de Mestrado – CNPq (2005-2007)

Título do projeto: "Estudo químico e atividades citotóxica e antioxidante de *Dipteryx lacunifera* Ducke (Leguminosae-Papilionoideae)".

5. Bolsista de Doutorado – FAPESP (2007-2010)

Título do projeto: “Perfil cromatográfico dos metabólitos de espécies da família Flacourtiaceae: estudo fitoquímico biomonitorado”.

Docência

1. Unidade Escolar Benjamin Baptista – março a dezembro de 2006

Professor de Química para o 2º grau

2. Universidade Estadual Paulista (UNESP) – 1º semestre de 2008

Professor do curso de Farmácia: Química Orgânica II e Química Orgânica Experimental.

Estágio

1. Itapagé S/A – Celulose, Papéis e Artefatos – novembro/2004 a fevereiro/2005

Estagiário de Química Industrial - Setor de Produção

PUBLICAÇÕES

1. SANTOS, A. G.; FERREIRA, P. M. P.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; PEREZ, C. C.; TININIS, A. G.; BOLZANI, V. S.; LOTUFO, L. V.; do Ó PESSOA, C.; CAVALHEIRO, A. J. Casearin U, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumour human cells. *Chemistry & Biodiversity*, v. 7, p. 205-215, **2010**.

2. AYRES, M. C. C.; CHAVES, M. H.; RINALDO D.; VILEGAS W.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.** Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. *Química Nova*, v. 32, p. 1509-1512, **2009**.

3. REGASINI, L. O.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; FERNANDES, D. C.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S. Identification of triterpenes and sterols from *Pterogyne nitens* (Fabaceae-Caesalpinioideae) using high-resolution gas chromatography. *Journal of the Chilean Chemical Society*. v. 54, p. 218-221, **2009**.

4. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; GONCALVES, T. O.; RAGASINI, L. O.; FERREIRA, P. M. P.; do Ó PESSOA, C.; LOTUFO, L. V.; TORRES, R. B.; BORALLE, N.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Cytotoxic Clerodane Diterpenoids from *Casearia obliqua*. *Journal of Natural Products*. v. 72, p. 1847-1850, **2009**.

5. FLAUSINO Jr., O.; ABISSI, B.M.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; SANTOS, A. G.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S. Protease inhibition activity of extracts from Salicaceae species from Brazilian Cerrado and Atlantic Rain Forest and of an enriched fraction of clerodane diterpenes (casearins). *Revista Brasileira de Farmacognosia* v. 19, p. 756-759, **2009**.

6. AYRES, M. C. C.; BRANDÃO, M. As.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; MENOR, J. C. S; SILVA, H. B. E.; SOARES, M. J. S.; CHAVES, M. H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 18, p. 90-97, **2008**.
7. AYRES, M. C. C.; ESCORCIO, S. P; COSTA, D. A.; CHAVES, M. H.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; CAVALHEIRO, A. J. Constituintes químicos das folhas de *Qualea grandiflora*: atribuição dos dados de RMN de dois flavonóides glicosilados acilados diastereoisoméricos. *Química Nova*. v. 31, p. 1481-1484, **2008**.
8. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; SOUSA, C. M. M.; CAVALHEIRO, A. J.; LAGO, J. H. G.; CHAVES, M. H. Phenolic Derivatives from Fruits of *Dipteryx lacunifera* Ducke and Evaluation of their Antiradical Activities. *Helvetica Chimica Acta*. v. 91, p. 2159-2167, **2008**.
9. SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*. v. 30, p. 351-355, **2007**.
10. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; CARVALHO, A. A.; GONZAGA, W. A.; CHAVES, M. H. Cromatografando em coluna com resina de almécega: um projeto para química orgânica experimental. *Química Nova*. v. 30, p. 491-493, **2007**.
11. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; SILVA, H. R.; BITTENCOURT, T. C.; CHAVES, M. H.; SIMONE, C. A. Terpenos e ácidos graxos de *Dipteryx lacunifera* Ducke. *Química Nova*. v. 30, p. 1658-1662, **2007**.
12. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; SOUSA, C. M. L.; CHAVES, M. H. Resina de *Protium heptaphyllum*: isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades térmicas. *Química Nova*. v. 28, p. 183-187, **2005**.
13. OLIVEIRA, F. A.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; FLORENCIO, M. G.; LIMA JÚNIOR, R. C. P.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. *Pharmacological Research*. v. 49, p. 105-111, **2004**.
14. OLIVEIRA, F. A.; LIMA JÚNIOR, R. C. P.; CORDEIRO, W. M; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Pentacyclic triterpenoids, α , β -amyrins, suppress the scratching behavior in a mouse model of pruritus. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. v. 78, n. 4, p. 719-725, **2004**.
15. OLIVEIRA, F. A.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; SANTOS, K. A; MARTINS, F. S.; SILVA, R. M.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. Gastroprotective Effect of the mixture of α - and β -Amyrin from *Protium heptaphyllum*: Role of Capsaicin-Sensitive Primary Afferent Neurons. *Planta Medica*. v. 70, n. 8, p. 780-782, **2004**.

PUBLICAÇÕES EM CONGRESSOS DURANTE O PERÍODO DE DOUTORADO

1. GONCALVES, T. O.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J. Hidroquinona - princípio antioxidante e tóxico de *Casearia dacandra* (Salicaceae). In: 32a. Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2009, Fortaleza-Brasil.
2. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; FERREIRA, P. M. P.; LOTUFO, L. V.; do Ó PESSOA, C.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Cytotoxic clerodane diterpenes from *Casearia obliqua*. In: Future trends in phytochemistry in the global era of agri-food and health - YOUNG SCIENTISTS MEETING, 2009, Los Narejos - Espanha.
3. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; DUTRA, L. A.; TORRES, R. B.; BORALLE, N.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Phytochemical study of *Casearia* species (Salicaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 2009, São Pedro-Brasil.
4. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; DUTRA, L. A.; TORRES, R. B.; BORALLE, N.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Five new clerodane diterpenes from *Casearia rupestris* Eichler (Salicaceae). In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 2009, São Pedro-Brasil.
5. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; DUTRA, L. A.; LOPES, N. P.; CAVALHEIRO, A. J. Fragmentation study of the casearins (clerodane diterpenes) using electrospray ionization tandem mass spectrometry. In: 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 2009, São Pedro-Brasil.
6. REGASINI, L. O.; SOUZA, P. F.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S. Identificação de esteróides e triterpenos de *Cupania Oblongifolia* (Sapindaceae) através de cromatografia gasosa. In: 55a. Jornada Farmaceutica da UNESP, 2008, Araraquara - Brasil.
7. REGASINI, L. O.; SIQUEIRA, J. R.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S. Identificação de esteróides e triterpenos de *Alchornea gladiosa* (Euphorbiaceae) através de cromatografia gasosa. In: 55a. Jornada Farmaceutica da UNESP, 2008, Araraquara - Brasil.
8. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; FLAUSINO Jr., O.; YOUNG, M. C. M.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Potencial atividade antifúngica, anticolinesterásica e anti-HIV de taxifolina, isolada de *Casearia gossypiosperma*. In: 31a. Reuniao Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - Brasil.
9. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; GONCALVES, T. O.; RAGASINI, L. O.; FERREIRA, P. M. P.; LOTUFO, L. V.; do Ó PESSOA, C.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. New Clerodane diterpene from the twigs of *Casearia obliquoa* (Salicaceae). In: 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, 2008, Atenas – Grécia.
10. **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; CALEFFI, L.; CAVALHEIRO, A. J. Triterpenes and sterols profile in hexane extracts from *Casearia* species using gas chromatography. In: XXVII Annual Meeting on Micromolecular Evolution Systematics and Ecology, 2007, São Pedro - Brasil.

11. BOMFIM, G. C. C.; **VIEIRA JÚNIOR, G. M.**; SANTOS, A. G.; BANDEIRA, K. F.; CAVALHEIRO, A. J. Extraction methodology of *Casearia sylvestris* using response surface. In: 1st BRAZILIAN CONFERENCE ON NATURAL PRODUCTS, 2007, São Pedro – Brasil.

PARTICIPAÇÕES EM EVENTOS DURANTE O PERÍODO DE DOUTORADO

1. Future trends in phytochemistry in the global era of agri-food and health - YOUNG SCIENTISTS MEETING, 2009, Los Narejos – Espanha.
2. 2nd Brazilian Conference on Natural Products, 2009, São Pedro – Brasil
3. IV Workshop NuBBE, 2009, Araraquara – Brasil
4. 31a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - Brasil.
5. 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, GA, PSE & SIF, 2008, Atenas - Grecia.
6. III Workshop do NuBBE e VI Simpósio e VI Reunião da Avaliação do Programa Biota/Fapesp, 2008, Araraquara – Brasil.
7. 1st Brazilian conference on natural products, 2007, São Pedro – Brasil.

CO-ORIENTAÇÕES – INICIAÇÃO CIENTÍFICA

1. Tiago de Oliveira Gonçalves

"Estudo fitoquímico monitorado de *Casearia decandra* Jacq. (Salicaceae)"; Orientação: Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro; Financiamento: FAPESP.

2. Luiz Antônio Dutra

"Estudo fitoquímico biomonitorado de *Casearia lasiophylla* (Salicaceae)"; Orientação: Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro; Financiamento: FAPESP.

**Aos meus queridos pais, irmãos,
familiares e amigos, dedico.**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Alberto J. Cavalheiro, pela orientação.

Aos meus pais Gerardo Magela Vieira e Maria do Socorro Silva Vieira e meus irmãos Laécio Rodrigo Vieira de Melo, José Gustavo Vieira e Silva e Jéssica Vieira e Silva, pela compreensão e amor.

A todos os meus familiares, tios (as), primos (as), avós e agregados, por vocês existirem.

Aos alunos de iniciação científica Luana Caleffi, Tiago de Oliveira Gonçalves e Luiz Antônio Dutra pelas colaborações científicas e amizade.

A Dra. Roseli Buzanelli Torres, pela coleta e identificação do material botânico.

Ao Dr. Nivaldo Boralle pelos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes e ao técnico José Carlos Tomaz pelas análises de espectrometria de massas, discussões e amizade.

Ao Prof. Dr. André Gonzaga dos Santos pelas discussões e amizade.

Ao Dr. Alberto C. Alécio, pela colaboração e suporte técnico.

Ao Prof. Dr. Wagner Vilegas e ao MSc. Daniel Rinaldo, pela obtenção das curvas de dicroísmo circular e pela amizade.

A Dra. Luciana Polese pela amizade e auxílio laboratorial.

Aos amigos do laboratório NuBBE 2: Glenda, Fernando, Paulo, Gabriel, Phanuel, Fausto, Paula, Pollyana e Fernanda.

Aos amigos Fernando Malfará e Teresinha Baracat, pela amizade.

Aos professores Dr. Manuel Odorico de Moraes, Dra. Letícia Veras Lotufo, Dra. Cláudia do Ó Pessoa e MSc Paulo Michel P. Ferreira do Laboratório de Oncologia Experimental da UFC, pelos testes de citotoxicidade.

Aos colegas e amigos desse instituto, em especial para Luis Octávio, Gisele, Cláudio, Otávio, Marcos Marçal, Marcos Pivatto, Aline, José Renato, Hilris, Maicon, Vânia, Lisinéia, Camila, Juliano, Nicolas, Fernando Contiguiba, Silvia, Debora, Andreia, João Marcos, Luciana, Inara, Marcos Machado, Juliana Rodrigues, Juliana Severi, Marcelo, Viviane e Teresinha.

Ao CNPq, à CAPES e à FAPESP pelo apoio financeiro ao nosso grupo de pesquisa e ao Instituto de Química da UNESP.

Aos docentes, funcionários, alunos de pós-graduação e estagiários de iniciação científica do Departamento de Química Orgânica pelo companheirismo, bom convívio e troca de experiências.

Ao Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, NuBBE, Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química (UNESP-Araraquara).

**O valor das coisas não está no tempo que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem. Por isso
existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e
pessoas incomparáveis.**

Fernando Pessoa

RESUMO

Este trabalho relata o estudo dos constituintes químicos de quatro espécies do gênero *Casearia*, bem como a avaliação das atividades antioxidante, anticolinesterásica, antifúngica e citotóxica de extratos e substâncias isoladas. O estudo da constituição química de *C. gossypiosperma* resultou no isolamento de três substâncias do extrato etanólico das folhas, sendo dois flavonóides: (+)-taxifolina (**1**) e quercetina (**3**) e um novo ciclitol: *rel*-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-3,4,5-trihidroxi-2-etóxi-ciclohexanona (**2**). A partir do extrato hexânico das folhas de *C. obliqua* isolou-se quatro substâncias: o esteróide sitosterol (**4**) e três diterpenos clerodânicos: (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**) e 6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (**7**). Da fase etérea oriunda do extrato etanólico dos galhos foram isoladas cinco substâncias, sendo dois diterpenos clerodânicos inéditos: caseobliquina A (**8**) e caseobliquina B (**9**), um ácido fenólico simples: ácido cinâmico (**10**) e duas amidas: *N-trans-p*-cumaroiltiramina (**11**) e *N-trans-feruloiltiramina* (**12**). De *C. rupestris* foram isolados, a partir do extrato hexânico das folhas, quatro substâncias, sendo uma mistura de esteróide e diterpeno: sitosterol + *E*-fitol (**4+13**) e dois novos diterpenos clerodânicos, a casearupestrina B (**16**) e a casearupestrina D (**18**) e da fase hexânica do extrato EtOH das folhas foi isolado o diterpeno *E*-fitol (**13**). A partir da fase etérea também deste mesmo extrato foram isolados cinco diterpenos clerodânicos inéditos, as casearupestrinas A, B, C, D e G (**14-18**). A partir da casearupestrina A (**14**) e D (**18**) foram obtidos, por acetilação, mais dois diterpenos inéditos, as casearupestrinas E (**14a**) e F (**18a**), respectivamente. De *C. decandra* foi isolada a hidroquinona (**19**) a partir das fases hexânica, acetato de etila e hidroalcoólica, todas obtidas do extrato etanólico das folhas. As estruturas de todos os compostos isolados foram determinadas por métodos espectrométricos (RMN 1D e 2D, EMAR, IV, UV e DC). O perfil fitoquímico dos extratos hexânicos, obtido por CG-DIC, foi identificado o esteróide sitosterol (**4**) em todos os extratos analisados, também mais dois esteróides: estigmasterol (**20**) e campesterol (**21**) e três triterpenos: α - e β -amirina (**22-23**) e acetato de lupenila (**24**) em alguns extratos. A atividade anticolinesterásica apresentou resultados interessantes para os extratos etanólico e aquoso das folhas de *C. gossypiosperma*, sendo que a (+)-taxifolina (**1**), isolada em ambos os extratos apresentou percentual

de inibição da enzima acetilcolinesterase de 76%. A atividade antifúngica da casearupetrina A (**14**) foi positiva frente a *C. albicans* CIM de 1,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e também contra *C. krusei* e *C. neoformans* com valores de CIM de 3,90 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,48 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. A casearupetrina G (**15**) também apresentou potente atividade antifúngica frente as cepas de *C. krusei* (CIM 31,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. neoformans* (CIM 1,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$). As substâncias (+)-taxifolina (**1**) e hidroquinona (**19**) mostraram-se ativas frente as cepas dos fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*, nas concentrações de 100 e 5,0 $\mu\text{g 10}\mu\text{L}^{-1}$, respectivamente. As substâncias (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**), 6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (**7**), caseobliquina A (**8**), casearupetrinas A-G (**14-18**) e a hidroquinona (**19**) apresentaram atividade citotóxica bastante pronunciada. Em algumas linhagens de células tumorais (HCT-8, MDA-MB-435, SF-295), as substâncias (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**), casearupetrina A (**14**) e casearupetrina G (**15**) foram mais potentes que o controle positivo doxorrubicina.

Palavras-chave: *Casearia gossypiosperma*. *Casearia obliqua*. *Casearia rupestris*. *Casearia decandra*. Salicaceae. Diterpenos clerodânicos. Atividade citotóxica.

ABSTRACT

This work describes the study of the chemical constituents from four *Casearia* species, as well as the evaluation of antioxidant, anticholinesterasic, antifungal, and cytotoxic activities of extracts and the isolated chemical constituents. The study of the chemical constituents of *C. gossypiosperma* resulted in the isolation of three substances from ethanolic extract of the leaves, two flavonoids: (+)-taxifolin (**1**) and quercetin (**3**), and a new ciclitol: *rel*-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-3,4,5-trihydroxy-2-ethoxycyclohexanone (**2**). From hexane extract of the leaves from *C. obliqua* were isolated four substances, the steroid sitosterol (**4**) and three clerodane diterpenes: (*rel*)-6 β -hydroxyzuelanin-2 β -benzoate + (*rel*)-2 α -hydroxyzuelanin-6 β -benzoate (**5+6**) and 2 β -hydroxyzuelanin-6 β -cinnamate (**7**). From ether phase obtained of the ethanolic extract from twigs of *C. obliqua* were isolated five substances, two new clerodane diterpenes: caseobliquin A (**8**) and caseobliquin B (**9**), one phenolic acid: cinnamic acid (**10**) and two amides: *N-trans-p*-coumaroyltyramine (**11**) and *N-trans-feruloyl*tyramine (**12**). In *C. rupestris* four substances were isolated from hexane extract of leaves a mixture of a steroid and diterpene: sitosterol+*E*-phytol (**4+13**) and two new clerodane diterpenes: casearupestrin B (**16**) and casearupestrin D (**18**) and from hexane phase was isolated the diterpene *E*-phytol (**13**). Other five new clerodane diterpenes were isolated from ether phase obtained from ethanolic extract of leaves: casearupestrin A, B, C, D, and G (**14-18**). By acetylation, more two new clerodane diterpenes casearupestrin E (**14a**) and F (**18a**) were obtained from casearupestrin A (**14**) and D (**18**), respectively. From *C. decandra* was isolated the hydroquinon (**19**) of the hexane, ethyl acetate, and hydroalcoholic phases, every phases obtained from ethanolic extract of leaves. The structures of isolated compounds were determined by spectrometric methods (NMR 1D and 2D, HRMS, IR, UV, and CD). The phytochemical profile of the hexane extracts by GC-FID was identified the steroid sitosterol (**4**) in all extracts analyzed, also more two steroids: estigmasterol (**20**) and campesterol (**21**), and three triterpenes: α - and β -amirin (**22-23**), and lupeol acetate (**24**) in some extracts. The anticholinesterasic activity presented interesting results to ethanolic and water extracts from leaves of *C. gossypiosperma* resulting in the isolation of the (+)-taxifolin (**1**), isolated from both extracts, showed 76% of inhibition of the acetylcholinesterase enzyme. The

antifungal activity of casearupestrin A (**14**) was positive against *C. albicans* (MIC 1.95 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *C. krusei* (MIC 3.90 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and *C. neoformans* (MIC 0.48 $\mu\text{g mL}^{-1}$). The casearupestrin G (**15**) showed potent antifungal activity against *C. krusei* (MIC 31.25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and *C. neoformans* (MIC 1.95 $\mu\text{g mL}^{-1}$). The substances (+)-taxifolin (**1**) and hidroquinon (**19**) showed antifungal activity against the phytopathogens *C. cladosporioides* and *C. sphaerospermum*, in the concentrations of 100 e 5.0 $\mu\text{g 10}\mu\text{L}^{-1}$, respectively. The substances (*rel*)-6 β -hydroxyzuelanin-2 β -benzoate + (*rel*)-2 α -hydroxyzuelanin-6 β -benzoate (**5+6**), 2 β -hydroxyzuelanin-6 β -cinnamate (**7**), caseobliquin A (**8**), casearupestrins A-G (**14+18**), and hidroquinon (**19**) presented cytotoxic activity. The compounds (*rel*)-6 β -hydroxyzuelanin-2 β -benzoate + (*rel*)-2 α -hydroxyzuelanin-6 β -benzoate (**5+6**), casearupestrin A (**14**), and casearupestrin G (**15**) were most potent than positive control doxorubicin against some tumor cell lines (HCT-8, MDA-MB-435, SF-295).

Keywords: *Casearia gossypiosperma*. *Casearia obliqua*. *Casearia rupestris*. *Casearia decandra*. Salicaceae. Clerodane diterpenes. Cytotoxic activity.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 (a-c). Esqueleto básico dos diterpenos <i>cis</i> -clerodânicos com anel diacetálico (anel C) presentes em espécies de <i>Casearia</i> . Grupos substituintes: Tabela 1. As configurações apresentadas são relativas, exceto para os diterpenos relacionados nas informações adicionais da Tabela 1.....	6
Figura 2 (a-d). Esqueleto básico dos diterpenos <i>cis</i> -clerodânicos com anel diacetálico (anel C) presentes em espécies de <i>Casearia</i> . Grupos substituintes: Tabela 1. As configurações apresentadas são relativas.....	7
Figura 3. Artefatos originados a partir da degradação ou abertura do anel tetraidrofurânico diacetálico (C) de diterpenos clerodânicos isolados de <i>Casearia</i> , possivelmente devido ao uso de CDCl ₃ como solvente nos experimentos de RMN. Os autores consideraram tais substâncias como metabólitos secundários inéditos!.....	7
Figura 4. Diterpenos clerodânicos sem o anel diacetálico: (a) 15-hidroxi-3-cleroden-2-ona, (b) (-)-ácido hardwickiico - isolados de <i>C. sylvestris</i> (SANTOS et al., 2007) e (c), (d) – isolados de <i>C. corymbosa</i> (KHAN et al., 1990b).....	8
Figura 5. Diterpenos clerodânicos sem o anel diacetálico: isolados de <i>C. sylvestris</i> (Wang et al., 2009d).....	9
Figura 6. Diterpenos clerodânicos sem o anel diacetálico: isolados de <i>C. sylvestris</i> (Wang et al., 2009b).....	10
Figura 7. Cromatograma analítico (CLAE-DAD) em coluna C-18 da fração CoFI-F8.....	43
Figura 8. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CoFI-F8, H ₂ O/MeOH (22:78), 254 nm, 14 mL/min.....	43
Figura 9. Cromatogramas analíticos (CLAE-DAD) em coluna C-18 das frações CoGII-E50 e CoGII-E73.....	47
Figura 10. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CoGII-E50, H ₂ O:HOAc:MeOH (15:0,01:85), 254 nm, 15 mL/min.....	47

Figura 11. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CoGII-E73, H ₂ O:HOAc:MeOH (33:0,01:67), 254 nm, 11 mL/min.....	48
Figura 12. Cromatograma analítico (CLAE-DAD) em coluna C-18 da fração CrFI-F10.....	49
Figura 13. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CrFI-F10, H ₂ O:MeOH (21:79), 280 nm, 12 mL/min.....	50
Figura 14. Cromatograma (GC-FID) da mistura de padrões de triterpenos e esteróides, obtido em coluna SPB-50.....	58
Figura 15. Cromatogramas (GC-FID) dos extratos hexânicos de <i>C. gossypiosperma</i> , em coluna SPB-50.....	59
Figura 16. Cromatogramas (CG-FID) dos extratos hexânicos de <i>C. obliqua</i> , em coluna SPB-50.....	59
Figura 17. Cromatogramas (CG-FID) dos extratos hexânicos de <i>C. decandra</i> , em coluna SPB-50.....	60
Figura 18. Cromatogramas (CG-FID) dos extratos hexânicos de <i>C. rupestris</i> , em coluna SPB-50.....	60
Figura 19. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (¹ H- ¹ H) e gHMBC (¹ H→ ¹³ C) para 1	73
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H de 1 (500 MHz, DMSO-d ₆ + D ₂ O).....	75
Figura 21. Espectro de RMN ¹ H de 1 (500 MHz, DMSO-d ₆).....	75
Figura 22. Espectro de RMN ¹³ C de 1 (125 MHz, DMSO-d ₆).....	76
Figura 23. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 2D (¹ H↔ ¹ H) e correlações no TOCSY 1D (¹ H- ¹ H) para 2	78
Figura 24. Espectro de absorção na região do IV de 2 (KBr).....	80
Figura 25. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 2	80
Figura 26. Espectro de RMN ¹ H de 2 (500 MHz, CD ₃ OD).....	81
Figura 27. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 2 (500 MHz, CD ₃ OD)...	82
Figura 28. Expansões do espectro TOCSY 1D de 2 (500 MHz, CD ₃ OD)...	83
Figura 29. Espectro de RMN ¹³ C de 2 (125 MHz, CD ₃ OD).....	84
Figura 30. Espectro de RMN DEPT 135° de 2 (125 MHz, CD ₃ OD).....	84
Figura 31. Expansões do mapa de contornos gCOSY de 2 (500 MHz, CD ₃ OD).....	85
Figura 32. Mapa de contornos gHMQC de 2 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	86

Figura 33. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 2 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	87
Figura 34. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 2 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	88
Figura 35. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 2 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	89
Figura 36. Mapa de contornos NOESY 2D de 2 (500 MHz, CD ₃ OD).....	90
Figura 37. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de 2 (500 MHz, CD ₃ OD).....	91
Figura 38. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de 2 (500 MHz, CD ₃ OD).....	92
Figura 39. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> COSY (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 3	93
Figura 40. Espectro de RMN ¹ H de 3 (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	95
Figura 41. Espectro de RMN ¹³ C de 3 (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆).....	95
Figura 42. Espectro de RMN ¹ H de 4 (500 MHz, CDCl ₃).....	99
Figura 43. Espectro de RMN ¹³ C de 4 (125 MHz, CDCl ₃).....	99
Figura 44. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> COSY (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 8	103
Figura 45. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (¹ H↔ ¹ H) para 8	104
Figura 46. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 8	108
Figura 47. Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de 8 ...	108
Figura 48. Espectro de absorção no UV de 8	109
Figura 49. Espectro de absorção na região do IV de 8 (KBr).....	109
Figura 50. Espectro de RMN ¹ H de 8 (500 MHz, CD ₃ OD).....	110
Figura 51. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 8 (500 MHz, CD ₃ OD)...	111
Figura 52. Espectro de RMN ¹³ C de 8 (125 MHz, CD ₃ OD).....	112
Figura 53. Expansões do espectro de RMN ¹³ C de 8 (125 MHz, CD ₃ OD).	113
Figura 54. Espectro de RMN DEPT 90° de 8 (125 MHz, CD ₃ OD).....	114
Figura 55. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	115
Figura 56. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	116

Figura 57. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	117
Figura 58. Mapa de contornos <i>g</i> COSY de 8 (500 MHz, CD ₃ OD).....	118
Figura 59. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 8 (500 MHz, CD ₃ OD).....	119
Figura 60. Expansão do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 8 (500 MHz, CD ₃ OD).....	120
Figura 61. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	121
Figura 62. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	122
Figura 63. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	123
Figura 64. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 8 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	124
Figura 65. Espectros NOESY 1D de 8 (500 MHz, CD ₃ OD).....	125
Figura 66. Espectros NOESY 1D de 8 (500 MHz, CD ₃ OD).....	126
Figura 67. Espectro de dicroísmo circular de 8 (0,03 mg/mL em MeOH; c = 10 mm).....	127
Figura 68. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> COSY (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 5+6	130
Figura 69. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de (5+6).....	134
Figura 70. Espectro de RMN ¹ H de 5+6 (500 MHz, CDCl ₃).....	135
Figura 71. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 5+6 (500 MHz, CDCl ₃). ..	136
Figura 72. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 5+6 (500 MHz, CDCl ₃). ..	137
Figura 73. Espectro de RMN ¹³ C de 5+6 (125 MHz, CDCl ₃).....	138
Figura 74. Expansões do espectro de RMN ¹³ C de 5+6 (125 MHz, CDCl ₃).....	139
Figura 75. Principais correlações observadas pelos experimentos TOCSY 2D (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 7	141
Figura 76. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 7	145
Figura 77. Espectro de RMN ¹ H de 7 (500 MHz, CDCl ₃).....	146
Figura 78. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 7 (500 MHz, CDCl ₃).....	147

Figura 79. Expansões do espectro de RMN ^1H de 7 (500 MHz, CDCl_3).....	148
Figura 80. Espectro de RMN ^{13}C de 7 (125 MHz, CDCl_3).....	149
Figura 81. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de 7 (125 MHz, CDCl_3)...	150
Figura 82. Espectro de dicroísmo circular de 7 (0,03 mg/mL em MeOH; c = 10 mm).....	151
Figura 83. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC (^1H → ^{13}C) para 9	152
Figura 84. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 2D (^1H ↔ ^1H) para 9	153
Figura 85. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 9	156
Figura 86. Espectro de RMN ^1H de 9 (500 MHz, CD_3OD).....	157
Figura 87. Expansões do espectro de RMN ^1H de 9 (500 MHz, CD_3OD)...	158
Figura 88. Mapa de contornos TOCSY 2D de 9 (500 MHz, CD_3OD).....	159
Figura 89. Expansões do mapa de contornos TOCSY 2D de 9 (500 MHz, CD_3OD).....	160
Figura 90. Expansões do mapa de contornos TOCSY 2D de 9 (500 MHz, CD_3OD).....	161
Figura 91. Mapa de contornos gHMQC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	162
Figura 92. Expansão do mapa de contornos gHMQC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	163
Figura 93. Expansões do mapa de contornos gHMQC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	164
Figura 94. Mapa de contornos gHMBC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	165
Figura 95. Expansão do mapa de contornos gHMBC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	166
Figura 96. Expansões do mapa de contornos gHMBC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	167
Figura 97. Expansões do mapa de contornos gHMBC de 9 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	168
Figura 98. Mapa de contornos NOESY 2D de 9 (500 MHz, CD_3OD).....	169
Figura 99. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de 9 (500 MHz, CD_3OD).....	170

Figura 100. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de 9 (500 MHz, CD ₃ OD).....	171
Figura 101. Espectro de RMN ¹ H de 10 (500 MHz, CD ₃ OD).....	173
Figura 102. Espectro de RMN ¹³ C de 10 (125 MHz, CD ₃ OD).....	173
Figura 103. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (¹ H- ¹ H) e gHMBC (¹ H→ ¹³ C) para 11	175
Figura 104. Espectro de RMN ¹ H de 11 (500 MHz, CD ₃ OD).....	177
Figura 105. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 11 (500 MHz, CD ₃ OD).....	178
Figura 106. Espectro de RMN ¹³ C de 104 (125 MHz, CD ₃ OD).....	179
Figura 107. Expansão do espectro de RMN ¹³ C de 11 (125 MHz, CD ₃ OD).....	180
Figura 108. Expansão do mapa de contornos gHMBC de 11 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	180
Figura 109. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (¹ H- ¹ H) e gHMBC (¹ H→ ¹³ C) para 12	181
Figura 110. Espectro de RMN ¹ H de 12 (500 MHz, CD ₃ OD).....	183
Figura 111. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 12 (500 MHz, CD ₃ OD).....	184
Figura 112. Espectro de RMN ¹³ C de 12 (125 MHz, CD ₃ OD).....	185
Figura 113. Espectro de RMN ¹ H de 13 (500 MHz, CDCl ₃).....	189
Figura 114. Espectro de RMN ¹³ C de 13 (125 MHz, CDCl ₃).....	190
Figura 115. Espectro de RMN DEPT 135° de 13 (125 MHz, CDCl ₃).....	190
Figura 116. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (¹ H- ¹ H) e gHMBC (¹ H→ ¹³ C) para 14	193
Figura 117. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (¹ H↔ ¹ H) para 14	194
Figura 118. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 14	197
Figura 119. Espectro de absorção no UV de 14	197
Figura 120. Espectro de absorção na região do IV de 14 (KBr).....	197
Figura 121. Espectro de RMN ¹ H de 14 (500 MHz, CD ₃ OD).....	198
Figura 122. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 14 (500 MHz, CD ₃ OD).....	199

Figura 123. Espectro de RMN ^{13}C de 14 (125 MHz, CD_3OD).....	200
Figura 124. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de 14 (125 MHz, CD_3OD).....	201
Figura 125. Espectro de RMN DEPT 135° de 14 (125 MHz, CD_3OD).....	202
Figura 126. Mapa de contornos $g\text{COSY}$ de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	203
Figura 127. Expansões do mapa de contornos $g\text{COSY}$ de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	204
Figura 128. Expansões do mapa de contornos $g\text{COSY}$ de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	205
Figura 129. Expansão do mapa de contornos $g\text{COSY}$ de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	206
Figura 130. Mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD). ..	207
Figura 131. Expansões do mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	208
Figura 132. Expansões do mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	209
Figura 133. Expansões do mapa de contornos $g\text{HMQC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	210
Figura 134. Mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD). ..	211
Figura 135. Expansões do mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	212
Figura 136. Expansões do mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	213
Figura 137. Expansão do mapa de contornos $g\text{HMBC}$ de 14 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	214
Figura 138. Espectro NOESY 1D de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	214
Figura 139. Espectros NOESY 1D de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	215
Figura 140. Espectros NOESY 1D de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	216
Figura 141. Espectros NOESY 1D de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	217
Figura 142. Espectros NOESY 1D de 14 (500 MHz, CD_3OD).....	218
Figura 143. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 14a	218
Figura 144. Espectro de RMN ^1H de 14a (300 MHz, CD_3OD).....	219

Figura 145. Expansões do espectro de RMN ^1H de 14a (300 MHz, CD_3OD).....	220
Figura 146. Espectro de RMN ^{13}C de 14a (75 MHz, CD_3OD).....	221
Figura 147. Espectro de RMN DEPT 135° de 14a (75 MHz, CD_3OD).....	222
Figura 148. Mapa de contornos HETCOR de 14a (300 e 75 MHz, CD_3OD).....	223
Figura 149. Expansões do mapa de contornos HETCOR de 14a (300 e 75 MHz, CD_3OD).....	224
Figura 150. Expansões do mapa de contornos HETCOR de 14a (300 e 75 MHz, CD_3OD).....	225
Figura 151. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para 16	227
Figura 152. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para 16	227
Figura 153. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 16 .	229
Figura 154. Espectro de absorção no UV de 16	229
Figura 155. Espectro de absorção na região do IV de 16 (KBr).....	229
Figura 156. Espectro de RMN ^1H de 16 (500 MHz, CD_3OD).....	230
Figura 157. Expansões do espectro de RMN ^1H de 16 (500 MHz, CD_3OD).....	231
Figura 158. Espectro de RMN ^{13}C de 16 (125 MHz, CD_3OD).....	232
Figura 159. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de 16 (125 MHz, CD_3OD).....	233
Figura 160. Espectro de RMN DEPT 135° de 16 (125 MHz, CD_3OD).....	233
Figura 161. Mapa de contornos gCOSY de 16 (500 MHz, CD_3OD).....	234
Figura 162. Expansões do mapa de contornos gCOSY de 16 (500 MHz, CD_3OD).....	235
Figura 163. Expansão do mapa de contornos gCOSY de 16 (500 MHz, CD_3OD).....	236
Figura 164. Mapa de contornos gHMQC de 16 (500 e 125 MHz, CD_3OD).	237
Figura 165. Expansões do mapa de contornos gHMQC de 16 (500 e 125 MHz, CD_3OD).....	238

Figura 166. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 16 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	239
Figura 167. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 16 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	240
Figura 168. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 16 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	241
Figura 169. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 16 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	242
Figura 170. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 16 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	243
Figura 171. Espectros NOESY 1D de 16 (500 MHz, CD ₃ OD).....	244
Figura 172. Espectros NOESY 1D de 16 (500 MHz, CD ₃ OD).....	245
Figura 173. Espectros NOESY 1D de 16 (500 MHz, CD ₃ OD).....	246
Figura 174. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> COSY (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 17	248
Figura 175. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (¹ H↔ ¹ H) para 17	248
Figura 176. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 17 .	250
Figura 177. Espectro de absorção na região do IV de 17 (KBr).....	250
Figura 178. Espectro de RMN ¹ H de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	251
Figura 179. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	252
Figura 180. Espectro de RMN ¹³ C de 17 (125 MHz, CD ₃ OD).....	253
Figura 181. Expansões do espectro de RMN ¹³ C de 17 (125 MHz, CD ₃ OD).....	254
Figura 182. Mapa de contornos <i>g</i> COSY de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	255
Figura 183. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	256
Figura 184. Expansão do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	257
Figura 185. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	258
Figura 186. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	259

Figura 187. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	260
Figura 188. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	261
Figura 189. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	262
Figura 190. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	263
Figura 191. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	264
Figura 192. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	265
Figura 193. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 17 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	266
Figura 194. Espectros NOESY 1D de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	267
Figura 195. Espectros NOESY 1D de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	268
Figura 196. Espectros NOESY 1D de 17 (500 MHz, CD ₃ OD).....	269
Figura 197. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> COSY (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 18	271
Figura 198. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (¹ H↔ ¹ H) para 18	271
Figura 199. Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de 18	274
Figura 200. Espectro de absorção no UV de 18	274
Figura 201. Espectro de absorção na região do IV de 18 (KBr).....	274
Figura 202. Espectro de RMN ¹ H de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	275
Figura 203. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	276
Figura 204. Espectro de RMN ¹³ C de 18 (125 MHz, CD ₃ OD).....	277
Figura 205. Espectro de RMN DEPT 135° de 18 (125 MHz, CD ₃ OD).....	278
Figura 206. Mapa de contornos <i>g</i> COSY de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	279
Figura 207. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	280

Figura 208. Expansão do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	281
Figura 209. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	282
Figura 210. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	283
Figura 211. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	284
Figura 212. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	285
Figura 213. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	286
Figura 214. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	287
Figura 215. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	288
Figura 216. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	289
Figura 217. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 18 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	290
Figura 218. Espectros NOESY 1D de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	291
Figura 219. Espectros NOESY 1D de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	292
Figura 220. Espectros NOESY 1D de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	293
Figura 221. Espectros NOESY 1D de 18 (500 MHz, CD ₃ OD).....	294
Figura 222. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 18a	295
Figura 223. Espectro de RMN ¹ H de 18a (300 MHz, CD ₃ OD).....	296
Figura 224. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 18a (500 MHz, CD ₃ OD).....	297
Figura 225. Espectro de RMN ¹³ C de 18a (75 MHz, CD ₃ OD).....	298
Figura 226. Expansões do espectro de RMN ¹³ C de 18a (75 MHz, CD ₃ OD).....	299
Figura 227. Expansões do mapa de contornos HETCOR de 18a (300 e 75 MHz, CD ₃ OD).....	300

Figura 228. Expansão do mapa de contornos HETCOR de 18a (300 e 75 MHz, CD ₃ OD).....	301
Figura 229. Principais correlações observadas pelos experimentos <i>g</i> COSY (¹ H- ¹ H) e <i>g</i> HMBC (¹ H→ ¹³ C) para 15	303
Figura 230. Espectro de absorção no UV de 15	305
Figura 231. Espectro de absorção na região do IV de 15 (KBr).....	305
Figura 232. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 15 .	305
Figura 233. Espectro de RMN ¹ H de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	306
Figura 234. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	307
Figura 235. Expansões do espectro de RMN ¹ H de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	308
Figura 236. Espectro de RMN ¹³ C de 15 (125 MHz, CD ₃ OD).....	309
Figura 237. Expansões do espectro de RMN ¹³ C de 15 (125 MHz, CD ₃ OD).....	310
Figura 238. Espectro de RMN DEPT 135° de 15 (125 MHz, CD ₃ OD).....	311
Figura 239. Mapa de contornos <i>g</i> COSY de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	311
Figura 240. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	312
Figura 241. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> COSY de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	313
Figura 242. Mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	314
Figura 243. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	315
Figura 244. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	316
Figura 245. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMQC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	317
Figura 246. Mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).	318
Figura 247. Expansões do mapa de contornos <i>g</i> HMBC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	319

Figura 248. Expansões do mapa de contornos gHMBC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	320
Figura 249. Expansões do mapa de contornos gHMBC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	321
Figura 250. Expansões do mapa de contornos gHMBC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	322
Figura 251. Expansões do mapa de contornos gHMBC de 15 (500 e 125 MHz, CD ₃ OD).....	323
Figura 252. Espectros NOESY 1D de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	323
Figura 253. Espectros NOESY 1D de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	324
Figura 254. Espectros NOESY 1D de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	325
Figura 255. Espectros NOESY 1D de 15 (500 MHz, CD ₃ OD).....	326
Figura 256. Espectro de absorção de 19 , na região do IV (sólido).....	329
Figura 257. Espectro de RMN ¹ H de 19 (500 MHz, DMSO-d ₆).....	329
Figura 258. Espectro de RMN de ¹³ C de 19 (125 MHz, DMSO-d ₆).....	329
Figura 258. Atividade antioxidante do extrato EtOH e partições dos galhos de <i>Casearia decandra</i>	332
Figura 259. Atividade antioxidante do extrato EtOH e partições das folhas de <i>Casearia decandra</i>	333
Figura 260. Atividade antioxidante da hidroquinona obtida folhas de <i>C. decandra</i>	334
Figura 261. Ensaio de bioautografia frente à enzima acetilcolinesterase (G = galantamina) de extratos e substâncias isoladas.....	335
Figura 262. Ensaio de bioautografia frente aos fungos <i>C. cladosporioides</i> e <i>C. sphaerospermum</i>	340
Figura 263. Ensaio de bioautografia frente aos fungos <i>C. cladosporioides</i> e <i>C. sphaerospermum</i>	342
Figura 264. Ensaio de bioautografia frente aos fungos <i>C. cladosporioides</i> e <i>C. sphaerospermum</i>	343

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Diterpenos clerodânicos isolados de espécies do gênero <i>Casearia</i>	11
TABELA 2. Dados de RMN ^{13}C de diterpenos clerodânicos já isolados de espécies de <i>Casearia</i>	17
TABELA 3. Dados das coletas.....	38
TABELA 4. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 1 , incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos <i>g</i> HMQC e <i>g</i> HMBC, em DMSO. Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (<i>J</i> , entre parênteses) em Hz.....	74
TABELA 5. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 2 , incluindo resultados de mapas de contornos de correlação (<i>g</i> COSY, <i>g</i> HMQC e <i>g</i> HMBC) e interação (NOESY 2D), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	79
TABELA 6. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 3 , incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos <i>g</i> HMQC e <i>g</i> HMBC, em DMSO-d_6 . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (<i>J</i> , entre parênteses) em Hz.....	94
TABELA 7. Dados de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância 4	98
TABELA 8. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 8 , incluindo resultados de mapas de contornos (<i>g</i> COSY e <i>g</i> HMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	106
TABELA 9. Correlações observadas no mapa de contornos <i>g</i> HMBC e interações do espectro NOESY 1D de 8 , em CD_3OD	107
TABELA 10. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) das substâncias 5+6 , incluindo resultados do mapa de contornos <i>g</i> HMQC, em CDCl_3 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	131
TABELA 11. Correlações observadas nos mapas de contornos <i>g</i> HMBC e interações no mapa de contornos NOESY 2D de 5 e 6 , em CDCl_3	133

TABELA 12. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 7 , incluindo resultados de mapas de contornos de correlação (<i>g</i> HMQC e <i>g</i> HMBC), em CDCl_3 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	142
TABELA 13. Correlações observadas nos mapas de contornos TOCSY 2D e interações no NOESY 2D de 7 , em CDCl_3	144
TABELA 14. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) de 9 , incluindo resultados de mapa de contornos (<i>g</i> HMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	154
TABELA 15. Correlações observadas nos mapas de contornos <i>g</i> HMBC e <i>g</i> COSY e interações no mapa de contornos NOESY 2D de 9 , em CD_3OD	155
TABELA 16. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 10 , incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos <i>g</i> COSY e <i>g</i> HMBC, em CD_3OD^a	172
TABELA 17. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 11 , incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos, <i>g</i> HMQC e <i>g</i> HMBC, em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (<i>J</i> , entre parênteses) em Hz.....	176
TABELA 18. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 12 , incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos, <i>g</i> HMQC e <i>g</i> HMBC, em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (<i>J</i> , entre parênteses) em Hz.....	182
TABELA 19. Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância 13 ..	188
TABELA 20. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 14 , incluindo resultados de mapas de contornos (<i>g</i> HMBC e <i>g</i> HMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	195
TABELA 21. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 14a , incluindo resultados de mapa de contornos (HETCOR), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	196

TABELA 22. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 16 , incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	228
TABELA 23. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 17 , incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	249
TABELA 24. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 18 , incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	272
TABELA 25. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância 18a , incluindo resultados de mapa de contornos (HETCOR), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	273
TABELA 26. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância 15 , incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).....	304
TABELA 27. Triterpenos e esteróides identificados nos extratos hexânicos de espécies de <i>Casearia</i> , através de GC-FID.....	331
TABELA 28. Atividade anticolinesterásica (bioautografia) dos extratos hexânicos, EtOH e aquosos de folhas e galhos de espécies de <i>Casearia</i> ..	336
TABELA 29. Atividade antifúngica ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos hexânicos, EtOH e aquosos de folhas e galhos de <i>C. gossypiosperma</i> e <i>C. rupestris</i> .	338
TABELA 30. Atividade antifúngica ($\mu\text{g/mL}$) das substâncias 14-18 isoladas das folhas de <i>C. rupestris</i>	339
TABELA 31. Atividade antifúngica ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos hexânicos, EtOH e aquosos de folhas e galhos de espécies de <i>Casearia</i>	341
TABELA 32. Atividade antifúngica ($\mu\text{g } 10\mu\text{L}^{-1}$) de 1 isolado das folhas de <i>C. gossypiosperma</i>	342

TABELA 33. Percentual de inibição do crescimento celular (IC %) das amostras de <i>Casearia</i> em três linhagens tumorais testadas em dose única. Valores correspondem à média \pm DPM.....	344
TABELA 34. Atividade citotóxica de CoGII, CoFII e CoFI e suas respectivas CI_{50} ($\mu\text{g. mL}^{-1}$) frente a linhagens de células tumorais.....	344
TABELA 35. Atividade citotóxica de 5+6 , 7 e 8 isolados de <i>C. obliqua</i> frente a linhagens de células tumorais ^a	345
TABELA 36. Atividade citotóxica de 14-18 isolados de <i>C. rupestris</i> , dos derivados 14a e 18a , e de 19 isolado de <i>C. decandra</i> frente a linhagens de células tumorais ^a	346

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1. Rendimento dos extratos obtidos em hexano, EtOH e água.....	39
Quadro 2. Valores de CI_{50} da substância 19 e padrões frente ao ensaio do DPPH.....	334

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
Esquema 1. Fracionamento do extrato EtOH (CgFII) das folhas de <i>C. gossypiosperma</i>	40
Esquema 2. Fracionamento do extrato EtOH (CgFII) das folhas de <i>C. gossypiosperma</i>	41
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico (CoFI) das folhas de <i>C. obliqua</i>	42
Esquema 4. Fluxograma da partição do extrato EtOH (CoGII) dos galhos de <i>C. obliqua</i>	44
Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fase etérea (CoGII-FE) dos galhos de <i>C. obliqua</i>	46
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico (CrFI) das folhas de <i>C. rupestris</i>	49
Esquema 7. Fluxograma da partição do extrato EtOH (CrFII) das folhas de <i>C. rupestris</i>	51
Esquema 8. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica (CrFII-FH) das folhas de <i>C. rupestris</i>	52
Esquema 9. Fracionamento cromatográfico da fase etérea (CrFII-FE) das folhas de <i>C. rupestris</i>	54
Esquema 10. Fluxograma da partição do extrato EtOH (CdFII) das folhas de <i>C. decandra</i>	55
Esquema 11. Fracionamento cromatográfico das fases hexânica, AcOEt e hidroalcoólica das folhas de <i>C. decandra</i>	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt - acetato de etila

APG - *Angiosperm Phylogeny Group*

CC - cromatografia em coluna

CCDC - cromatografia em camada delgada comparativa

DC – Dicroísmo circular

CG - cromatografia gasosa

Cl₅₀ – concentração inibitória média

CIM – concentração inibitória mínima

CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência

CLAE-DAD - cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos

CLAEprep - cromatografia líquida de alta eficiência preparativa

CLAE-UV - cromatografia líquida de alta eficiência com detector no UV/Vis

COSY – *Correlated Spectroscopy*

d - duplete

dd – duplo duplete

DEPT – *Distortionless Enhancement Polarization Transfer*

d.i. - diâmetro interno

dl - duplete largo

DMSO - dimetilsulfóxido

DMSO-d₆ - dimetilsulfóxido deuterado

dt – duplo tripleto

EFS - extração em fase sólida

EM - espectrometria de massas

EtOH - etanol

HMBC - *Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*

HMQC - *Heteronuclear Multiple Quantum Coherence*

HRTOF-ESIMS - *High Resolution Time-of-Flight Electrospray Ionisation Mass Spectrometry*

IV - infravermelho

J - constante de acoplamento
m - multiplete
Me - metila
MeOH - metanol
NOESY - *Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*
 m/z - relação massa/carga
OAc - acetato
OMe - metoxila
P.A. - para análise
ppm – partes por milhão
RMN - ressonância magnética nuclear
s - simpleto
sl - simpleto largo
t - tripleto
TIC - *total ion chromatogram*
 t_R - tempo de retenção
TOCSY – *Total Correlation Spectroscopy*
UFC – unidade formadora de colônia
UV - ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

$[\alpha]_D$ – rotação óptica específica, raia D de Na

δ - deslocamento químico

ϵ - absortividade molar

$\lambda_{\text{máx}}$ - comprimento de onda com absorção máxima no ultravioleta

$\nu_{\text{máx}}$ – frequência de um máximo de absorção

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Família Salicaceae.....	1
1.2. Gênero <i>Casearia</i>	2
1.2.1. Metabólitos secundários e atividades biológicas do gênero <i>Casearia</i>	2
1.2.2. Descrição das espécies estudadas.....	3
1.2.3. Compilação dos dados de RMN de ¹³ C de diterpenos clerodânicos no gênero <i>Casearia</i>	5
2. OBJETIVOS	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1. Solventes e equipamentos.....	34
3.2. Cromatografia em camada delgada.....	34
3.3. Cromatografia em coluna.....	34
3.4. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	35
3.5. Preparo das amostras para análise via CLAE (<i>Clean-up</i>).....	35
3.6. Espectroscopia de absorção no UV e IV.....	36
3.7. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	36
3.8. Espectrometria de massas.....	36
3.9. Polarímetro e espectrômetro de dicroísmo circular.....	37
4. EXPERIMENTAL	37
4.1. Coleta e preparação de extratos.....	37
4.2. Partição e fracionamento do extrato EtOH de <i>Casearia gossypiosmerma</i> (CgFII).....	39
4.3. Fracionamento do extrato aquoso de <i>Casearia gossypiosmerma</i> (CgFIII).....	42
4.4. Fracionamento do extrato hexânico de <i>Casearia obliqua</i> (CoFI).....	42
4.5. Partição do extrato EtOH de <i>Casearia obliqua</i> (CoFII).....	44
4.6. Fracionamento da fase etérea do extrato EtOH de <i>Casearia obliqua</i> (CoFII-FE).....	45

4.7. Fracionamento do extrato hexânico das folhas de <i>Casearia rupestris</i> (CrFI).....	48
4.8. Partição do extrato EtOH de folhas de <i>Casearia rupestris</i> (CrFII).....	50
4.9. Fracionamento da fase hexânica do extrato EtOH de folhas de <i>Casearia rupestris</i> (CrFI-FH).....	51
4.10. Fracionamento da fase etérea do extrato EtOH de folhas de <i>Casearia rupestris</i> (CrFII-FE).....	52
4.11. Acetilação de 14 e 18	55
4.12. Partição do extrato EtOH de folhas de <i>Casearia decandra</i> (CdFII)....	55
4.13. Fracionamento das fases hexânica (CdFII-FH), AcOEt (CdFII -FA) e hidroalcoólica (CdFII -FHA) do extrato EtOH de folhas de <i>Casearia decandra</i>	56
4.14. Perfil cromatográfico em GC-FID dos extratos hexânicos de <i>Casearia</i> spp.....	57
4.15. Metodologia para bioensaios.....	61
4.15.1. Metodologia para avaliação de atividade antioxidante.....	61
4.15.2. Metodologia para avaliação de atividade anticolinesterásica.....	62
4.15.3. Metodologia para avaliação de atividade antifúngica.....	62
4.15.4. Metodologia para avaliação de atividade citotóxica.....	63
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1. Substâncias isoladas.....	65
5.2. <i>Casearia gossypiosperma</i> Briquet	71
5.2.1.(+)-Taxifolina (1).....	72
5.2.2. <i>rel</i> -(2 <i>R</i> , 3 <i>S</i> , 4 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-3,4,5-Triidroxi-2-etóxi-ciclohexanona (2).....	76
5.2.3. Quercetina (3).....	93
5.3. <i>Casearia obliqua</i> Sprengel	96
5.3.1. Sitosterol (4).....	97
5.3.2. Caseobliquina A (8).....	100
5.3.3. (<i>rel</i>)-2 <i>β</i> -benzoato-6 <i>β</i> -hidroxizuelanina + (<i>rel</i>)-6 <i>β</i> -benzoato-2 <i>α</i> -hidroxizuelanina (5+6), 6 <i>β</i> -cinamato-2 <i>β</i> -hidroxizuelanina (7) e caseobliquina B (9).....	128

5.3.4. (<i>rel</i>)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (<i>rel</i>)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (5+6).....	128
5.3.5. 6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (7).....	140
5.3.6. Caseobliquina B (9).....	151
5.3.7. Ácido Cinâmico (10).....	172
5.3.8. N- <i>trans</i> -p-Cumaroiltiramina (11).....	174
5.3.9. N- <i>trans</i> -Feruloiltiramina (12).....	181
5.4. Casearia rupestris Eichler	186
5.4.1. E-Fitol (13).....	187
5.4.2. Casearupestrina A (14) e Casearupestrina E (14a).....	191
5.4.3. Casearupestrinas B-D (16-18), Casearupestrina F (18a) e Casearupestrina G (15).....	226
5.4.4. Casearupestrina B (16).....	226
5.4.5. Casearupestrina C (17).....	247
5.4.6. Casearupestrina D (18) e Casearupestrina F (18a).....	270
5.4.7. Casearupestrina G (15).....	302
5.5. Casearia decandra Jacquin	327
5.5.1. Hidroquinona (19).....	328
5.6. Perfil fitoquímico dos extratos hexânicos em CG-FID	330
5.7. Considerações sobre os bioensaios realizados com extratos e substâncias isoladas das espécies de Casearia	332
5.7.1. Avaliação da atividade antioxidante.....	332
5.7.2. Avaliação da atividade anticolinesterásica.....	334
5.7.3. Avaliação da atividade antifúngica.....	336
5.7.4. Avaliação da atividade citotóxica.....	343
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	347
7. DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E DERIVADOS	350
REFERÊNCIAS	355

1. INTRODUÇÃO

1.1. Família Salicaceae

Chase e colaboradores (2002) propõem a extinção da família Flacourtiaceae, com a distribuição de suas espécies em duas famílias: (i) Salicaceae (Homalieae, Scolopieae, Prockieae, Abatieae, Flacourtieae, Samydeae e Bembicieae, mais a tribo Saliceae) e (ii) Achariaceae (Erythrospermeae, Lindackerieae e Pangieae, mais a tribo Acharieae) e a tribo Berberidopsideae tornou-se uma família à parte, de acordo com a atualização taxonômica feita pelo Grupo de Filogenia de Angiospermas (*Angiosperm Phylogeny Group* – APG) para as ordens e famílias de Angiospermas em 2003 – APG II. Desta forma, através de análises filogenéticas baseadas na sequência dos genes *rbcL*, *atpB* e 18S rDNA propôs-se a inclusão do gênero *Casearia* (Flacourtiaceae) na família Salicaceae. (CHASE et al., 2002; The Angiosperm Phylogeny Group, 2003).

A família Salicaceae possui cerca de 50 gêneros e 1.000 espécies. Esta família, pertencente a ordem das Malpighiales, apresenta grande distribuição nas áreas tropicais e subtropicais. Do ponto de vista etnobotânico, merece destaque o uso medicinal de plantas dos gêneros *Casearia* e *Salix*, que juntamente com o gênero *Populus*, apresentam também utilização como árvores ornamentais. A maioria dos gêneros de Salicaceae que ocorrem no Brasil são formados por poucas espécies e possuem distribuição restrita, à exceção de *Casearia* e *Xylosma* e, em menor escala, *Banara*, *Ryania*, *Prockia* e *Laetia* (LORENZI, 2002), encontradas nos diferentes ecossistemas, desde o Amazonas até o Rio Grande do Sul, com grande capacidade de adaptação ao meio (MARQUETE, 2001).

As plantas desta família são árvores, arbustos ou subarbustos lenhosos, possuem folhas persistentes às vezes decíduas, alternas, inteiras, simples, penínérveas, geralmente denteadas, lâminas lanceoladas, oblongo-lanceoladas ou lanceolado-ovadas, pecíolos delgado a espessado, estípulas 2, foliáceas, caducas ou persistentes. As inflorescências são axilares, fasciculadas ou em espigas, brácteas e bractéolas pequenas escamiformes. As flores são actinomorfas, monoclamídeas a diclamídeas, hermafroditas ou unissexuadas, pedicelos muitas vezes articulados, sépalas persistentes; estames de 1 a muitos, anteras rimosas, ovário súpero, unilocular, tricarpetal, placentação parietal e fruto cápsular ou bacáceo (MARQUETE, 2001).

1.2. Gênero *Casearia*

1.2.1. Metabólitos secundários e atividades biológicas do gênero *Casearia*

O gênero *Casearia* é constituído por cerca de 160 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicos (BRETELER, 2008). Quimicamente essas espécies acumulam flavonóides (SHAARI; WATERMAN, 1994; RASLAN et al., 2002), taninos (WENIGER et al., 1978), lignanas (SHAAR; WATERMAN, 1994; WANG, et al., 2010), esteróides (KHAN et al., 1990a; CHANG et al., 2003), cumarinas (TALAPATRA et al., 1982), amidas (CHANG et al., 2003), compostos fenólicos (RASLAN et al., 2002, MOSADDIK et al., 2007b) e terpenóides (WANG et al., 2009a; SHAARI, K.; WATERMAN, 1994; GUNASEKERA et al., 1977), em especial diterpenos clerodânicos (VIEIRA JUNIOR et al., 2009).

Um exemplo de Salicaceae bastante utilizada e também objeto de investigação em diversas pesquisas é a espécie *Casearia sylvestris*. Para seu extrato bruto e substâncias puras, foram relatadas a ação inibidora de enzimas fosfolipase A2 de venenos de cobras e de algumas toxinas (RASLAN et al., 2002), atividades antiulcerogênica (ESTEVES et al., 2005; SERTIÉ, 2000), anti-hiperlipidêmica (SCHOENFELDER et al., 2008), antimutagênica em baixa concentração e mutagênica em alta concentração (OLIVEIRA et al., 2009), antimicrobiana (SILVA et al., 2008), anticolinesterásica (SILVA et al., 2006) e antiinflamatória observada no óleo das folhas (ESTEVES et al., 2005). Nas frações hexânicas do caule e raiz, verificou-se a inibição da enzima óxido nítrico sintetase e conseqüentemente a produção de óxido nítrico por macrófagos (NAPOLITANO et al., 2005).

Assim como relatado por Napolitano et al. (2005), outros estudos revelaram a atividade antiproliferativa e/ou citotóxica em células tumorais, tanto de *Casearia sylvestris* como de outras espécies do gênero, como: *C. arborea* (BEUTLER et al., 2000b), *C. membranacea* (SHEN et al., 2005a) e *C. grewiifolia* (KANOKMEDHAKUL et al., 2005). Em estudo realizado por Mosaddik et al. (2007b), extratos de quatro diferentes gêneros de Salicaceae (*Casearia*, *Homalium*, *Scolopia* e *Xylosma*), foram avaliados *in vitro* frente as atividades antioxidante, citotóxica e antimicrobiana, onde merecem destaque as espécies do gênero *Casearia* que apresentaram grande potencial de ação frente aos ensaios realizados. Algumas dessas atividades podem ser associadas a determinadas classes de metabólitos secundários, como a

atividade citotóxica que está associada aos diterpenos clerodânicos (OBERLIES et al., 2002, VIEIRA JUNIOR et al., 2009).

Esse tipo de diterpeno constitui-se numa ampla classe de compostos isolados de plantas. Muitos deles, especialmente os altamente oxigenados, mostram além de atividade citotóxica, propriedades antifúngicas e antibacterianas. Apesar de se verificar alta eficácia antitumoral, o mecanismo pelo qual se dá, ainda não está elucidado. No entanto, a atividade antitumoral se estende a diversas linhagens de células tumorais humanas. Diversos diterpenos de *Casearia* apresentaram atividade citotóxica em células tumorais e alguns pesquisadores analisaram sua relação estrutura-atividade citotóxica, chegando às seguintes considerações (MORITA et al., 1991; SHEN et al., 2005c; SHEN et al., 2004b; SANTOS et al., 2010): a) a presença de OAc em C-18 é importante para a atividade, pois a troca por OCH₃ produz redução da mesma; b) de igual forma, a presença de uma hidroxila em C-6 é responsável por maior atividade do que a dos respectivos derivados acetilados em C-6; c) uma hidroxila em C-7 promove redução da atividade; d) diferentes substituintes em C-2 não induzem alterações significativas na atividade; e) a degradação a dialdeído reduz a atividade.

Adicionalmente, os diterpenos clerodânicos apresentam ação antimalárica (*Plasmodium falciparum*) e antimicobacteriana (*Mycobacterium tuberculosis*) (KANOKMEDHAKUL et al., 2005), antifúngica (*Aspergillus niger*) (ESPÍNDOLA et al., 2004), tripanossomicida (*T. cruzi*) (OBERLIES et al., 2002) e ação imunomodulatória (HUNTER et al., 1997).

Diterpenos clerodânicos semelhantes aos encontrados em *Casearia* foram isolados de outras espécies de Salicaceae, incluindo *Zuelania guidonia* (KHAN et al., 1990a; KHAN et al., 1990b), *Laetia procera* (GIBBONS et al., 1996; JULLIAN et al., 2005) e *L. corymbulosa* (BEUTLER et al., 2000a). A ampla ocorrência destes típicos diterpenos em espécies de Salicaceae sugere alguma relação quimiotaxonômica, porém também foram isolados de espécies vegetais de outras famílias como de *Monodora brevipes* (Annonaceae) (ETSE et al., 1989), *Bucida buceru* (Combretaceae) (HAYASHI et al., 2002) e *Licania intrapetiolares* (Chrysobalanaceae) (OBERLIES et al., 2001).

Algumas atividades farmacológicas exibidas por espécies de *Casearia* foram objeto de depósitos de patente. Os diterpenos esculentina A e B isolados de *C.*

esculenta apresentaram ações citotóxica em células tumorais e antiinflamatória e a respectiva patente foi depositada na Europa por uma empresa farmacêutica (AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH, 1999) e para *C. sylvestris* estão relacionadas 3 outras patentes, a primeira relacionada a ação citotóxica das casearinas que foi patenteada no Japão (KIRIN BREWERY, 1989), outra relata a ação antiulcerogênica apresentada por uma fração rica em casearinas, depositada pela FAPESP, UNESP e USP, cujos inventores pertencem ao nosso grupo de pesquisa e ao Instituto de Ciências Biológicas da USP (FAPESP, UNESP, USP, 2003) e na mais recente, pesquisadores da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP) depositaram uma patente de fitoterápicos à base de extratos de *C. sylvestris* para o tratamento da herpes (UNICAMP, 2005).

Aliando-se este grande potencial químico-farmacológico e a necessidade de se obter novas substâncias antitumorais, antifúngicas e anticolinesterásicas, reforça-se a proposta de investigação do perfil fitoquímico de um número significativo de espécies do gênero *Casearia*, visando principalmente a busca de diterpenos clerodânicos.

1.2.2. Descrição das espécies estudadas

Casearia gossypiosperma Briquet (cambroé, pau-de-espeto) é uma árvore que pode atingir até 40 m de altura, encontrada em diversos países da América do Sul (Peru, Brasil, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Argentina) em florestas e matas ciliares de até 400 m de altitude (SLEUMER, 1980).

Casearia obliqua Sprengel é uma árvore frequentemente encontrada no Brasil, principalmente nos estados da Bahia, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, onde é conhecida popularmente como guaçatonga-vermelha e cambroé (SLEUMER, 1980).

Casearia rupestris Eichler é uma árvore pequena de até 6,0 m de altura, encontrada no Brasil (Mato Grosso e Minas Gerais) e Bolívia (Santa Cruz) em cerrado, campos e as vezes em pastos (SLEUMER, 1980).

Casearia decandra Jacquin (guaçatunga, cafezeiro-do-mato) é uma árvore pequena encontrada nas florestas da região sul do Brasil e também no Uruguai, Paraguai, Bolívia e Argentina, em florestas de araucárias, restinga e pastos. Os seus

frutos são comestíveis e muito procurados pelas aves, que são responsáveis pela sua larga dispersão (KLEIN & SLEUMER, 1984).

As quatro espécies supra citadas são encontradas no estado de São Paulo e em estados circunvizinhos. Em levantamento realizado nas bases de pesquisa SciFinder Scholar® e Web of Science do ISI (Institute for Scientific Information), foram encontrados poucos relatos sobre o estudo químico e farmacológico destas espécies de Salicaceae. Nos poucos artigos encontrados na base de dados, a espécie *C. decandra* somente foi estudada quanto ao teor de metais presentes nas folhas (YAMASHITA et al., 2005) e um outro estudo relata os constituintes dos óleos essenciais das flores e folhas, sendo que os constituintes majoritários foram: *E*-cariofileno (13,0%) e germacreno D (11,2%) no óleo das folhas, e espatulenol (19,6%) e tumbergol (18,6%) no óleo das flores (<https://sec.sbq.org.br/cdrom/30ra/resumos/T1163-1.pdf>). Nenhum artigo foi encontrado com relação à constituição fitoquímica das espécies *C. gossypiosperma*, *C. obliqua* e *C. rupestris*.

Entre as várias espécies desta família catalogadas no estado de São Paulo foram selecionadas estas quatro para serem estudadas, em virtude da facilidade de coleta e também devido a escassez de estudos fitoquímicos.

1.2.3. Compilação dos dados de RMN ¹³C de diterpenos clerodânicos no gênero *Casearia*

A literatura científica relata estudos de 19 espécies de *Casearia* investigadas sob o aspecto fitoquímico (SciFinder® -CAPlus® e Medline®, 1988-2010) e demonstram o predomínio de diterpenos do tipo clerodânico no gênero, totalizando mais de 120 substâncias (Figuras 1-5, Tabela 1) isoladas de diferentes órgãos das plantas: folha, fruto, caule, raiz e semente. Os dados de RMN de ¹³C são de extrema importância para identificação e elucidação da estrutura planar destes diterpenos e em alguns casos informações acerca da estrutura espacial, em virtude disto, na Tabela 2 estão compilados os deslocamentos químicos dos diterpenos de esqueleto clerodânico isolados de espécies de *Casearia*. Os dados foram obtidos em CDCl₃, C₅D₅N, acetona-d₆ ou em C₆D₆.

Em sua maioria, estes diterpenos apresentam características estruturais marcantes e são encontrados somente em algumas outras famílias de vegetais,

podendo talvez constituírem-se em marcadores quimiotaxonômicos do gênero *Casearia*. O esqueleto básico destes diterpenos é formado pelos anéis A e B do sistema decalínico com 2 metilas em C-8 (Me-17) e C-9 (Me-20), uma cadeia lateral com 6 carbonos (C-11 a C-16) em C-9 que contém um dieno conjugado que pode assumir três formas isoméricas, um terceiro anel C diidrofurânico/diacetálico, além de substituintes oxigenados (ésteres, éteres, hidroxilas ou cetonas) que podem estar presentes nos carbonos 2, 6, 7, 18 e 19. As estruturas básicas destes metabólitos secundários isolados de espécies de *Casearia* são apresentadas nas Figuras 1-6 e a Tabela 1 apresenta os diterpenos isolados de espécies de *Casearia* e suas respectivas plantas.

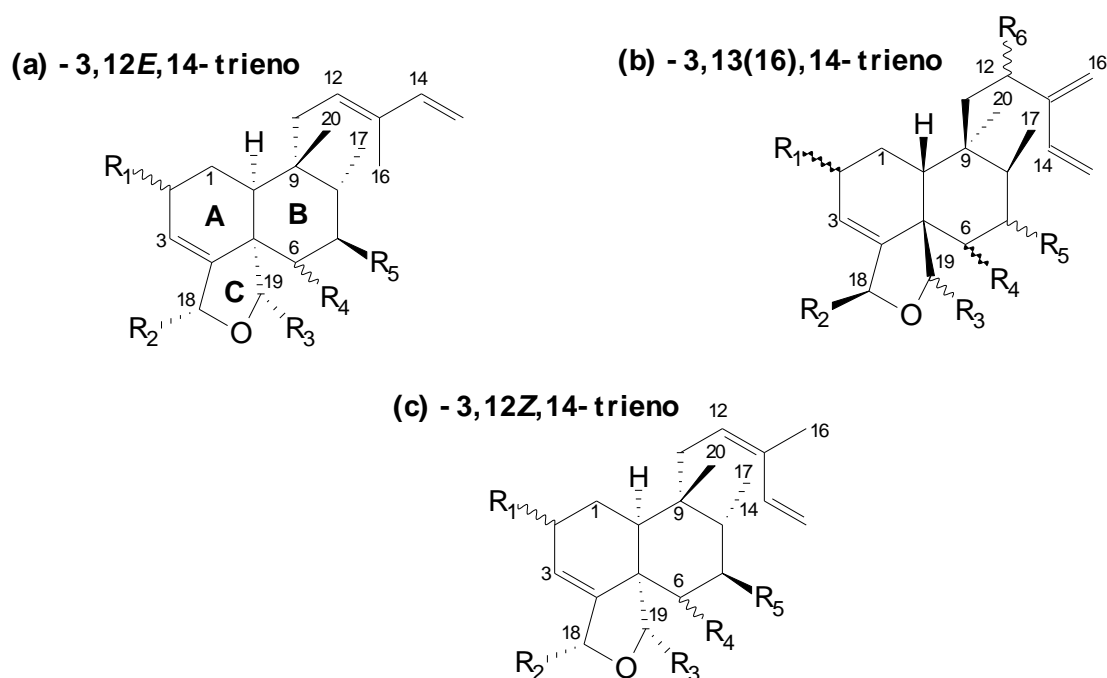


Figura 1 (a-c). Esqueleto básico dos diterpenos *cis*-clerodânicos com anel diacetálico (anel C) presentes em espécies de *Casearia*. Grupos substituintes: Tabela 1. As configurações apresentadas são relativas, exceto para os diterpenos relacionados nas informações adicionais da Tabela 1.

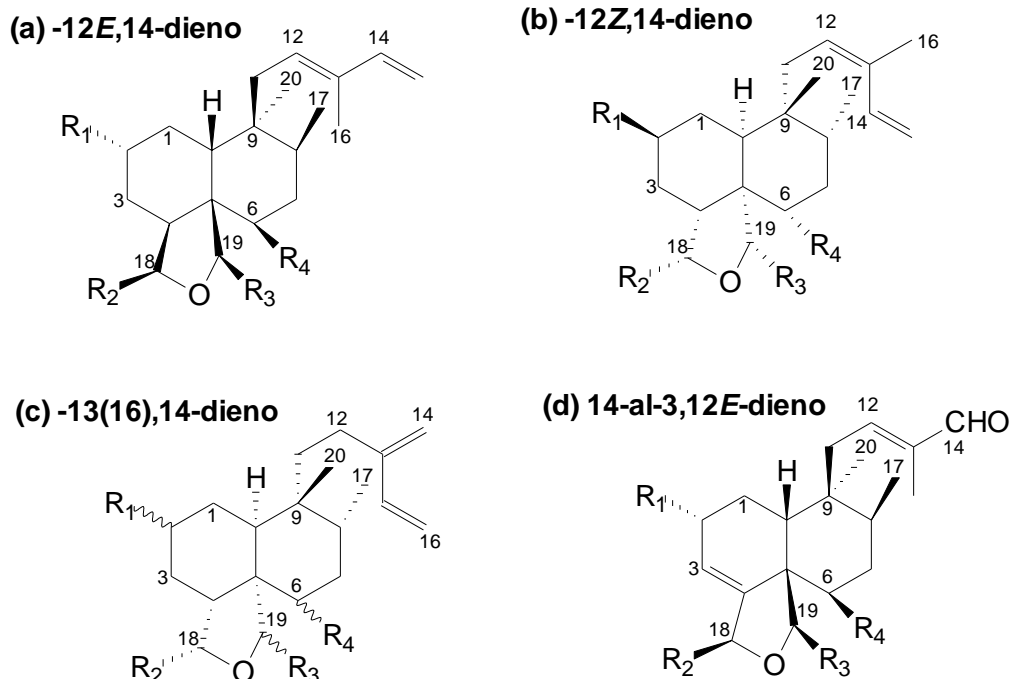


Figura 2 (a-d). Esqueleto básico dos diterpenos *cis*-clerodânicos com anel diacetálico (anel C) presentes em espécies de *Casearia*. Grupos substituintes: Tabela 1. As configurações apresentadas são relativas.

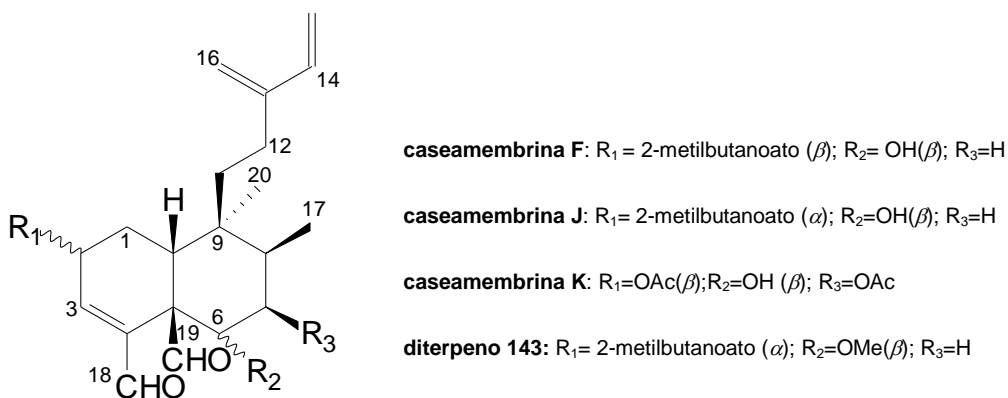


Figura 3. Artefatos originados a partir da degradação ou abertura do anel tetraidrofurânico diacetálico (C) de diterpenos clerodânicos isolados de *Casearia*, possivelmente devido ao uso de CDCl_3 como solvente nos experimentos de RMN. Os autores consideraram tais substâncias como metabólitos secundários inéditos.

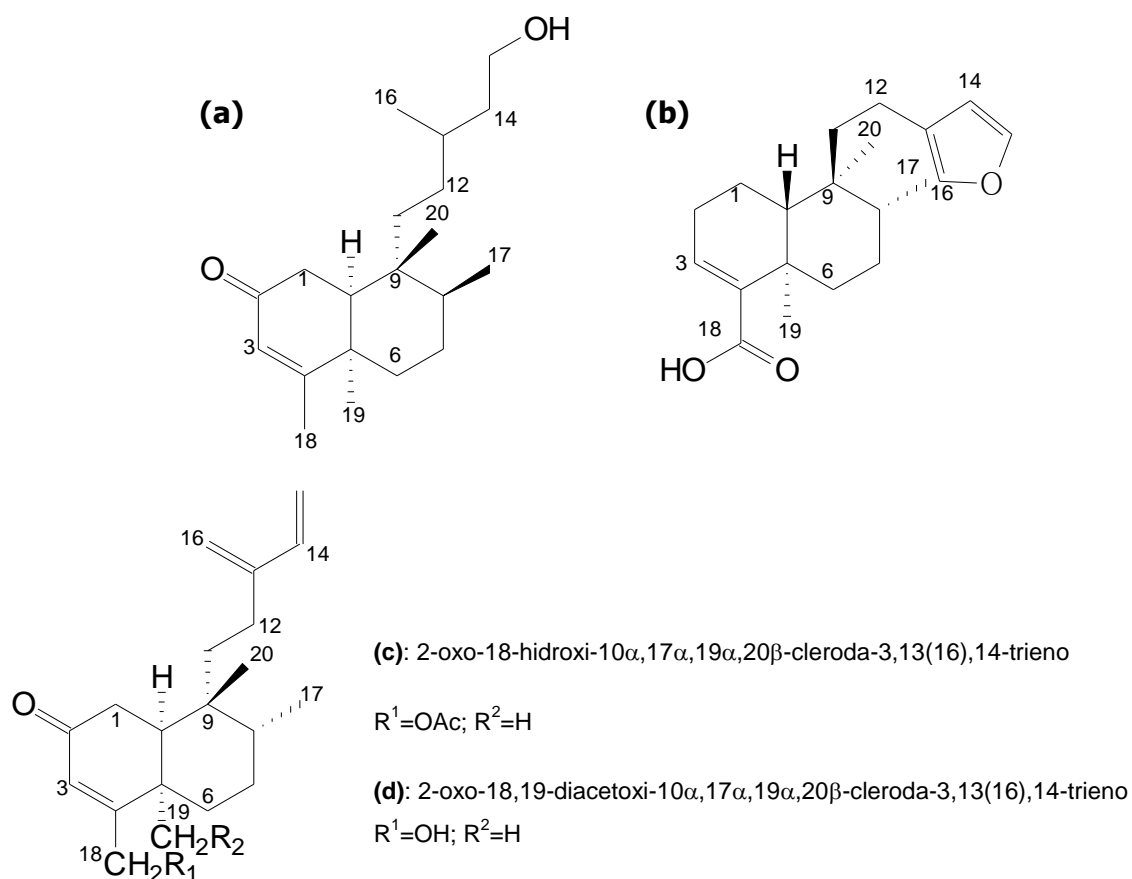


Figura 4. Diterpenos clerodânicos sem o anel diacetálico: **(a)** 15-hidroxi-3-cleroden-2-ona, **(b)** (-)-ácido hardwickiico - isolados de *C. sylvestris* (SANTOS et al., 2007) e **(c)**, **(d)** – isolados de *C. corymbosa* (KHAN et al., 1990a).

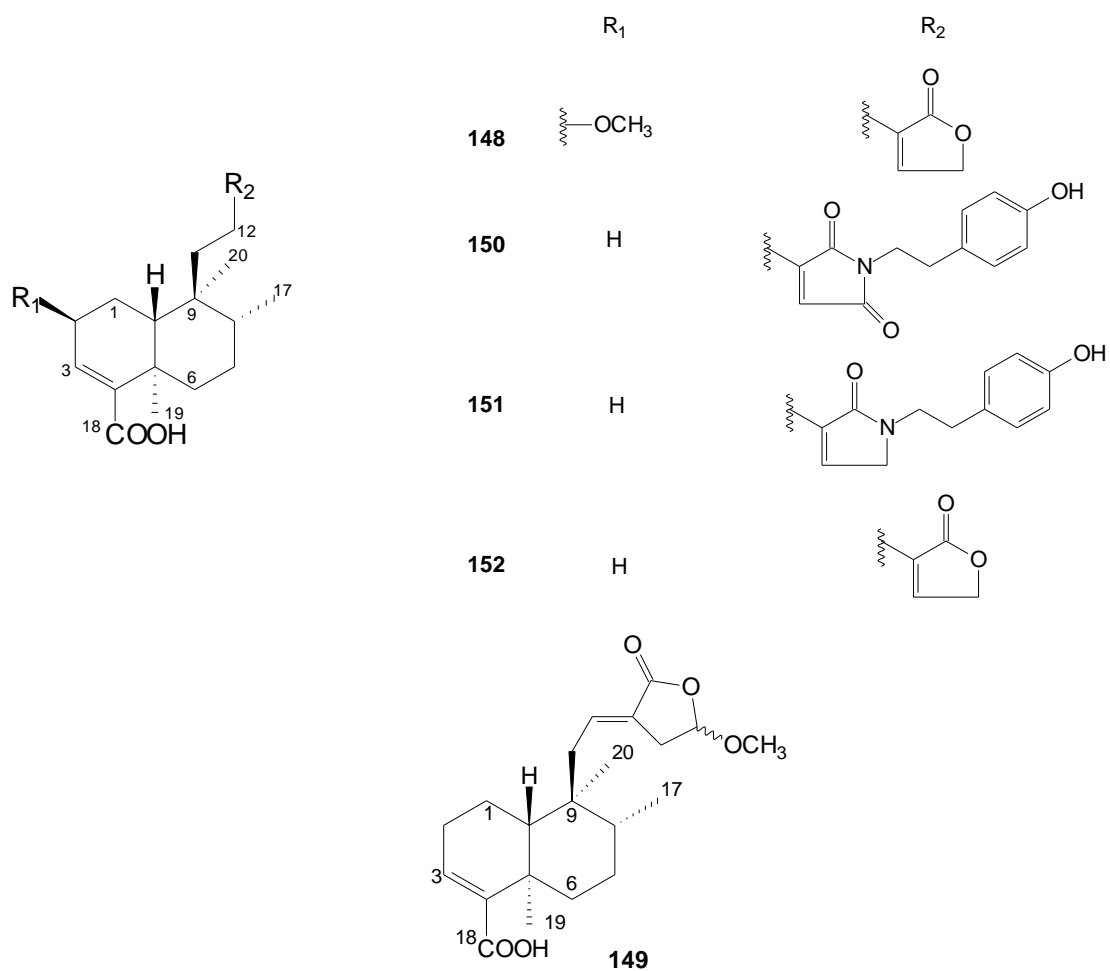


Figura 5. Diterpenos clerodânicos sem o anel diacetálico: isolados de *C. sylvestris* (Wang et al., 2009d).

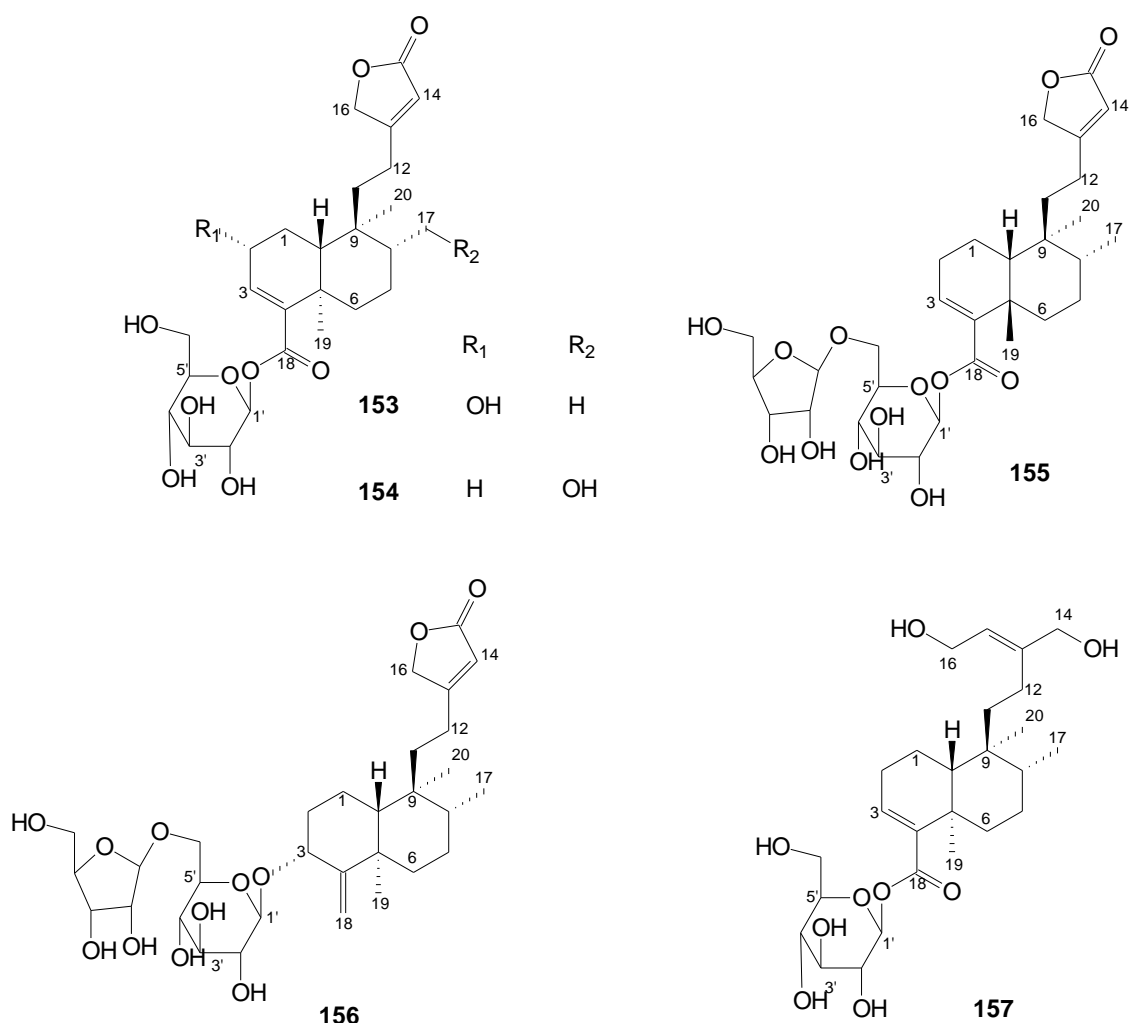


Figura 6. Diterpenos clerodânicos sem o anel diacetálico: isolados de *C. sylvestris* (Wang et al., 2009b).

TABELA 1. Diterpenos clerodânicos isolados de espécies do gênero *Casearia*.

DITERPENO	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Fig.	Espécie	Ref.
caseamembrina A (25)	2MB (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	1
caseamembrina B (26)	2MB (β)	OCH ₃	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	1
caseamembrina C (27)	2MB (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	OH (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	1
caseamembrina D (28)	2MB (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	OAc (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	1, 3, 4
caseamembrina E (29)	2MB (α)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	1
caseamembrina F (30)		----- artefato -----					3	<i>C. membranacea</i>	1
caseamembrina G (31)	OH (β)	OAc	OAc (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	2
caseamembrina H (32)	OH (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	2
caseamembrina I (33)	2MB (β)	OCH ₃	OAc (β)	OH (α)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	2
caseamembrina J (34)		----- artefato -----					3	<i>C. membranacea</i>	2
caseamembrina K (35)		----- artefato -----					3	<i>C. multinervosa</i>	26
caseamembrina L (36)	2MB (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	OH (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	2
caseamembrina M (37)	2MB (β)	OAc	OAc (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	3
caseamembrina N (38)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	OAc (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	3
caseamembrina O (39)	3MB (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	OAc (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	3
caseamembrina P (40)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	OH (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	4
caseamembrina Q (41)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	OAc (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	4, 28
caseamembrina R (42)	3MB (β)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂	OAc (β)	OH (β)	OAc (β)	H	1b	<i>C. membranacea</i>	4
caseamembrina S (43)	n-C ₂ H ₅ -CO ₂ (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	28
caseamembrina T (44)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	28
caseamembrina U (45)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (β)	OCH ₃	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	28
caseamembrina A (46)	2MB (β)	OAc	OAc	OH (β)	H	---	1a	<i>C. membranacea</i>	25
caseamembrina B (47)	2MB (α)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	OH (β)	1b	<i>C. membranacea</i>	25
caseanigrescena A (48)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (α)	OAc	OAc (α)	OH (α)	OAc (β)	H	1b	<i>C. nigrescens</i>	20
caseanigrescena B (49)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (α)	OAc	OAc (α)	OH (α)	OH (β)	H	1b	<i>C. nigrescens</i>	20
caseanigrescena C (50)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (α)	OAc	OAc (α)	OAc (α)	OH (β)	H	1b	<i>C. nigrescens</i>	20
caseanigrescena D (51)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (α)	OAc	OAc (α)	OH (α)	H	H	1b	<i>C. nigrescens</i>	20
casearborina A (52)	p-OH-benzoato (α)	OAc	OAc	H	H	---	1a	<i>C. arborea</i>	5
casearborina B (53)	4OH3MBz (α)	OAc	OAc	H	H	---	1a	<i>C. arborea</i>	5
casearborina C (54)	OH (α)	OAc	OAc	p-OH-benzoato (α)	H	---	1a	<i>C. arborea</i>	5
casearborina D (55)	p-OH-benzoato (α)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. arborea</i>	5
casearborina E (56)	OAc (α)	OAc	OAc	p-OH-benzoato (α)	H	---	1a	<i>C. arborea</i>	5
caseargreivina A (57)	3MB (β)	OAc	OAc (β)	OCH ₃ (β)	H	H	1b	<i>C. greivifolia</i>	6
caseargreivina B (58)	n-C ₃ H ₇ -CO ₂ (α)	OAc	OAc	OH (α)	p-OH-cinamato	---	1c	<i>C. greivifolia</i>	6
caseargreivina C (59)	3MB (α)	OAc	OAc	OH (α)	OAc	---	1c	<i>C. greivifolia</i>	6

DITERPENO	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Fig.	Espécie	Ref.
caseargrewiina D (60)	OH (α)	OAc	OAc	H	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	6
caseargrewiina E (61)	n-C ₃ H ₇ CO ₂ (α)	OAc	OAc	H	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
caseargrewiina F (62)	n-C ₃ H ₇ CO ₂ (α)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
								<i>C. sylvestris</i>	12
caseargrewiina G (63)	n-C ₃ H ₇ CO ₂ (α)	OCH ₃	OAc	OH (α)	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
caseargrewiina H (64)	n-C ₆ H ₁₁ CO ₂ (α)	OAc	OAc	H	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
caseargrewiina I (65)	n-C ₆ H ₁₁ CO ₂ (α)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
caseargrewiina J (66)	n-C ₆ H ₁₁ CO ₂ (α)	OCH ₃	OAc	OH (α)	H	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
caseargrewiina K (67)	n-C ₆ H ₁₁ CO ₂ (α)	OCH ₃	OAc	OH (α)	OH	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
caseargrewiina L (68)	3MB (α)	OAc	OAc	OH (α)	OH	---	1c	<i>C. grewiifolia</i>	7
casearina A (69)	OCH ₃ (α)	OAc	OAc	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	8
casearina B (70)	OCH ₃ (α)	OAc	OAc	OAc (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c, 4	<i>C. sylvestris</i>	8, 13
casearina C (71)	OH (α)	OAc	OAc	OAc (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	8
casearina D (72)	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	OAc	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	8
casearina E (73)	OH (α)	OEt	OAc	OH (α)	n-C ₆ H ₁₉ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	8
casearina F (74)	OH (α)	OEt	OAc	OH (α)	n-C ₆ H ₁₉ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	8
casearina G (75)	OCH ₃ (α)	OAc	OAc	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	8
casearina H (76)	OH (α)	OAc	OAc	H	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c, 4	<i>C. sylvestris</i>	9, 10, 13
casearina I (77)	OH (α)	OAc	OAc	H	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina J (78)	OCH ₃ (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	n-C ₃ H ₇ CO ₂	H	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina K (79)	OAc (α)	OAc	OAc	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina L (80)	OCH ₃ (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	OAc	OAc (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina M (81)	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	n-C ₃ H ₇ CO ₂	OAc (α)	OH	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina N (82)	OCH ₃ (α)	OAc	n-C ₃ H ₇ CO ₂	OAc (α)	OH	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina O (83)	OCH ₃ (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	n-C ₃ H ₇ CO ₂	OAc (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina P (84)	OCH ₃ (α)	OAc	OAc	OAc (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina Q (85)	OH (α)	OH	OAc	OAc (α)	OAc	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina R (86)	= O	OAc	OAc	OAc (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina S (87)	OCH ₃ (α)	= O	OAc	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	9
casearina T (88)	OCH ₃ (α)	OAc	OAc	H	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	10
casearina U (89)	OCH ₃ (α)	OCH ₃	OAc	OAc (β)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	10
casearina V (90)	OH (α)	OCH ₃	OAc	OH (α)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	11
casearina X (91)	n-C ₃ H ₇ CO ₂ (α)	OAc	OAc	H	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	11
casearinol A (92)	2M2Buten	OAc	OAc	OH	n-C ₃ H ₇ CO ₂	---	1c	<i>C. sylvestris</i>	12
casearinol B (93)	2MB	OAc	OAc	OH	---	---	2a	<i>C. guianensis</i>	14
							2a	<i>C. guianensis</i>	14
casearinona A (94)	OAc	OAc	OAc	= O	---	---	2a	<i>C. guianensis</i>	14
								<i>C. grayi</i>	27

DI TERPENO	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Fig.	Espécie	Ref.
casearinona B (95)	OAc	OAc	OAc	= O	---	---	2b	<i>C. guianensis</i>	14
casearlucina A (96)	2MB (β)	OAc	OAc	OH (β)	H	---	1a	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina B (97)	OAc (α)	OAc	OAc (β)	OCH ₃ (β)	H	H	1b	<i>C. membranacea</i>	3
casearlucina C (98)	2MB (β)	OAc	OAc	OAc (β)	H	---	1a	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina D (99)	2MB (β)	OAc	OAc (β)	OAc (β)	H	H	1b	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina E (100)	2MB (α)	OAc	OAc (β)	OCH ₃ (β)	H	H	1b	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina F (101)	2MB (α)	OAc	OAc	H	H	---	1a	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina G (102)	2MB (β)	OAc	OAc	H	H	---	1a	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina H (103)	2MB (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	OH (α)	1b	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina I (104)	2MB (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	OH (β)	1b	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina J (105)	2MB (α)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	OH (α)	1b	<i>C. lucida</i>	15
casearlucina K (106)	2MB (α)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	OH (β)	1b	<i>C. lucida</i>	15
casearvestrina A (107)	2MP (β)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. sylvestris</i>	16
casearvestrina B (108)	2MB (β)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. sylvestris</i>	16
casearvestrina C (109)	n-C ₅ H ₁₁ CO ₂ (β)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. sylvestris</i>	16
corimbotina A (110)	OAc (α)	OAc	OAc	OCH ₃ (α)	H	---	1a	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina B (111)	2MP (α)	OAc	OAc	OCH ₃ (α)	H	---	1a	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina C (112)	2M2Propen (α)	OAc	OAc	OCH ₃ (α)	H	---	1a	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina D (113)	OAc (α)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina E (114)	2MP (α)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina F (115)	2M2Propen (α)	OAc	OAc	OH (α)	H	---	1a	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina G (116)	OAc	OAc	OAc	OH	---	---	2d	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina H (117)	2MP	OAc	OAc	OH	---	---	2d	<i>C. corymbosa</i>	17
corimbotina I (118)	2M2Propen	OAc	OAc	OH	---	---	2d	<i>C. corymbosa</i>	17
esculentina A (119)	= O	OAc	OAc (β)	H	H	H	1b	<i>C. esculenta</i>	18
esculentina B (120)	3MB (β)	OAc	OAc	OH (α)	OH	---	1a	<i>C. esculenta</i>	18, 7
pitumbina (121)	OH (α)	OAc	OAc (α)	ODen (α)	H	H	1b	<i>C. pitumba</i>	19
diterpeno 122	2MB (β)	OAc	OAc (β)	OCH ₃ (β)	H	H	1b	<i>C. tremula</i>	21
diterpeno 123	2MB (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. grevillifolia</i>	6
								<i>C. lucida</i>	15
								<i>C. tremula</i>	21
								<i>C. grevillifolia</i>	6
								<i>C. lucida</i>	15
								<i>C. membranacea</i>	1, 4
								<i>C. multinervosa</i>	26

DI TERPEN O	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Fig.	Espécie	Ref.
diterpeno 124	2MB (β)	OAc	OAc (β)	H (β)	H	H	1b	<i>C. tremula</i>	21
diterpeno 125	n-C ₇ H ₁₅ CO ₂ (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. lucida</i>	15
diterpeno 126	n-C ₁₀ H ₂₁ CO ₂ (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. tremula</i>	21
diterpeno 127	3OH O (β)	OAc	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. tremula</i>	21
diterpeno 128	2MB (β)	n-C ₃ H ₇ CO ₂	OAc (β)	OH (β)	H	H	1b	<i>C. sylvestris</i>	22
diterpeno 129	OAc	H	-	-	-	-	4c	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 130	OH	H	-	-	-	-	4d	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 131	2MB (β)	OAc	OAc (α)	OCH ₃ (β)	H	H	1b	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 132	2MP (β)	OAc	OAc (α)	OCH ₃ (β)	H	H	1b	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 133	OH (α)	OAc	OAc (β)	H	---	---	2c	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 134	OAc (α)	OAc	OAc (β)	H	---	---	2c	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 135	2MB (α)	OAc	OAc (β)	H	---	---	2c	<i>C. corymbosa</i>	23
diterpeno 136	OAc (β)	OAc	OAc (α)	= O	---	---	2c	<i>C. grevilleifolia</i>	24
diterpeno 137	OAc (β)	OAc	OAc (α)	H	---	---	2c	<i>C. grayi</i>	27
diterpeno 138	2MB (α)	OAc	OAc (β)	= O	---	---	2c	<i>C. grevilleifolia</i>	24
diterpeno 139	2MP (α)	OAc	OAc (β)	H	---	---	2c	<i>C. grevilleifolia</i>	24
diterpeno 140	2MB (α)	OAc	OAc (β)	H	---	---	2c	<i>C. grevilleifolia</i>	24
diterpeno 141	2MB (β)	OAc	OCH ₃ (β)	OH (β)	---	H	1b	<i>C. multinervosa</i>	26
diterpeno 142		-----artefato-----					3	<i>C. multinervosa</i>	26
diterpeno 143	OH (α)	OAc	OAc (β)	H	---	---	2c	<i>C. grayi</i>	27
diterpeno 144	OH (α)	OAc	OAc (β)	= O	---	---	2c	<i>C. grayi</i>	27
diterpeno 145	OH	OAc	OAc	= O	---	---	2a	<i>C. grayi</i>	27
diterpeno 146	OH	OAc	OAc	H	---	---	2a	<i>C. grayi</i>	27
diterpeno 147			sem anel C				5	<i>C. sylvestris</i>	29
diterpeno 148			sem anel C				5	<i>C. sylvestris</i>	29
diterpeno 149			sem anel C				5	<i>C. sylvestris</i>	29
diterpeno 150			sem anel C				5	<i>C. sylvestris</i>	29
diterpeno 151			sem anel C				5	<i>C. sylvestris</i>	29
diterpeno 152			sem anel C				6	<i>C. sylvestris</i>	30
diterpeno 153			sem anel C				6	<i>C. sylvestris</i>	30
diterpeno 154			sem anel C				6	<i>C. sylvestris</i>	30
diterpeno 155			sem anel C				6	<i>C. sylvestris</i>	30
diterpeno 156			sem anel C				6	<i>C. sylvestris</i>	30

Abreviaturas, referências e informações adicionais da Tabela 2:

a) Abreviaturas e fórmulas: **OAc**: acetato; **n-C₃H₇CO₂**: butanoato; **n-C₅H₁₁CO₂**: hexanoato; **n-C₇H₁₅CO₂**: octanoato; **n-C₉H₁₉CO₂**: decanoato; **n-C₁₀H₂₁CO₂**: undecanoato; **ODen**: 2,4-(*Z,E*)-decadienoato; **OEt**: etoxila; **2MB**: 2-metilbutanoato; **2M2Buten**: 2-Me-2-butenato; **3MB**: 3-metilbutanoato; **2MP**: 2-metilpropanoato; **2M2Propen**: 2-Me-2-propenoato; **4OH3MBz**: 4-hidroxi-3-metoxi-benzoato; **3OHO**: 3-hidroxi octanoato.

b) Referências: **1.** SHEN et al., 2004b; **2.** SHEN et al., 2005b; **3.** SHEN et al., 2005c; **4.** SHEN et al., 2005a; **5.** BEUTLER et al., 2000b; **6.** KANOKMEDHAKUL et al., 2005; **7.** KANOKMEDHAKUL et al., 2007; **8.** ITOKAWA et al., 1990; **9.** MORITA et al., 1991; **10.** CARVALHO et al., 1998; **11.** WANG et al., 2009c; **12.** SANTOS et al., 2010; **13.** SANTOS et al., 2007; **14.** HUNTER et al., 1997; **15.** PRAKASH et al., 2002; **16.** OBERLIES et al., 2002; **17.** CHEN & WIEMER, 1991; **18.** VIJAYAKUMAR et al., 2002; **19.** GUITTET et al., 1988; **20.** WILLIAMS et al., 2007; **21.** GIBBONS et al., 1996a; **22.** ESPÍNDOLA et al., 2004; **23.** KHAN et al., 1990a; **24.** MOSADDIK et al., 2007a; **25.** SHEN et al., 2004a; **26.** MOSADDIK; WATERMAN, 2006; **27.** MOSADDIK et al., 2006; **28.** CHEN et al., 2008; **29.** WANG et al., 2009d; **30.** WANG et al., 2009b.

c) Legenda dos diterpenos codificados com números:

122: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-2*S*-(2-metilbutanoilóxi)-6*R*-metoxi-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

123: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-2*S*-(2-metilbutanoilóxi)-6*R*-hidróxi-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

124: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-2*S*-(2-metilbutanoilóxi)-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

125: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-6*R*-hidróxi-2*S*-octanoilóxi-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

126: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-6*R*-hidróxi-2*S*-undecanoilóxi-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

127: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-6*R*-hidróxi-2*S*-(3-hidroxi octanoilóxi)-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

128: rel-19*R*-acetóxi-18*S*-butanoilóxi-18,19-epóxi-6*R*-hidróxi-2*S*-(2-metilbutanoilóxi)-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

129: 2-oxo-18-hidroxi-10 α ,17 α ,19 α ,20 β -cleroda-3,13(16),14-trieno

130: 2-oxo-18,19-diacetóxi-10 α ,17 α ,19 α ,20 β -cleroda-3,13(16),14-trieno

131: *ent*-6 β -metoxiisozuelanina-2 β -(2-metil)butanoato

132: *ent*-6 β -metoxiisozuelanina-2 β -(2-metil)propanoato

133*: *ent*-2 β -hidróxi-3,4-di-hidro-4 α -isozuelanina

134*: *ent*-2 β -acetóxi-3,4-di-hidro-4 α -isozuelanina

135: *ent*-2 β -(2-metilbutanoilóxi)-3,4-di-hidro-4 α -isozuelanina

136: rel-2*R*,18*S*,19*R*-triacetóxi-18,19-epóxi-4*S*,5*S*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dien-6-ona

137*: rel-2*R*,18*S*,19*R*-triacetóxi-18,19-epóxi-4*S*,5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dieno

138: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-2*R*-(2-metilbutanoilóxi)-4*S*,5*S*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dien-6-ona

139: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-2*R*-(isobutanoilóxi)-4*S*,5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dieno

140: rel-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-2*R*-(2-metilbutanoilóxi)-4*S*,5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dieno

141: rel-18*R*-acetóxi-19*S*-metóxi-18,19-epóxi-6*S*-hidróxi-2*S*-(2-metilbutanoilóxi)-5*S*,8*R*,9*R*,10*S*-clerodan-3,13(16),14-trieno

142: rel-(2*R*,5*R*,6*R*,8*S*,9*S*,10*R*)-6-metóxi-2-(2-metilbutanoilóxi)-cleroda-3,13(16),14-trieno-4,5-dial

143*: rel-2*R*-hidróxi-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-4*S*,5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dieno

144: rel-2*R*-hidróxi-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-4*S*,5*S*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-13(16),14-dien-6-ona

145: rel-2*R*-hidróxi-18*S*,19*R*-diacetóxi-18,19-epóxi-4*S*,5*S*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-12*E*,14-dien-6-ona

146: rel-2*R*-hidróxi-18*S*,19*R* -diacetóxi-18,19-epóxi-4*S*,5*R*,8*S*,9*S*,10*R*-clerodan-12*E*,14-dieno
147: 2β-metóxi-cleroda-3,13-dien-18-carboxi-15,16-olideo
148: 15ξ- metóxi -cleroda-3,12-dien-18-carboxi-15,16-olideo
149: 15-oxo-echinofilina A
150: echinofilina A
151: (-)-ácido patagonico
152: caseariasideo A
153: caseariasideo B
154: caseariasideo C
155: caseariasideo D
156: caseariasideo E

*segundo MOSSADIK et al (2006a) as estruturas dos diterpenos **133** e **134** foram determinadas de maneira equivocada e suas verdadeiras estruturas equivaleriam as dos diterpenos **137** e **143**, respectivamente.

d) Diterpenos com a configuração absoluta determinada:

casearborina E: (+)-18*R*,19*S*-diacetoxi-18,19-epoxi-2*R*-acetiloxi-6*S*-*p*-hidroxibenzoiloxi-5*S*,8*R*,9*R*,10*S*-cleroda-3,12(*E*),14-trieno

caseargrewiina D: (-)-18*R*,19*S*-diacetoxi-18,19-epoxi-2*R*-hidroxi-5*S*,8*R*,9*R*,10*S*-cleroda-3,12(*Z*),14-trieno

casearinas A-F: todas dextrógiras; configurações absolutas ver Tabela 1 e Figuras 1

casearlucina H: (+)-18*S*,19*R*-diacetoxi-18,19-epoxi-6*R*,12*R*-dihidroxi-2*S*-(2-metil-butanoiloxi)-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*,12*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

casearlucina I: (+)-18*S*,19*R*-diacetoxi-18,19-epoxi-6*R*,12*S*-dihidroxi-2*S*-(2-metil-butanoiloxi)-5*R*,8*S*,9*S*,10*R*,12*R*-cleroda-3,13(16),14-trieno

TABELA 2. Dados de RMN ^{13}C de diterpenos clerodânicos já isolados de espécies de *Casearia*.

carbono	Substância, δ_{C} (ppm) [Ref.]								
	25 [1]	26 [1]	27 [1]	28 [1]	29 [1]	30 [1]	31 [2]	32 [2]	33 [2]
1	26,6	27,1	26,8	26,8	26,3	25,9	29,5	29,5	27,2
2	66,4	66,2	66,4	66,1	70,5	64,8	63,7	63,7	66,4
3	120,9	121,8	121,8	122,2	124,3	148,4	126,7	126,6	120,9
4	146,8	145,2	144,8	144,5	144,4	148,6	142,2	142,3	145,2
5	54,0	53,7	53,1	53,9	53,8	56,0	52,2	52,2	52,1
6	72,2	73,3	76,7	75,2	74,3	71,9	73,8	73,8	71,6
7	36,9	37,3	72,5	75,3	37,4	36,7	33,1	33,1	35,7
8	37,1	37,5	43,2	41,9	37,6	35,6	36,2	36,2	36,9
9	37,3	37,5	38,6	39,1	38,2	37,8	37,4	37,4	37,4
10	36,4	36,3	36,2	36,3	41,2	40,4	36,7	36,7	36,3
11	28,0	27,9	28,9	29,2	27,7	32,3	28,0	27,9	27,6
12	23,9	23,6	23,8	23,8	23,8	23,4	23,9	23,8	23,9
13	145,7	145,2	144,9	144,8	145,2	146,4	145,3	145,3	145,9
14	140,6	140,4	140,6	140,4	140,3	139,0	140,3	140,3	140,6
15	111,8	112,2	112,0	112,3	112,6	112,9	112,7	112,7	112,1
16	115,0	115,3	115,8	116,0	115,4	116,1	115,3	115,4	115,7
17	15,3	15,7	11,0	11,7	15,7	15,3	15,6	15,6	15,7
18	95,4	104,6	95,5	95,3	95,1	196,3	95,4	95,1	104,0
19	98,1	97,4	98,6	98,0	97,6	202,1	98,4	98,3	98,5
20	24,9	25,5	25,8	22,5	25,5	26,0	25,5	25,5	25,6
1'	175,0	176,2	173,3	175,8	176,6	175,9	173,1	173,2	175,9
2'	41,1	40,9	43,6	41,2	41,2	41,0	36,6	36,6	41,2
3'	26,9	27,0	26,1	27,0	26,8	27,0	18,3	18,3	27,0
4'	11,2	11,7	22,2	11,2	11,7	11,7	13,7	13,7	11,8
5'	16,3	16,4	22,3	16,7	16,6	16,5			16,6
1''	172,3		172,4	172,5				172,9	
2''	35,9		36,2	35,9				36,3	
3''	18,1		18,2	18,3				18,3	
4''	13,0		13,4	13,6				13,6	
18-OMe		56,2							50,3
7-OAc				171,7 21,3					
18-OAc					170,1 21,2		170,0 21,3		
19-OAc	168,9 20,9	170,3 21,5	169,3 21,3	169,3 21,0	169,8 21,7		170,2 21,7	170,0 21,7	170,0 21,6

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	34 [2]	35 [2]	36 [2]	37 [3]	38 [3]	39 [3]	40 [4]	41 [4]	42 [4]
1	25,9	26,0	27,0	26,7	26,9	26,8	27,0	26,8	26,7
2	69,9	64,8	66,2	66,0	66,0	66,1	66,1	65,9	66,0
3	153,4	148,0	122,2	123,1	122,2	122,2	122,1	122,1	122,1
4	147,5	149,1	144,9	144,3	144,6	144,6	144,7	144,5	144,4
5	55,8	54,1	53,2	52,1	53,8	53,8	53,0	53,7	53,8
6	72,7	71,8	77,1	73,5	75,2	75,2	77,0	75,0	75,0
7	37,0	77,2	72,9	33,0	75,3	75,3	73,0	75,2	75,2
8	35,6	34,0	43,4	37,1	41,8	41,8	43,1	41,6	41,7
9	38,5	38,9	38,7	37,3	39,1	39,1	38,7	39,0	39,0
10	44,9	40,2	36,3	36,8	35,9	35,9	36,0	36,4	36,2
11	29,7	29,7	29,1	27,9	29,2	29,1	29,2	29,0	29,0
12	23,4	23,1	23,9	23,7	23,8	23,8	23,8	23,7	23,7
13	146,3	146,0	144,9	145,0	144,7	144,7	144,9	144,6	144,6
14	139,0	138,9	140,6	140,4	140,4	140,4	140,4	140,3	140,3
15	113,1	113,0	112,1	112,2	112,3	112,2	112,2	112,2	112,2
16	116,1	116,3	115,8	115,5	115,9	115,9	115,3	115,8	115,9
17	15,3	15,2	11,7	15,5	11,2	11,2	11,1	11,1	11,1
18	196,0	192,7	95,5	95,1	95,5	95,5	95,3	95,3	95,2
19	202,1	199,3	98,4	98,2	98,0	98,0	98,3	98,0	97,9
20	26,0	25,9	25,9	25,5	25,8	22,4	25,8	25,7	25,7
1'	176,0		175,8	175,8	173,1	172,4	172,8	172,9	172,5
2'	41,1		41,3	41,1	36,5	43,7	36,2	36,2	43,6
3'	26,8		26,9	27,0	18,7	25,8	18,2	18,6	26,1
4'	11,7		11,7	11,6	13,6	22,4	13,4	13,5	22,3
5'	16,6		16,7	16,6		25,7			22,4
1''			173,2	173,0			172,9	172,6	172,3
2''			36,3	36,6			36,5	35,8	35,8
3''			18,3	18,2			18,6	18,2	18,2
4''			13,5	13,6			13,5	13,4	13,5
2-OAc		171,5 21,2							
7-OAc		172,3 22,4			171,7 21,4	171,6 21,4		171,8 21,3	171,8 21,3
18-OAc				169,9 21,2	169,4 21,2	169,4 21,0			
19-OAc			169,4 21,3	170,0 21,5	170,3 21,2	170,3 21,2	169,4 21,3	169,4 20,9	169,3 20,9

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	43 [28]	44 [28]	45 [28]	46 [25]	47 [25]	48 [20]	49 [20]	50 [20]	51 [20]
1	26,9	26,9	27,0	26,2	26,2	27,1	27,2	27,1	27,1
2	66,1	66,2	66,2	70,5	70,4	66,4	66,5	66,2	66,5
3	121,8	121,8	121,7	124,2	124,0	121,9	122,0	123,6	121,4
4	145,2	145,1	146,3	144,3	143,9	145,7	145,4	144,0	146,4
5	53,6	53,7	53,6	53,5	53,7	54,3	53,5	53,1	54,1
6	73,1	73,1	73,3	74,1	74,6	75,0	77,1	77,0	72,8
7	37,1	36,5	36,5	37,6	37,3	75,6	72,8	71,2	36,8
8	36,5	37,1	37,4	36,8	36,8	41,9	43,3	43,2	36,8
9	36,2	36,5	37,8	38,4	39,1	39,1	38,8	38,6	37,4
10	37,3	37,4	37,6	41,5	46,6	36,4	36,5	37,3	37,1
11	28,0	28,1	29,7	30,1	37,1	29,2	29,5	29,3	28,3
12	23,7	23,8	23,8	128,9	82,5	24,2	24,3	24,2	24,2
13	145,1	145,3	145,3	135,9	145,8	144,8	145,3	145,3	145,6
14	140,3	140,4	140,4	141,3	135,3	140,9	140,9	140,7	140,8
15	112,4	112,3	112,3	111,1	115,8	112,0	112,1	112,3	112,2
16	115,5	115,4	115,3	12,0	116,9	116,6	116,2	115,9	115,9
17	15,7	15,7	15,7	15,6	15,8	11,3	11,3	11,2	15,6
18	95,6	95,6	104,6	95,2	95,1	96,1	96,2	95,1	96,1
19	97,8	97,9	95,4	96,8	97,5	98,7	99,0	98,6	98,3
20	25,4	25,3	25,4	25,1	23,8	25,6	25,7	25,7	25,2
1'	173,9	173,1	173,2	176,5	176,5	172,5	172,4	172,3	172,4
2'	27,9	36,5	36,2	41,2	41,1	36,2	36,2	36,1	36,2
3'	9,2	18,7	18,6	26,8	26,7	18,8	18,8	18,7	18,8
4'		13,6	13,7	11,7	11,7	13,5	13,5	13,5	13,5
5'				16,6	16,5				
18-OMe			56,2						
2-OAc		171,5 21,2							
6-OAc								170,6 20,9	
7-OAc		172,3 22,4				171,2 20,8			
18-OAc	169,9 21,5	169,8 21,2		170,2 21,3	169,8 21,7	169,7 20,8	170,3 20,7	169,6 20,6	169,6 20,7
19-OAc	170,1 21,2	170,1 21,4	169,4 21,6	169,5 21,7	170,2 21,2	168,9 21,4	169,2 21,4	168,9 21,5	169,1 21,5

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	52 [5]	53 [5]	54 [5]	55 [5]	56 [5]	57 [6]	58 [6]	59 [6]	60 [6]
1	26,3	26,3	29,6	27,2	27,0	27,0	26,8	26,7	28,9
2	67,0	67,1	64,0	67,1	66,5	66,3	66,0	66,0	64,2
3	120,4	120,4	126,8	122,2	123,3	121,3	122,1	122,1	123,8
4	147,0	147,1	142,2	145,4	144,2	146,0	144,3	144,6	145,2
5	49,2	49,2	52,1	53,9	52,0	53,1	53,6	53,6	49,2
6	27,3	27,4	74,6	73,0	74,4	81,9	74,8	74,9	28,9
7	29,0	29,1	33,4	37,5	33,3	31,1	75,2	75,4	27,4
8	36,5	36,5	36,3	36,9	36,1	36,9	41,1	41,1	33,7
9	37,4	37,5	37,9	37,9	37,9	37,5	39,2	39,3	33,7
10	34,9	35,0	36,7	37,3	37,5	36,5	36,0	36,0	36,5
11	30,4	30,5	30,6	30,6	30,6	27,8	30,1	30,1	29,5
12	129,2	129,2	129,3	129,3	129,2	23,8	125,6	125,6	126,9
13	135,6	135,6	125,9	135,9	136,0	145,1	133,9	134,0	133,4
14	141,3	141,2	141,4	141,5	141,4	140,5	133,3	133,3	133,6
15	110,8	110,9	111,3	111,3	111,4	112,2	114,6	114,8	114,0
16	12,0	12,0	12,2	12,2	12,2	115,6	20,0	20,0	20,3
17	15,6	15,6	15,7	15,8	15,7	15,9	11,0	11,0	21,3
18	94,5	94,5	95,8	96,0	95,8	96,2	95,8	95,6	94,7
19	98,8	98,8	98,0	97,5	98,0	98,4	97,5	97,5	99,2
20	25,7	25,7	25,2	25,3	25,2	25,5	25,3	25,4	15,7
1'	165,6	165,6	166,1	166,2	165,9	172,5	173,2	172,5	
2'	123,0	122,7	121,5	122,4	121,6	43,7	36,4	43,6	
3'	115,2	111,9	115,8	115,6	115,8	26,1	18,5	22,3	
4'	131,9	146,3	132,5	132,2	132,5	22,4	13,9	22,4	
5'	160,0	150,2	161,6	161,3	161,3	22,3			
6'	131,9	114,0	132,5	132,2	132,5				
7'	115,2	124,0	115,8	115,6	115,8				
1''							168,1		
2''							114,0		
3''							146,0		
4''							126,2		
5''							116,0		
6''							130,2		
7''							158,8		
8''							130,2		
9''							116,0		
6-OMe						57,1			
2-OAc					171,0 21,7				
7-OAc								171,6 20,9	
18-OAc	170,4 21,2	170,4 21,2	171,0 21,5	170,8 21,5	170,8 21,5	170,2 21,6	170,5 20,1	170,1 21,1	170,4 25,6
19-OAc	169,8 21,4	169,7 21,4	170,4 22,0	170,1 21,9	170,3 22,1	169,8 21,3	169,0 20,1	168,8 21,2	169,6 25,6

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	61 [7]	62 [7]	63 [7]	64 [7]	65 [7]	66 [7]	67 [7]	68 [7]	69 [8]
1	26,2	26,8	27,0	27,4	26,8	26,4	27,0	26,7	25,3
2	66,4	66,2	66,2	66,3	66,2	66,8	66,0	66,3	72,6
3	120,5	121,7	121,7	120,4	121,6	121,3	125,0	121,8	123,6
4	147,0	145,3	146,4	146,9	145,3	146,8	144,9	145,5	142,8
5	49,1	53,5	53,5	49,0	53,5	53,4	51,0	53,5	53,8
6	29,3	72,8	73,2	29,2	72,9	72,1	75,9	72,9	75,3
7	27,4	37,2	37,4	27,3	37,1	36,6	73,2	37,3	75,5
8	36,6	36,6	36,7	36,4	36,5	36,2	40,8	36,8	41,1
9	37,6	37,7	37,8	37,6	37,7	37,5	38,7	37,8	39,4
10	34,7	36,7	36,5	34,7	36,7	36,7	36,6	36,7	35,8
11	29,2	29,1	29,2	29,3	29,1	28,8	30,0	29,1	30,3
12	126,8	126,6	127,0	126,8	126,8	126,8	126,6	126,6	125,8
13	133,5	133,5	133,3	133,5	133,4	133,3	133,6	133,5	133,9
14	133,4	133,4	133,4	133,4	133,4	133,1	133,4	133,4	133,4
15	114,1	114,3	114,3	114,1	114,2	113,5	114,5	114,3	114,6
16	20,4	20,4	20,4	20,4	20,3	19,3	20,4	20,4	20,2
17	15,7	15,6	15,6	15,6	15,6	14,7	11,0	15,6	11,1
18	96,4	95,7	104,8	94,6	95,8	104,6	104,1	95,7	94,9
19	99,1	97,3	97,1	99,1	97,5	98,0	98,0	97,3	97,5
20	25,6	24,9	25,6	25,6	24,9	24,2	24,7	24,9	25,5
1'	173,2	173,1	173,4	173,3	173,3	173,4	173,1	172,5	174,3
2'	36,5	36,5	36,5	34,6	34,5	34,0	34,5	43,6	36,3
3'	18,7	18,6	18,6	31,1	31,1	31,0	31,3	22,3	18,6
4'	13,6	13,6	13,6	24,8	24,8	24,6	25,6	22,4	13,7
5'				22,3	22,2	22,0	22,4		
6'				13,9	13,9	13,0	13,8		
2-OMe									57,0
18-OMe			56,2			54,3	56,3		
18-OAc	170,3 21,2	170,2 21,3		170,3 21,2	170,8 21,4			170,1 21,2	170,2 21,2
19-OAc	169,5 21,2	169,3 21,2	170,1 21,5	169,5 21,2	169,3 21,2	170,1 20,5	169,5 21,4	169,2 21,3	169,0 21,3

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	70 [8]	71 [8]	72 [8]	73 [8]	74 [8]	75 [9]	76 [9]	77 [9]	78 [9]
1	25,4	29,5	29,5	29,5	29,5	24,6	28,8	28,9	25,6
2	72,5	63,6	63,8	64,0	63,9	72,7	63,9	64,0	72,6
3	125,5	127,4	125,5	125,3	125,3	122,7	124,5	124,4	123,5
4	141,3	141,2	142,8	143,9	143,7	144,2	144,1	144,3	142,9
5	52,9	52,8	53,8	53,7	53,6	49,7	49,6	49,7	53,8
6	74,0	74,0	75,3	75,3	75,3	34,2	34,2	34,3	75,2
7	72,7	72,7	75,4	75,8	75,6	71,4	71,2	71,3	75,4
8	41,0	41,1	41,2	41,2	41,1	41,0	41,1	41,2	41,1
9	39,3	39,3	39,5	39,5	39,4	39,5	39,5	39,6	39,4
10	36,7	36,1	35,4	35,2	35,2	33,9	33,3	33,4	35,8
11	30,2	30,2	30,3	30,4	30,3	30,3	30,3	30,3	30,3
12	125,8	125,7	125,7	125,9	125,9	125,9	125,7	125,7	125,8
13	133,9	134,1	134,0	133,9	133,9	133,8	134,0	134,0	133,9
14	133,3	133,3	133,4	133,4	133,4	133,4	133,4	133,4	133,4
15	114,6	114,8	114,7	114,6	114,5	114,4	114,6	114,5	114,6
16	20,3	20,3	20,3	20,3	20,3	20,2	20,3	20,3	20,2
17	11,0	11,0	11,1	11,1	11,1	10,7	10,7	10,7	11,1
18	94,9	94,9	95,6	103,7	103,6	94,5	94,4	94,2	95,6
19	97,7	97,7	97,6	97,6	97,2	99,1	99,1	99,1	97,5
20	25,4	25,5	25,4	25,5	25,4	25,7	25,8	25,8	25,4
1'	172,5	172,8	172,7	174,4	174,2	172,7	172,8	172,8	172,8
2'	36,1	34,3	36,4	34,5	36,3	36,4	36,4	36,4	36,3
3'	18,4	25,0	18,3	25,1	18,6	18,5	18,5	18,6	18,3
4'	13,8	29,2	13,6	29,7	13,7	13,7	13,7	13,7	13,5
5'		29,2		29,2					
6'		29,5		29,4					
7'		29,4		29,3					
8'		31,8		31,9					
9'		22,7		22,7					
10'		14,1		14,1					
1''			174,4					172,7	174,3
2''			26,4					36,3	36,4
3''			18,6					18,3	18,6
4''			13,7					13,6	13,7
2-OMe						56,9			57,0
18-OMe							56,3		
18-OEt				64,9 15,5	64,9 15,4				
6-OAc	170,1 21,4	170,2 21,4							
18-OAc	170,1 21,2	170,0 21,3				170,4 21,2	170,3 21,3		
19-OAc	169,1 21,0	169,0 21,1	168,9 21,3	169,4 21,4	169,4 21,3	169,2 21,2	169,1 21,2	169,0 21,2	169,0 21,3

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	79 [9]	80 [9]	81 [9]	82 [9]	83 [9]	84 [9]	85 [9]	86 [9]	87 [10]
1	26,8	25,4	29,5	25,5	25,4	25,4	29,5	40,7	25,2
2	65,9	72,6	63,6	72,5	72,5	72,5	63,6	197,6	72,6
3	122,0	126,2	126,0	125,4	125,4	125,5	127,3	124,7	132,4
4	144,5	141,6	141,5	141,4	141,4	141,4	141,2	163,5	142,0
5	53,6	52,8	52,7	52,9	52,9	52,8	52,8	54,9	46,0
6	74,9	72,3	72,1	74,0	73,7	74,1	73,9	74,7	36,1
7	75,4	76,9	76,8	72,7	72,8	73,2	72,7	75,7	73,9
8	41,0	43,2	43,1	41,0	41,0	41,0	41,1	40,8	41,9
9	39,2	39,1	39,0	39,3	39,2	39,3	39,3	39,9	40,0
10	36,1	36,8	36,2	36,7	36,7	36,7	36,2	35,5	36,1
11	30,1	30,2	30,2	30,1	30,1	30,2	30,2	29,8	30,6
12	125,5	125,2	127,0	125,8	125,8	125,8	125,6	124,9	125,5
13	134,0	133,8	133,8	133,9	133,9	134,0	134,1	134,6	133,3
14	133,2	133,3	133,3	133,3	133,3	133,3	133,3	133,1	132,9
15	114,7	114,6	114,6	114,6	114,7	114,7	114,8	115,2	116,0
16	20,3	23,0	20,2	20,2	20,3	20,3	20,3	20,4	20,2
17	11,0	11,2	11,2	11,0	11,1	11,1	11,0	11,1	11,0
18	95,6	95,1	94,8	94,7	95,0	95,0	94,9	95,0	172,6
19	97,4	97,8	97,8	97,7	97,7	97,7	97,7	97,3	97,6
20	25,3	25,5	25,5	25,0	25,5	25,4	25,5	24,6	25,4
1'	173,0	174,0	172,7	172,6	172,6		172,6	174,5	172,9
2'	36,4	36,5	36,3	36,1	36,1		36,1	36,3	36,0
3'	18,6	18,3	18,2	18,3	18,1		18,4	18,6	18,4
4'	13,5	13,7	13,5	13,5	13,8		13,7	13,7	13,7
1''			174,0	172,8	172,9				
2''			36,4	36,3	36,3				
3''			18,2	18,4	18,4				
4''			13,6	13,8	13,8				
2-OMe		57,1		57,0	57,1	57,1			56,5
18-OMe							56,3		
2-OAc	171,5 21,2								
6-OAc						170,0 21,0	170,0 21,2		
7-OAc						170,3 21,4			
18-OAc	170,0 21,1	170,3 21,5		170,3 21,4	170,2 21,4	170,1 21,3	170,2 21,4	169,5 21,2	
19-OAc	168,8 20,9	169,4 21,3	169,1 21,3	169,1 21,1	169,2 21,3	169,2 20,6	168,9 21,0	168,5 21,0	170,3 21,1

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	88 [10]	89 [11]	90 [11]	91 [12]	92 [14]	93 [14]	94 [14]	95 [14]	96 [15]
1	25,8	26,1	29,6	27,6	27,5	26,9	27,6	27,6	26,8
2	72,2	72,7	64,0	67,4	70,0	69,5	69,0	69,0	66,2
3	125,4	123,5	125,6	121,6	26,6	26,1	25,9	25,7	121,9
4	141,2	143,5	143,6	147,8	43,8	43,6	37,5	37,6	145,2
5	52,5	53,9	53,9	54,8	54,6	54,5	65,5	65,0	53,6
6	72,4	75,9	75,8	72,9	74,9	74,8	207,7	208,6	73,0
7	73,6	75,6	75,5	38,1	37,1	36,8	43,2	43,3	36,9
8	37,1	41,2	41,4	37,0	37,2	36,9	38,2	38,1	37,7
9	39,2	39,6	39,6	38,6	37,7	37,3	37,6	37,9	37,5
10	36,5	36,0	35,3	37,7	37,8	37,7	40,3	40,3	36,9
11	29,7	30,5	30,5	30,0	30,4	30,0	30,3	29,3	30,4
12	125,7	126,3	126,1	128,4	129,0	129,0	127,3	124,7	129,0
13	133,2	133,9	134,0	134,0	136,0	136,2	136,7	134,8	135,8
14	133,1	133,6	133,6	134,4	141,3	141,4	140,9	133,4	141,3
15	114,6	114,6	114,7	114,6	112,2	111,1	111,6	114,8	111,2
16	20,5	20,4	20,5	20,7	12,4	12,4	12,1	20,3	12,1
17	11,0	11,3	11,3	16,1	15,6	15,6	15,7	15,7	15,7
18	94,6	104,8	104,7	97,3	98,9	98,9	98,6	98,5	95,8
19	97,6	97,3	97,4	99,2	97,5	97,6	96,7	97,2	97,1
20	25,6	25,6	25,6	25,5	25,8	25,7	25,1	25,0	25,0
1'	172,0	174,4	174,5	173,3	167,9	176,5			175,9
2'	36,0	36,6	36,5	36,7	128,9	41,2			41,3
3'	18,9	18,8	18,8	19,2	137,7	26,5			27,2
4'	13,4	14,0	13,9	14,0	14,5	11,8			11,7
5'					12,4	16,4			16,7
1''				173,4					
2''				36,7					
3''				18,9					
4''				13,8					
2-OMe	57,0	57,0							
18-OMe		55,8	56,3						
2-OAc							170,8 21,0	171,0 21,0	
6-OAc	170,4 21,9								
18-OAc	170,2 21,4				169,8 21,2	169,6 21,1	169,4 21,0	169,1 21,0	170,2 21,5
19-OAc	170,0 21,0	169,8 21,6	169,6 21,5	170,0 22,0	169,5 21,7	169,3 21,5	168,9 21,0	168,6 21,0	169,5 21,3

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	106 [15]	107 [16]	108 [16]	109 [16]	110 [17]	111 [17]	112 [17]	113 [17]	114 [17]
1	26,3	26,1	26,1	26,1	26,3	26,3	26,3	26,0	26,0
2	70,5	70,4	70,4	70,5	70,8	65,9	66,6	70,7	66,0
3	124,3	124,1	124,2	124,1	123,3	123,3	123,3	123,8	123,8
4	143,9	144,3	144,2	144,3	145,3	145,3	145,3	144,3	144,3
5	53,9	53,5	53,5	53,4	52,7	52,7	52,7	53,3	53,3
6	74,6	74,0	74,0	74,0	82,7	82,7	82,7	73,8	73,8
7	37,3	37,6	37,6	37,6	31,5	31,5	31,5	37,5	37,5
8	37,9	36,8	36,8	36,8	36,1	36,1	36,1	36,6	36,6
9	39,3	38,5	38,5	38,5	38,3	38,3	38,3	38,2	38,2
10	44,8	41,3	41,3	41,3	41,4	41,4	41,4	41,2	41,2
11	36,9	28,7	28,7	28,7	29,9	29,9	29,9	29,9	29,9
12	80,9	126,3	126,3	126,3	128,9	128,9	128,9	128,6	128,6
13	147,6	133,7	133,8	133,7	135,5	135,5	135,5	135,7	135,7
14	135,2	133,3	133,3	133,3	141,1	141,1	141,1	141,0	141,0
15	116,2	114,4	114,4	114,4	110,9	110,9	110,9	110,9	110,9
16	116,2	20,3	20,3	20,3	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8
17	16,0	15,6	15,6	15,6	15,7	15,7	15,7	15,5	15,5
18	95,1	95,2	95,2	95,2	95,6	95,6	95,6	95,1	95,1
19	97,3	96,9	96,9	96,9	97,0	97,0	97,0	96,5	96,5
20	26,8	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	25,0	24,9	24,9
1'	175,9	176,9	176,5	173,6		176,4	166,1		176,4
2'	41,3	34,1	41,1	34,4		33,9	136,5		33,9
3'	27,1	18,9	26,8	24,9		19,1	125,5		19,1
4'	11,7	18,9	11,6	31,3		18,6	18,6		18,6
5'	16,5		16,5	22,2					
6'				13,9					
6-OMe					57,4	57,4	57,4		57,4
2-OAc					170,6			170,6	
					21,2			21,1	
18-OAc	170,5	170,1	170,0	170,0	170,1	170,1	170,1	169,9	170,1
	21,9	21,3	21,3	21,3	21,2	21,2	21,2	21,1	21,2
19-OAc	170,5	169,2	169,2	169,2	169,4	169,4	169,4	169,3	169,4
	21,3	21,2	21,2	21,2	21,7	21,7	21,7	21,5	21,7

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	115 [17]	116 [17]	117 [17]	118 [17]	119 [18]	120 [18]	121 [19]	122 [21]	123 [21]
1	26,0	26,1	26,1	26,1	36,1	27,5	30,7	26,9	26,2
2	70,7	70,5	65,8	66,5	199,8	67,0	63,9	66,1	66,4
3	123,8	124,1	124,1	124,1	124,6	122,7	128,6	121,4	120,5
4	144,3	144,0	144,0	144,0	145,7	145,3	141,8	145,1	145,4
5	53,3	53,3	53,3	53,3	51,1	52,5	53,4	53,1	49,4
6	73,8	73,7	73,7	73,7	30,6	77,3	74,5	81,9	29,4
7	37,5	37,6	37,6	37,6	28,3	73,9	34,2	31,1	27,3
8	36,6	36,6	36,6	36,6	37,4	37,1	37,7	36,9	37,3
9	38,2	38,6	38,6	38,6	38,4	39,6	38,4	37,4	37,3
10	41,2	41,7	41,7	41,7	39,8	43,1	37,5	36,4	34,3
11	29,9	31,3	31,3	31,3	27,7	32,3	29,2	27,8	28,2
12	128,6	150,5	150,5	150,5	24,3	129,6	25,0	23,8	23,7
13	135,7	141,2	141,2	141,2	145,7	136,4	146,9	146,1	147,3
14	141,0	194,1	194,1	194,1	140,9	141,9	141,4	140,4	140,5
15	110,9				113,6	111,9	113,0	112,1	112,1
16	11,8	9,5	9,5	9,5	116,0	12,7	115,7	115,5	115,4
17	15,5	15,5	15,5	15,5	16,3	11,8	16,1	15,8	15,8
18	95,1	95,1	95,1	95,1	94,4	96,5	96,2	96,0	94,5
19	96,5	96,8	96,8	96,8	100,1	98,3	99,1	98,3	99,6
20	24,9	24,9	24,9	24,9	25,9	26,1	25,8	25,5	26,1
1'	166,1		176,4	166,1		173,3	165,9	175,9	175,9
2'	136,5		33,9	136,5		44,2	116,0	41,1	41,3
3'	125,5		19,1	125,5		26,9	147,2	26,9	27,1
4'	18,6		18,6	18,6		23,1	128,0	11,6	11,7
5'	166,1					23,1	146,9	16,6	11,7
6'							33,6		
7'							29,3		
8'							32,2		
9'							23,2		
10'							14,3		
6-OMe	57,4							57,5	
2-OAc		170,7 21,1							
18-OAc	170,1 21,2	169,9 21,1	170,0 21,3	170,0 21,3	170,3 22,0	171,2 22,3	170,5 21,2	170,2 21,5	170,2 21,3
19-OAc	169,4 21,7	169,0 21,7	169,2 21,2	169,2 21,2	166,2 21,7	170,1 21,9	169,8 21,9	169,8 20,5	169,9 21,2

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	124 [21]	125 [21]	126 [21]	127 [21]	128 [22]	129 [23]	130 [23]	131 [23]	132 [23]
1	25,9	27,7	27,7	27,0	26,7	37,1	36,9	29,2	30,9
2	71,0	67,1	67,1	67,0	66,3	198,5	197,7	66,1	65,9
3	123,1	122,0	122,0	121,4	121,7	125,2	128,0	122,9	121,1
4	145,1	146,8	146,8	146,1	145,6	163,6	158,3	142,5	144,9
5	49,3	54,6	54,6	53,8	53,8	38,9	42,0	52,1	53,0
6	30,7	73,3	73,3	73,0	72,9	24,3	22,3	74,0	81,7
7	27,6	37,1	37,1	37,0	36,9	26,6	25,7	32,9	33,8
8	37,3	37,6	37,6	37,4	37,5	35,0	34,4	37,2	36,4
9	37,9	37,9	37,9	37,5	37,3	38,4	38,7	37,4	37,3
10	38,6	37,4	37,4	36,7	36,4	47,3	42,4	36,6	36,8
11	27,8	28,7	28,7	28,2	27,9	35,1	34,8	26,9	26,7
12	23,6	24,7	24,7	24,0	23,7	29,2	23,4	23,9	27,8
13	145,5	146,0	146,0	145,4	145,0	146,9	146,7	144,3	146,1
14	140,3	141,3	141,3	140,5	140,4	138,9	138,7	140,3	140,2
15	112,4	112,5	112,5	112,6	112,0	113,0	112,9	112,4	111,9
16	115,0	116,4	116,4	115,5	115,5	115,2	115,2	115,4	115,3
17	15,5	16,1	16,1	14,3	15,6	14,3	14,0	15,5	15,6
18	93,7	96,8	96,8	95,8	95,3	62,2	62,5	95,3	95,9
19	98,9	99,3	99,3	98,2	97,9	31,7	71,3	98,3	98,1
20	26,1	25,7	25,7	25,4	25,3	22,6	22,3	25,3	25,3
1'	173,2	173,3	173,3	172,4	175,7				176,2
2'	34,8	34,9	32,6	42,0	41,2				36,8
3'	24,6	32,4	30,4	68,4	26,9				26,7
4'	31,3	30,2	30,2	36,8	11,5				18,8
5'	22,3	29,7	30,1	29,7	16,6				11,3
6'	13,9	29,6	29,6	32,0					
7'		23,4	23,4	22,8					
8'		14,6	29,6	14,2					
9'			25,7						
10'			23,3						
11'			14,6						
1''					172,5				
2''					36,2				
3''					18,2				
4''					13,5				
6-OMe									57,3
6-OAc								170,3 21,6	
18-OAc	169,7 21,2	170,4 22,0	170,4 22,0	170,3 21,3		170,1 20,6		169,8 21,3	169,9 21,3
19-OAc	169,5 21,2	169,8 21,2	169,8 21,2	169,9 21,1	169,5 21,3			169,8 21,1	169,4 21,0

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	133 [23]	134 [23]	135 [23]	136 [24]	137 [24]	138 [24]	139 [24]	140 [24]	141 [26]
1	30,9	30,0	26,9	28,5	27,1	28,5	27,1	26,9	26,1
2	65,9	67,2	70,4	69,2	70,7	68,8	70,4	70,3	70,0
3	121,1	30,1	29,6	26,1	27,0	26,2	27,1	27,2	153,5
4	144,9	46,1	46,8	37,9	47,0	37,9	47,0	47,0	147,7
5	53,0	50,0	49,9	65,7	50,0	65,8	50,1	50,1	56,1
6	81,7	23,9	23,9	207,9	33,5	208,0	33,5	33,5	72,9
7	33,8	27,2	27,2	43,3	27,4	43,3	27,4	27,4	37,2
8	36,4	37,7	37,8	39,0	38,0	39,0	38,0	38,0	35,7
9	37,3	37,0	37,2	37,7	37,3	37,7	37,4	37,4	38,7
10	36,8	35,3	35,3	40,1	35,4	40,1	35,4	35,4	45,1
11	26,7	33,1	33,3	27,9	28,1	27,8	28,2	28,2	32,3
12	27,8	28,0	28,1	23,9	24,0	23,9	24,0	24,0	23,5
13	146,1	145,4	145,4	145,0	145,5	145,0	145,5	145,5	146,5
14	140,2	140,2	140,1	140,2	140,4	140,2	140,5	140,5	139,4
15	111,9	112,3	112,3	112,9	112,6	112,9	112,6	112,7	113,2
16	115,3	115,1	115,1	115,7	115,5	115,7	115,5	115,5	116,1
17	15,6	15,5	15,5	16,0	15,8	16,0	15,7	15,8	15,7
18	95,9	98,4	100,0	98,8	98,4	98,8	100,3	100,3	196,2
19	98,1	100,1	98,2	97,7	100,3	97,7	98,4	98,4	202,2
20	25,3	26,5	26,5	25,6	26,8	25,6	26,8	26,8	26,2
1'	175,6					176,9	176,5	176,4	176,1
2'	36,7					41,2	34,2	41,3	41,2
3'	16,4					27,0	19,2	27,0	26,9
4'	16,3					11,8	19,2	11,3	11,9
5'								16,7	16,7
6-OMe	57,3								26,1
2-OAc			169,6	171,0	170,0				
			21,2	21,5	21,6				
18-OAc	169,9	169,5	169,6	169,3	169,9	169,6	171,0	170,1	
	21,1	21,3	21,2	21,4	21,5	21,5	21,3	21,2	
19-OAc	169,4	169,0	167,8	169,2	169,8	169,4	170,0	170,0	
	20,8	20,8	20,9	21,2	21,2	21,4	21,2	21,1	

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]								
	142 [26]	143 [27]	144 [27]	145 [27]	146 [27]	147 [29]	148 [29]	149 [29]	150 [29]
1	27,1	30,4	31,2	30,5	30,1	23,9	18,5	18,1	18,2
2	70,1	67,6	66,4	66,3	67,7	74,1	27,5	27,7	27,8
3	127,2	30,2	29,5	29,3	30,3	132,5	137,0	137,1	137,2
4	145,7	46,4	37,4	37,4	46,2	147,0	143,4	144,0	143,8
5	54,0	50,3	66,0	65,8	50,2	38,9	38,3	38,4	38,4
6	72,8	33,4	208,0	208,0	33,2	36,3	36,0	36,7	37,0
7	36,1	27,4	43,4	43,4	27,6	27,8	27,7	27,9	28,1
8	36,4	38,0	36,4	38,2	37,3	36,8	38,1	36,9	36,9
9	38,3	37,3	37,6	37,8	37,6	39,0	41,4	40,1	39,3
10	42,1	35,8	40,5	40,8	36,4	42,6	49,1	47,4	47,5
11	27,6	28,2	28,5	31,0	30,5	36,4	39,4	36,4	36,8
12	24,1	24,0	24,0	127,7	129,6	19,2	138,2	19,8	20,3
13	145,0	145,5	145,0	136,7	135,8	134,8	127,3	141,0	141,0
14	140,5	140,5	140,3	141,1	141,5	145,4	33,3	126,8	134,9
15	112,7	112,5	112,8	111,6	110,8	71,0	103,2	171,6	51,7
16	115,7	116,0	115,8	12,2	12,1	175,0	170,0	172,5	171,8
17	15,9	15,8	16,0	16,0	15,8	16,3	16,6	16,4	16,5
18	98,8	98,7	99,1	99,2	98,7	170,5	170,0	170,1	170,2
19	103,9	100,4	97,8	97,0	99,6	19,5	20,9	21,3	21,4
20	25,8	26,8	25,6	25,3	26,6	18,6	17,9	18,7	18,9
1'	176,0							39,4	44,8
2'	41,3							34,4	34,9
3'	26,9							129,3	130,2
4'	11,8							130,7	130,6
5'	16,8							116,7	116,7
6'								157,9	157,9
7'								116,7	116,7
8'								130,7	130,6
15-OMe							56,7		
2-OMe						56,9			
19-OMe	56,3								
18-OAc	169,9 21,5	170,0 21,6	169,5 21,5	170,0 21,5	170,0 21,7				
19-OAc		169,9 21,2	169,4 21,2	169,2 21,2	169,9 21,2				

TABELA 2. Continuação.

carbono	Substância, δ_c (ppm) [Ref.]					
	151 [29]	152 [30]	153 [30]	154 [30]	155 [30]	156 [30]
1	17,6	28,8	17,6	17,3	17,7	17,9
2	17,4	68,8	27,8	25,4	35,7	27,7
3	140,2	143,2	139,7	141,2	81,0	139,6
4	141,6	142,0	142,3	138,5	158,3	143,1
5	37,8	39,0	39,0	40,7	40,6	39,3
6	36,0	35,7	36,2	35,5	38,7	38,1
7	27,5	27,5	23,3	28,4	27,7	27,7
8	36,5	36,4	45,4	38,2	37,0	36,6
9	39,0	38,8	38,4	37,0	39,7	38,3
10	46,9	45,9	47,5	45,7	49,4	47,0
11	36,3	36,1	36,2	37,2	32,9	36,2
12	19,2	22,6	23,2	22,4	22,5	22,4
13	135,1	172,3	172,9	172,8	172,7	142,1
14	143,6	115,3	115,5	115,2	115,1	125,9
15	70,2	174,7	175,0	174,8	174,8	58,8
16	174,3	73,8	74,0	73,8	73,8	66,4
17	16,0	16,3	64,0	16,2	16,4	16,4
18	174,2	165,9	166,0	166,9	110,9	165,7
19	20,7	21,1	21,6	33,9	22,6	21,2
20	18,2	18,7	19,7	18,3	18,6	18,7
1'		96,1	96,1	96,0	102,9	95,9
2'		74,5	74,8	74,4	75,8	74,5
3'		79,0	79,2	79,0	79,1	78,8
4'		71,4	71,6	71,5	72,3	71,3
5'		80,0	80,0	78,0	77,5	79,8
6'		62,4	62,7	68,5	69,2	62,4
1''				111,4	111,3	
2''				78,2	78,2	
3''				80,8	80,8	
4''				75,4	75,3	
5''				66,0	66,0	

As características marcantes nos deslocamentos químicos de carbono do esqueleto clerodânico são observadas para os valores dos carbonos C-18 e C-19 do anel C que podem variar de δ 95,0-104,0 e δ 96,0-103,0, respectivamente. Os valores entre δ 120,0-132,0 e δ 142,0-149,0, correspondentes a C-3 e C-4, respectivamente, referentes a carbonos de uma ligação dupla presente em quase todos os diterpenos, porém alguns não apresentam a ligação dupla (por exemplo, **144**, **145**, **146** e **147**, dentre outros).

Estes diterpenos são típicos *cis*-clerodanos (junção *cis* entre os anéis A e B e relação *trans* entre H-10 e Me-20), com configuração *trans* entre Me-17 e Me-20. A estereoquímica observada nos carbonos 2, 6, 7, 18 e 19 (substituintes oxigenados) apresenta variações. As configurações absolutas foram definidas para apenas dez diterpenos desse grupo, relacionados nas informações adicionais da Tabela 1. O dieno presente na cadeia lateral em C-9 apresenta como característica constante a ligação dupla terminal em C-14, enquanto a outra ligação dupla conjugada à anterior pode diferir quanto à posição e à estereoquímica: 12*E* (ex. Figura 1a), 12*Z* (ex. Figura 1c) ou, ainda, em 13(16) formando um dieno *S-cis* (ex. Figura 1b). Em alguns diterpenos ocorre uma hidroxilação em C-12 (caseamembrol B e casearlucinas H-K). Em um caso mais específico, foram isolados de *C. corymbosa* três diterpenos com ausência do C-16, correspondendo assim a um *nor*-diterpeno e com a presença de um grupo aldeído em C-14 (corimbotinas G-I) (Figura 2d).

Nas posições 2, 18 e 19 sempre há a presença de substituintes oxigenados. Em C-2 ocorrem principalmente ésteres, e menos frequentemente hidroxilas, metoxilas e carbonilas. Especialmente nas posições 18 e 19 existe grande predominância de grupos acetato, observando-se raramente grupos butanoato, metoxílicos, etoxílicos e carbonílicos. Com relação aos substituintes das posições 6 e 7, nota-se a mesma diversidade que em C-2, sendo que em muitos casos, especialmente na posição 7, há a ausência deles.

O anel C tetraidrofurânico diacetálico, altamente oxigenado, constitui-se num arranjo de funcionalidade observado em poucas substâncias na natureza e pode ser visto como um dialdeído protegido. Alguns pesquisadores observaram a abertura do anel diacetálico com formação do dialdeído e relacionaram a geração deste artefato com o uso de CDCl₃ em experimentos de RMN, devido à presença de traços de HCl e H₂O (BEUTLER et al., 2000b; SANTOS et al, 2010; WILLIAMS et al., 2007). TININIS (2006) comparou a estabilidade da caseargrewiina F (chamada pelo autor de casearina V), isolada de *C. sylvestris*, em diferentes solventes deuterados (DMSO-d₆, acetona-d₆, CD₃OD, piridina-d₅ e CDCl₃), confirmando a hipótese da sua degradação apenas em CDCl₃. Segundo estes autores, é possível observar nos espectros de RMN de ¹H o desaparecimento gradual dos sinais dos hidrogênios acetálicos e o surgimento dos sinais de hidrogênios aldeídicos, quando a amostra é mantida por alguns dias em CDCl₃. No entanto, foram encontradas na literatura

substâncias consideradas naturais - caseamembrinas F, J, K, diterpeno 143 (MOSADDIK; WATERMAN, 2006a; SHEN et al., 2005a; SHEN et al., 2004a; Tabela 1 e Figura 3) e laetiaprocerina D (JULLIAN et al., 2005), mas que devem tratar-se na realidade de artefatos, já que os pesquisadores utilizaram CDCl_3 nos experimentos de RMN. Outros 14 diterpenos clerodânicos isolados de espécies de *Casearia* não possuem o anel diacetálico (C) típico e são menos oxigenados.

Do ponto de vista farmacológico, a gama de variações em torno de um esqueleto básico encontrada nos diterpenos de *Casearia* fornece modelos muito interessantes para estudos de relação estrutura-atividade para as ações biológicas destas substâncias.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos isolar e elucidar as estruturas de constituintes químicos de quatro espécies de *Casearia* (*C. gossypiosperma*, *C. obliqua*, *C. rupestris*, *C. decandra*), visando contribuir com o estudo fitoquímico destas espécies ainda não estudadas, bem como avaliar as atividades antioxidante, anticolinesterásica, antifúngica e citotóxica dos extratos e/ou das substâncias isoladas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Solventes e equipamentos

Foram utilizados solventes (hexano, acetato de etila, metanol e clorofórmio) grau técnico adquiridos no mercado e/ou destilados no Instituto de Química em destiladores de vidro com colunas de fracionamento de bolas com 2 m de altura, água ultra pura (18 M Ω) obtida no sistema Milli-Q Plus e solventes J. T. Backer grau cromatográfico (metanol e acetonitrila) para análises via CLAE.

Os extratos e frações foram concentrados em evaporador rotatório da Büchi® modelo R-114 RE, com banho termostatizado (aquecimento) Büchi® modelo B-480, banho ultratermostatizado (refrigeração) Marconi® modelo MA184 e bomba de “vácuo” Büchi® modelo V-500 com condensador secundário.

Para dissolução dos extratos e frações foi utilizado um banho de ultrassom ELMA®, modelo TRANSSONIC 700, frequência de 35 KHz. As massas das amostras foram determinadas em balança analítica Mettler® Toledo modelo AG245 (máx. 210 g; d = 0,1 mg) e semi-analítica Gehaka®, modelo BG2000 (máx. 2.020 g; mín. 0,50 g; d = 0,01 g).

3.2. Cromatografia em camada delgada

As placas para cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) foram preparadas com sílica gel 60 PF₂₅₄ (Merck®, 90% < 45 μ m). Para revelação das substâncias, as cromatoplas foram expostas a vapores de iodo, irradiação de luz ultravioleta com λ 254 e 366 nm em gabinete CAMAG, e/ou nebulização com anisaldeído sulfúrico (0,5 mL de anisaldeído misturado com 10 mL de ácido acético glacial, 85 mL de MeOH e 5 mL de ácido sulfúrico concentrado). O aquecimento das cromatoplas borrifadas com anisaldeído foi feito em estufa da Marconi® modelo MA 033/3 (50 °C por 3 min).

3.3. Cromatografia em coluna

As colunas cromatográficas de baixa pressão foram preparadas utilizando gel de sílica, com tamanhos de partícula de 60-200 μ m e 35-70 μ m; ambos da Acros Organics® Bélgica (reembalado por Ultra Chem® Ind. e Com. de Prod. Químicos

Ltda) ou octadecilsilano LiChroprep[®] RP-18 40-63 μm da Merck ou gel polimérico Sephadex LH-20 (Pharmacia Biotech) ou Amberlite XAD-4 (Aldrich).

3.4. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em escala analítica, foram utilizados os seguintes equipamentos:

a) Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE-DAD)

Cromatógrafo analítico Varian Prostar com sistema ternário de bombas modelo 240, detector UV – visível “Diode Array” (DAD) modelo 330 e injetor automático modelo 410. Colunas Phenomenex – modelo Luna e Gemini C18(2), (250 x 4,6 mm, 5 μm), sem pré coluna.

b) Cromatógrafo líquido de alta eficiência UV/Vis (CLAE-UV)

Cromatógrafo analítico Varian, modelo *Prep star*, com detector UV-Vis de comprimento de onda variável modelo 310, bomba ternária modelo 230, injetor manual Rheodyne modelo 7725i com alça de amostra de 20 μL , aquisição de dados via computador tipo *Pentium III* 550 MHz utilizando software Varian *Star Chromatography Workstation*, versão 5.31. Coluna Phenomenex – modelo Luna e Gemini C18(2), (250 x 4,6 mm, 5 μm), sem pré coluna.

c) Cromatógrafo líquido de alta eficiência preparativo (CLAE-Prep)

Para cromatografia líquida de alta eficiência em escala preparativa foi utilizado o seguinte equipamento: cromatógrafo preparativo Varian, modelo *Prep star* SD-1, com detector UV-VIS modelo 320, injetor manual Rheodyne modelo 7725i com alça de amostra de 2,5 mL, aquisição de dados via computador tipo *Pentium III* 550 MHz utilizando software Varian *Star Chromatography Workstation*, versão 5.31. Coluna Phenomenex – modelo Luna C18(2), (250 x 21,20 mm, 10 μm) e Coluna Phenomenex – modelo Gemini C18(2), (250 x 21,20 mm, 5 μm), ambas sem pré coluna.

3.5. Preparo das amostras para análise via CLAE (*Clean-up*)

Todos os extratos e frações cromatográficas analisadas via CLAE foram submetidas a um pré-tratamento (*clean-up*), utilizando uma mini-coluna (1,0 x 3,5 cm – Bakerbond spe 7020-03, C-18, 25-40 μm , J. T. Baker) e membrana filtrante de

fluoreto de polivinilideno (PVDF) com 0,45 μm (MilexTM) de dimensão de poro. A coluna foi ambientada com o solvente MeOH/H₂O (1:1) e logo em seguida a amostra foi aplicada, sendo então eluída com 1 ou 5 mL de MeOH em escala analítica e preparativa, respectivamente.

3.6. Espectroscopia de absorção no UV e IV

Nas análises realizadas por espectrometria de absorção eletrônica no UV-Vis foram utilizados um espectrômetro Hewlett Packard 8453 A e um HITACHI U-2000, em ambos utilizou-se cubetas de quartzo com caminho ótico de 1 cm e concentração em mg/mL.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos nos espectrofotômetros Nicolet Impact 400 e Perkin-Elmer 2000, no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , utilizando a técnica de pastilha de KBr ou sólido direto.

3.7. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN uni e bidimensionais foram obtidos em espectrômetro:

- a) Varian[®] INOVA 7,4 T operando a 300 MHz para ¹H e a 75 MHz para ¹³C.
- b) Varian[®] INOVA 11,7 T operando a 500 MHz para ¹H e a 125 MHz para ¹³C.

Os solventes utilizados na dissolução das amostras para obtenção dos espectros foram D₂O, (CD₃)₂SO, CDCl₃ e CD₃OD da CILTM e Sigma-AldrichTM com pureza $\geq 99,8\%$. Como referência interna para ¹H foi usado o solvente residual não deuterado DHO, (CH₃)₂SO, CHCl₃ e CH₃OH em δ 4,68; 2,49; 7,20 e 3,33, respectivamente, ou tetrametilsilano (TMS) em δ 0,00.

3.8. Espectrometria de massas

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um espectrômetro Bruker DaltonicsTM ultrOTOFG com ionização nos modos positivo e negativo por ESI utilizando-se N₂ como gás nebulizador e com analisadores do tipo quadrupolo e tempo de voo em diferentes voltagens e com distintas energias de colisão. Utilizou-se para calibração interna solução de trifluoroacetato de sódio 10 mg/mL.

3.9. Polarímetro e espectrômetro de dicroísmo circular

As medidas de rotação específica foram obtidas utilizando-se um polarímetro Perkin-ElmerTM 341 LC e Jasco P-1020 Polarimeter, com caminho ótico de 10 e 1 cm, respectivamente, com soluções das amostras (c. em g/100 mL) em celas de quartzo. As curvas de dicroísmo circular (DC) foram obtidas em um espectrômetro JASCOTM CD-2095, com soluções das amostras (c. em mg/mL).

4. EXPERIMENTAL

4.1. Coleta e Preparação de extratos

As espécies *Casearia gossypiosperma*, *Casearia obliqua*, *Casearia rupestris* e *Casearia decandra* foram coletadas na fazenda Monjolinho, anexa ao Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas – SP, e identificadas sob a supervisão da Dra. Roseli Buzanelli Torres. Amostras dessas espécies foram herborizadas no Herbário do IAC (Tabela 3). Os órgãos coletados foram separados em folhas e galhos e secos em estufa de ar circulante à 40 °C e em seguida pulverizados em moinho de facas. Foram realizadas extrações (3 x 1,0 L) com hexano, EtOH e água, sucessivamente, em banho de ultrassom durante 20 minutos, com diferentes massas do material vegetal (Quadro 1).

TABELA 3. Dados das coletas.

Planta	Data da Coleta	Hora	Local	GPS	N IAC	Coletor(es)*	Vegetação	Flor/Fruto
<i>C. gossypiosperma</i> Briq	29/05/2007	16:00 h	Campinas-SP (Parque IAC)	S 22°53'27.6"	IAC 38438	G.M.V.J.	Mata Atlântica	brotos
				W 47°03'48.8"		A.J.C.		
						R.B. Torres		
<i>C. obliqua</i> Spreng	29/05/2007	11:00 h	Campinas-SP (Bosque dos Jequitibás)	S 22°54'35.1"	IAC 46529	G.M.V.J.	Mata Atlântica	folhas doentes
				W 47°03'00.8"		A.J.C.		
						R.B. Torres		
<i>C. rupestris</i> Eichler	22/06/2007	9:00 h	Campinas-SP (Faz. Monjolinho)	S 22°51'49.7"	IAC 41542	G.M.V.J.	Mata Atlântica	frutos secos no chão
				W 47°05'18.2"		A.J.C.		
						R.B. Torres		
<i>C. decandra</i> Jacq.	22/06/2007	10:00 h	Campinas-SP (Faz. Monjolinho)		IAC 42645	A. Geremias	Mata Atlântica	brotos
						G.M.V.J.		
						A.J.C.		
						R.B. Torres		
						A. Geremias		

*G.M.V.J. – Gerardo Magela Vieira Júnior, A.J.C. – Alberto José Cavaleiro, R.B. Torres – Roseli Buzanelli Torres, A. Geremias – Antônio Geremias.

Quadro 1. Rendimento dos extratos obtidos em hexano, EtOH e água.

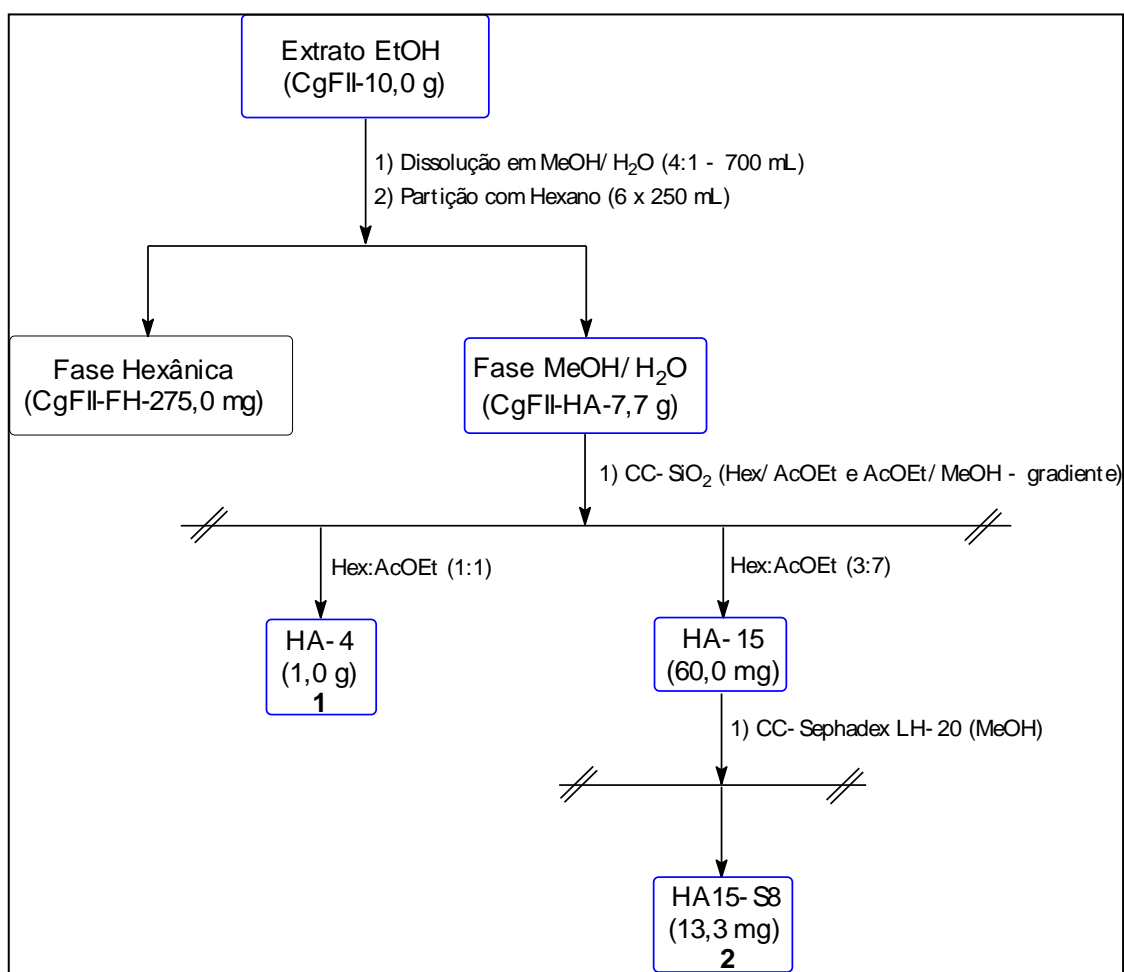
Espécie	Órgão da planta	Massa de material vegetal (g)	Extrato (código)	Massa (g) (rendimento %)
<i>C. gossypiosperma</i> (Cg)	Galhos (G)	1400	Hexânico (CgGI)	2,2 (0,15)
			EtOH (CgGII)	16,0 (1,13)
			Aquoso (CgGIII)	50,0 (3,56)
	Folhas (F)	1400	Hexânico (CgFI)	10,8 (0,75)
			EtOH (CgFII)	45,3 (3,17)
			Aquoso (CgFIII)	22,8 (1,61)
<i>C. obliqua</i> (Co)	Galhos (G)	534,4	Hexânico (CoGI)	0,9 (0,17)
			EtOH (CoGII)	9,3 (1,75)
			Aquoso (CoGIII)	31,8 (5,96)
	Folhas (F)	94,7	Hexânico (CoFI)	1,5 (1,63)
			EtOH (CoFII)	8,0 (8,54)
			Aquoso (CoFIII)	6,8 (7,19)
<i>C. rupestris</i> (Cr)	Galhos (G)	745,0	Hexânico (CrGI)	1,6 (0,21)
			EtOH (CrGII)	11,3 (1,52)
			Aquoso (CrGIII)	14,4 (1,93)
	Folhas (F)	460,0	Hexânico (CrFI)	14,7 (3,20)
			EtOH (CrFII)	29,8 (6,47)
			Aquoso (CrFIII)	18,2 (3,95)
<i>C. decandra</i> (Cd)	Galhos (G)	850,0	Hexânico (CdGI)	0,4 (0,04)
			EtOH (CdGII)	13,7 (1,61)
			Aquoso (CdGIII)	25,0 (2,94)
	Folhas (F)	355,0	Hexânico (CdFI)	5,0 (1,42)
			EtOH (CdFII)	21,5 (2,94)
			Aquoso (CdFIII)	53,3 (15,0)

4.2. Partição e fracionamento do extrato EtOH de *Casearia gossypiosperma* (CgFII)

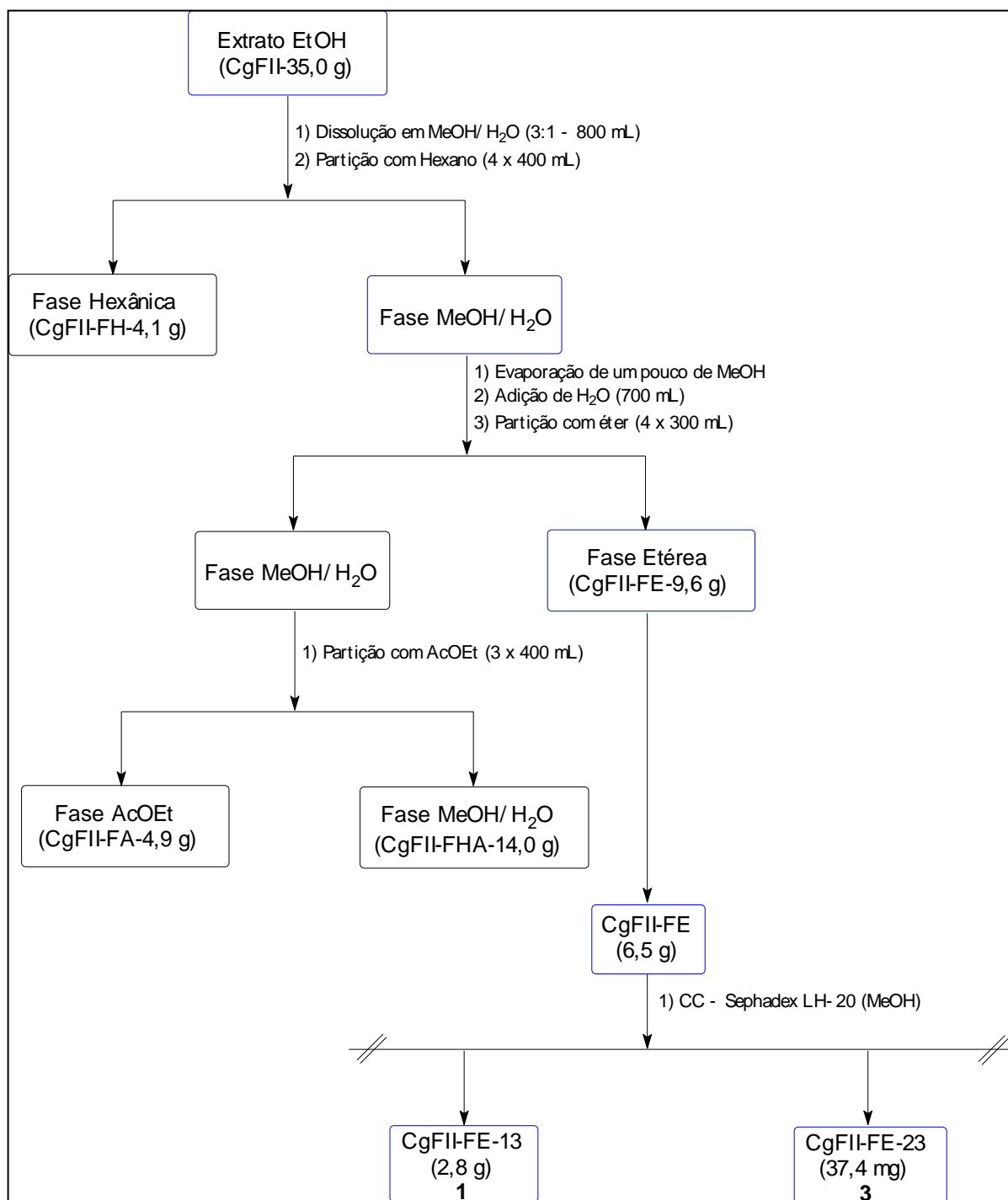
O extrato EtOH das folhas (CgFII - 10 g) foi submetido a partição líquido-líquido com hexano e MeOH/água (4:1) (Esquema 1). Posteriormente a fração MeOH/H₂O (7,7 g) foi cromatografada em coluna de gel de sílica (24 x 4,5 cm, 60-200 µm, 180 g), eluída com hexano, AcOEt e MeOH, em ordem crescente de polaridade (Esquema 1). Coletou-se 60 frações, de aproximadamente 500 mL, as quais depois de concentradas e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com os fatores de retenção (R_f) e a cor observada no cromatoplaça, após

revelação com anisaldeído. Na fração HA-4 (1,0 g) foi obtido o composto **1**. A fração HA-15 (60,0 mg) foi recromatografada em coluna de Sephadex LH-20 (40,0 x 3,0 cm), utilizando MeOH como eluente resultando no isolamento do composto **2** (13,3 mg) (Esquema 1).

O extrato EtOH (CgFII - 35 g) também foi submetido a partição líquido-líquido com hexano, éter etílico e acetato de etila, respectivamente (Esquema 2). A fase etérea (CgFII-FE – 6,5 g) foi cromatografada em coluna de Sephadex LH-20 (78,0 x 3,0 cm), eluída com metanol (Esquema 2). Foram coletadas 95 frações, de aproximadamente 40 mL, as quais depois de concentradas e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com a cor e fator de retenção observados no cromatoplaça. Na fração CgFII-FE13 (2,8 g) foi obtido novamente o composto **1** e na fração CgFII -FE23 foram isoladas 34,7 mg da substância **3** (Esquema 2).



Esquema 1. Fracionamento do extrato EtOH (CgFII) das folhas de *C. gossypiosperma*.



Esquema 2. Fracionamento do extrato EtOH (CgFII) das folhas de *C. gossypiosperma*.

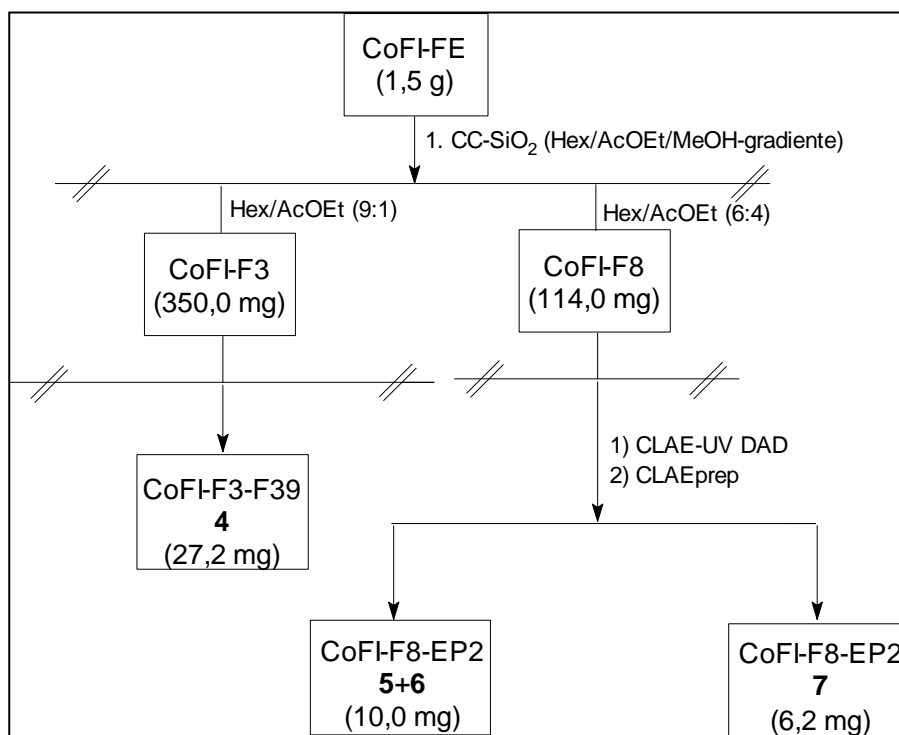
4.3. Fracionamento do extrato aquoso de *Casearia gossypiosperma* (CgFIII)

O extrato aquoso das folhas (CgFIII – 20,0 g) foi cromatografado em coluna de Amberlite XAD-4 (8,5 x 9,4 cm, 20-60 mesh), empregando-se como eluentes água, água-metanol (1:1) e metanol. Foram coletadas 8 frações, sendo que na fração CgFIII -7 (581,0 mg), eluída com metanol, foi isolada a substância **1**.

4.4. Fracionamento do extrato hexânico de *Casearia obliqua* (CoFI)

O extrato hexânico das folhas (CoFI – 1,5 g) de *C. obliqua* foi cromatografado em coluna de gel de sílica (15 x 4,5 cm – 35-70 µm, 200 g), empacotada com hexano e eluída com hexano, acetato de etila e metanol, em ordem crescente de polaridade (Esquema 3). Foram coletadas 15 frações, de aproximadamente 300 mL, as quais foram analisadas por CLAE-UV DAD e CCD de gel de sílica.

A fração CoFI-F3 (350,0 mg), eluída em hexano-AcOEt (9:1) foi recromatografada em coluna de gel de sílica (21 x 2,8 cm – 60-200 µm, 57,0 g), eluída em hexano-acetato de etila em ordem crescente de polaridade, resultando no isolamento de **4** na fração CoFI-F3-F39 (27,2 mg) (Esquema 3).



Esquema 3. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico (CoFI) das folhas de *C. obliqua*.

A fração CoFI-F8 (114,0 mg), eluída em hexano-AcOEt (6:4), foi analisada em CLAE-UV DAD, eluída em gradiente H₂O/MeOH (65% → 100%; em 50 min. e 100% até 60 min., 1 mL/min, coluna Phenomenex – modelo Luna C18(2), 250 x 4,6 mm, 5 µm, 200-800 nm). O cromatograma de EHII-F8 apresentou dois picos com tempos de retenção de 34,6 e 35,6 minutos e absorções máximas em 243 nm e 239 / 282 nm, respectivamente (Figura 7).

As substâncias presentes em CoFI-F8 foram purificadas em CLAE-Prep, utilizando coluna de fase reversa Phenomenex Luna C18(2) (250 x 21,20 mm, 10 µm), eluídas em H₂O:MeOH (22:78) (254 nm, 14 mL/min) através de múltiplas injeções (Figura 8). Foram obtidas uma mistura de substâncias **5+6** e a substância **7** nas frações CoFI-F8-EP2 (10,0 mg) e CoFI-F8-EP3 (6,2 mg), respectivamente (Esquema 3).

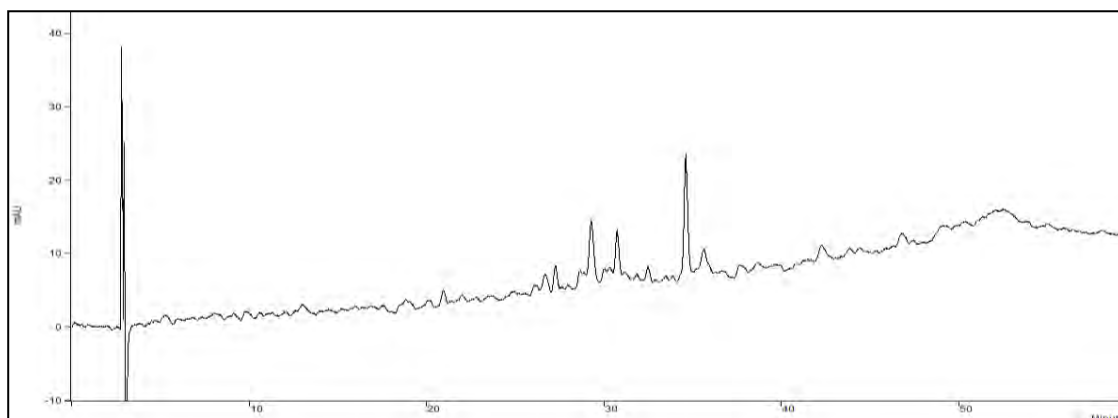


Figura 7. Cromatograma analítico (CLAE-DAD) em coluna C-18 da fração CoFI-F8.

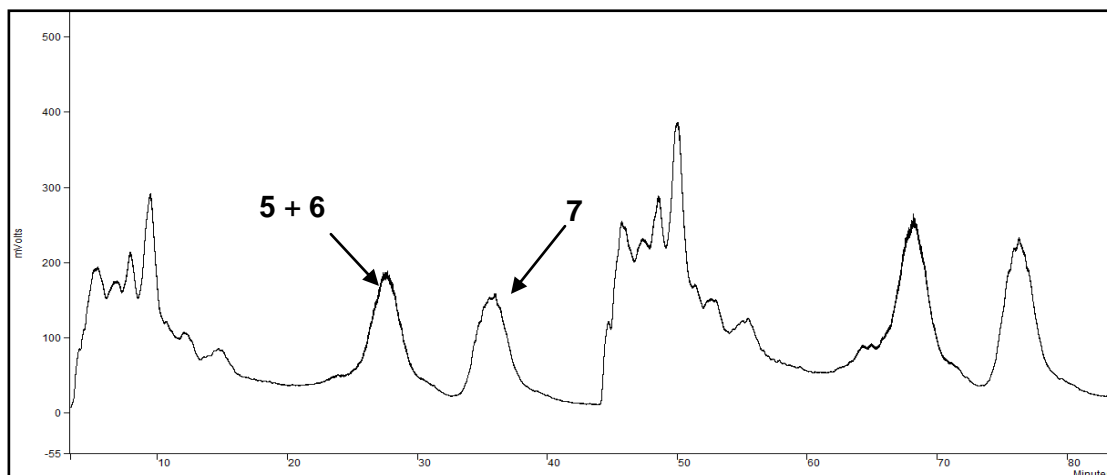
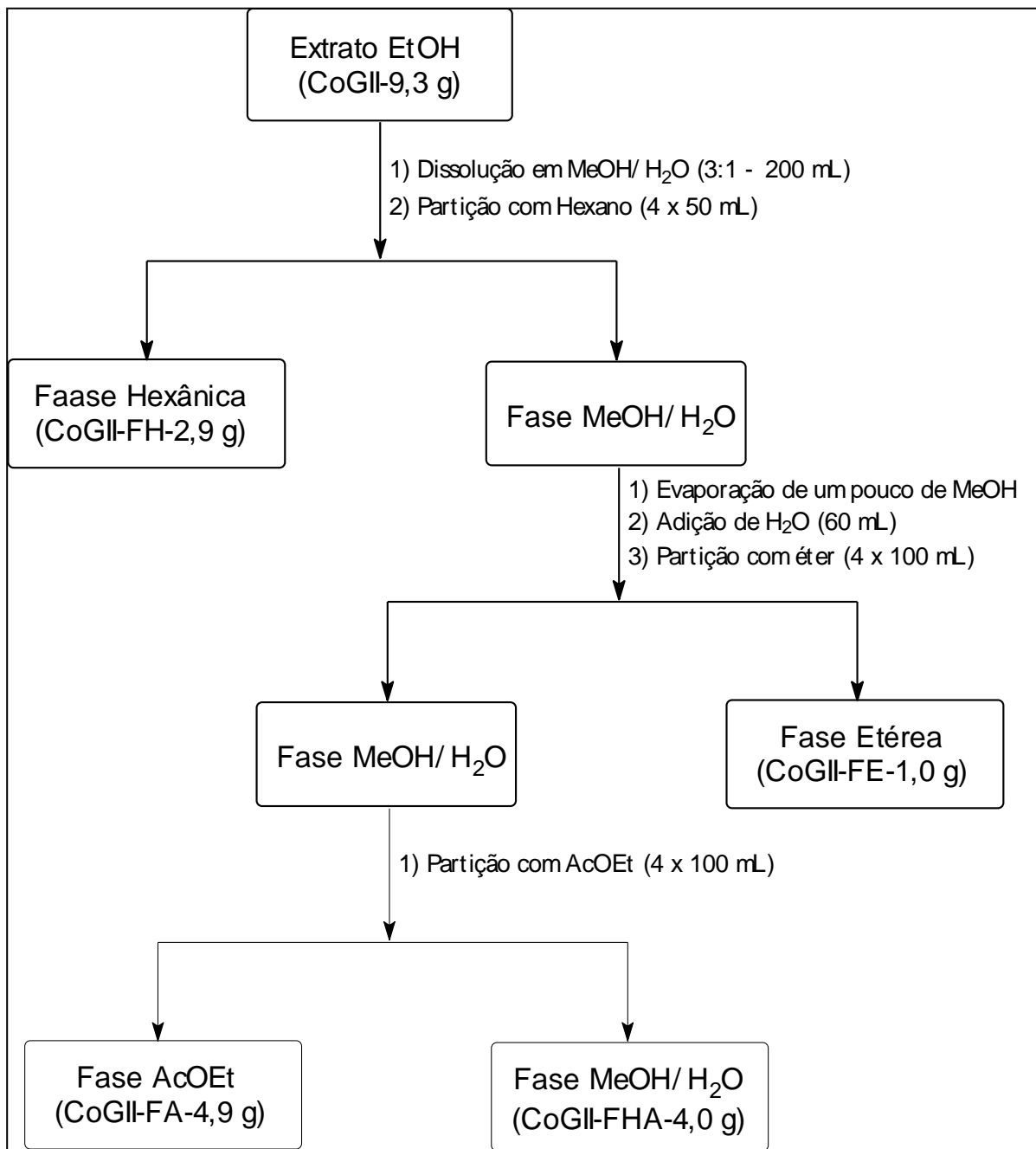


Figura 8. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CoFI-F8, H₂O/MeOH (22:78), 254 nm, 14 mL/min.

4.5 Partição do extrato EtOH de *Casearia obliqua* (CoGII)

O extrato EtOH dos galhos (CoGII - 9,3 g) de *C. obliqua* foi submetido a partições sucessivas com diferentes solventes orgânicos, originando as fases hexânica, etérea, AcOEt e MeOH/H₂O (Esquema 4).



Esquema 4. Fluxograma da partição do extrato EtOH (CoGII) dos galhos de *C. obliqua*.

4.6. Fracionamento da fase etérea do extrato EtOH de *Casearia obliqua* (CoGII-FE)

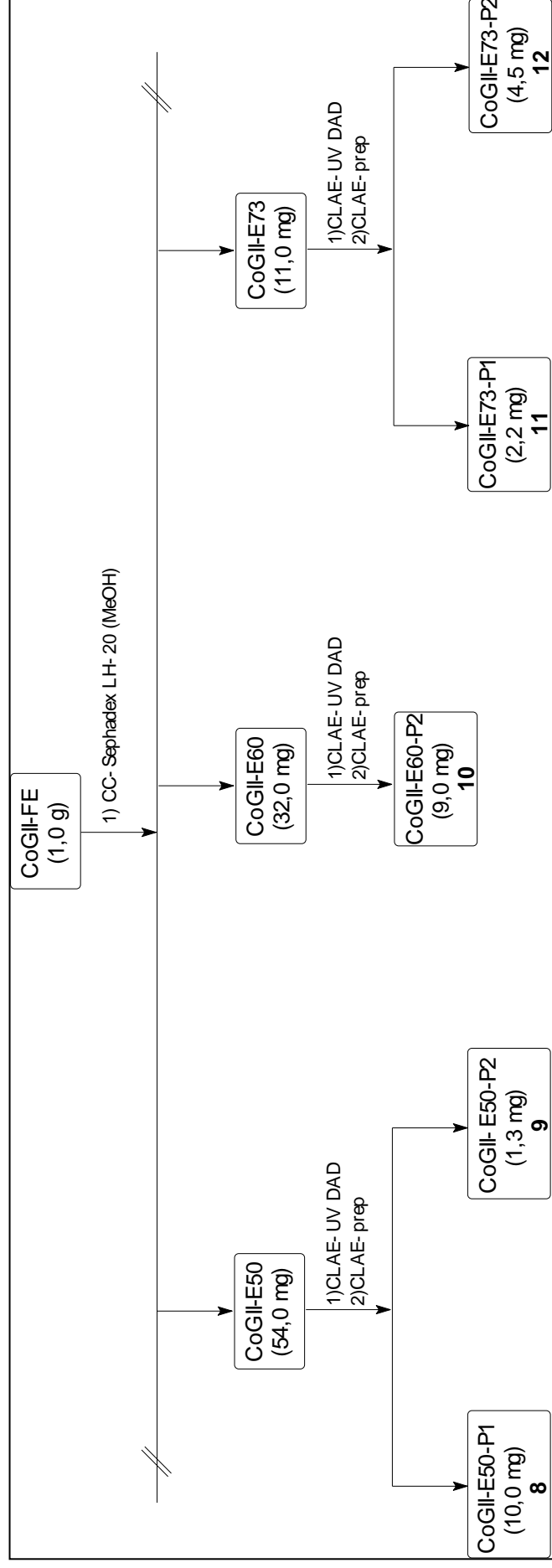
A fase etérea (CoGII-FE, 1,0 g) foi cromatografada em coluna de Sephadex LH-20 (78,0 x 3,0 cm), eluída com metanol (Esquema 5). Foram coletadas 95 frações, de aproximadamente 40 mL, as quais depois de concentradas e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com a cor e fator de retenção observados na cromatoplaça.

As frações CoGII-E50 (54,0 mg), CoGII-E60 (32,0 mg) e CoGII-E73 (11,2 mg) foram analisadas em CLAE-UV DAD, eluídas em gradiente H₂O/MeOH (5% → 100% em 40 min. e 100% até 50 min; 1 mL/min.; coluna Phenomenex – modelo Luna C18(2), 250 x 4,6 mm, 5 µm, 200-600 nm). O cromatograma de CoGII-E50 apresentou uma banda com tempo de retenção de 32,0 minutos que absorve no UV em 241 e 280 nm (Figura 9). O cromatograma de CoGII-E73 apresentou duas bandas com tempos de retenção de 21,3 e 21,7 minutos que absorvem no UV em 225 / 290 nm e 224 / 320 nm, respectivamente (Figura 9).

As substâncias presentes em CoGII-E50 foram purificadas em CLAE-Prep, utilizando coluna de fase reversa Phenomenex – modelo Luna C18(2) (250 x 21,20 mm, 10 µm), eluídas em H₂O:HOAc:MeOH (15:0,01:85) (254 nm, 15 mL/min), coluna através de múltiplas injeções (Figura 10), sendo possível isolar as substâncias **8** (6,0 mg) e **9** (1,3 mg).

A separação em CLAE-Prep de CoGII-E60 com múltiplas injeções, utilizando coluna de fase reversa Phenomenex – modelo Luna C18(2) (250 x 21,20 mm, 10 µm), eluída em H₂O/MeOH (20:80) (254 nm, 15 mL/min), resultou na purificação da substância **10** (9,0 mg).

A fração CoGII-E73 foi submetida a CLAE-Prep utilizando coluna de fase reversa Phenomenex – modelo Luna C18(2) (250 x 21,20 mm, 10 µm), eluída em H₂O:HOAc:MeOH (33:0,01:67) (254 nm, 11 mL/min), resultando no isolamento das substâncias **11** (2,2 mg) e **12** (4,5 mg) (Figura 11).



Esquema 5. Fracionamento cromatográfico da fase etérea (CoGII-FE) dos galhos de *C. obliqua*.

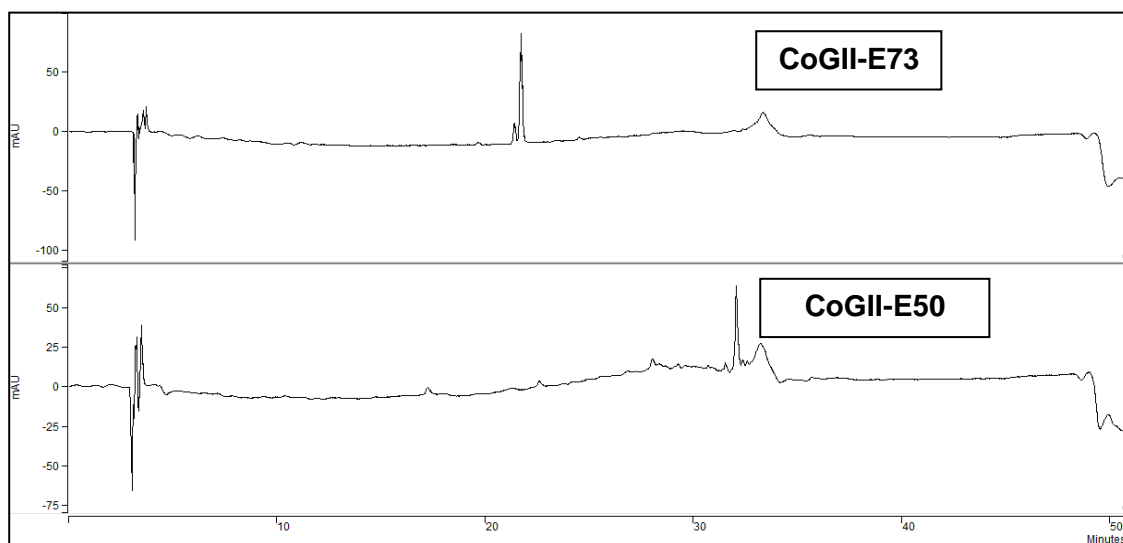


Figura 9. Cromatogramas analíticos (CLAE-DAD) em coluna C-18 das frações CoGII-E50 e CoGII-E73.

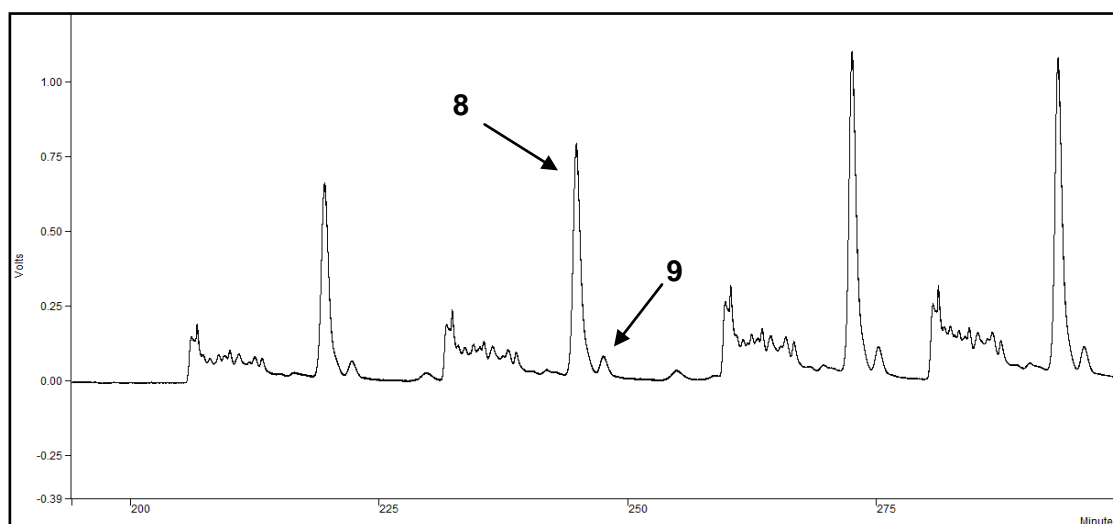


Figura 10. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CoGII-E50, H₂O:HOAc:MeOH (15:0,01:85), 254 nm, 15 mL/min.

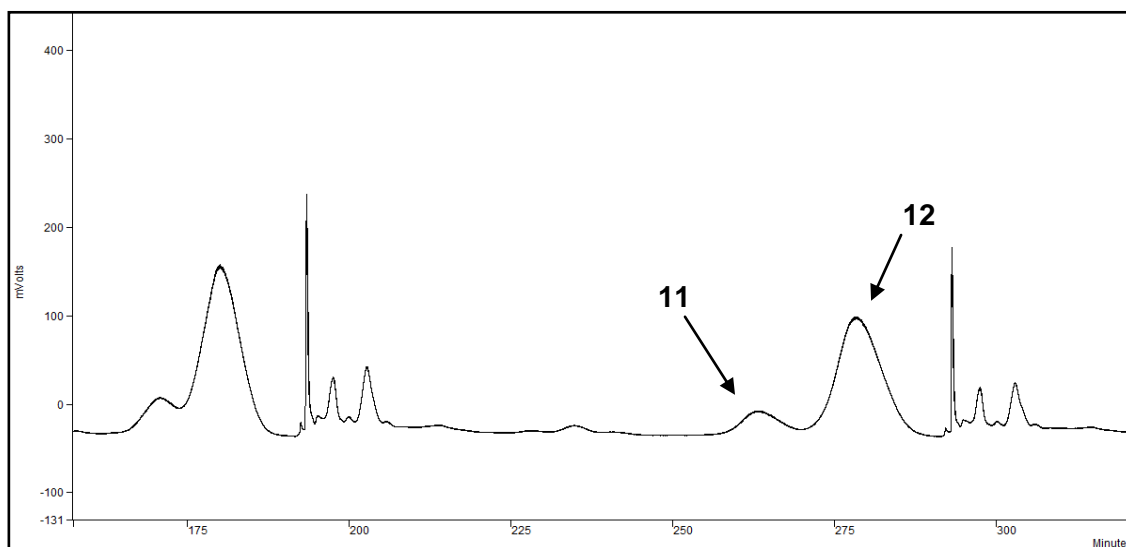
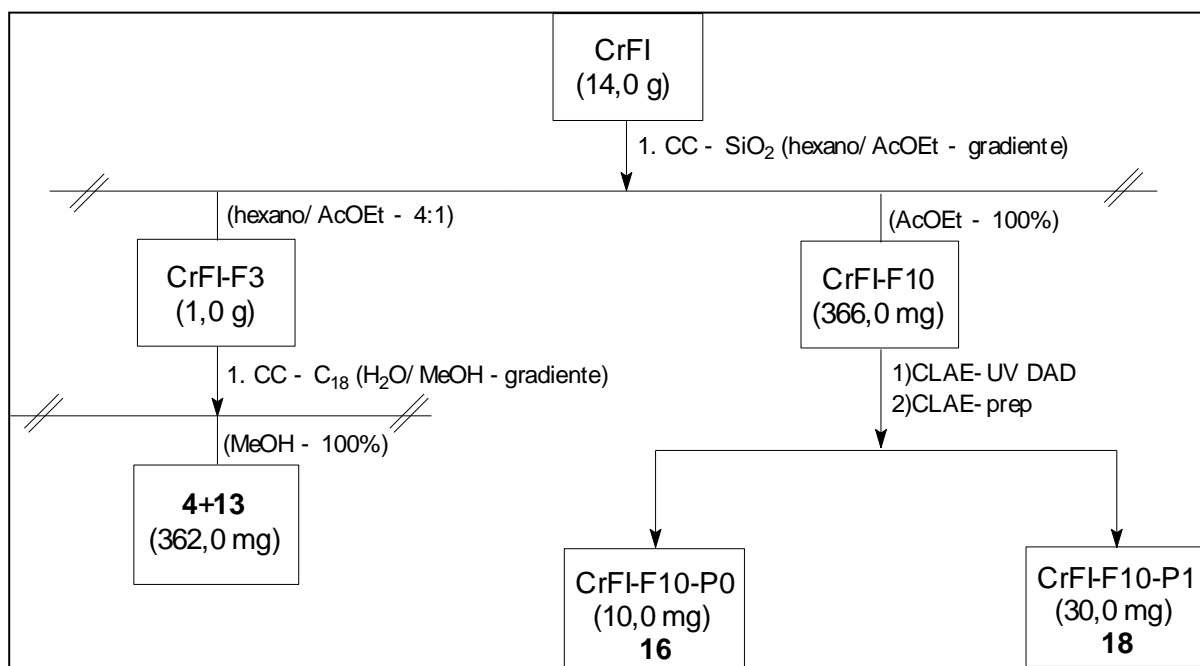


Figura 11. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CoGII-E73, H₂O:HOAc:MeOH (33:0,01:67), 254 nm, 11 mL/min.

4.7 Fracionamento do extrato hexânico das folhas de *Casearia rupestris* (CrFI)

O extrato hexânico (CrFI – 14,0 g) das folhas de *C. rupestris* foi cromatografado em coluna de gel de sílica (30,0 x 7,5 cm, 60-200 µm), eluída com hexano-AcOEt em ordem crescente de polaridade. A fração CrFI-F3 (1,0 g) foi recromatografada em coluna de fase reversa C18 (5,0 x 3,0 cm, 40 µm), da qual obteve-se uma mistura das substâncias **4+13** (362,0 mg) (Esquema 6).

A fração CrFI-F10 (366,0 mg) foi analisada em CLAE-UV DAD, eluída em gradiente H₂O/MeOH (65% → 100% em 50 min. e 100% até 60 min.; 1 mL/min. coluna Phenomenex – modelo Gemini C18(2), 250 x 4,6 mm, 5 µm; 50 min. e 100% até 60 min, 200-800 nm). O cromatograma de CrFI-F10 apresentou vários picos com bandas de absorção no UV em 223 e 268 nm (Figura 12) indicativas de diterpenos clerodânicos provavelmente substituídos com ácidos aromáticos. Após procedimento de extração em fase sólida “*clean-up*”, as substâncias presentes em CrFI-F10 (287,0 mg) foram purificadas em CLAE-Prep utilizando coluna de fase reversa Phenomenex (modelo Gemini C18(2), 250 x 21,20 mm, 5 µm), eluídas em H₂O:MeOH (21:79) (280 nm, 12 mL/min) através de múltiplas injeções (Figura 13), fornecendo as substâncias **16** (10,0 mg) e **18** (30,0 mg) (Esquema 6).



Esquema 6. Fracionamento cromatográfico do extrato hexânico (CrFI) das folhas de *C. rupestris*.

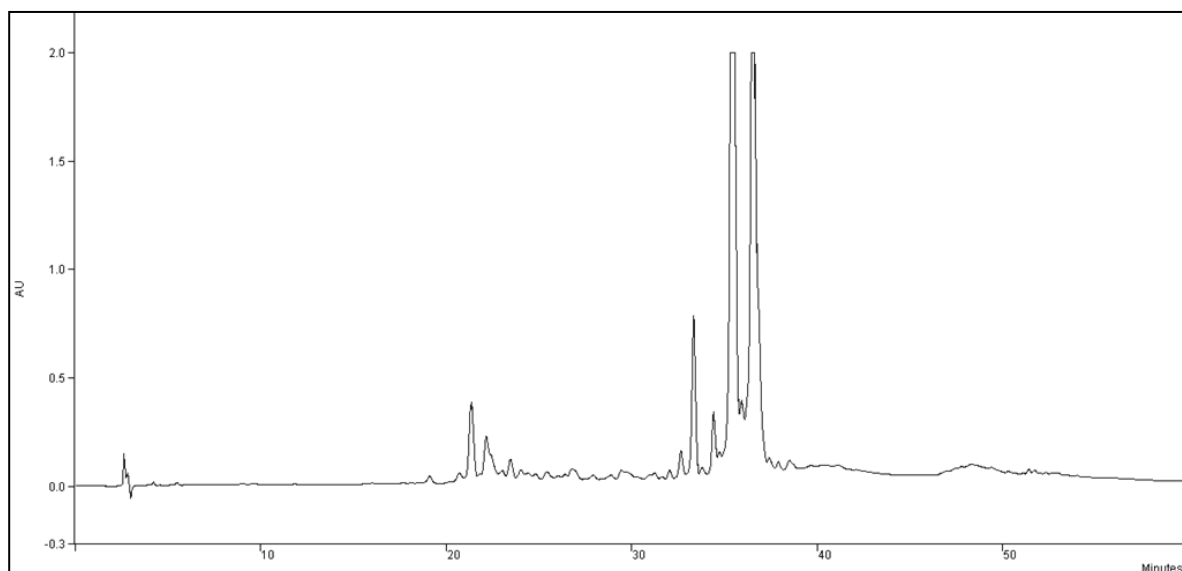


Figura 12. Cromatograma analítico (CLAE-DAD) em coluna C-18 da fração CrFI-F10.

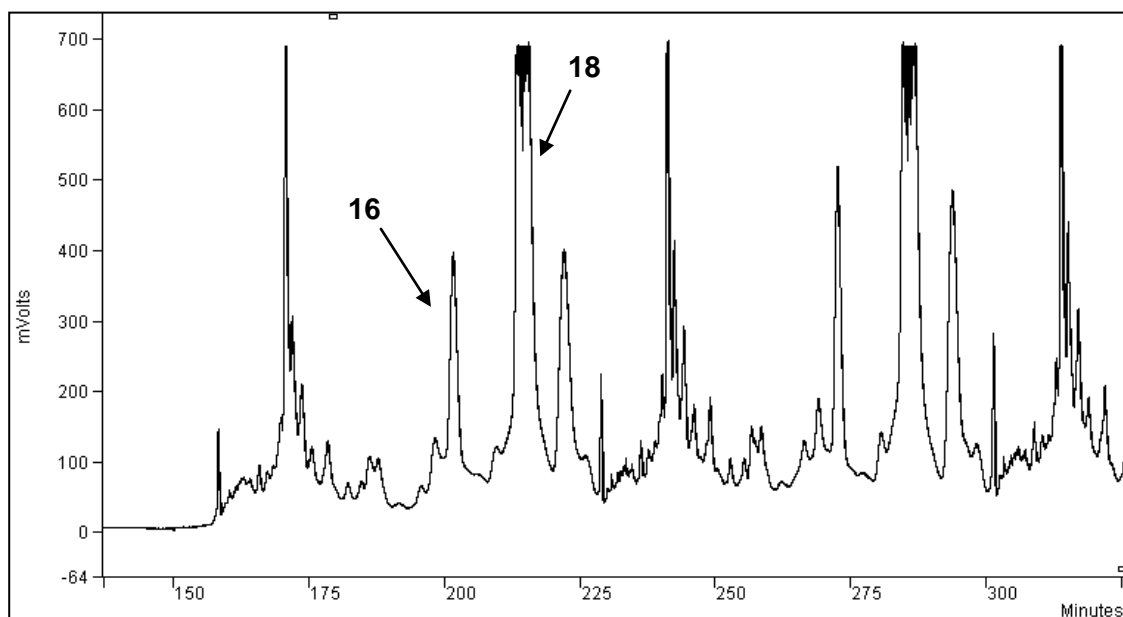
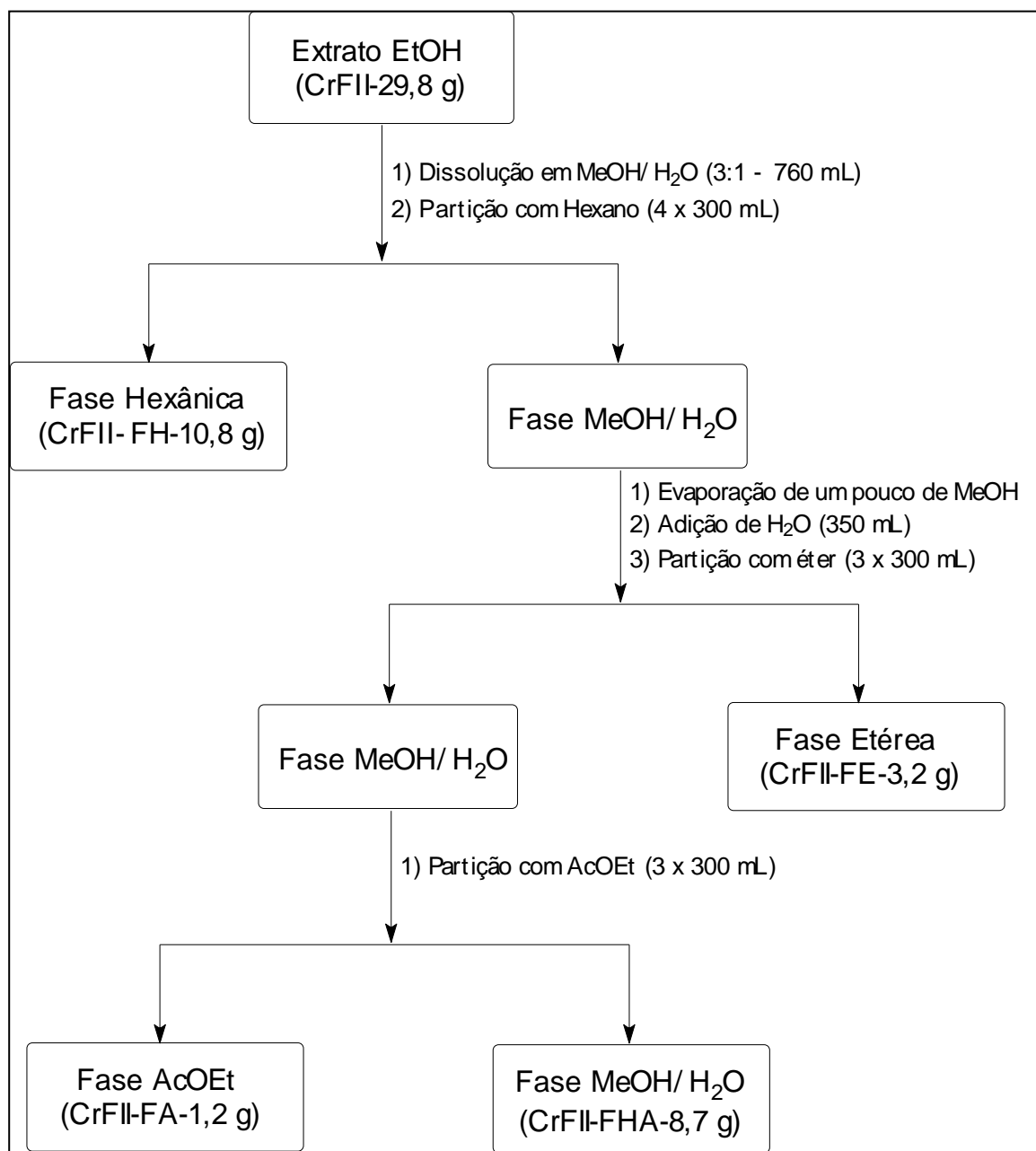


Figura 13. Cromatograma obtido em CLAE-UV fase reversa preparativo para CrFI-F10, H₂O:MeOH (21:79), 280 nm, 12 mL/min.

4.8 Partição do extrato EtOH de folhas de *Casearia rupestris* (CrFII)

O extrato EtOH das folhas (CrFII – 29,8 g) de *C. rupestris* foi particionado com diferentes solventes orgânicos, originando as fases hexânica, etérea, AcOEt e MeOH/H₂O (Esquema 7).

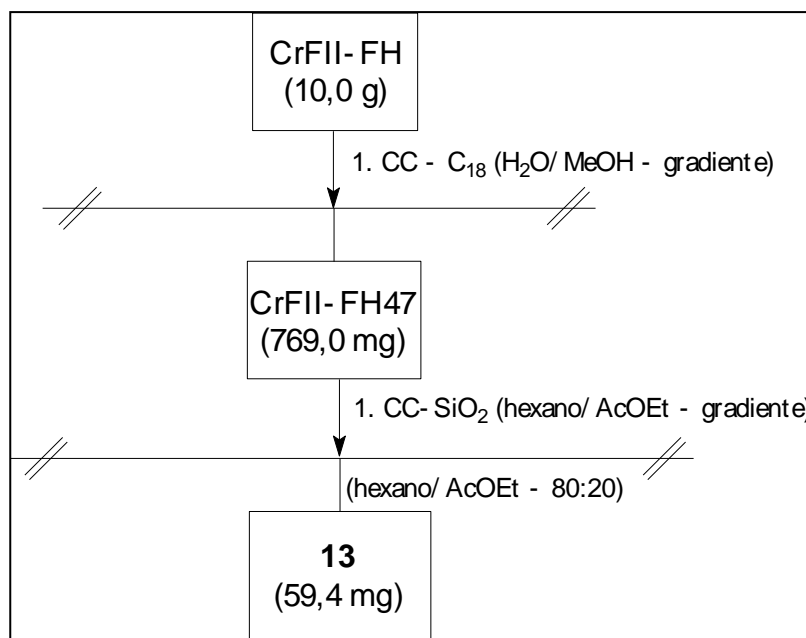


Esquema 7. Fluxograma da partição do extrato EtOH (CrFII) das folhas de *C. rupestris*.

4.9 Fracionamento da fase hexânica do extrato EtOH de folhas de *Casearia rupestris* (CrFII-FH)

A fase hexânica (CrFII-FH, 10,0 g) foi cromatografada em coluna de fase reversa C18 (7,0 x 7,0 cm, 40 μ m), eluída com água e metanol (Esquema 8). Foram coletadas 55 frações, as quais depois de concentradas e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com a cor e fator de retenção observados na

cromatoplaça. A fração CrFII-FH47 (769,0 mg) foi recromatografada em coluna de gel de sílica (25,3 x 2,2 cm, 0,060-0,200 μm), resultando no isolamento de 59,4 mg de **13** (Esquema 8).



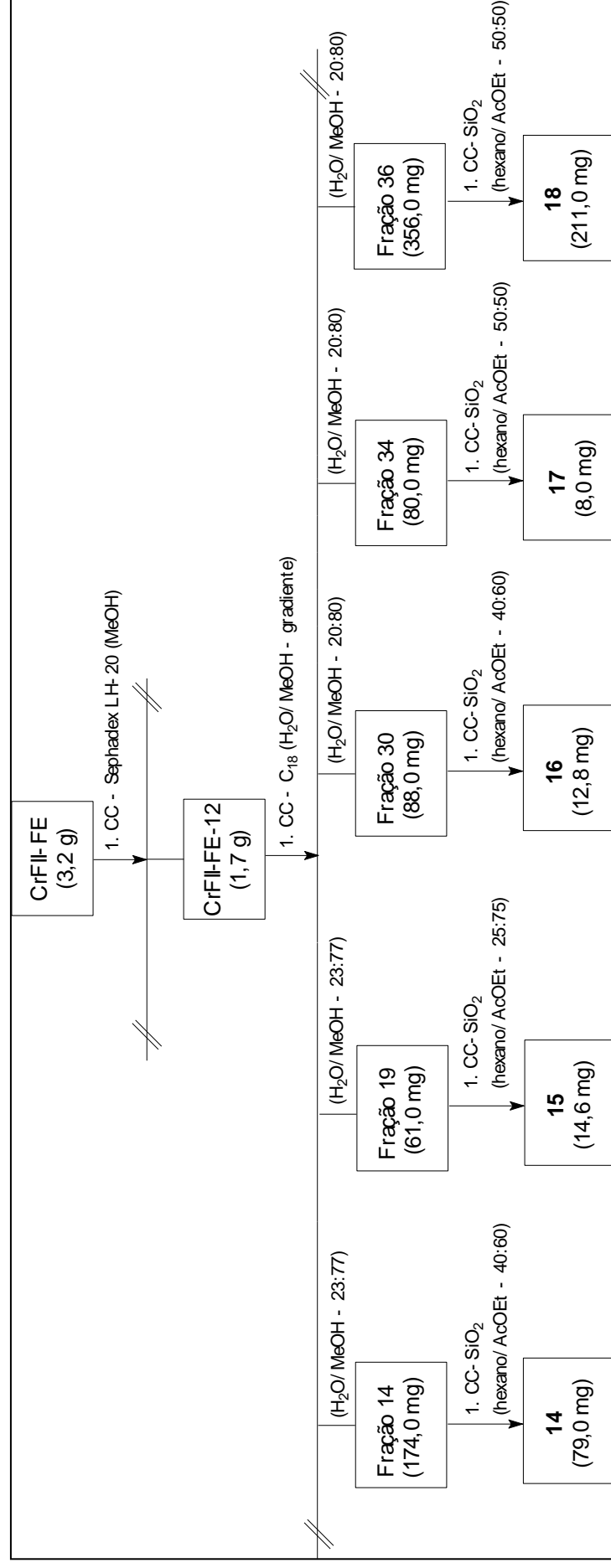
Esquema 8. Fracionamento cromatográfico da fase hexânica (CrFII-FH) das folhas de *C. rupestris*.

4.10 Fracionamento da fase etérea do extrato EtOH de folhas de *Casearia rupestris* (CrFII-FE)

A fase etérea (CrFII-FE, 3,2 g) foi cromatografada em coluna de Sephadex LH-20 (78,0 x 3,0 cm), eluída com metanol (Esquema 9). Foram coletadas 38 frações, de aproximadamente 40 mL, as quais depois de concentradas e analisadas por CCD de gel de sílica foram reunidas de acordo com a cor e fator de retenção observados na cromatoplaça.

A fração CrFII-FE12 (1,7 g) foi analisada em CLAE-UV DAD, eluída em gradiente $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (65% \rightarrow 100%; 200-800 nm; 1 mL/min.; 50 min. e 100% até 60 min.; 1 mL/min. coluna Phenomenex – modelo Gemini C18(2), 250 x 4,6 mm, 5 μm , 200-800 nm). O cromatograma de CrFII-FE12 apresentou várias bandas com absorções no UV em 223 e 268 nm indicativas de diterpenos clerodânicos. Esta fração foi recromatografada em coluna de sílica de fase reversa C18 (12,5 x 4,5 cm), eluída com $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ em ordem decrescente de polaridade (Esquema 9).

As frações CrFII-FE12-14 (174,0 mg), CrFII-FE12-19 (61,0 mg), CrFII-FE12-30 (88,0 mg), CrFII-FE12-34 (80,0 mg) e CrFII-FE12-36 (356,0 mg) foram recromatografadas em coluna de gel de sílica (20,0 x 2,8 cm, 60-200 μ m), eluídas com hexano-AcOEt em ordem crescente de polaridade, resultando, respectivamente, nas substâncias **14** (79,0 mg), **15** (14,6 mg), **16** (12,8 mg), **17** (8,0 mg) e **18** (211,0 mg) (Esquema 9).



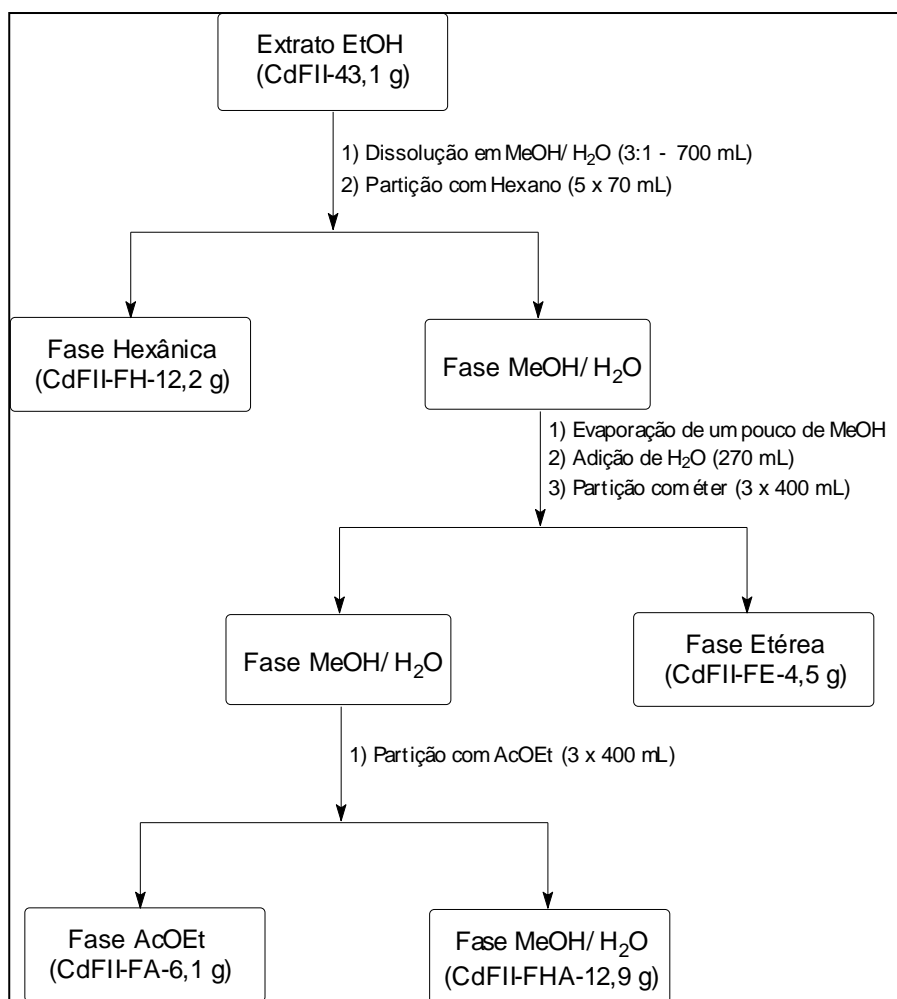
Esquema 9. Fracionamento cromatográfico da fase etérea (CrFII-FE) das folhas de *C. rupestris*.

4.11 Acetilação de 14 e 18

As substâncias **14** e **18** (20,0 mg cada) foram dissolvidas em piridina (4,0 mL) e tratadas com anidrido acético (3,0 mL). A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura ambiente por 24 horas. Após remoção do solvente por evaporação sob pressão reduzida foram obtidos os compostos **14a** (18,0 mg) e **18a** (22,0 mg), respectivamente.

4.12 Partição do extrato EtOH de folhas de *Casearia decandra* (CdFII)

O extrato etanólico obtido de folhas de *C. decandra* (CdFII) foi submetido à partição líquido-líquido (Esquema 10).



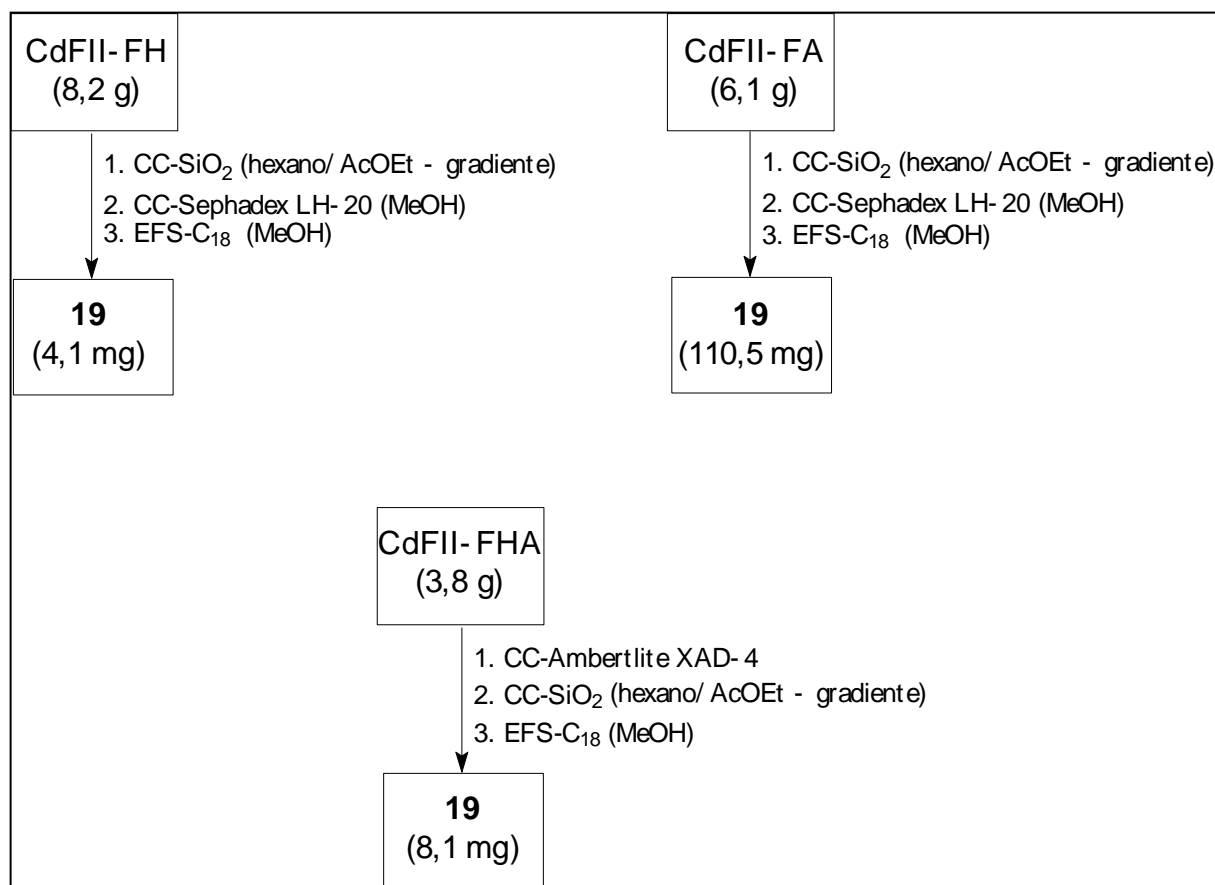
Esquema 10. Fluxograma da partição do extrato EtOH (CdFII) das folhas de *C. decandra*.

4.13 Fracionamento das fases hexânica (CdFII-FH), AcOEt (CdFII-FA) e hidroalcoólica (CdFII-FHA) do extrato EtOH de folhas de *Casearia decandra*

A fração hexânica (8,2 g) foi cromatografada em coluna de gel de sílica (9,2 x 12,1 cm – 35-70 μ m), eluída em hexano/AcOEt em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 24 frações. A fração CdFII-FH22 (653,8 mg) foi cromatografada em coluna de Sephadex LH-20 (115,8 x 2,7 cm) eluída com metanol. A fração CdFII-FH22 -S20 foi submetida a extração em cartucho Bond^{II} ODS-C18, eluída em metanol, obtendo-se 4,1 mg da substância **19** (Esquema 11).

A fração acetato de etila (6,1 g) foi cromatografada em coluna de gel de sílica (23,0 x 4,8 cm – 60-200 μ m), eluída em hexano/AcOEt em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 80 frações. A fração CdFII-FA6-F21 (146,1 mg) foi cromatografada em Sephadex LH-20 (32,5 x 1,5 cm) utilizando metanol como fase móvel, obtiveram-se 10 frações de aproximadamente 8,0 mL e estas foram analisadas em CCDC. A fração CdFII-FA6- F21-S4 (115,0 mg) foi submetida a EFS em cartucho Bond^{II} ODS-C18, resultando em 110,5 mg da substância **19** (Esquema 11).

A fração hidroalcoólica (3,8 g) foi cromatografada em coluna de Ambertile XAD-4, eluída com: água, metanol:água (1:1) e metanol. A fração metanol:água (1:1) (600,0 mg) foi recromatografada em coluna de gel de sílica (23,8 x 3,0 cm – 0,060-0,200 mm), eluída em hexano/AcOEt em ordem crescente de polaridade, obtendo-se 42 frações. A fração CdFII-FHA-F2 foi submetida a extração em fase sólida em cartucho Bond^{II} ODS-C18, eluída em metanol, resultando em 8,1 mg da substância **19** (Esquema 11).



Esquema 11. Fracionamento cromatográfico das fases hexânica, AcOEt e hidroalcoólica das folhas de *C. decandra*.

4.14. Perfil cromatográfico em GC-FID dos extratos hexânicos de *Casearia* spp.

Os extratos hexânicos foram submetidos a uma extração em fase sólida (EFS) antes de serem analisados em GC-FID. As análises foram feitas usando um método que não requer pré-derivação do extrato bruto (REGASINI et al., 2009), ligeiramente modificado. Os extratos (10 mg – galhos e folhas) foram dissolvidos em clorofórmio (3 mL) e aplicados em uma coluna de EFS contendo 100 mg de uma mistura de carvão ativo e celite (1:1) e 200 mg de gel de sílica, eluindo-se com clorofórmio (10 mL). A fração obtida foi seca, dissolvida numa mistura de Hex/AcOEt (7:3) (5 mg/mL) e analisada em GC-FID em triplicata. Todos os extratos hexânicos foram analisados em cromatógrafo gasoso da Varian, modelo CP-3800, com temperatura do injetor e do detector de ionização em chama em 280 °C e 290 °C, respectivamente. Foram injetados 2,0 µL inicialmente no modo “splitless”, alterado aos 0,75 min para “split” (1:50) e em 2,00 min para “split” (1:20). Utilizaram-se coluna

capilar SPB-50 (50% fenil-metil-siloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) a 280 °C (isoterma) e SPB-5 (5% fenil-metil-siloxano, 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m) com temperatura inicial de 250 °C, por 12 min, seguido por razão de aquecimento de 6 °C.min⁻¹ até 280 °C, permanecendo por 30 min. Nitrogênio foi o gás de arraste empregado nas análises, com vazão linear de 1 mL.min⁻¹. Os triterpenos e esteróides foram identificados por comparação da retenção relativa (RR) das amostras com a RR dos padrões de triterpenos e esteróides. Colesterol foi usado como padrão interno (Figura 14). A retenção relativa (RR) foi obtida pela razão entre tempo de retenção do analito e o tempo de retenção do padrão interno (Figuras 14-18). As análises dos extratos hexânicos, realizadas em duplicata por GC-FID, resultou na identificação de triterpenos e esteróides (Estruturas **4**, **20-24**).

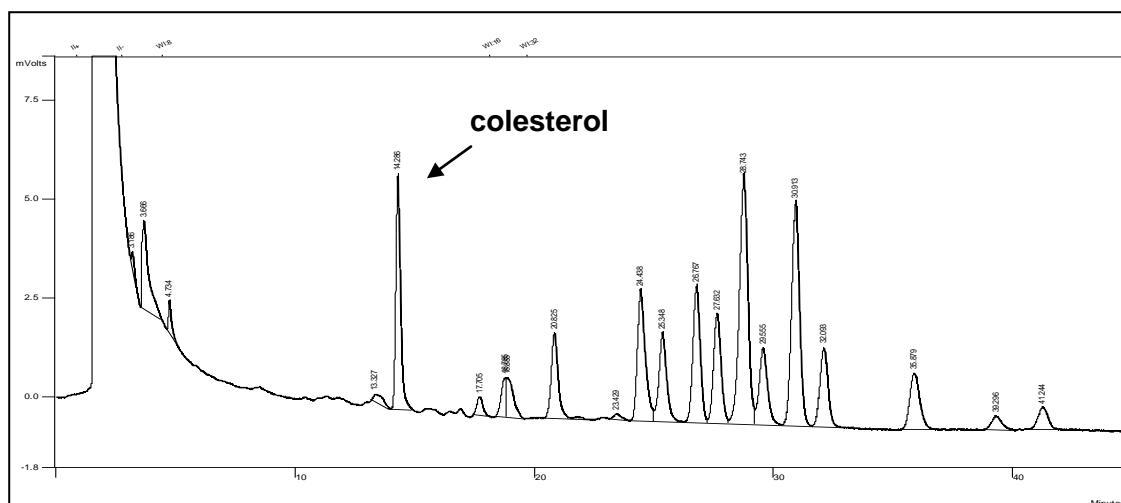


Figura 14. Cromatograma (GC-FID) da mistura de padrões de triterpenos e esteróides, obtido em coluna SPB-50.

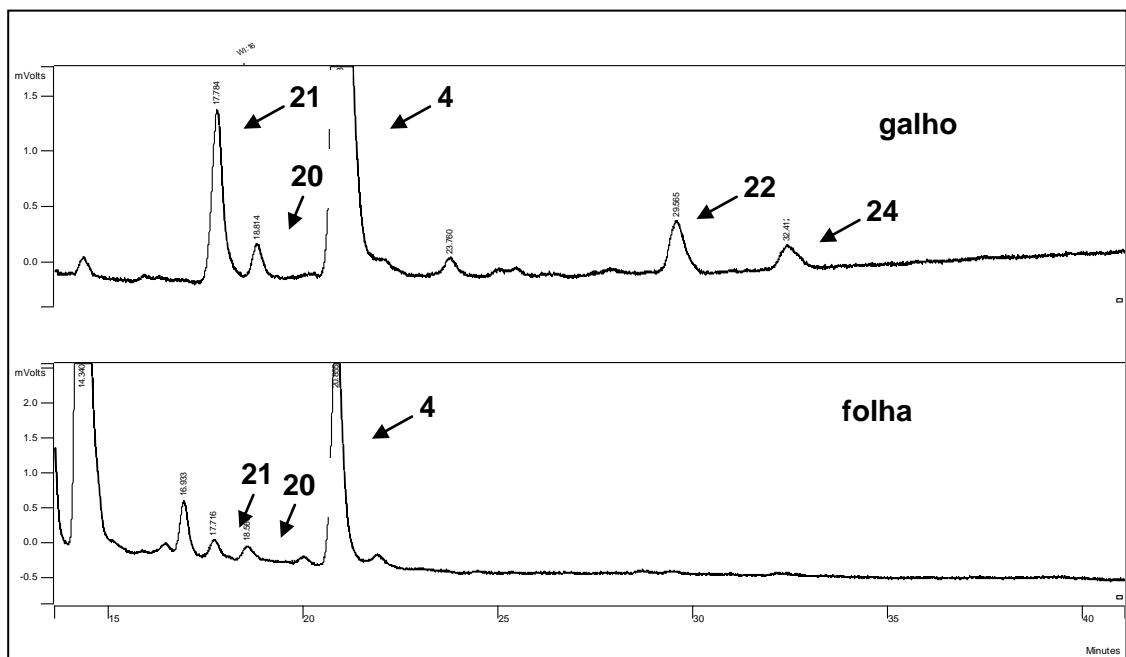


Figura 15. Cromatogramas (GC-FID) dos extratos hexânicos de *C. gossypiosperma*, em coluna SPB-50.

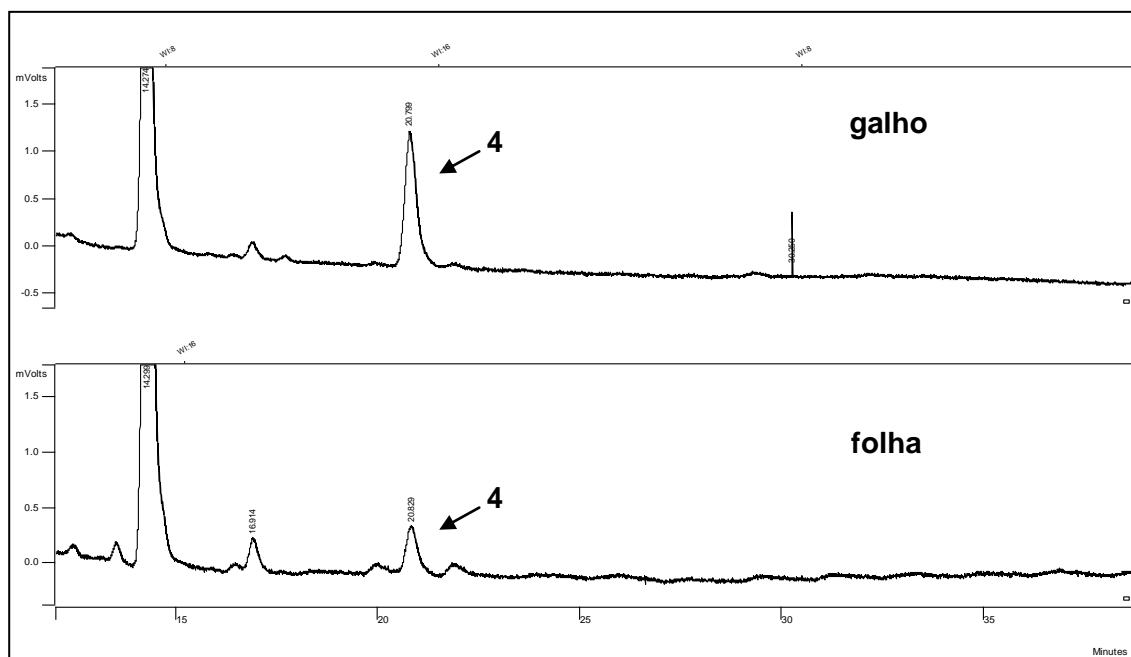


Figura 16. Cromatogramas (CG-FID) dos extratos hexânicos de *C. obliqua*, em coluna SPB-50.

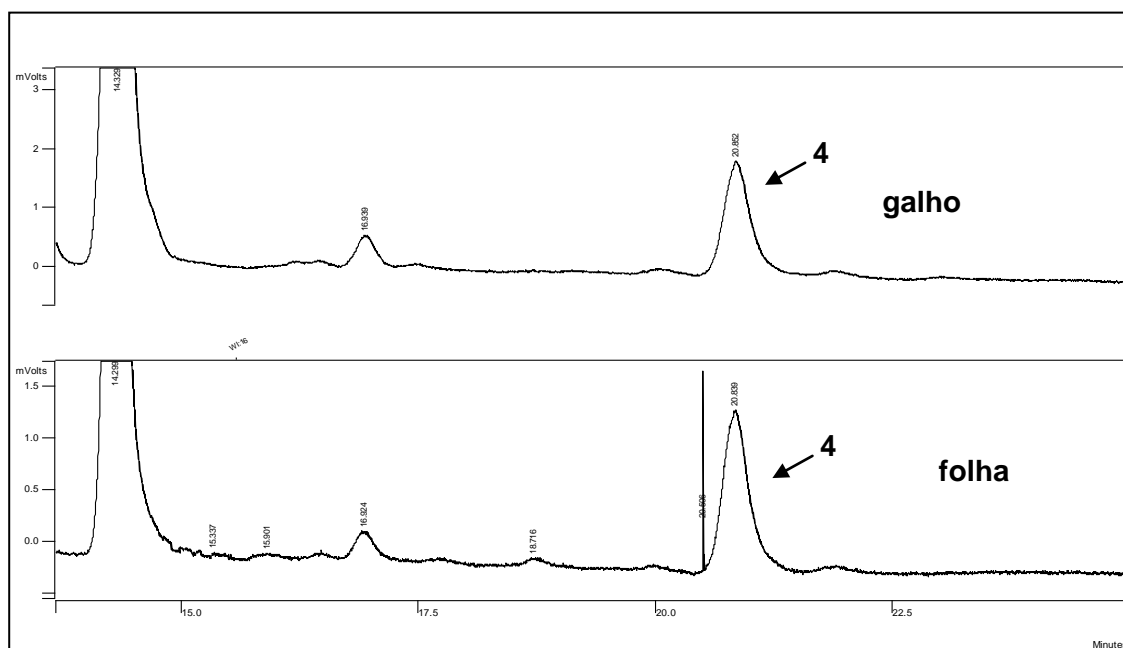


Figura 17. Cromatogramas (CG-FID) dos extratos hexânicos de *C. decandra*, em coluna SPB-50.

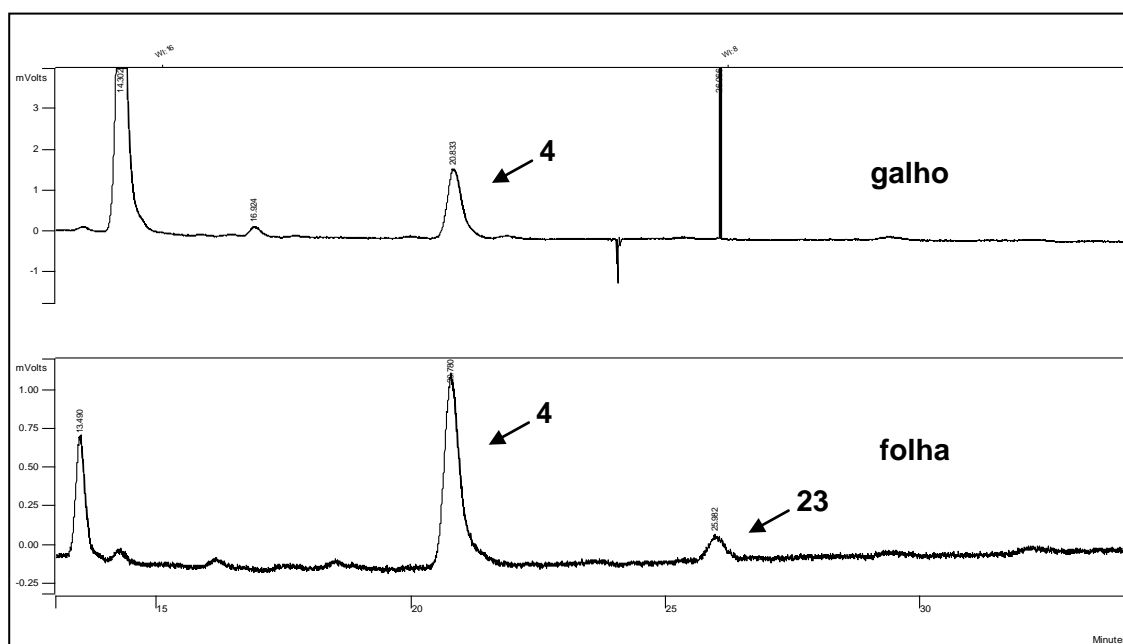


Figura 18. Cromatogramas (CG-FID) dos extratos hexânicos de *C. rupestris*, em coluna SPB-50.

4.15. Metodologia para bioensaios

4.15.1. Metodologia para avaliação de atividade antioxidante

Os extratos, frações de partição e substâncias puras foram analisados mediante ensaio de redução do radical DPPH (MOREIRA et al., 2005). Os padrões, rutina e quercetina, e a(s) substância(s) isoladas foram dissolvidas em MeOH HPLC, nas concentrações: 33,3; 26,7; 20,0; 13,3; 6,7; 3,3 e 1,7 μ M. A solução de DPPH foi preparada na concentração de 0,04 g/L, em MeOH grau HPLC. Os extratos e frações de partição foram diluídos em MeOH HPLC, nas concentrações: 0,667; 0,0333; 0,0100; 0,0067; 0,0033; 0,0027 e 0,0017 mg/mL.

A análise foi feita em microplacas transparentes de 96 poços, com capacidade para 300 μ L. A primeira fileira foi preenchida com o branco (300 μ L de MeOH por poço) e sua leitura foi feita antes da placa contendo as amostras.

As fileiras posteriores foram preenchidas com as 7 diferentes concentrações de extrato e frações (100 μ L de extrato por poço), sendo que a última fileira de poços continha apenas MeOH e foi utilizada como controle. Então, foram adicionados 200 μ L da solução de DPPH em cada poço. Todas as amostras foram analisadas em triplicata e tiveram seu desvio padrão calculado.

Após a adição da solução de DPPH, cada placa foi deixada na ausência de luz por 30 minutos e, então, leu-se as absorbâncias em leitor de microplacas Synergy-HTS em λ 517 nm. Os dados obtidos foram então processados empregando a fórmula a seguir, que foi inserida no programa KC4, o qual calculou e gerou os gráficos da atividade seqüestradora de radicais livres.

Processamento dos dados:

Fórmula: % de seqüestro do radical livre estável DPPH

$$\% = \frac{(\text{abs do CONTROLE-DPPH} - \text{abs da AMOSTRA ou PADRÃO}) \times 100}{\text{Abs do CONTROLE-DPPH}}$$

4.15.2. Metodologia para avaliação de atividade anticolinesterásica

Estes testes foram realizados no Instituto de Botânica de São Paulo, sob a supervisão da Dra. Maria Cláudia Marx Young e Dra. Elaine Monteiro Cardoso Lopes (IB-SMA/SP).

Ensaio qualitativo por autografia (CCD)

Após o desenvolvimento cromatográfico em CCD dos extratos e frações, a placa foi borrifada com a solução da enzima acetilcolinesterase (6,66 U) acrescida de albumina bovina fração V (0,1%) e o solvente evaporado novamente. A placa cromatográfica foi previamente incubada em uma câmara úmida fechada a 37 °C por 20 minutos, e em seguida borrifada com uma mistura das soluções: etanólica de 1-naftil acetato (5 mL; 0,25%) e aquosa do sal Fast Blue B (20 mL; 0,25%) (MARSTON et al., 2002). A coloração roxa aparece em aproximadamente 2 minutos. O aparecimento de mancha branca (indicação de inibição da reação enzimática), sobre um fundo de coloração roxa indica que houve inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase. Os cromatogramas obtidos foram observados em λ 254 e 366 nm e fotografados em câmera fotográfica Epson. Os valores de R_f (fator de retenção) foram calculados onde houve inibição da reação enzimática, ou seja, presença de halos de cor branca indicadores de inibição da acetilcolinesterase. Utilizou-se como controle positivo a galantamina (1 µg) dissolvida em metanol.

4.15.3. Metodologia para avaliação de atividade antifúngica

Os ensaios contra fungos fitopatogênicos foram realizados no Instituto de Botânica de São Paulo, sob a supervisão da Dra. Maria Cláudia Marx Young (IB-SMA/SP) e contra patógenos humanos foram realizados sob a supervisão da Profa. Dra. Maria José S. M. Gianinni na Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP de Araraquara.

Bioautografia foi obtida com suspensão de esporos de fungos fitopatogênicos *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium sphaerospermum* (Pemzig) SPC sobre placas de CCD. Após incubação, zonas de inibição claras contra o fundo escuro devido ao crescimento fúngico indicam teste positivo (HOMANS; FUCHS, 1970).

A atividade sobre fungos patogênicos humanos foi avaliada frente às leveduras *Cândida albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. krusei* ATCC 6258, *Cryptococcus neoformans* ATCC 90012 em placas com ágar “Hole Plate”, utilizando meio de cultura RPMI1640 adequadamente preparado. No preparo do inoculo: utilizou-se repiques de 24 a 48h a 30 °C. Uma alçada da amostra foi resuspendida em 5 mL de solução salina 0,85% e realizou-se contagem em câmara de Neubauer. A suspensão equivalente foi preparada a 1×10^6 – 5×10^6 UFC/mL. Cálculo da suspensão: $N = \text{número de células} \times 2,5 \times 1000 \times 100 \times \text{volume da suspensão}$. O volume inicial da suspensão a ser inoculada na placa foi de 1 mL e utilizou-se alça para a semeadura em 8 direções. Após a secagem das placas, utilizou-se um furador para perfurar os poços, em seguida aplicou-se 50 µL das amostras, diluídas em DMSO. O controle positivo foi a Anfotecina B a 16 mg/mL. Foram incubados a 35 °C, durante 24 a 48 hs. Na leitura e interpretação: mediu-se o tamanho dos halos de inibição através da medida total do diâmetro pelo verso da placa (NATIONAL COMMITTEE, 1994 e 1997).

4.15.4. Metodologia para avaliação de atividade citotóxica

Os testes de citotoxicidade foram feitos com participação do Prof. MSc Paulo Michel Pinheiro Ferreira, sob supervisão da Dra. Cláudia do Ó Pessoa, no Laboratório de Oncologia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Material

Células: As linhagens utilizadas, MDA-MB/435 (mama - humano), HCT-8 (cólon - humano), SF-295 (glioblastoma - humano) e HL-60 (leucemia - humano) foram cedidas pelo *National Cancer Institute* (NCI - EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

Amostras: As amostras foram diluídas em DMSO puro estéril. Amostras foram testadas em concentração única de 50 µg/mL para extratos e as substâncias puras, em 5 µg/mL.

Método: A análise de citotoxicidade foi feita pelo método do MTT que foi descrita primeiramente por MOSMAN (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas.

As células foram plaqueadas na concentração de $0,1 \times 10^6$ cél/mL para as linhagens MDA/MB-435 e SF-295 e $0,7 \times 10^5$ cél/mL para a linhagem HCT-8. Os compostos foram acrescidos em concentração única de 100 µg/mL (extrato). As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37 °C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, adicionou-se 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3 h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 590 nm. Das substâncias testadas, somente aquela(s) que demonstra(m) percentual de inibição de crescimento celular acima de 75% em pelo menos duas linhagens, é submetida à avaliação de citotoxicidade frente a linhagens tumorais para determinação da IC₅₀, seguindo a metodologia descrita abaixo.

As células foram plaqueadas em placas de 96 poços nas seguintes concentrações: MDA/MB-435, SF-295: ($0,1 \times 10^6$ cel/mL); HCT-8: ($0,7 \times 10^5$ cel/mL) e HL-60: ($0,3 \times 10^6$ cel/mL). A substância previamente diluída em DMSO foi diluída em série, em meio RPMI para obtenção das concentrações finais [(0,39-100 µg/mL/poço (extrato)], cujo volume adicionado foi de 100 µL / poço. Após um período de incubação de 72h, as placas foram retiradas e centrifugadas a 1500 rpm / 15 minutos. O sobrenadante foi aspirado e foi adicionado 200 µL de solução de MTT 10% em RPMI, sendo a placa colocada na estufa a 5% de CO₂ por 3h. Em seguida, as placas foram novamente centrifugadas a 3000 rpm / 10 minutos, tendo o sobrenadante aspirado e seu precipitado ressuscitado em 150 µL de DMSO e agitado por 10 minutos, até completa dissolução dos cristais de formazan. As placas foram lidas no espectrofotômetro da placa a um comprimento de onda de 595 nm.

Análise Estatística: Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism*.

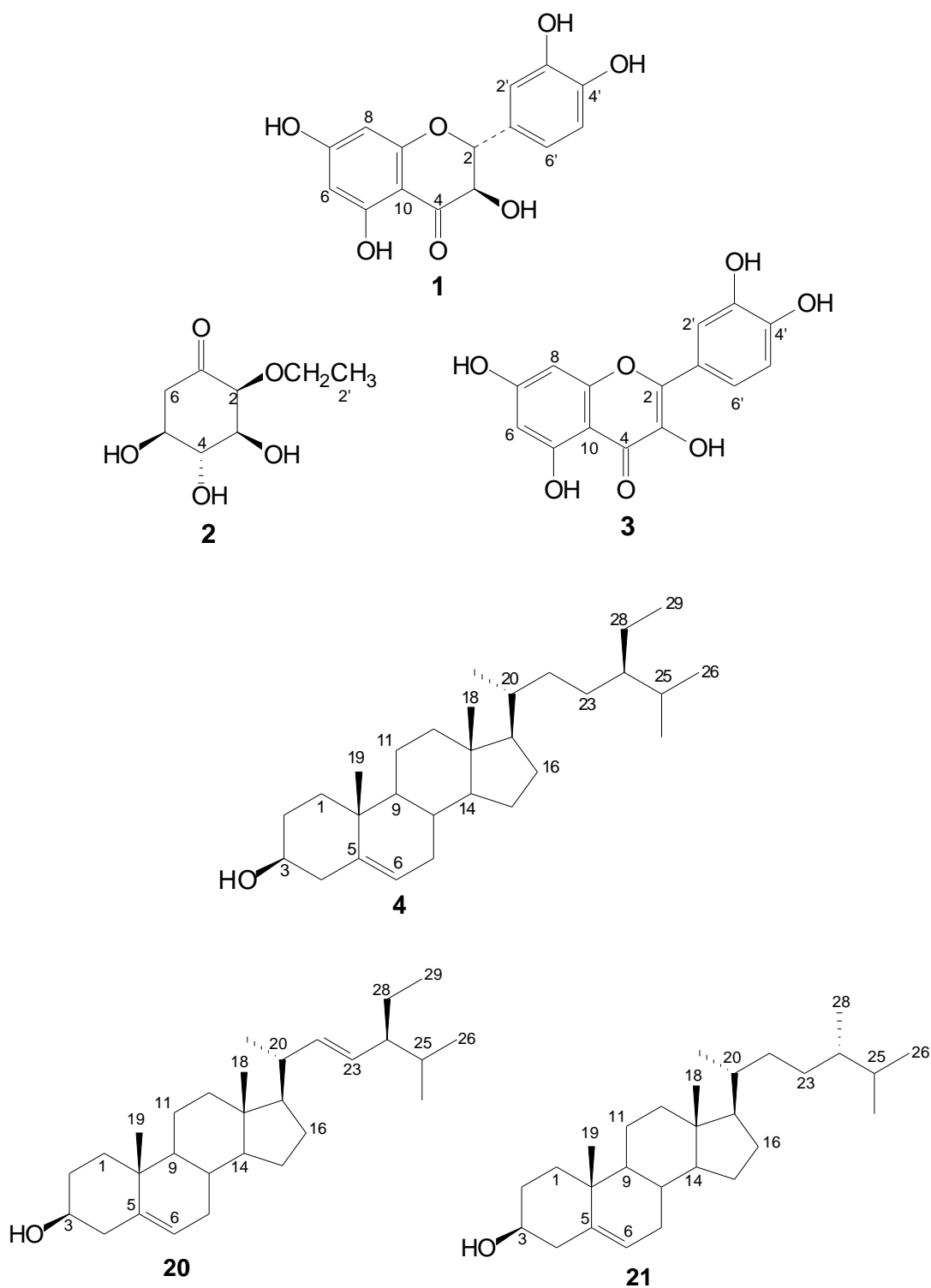
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Substâncias isoladas

O estudo fitoquímico de quatro espécies do gênero *Casearia*, resultou no isolamento e/ou identificação de vinte e seis substâncias.

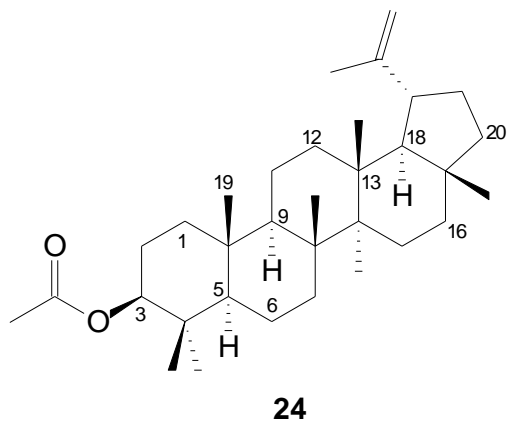
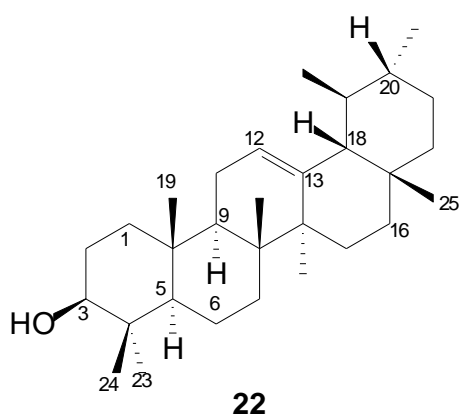
De *Casearia gossypiosperma* foram obtidos e/ou identificados os flavonóides (+)-taxifolina (**1**) e quercetina (**3**), o novo ciclitol *rel*-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-3,4,5-triidroxi-2-etóxi-ciclohexanona (**2**), os esteróides sitosterol (**4**), estigmasterol (**20**) e campesterol (**21**) e os triterpenos α -amirina (**22**) e acetato de lupenila (**24**). Nove substâncias foram obtidas de *C. obliqua*, incluindo o esteróide sitosterol (**4**), os diterpenos clerodânicos (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**), 6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (**7**) e os novos diterpenos clerodânicos caseobliquina A (**8**) e B (**9**), as amidas *N-trans-p*-cumaroiltiramina (**11**) e *N-trans*-feruloiltiramina (**12**), além do ácido cinâmico (**10**). O estudo fitoquímico de *C. rupestris* resultou no isolamento e/ou identificação de sitosterol e *E*-fitol (**4+13**) em mistura, do diterpeno *E*-fitol (**13**), do triterpeno β -amirina (**23**) e cinco novos diterpenos clerodânicos denominados casearupestrina A (**14**), B (**16**), C (**17**), D (**18**) e G (**15**). Finalmente, de *C. decandra* foram obtidos sitosterol (**4**) e hidroquinona (**19**). Além destes compostos, foram preparados derivados acetilados de dois diterpenos clerodânicos, que foram denominados de casearupestrina E (**14a**) e F (**18a**).

Casearia gossypiosperma

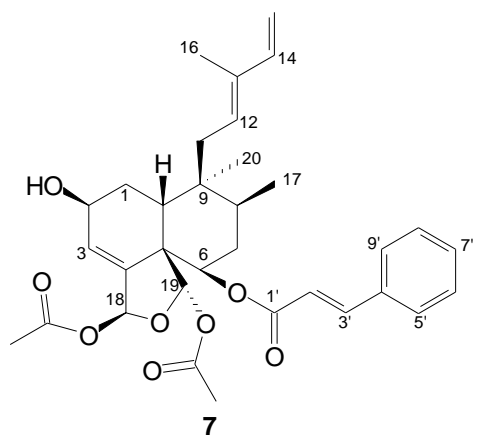
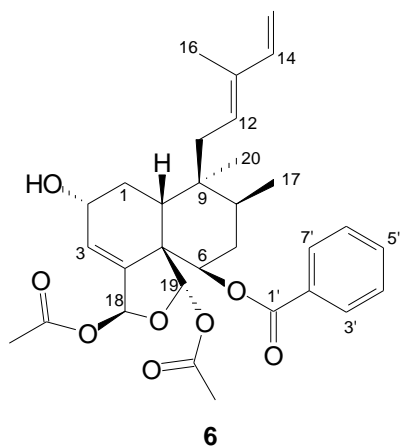
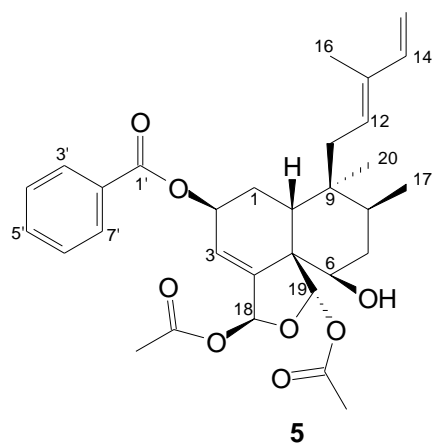
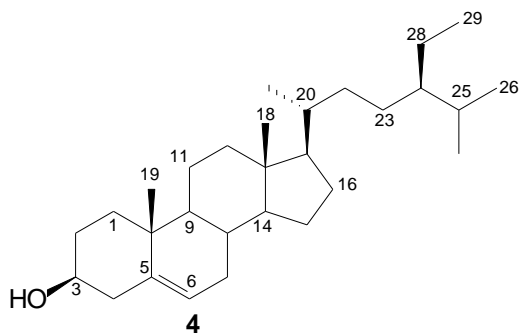


Estruturas moleculares das substâncias isoladas, derivatizadas ou identificadas.

Casearia gossypiosperma

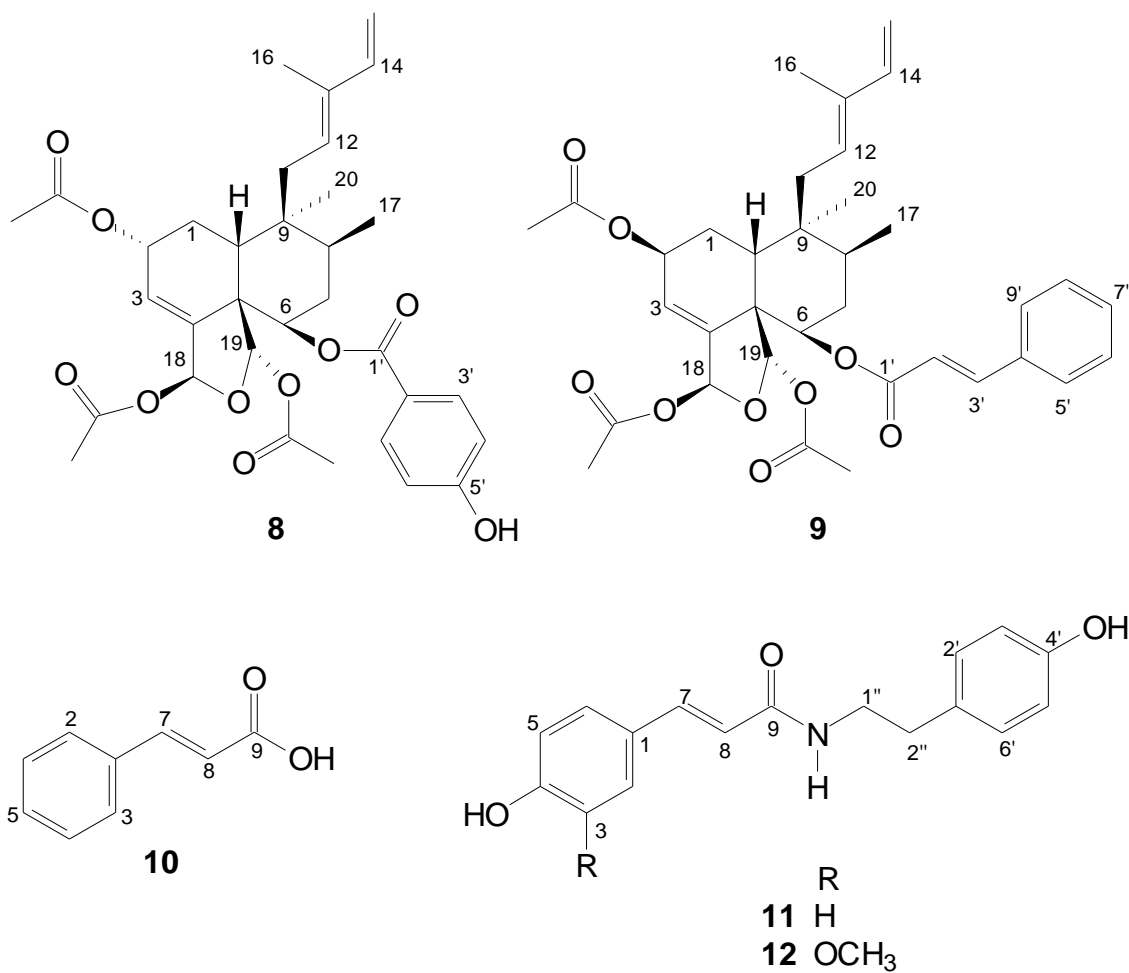


Casearia obliqua



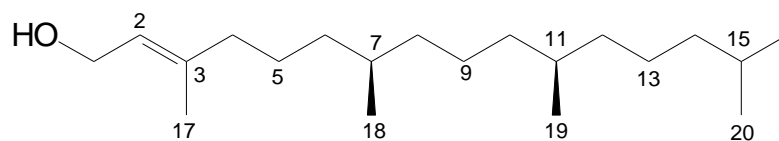
Estruturas moleculares das substâncias isoladas, derivatizadas ou identificadas.

Casearia obliqua

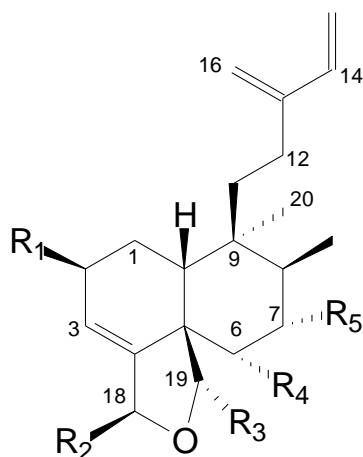


Estruturas moleculares das substâncias isoladas, derivatizadas ou identificadas.

Casearia rupestris



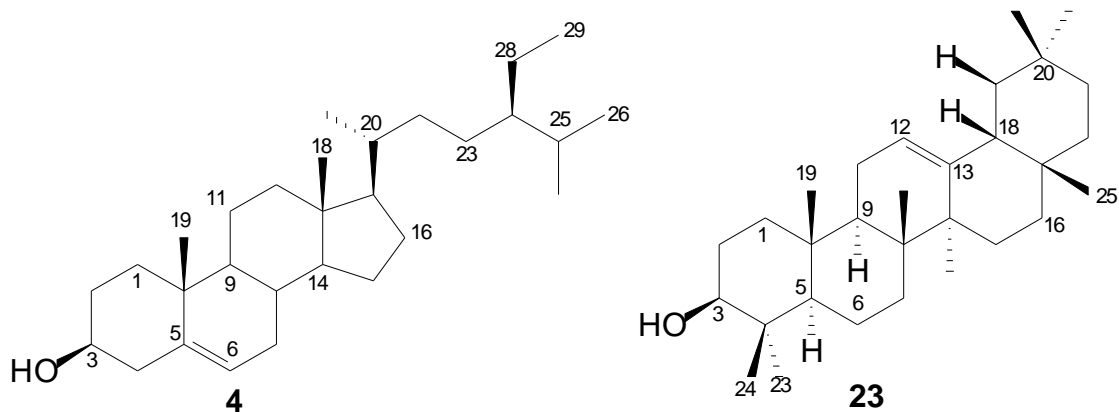
13



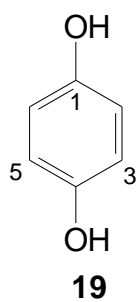
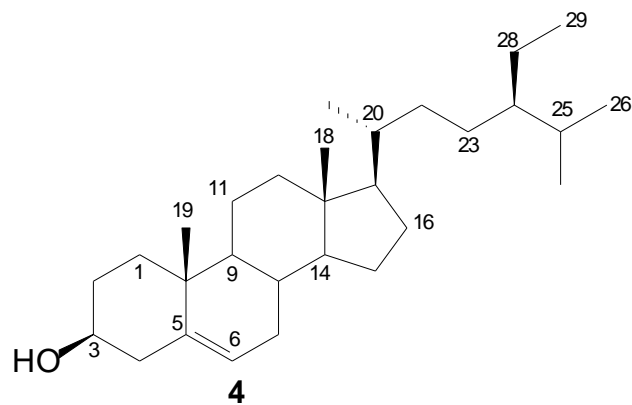
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
14	OH	OAc	OAc		OH
15	OH	OAc	OAc		OH
16	OH	OAc	OAc	OH	
17	OH	OCH ₃	OAc	OH	
18	OH	OAc	OAc	OAc	
14a	OAc	OAc	OAc		OAc
18a	OAc	OAc	OAc	OAc	

Estruturas moleculares das substâncias isoladas, derivatizadas ou identificadas.

Casearia rupestris



Casearia decandra



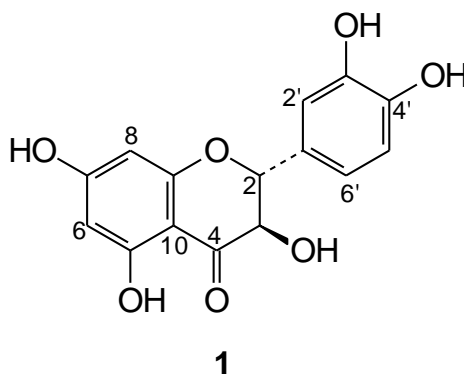
Estruturas moleculares das substâncias isoladas, derivatizadas ou identificadas.

5.2. *Casearia gossypiosperma* Briquet



Fotos: Gerardo Magela Vieira Jr. e Alberto J. Cavaleiro

5.2.1. (+)-Taxifolina (1)



O espectro de RMN ^1H de **1** (Figura 20) apresentou dois dupletos em δ 4,48 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-3) e 4,93 (1H, d, $J = 11,0$ Hz, H-2), característicos de hidrogênios carbinólicos de um flavononol (KIM et al., 2003), além de quatro sinais na região de aromáticos, sendo dois dupletos em δ 5,84 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8) e 5,90 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6) compatíveis com um sistema AB, evidenciando a presença de um anel aromático tetrassubstituído com padrão de oxigenação alternado. Os demais sinais constituídos por um simpleto largo em δ 6,87 (1H, sl, H-2') e um duplete em δ 6,75 (2H, d, $J = 1,0$ Hz, H-5' e H-6') com integração correspondente a dois hidrogênios resultante da sobreposição de um duplete com um duplo duplete, sugeriram um anel aromático 1,2,4-trissubstituído. Este mesmo experimento feito em DMSO (Figura 21) sem a presença de D_2O apresentou adicionalmente um simpleto em δ 11,88 (1H, s, 5-OH) correspondente à hidrogênio de hidroxila quelada em C-5, o duplete correspondente a H-3 neste experimento apresenta-se como um duplo duplete em δ 4,49 (1H, dd, $J = 4,5$ e $11,0$ Hz, H-3) devido ao acoplamento com H-2 e com o hidrogênio da hidroxila ligada a C-3, o qual origina um duplete em δ 5,71 (1H, d, $J = 5,5$ Hz, 3-OH). A análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C (Figura 22) de **1** com os relatados na literatura (AGRAWAL, 1989; KIM et al., 2003) mostraram-se consistentes com os dados do flavonóide taxifolina. A análise dos experimentos $g\text{COSY}$, $g\text{HMQC}$ e $g\text{HMBC}$ (Tabela 4 e Figura 19) confirmaram a estrutura proposta, assim como o valor obtido no espectro de massas para a molécula desprotonada m/z 305,0510 $[\text{M-H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$: m/z 305,0510). A estereoquímica de **1** foi confirmada por experimento de polarimetria, no qual foi obtido $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +20^\circ$ (c 0,1, MeOH) em concordância com a literatura $[\alpha]_{\text{D}} = +20^\circ$ (c 0,1, MeOH) (MIN et al., 2003).

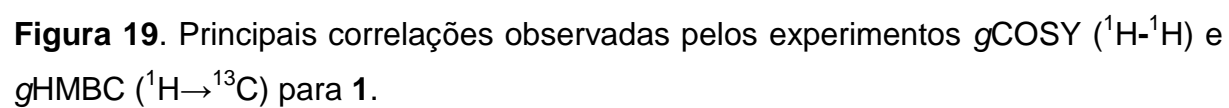


TABELA 4. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **1**, incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos gHMQC e gHMBC, em DMSO. Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz.

C e H	gHMQC $^1J_{\text{CH}}$			gHMBC $^nJ_{\text{CH}}$	
	(+)-taxifolina (AGRAWAL, 1989) ^a	1 (DEPT 135°)	1	(+)-taxifolina (KIM et al., 2003) ^a	$^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$
2	83,1 (CH)	83,0 (CH)	4,93 (d, 11,0)	4,97 (d, 11,2)	H-2'; H-6'
3	71,7 (CH)	71,5 (CH)	4,48 (d, 11,0)	4,49 (d, 11,0)	-
4	197,1 (C)	197,7 (C)	-	-	H-3
5	163,3 (C)	163,3 (C)	11,88 (s, 5-OH)	11,91 (s, 5-OH)	-
6	96,1 (CH)	95,9 (CH)	5,90 (d, 2,0)	5,90 (sl)	H-8
7	166,8 (C)	166,8 (C)	-	-	H-8
8	95,1 (CH)	94,9 (CH)	5,84 (d, 2,0)	5,86 (sl)	H-6
9	162,5 (C)	162,5 (C)	-	-	-
10	100,6 (C)	100,4 (C)	-	-	H-6; H-8
1'	128,1 (C)	128,0 (C)	-	-	H-2; H-3; H-2'
2'	115,3 (CH)	115,3 (CH)	6,87 (sl)	6,88 (s)	-
3'	144,9 (C)	144,9 (C)	-	-	H-5'
4'	145,7 (C)	145,7 (C)	-	-	H-2'
5'	115,3 (CH)	115,1 (CH)	6,75 (d, 1,0)	6,75 (s)	-
6'	119,2 (CH)	119,3 (CH)	6,75 (d, 1,0)	6,75 (s)	H-2'

^aCD₃OD.

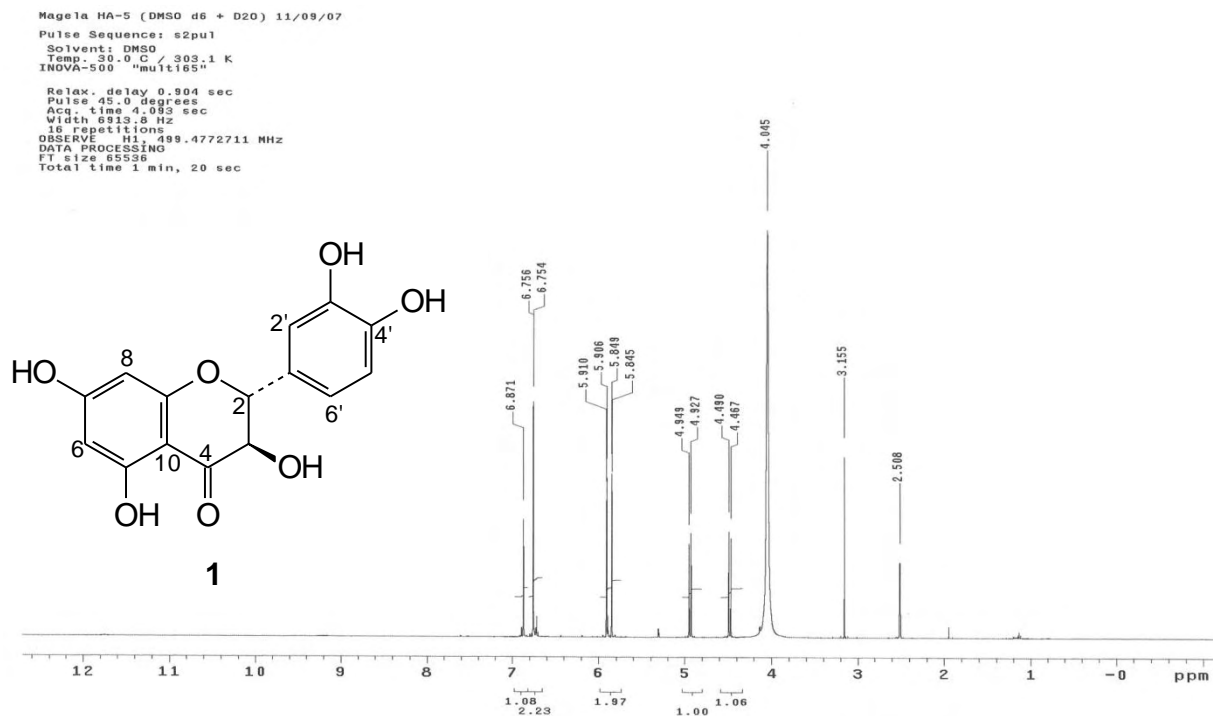


Figura 20. Espectro de RMN ¹H de **1** (500 MHz, DMSO-d₆ + D₂O).

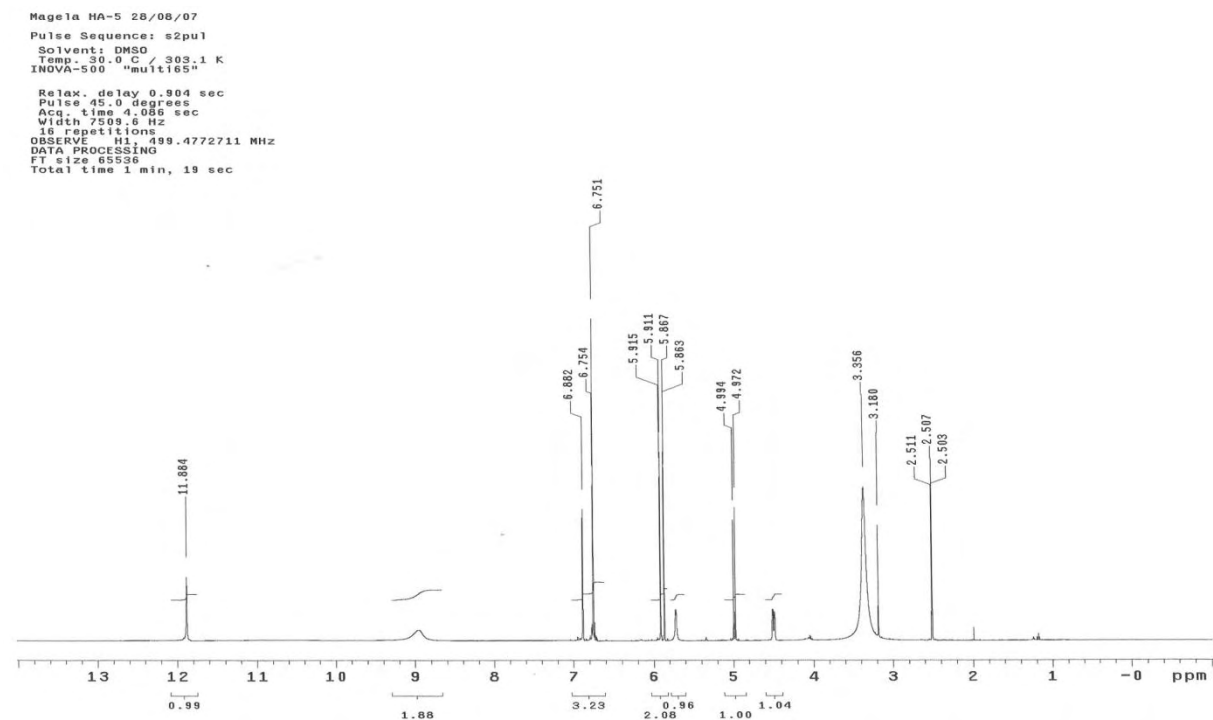


Figura 21. Espectro de RMN ¹H de **1** (500 MHz, DMSO-d₆).

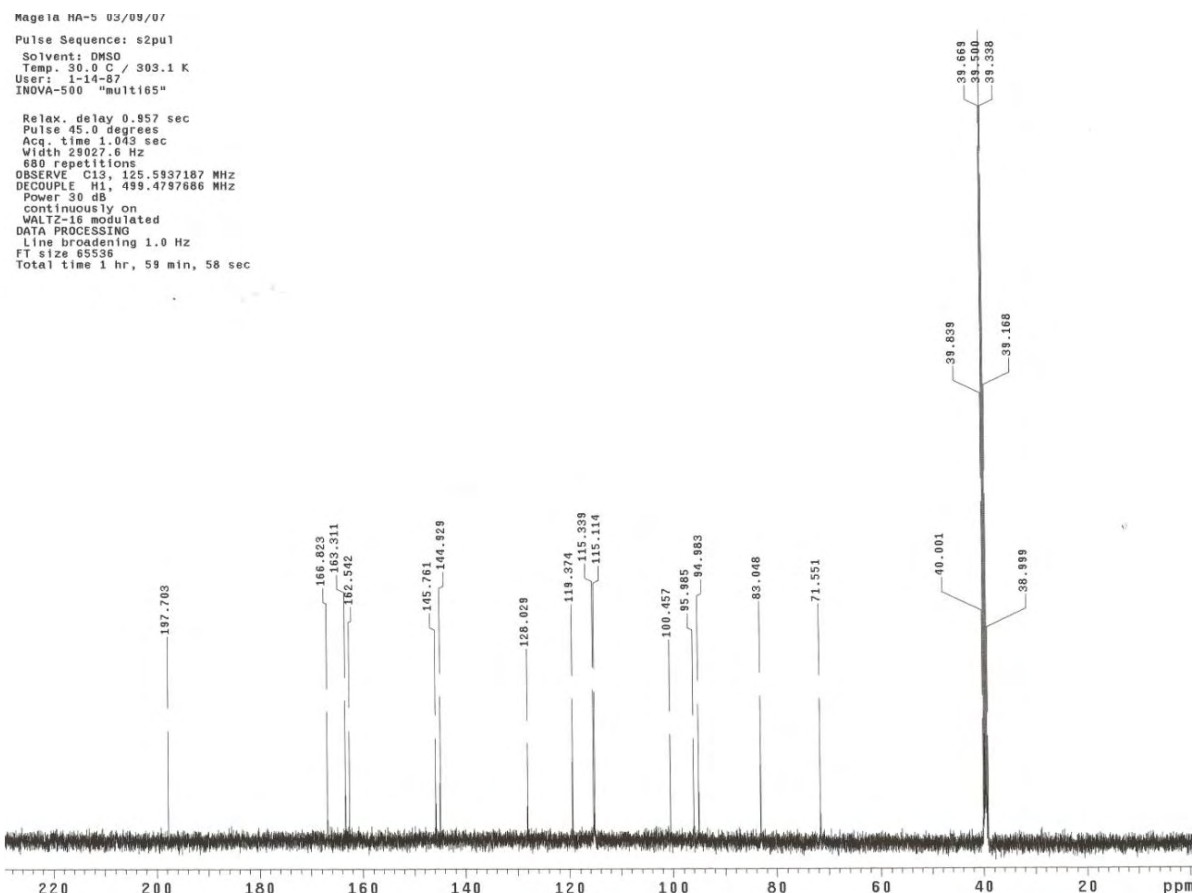
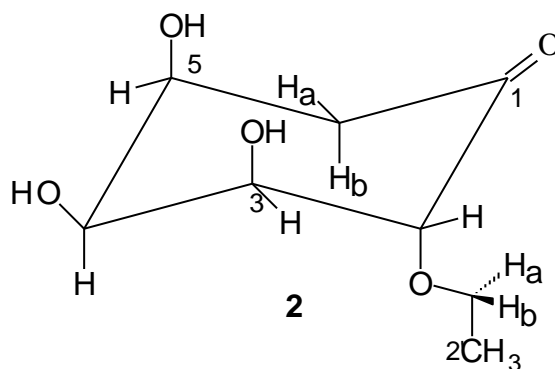


Figura 22. Espectro de RMN ^{13}C de **1** (125 MHz, DMSO- d_6).

5.2.2. *rel*-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-3,4,5-Triidroxi-2-etóxi-ciclohexanona (**2**)



O espectro de infravermelho (Figura 24) apresentou bandas características de grupamentos hidroxila em ν_{max} 3404 cm^{-1} e carbonila ν_{max} 1741 cm^{-1} , dentre outras. O espectro de massas (Figura 25) apresentou pico da molécula cationizada em m/z 229,0663 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (calculado para $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_5\text{K}$: m/z 229,0472).

O espectro de RMN ^1H (Figuras 26-27) apresentou um duplete e dois duplos dupletos em δ 5,15 (d, $J = 4,0$ Hz; H-2), δ 3,80 (dd, $J = 4,5$ e $12,5$ Hz; H-6_b) e δ 3,86 (dd, $J = 2,5$ e $12,5$ Hz; H-6_a), dois duplos dupletos em δ 4,38 (dd, $J = 1,5$ e $4,0$ Hz; H-3) e δ 4,21 (dd, $J = 1,5$ e $9,5$ Hz; H-4), três multipletos em δ 3,79 (dq, $J = 7,0$ e $10,0$ Hz; H-1'_R), δ 3,69 (ddd, $J = 2,5$; $4,5$ e $9,5$ Hz; H-5) e δ 3,54 (dq, $J = 7,0$ e $10,0$ Hz; H-1'_S) e um triplete em δ 1,19 (t, $J = 7,0$ Hz; H-2').

O espectro TOCSY (Figura 28) mostrou dois sistemas de *spins*, um constituído pelos sinais em δ 1,19 (H-2'), δ 3,54 (H-1'_b) e δ 3,79 (H-1'_a) correspondente a um substituinte etóxico e o outro constituído pelos sinais em δ 5,15 (H-2), 4,38 (H-3), 4,21 (H-4), 3,69 (H-5), 3,80 (H-6_a) e 3,86 (H-6_b) que correspondem ao anel de seis membros.

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 29, Tabela 5) apresentou 8 linhas espectrais e sua análise conjunta com o espectro DEPT 135° (Figura 30, Tabela 5), permitiu identificar a presença de um sinal referente a carbono metílico, dois metilênicos e quatro metínicos. A análise conjunta dos mapas de contornos *g*COSY, *g*HMQC e *g*HMBC (Figuras 23, 31-35, Tabela 5) permitiu correlacionar de forma inequívoca os carbonos e seus respectivos hidrogênios, além de determinar a posição destes na molécula. A presença de uma carbonila no anel foi confirmada pela correlação observada no espectro *g*HMBC entre o sinal δ 5,15 (H-2) e δ 207,4 (C-1) (Figura 35).

A estereoquímica relativa foi determinada com base nas informações obtidas no mapa de contornos NOESY 2D (Figuras 36-38, Tabela 5) e também com o auxílio das constantes de acoplamento, onde se observou as correlações entre os sinais δ 5,15 e δ 4,38; δ 4,38 e δ 4,21; δ 4,21 e δ 3,69; δ 3,69 com δ 3,80 e δ 3,86, e entre o sinal em δ 1,19 com δ 3,79 e δ 3,54. Com base nestas correlações e constantes de acoplamento foi possível determinar a configuração relativa de **2** como: 2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*, que é dextrorrotatória $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +12^\circ$ (c 0,1; MeOH).

Através das análises acima foi possível determinar a substância **2** como sendo *rel*-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-3,4,5-triidroxi-2-etóxi-ciclohexanona, inédita na literatura.

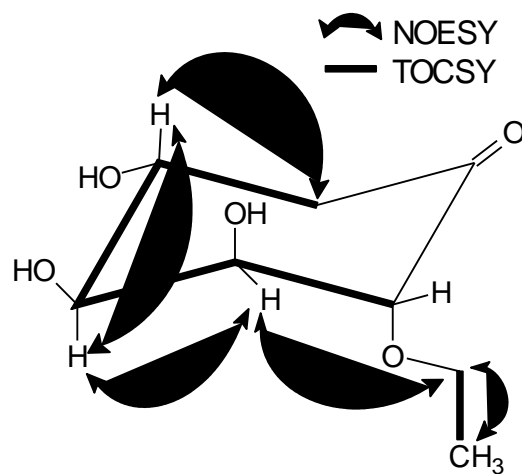


TABELA 5. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **2**, incluindo resultados de mapas de contornos de correlação (gCOSY, gHMQC e gHMBC) e interação (NOESY 2D), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	$\delta^{13}\text{C}$	DEPT 135°	H	gHMQC mult (J = Hz)	gHMBC	gCOSY	NOESY 2D
1	207,4	C	-	-	H-2	-	-
2	102,5	CH	2	5,15 d (4,0)	H-3	H-3	H-3; H-1' _a ; H-1' _b
3	76,0	CH	3	4,38 dd (1,5 e 4,0)	H-2	H-2	H-4
4	73,4	CH	4	4,21 dd (1,5 e 9,5)	H-6 _a	H-5	H-3; H-5
5	76,8	CH	5	3,69 ddd (2,5; 4,5 e 9,5)	H-4; H-6 _b	H-4	H-4; H-6 _a ; H-6 _b
6	62,5	CH ₂	6 _a 6 _b	3,80 dd (4,5 e 12,5) 3,86 dd (2,0 e 12,5)	H-4	-	H-5
1'	64,8	CH ₂	1' _a 1' _b	3,79 dq (7,0 e 10,0) 3,54 dq (7,0 e 10,0)	H-2; H-2'	H-2'	H-2'
2'	15,0	CH ₃	2'	1,19 t (7,0)	-	H-1' _a ; H-1' _b	H-1' _a ; H-1' _b

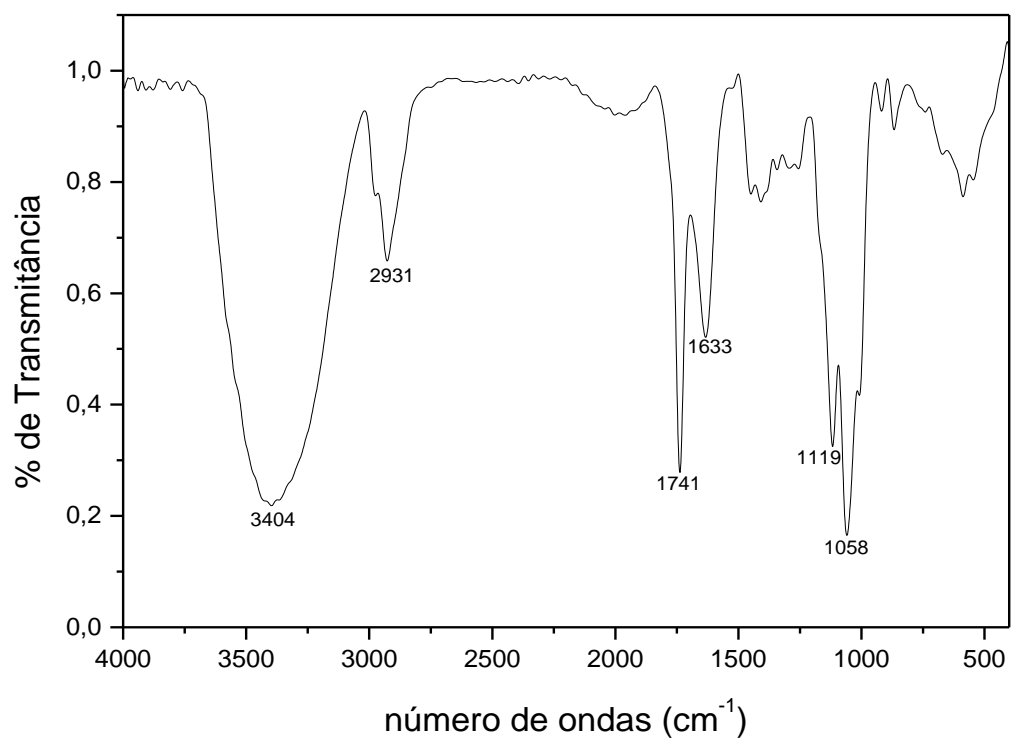


Figura 24. Espectro de absorção na região do IV de **2** (KBr).

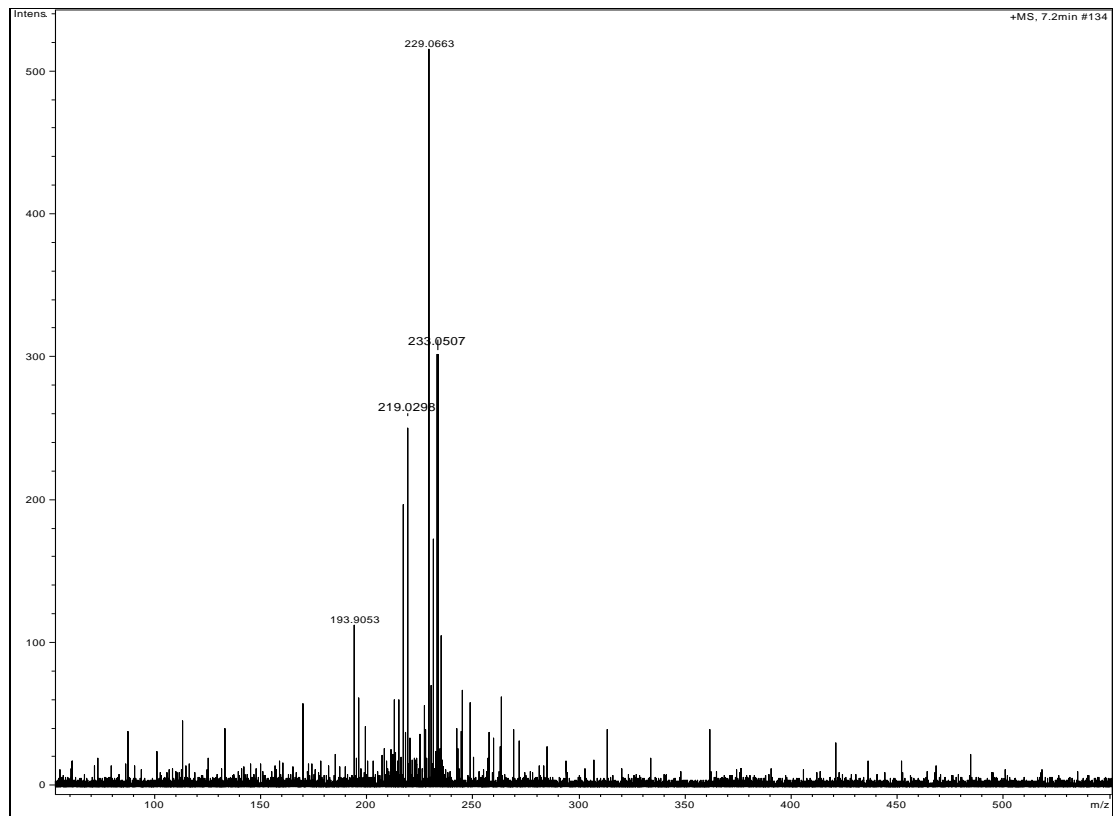


Figura 25. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **2**.

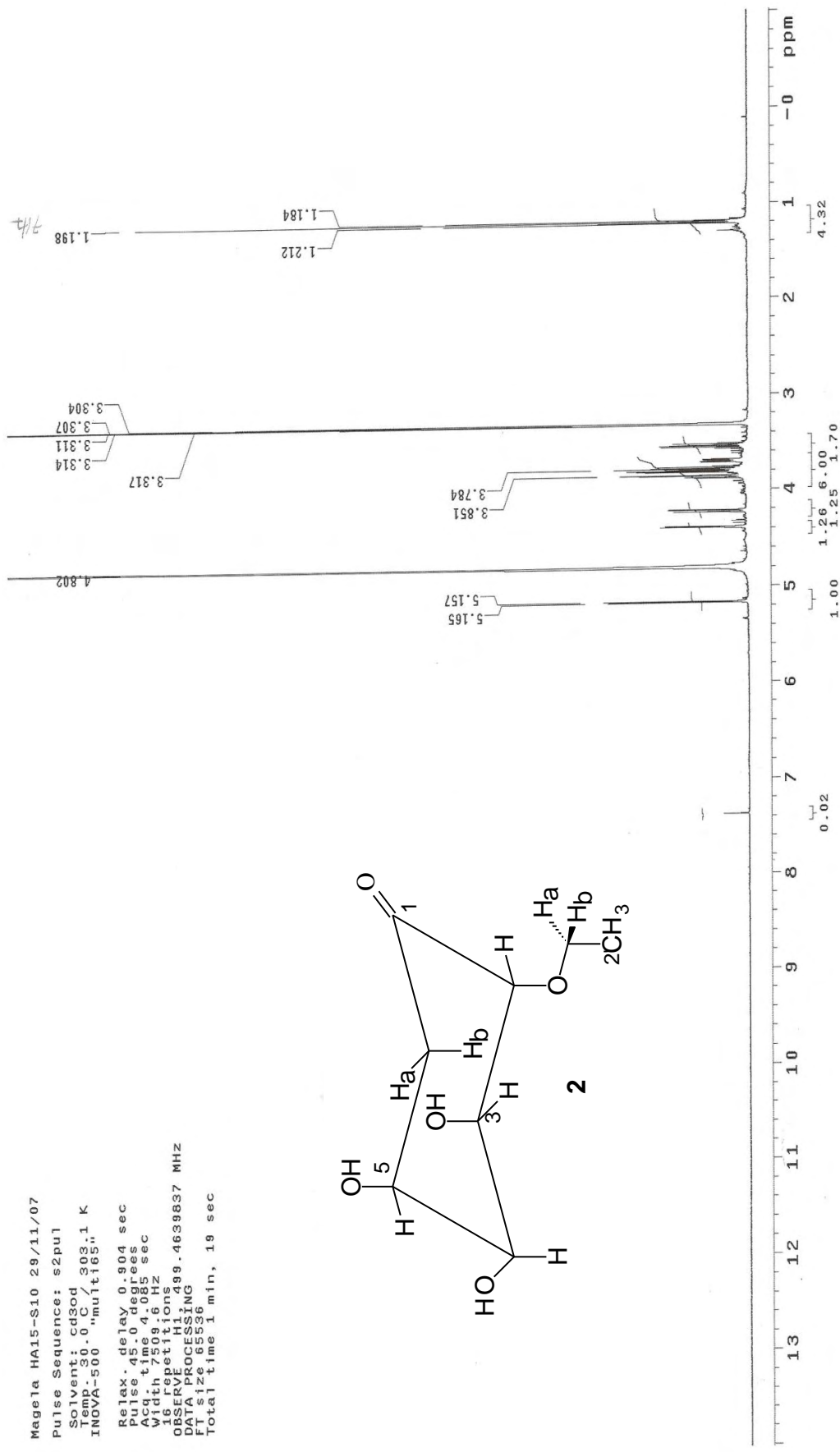
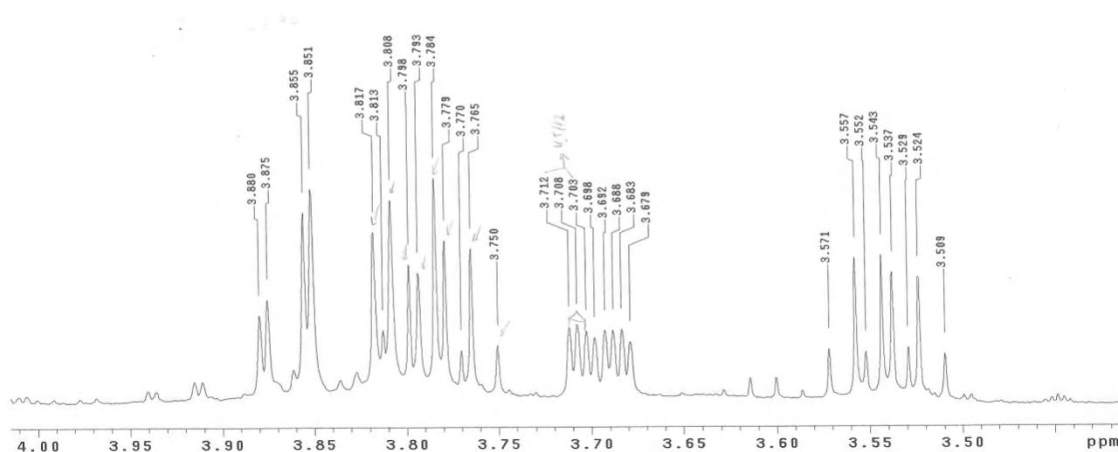


Figura 26. Espectro de RMN ¹H de 2 (500 MHz, CD₃OD).

Magela HA15-S10 29/11/07
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "multi65"
Relax. delay 0.904 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 4.085 sec
Width 7509.6 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 499.4639837 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 19 sec



Magela HA15-S10 29/11/07
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "multi65"
Relax. delay 0.904 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 4.085 sec
Width 7509.6 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 499.4639837 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 19 sec

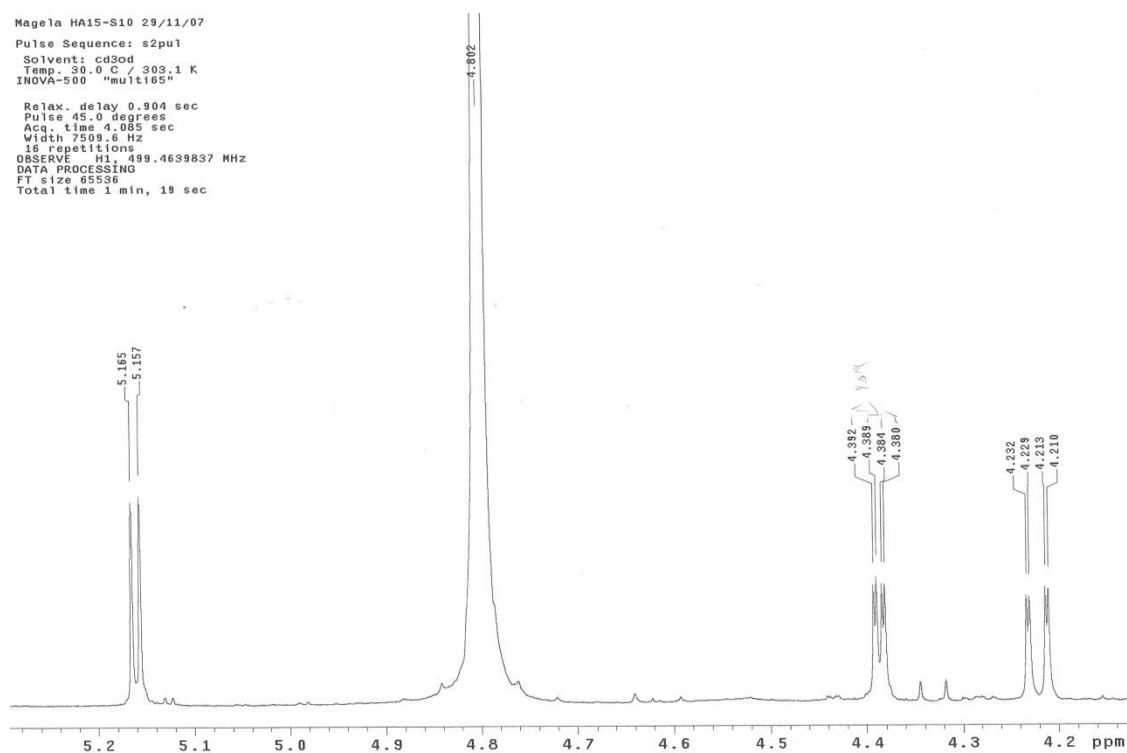
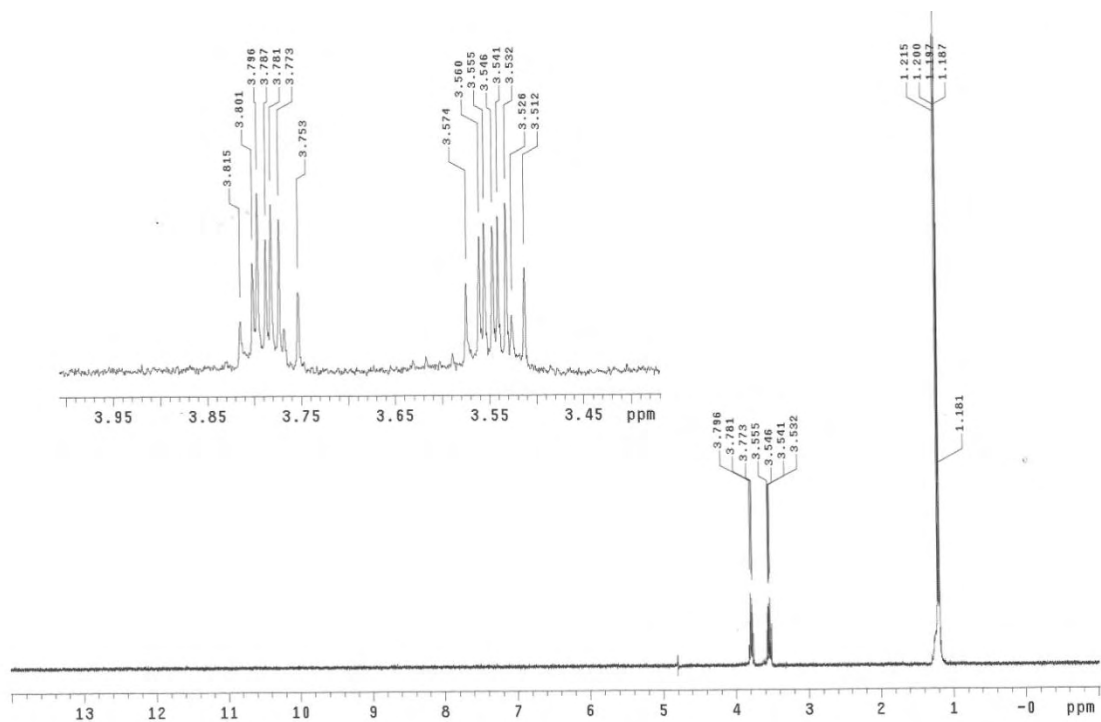


Figura 27. Expansões do espectro de RMN ^1H de **2** (500 MHz, CD_3OD).



Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Mixing 0.210 sec
Acq. time 4.085 sec
Width 7509.6 Hz
128 repetitions
OBSERVE H1, 499.4639837 MHz
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 12 min, 2 sec

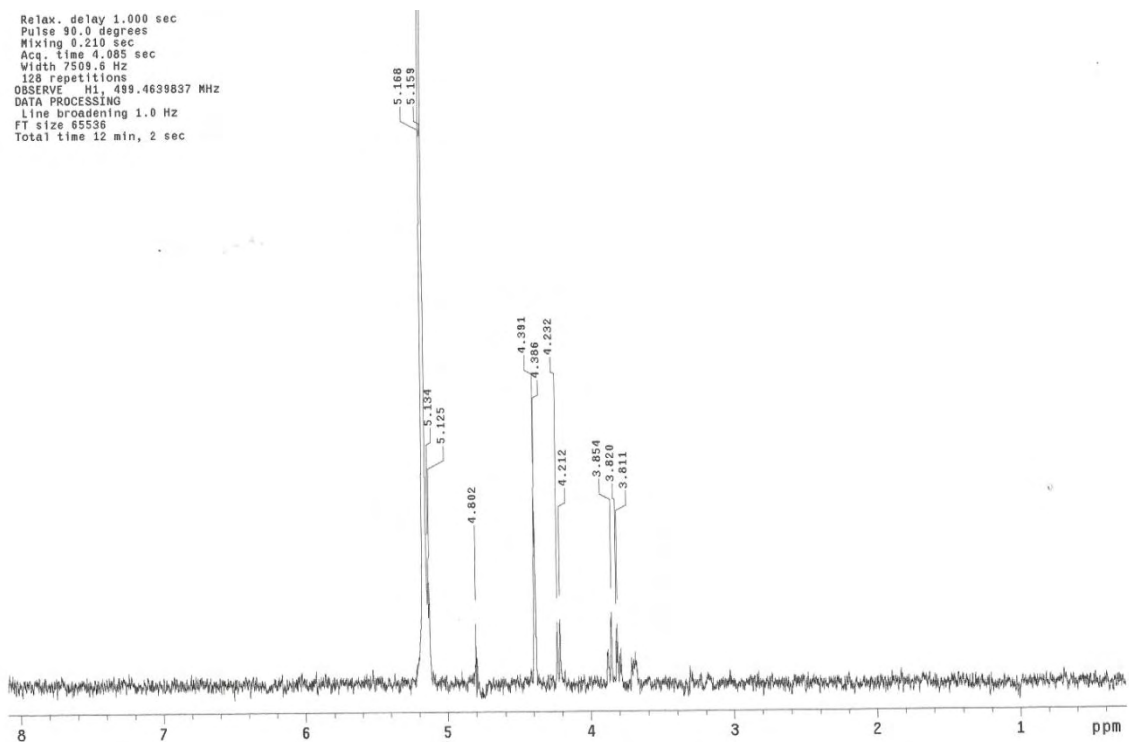


Figura 28. Expansões do espectro TOCSY 1D de **2** (500 MHz, CD₃OD).

Magela HA15-S10 29/11/07

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: magela_HA15S10_c

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 0.957 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.042 sec

Width 29027.6 Hz

5376 repetitions

OBSERVE C13, 125.5901392 MHz

DECOUPLE H1, 499.4664811 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 2 hr, 59 min, 55 sec

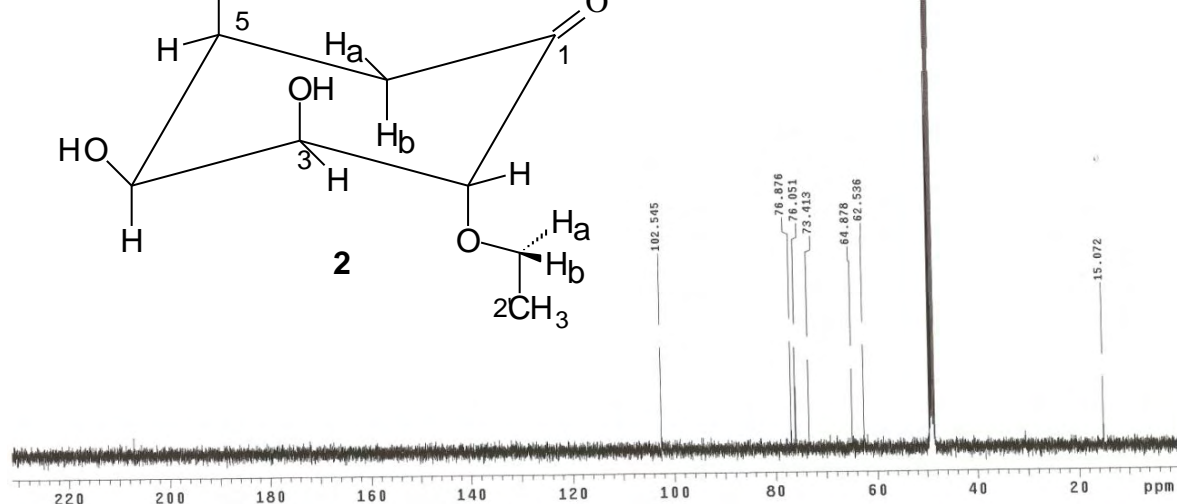


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C de **2** (125 MHz, CD_3OD).

Magela HA15-S10 29/11/07

Pulse Sequence: DEPT

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 1.042 sec

Width 29027.6 Hz

1736 repetitions

OBSERVE C13, 125.5901392 MHz

DECOUPLE H1, 499.4664811 MHz

Power 30 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 1 hr, 59 min, 47 sec

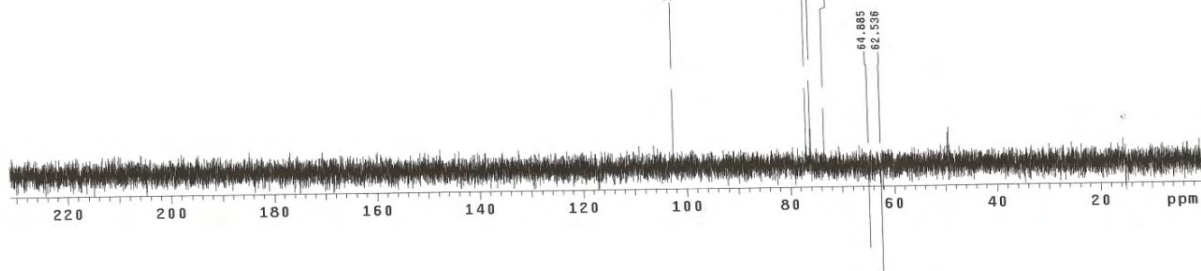


Figura 30. Espectro de RMN DEPT 135° de **2** (125 MHz, CD_3OD).

Magela HA15-S10 29/11/07

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "multis5"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.136 sec

Width 7509.6 Hz

2D Width 7509.6 Hz

2 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.4639837 MHz

DATA PROCESSING

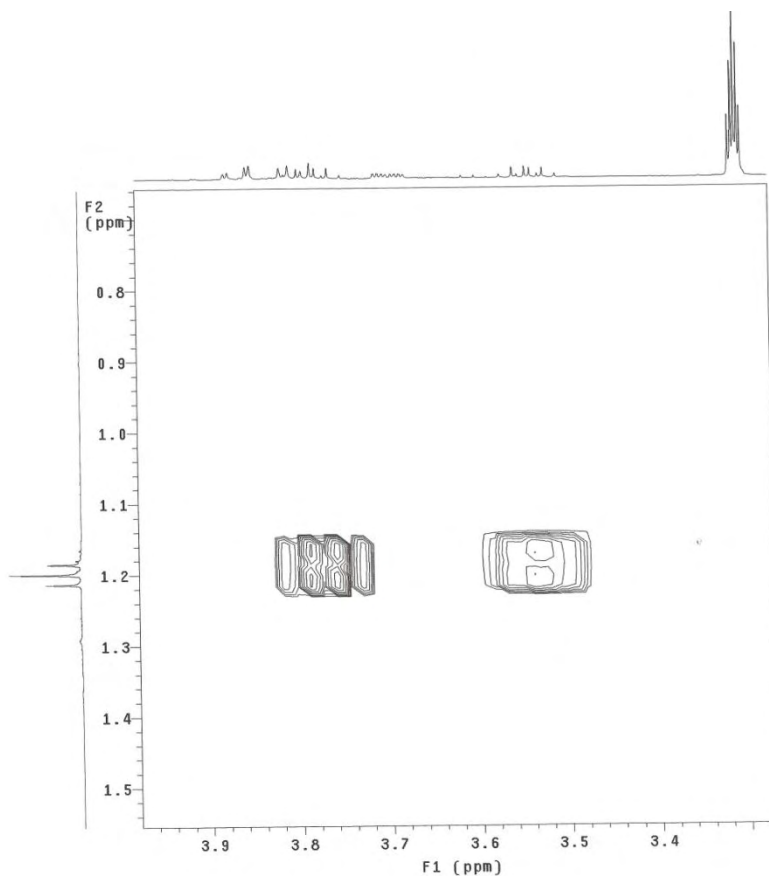
Sq. sine bell 0.068 sec

F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.009 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 5 min, 14 sec



Magela HA15-S10 29/11/07

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "multis5"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.136 sec

Width 7509.6 Hz

2D Width 7509.6 Hz

2 repetitions

128 increments

OBSERVE H1, 499.4639837 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.068 sec

F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.009 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 5 min, 14 sec

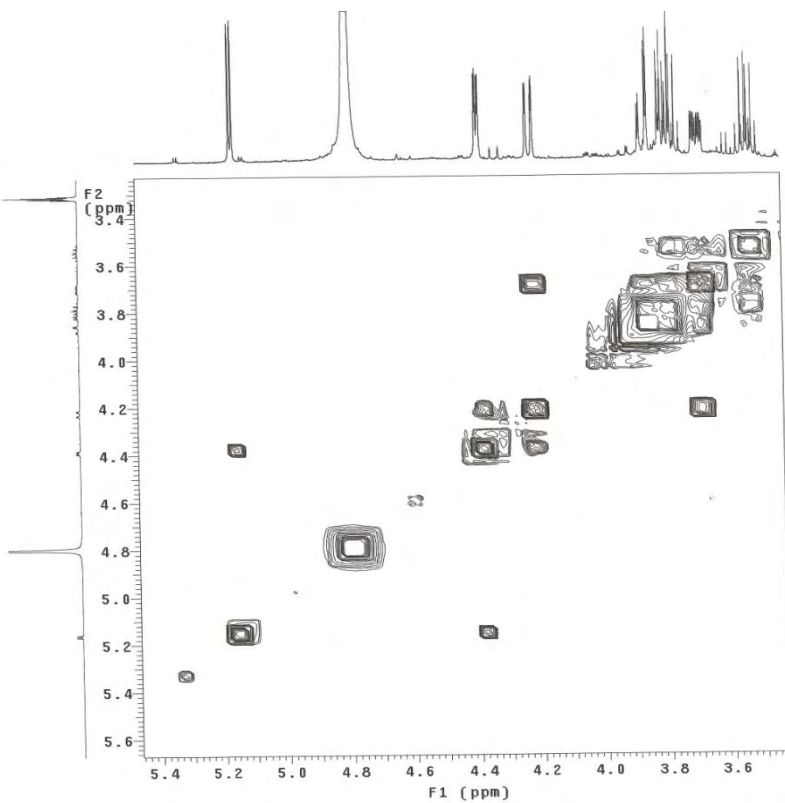


Figura 31. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **2** (500 MHz, CD₃OD).

Magela HA15-S10 29/11/07

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Temp. 301.4 K

Udecouple 125.627 MHz

INNOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.136 sec

Width 7509.6 Hz

2D Width 29027.6 Hz

4 repetitions

28 increments

OBSERVE H1 499.4639837 MHz

DECOUPLE C13; 125.6046688 MHz

Power 47 dB

on during acquisition

off during delay

OMP during delay

OMP during delay

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.063 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.003 sec

F1 size 2048 x 2048

Total time 20 min, 56 sec

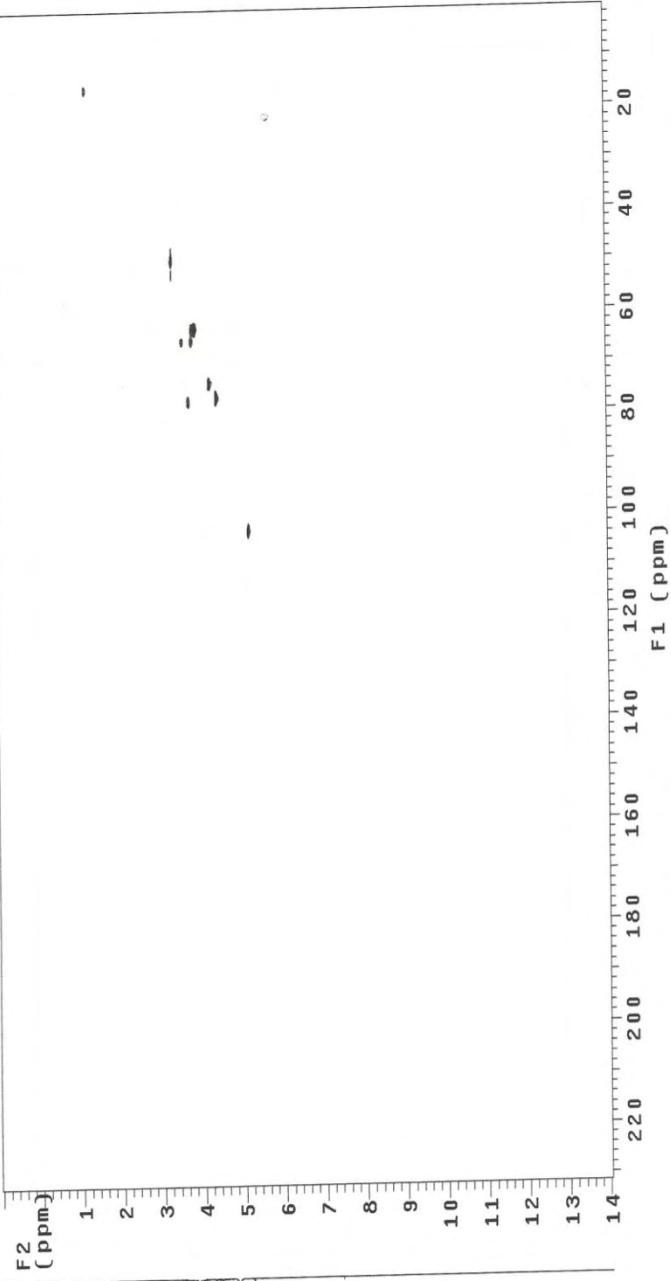


Figura 32. Mapa de contornos gHMQC de **2** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

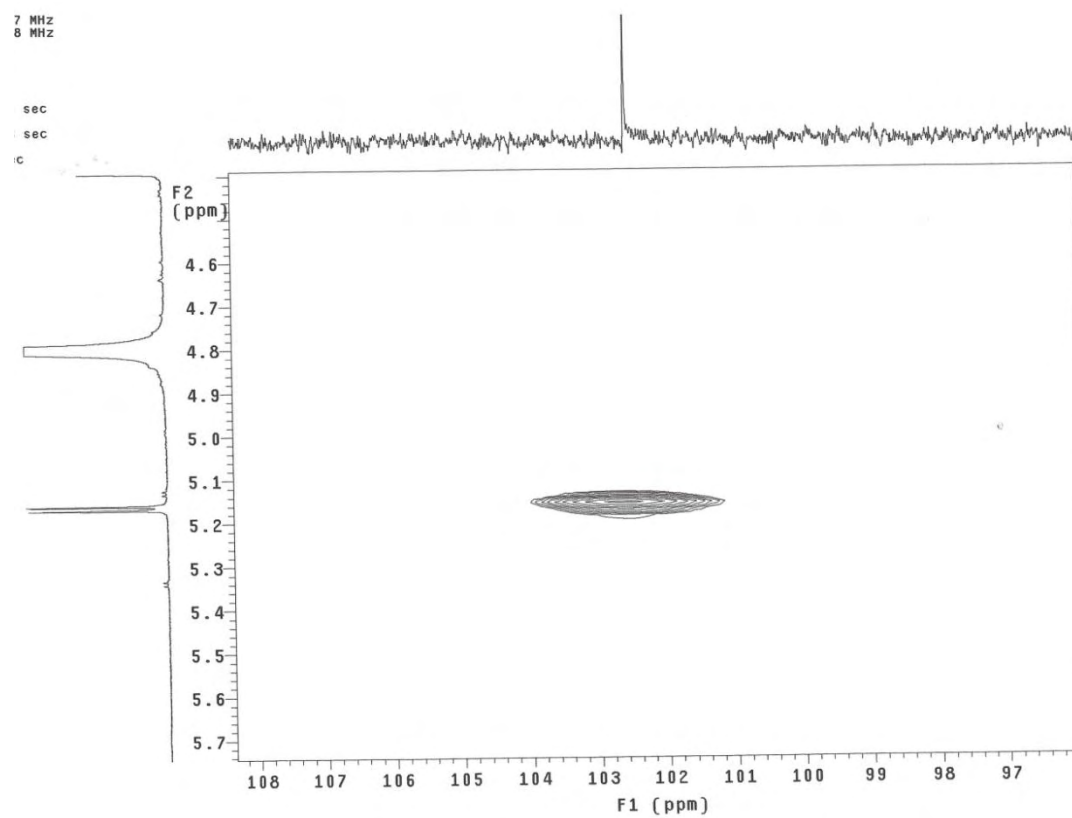
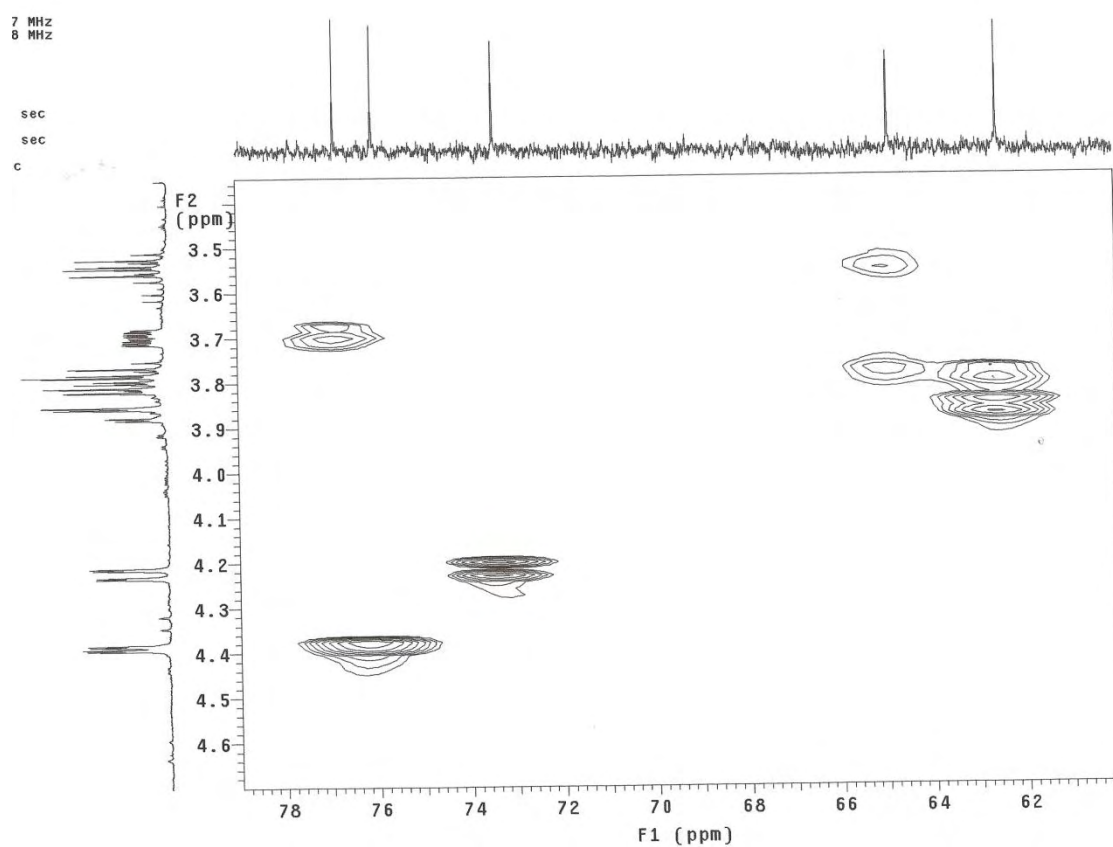


Figura 33. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **2** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

Magela HA15-S10 29/11/07

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od

Temp. 301.4-87/ 303.1 K

US: 301.4-87/ 303.1 K

INOVA-500 "multis165"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.136 sec

Width 7509.6 Hz

2D Width 29027.6 Hz

4 scans

128 increments

OBSERVE H1, 499.4639837 MHz

DATA PROCESSING

Fine bell 0.068 sec

DATA PROCESSING

Fine bell 0.002 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 11 min, 3 sec

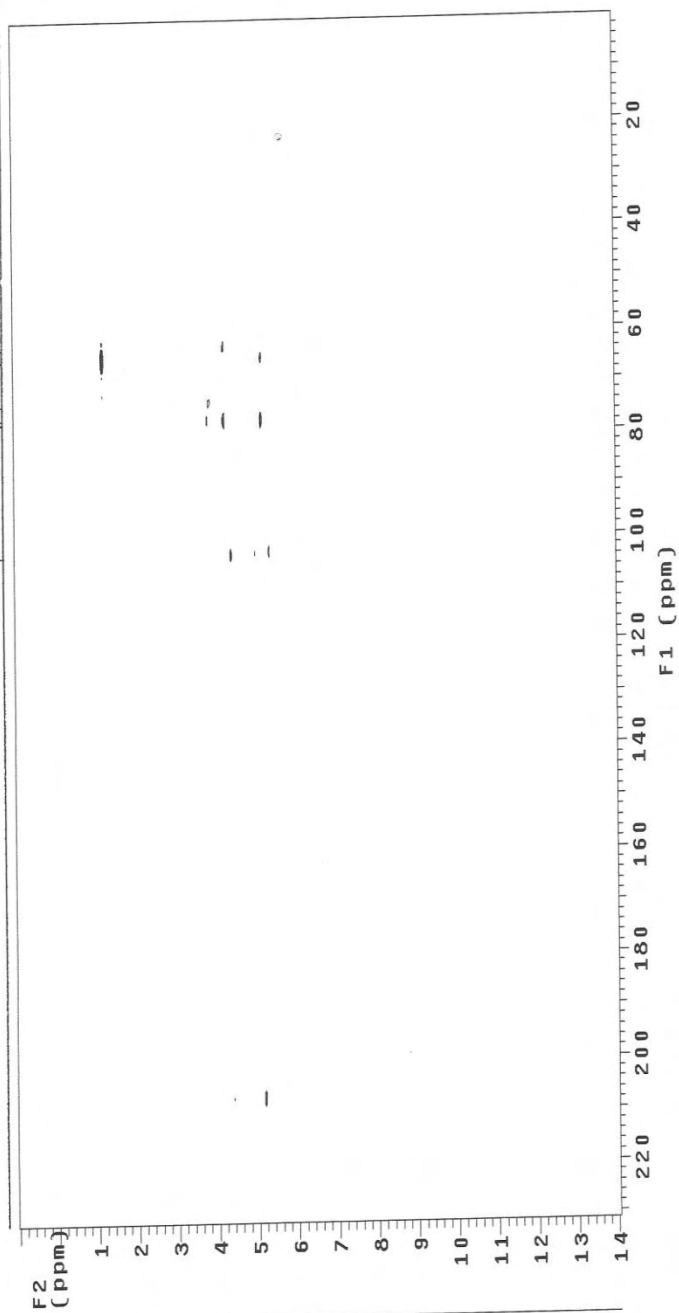


Figura 34. Mapa de contornos gHMBC de **2** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

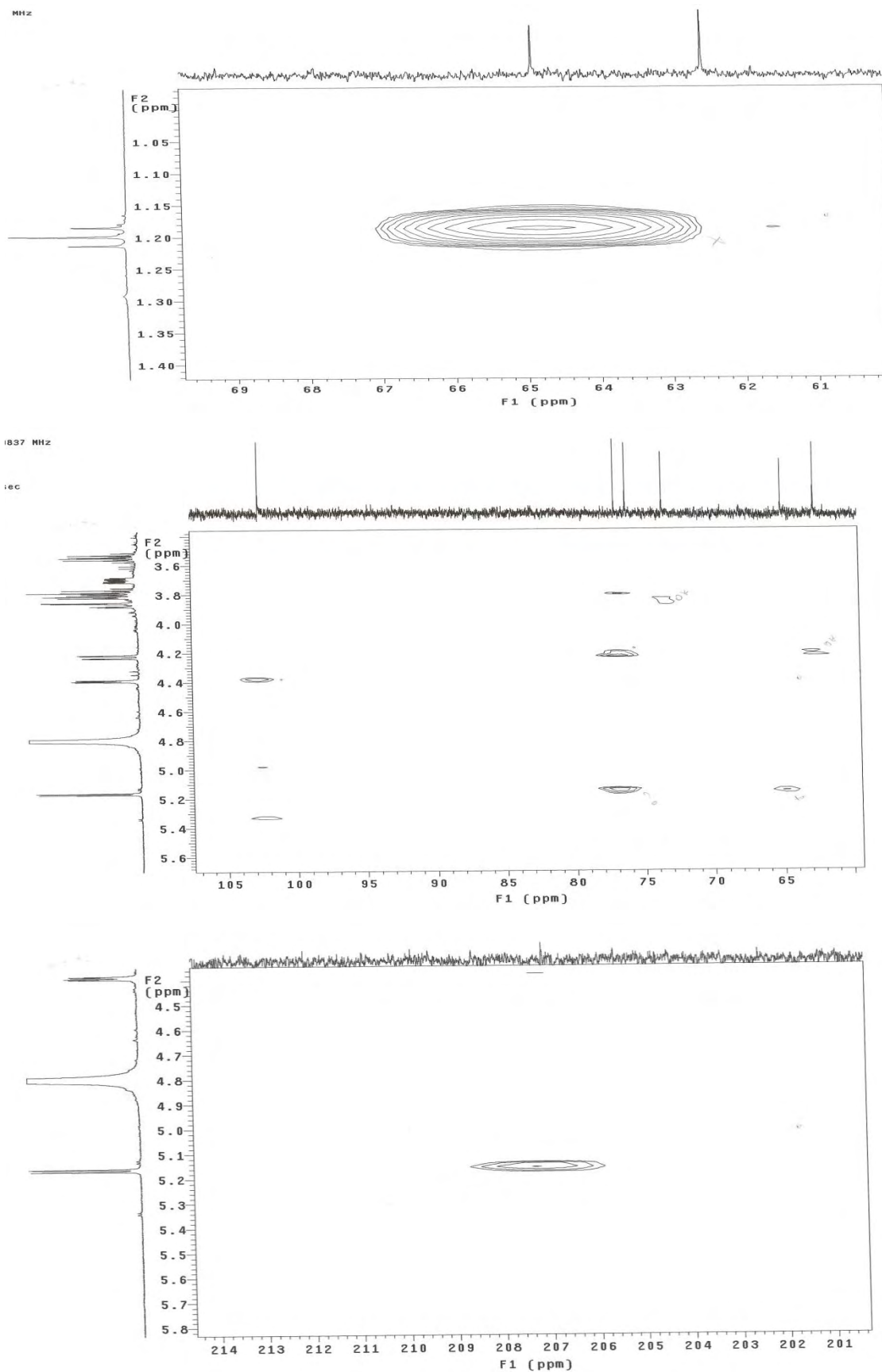


Figura 35. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **2** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

Mage1a MA15-S10 19/11/08

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Temp: 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "multis" 1

Relax. delay 1.000 sec

Mixing 1.400 sec

Acq. time 07.02 sec

Width 5071.0 Hz

2D Width 5071.0 Hz

16 repetitions

2 x 328 increments

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.093 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.016 sec

F2 DATA PROCESSING

Total time 3 hr, 48 sec

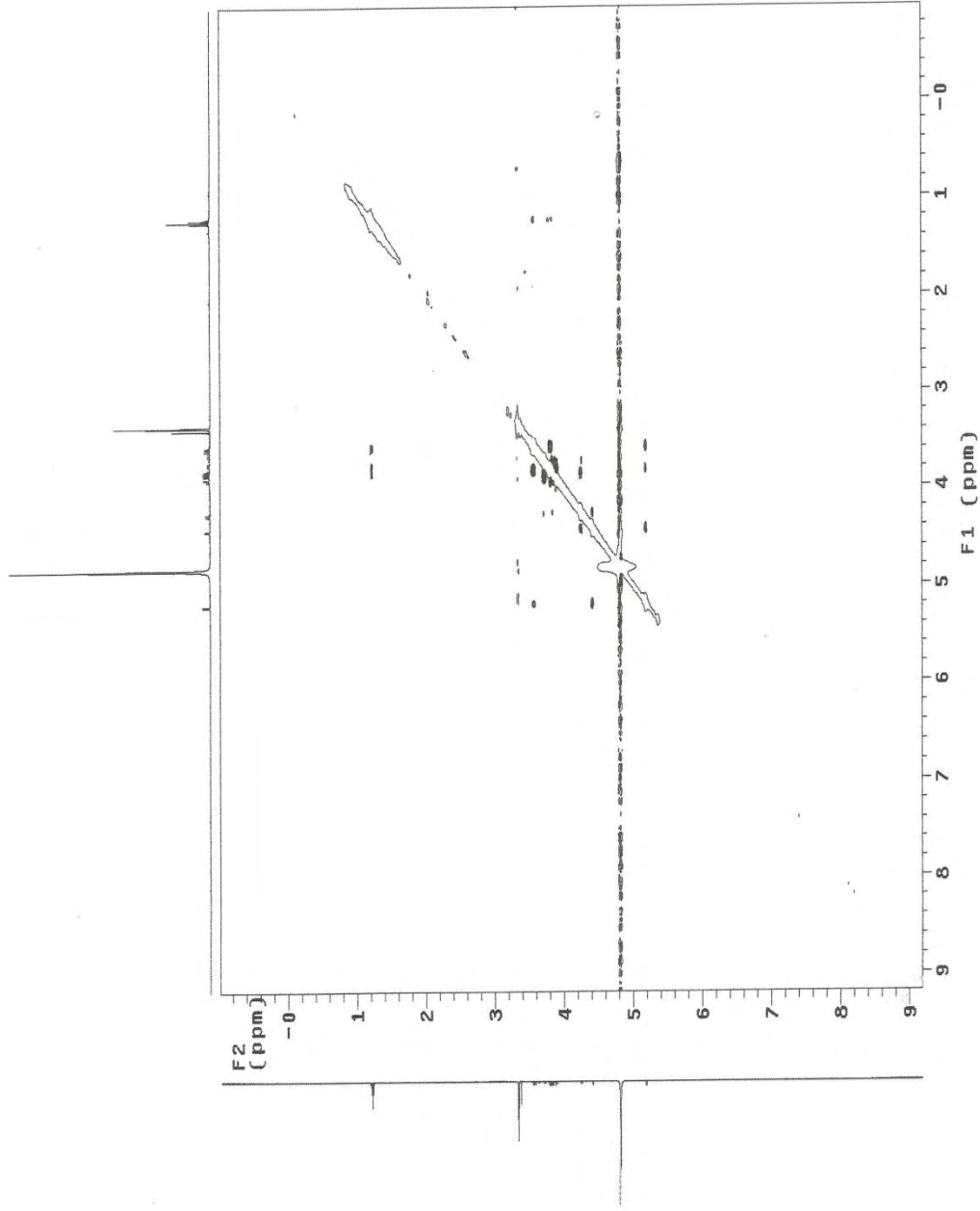


Figura 36. Mapa de contornos NOESY 2D de **2** (500 MHz, CD₃OD).

Magela HA15-S10 19/11/08

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec

Mixing 1.400 sec

Acq. time 0.202 sec

Width 5071.0 Hz

2D Width 5071.0 Hz

16 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.4239020 MHz

DATA PROCESSING

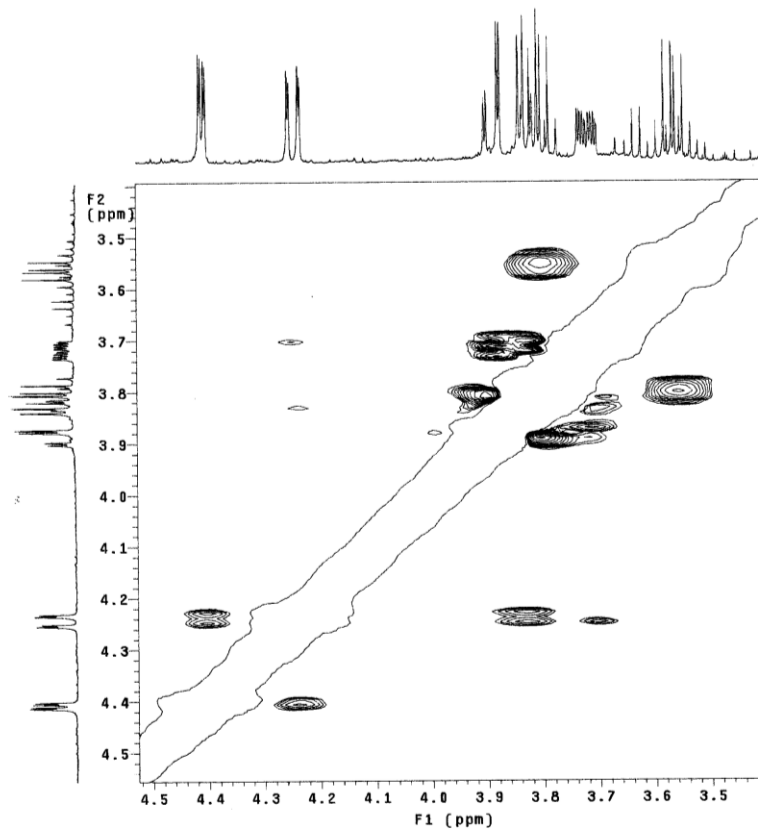
Gauss apodization 0.093 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.016 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 3 hr, 48 sec



Magela HA15-S10 19/11/08

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec

Mixing 1.400 sec

Acq. time 0.202 sec

Width 5071.0 Hz

2D Width 5071.0 Hz

16 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.4239020 MHz

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.093 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.016 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 3 hr, 48 sec

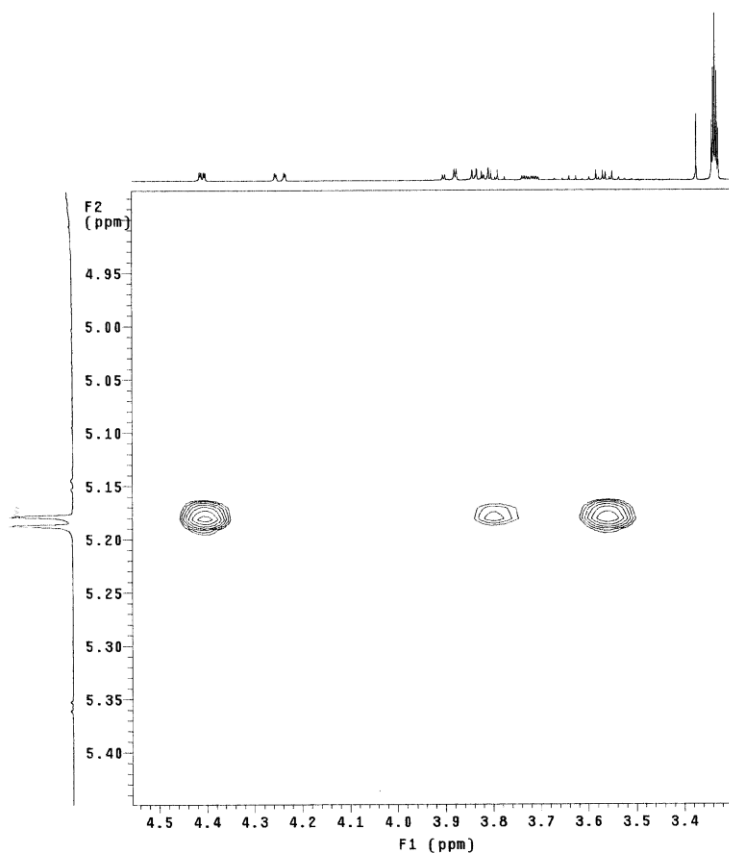


Figura 37. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de **2** (500 MHz, CD₃OD).

Magela HA15-S10 19/11/08

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "multis65"

Relax. delay 1.000 sec

Mixing 1.400 sec

Acq. time 0.202 sec

Width 5071.0 Hz

2D Width 5071.0 Hz

16 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1: 499.4239020 MHz

DATA PROCESSING

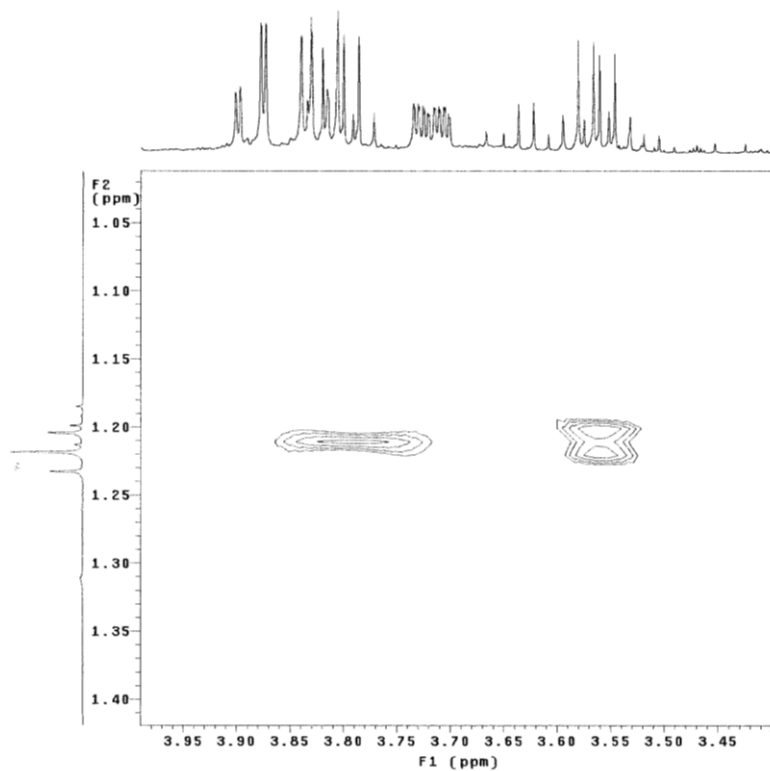
Gauss apodization 0.093 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.016 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 3 hr, 48 sec



Magela HA15-S10 19/11/08

Pulse Sequence: NOESY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "multis65"

Relax. delay 1.000 sec

Mixing 1.400 sec

Acq. time 0.202 sec

Width 5071.0 Hz

2D Width 5071.0 Hz

16 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1: 499.4239020 MHz

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.093 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.016 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 3 hr, 48 sec

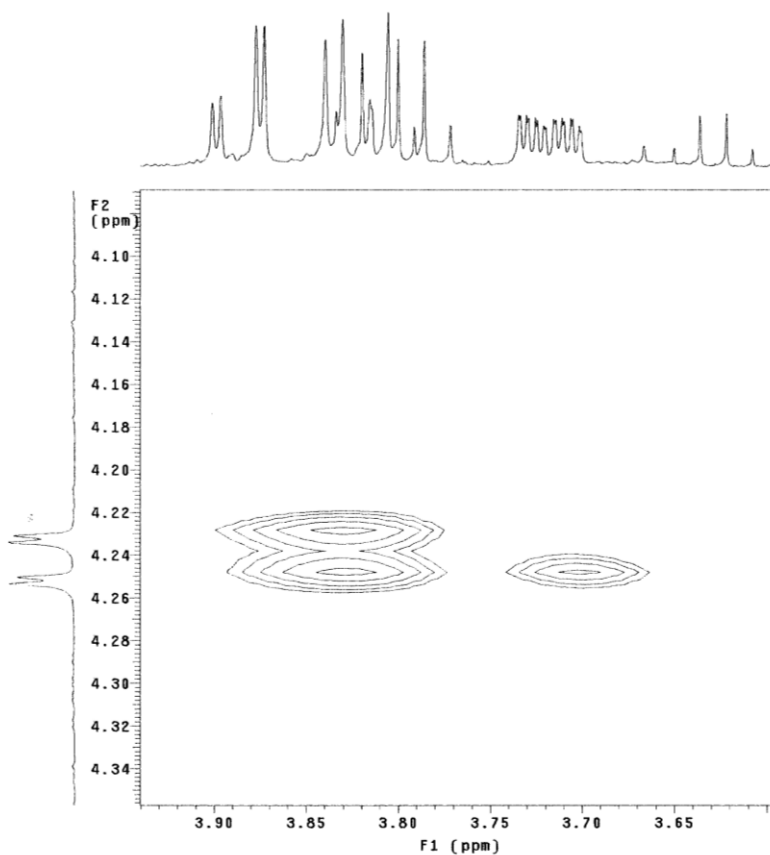
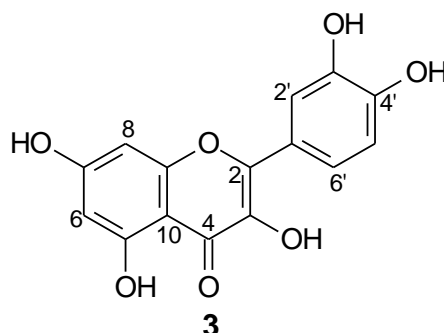


Figura 38. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de **2** (500 MHz, CD₃OD).

5.2.3. Quercetina (3)



O espectro de RMN ^1H de **3** (Figura 40), assim como em **1** apresentou dois dupletos em δ 6,19 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-6) e 6,41 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-8) do anel aromático tetrassubstituído com padrão de oxigenação alternado. O outro anel aromático 1,2,4-trissubstituído foi proposto com base nos sinais em δ 7,53 (1H, dd, $J = 2,0$ e 8,5 Hz, H-6'); 6,88 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, H-5') e 7,67 (1H, d, $J = 2,0$ Hz, H-2') e também apresentou um simpleto em δ 12,46 referente ao hidrogênio da hidroxila em C-5 a qual sofre efeito quelante da carbonila em C-4. Diferentemente de **1**, verificou-se a ausência dos sinais de hidrogênios referentes as posições H-2 e H-3, os quais em **3** foram substituídos por uma ligação dupla confirmada pelo espectro de RMN ^{13}C (Figura 41) através dos sinais em δ 146,8 (C-2) e 135,7 (C-3). A análise comparativa dos dados de RMN de ^{13}C (Figura 40) de **3** com os relatados na literatura (AGRAWAL, 1989) mostraram-se consistentes com os dados do monoflavonóide quercetina. A análise dos experimentos $g\text{COSY}$, $g\text{HMQC}$ e $g\text{HMBC}$ (Tabela 6 e Figura 39) confirmaram a estrutura proposta, assim como o valor obtido no espectro de massas da molécula desprotonada m/z 301,0354 $[\text{M-H}]^-$ (calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_7$: m/z 301,0353).

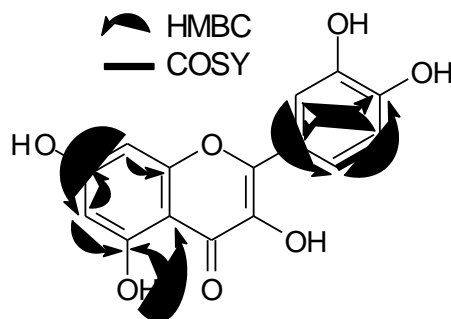


Figura 39. Principais correlações observadas pelos experimentos $g\text{COSY}$ (^1H - ^1H) e $g\text{HMBC}$ ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **3**.

TABELA 6. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **3**, incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos gHMQC e gHMBC, em DMSO- d_6 . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz.

C e H	gHMQC $^1J_{\text{CH}}$			gHMBC $^nJ_{\text{CH}}$	
	Quercetina (AGRAWAL, 1989) ^a	δ_{C} de 3	δ_{H} de 3	$^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$	
2	146,9	146,8	-	-	-
3	135,8	135,7	-	-	-
4	175,9	175,8	-	-	-
5	160,8	160,7	-	-	5-OH; H-6
6	98,3	98,1	6,19 (1H, d, 2,0)	-	5-OH; H-8
7	164,0	163,8	-	-	H-6; H-8
8	93,5	93,3	6,41 (1H, d, 2,0)	-	H-6
9	156,2	156,1	-	-	H-8
10	103,1	103,0	-	-	5-OH; H-6; H-8
1'	122,1	121,9	-	-	H-5'
2'	115,2	115,0	7,67 (1H, d, 2,0)	-	-
3'	145,1	145,0	-	-	H-5'
4'	147,7	147,6	-	-	H-2'; H-6'
5'	115,7	115,5	6,88 (1H, d, 8,5)	-	H-6'
6'	120,1	119,9	7,53 (1H, dd, 2,0 e 8,5)	-	H-2'
5-OH	-	-	12,46 (1H, s)	-	-

^aDMSO- d_6 .

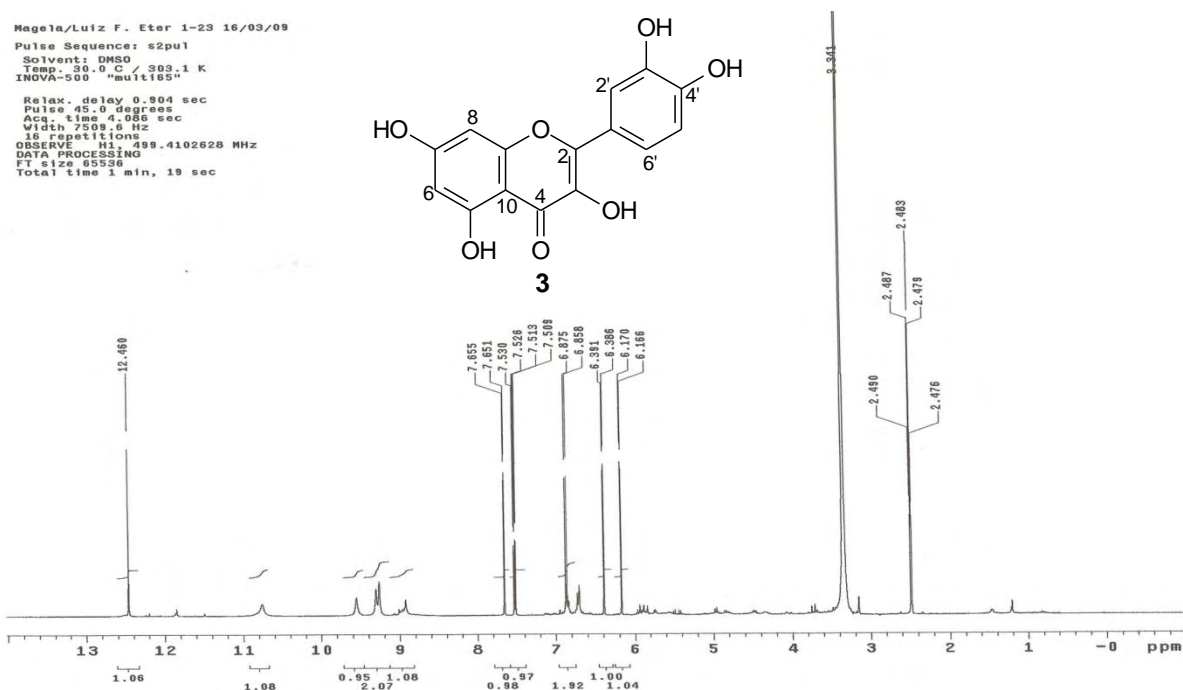


Figura 40. Espectro de RMN ^1H de 3 (500 MHz, DMSO- d_6).

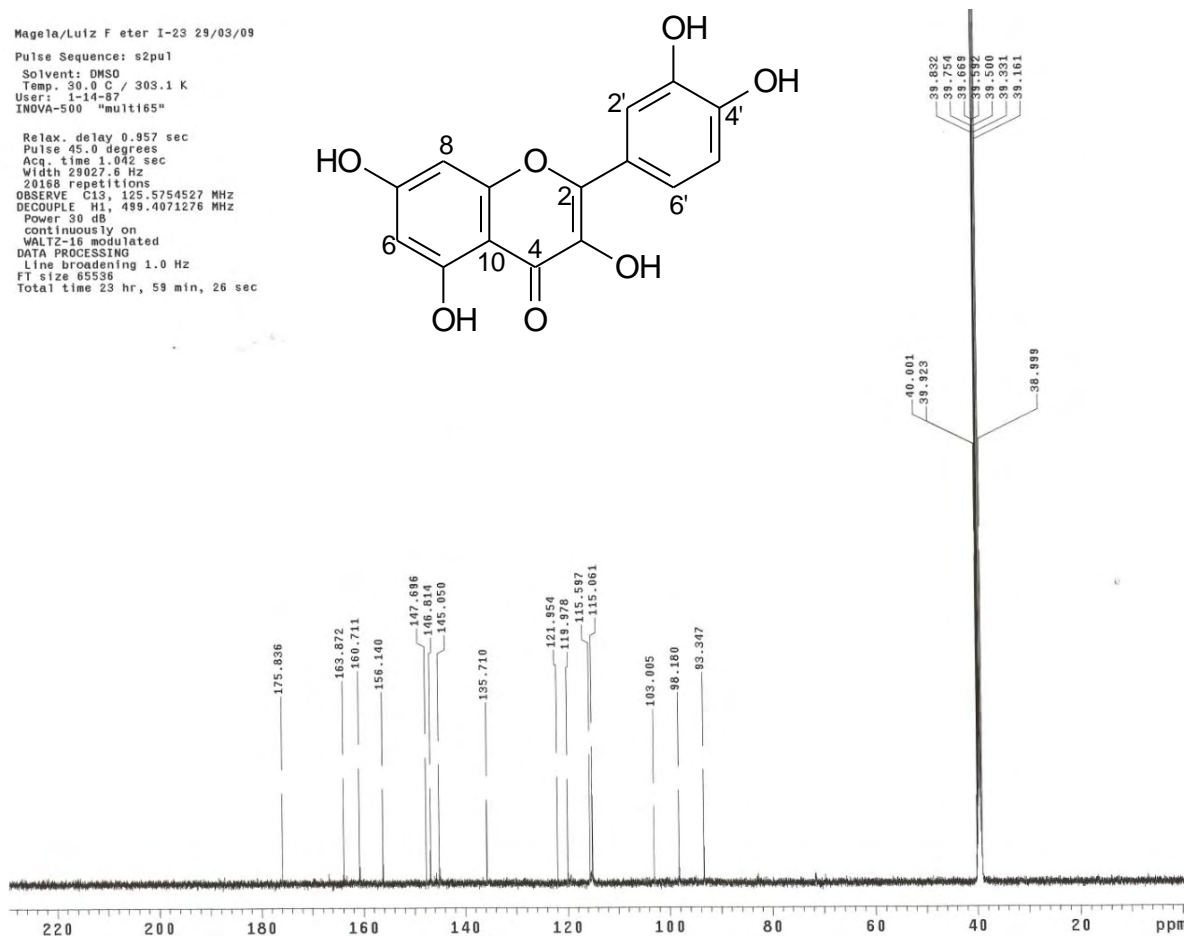
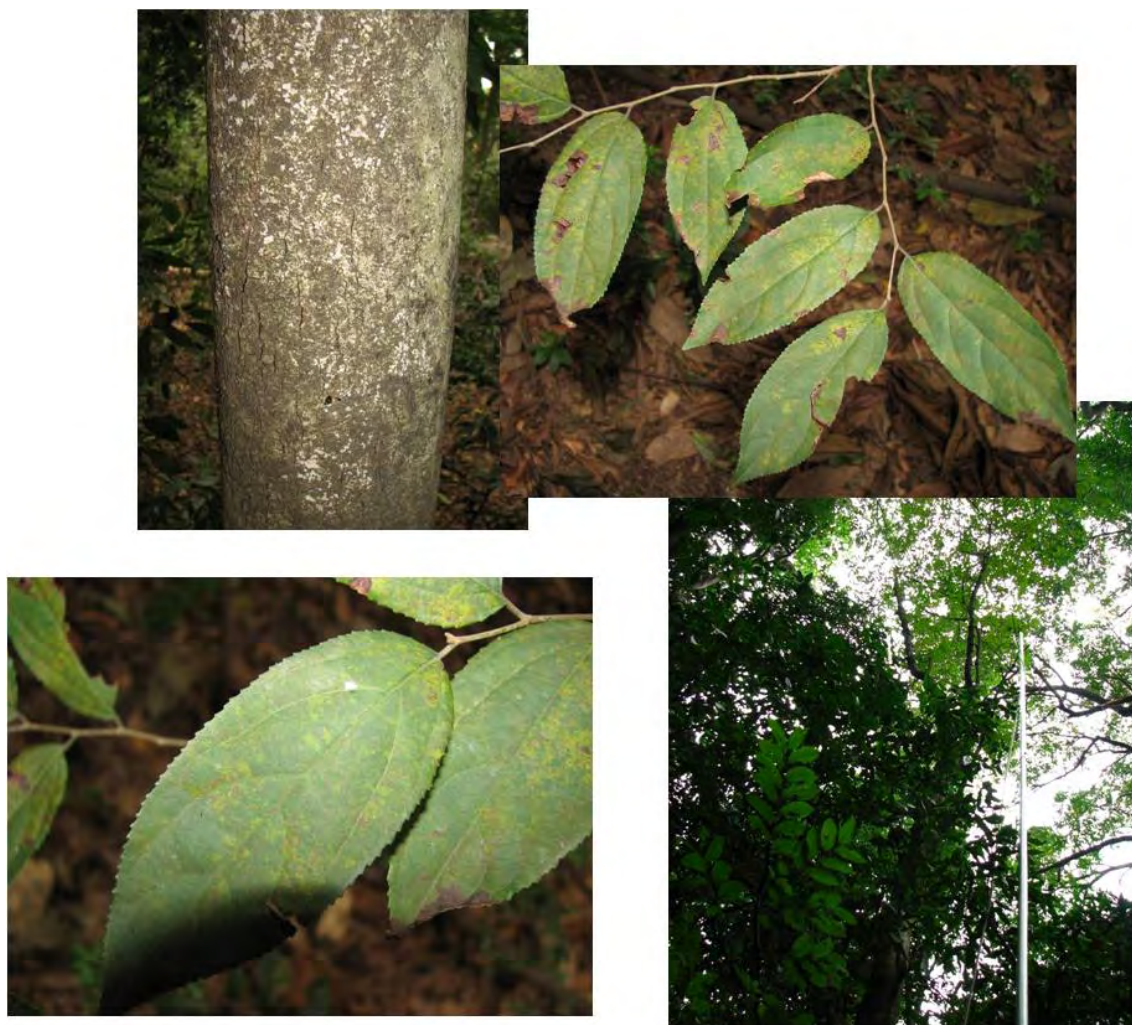


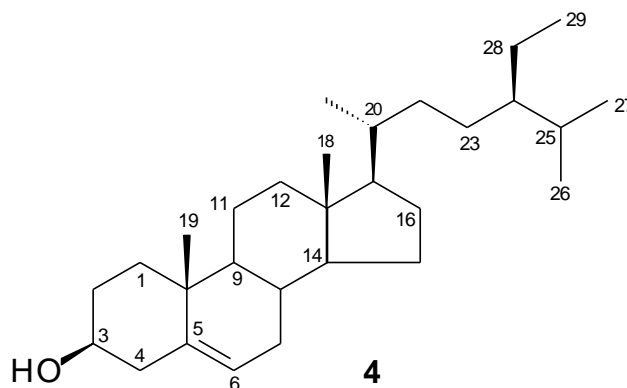
Figura 41. Espectro de RMN ^{13}C de 3 (125 MHz, DMSO- d_6).

5.3. *Casearia obliqua* Sprengel



Fotos: Gerardo Magela Vieira Jr. e Alberto J. Cavaleiro

5.3.1. Sitosterol (**4**)



O espectro de RMN ^1H (Figura 42) mostrou um padrão característico de esteróides Δ^5 evidenciado pelos sinais entre δ 0,60 e 0,93, correspondentes a hidrogênios de grupos metílicos, o multiplete em δ 3,44, atribuível ao hidrogênio carbinólico H-3 e um tripleto largo em δ 5,27 (1H, $J = 2,0$ Hz) referente ao hidrogênio olefínico H-6 (MATILDA et al., 1996).

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 43) apresentou 28 sinais, sendo o sinal em δ 32,1 atribuído a dois carbonos. A análise conjunta com o espectro DEPT 135° (Tabela 7) possibilitou a verificação de seis carbonos metílicos, onze metilênicos, nove metínicos e três não hydrogenados. Observou-se ainda os sinais em δ 72,0 do carbono carbinólico C-3, δ 140,9 e 121,9 referentes aos carbonos olefínicos C-5 e C-6, respectivamente. A comparação destes dados com os disponíveis na literatura (DE-EKNAMKUL; POTDUANG, 2003) permitiu identificar a substância **4** como sendo o esteróide sitosterol. O sitosterol é levorrotatório, com $[\alpha]_D^{30} = -28^\circ$ (c 0,1; CHCl_3).

TABELA 7. Dados de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **4**.

C	DEPT 135°	δ_c (ppm)	
		Sitosterol (DE-EKNAMKUL et al., 2003) ^a	4
1	CH ₂	37,2	37,4
2	CH ₂	31,6	31,8
3	CH	71,8	72,0
4	CH ₂	42,1	42,5
5	C	140,7	140,9
6	CH	121,7	121,9
7	CH ₂	31,8	32,1
8	CH ₂	31,8	32,1
9	CH	50,1	50,3
10	CH	36,4	36,3
11	CH ₂	21,0	21,3
12	CH ₂	39,7	40,0
13	CH ₂	42,2	42,5
14	CH	56,7	57,0
15	CH ₂	24,3	24,5
16	CH ₂	28,2	28,4
17	CH	56,0	56,3
18	CH ₃	11,8	12,0
19	CH ₃	19,3	19,5
20	CH	36,1	36,3
21	CH ₃	18,7	18,9
22	CH ₂	33,9	34,1
23	CH ₂	26,0	26,3
24	CH	45,8	46,0
25	CH	29,1	29,4
26	CH ₃	19,8	20,0
27	CH ₃	19,0	19,2
28	CH ₂	23,0	23,3
29	CH ₃	11,9	12,1

^a CDCl_3

Magela EHII-F3-F39 15/07/08

Pulse Sequence: e2pu1

Solvent: CDCl3

Temp: 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 0.804 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.083 sec

Width 5115.1 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.4362556 MHz

DATA PROCESSING

FT size 65536

Total time 1 min, 19 sec

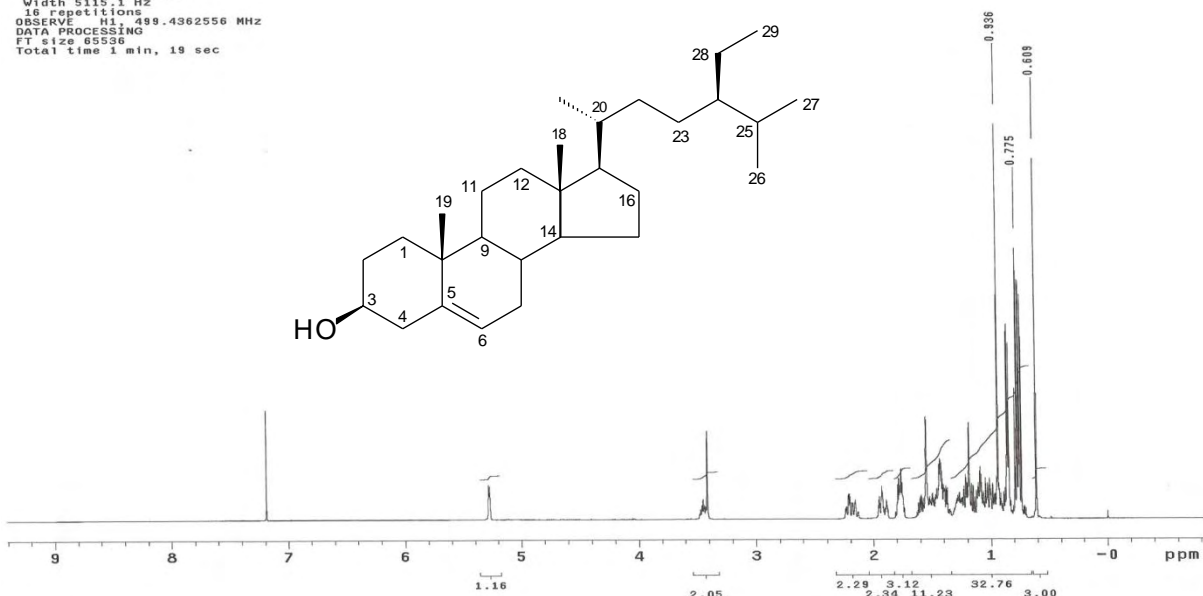


Figura 42. Espectro de RMN ^1H de 4 (500 MHz, CDCl_3).

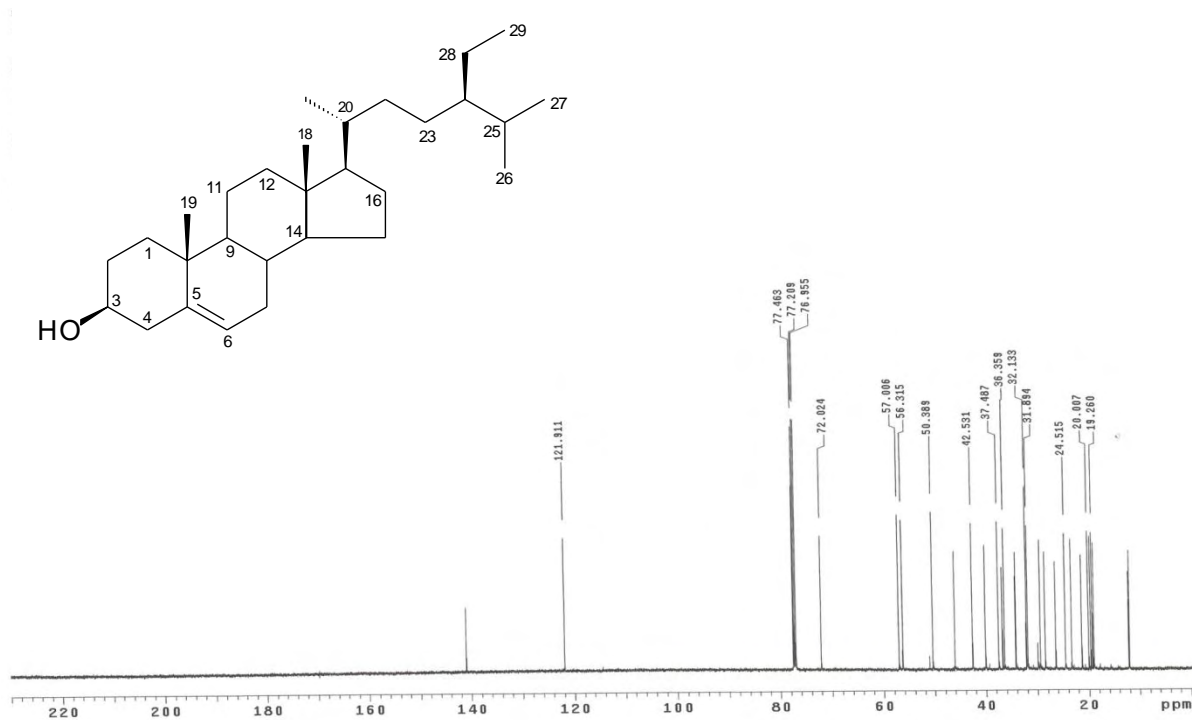
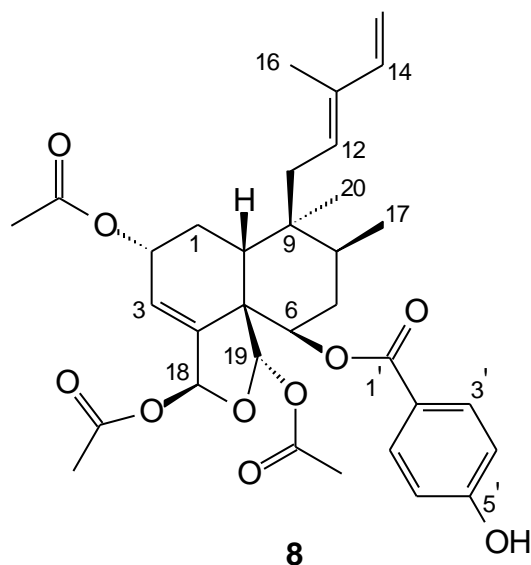


Figura 43. Espectro de RMN ^{13}C de 4 (125 MHz, CDCl_3).

5.3.2. Caseobliquina A (**8**)



A substância **8** apresentou dados de RMN ^{13}C muito semelhantes aos relatados na literatura para a casearborina E (BEUTLER et al., 2000b), porém há pequenas diferenças nas atribuições de alguns sinais nos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Por isso a elucidação estrutural da caseobliquina A é apresentada a seguir.

Conforme descrito no procedimento experimental (Esquema 5), a substância **8** está presente na fração EEI-E50-P1 (10,0 mg), na forma de um sólido levemente amarelado e amorfo, solúvel em CHCl_3 e MeOH. A determinação estrutural de **8** foi feita através da análise dos espectros de UV, IV, massas, RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensionais (Tabelas 8 e 9) e por comparação com dados descritos na literatura (BEUTLER et al., 2000b).

O espectro de massas de alta resolução (HRTOF-ESIMS) (Figuras 46-47) no modo positivo apresentou pico relativo ao íon m/z 619,2512 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ e no modo negativo pico relativo ao íon m/z 595,2548 $[\text{M}-\text{H}]^-$ que são consistentes com os valores de 619,2513 e 595,2548, calculados com base na fórmula molecular $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{10}$ para o íon da molécula cationizada e desprotonada, respectivamente.

O espectro na região do ultravioleta (Figura 48) da substância **8** mostrou duas bandas de absorção em 241 nm (CHCl_3 , $\log \varepsilon$ 3,48) e 280 nm (CHCl_3 , $\log \varepsilon$ 3,50), referentes ao dieno conjugado e ao substituinte *p*-hidroxibenzoato, respectivamente. O espectro na região do infravermelho (Figura 49) apresentou bandas características de vibrações de estiramento O-H fenólico em ν_{max} 3436 cm^{-1} , C-H

alifático entre ν_{\max} 2927-2962 cm^{-1} , C=O de éster em ν_{\max} 1735 cm^{-1} e C(=O)-O de éster entre ν_{\max} 1230-1272 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 50-51) apresentou sinais na região olefínica em δ 4,93 (d, $J = 11,0$ Hz; H-15a), δ 5,09 (d, $J = 17,0$ Hz; H-15b) e o hidrogênio vicinal em δ 6,43 (dd, $J = 11,0$ e 17,0 Hz; H-14) consistentes com os acoplamentos *cis/trans* dos hidrogênios da ligação dupla terminal monosubstituída, além de outro sinal em δ 5,54 (m, H-12) que pode ser atribuído ao hidrogênio da outra ligação dupla do dieno conjugado. A estrutura parcial formada pela cadeia lateral ligada em C-9 foi confirmada pelas correlações observadas no mapa de contornos gHMBC (Figuras 61-64, Tabela 11) entre H-11b e C-9, H-11b/ H-14/ H-16 e C-12, H-11b/H-14/H-15a/H-15b/H-16 e C-13, H-15b/H-16 e C-14, e H-14 e C-16, bem como pelas correlações do mapa de contornos gCOSY (Figuras 58-60 Tabela 10). A configuração *E* da ligação dupla em C-12 foi determinada com base no efeito nuclear Overhauser (NOESY 1D, Tabela 11) observado entre os sinais δ 5,54 (H-12) e δ 6,43 (H-14). O espectro também apresentou dois sinais na região de aromáticos com integrações correspondentes a dois hidrogênios cada, sendo dois dupletos em δ 6,83 (d, $J = 9,0$ Hz; H-3' e H-7') e δ 7,97 (d, $J = 9,0$ Hz; H-4' e H-6'), evidenciando a presença de um anel aromático para-substituído. O espectro apresentou sinais de hidrogênios alifáticos característicos de diterpenos clerodânicos em δ 0,92 (s, H-20), δ 0,97 (d, $J = 7,0$ Hz, H-17), δ 2,29 (dd, $J = 8,0$ e 17,0 Hz, H-11b), δ 2,58 (dd, $J = 3,0$ e 14,0 Hz, H-10), δ 5,34 (dd, $J = 4,5$ e 12,0 Hz, H-6), δ 6,39 (t, $J = 1,5$ Hz, H-18) e δ 6,67 (s, H-19). Adicionalmente observou-se no espectro três simpletos em δ 1,95 (s, COOMe-19), δ 2,03 (s, COOMe-18) e δ 2,07 (s, COOMe-2) correspondentes a grupos metilas de acetato em C-19, C-18 e C-2, respectivamente (OBERLIES et al., 2002; ITOKAWA et al., 1990; SANTOS et al., 2007). Através das correlações observadas no mapa de contornos gCOSY (Figuras 63-64, 66) confirmou-se o padrão de substituição do anel aromático. A Tabela 10 contém outras correlações importantes entre outros sinais que auxiliaram nas atribuições dos deslocamentos químicos.

O sistema decalínico (anéis A e B, C-1 a C-10) também foi confirmado a partir de correlações observadas nos mapas de contornos gHMBC e gCOSY (Figuras 58-64 e Tabelas 10-11), além da comparação com dados de RMN de ^{13}C da literatura

(BEUTLER et al., 2000b). O sinal de hidrogênio olefínico em δ 5,95 (sl, H-3) foi atribuído à ligação dupla em C-3 (δ 126,5), também característica de diterpenos clerodânicos (OBERLIES et al., 2002; ITOKAWA et al., 1990).

O espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 52-53) apresentou 31 linhas espectrais, sendo duas mais intensas correspondentes a dois carbonos, sua análise conjunta com o espectro DEPT 135° (Figura 54, Tabela 10) permitiu identificar a presença de seis sinais referentes a carbonos metílicos, quatro metilênicos, treze metínicos e dez a carbonos não hidrogenados, com destaque para os pares de sinais correlacionados pelo mapa de contornos gHMBC (Figuras 61-64, Tabela 11), em δ 20,9 (COOMe-18) e δ 171,8 (18-C=O), δ 21,0 (COOMe-2) e δ 172,5 (2-C=O); e δ 21,9 (COOMe-19) com δ 171,1 (19-C=O), correspondentes às metilas e carbonilas dos grupamentos acetatos. Os sinais de carbonos metínicos oxigenados em δ 96,0 (C-18) e 98,4 (C-19) que mostraram correlação no mapa de contornos gHMQC (Figuras 55-56, Tabela 10) com os sinais em δ 6,39 (t, $J = 1,5$ Hz; H-18) e δ 6,67 (s, H-19), respectivamente, indicaram a existência do sistema diacetálico (anel C), típico de diterpenos clerodânicos encontrados em espécies de *Casearia* (CHEN et al., 2008; SANTOS et al., 2007; SHEN et al., 2004a). As correlações observadas no mapa de contornos gHMBC (Figuras 44, 61-64, Tabela 11) entre H-18 e a carbonila de um grupo acetato δ 171,8 (18-C=O), e entre H-19 e a carbonila do grupo acetato em δ 171,1 (19-C=O) definiram a posição destes substituintes. A posição do substituinte *p*-hidroxibenzoato foi determinada pela correlação observada entre H-6 (δ 5,34) e a carbonila em δ 167,1 (1'-C=O), e por eliminação a posição do terceiro grupo acetato foi determinada como estando ligado ao C-2 (SANTOS et al., 2007; GIBBONS et al., 1996a).

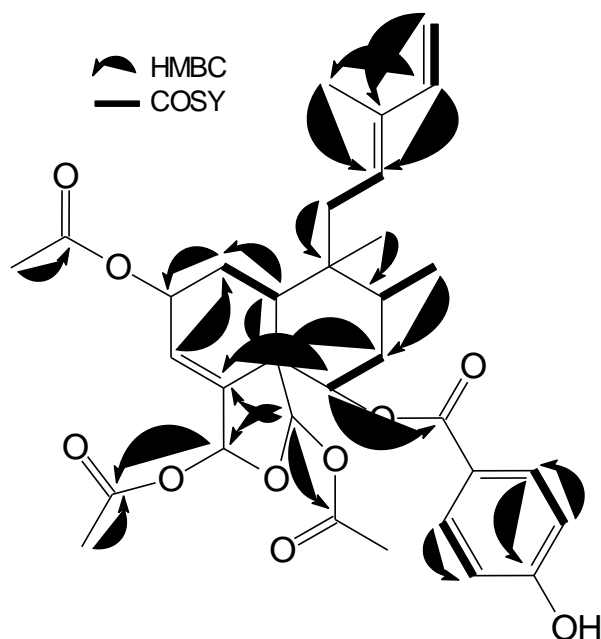


Figura 44. Principais correlações observadas pelos experimentos g COSY (^1H - ^1H) e g HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **8**.

A estereoquímica relativa dos 8 centros estereogênicos foi determinada a partir dos dados de RMN de ^{13}C , NOESY 1D e dos valores das constantes de acoplamento (Figuras 45, 52-53, 65-66 e Tabela 11). A configuração *cis* na junção dos anéis A e B do sistema decalínico foi deduzida a partir do valor de δ 25,3 observado para a metila em C-20, conforme descrito na literatura (KHAN et al., 1990a; VIJAYAKUMAR et al., 2002). O deslocamento químico de C-5 (δ 53,3) foi semelhante aos descritos para diterpenos clerodânicos e compostos análogos (ITOKAWA et al., 1990; MORITA et al., 1991; SHEN et al., 2004a). Porém os deslocamentos de C-2 (δ 72,2) e C-10 (δ 43,3) mostraram-se discordantes dos valores apresentados por BEUTLER et al. (2000b) para a casearborina E, C-2 (δ 66,5) e C-10 (δ 37,5), pois neste caso o grupo metila ligado ao C-9 e acetato ligado ao C-2 possuem a orientação β e α , respectivamente, porém quando esses carbonos apresentam os valores de C-2 (δ 72,2) e C-10 (δ 43,3) indicam orientação β e β ou α e α , conforme dados da literatura (SHEN et al., 2004a; OBERLIES et al., 2002; GIBBONS et al., 1996). Além disso, os valores de $J = 3,0$ e $14,0$ Hz para δ 2,58 (dd) sugerem que H-10 possui orientação β -axial. As interações observadas no espectro NOESY 1D (Figuras 45, 65-66, Tabela 11) entre H-10 com H-2, H-12 e H-

19, indicaram a mesma orientação β para a cadeia lateral em C-9 e orientação α dos grupos acetatos em C-2 e C-19. Finalmente o efeito nuclear Overhauser observado entre H-18 e os hidrogênios H-4' e H-6' do substituinte *p*-hidroxibenzoato (δ 7,97) só é possível quando o H-18 encontra-se em posição oposta ao H-19 no anel furânico indicando orientação β para o grupo acetato ligado a C-18 (Figura 45).

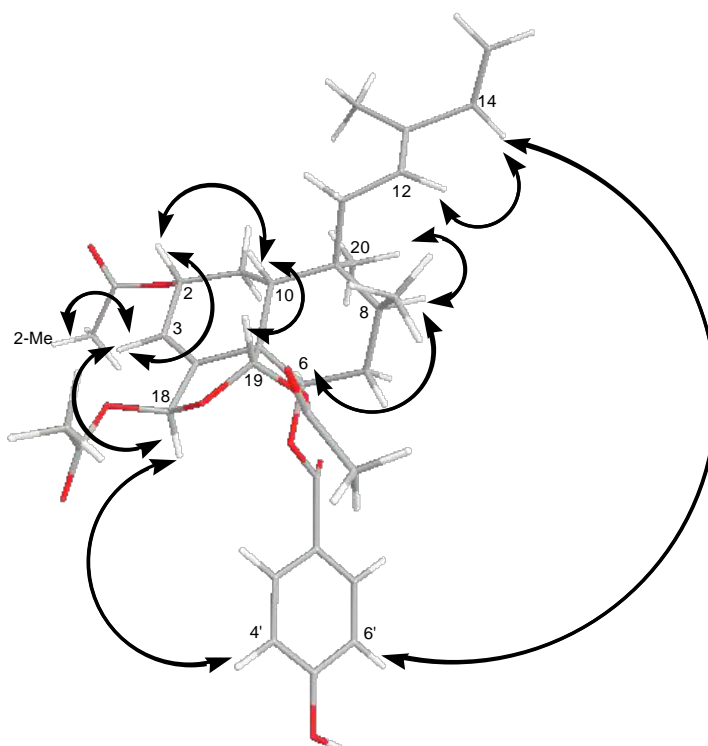


Figura 45. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para **8**.

Geralmente, diterpenos *cis*-clerodânicos sem substituintes nas posições C-7, C-8, C-10, C-11 e C-12 apresentam valores para Me-17 e Me-20 com relação *trans* em torno de δ 15,0 e 26,0, respectivamente (KANOKMEDHAKUL et al., 2005; NOGUEIRA et al., 2001), enquanto para a configuração *cis* os valores observados são de aproximadamente δ 16,0 e 18,0, respectivamente (BLÄS et al., 2004; GEIS et al., 1999; SANTOS et al., 2007). A substância **8** apresentou deslocamentos em δ 15,8 e 25,3 (Me-17 e Me-20, respectivamente) indicativo de relação *trans* entre estas metilas, como observado para as casearinas (OBERLIES et al., 2002).

A estereoquímica absoluta de **8** foi determinada pela análise de seu espectro de dicroísmo circular (Figura 67), o qual apresentou efeito Cotton positivo nos

comprimentos de onda de 241 e 280 nm, de acordo com a literatura (ITOKAWA et al., 1990) o centro estereogênico em C-9, relacionado ao comprimento de onda de 241 nm é característico de diterpenos clerodânicos que apresentam configuração *R* quando há efeito Cotton negativo. Logo a caseobliquina A possui configuração *S* no C-9. Com base nesta constatação e juntamente com a estereoquímica relativa determinada pelos espectros de NOESY 1D (Figura 45, Tabela 11), foi possível determinar a configuração absoluta para a caseobliquina A como: 2*R*, 5*R*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 18*S*, 19*S*, sendo portanto inédita na literatura, pois difere da casearborina E ($[\alpha]_D = + 100^\circ$, *c* 1,21; MeOH) na estereoquímica dos carbonos 5, 6, 8, 9, 10 e 18 (BEUTLER et al., 2000b).

A caseobliquina A é dextrorrotatória, com $[\alpha]_D^{25} = + 52^\circ$ (MeOH, *c* 1,0).

TABELA 8. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **8**, incluindo resultados de mapas de contornos (*g*COSY e *g*HMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	casearborina E (BEUTLER et al., 2000b) ^a	$\delta^{13}\text{C}$ de 8 (DEPT 135°)	H	$\delta^1\text{H}$ de 8 ^b (<i>J</i> = Hz)	<i>g</i> COSY
1	27,0	27,2 (CH_2)	1a	1,89 m	H-10
			1b	1,84 m	
2	66,5	72,2 (CH)	2	5,54 m	-
3	123,3	126,5 (CH)	3	5,95 sl	-
4	144,2	144,5 (C)	-	-	-
5	52,0	53,3 (C)	-	-	-
6	74,4	76,5 (CH)	6	5,34 dd (4,5 e 12,0)	H-7a
7	33,3	34,5 (CH_2)	7a	1,89 m	H-6
			7b	1,78 m	
8	36,1	37,3 (CH)	8	2,04 m	H-17
9	37,9	39,5 (C)	-	-	-
10	37,5	43,3 (CH)	10	2,58 dd (3,0 e 14,0)	H-1a
11	30,6	31,1 (CH_2)	11a	1,80 m	H-12
			11b	2,29 dd (8,0 e 17,0)	
12	129,2	130,4 (CH)	12	5,54 m	H-11b
13	136,0	136,9 (CH)	-	-	-
14	141,4	142,7 (CH)	14	6,43 dd (17,5 e 11,0)	H-15a; H-15b
15	111,4	111,1 (CH_2)	15a	5,09 d (17,5)	
			15b	4,93 d (11,0)	H-14
16	12,2	12,0 (CH_3)	16	1,67 s	-
17	15,7	15,8 (CH_3)	17	0,97 d (7,0)	H-8
18	95,8	96,0 (CH)	18	6,39 t (1,5)	-
19	98,0	98,4 (CH)	19	6,67 s	-
20	25,2	25,3 (CH_3)	20	0,92 s	-
1'	165,9	167,1 (C)	-	-	-
2'	121,6	121,8 (C)	-	-	-
3'	115,8	116,3 (CH)	3'	6,83 d (9,0)	H-4'
4'	132,5	133,1 (CH)	4'	7,97 d (9,0)	H-3'
5'	161,3	163,9 (C)	-	-	-
6'	132,5	133,1 (CH)	6'	7,97 d (9,0)	H-7'
7'	115,8	116,3 (CH)	7'	6,83 d (9,0)	H-6'
2-C=O	171,0	172,5 (C)	-	-	-
18-C=O	170,8	171,8 (C)	-	-	-
19-C=O	170,3	171,1 (C)	-	-	-
COOMe-2	21,7	21,0 (CH_3)	COOMe-2	2,07 s	-
COOMe-18	21,5	20,9 (CH_3)	COOMe-18	2,03 s	-
COOMe-19	22,1	21,9 (CH_3)	COOMe-19	1,95 s	-

^a CDCl_3 . ^bAtribuições baseadas nos mapas de contornos *g*COSY e *g*HMQC.

TABELA 9. Correlações observadas no mapa de contornos *g*HMBC e interações do espectro NOESY 1D de **8**, em CD₃OD.

C	<i>g</i> HMBC	NOESY 1D
1	H-3; H-10	-
2	H-1	-
3	-	H-2; H-18; Me-18
4	H-2; H-6; H-19	-
5	H-3; H-6; H-7a; H-7b; H-10; H-19	-
6	H-7b; H-10; H-19	H-1a; H-7a; H-8
7	H-17	-
8	H-7a; H-10; H-17; H-20	-
9	H-11b; H-10; H-17; H-20	-
10	H-11a; H-11b; H-20	H-2; H-11b; H-12; H-19; COOMe-19; Me-20
11	H-20	H-7b; H-11a; H-12; Me-16; Me-17; Me-20
12	H-11b; H-14; H-16	H-10; H-14; COOMe-19; Me-20
13	H-11b; H-14; H-15a; H-15b; H-16	-
14	H-15b; H-16	H-4'; H-6'; H-12; H-15b; COOMe-19
15	-	-
16	H-14	H-15a
17	-	H-7a; H-8; H-11b
18	H-19	-
19	H-6; H-18	-
20	-	H-8; H-11b; H-12
1'	H-6	-
2'	H-3'; H-7'	-
3'	H-7'	H-4'
4'	H-6'	H-3'; H-18
5'	H-3'; H-4'; H-6'; H-7'	-
6'	H-4'	H-7'; H-18
7'	H-3'	H-6'
2-C=O	COOMe-2	-
18-C=O	H-18; COOMe-18	-
19-C=O	H-19; COOMe-19	-
COOMe-2	-	H-2; H-3; H-6
COOMe-18	-	H-3; H-18
COOMe-19	-	H-12; H-14; Me-16; H-19

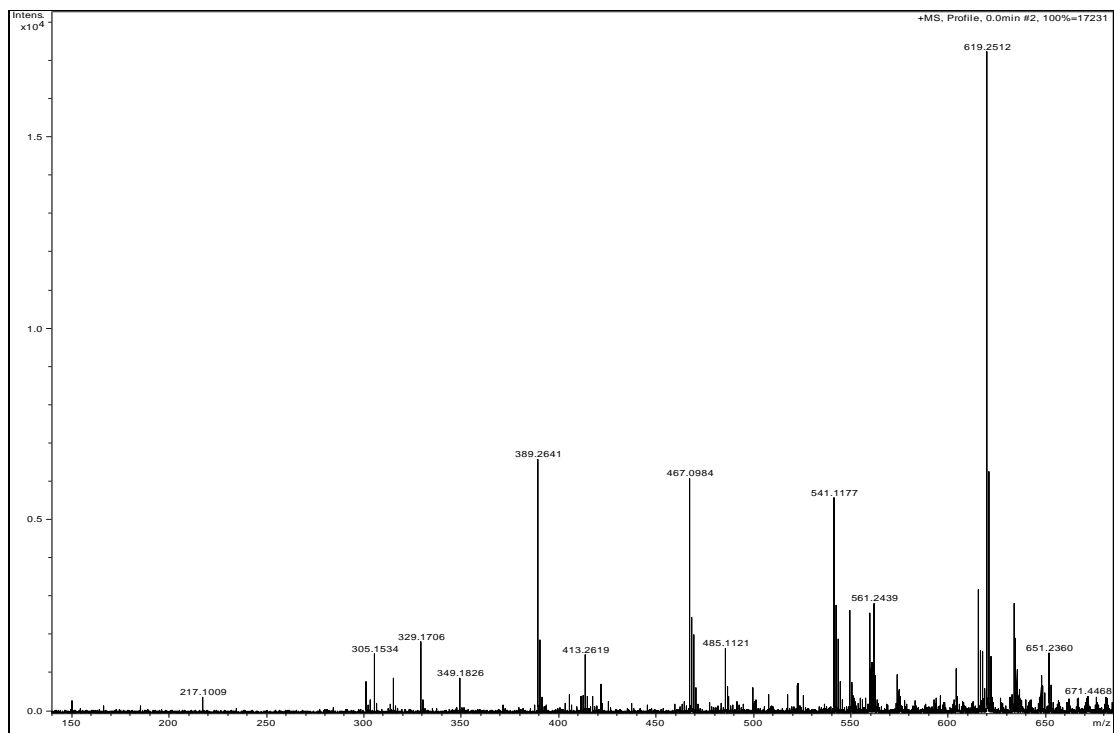


Figura 46. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **8**.

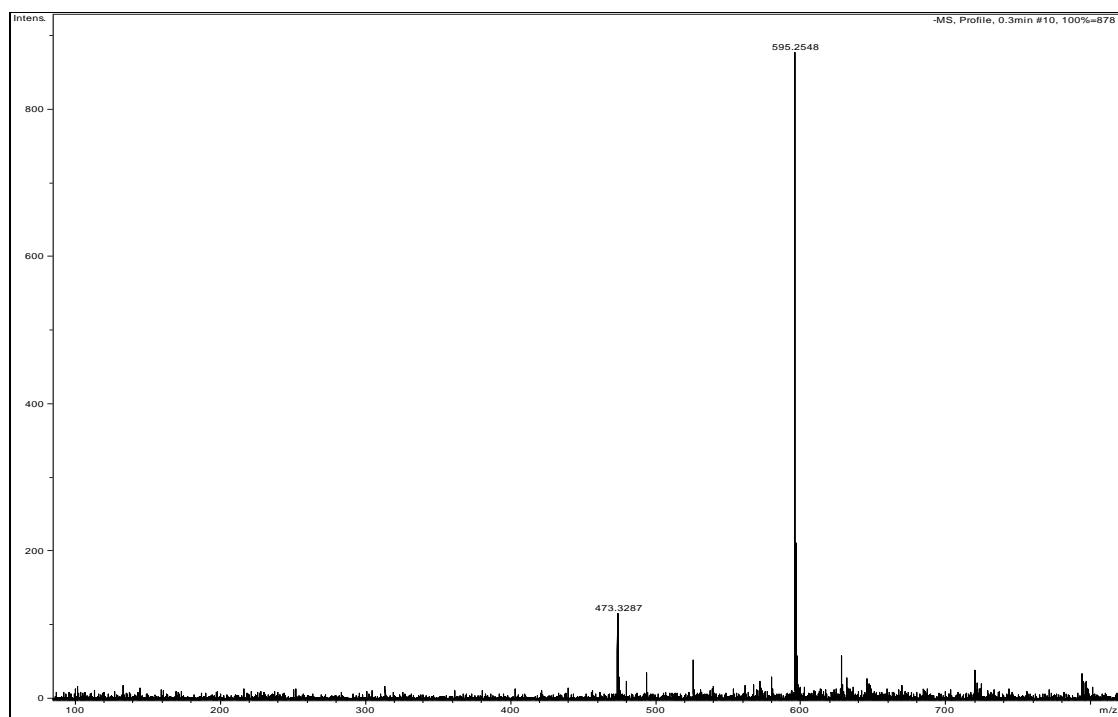


Figura 47. Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de **8**.

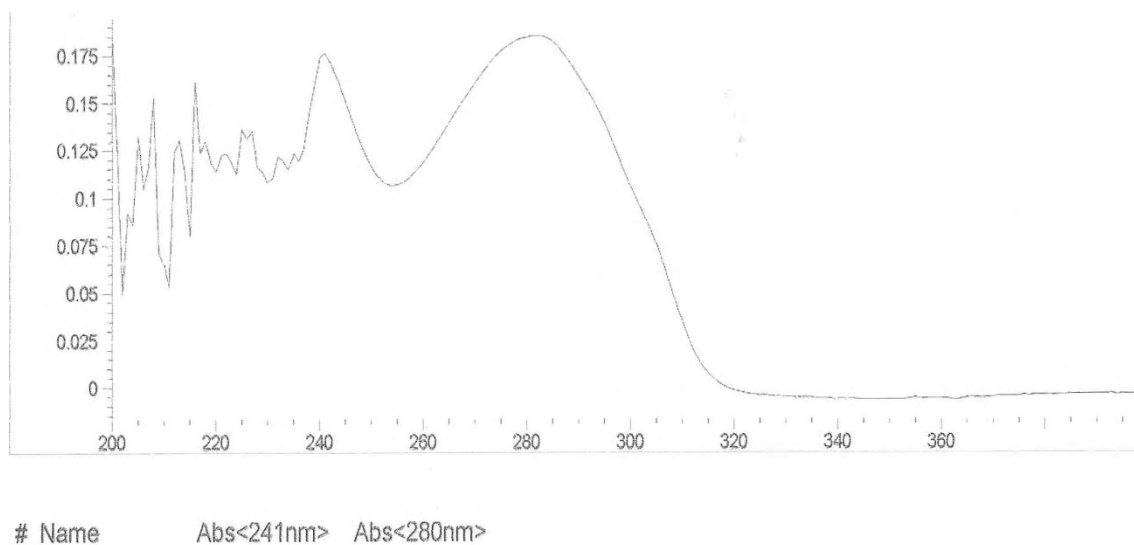


Figura 48. Espectro de absorção no UV de **8**.

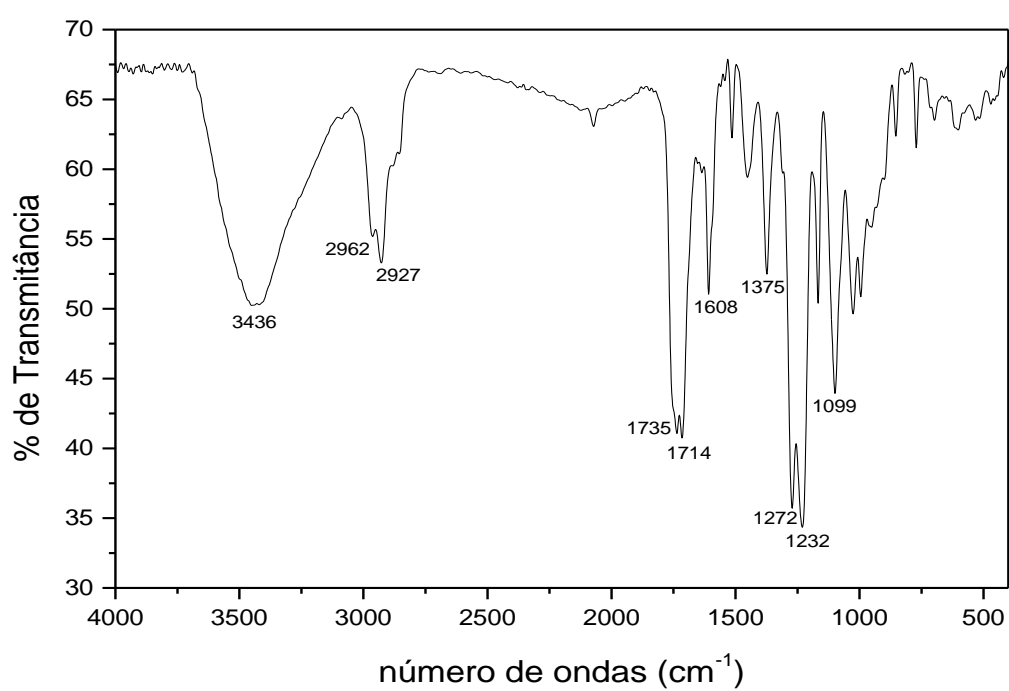


Figura 49. Espectro de absorção na região do IV de **8** (KBr).

Magela EEI-E50-P1 07/03/08
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: cd3od
Temp: 30.0 C / 303.1 K
INNOVA-500 "mu1t165"
Relax. delay 0.904 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 4.089 sec
Width 4821.6 Hz
6 repetitions
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 20 sec

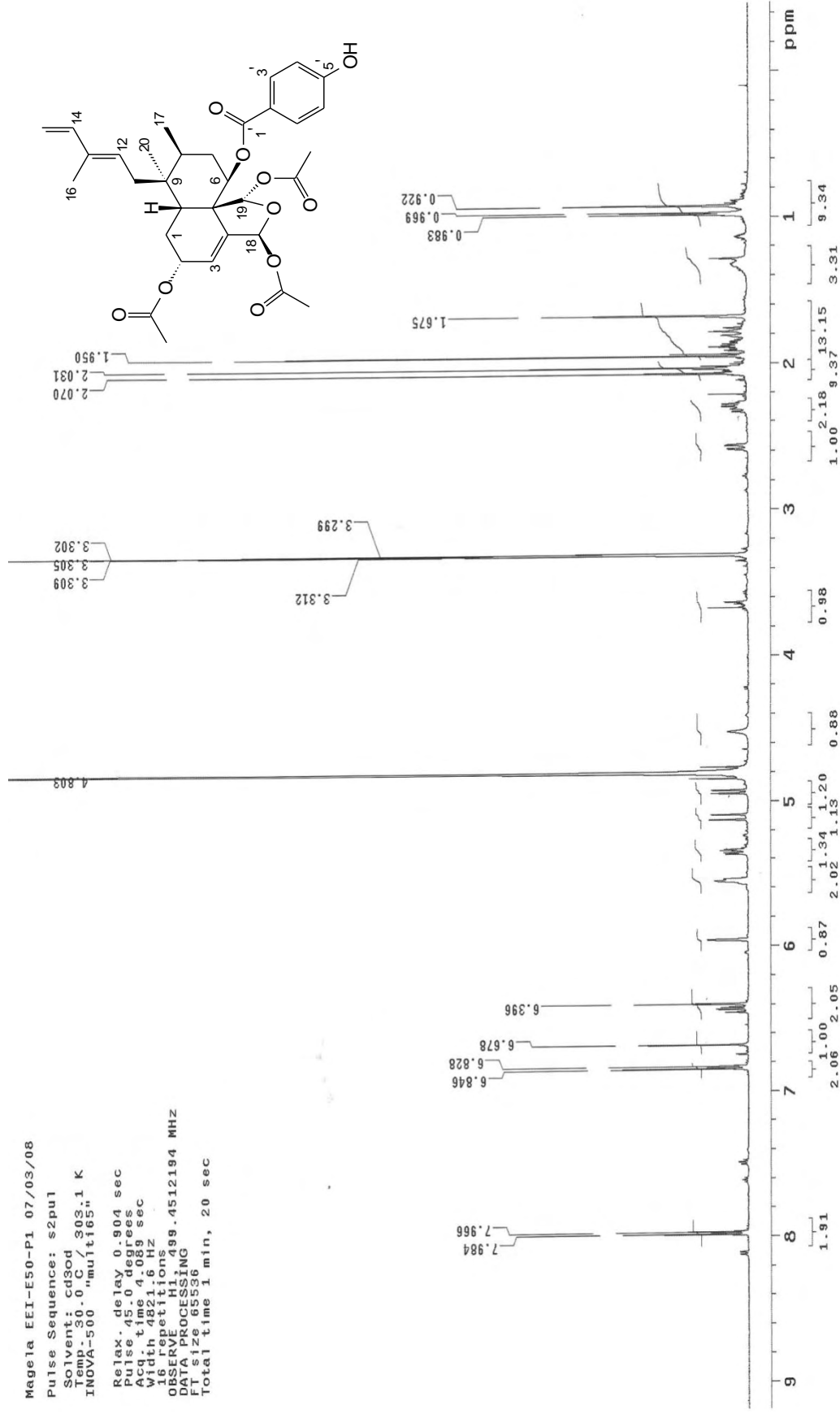


Figura 50. Espectro de RMN ¹H de **8** (500 MHz, CD₃OD).

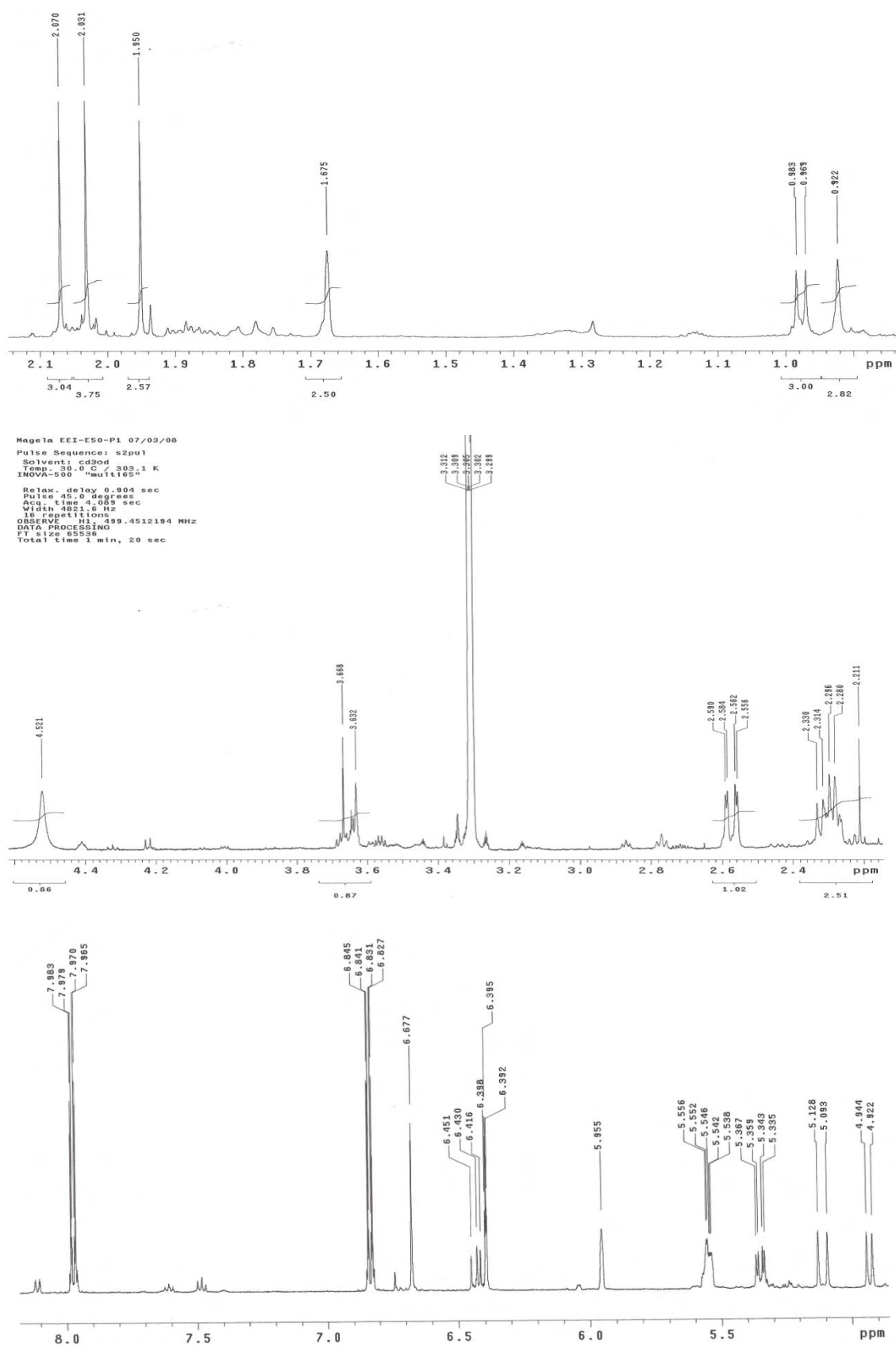


Figura 51. Expansões do espectro de RMN ^1H de **8** (500 MHz, CD_3OD).

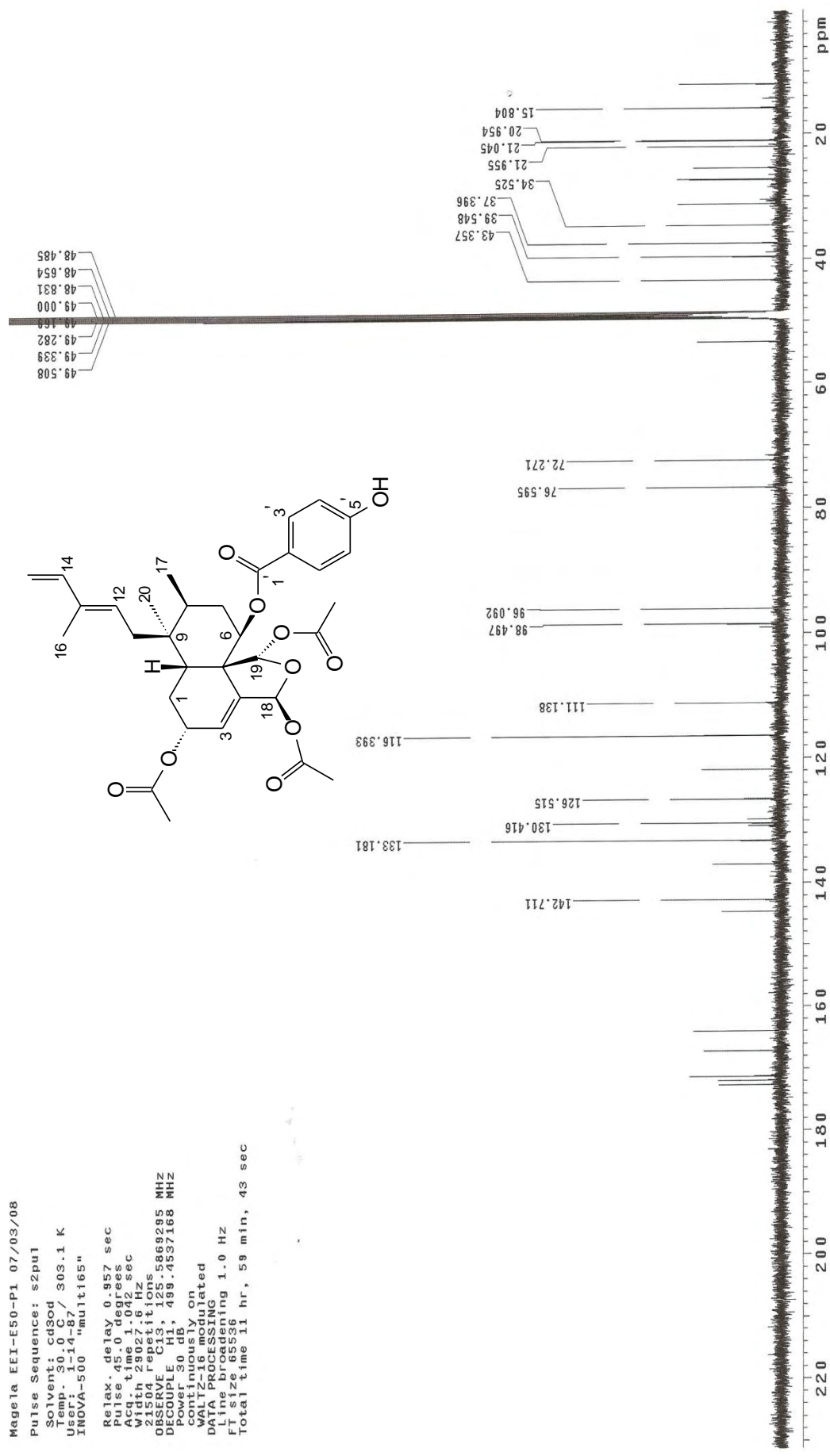


Figura 52. Espectro de RMN ¹³C de **8** (125 MHz, CD₃OD).

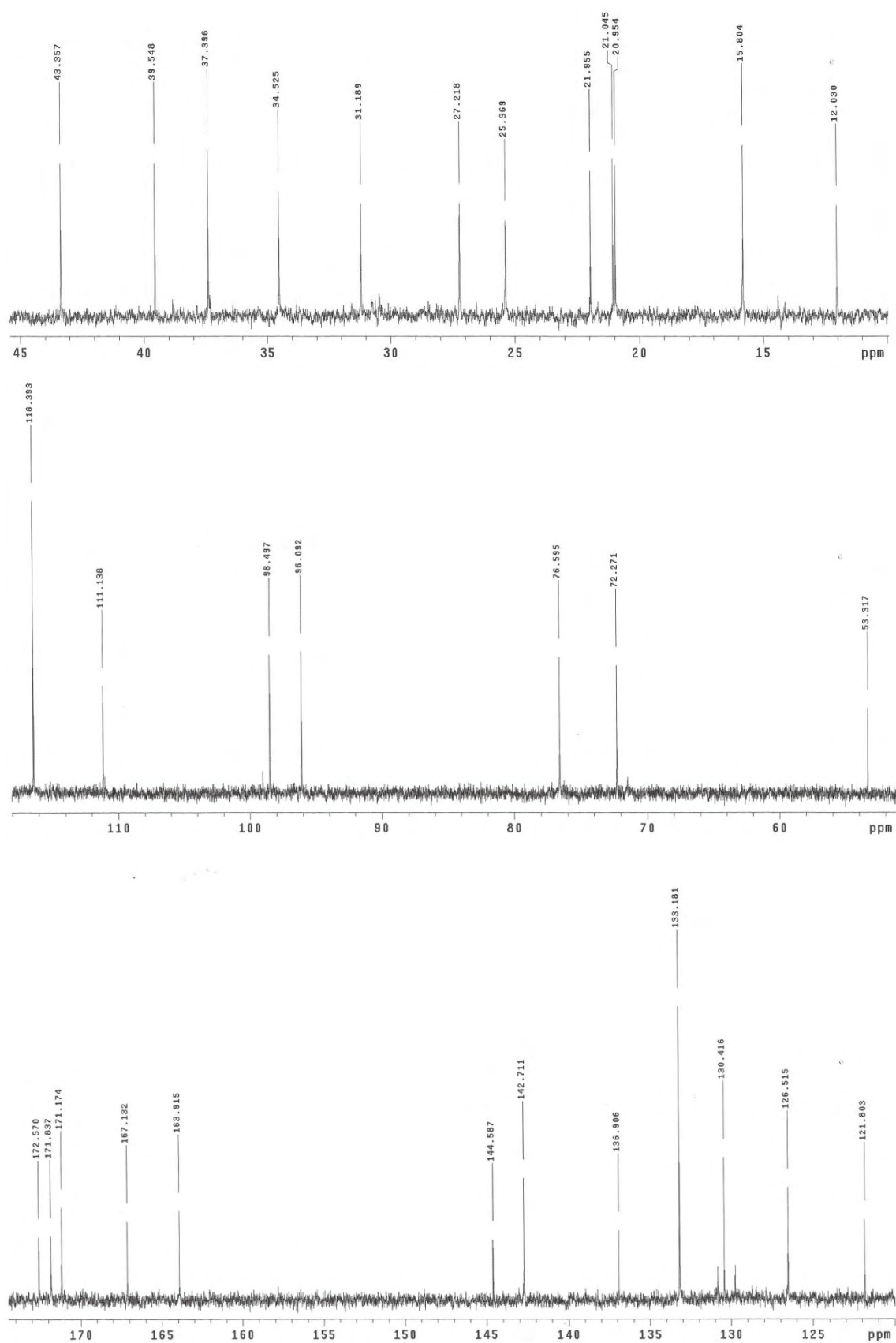


Figura 53. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **8** (125 MHz, CD_3OD).

Magela EEI-E50-P1 07/03/08

Pulse Sequence: DEPT90

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

INNOVA-500 "multi65"

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 1.042 sec

Width 29027.6 Hz

5968 repetitions

OBSERVE C13, 125.5869295 MHz

DECOUPLE H1, 499.4537168 MHz

Power 30 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 2.5 Hz

FT size 131072

Total time 15 hr, 59 min, 57 sec

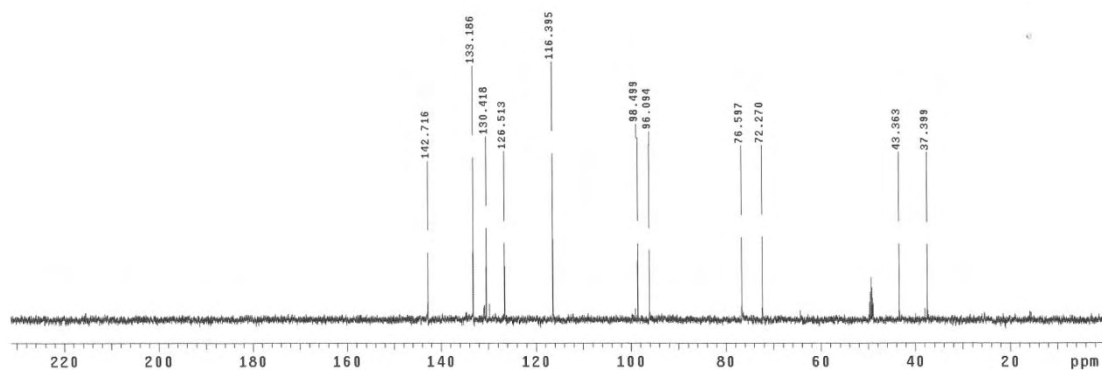


Figura 54. Espectro de RMN DEPT 90° de **8** (125 MHz, CD₃OD).

Magela EEI-E50-P1 07/03/08

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Temp: 30.0 C/ 303.1 K

User: 1-14-87/ "multif5"

INOVA-500 "multif5"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.212 sec

MW 500.136 MHz

20 Width 29027.6 Hz

32 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 498.4512194 MHz

DECOUPLE C45, 125.6014568 MHz

PC 0.0748 sec

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

RELAXATION 0.098 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.003 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 2 hr, 53 min, 29 sec

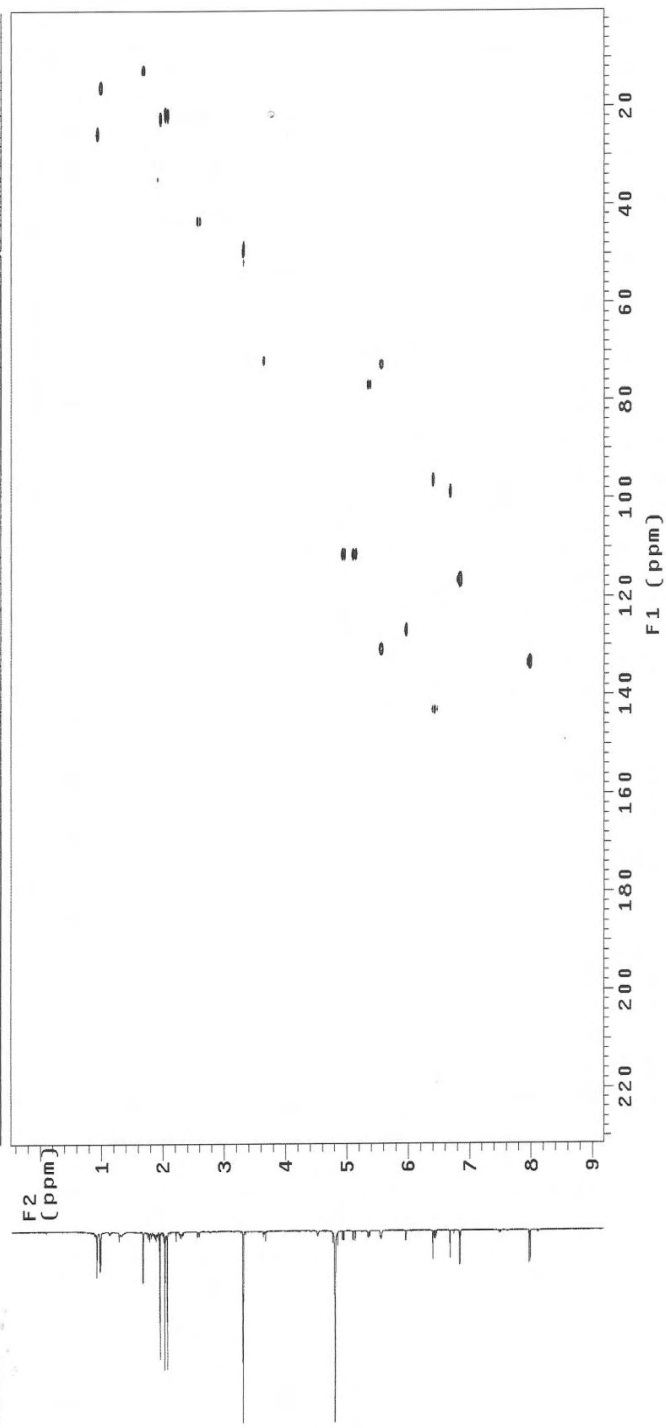


Figura 55. Mapa de contornos gHMQC de **8** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

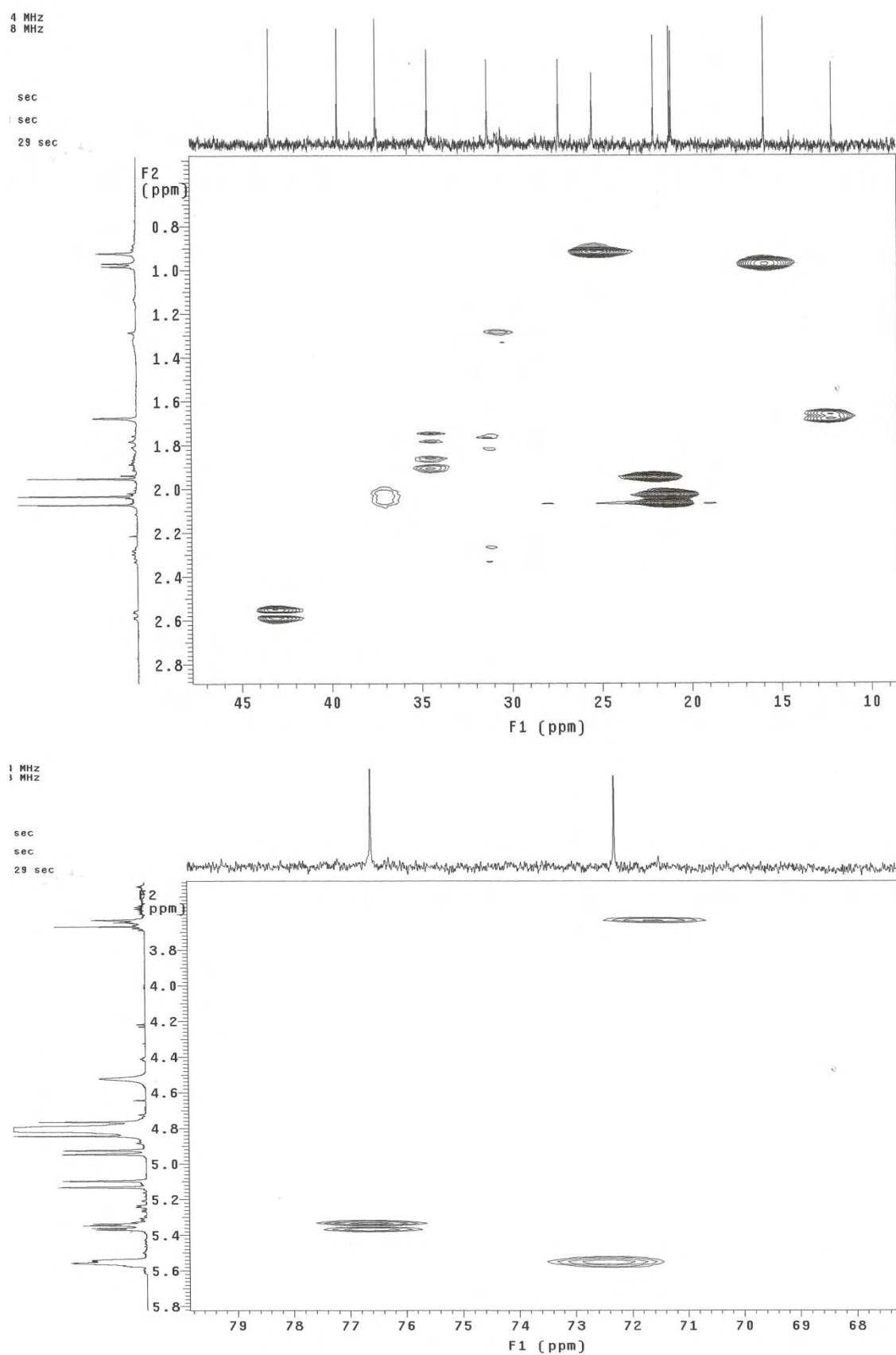


Figura 56. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **8** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

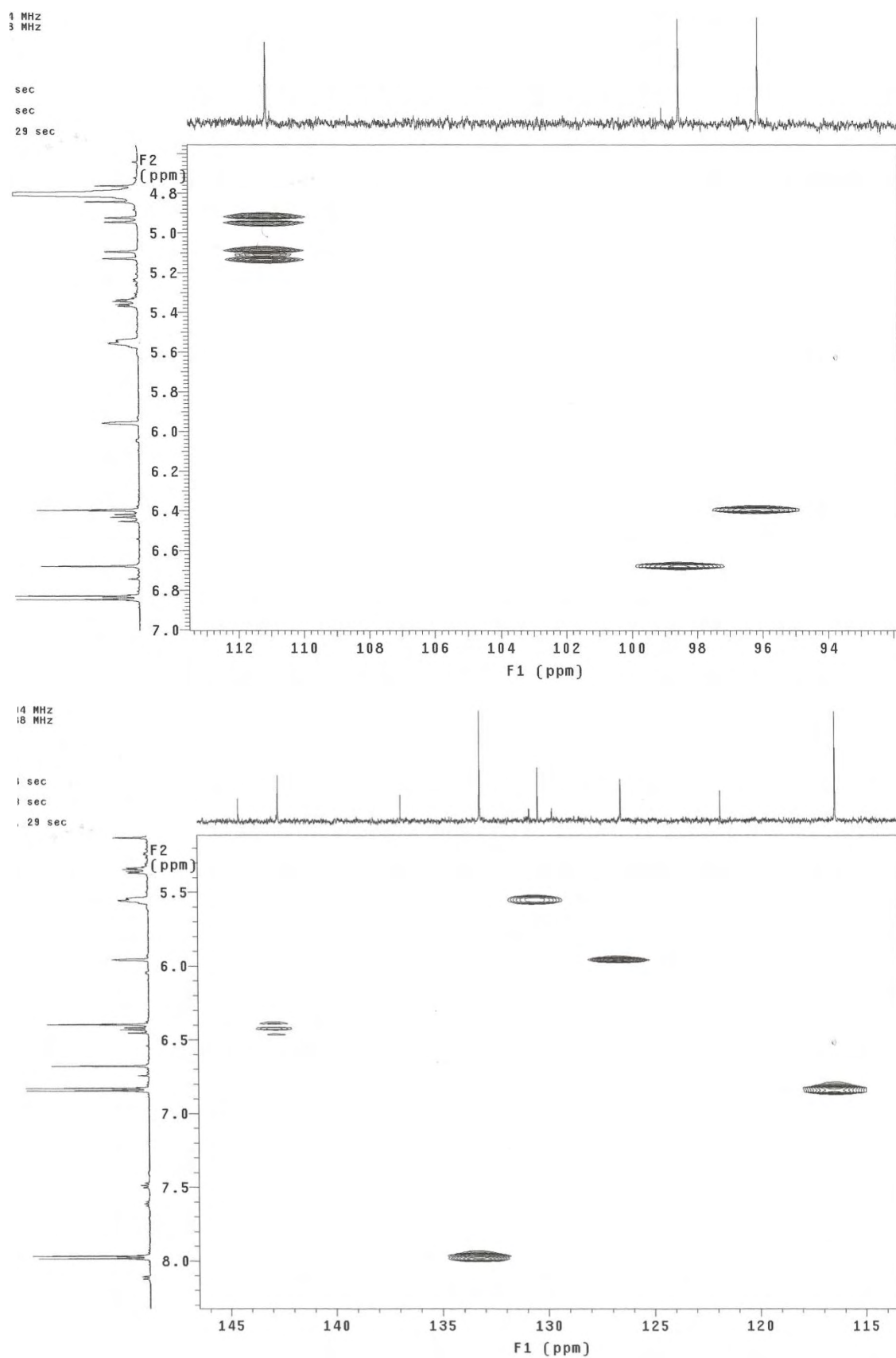


Figura 57. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **8** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

Magela EEI-E50-P1 07/03/08
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: cd3od 303.1 K
INNOVA-500 "multis165"
Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.212 sec
Width 4821.6 Hz
2D width 4821.6 Hz
128 repetitions
OBSERVE H1 499.4512194 MHz
DATA PROCESSING
Sf. sine bell 0.106 sec
F2 DATA PROCESSING
F2 size 2048 x 2048
F1 size 2048 x 2048
Total time 42 min, 36 sec

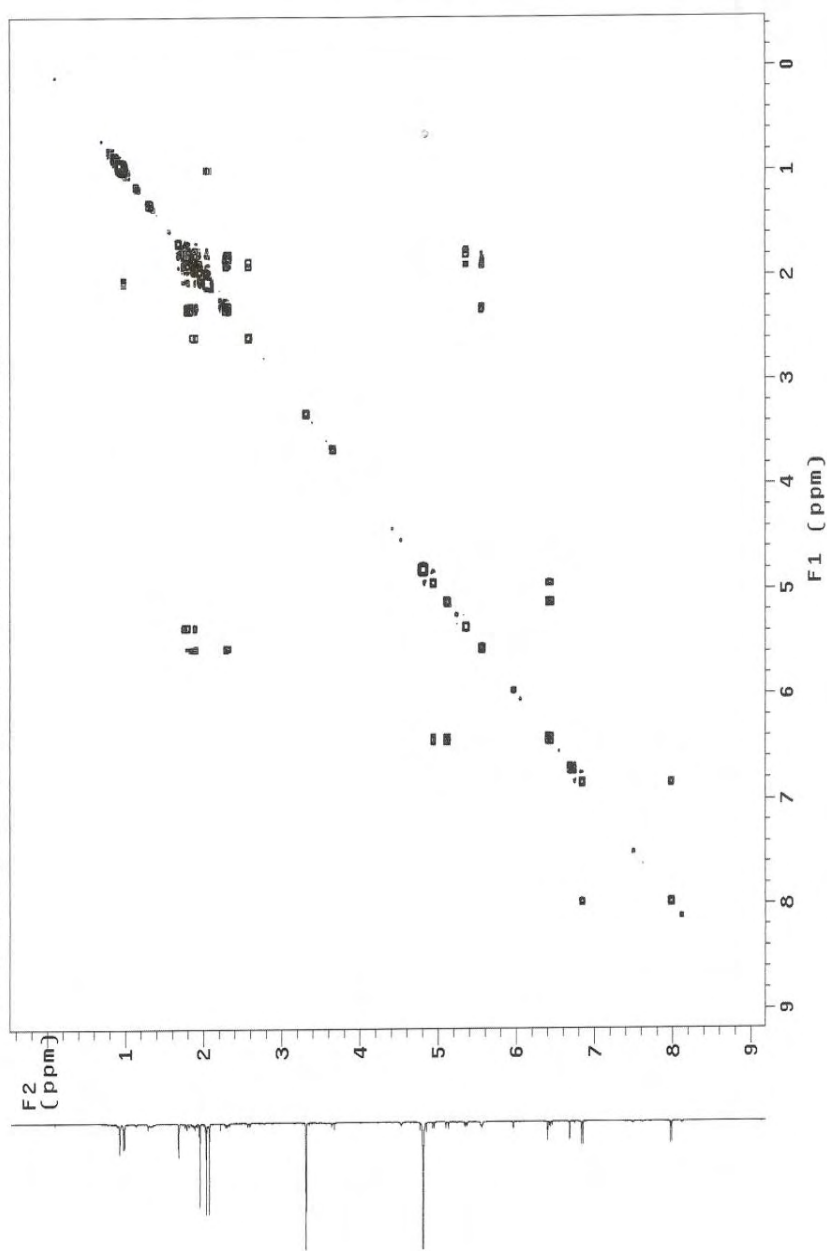


Figura 58. Mapa de contornos gCOSY de **8** (500 MHz, CD₃OD).

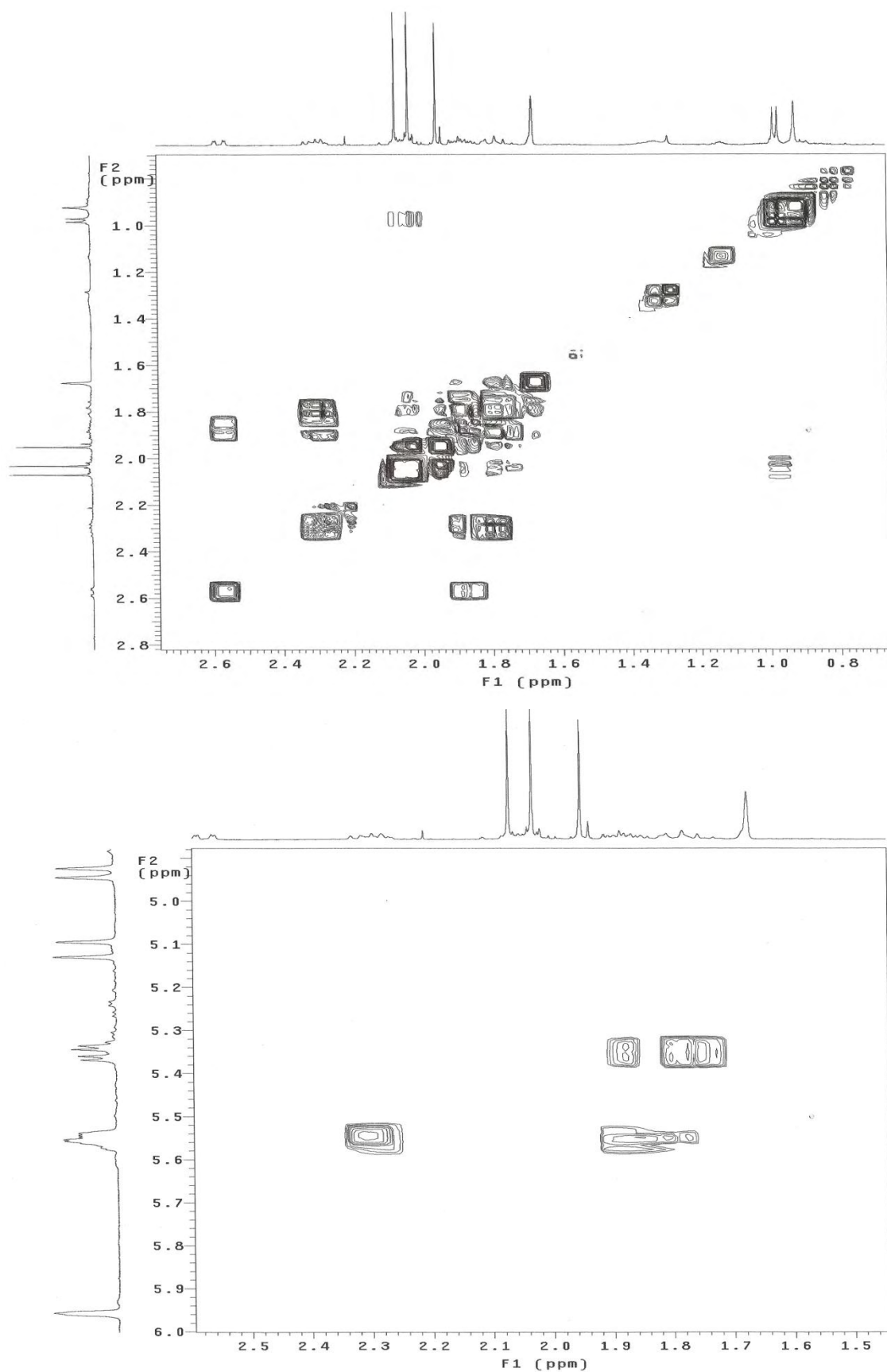


Figura 59. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **8** (500 MHz, CD₃OD).



Magela EEI-E50-PI 07/03/08

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od

Temp.: 303.1 K

Usa.: 1-14-87

INOVA-500 "multis5"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.212 sec

Width 4821.6 Hz

2D Width 29027.6 Hz

128 repetitions

128 scans

OBSERVE H1 499.4512194 MHz

DATA PROCESSING

Sine bell 0.106 sec

F1 DATA PROCESSING

F1 time 0.00208 sec

F1 size 2048 K

Total time 2 hr, 57 min, 41 sec

Filename: -

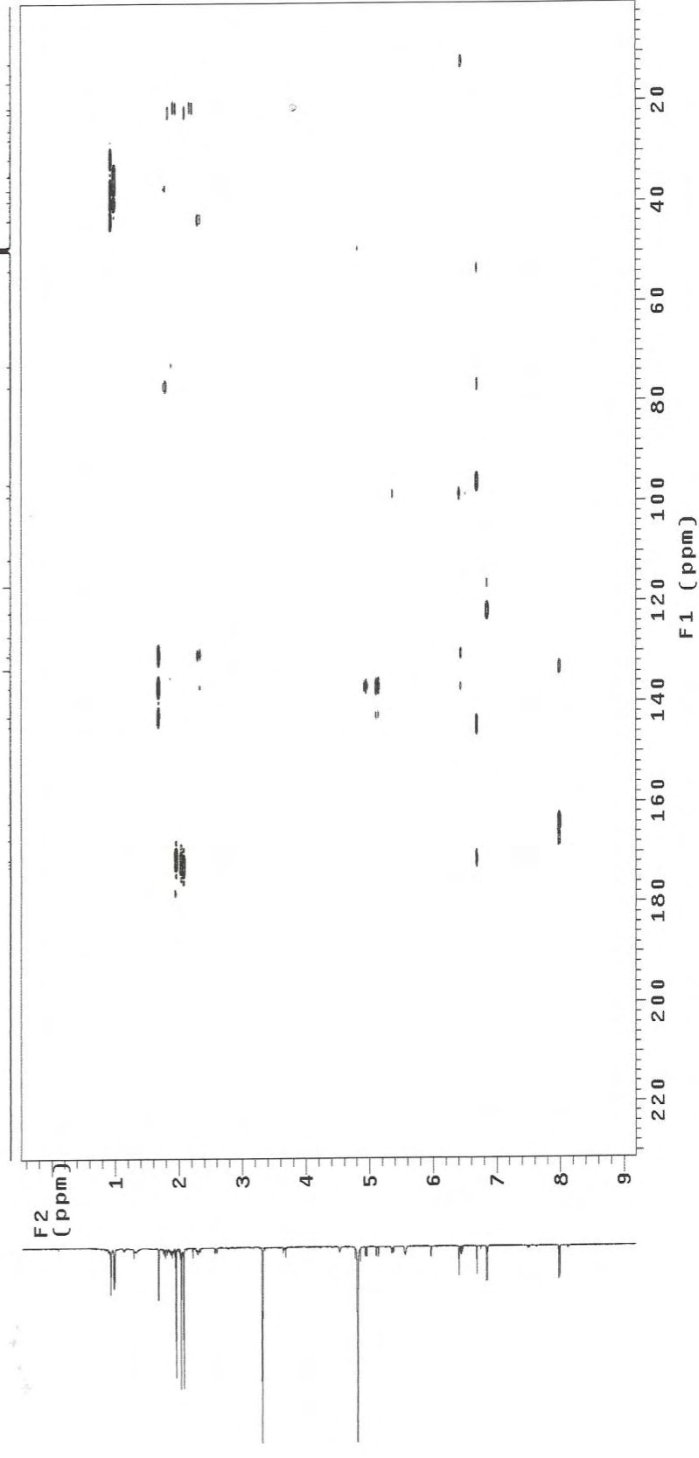


Figura 61. Mapa de contornos gHMBC de **8** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

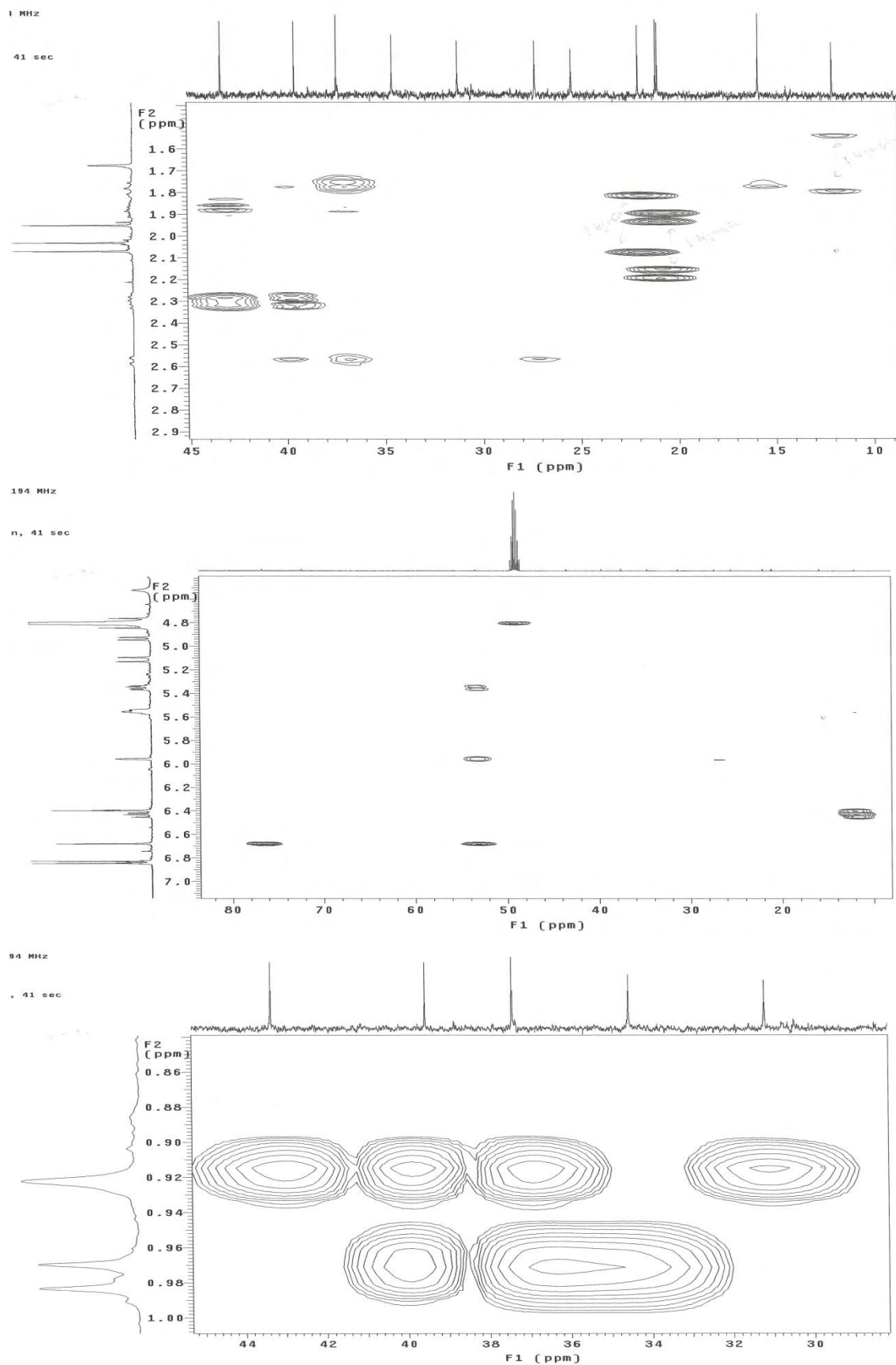


Figura 62. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **8** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

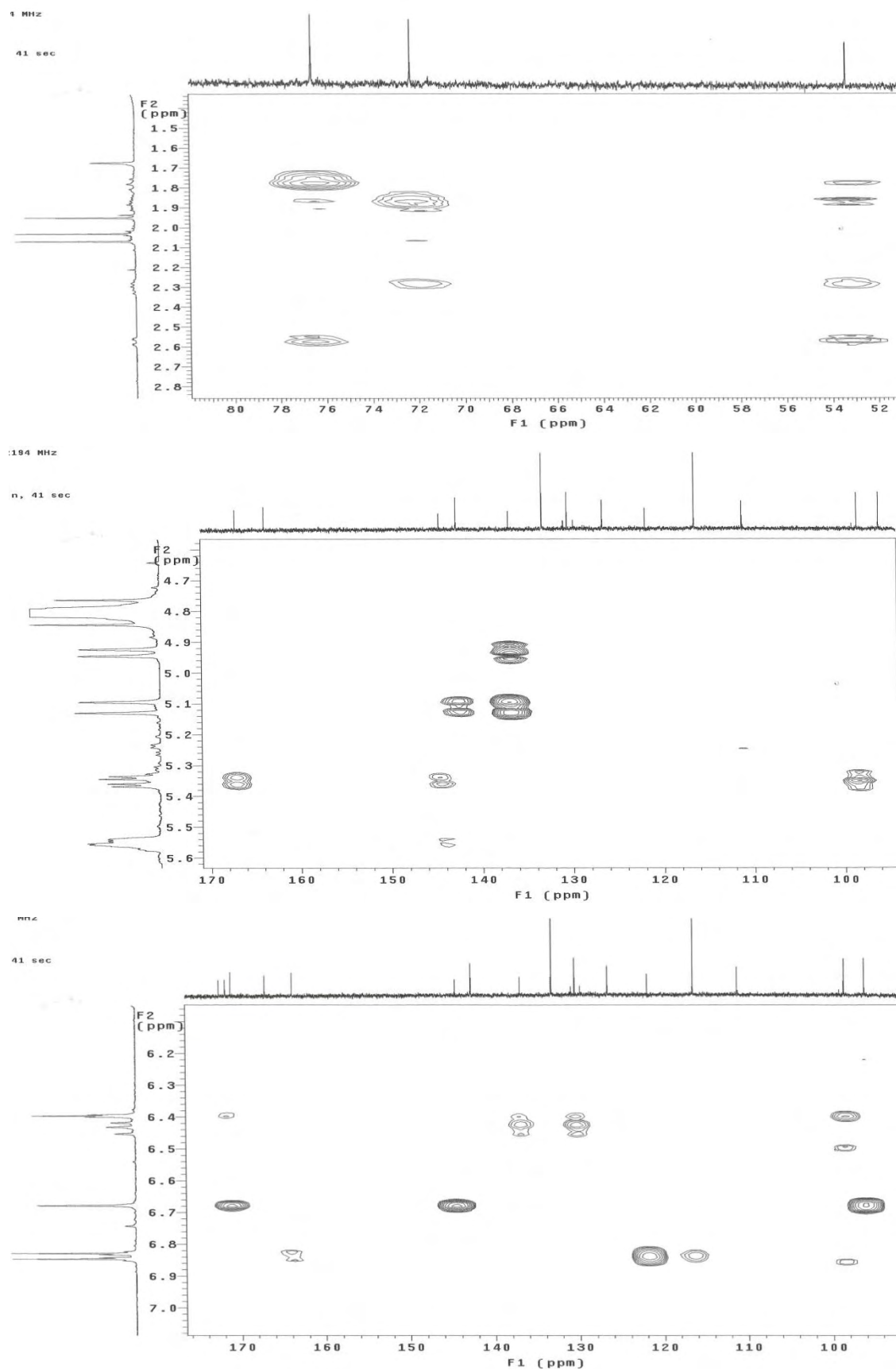


Figura 63. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **8** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

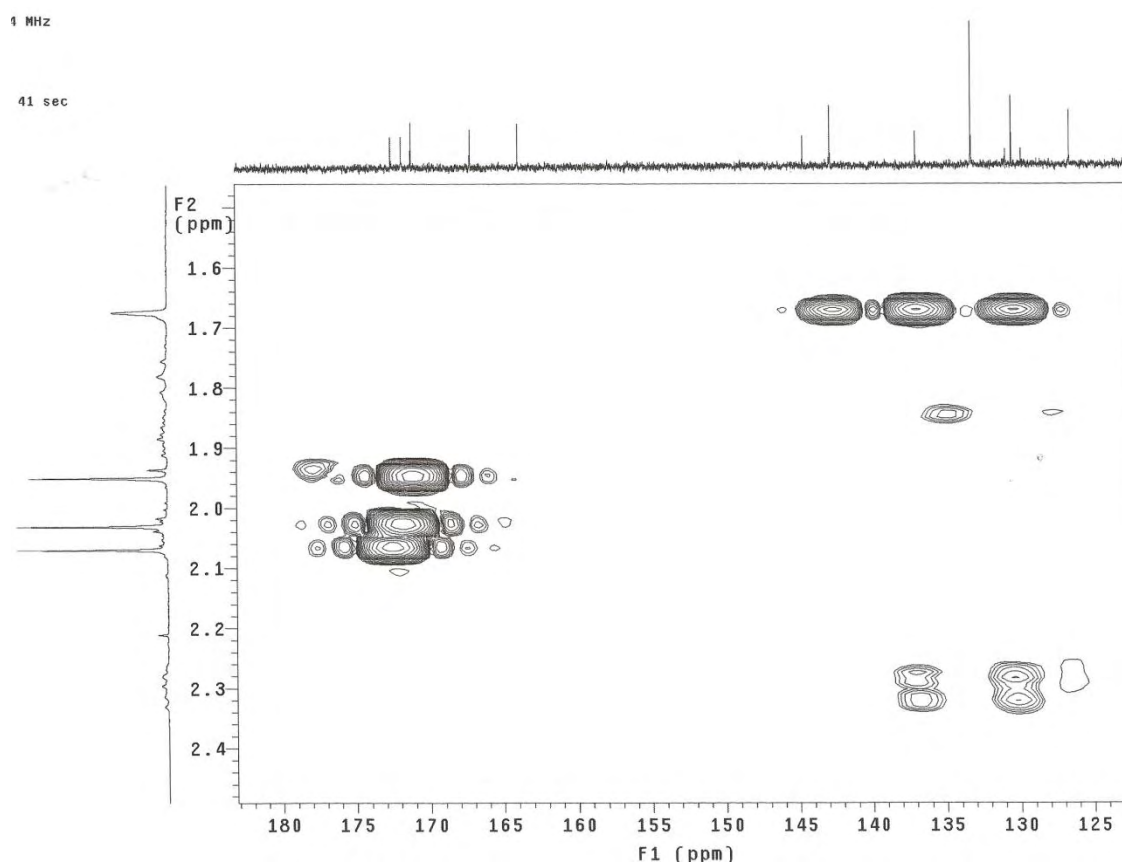
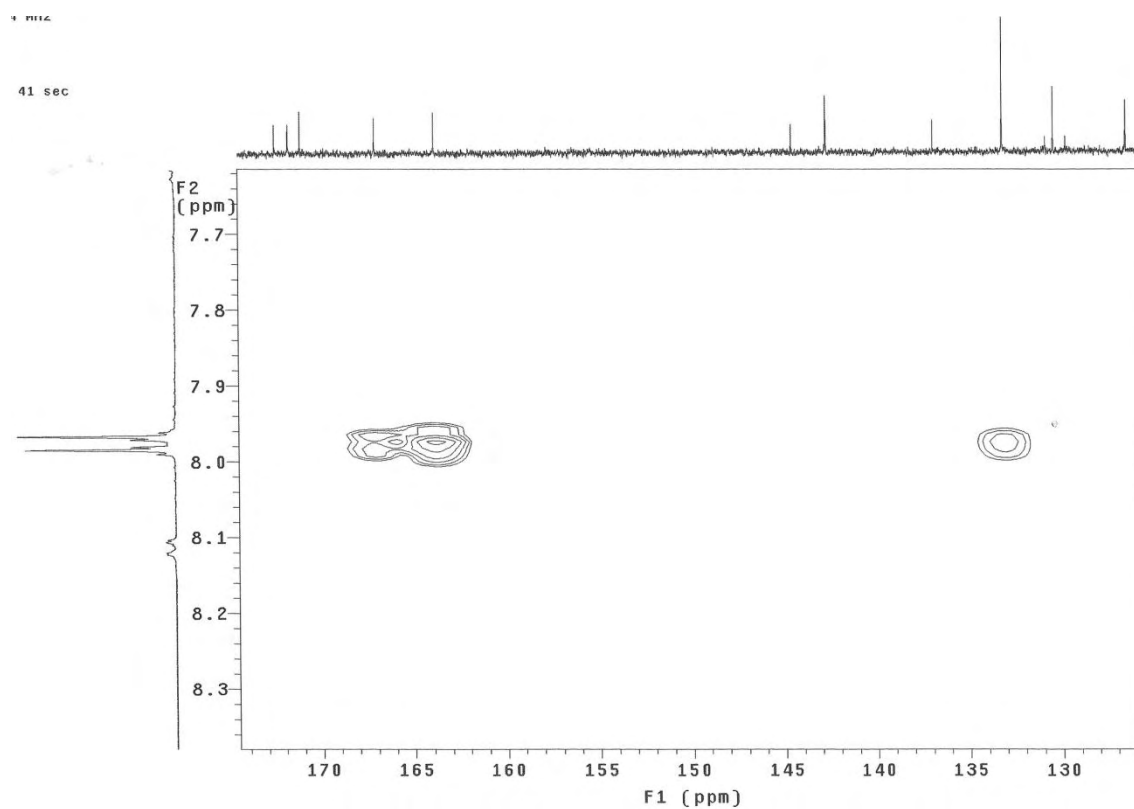


Figura 64. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **8** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

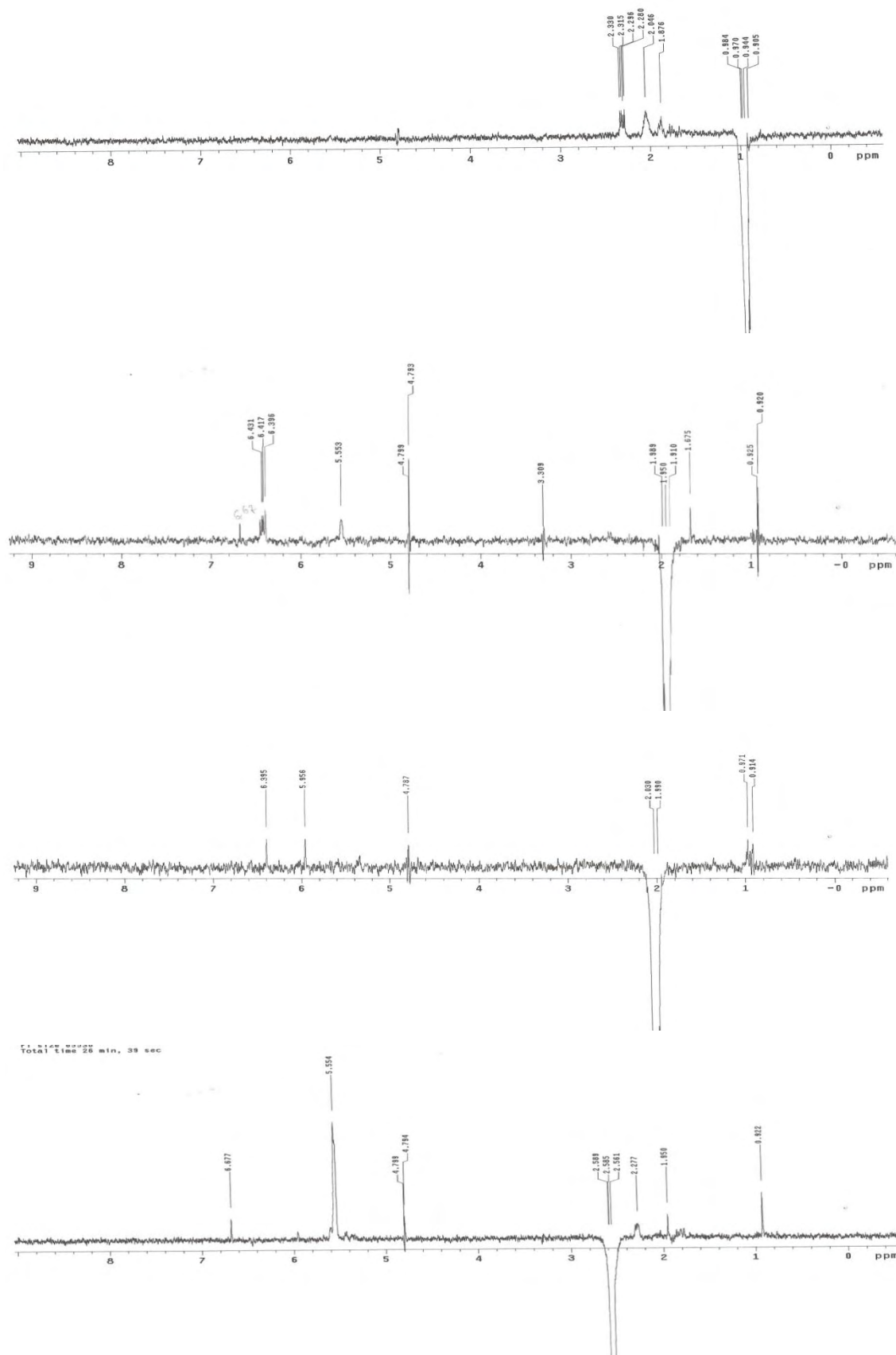
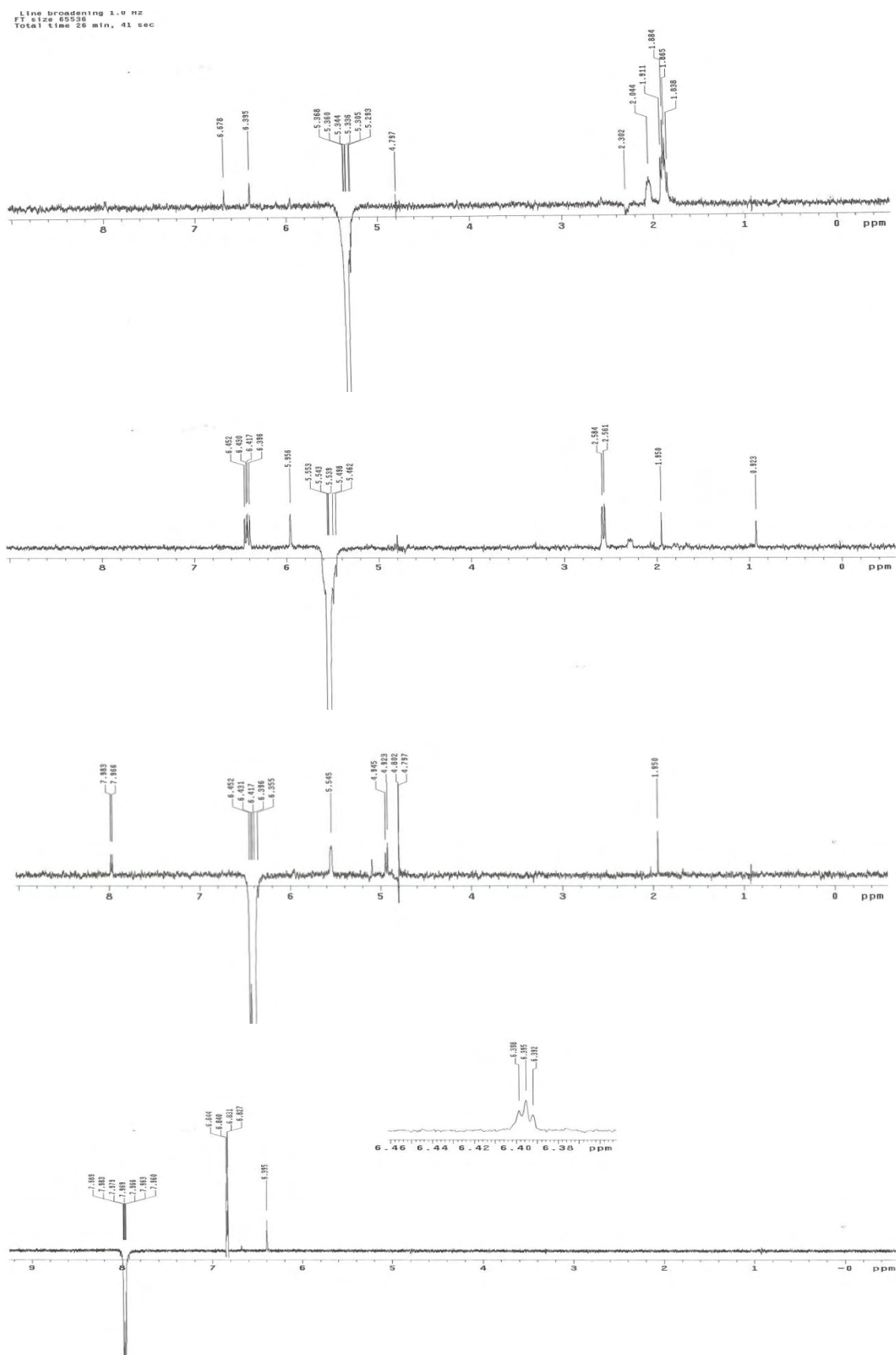


Figura 65. Espectros NOESY 1D de **8** (500 MHz, CD₃OD).



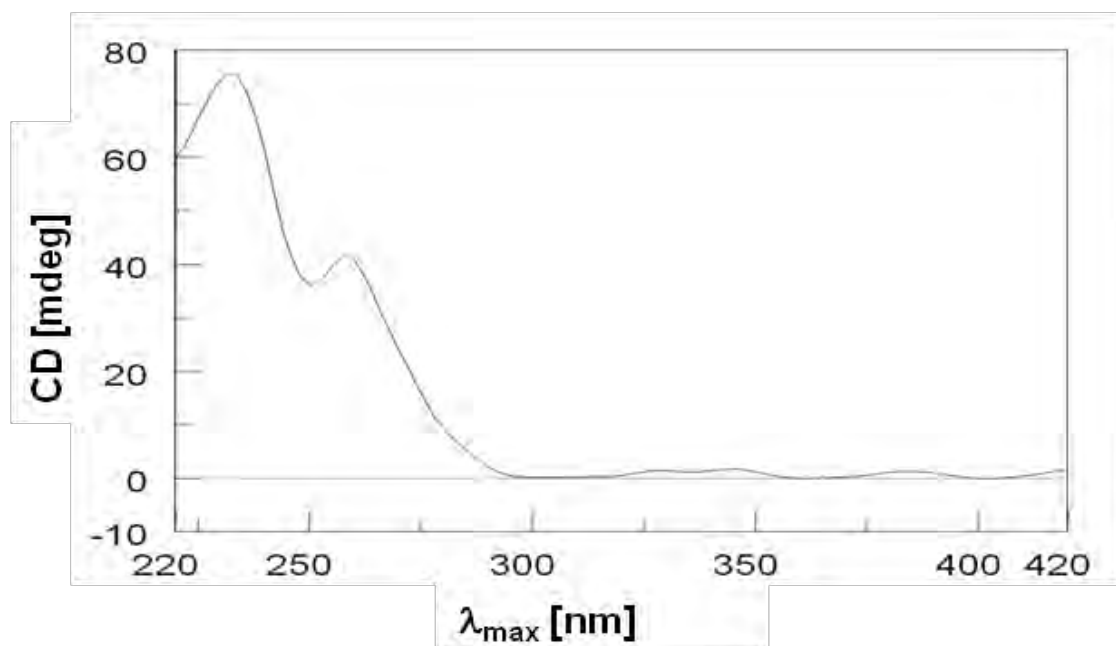


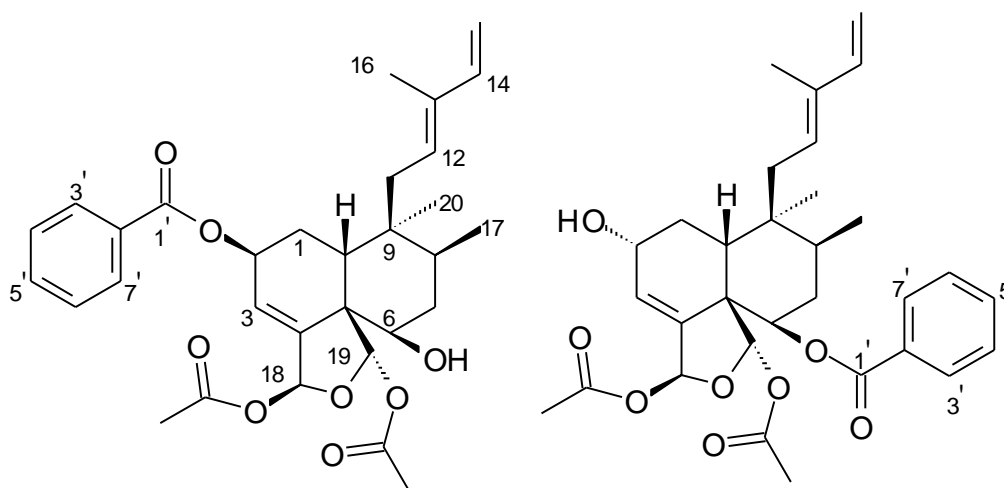
Figura 67. Espectro de dicroísmo circular de **8** (0,03 mg/mL em MeOH; c = 10 mm).

5.3.3. (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**), 6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (**7**) e caseobliquina B (**9**)

Outras 4 substâncias foram identificadas como diterpenos clerodânicos. As substâncias **5** e **6**, obtidas em mistura, e **7** já haviam sido isoladas de *Zuelania guidonia* (KHAN et al., 1990b; KHAN, GRAY e WATERMAN, 1990), e a substância **9** havia sido relatada como produto semi-sintético (KHAN, GRAY e WATERMAN, 1990). Os dados de RMN de ^{13}C obtidos para os 4 diterpenos foram praticamente idênticos aos descritos na literatura, todos em CDCl_3 . Além disso, dados de experimentos de RMN uni (^1H , ^{13}C , NOESY 1D, DEPT 90 e 135 $^\circ$) e bidimensionais (gHMQC, gCOSY, gHMBC e NOESY 2D) confirmaram as estruturas químicas propostas.

A identificação estrutural foi realizada de maneira muito semelhante ao discutido para a caseobliquina A, confirmando as sub-estruturas referentes ao anel decalínico (A e B, C-1 a C-10), à cadeia lateral em C-9 e ao anel diacetálico (C). A determinação da configuração relativa destas substâncias também foi realizada considerando-se os mesmos aspectos discutidos para a caseobliquina A.

5.3.4. (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**)



5 + 6

O espectro de massas de alta resolução (HRTOF-ESIMS, Figura 69) da mistura obtido no modo positivo apresentou pico relativo ao íon $[\text{M}+\text{K}]^+$ com valor de

m/z 577,2199 (calculado para $C_{31}H_{38}O_8K$ 577,2198), concordante com a fórmula molecular $C_{31}H_{38}O_8$ para o íon molecular.

A análise do espectro de RMN ^{13}C (Figuras 73-74, Tabela 10) juntamente com o espectro DEPT 135° (Tabela 10) permitiu a inequívoca atribuição dos deslocamentos químicos para cada substância, onde se verifica diferenças nos deslocamentos químicos de C-1 a C-7 (Tabela 10), ocasionadas pelos substituintes em C-2 e C-6 que são, respectivamente, unidade benzoíla e OH em **5**, e o inverso em **6**. Ressalta-se que estes dados não haviam sido relatados na literatura.

Através do espectro de RMN de 1H (Figuras 70-72) e comparação com dados descritos na literatura (KHAN et al., 1990a) foi possível identificar uma mistura de substâncias na proporção de 1,7:1 (**5+6**) calculada com base na integração dos sinais de hidrogênios. O espectro apresentou sinais intensificados na região olefínica indicativo de uma mistura em δ 4,95 (d, $J = 11,0$ Hz; H-15b), δ 5,10 (d, $J = 17,5$ Hz; H-15a) e o hidrogênio vicinal em δ 6,30 (dd, $J = 17,5$ e $11,0$ Hz; H-14) consistentes com os acoplamentos *cis/trans* dos hidrogênios da ligação dupla terminal monosubstituída, além de outro sinal em δ 5,42 (m; H-12) e δ 5,42 (ddl, $J = 4,0$ e $8,5$ Hz; H-12) que pôde ser atribuído ao hidrogênio da outra ligação dupla do dieno conjugado, dos componentes minoritário e majoritário, respectivamente. A estrutura parcial formada pela cadeia lateral ligada em C-9 foi confirmada pelas correlações observadas no mapa de contornos *g*HMBC (Figura 68, Tabela 11), bem como as correlações observadas no mapa de contornos *g*COSY (Figura 68).

A configuração *E* da ligação dupla em C-12 foi determinada com base no efeito nuclear Overhauser (NOESY 2D –Tabela 11) observado entre os sinais δ 5,42 (H-12) e δ 6,30 (H-14) para o constituinte majoritário (**5**), e δ 5,42 (H-12) e δ 6,30 (H-14) para o minoritário (**6**).

O espectro também apresentou sinais na região de aromáticos, em δ 7,49 (t, $J = 8,0$ Hz; H-4' e H-6'), δ 7,61 (m, H-5') e δ 8,08 (dd, $J = 1,0$ e $8,5$ Hz; H-3' e H-7') para **5** e δ 7,45 (t, $J = 8,5$ Hz; H-4' e H-6'), δ 7,55 (m, H-5') e δ 8,12 (dd, $J = 1,0$ e $8,5$ Hz, H-3' e H-7') para **6**, evidenciando a presença da unidade benzoíla. Este grupamento está ligado ao C-2 em **5** e ao C-6 em **6**, fato este evidenciado pela comparação com dados da literatura (KHAN et al., 1990b) que apresenta

deslocamento químico de H-2 e H-6, δ 5,63 (m) e δ 4,39 (sl) para **5** e δ 3,72 (dd, $J = 4,5$ e $12,5$) e δ 5,11 (dd, $J = 4,0$ e $12,0$) para **6**.

Adicionalmente observou-se no espectro de RMN de ^1H quatro simpletos em δ 1,96 (s, COOMe-19) e δ 2,07 (s, COOMe-18) pertencentes a **5** e δ 1,98 (s, COOMe-19) e δ 2,05 (s, COOMe-18) a **6**, correspondentes a grupos acetatos. O sistema decalínico (anéis A e B, C-1 a C-10) também foi confirmado a partir das correlações observadas nos mapas de contornos gHMBC e gCOSY (Tabelas 10 e 11), além da comparação com dados de RMN de ^1H da literatura (KHAN et al., 1990b).

A estereoquímica relativa dos 8 centros estereogênicos foi determinada a partir dos dados de RMN de ^{13}C (Figuras 73-74, Tabela 10) e dos valores das constantes de acoplamento (Figuras 70-72, Tabela 10), juntamente com as correlações observadas no mapa de contornos NOESY 2D (Tabela 11) e por comparação com o valor obtido para a rotação óptica específica da mistura que foi de $[\alpha]_D^{30} = +70^\circ$ (CHCl_3 ; c 0,1 g/100 mL). O valor descrito na literatura para (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina em mistura é $[\alpha]_D = +62^\circ$ (CHCl_3 ; c 0,12) e para (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina é $[\alpha]_D = +72^\circ$ (CHCl_3 ; c 0,14) (KHAN et al., 1990b). Todos os dados coletados permitiram identificar a mistura **5+6** como sendo a (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina.

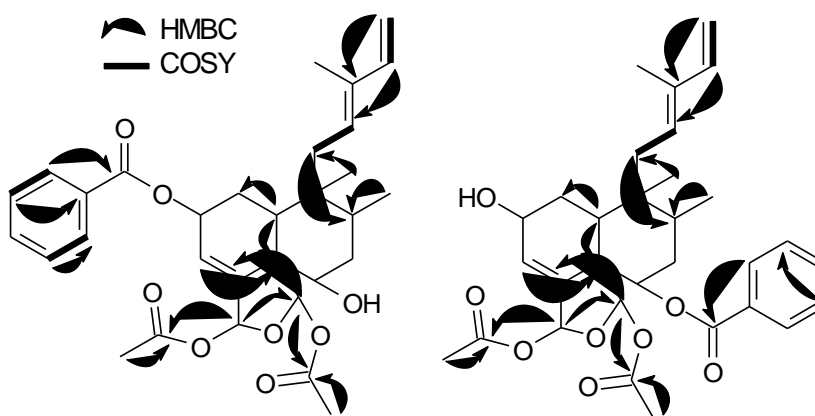


Figura 68. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **5+6**.

TABELA 10. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) das substâncias **5+6**, incluindo resultados do mapa de contornos gHMQC, em CDCl_3 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	$\delta^{13}\text{C}$ de 5 (DEPT 135°)	$\delta^{13}\text{C}$ de 6 (DEPT 135°)	H	2 β -benzoato-6 β - hidroxizuelanina (KHAN et al., 1990c) ^a	$\delta^1\text{H}$ de 5^b	6 β -benzoato-2 α - hidroxizuelanina (KHAN et al., 1990c) ^a	$\delta^1\text{H}$ de 6^b
1	37,4 (CH ₂)	29,4 (CH ₂)	1a	-	1,63 m	-	1,98 m
			1b		1,78 m		2,02 m
2	67,1 (CH)	63,8 (CH)	2	5,68 m ($W_{1/2}$ 8)	5,63 m	4,51 m ($W_{1/2}$ 20)	4,39 sl
3	121,7 (CH)	126,5 (CH)	3	6,01 sl	6,13 dd (1,5 e 4,5)	6,00 sl	6,01 dl (4,5)
4	145,6 (C)	142,3 (C)	4	-	-	-	-
5	53,7 (C)	51,9 (C)	5	-	-	-	-
6	72,8 (CH)	74,7 (CH)	6	3,90 m	3,72 dd (4,5 e 12,5)	5,10 m	5,11 dd (4,0 e 12,0)
7	27,0 (CH ₂)	33,1 (CH ₂)	7a	-	2,06 m	-	1,92 m
			7b				1,98 m
8	37,1 (CH)	36,4 (CH)	8	-	-	-	-
9	37,6 (C)	37,7 (C)	9	-	-	-	-
10	36,7 (CH)	36,1 (CH)	10	2,44 m	2,48 m	2,41 m	2,46 m
11	30,4 (CH ₂)	30,4 (CH ₂)	11a	-	1,74 m	-	1,74 m
			11b		2,28 m		2,28 m
12	128,9 (CH)	129,0 (CH)	12	5,45 dl (5,0)	5,42 dl (4,0 e 8,5)	5,42 m	5,42 m
13	135,7 (C)	135,7 (C)	13	-	-	-	-
14	141,2 (CH)	141,2 (CH)	14	6,29 dd (10,9 e 17,8)	6,30 dd (11,0 e 17,5)	6,40 dd (10,1 e 17,0)	6,30 dd (11,0 e 17,5)
15	111,0 (CH ₂)	111,0 (CH ₂)	15a	5,09 d (17,8)	5,10 d (17,5)	5,08 d (17,0)	5,10 d (17,5)
			15b	4,95 d (10,9)	4,95 d (11,0)	4,95 d (10,1)	4,95 d (11,0)
16	11,9 (CH ₃)	11,9 (CH ₃)	16	1,67 sl	1,67 sl	1,67 sl	1,67 sl
17	15,5 (CH ₃)	15,4 (CH ₃)	17	0,93 d (6,2)	0,95 d (7,0)	0,92 d (6,8)	0,95 d (7,0)

TABELA 10. Continuação.

C	$\delta^{13}\text{C}$ de 5 (DEPT 135°)	$\delta^{13}\text{C}$ de 6 (DEPT 135°)	H	2 β -benzoato-6 β - hidroxizuelanina (KHAN et al., 1990c) ^a	$\delta^1\text{H}$ de 5 ^b	6 β -benzoato-2 α - hidroxizuelanina (KHAN et al., 1990c) ^a	$\delta^1\text{H}$ de 6 ^b
18	95,6 (CH)	95,4 (CH)	18	6,77 dd (1,7 e 1,7)	6,76 t (2,0)	6,49 dd (1,7 e 1,7)	6,52 t (1,5)
19	97,0 (CH)	97,7 (CH)	19	6,50 s	6,54 s	6,74 s	6,79 s
20	25,0 (CH ₃)	25,0 (CH ₃)	20	0,85 s	0,85 s	0,88 s	0,91 s
1'	165,8 (C)	166,0 (C)	1'	-	-	-	-
2'	130,5 (C)	130,5 (C)	2'	-	-	-	-
3'	129,6	129,8	3'	8,09 dd (1,3 e 8,3)	8,08 dd (1,0 e 8,5)	8,12 dd (8,3 e 1,3)	8,12 dd (1,0 e 8,5)
4'	128,4	128,6	4'	7,48 t (8,2)	7,49 t (8,0)	7,46 t (8,2)	7,45 t (8,5)
5'	133,1	133,4	5'	7,61 m	7,61 m	7,60 m	7,55 m
6'	128,4	128,6	6'	7,48 t (8,2)	7,49 t (8,0)	7,46 t (8,2)	7,45 t (8,5)
7'	129,6	129,8	7'	8,09 dd (1,3 e 8,3)	8,08 dd (1,0 e 8,5)	8,12 dd (8,3 e 1,3)	8,12 dd (1,0 e 8,5)
18-C=O	170,1 (C)	170,0 (C)	18-C=O	-	-	-	-
19-C=O	169,4 (C)	169,6 (C)	19-C=O	-	-	-	-
COOMe-18	21,2 (CH ₃)	21,1 (CH ₃)	COOMe-18	2,06 s	2,07 s	2,06 s	2,05 s
COOMe-19	21,5 (CH ₃)	21,7 (CH ₃)	COOMe-19	1,93 s	1,96 s	1,98 s	1,98 s

^aCDCl₃. ^bAtribuições baseadas nos mapas de contornos gCOSY e gHMQC.

TABELA 11. Correlações observadas nos mapas de contornos *g*HMBC e interações no mapa de contornos NOESY 2D de **5** e **6**, em CDCl₃.

C	H	<i>g</i> HMBC de 5	<i>g</i> HMBC de 6	NOESY 2D de 5	NOESY 2D de 6
1	1a	H-10	-	-	H-2; H-6
	1b				
2	2	-	-	H-3	H-1b; H-3
3	3	-	-	H-2	H-2
4	4	H-19	H-19	-	-
5	5	H-3; H-10; H-19	-	-	-
6	6	H-10; H-19	H-19	-	H-1b; H-12
7	7a	-	H-17	-	-
	7b				
8	8	H-11; H-17; H-20	H-11; H-20	-	-
9	9	H-17	-	-	-
10	10	H-1b; H-11; H-20	H-11; H-20	H-12	H-12
11	11a	H-20	-	H-16; H-17	H-16; H-17
	11b				
12	12	H-11a; H-14; H-16	-	H-14	H-6; H-10; H-14
13	13	H-11b; H-14; H-15a; H-15b; H-16	H-11b; H-14; H-15a; H-15b; H-16	-	-
14	14	H-15b; H-16	H-15b	H-12; H-15a	H-12; H-15a
15	15a	-	-	H-14; H-16	H-14; H-15a; H-15b; H-16
	15b				
16	16	H-14	H-14	H-15b; H-19	H-11b; H-15b
17	17	-	-	H-11b; H-15b	H-11a; H-11b
18	18	-	H-3; H-19	H-11a; H-11b	-
19	19	H-6; H-18	H-6; H-18	H-16	-
20	20	-	-	-	-
1'	1'	H-3'; H-7'	H-3'; H-7'	-	-
2'	2'	H-4'; H-6'	H-4'; H-6'	-	-
3'	3'	H-4'; H-6'; H-7'	H-4'; H-6'; H-7'	H-4'	H-4'
4'	4'	H-6'	H-6'	H-3'; H-5'	H-3'; H-5'
5'	5'	H-3'; H-7'	H-3'; H-7'	H-4'; H-6'	H-4'; H-6'
6'	6'	H-4'	H-4'	H-5'; H-7'	H-5'; H-7'
7'	7'	H-3'; H-4'; H-6'	H-3'; H-4'; H-6'	H-6'	H-6'
18-C=O	18-C=O	H-18; Me-18	H-18; Me-18	-	-
19-C=O	19-C=O	H-19; Me-19	H-19; Me-19	-	-
COOMe-18	COOMe-18	-	-	-	-
COOMe-19	COOMe-19	-	-	-	-

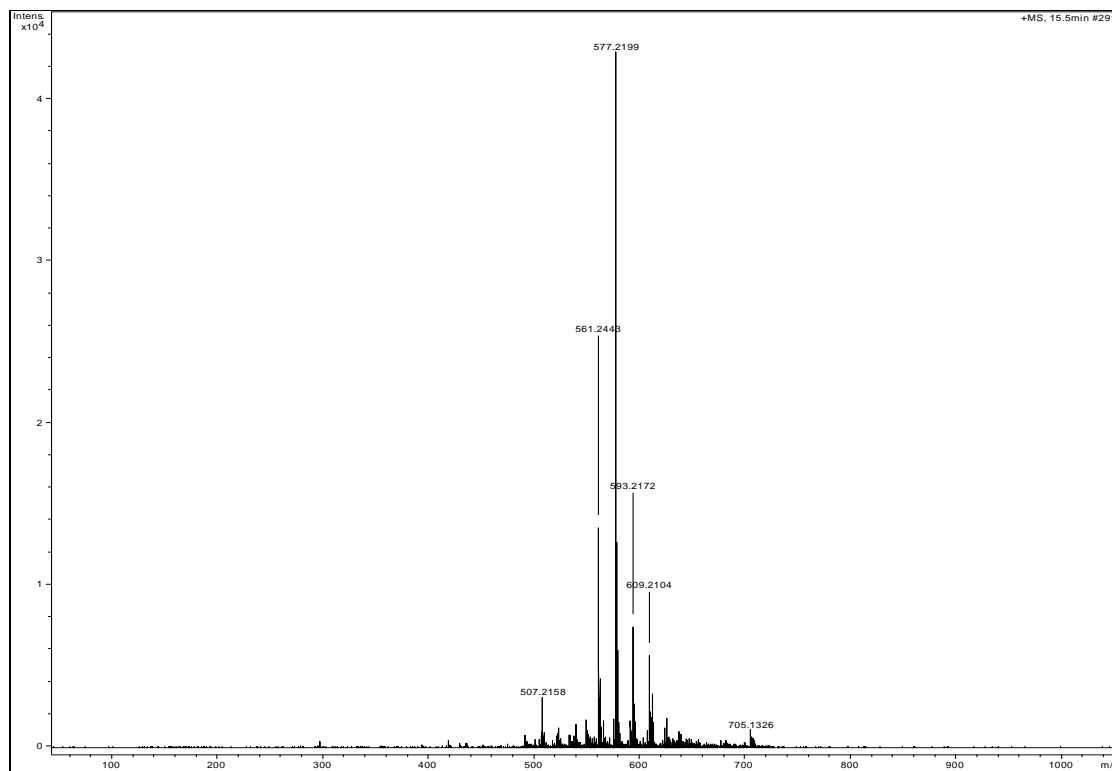
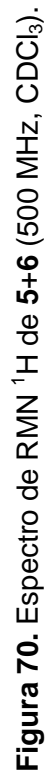


Figura 69. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de (5+6).

```
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl3
Temp.: 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "multis05"

Relax. delay 0.904 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 0.064 sec
1st 5009.400 MHz
1st 5009.400 MHz
OBSERVED H1: 499.4362216 MHZ
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 19 sec
```



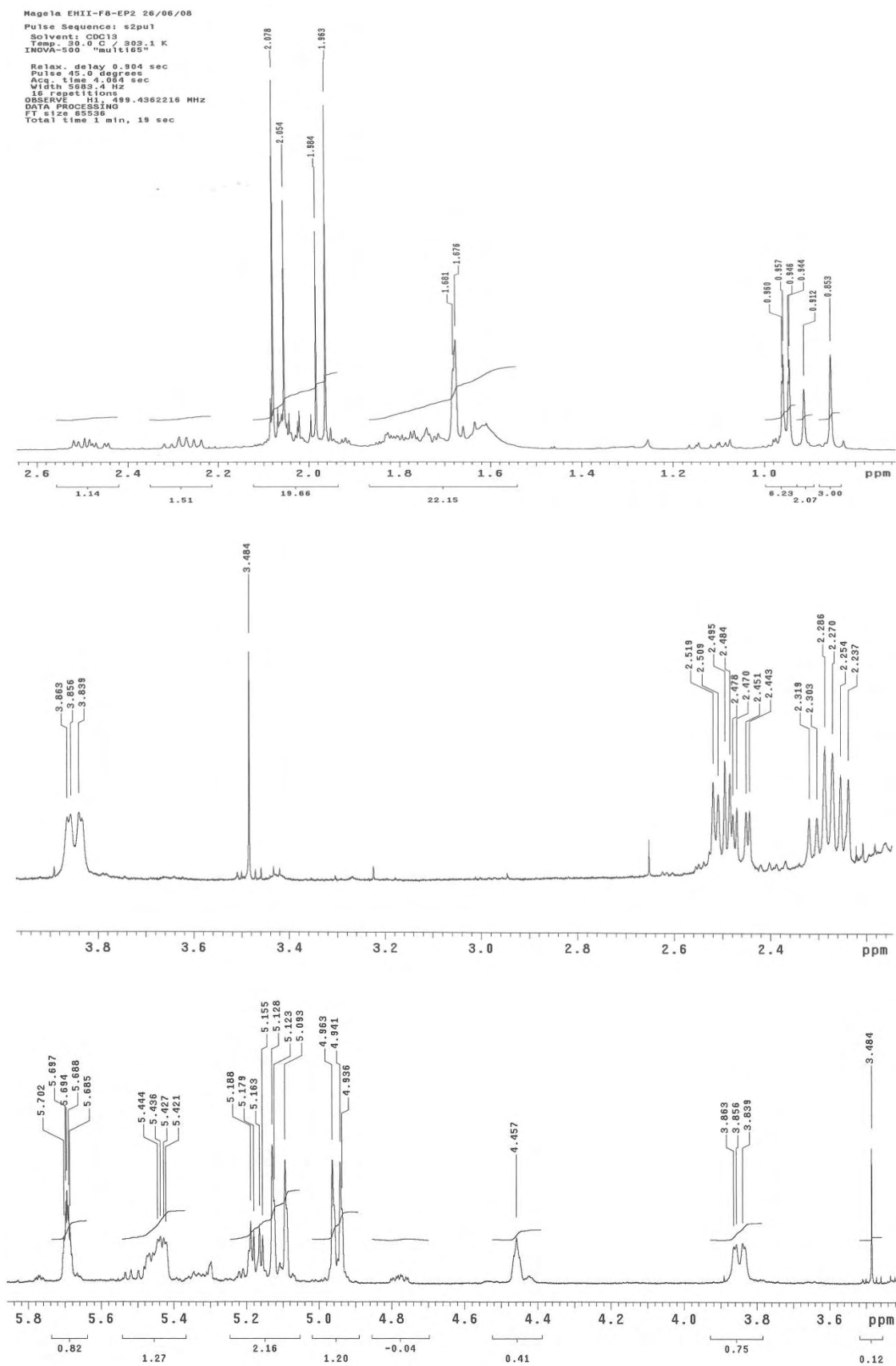


Figura 71. Expansões do espectro de RMN ¹H de **5+6** (500 MHz, CDCl₃).

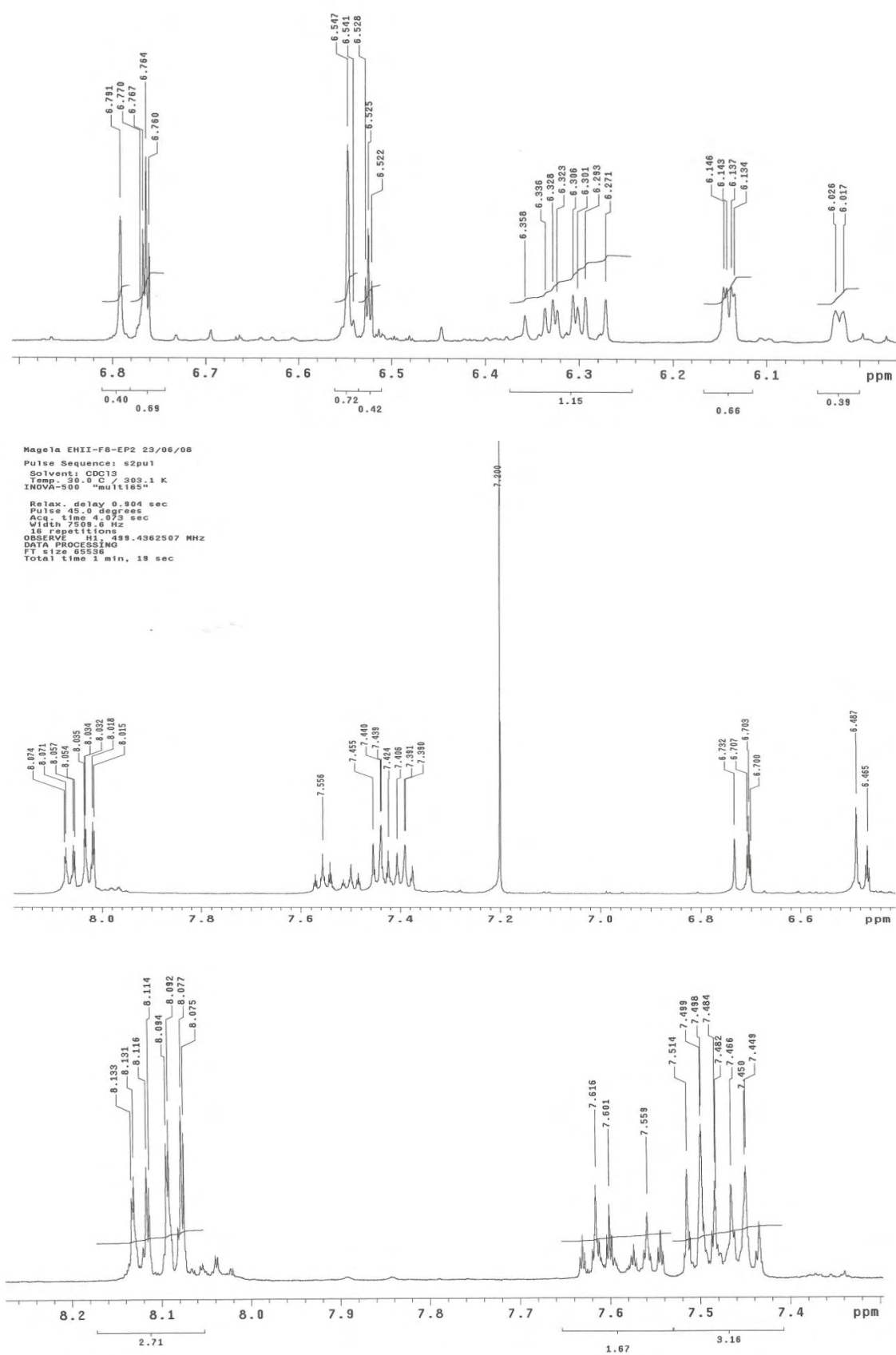


Figura 72. Expansões do espectro de RMN ^1H de **5+6** (500 MHz, CDCl_3).

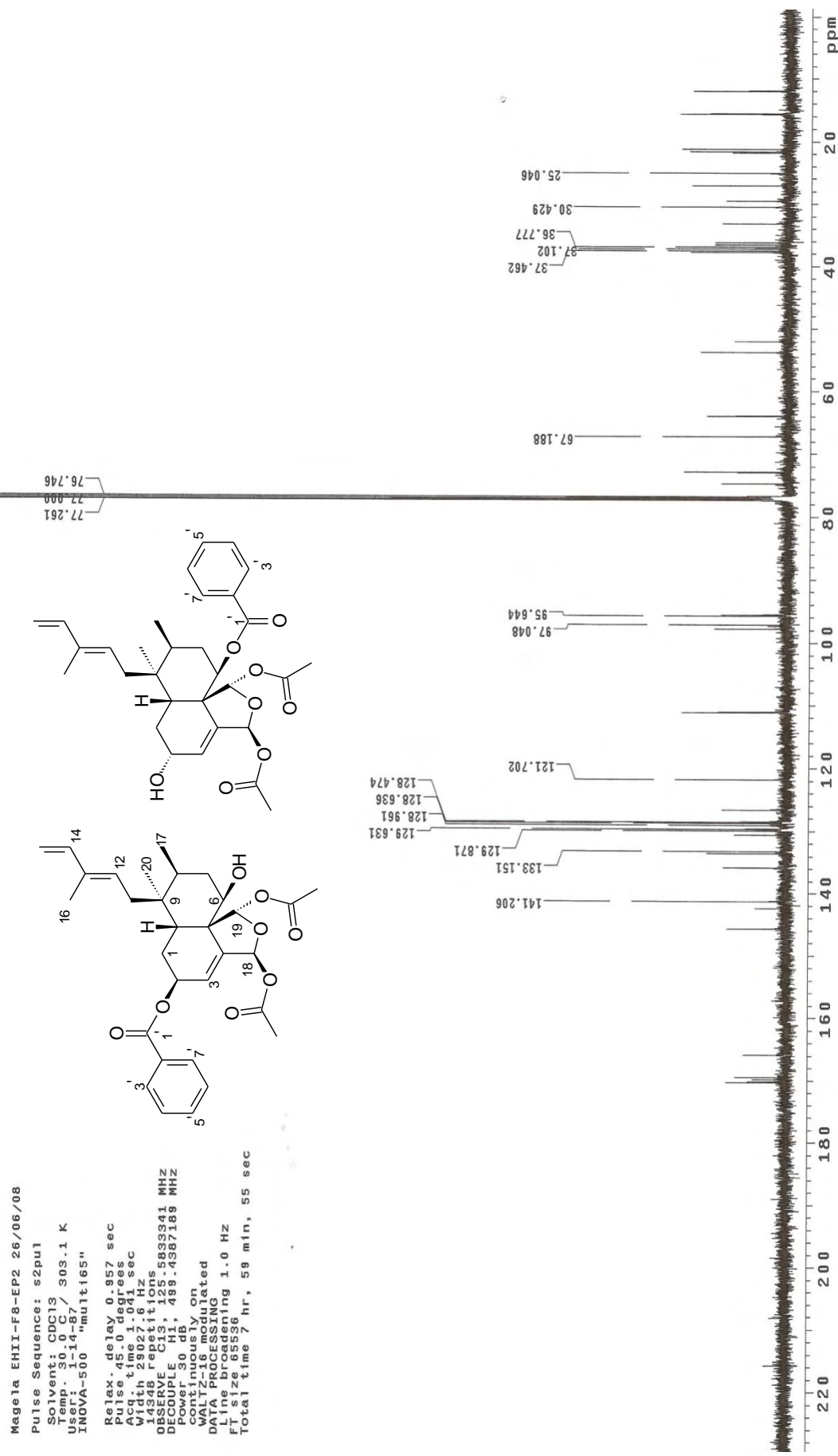


Figura 73. Espectro de RMN ¹³C de 5+6 (125 MHz, CDCl₃).

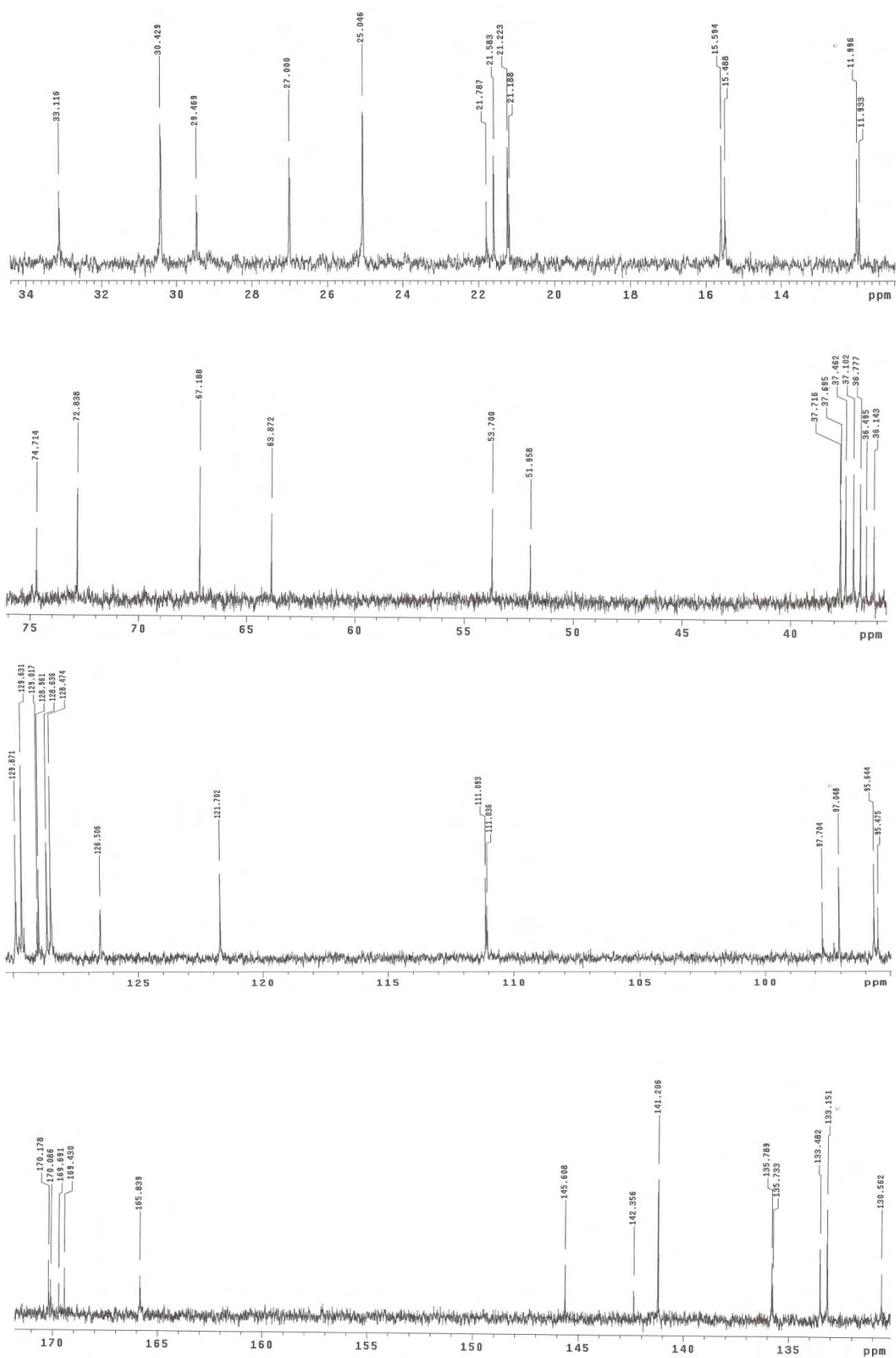
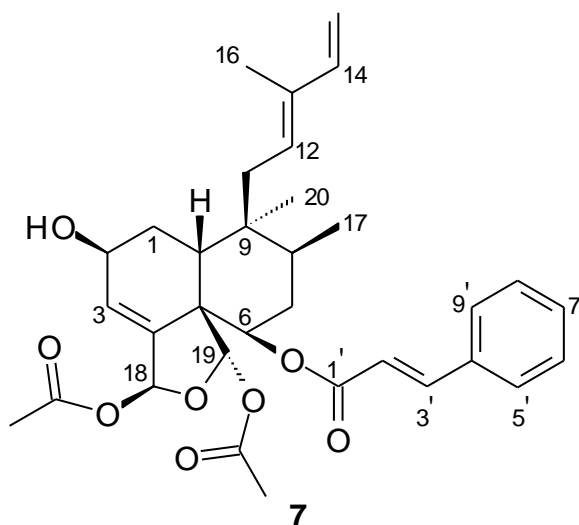


Figura 74. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **5+6** (125 MHz, CDCl_3).

5.3.5. 2 β -Hidroxizuelanina-6 β -cinamato (**7**)



O espectro de massas de alta resolução (HRTOF-ESIMS, Figura 76) de **7** obtido no modo positivo apresentou picos relativos aos íons $[M+Na]^+$ e $[M+K]^+$ com valores de m/z 587,2616 (calculado para $C_{33}H_{40}O_8Na$ 587,2615) e 603,2521 (calculado para $C_{33}H_{40}O_8K$ 603,2354), respectivamente, concordantes com a fórmula molecular $C_{33}H_{40}O_8$ para o íon molecular.

Os sinais nos espectros de RMN de 1H (Figuras 77-79) em δ 1,90 (s, COOMe-19), δ 2,00 (s, COOMe-18), 7,31 (m, H-5', H-7' e H-9') e δ 7,49 (m, H-6' e H-8') e de RMN de ^{13}C (Figuras 80-81) em δ 166,0 (C-1'), 169,6 (COOMe-19) e 170,0 (COOMe-18) evidenciaram a presença de 1 unidade cinamoíla e 2 grupos acetatos. A posição destes grupos na molécula foi determinada com base em correlações observadas no mapa de contornos gHMBC entre (Figura 75, Tabela 12) H-19 (δ 6,64) e a carbonila do grupo acetato δ 169,6 (COOMe-19), definiu a posição deste substituinte. A posição do outro grupo acetato e do substituinte cinamoíla foram determinadas por comparação com dados da literatura (KHAN et al., 1990b). As correlações observadas nos mapa de contornos TOCSY 2D, gHMQC e gHMBC (Figura 75, Tabelas 12 e 13) permitiram a inequívoca atribuição dos deslocamentos químicos de RMN de 1H e de ^{13}C .

A estereoquímica relativa dos 8 centros estereogênicos foi determinada a partir dos dados de RMN de ^{13}C (Figuras 80-81, Tabela 12) e dos valores das constantes de acoplamento (Tabela 12) juntamente com as interações observadas no espectro NOESY 2D (Tabela 13). A estereoquímica absoluta de **7** foi determinada

pela análise de seu espectro de dicroísmo circular (Figura 82), o qual apresentou efeito Cotton positivo nos comprimentos de onda de 239 e 282 nm. De acordo com a literatura (ITOKAWA et al., 1990), o centro estereogênico em C-9 relacionado ao comprimento de 239 nm característico de diterpenos clerodânicos, apresenta configuração *R* quando há efeito Cotton negativo. Logo a substância **7** possui configuração *S* no C-9. Com base nesta constatação e juntamente com a estereoquímica relativa determinada pelos espectros de NOESY 2D, foi possível determinar a configuração absoluta como: 2*S*, 5*R*, 6*R*, 8*S*, 9*S*, 10*R*, 18*S*, 19*S*. Todas as evidências apresentadas estão condizentes com a substância 2β-hidroxizuelanina-6β-cinamato, isolada de *Zuelania guidonia* (KHAN; GRAY e WATERMAN, 1990). A 6β-cinamato-2β-hidroxizuelanina (**7**) é dextrorrotatória, com $[\alpha]_D^{30} = +66^\circ$ (CHCl₃, c 0,1 g/100 mL).

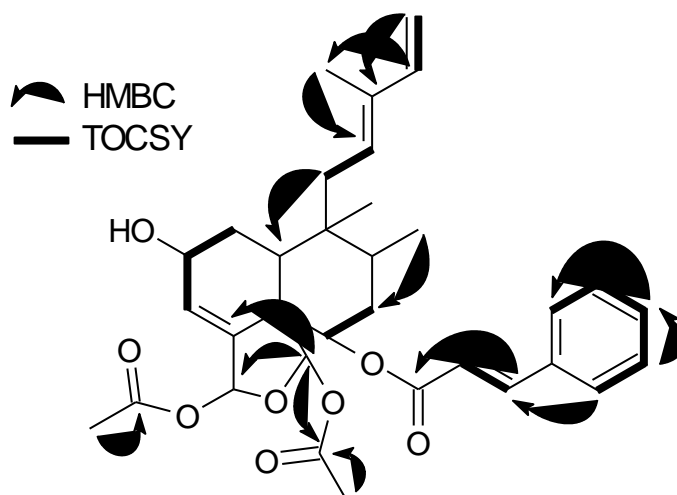


Figura 75. Principais correlações observadas pelos experimentos TOCSY 2D (¹H-¹H) e gHMBC (¹H→¹³C) para **7**.

TABELA 12. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **7**, incluindo resultados de mapas de contornos de correlação (gHMQC e gHMBC), em CDCl_3 . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (KHAN; GRAY e WATERMAN, 1990) ^a	δ ^{13}C de 7 (DEPT 135°)	H	6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (KHAN et al., 1990b) ^a	δ ^1H de 7 ^b	gHMBC de 7
1	30,4	29,4 (CH_2)	1a	-	1,96 m	-
2	63,8	63,9 (CH)	1b	-	1,90 m	-
3	128,6	126,3 (CH)	2	4,45 sl ($W_{1/2} = 10$)	4,38 m	-
4	142,5	142,4 (C)	3	6,03 sl	5,97 d (4,0)	-
5	52,1	52,0 (C)	4	-	-	H-19
6	74,1	74,1 (CH)	5	-	-	-
7	33,2	33,1 (CH_2)	6	5,05 m	4,97 t (4,5)	H-19
8	36,2	36,1 (CH)	7a	-	1,80 m	H-17
9	37,7	37,7 (C)	7b	-	1,76 m	-
10	43,8	36,4 (CH)	8	-	1,84 m	-
11	29,6	30,3 (CH_2)	9	-	-	-
12	129,0	129,0 (CH)	10	-	2,36 dd (13,0 e 4,0)	H-11a; H-20
13	135,6	135,6 (C)	11a	-	2,21 dd (17,0 e 8,5)	H-20
14	141,2	141,2 (CH)	11b	-	1,70 m	H-11a; H-16
15	110,9	111,0 (CH_2)	12	5,47 dl (5,3)	5,38 m	H-11a; H-16
			13	-	-	H-11a; H-15a; H-15b; H-16
			14	6,31 dd (17,4 e 10,7)	6,27 dd (18,0 e 11,0)	H-16
			15a	5,09 d (17,4)	5,03 d (18,0)	H-16
			15b	4,94 d (10,7)	4,87 d (11,0)	H-16

TABELA 12. Continuação.

C	6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (KHAN; GRAY e WATERMAN, 1990) ^a	δ ¹³ C de 7 (DEPT 135°)	H	6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (KHAN et al., 1990b) ^a	δ ¹ H de 7 ^b	gHMBC de 7
16	11,9	11,9 (CH ₃)	16	1,67 sl	1,60 br s	H-14
17	15,5	15,4 (CH ₃)	17	0,94 d (6,6)	0,87 d (7,0)	
18	95,5	95,4 (CH)	18	6,55 t (1,7)	6,49 s	H-19
19	97,6	97,6 (CH)	19	6,71 s	6,64 s	H-18
20	25,0	25,0 (CH ₃)	20	0,88 s	0,82 s	-
1'	166,0	166,0 (C)	1'	-	-	H-2'; H-3'
2'	117,7	117,7 (CH)	2'	6,37 d (16,0)	6,33 d (16,0)	-
3'	146,1	146,1 (CH)	3'	7,77 d (16,0)	7,71 d (16,0)	-
4'	134,3	134,3 (C)	4'	-	-	H-2'; H-5'; H-9'
5'	128,8	128,8 (CH)	5'	7,56 m	7,31 m	H-3'; H-7'; H-9'
6'	128,4	128,4 (CH)	6'	7,37 m	7,49 m	-
7'	130,4	130,4 (CH)	7'	7,37 m	7,31 m	H-6'; H-8'
8'	128,4	128,4 (CH)	8'	7,37 m	7,49 m	-
9'	128,8	128,8 (CH)	9'	7,56 m	7,31 m	H-3'; H-5'; H-7'
18-C=O	170,0	170,0 (C)	18-C=O	-	-	COOMe-18
19-C=O	169,9	169,6 (C)	19-C=O	-	-	H-19; COOMe-19
COOMe-18	21,2	21,2 (CH ₃)	COOMe-18	2,06 s	2,00 s	-
COOMe-19	21,6	21,8 (CH ₃)	COOMe-19	1,97 s	1,90 s	-

^aCDCl₃. ^bAtribuições baseadas nos mapas de contornos gCOSY e gHMQC.

TABELA 13. Correlações observadas nos mapas de contornos TOCSY 2D e interações no NOESY 2D de **7**, em CDCl₃.

C	H	TOCSY 2D	NOESY 2D
1	1a	H-2; H-3	-
	1b		
2	2	H-1a; H-3	H-3
3	3	H-1a; H-2	H-2
4	4	-	-
5	5	-	-
6	6	H-7	H-7a; H-8
7	7a	H-6	H-6; H-19
	7b		
8	8	-	H-6
9	9	-	-
10	10	-	-
11	11a	H-12	H-12; H-16; H-17; H-19
	11b		
12	12	H-11a; H-11b	H-11a; H-14
13	13	-	-
14	14	H-15a	H-12; H-15b
15	15a	H-14	H-14; H-15a; H-15b; H-16
	15b		
16	16	-	H-15a; H-11b
17	17	-	H-11b
18	18	-	-
19	19	-	H-7; H-11
20	20	-	-
1'	1'	-	-
2'	2'	H-3'	-
3'	3'	H-2'	-
4'	4'	-	-
5'	5'	H-6'; H-7'; H-8'; H-9'	H-6'
6'	6'	H-5'; H-7'; H-8'; H-9'	H-5'; H-7'
7'	7'	H-5'; H-6'; H-8'; H-9'	H-6'; H-8'
8'	8'	H-5'; H-6'; H-7'; H-9'	H-7'; H-9'
9'	9'	H-5'; H-6'; H-7'; H-8'	H-8'
18-C=O	18-C=O	-	-
19-C=O	19-C=O	-	-
COOMe-18	COOMe-18	-	-
COOMe-19	COOMe-19	-	-

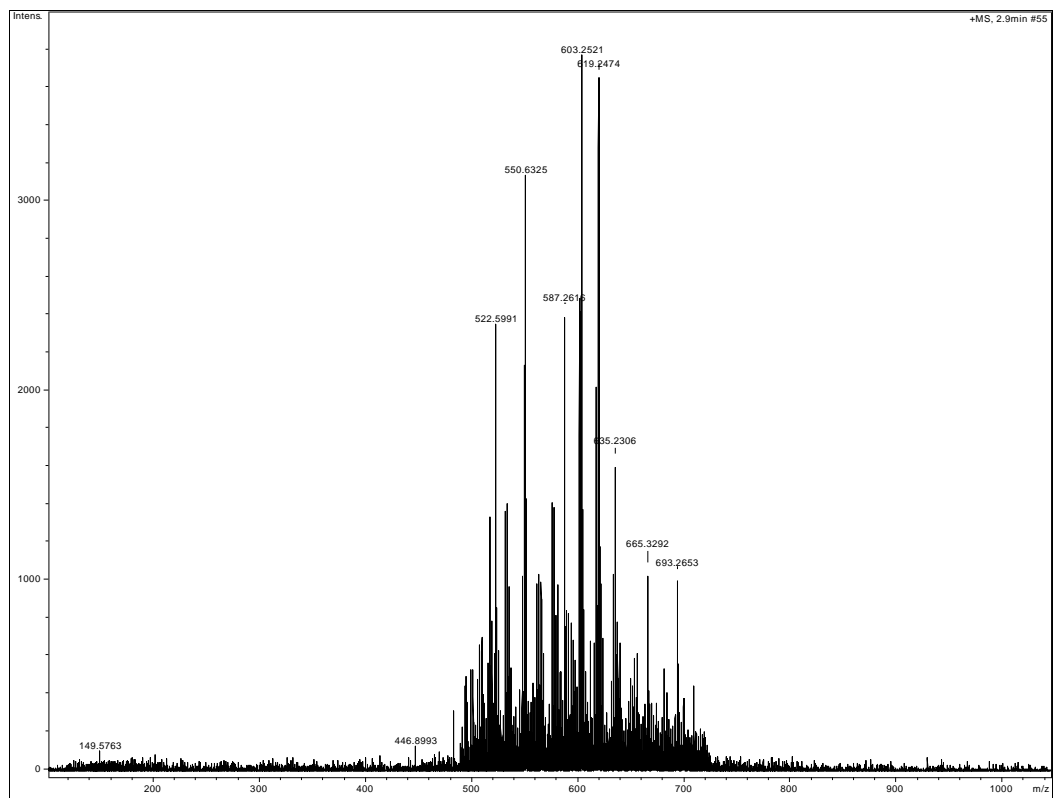


Figura 76. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **7**.

Magela_EHII-F8-EP3_25/06/08
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl₃
Temp: 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "mult165"
Relax. delay 0.904 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 4.000 sec
Width 5940.4 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 499.4362568 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 1 min, 19 sec

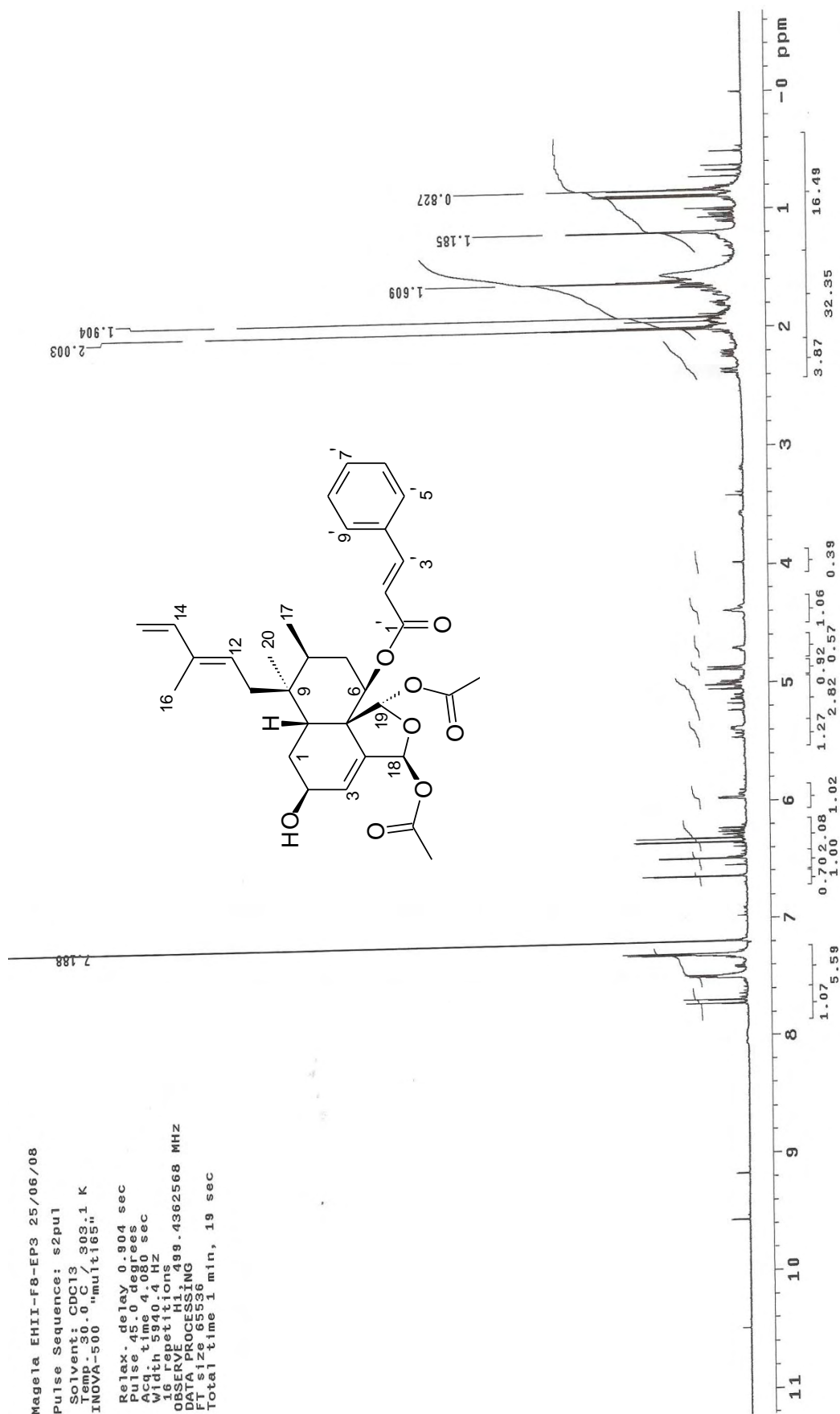


Figura 77. Espectro de RMN ¹H de 7 (500 MHz, CDCl₃).

Magela EHII-F8-EP3 25/06/08

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: CDCl₃

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "multis15"

Relax. delay 0.904 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.080 sec

Width 5940.4 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.4362568 MHz

DATA PROCESSING

FT size 65536

Total time 1 min, 19 sec

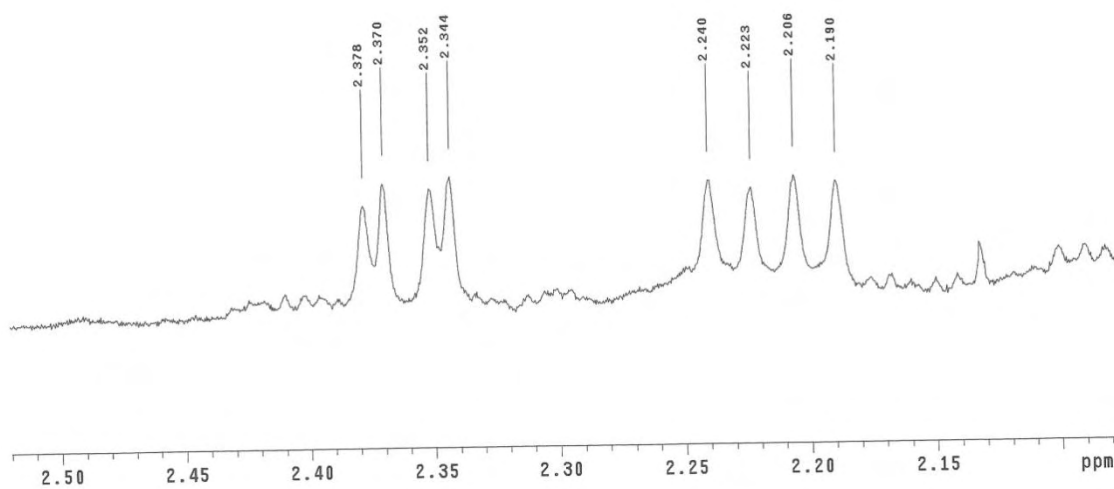
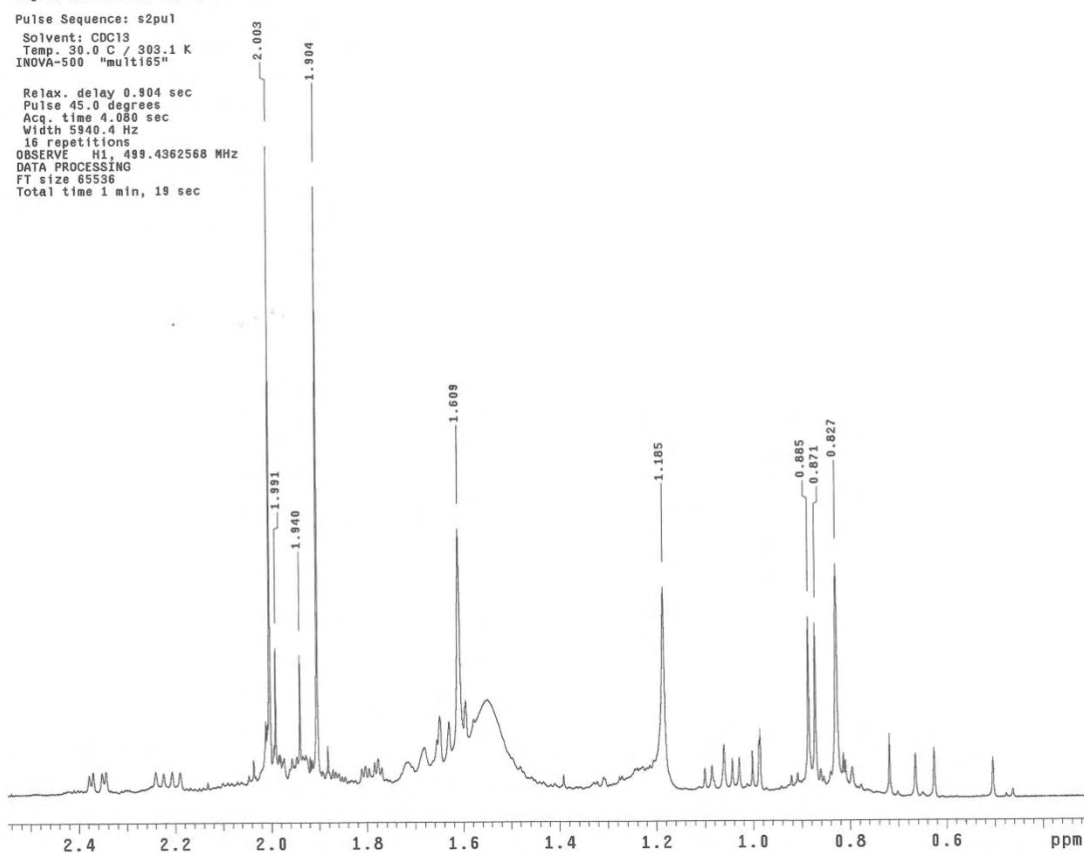
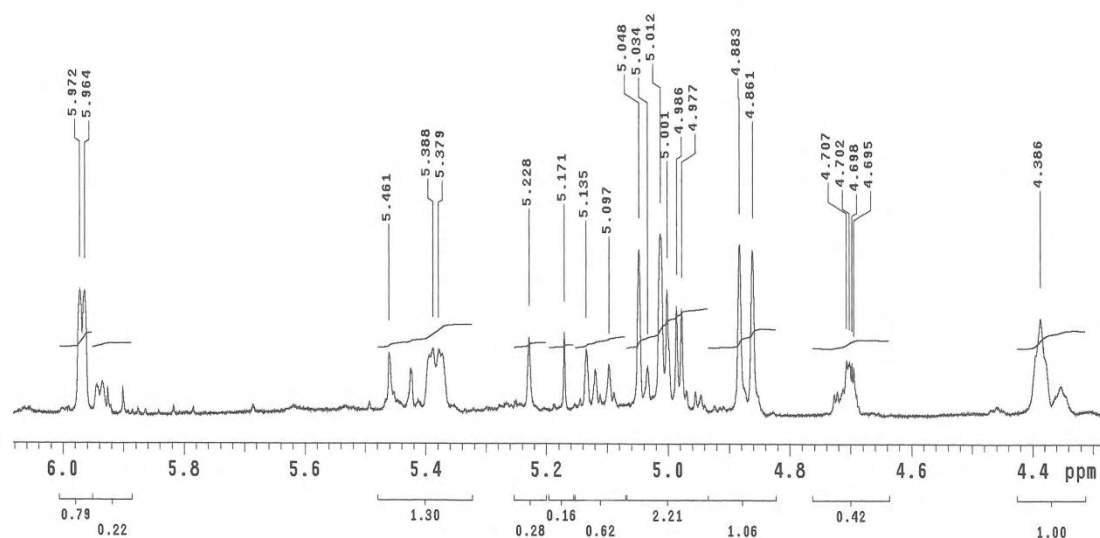


Figura 78. Expansões do espectro de RMN ¹H de **7** (500 MHz, CDCl₃).



Magela EHII-F8-EP3 25/06/08

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: CDCl3

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 0.904 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.080 sec

Width 5940.4 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.4362568 MHz

DATA PROCESSING

FT size 65536

Total time 1 min, 19 sec

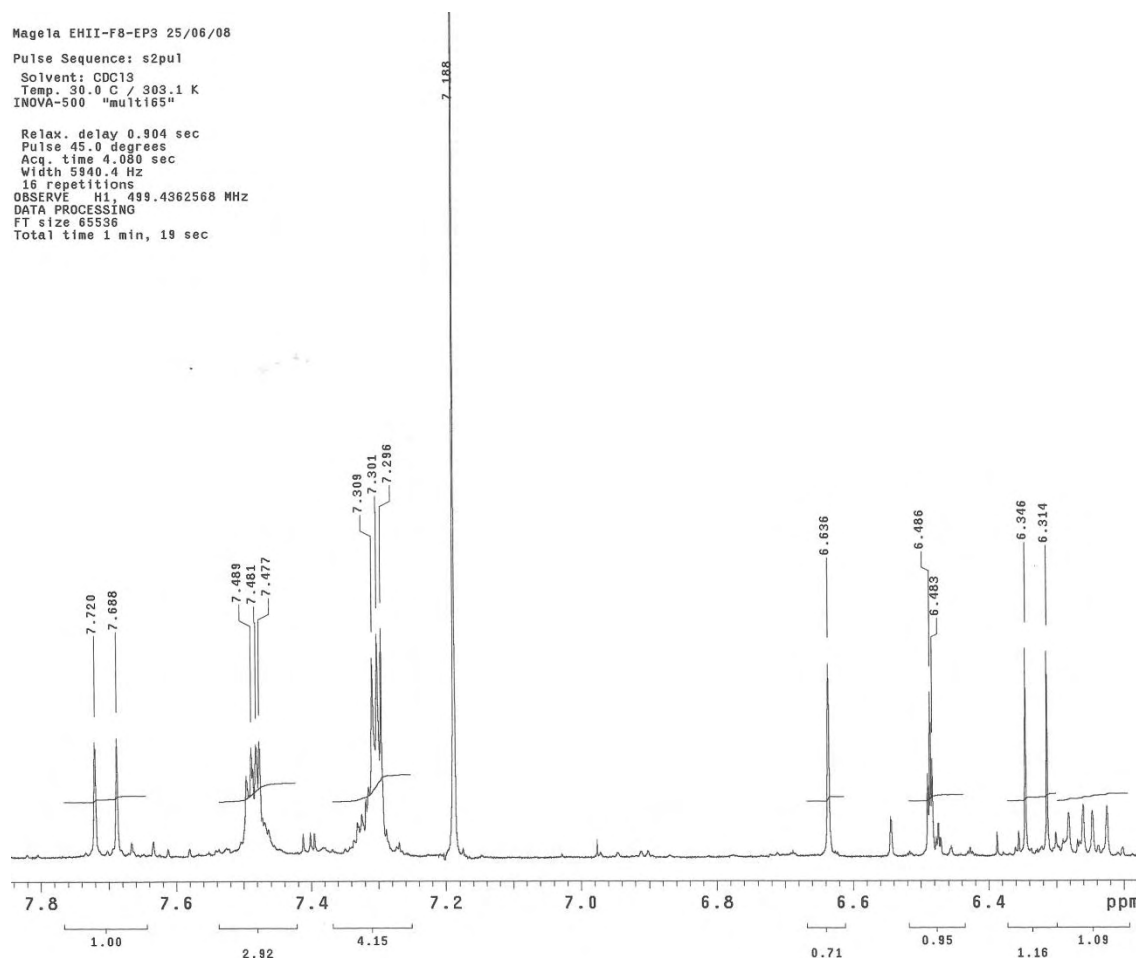


Figura 79. Expansões do espectro de RMN ^1H de **7** (500 MHz, CDCl_3).

Magela EMI-F8-EP3 25/06/08
Pulse Sequence: s2pul
Solvent: CDCl3
Temp: 30.0°C / 303.1 K
User: 1-14-87
INNOVA-500 "mult165"
Relax. delay 0.957 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.00 sec
Width 20027.6 Hz
SFO 125.760 MHz
17928 Repetitions
OBSERVE C13, 125.5833341 MHz
DECOUPLE C13, 125.5833341 MHz
PCOUPLE 30 dB, 499.4387189 MHz
Pulsed continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
F2 125.5833341 MHz
F1 125.5833341 MHz
Total time 9 hr, 59 min, 39 sec

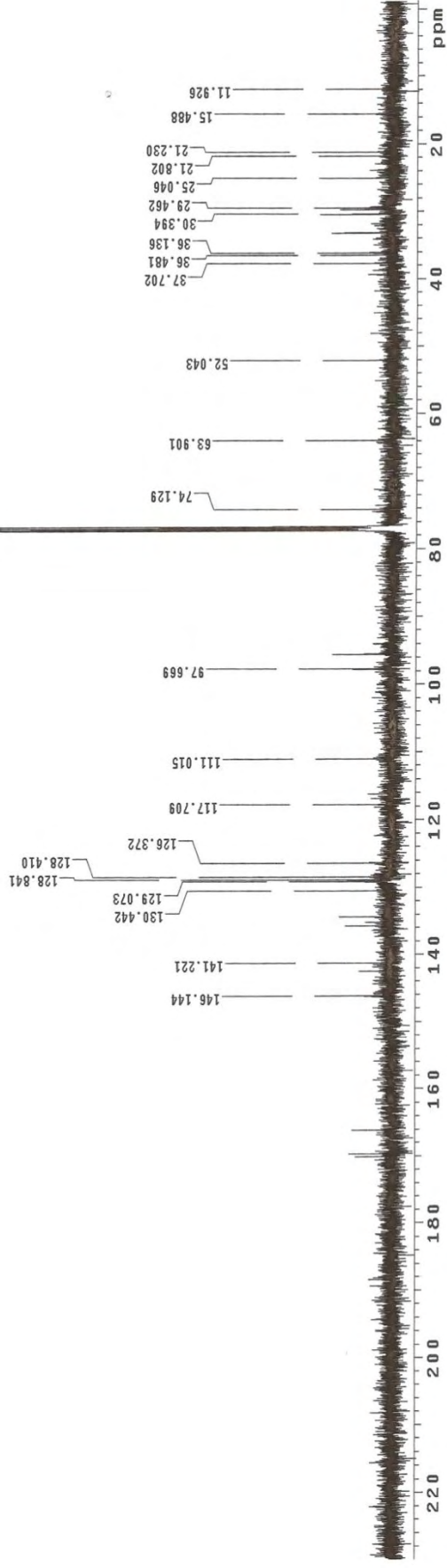
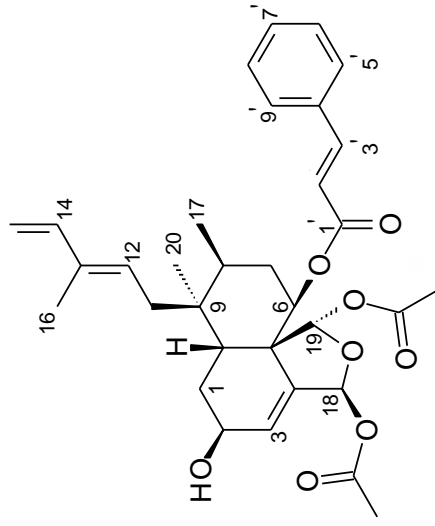


Figura 80. Espectro de RMN ^{13}C de 7 (125 MHz, CDCl_3).

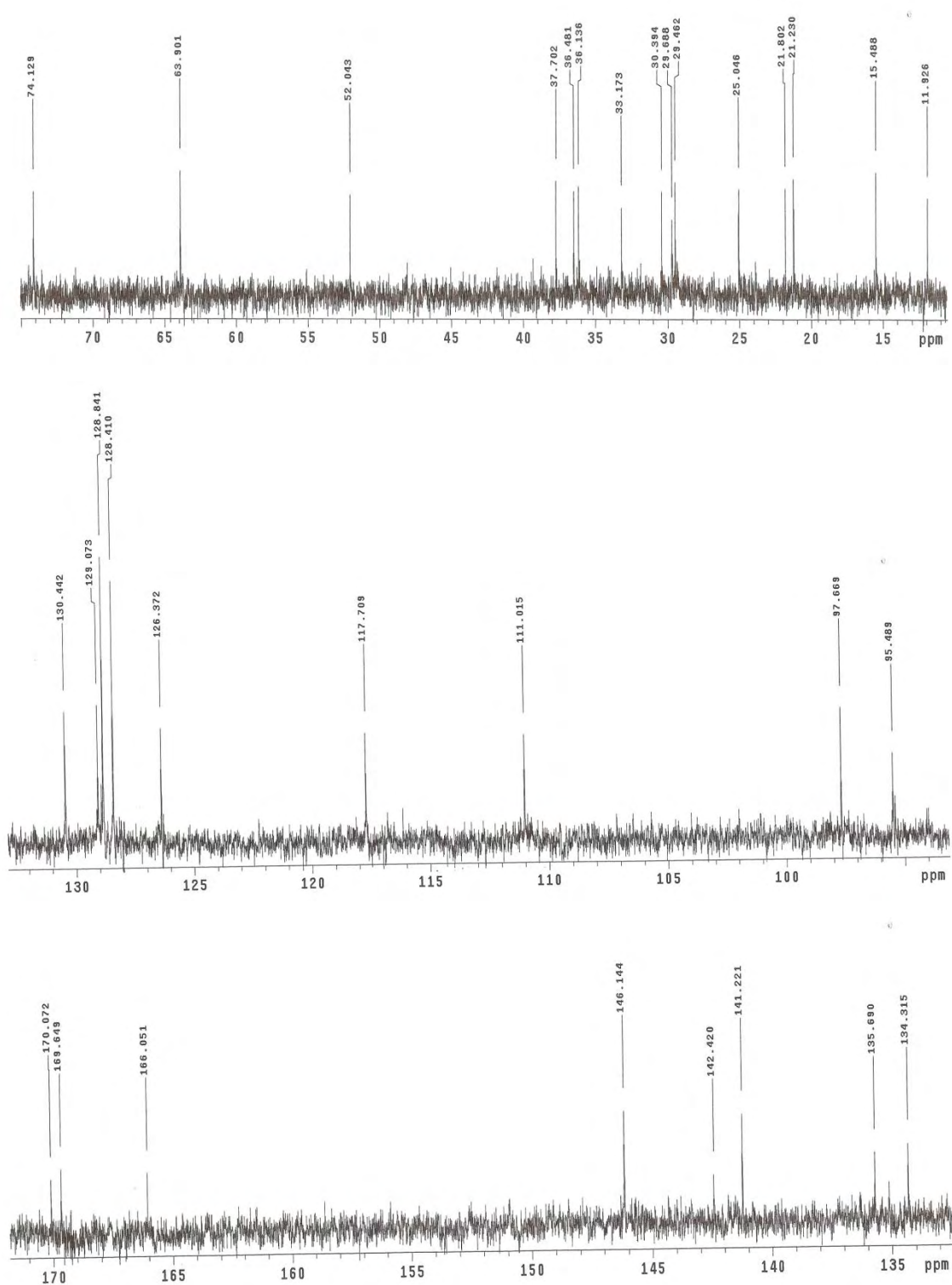


Figura 81. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **7** (125 MHz, CDCl_3).

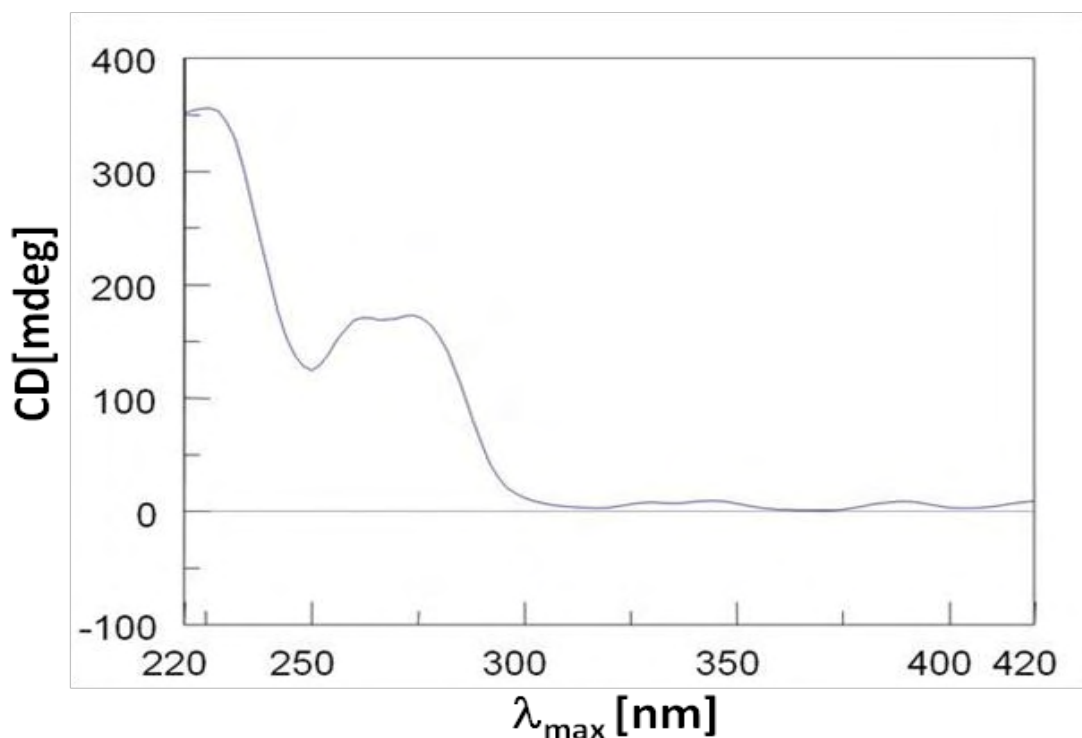
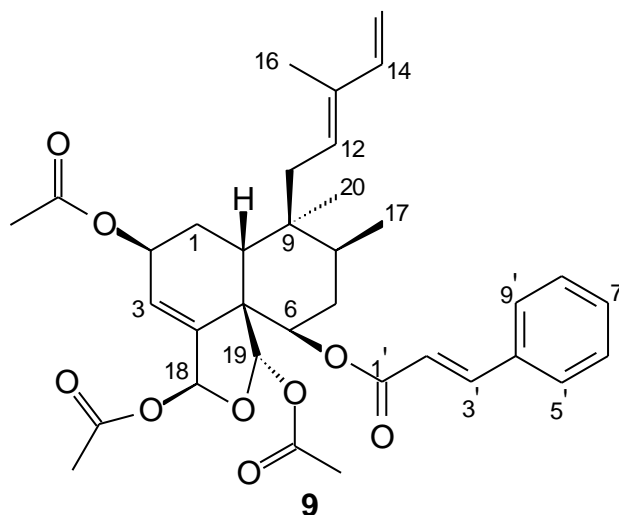


Figura 82. Espectro de dicroísmo circular de **7** (0,03 mg/mL em MeOH; c = 10 mm).

5.3.6. Caseobliquina B (**9**)



O espectro de massas (Figura 85) apresentou pico da molécula cationizada em m/z 629,2747 $[M+Na]^+$ (calculado para $C_{35}H_{42}O_9Na$: m/z 629,2721).

O espectro de RMN de 1H de **9** (Figuras 86-87, Tabela 14) mostrou-se bastante semelhante ao da substância **8**, sendo que as principais diferenças observadas nos espectros destas moléculas indicaram que o substituinte ligado ao C-6 que em **8** é um grupo *p*-hidroxibenzoila, e um substituinte cinamoíla em **9**. A

estereoquímica do C-2 parece estar invertida em **9**. Apesar de ter sido determinada apenas a configuração relativa com base no $[\alpha]_D^{29} = + 51^\circ$ (CHCl_3 , c 0,05 g/100 mL) e em comparação com dados descritos na literatura (KHAN; GRAY e WATERMAN, 1990).

O mapa de contornos TOCSY 2D (Figuras 88-90) mostrou os sistemas de spins da unidade cinamoíla, constituído pelos sinais em δ 6,48 (d, $J = 16,0$ Hz, H-2') e δ 7,80 (d, $J = 16,0$ Hz, H-3') da ligação dupla em conjugação com o anel aromático, e outro constituído pelos sinais em δ 7,40 (m, H-6', H-7' e H-8') e δ 7,63 (m, H-5' e H-9') do anel aromático. Os deslocamentos químicos dos carbonos (Tabela 14) foram atribuídos com base nas correlações dos mapas de contornos gHMQC e gHMBC (Figuras 91-97 e Tabelas 14 e 15), os quais apresentaram sinais referentes à presença de três substituintes acetatos [δ 21,8 e 171,1 (COOMe-19); δ 21,0 e 171,9 (COOMe-18); δ 23,1 e 179,0 (COOMe-2)] e uma unidade cinamoíla. Todas as atribuições foram feitas de forma inequívoca com o auxílio dos mapas de contornos gHMBC e gCOSY (Figura 83, Tabela 15) e a estereoquímica relativa foi baseada no espectro NOESY 2D (Figuras 84, 98-100, Tabela 15).

A substância **9**, identificada como caseobliquina B está sendo relatada na literatura pela primeira vez como substância natural, assim como seus deslocamentos químicos de carbonos, pois a mesma substância havia sido relatada como produto oriundo de acetilação no carbono 2 (KHAN; GRAY e WATERMAN, 1990).

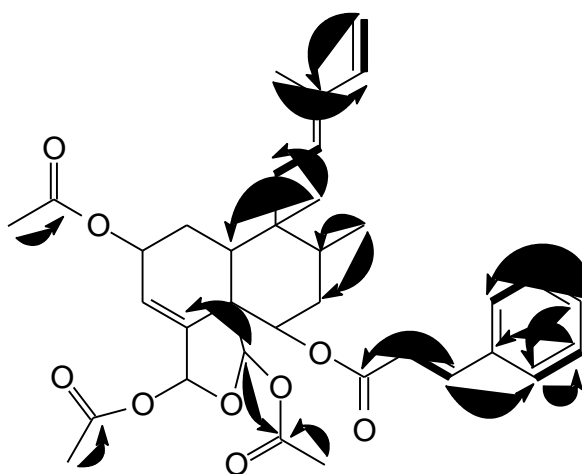


Figura 83. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **9**.

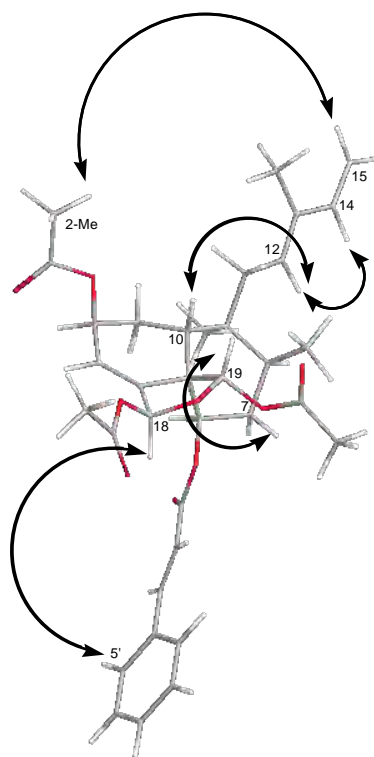


Figura 84. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 2D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para **9**.

TABELA 14. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) de **9**, incluindo resultados de mapa de contornos (gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	$\delta^{13}\text{C}$ de 9	H	(rel)-2 α -acetoxizuelanina-6 β -cinamato (KHAN, GRAY e WATERMAN, 1990) ^a	$\delta^1\text{H}$ de 9 ^b (J = Hz)
1	30,2	1a	-	2,09 m
		1b	-	1,99 m
2	64,4	2	5,48 sl ($W_{1/2}=10$)	4,41 m
3	128,1	3	6,01 sl	6,06 d (4,0)
4	142,5	-	-	-
5	57,8	-	-	-
6	75,5	6	-	5,11 m
7	34,1	7a	-	1,93 m
		7b	-	1,78 m
8	37,6	8	-	-
9	37,6	-	-	-
10	38,0	10	-	2,57 dd (3,5 e 14,4)
11	31,0	11a	-	2,33 dd (8,8 e 17,5)
		11b	-	-
12	130,8	12	5,46 dl (5,3)	5,58 m
13	136,3	-	-	-
14	142,5	14	6,32 dd (10,5 e 17,3)	6,41 dd (10,5 e 17,5)
15	111,0	15a	5,10 d (17,3)	5,10 d (17,5)
		15b	4,95 d (10,5)	4,92 d (10,5)
16	12,2	16	1,68 sl	1,67 s
17	15,7	17	0,94 d (6,6)	0,97 d (7,0)
18	94,0	18	6,56 dd (1,7 e 1,7)	6,49 t (1,5)
19	98,2	19	6,72 s	6,67 s
20	25,4	20	0,86 s	0,91 s
1'	167,7	-	-	-
2'	118,2	2'	6,35 d (16,1)	6,48 d (16,0)
3'	147,1	3'	7,77 d (16,1)	7,80 d (16,0)
4'	135,0	-	-	-
5'	129,1	5'	7,56 m	7,63 m
6'	130,0	6'	7,37 m	7,40 m
7'	130,5	7'	7,37 m	7,40 m
8'	130,0	8'	7,37 m	7,40 m
9'	129,1	9'	7,56 m	7,63 m
2-C=O	179,0	-	-	-
18-C=O	171,9	-	-	-
19-C=O	171,1	-	-	-
COOMe-2	23,1	2-Me	2,00 s	1,90 s
COOMe-18	21,0	18-Me	2,09 s	2,05 s
COOMe-19	21,8	19-Me	2,08 s	1,94 s

^a CDCl_3 . ^bAtribuições baseadas nos mapas de contornos TOCSY, gCOSY e gHMQC.

TABELA 15. Correlações observadas nos mapas de contornos *g*HMBC e *g*COSY e interações no mapa de contornos NOESY 2D de **9**, em CD₃OD.

C	H	<i>g</i> HMBC de 9	<i>g</i> COSY de 9	NOESY 2D de 9
1	1a	-	-	-
	1b	-	-	-
2	2	-	-	-
3	3	-	-	-
4	-	H-19	-	-
5	-	-	-	-
6	6	-	-	-
7	7a	H-17	-	H-19
	7b	-	-	-
8	8	H-17	-	-
9	-	-	-	-
10	10	H-20	-	H-12
11	11a	H-20	H-12	Me-16; Me-17
	11b	-	-	-
12	12	H-16	H-11	H-10; H-14; Me-2
13	-	H-15a; H-15b; H-16	-	-
14	14	H-16	H-15a; H-15b	H-12
15	15a	-	H-14	Me-16; Me-18
	15b	-	-	-
16	16	-	-	H-11; H-15a
17	17	-	-	H-11
18	18	-	-	H-5'; H-9'
19	19	-	-	H-7
20	20	-	-	-
1'	-	H-3'	-	-
2'	-	-	H-3'	-
3'	3'	-	H-2'	H-5'; H-9'
4'	4'	H-6'; H-8'	-	-
5'	-	H-3'; H-6'; H-7'	H-6'	H-18; H-3'; H-6'
6'	6'	H-5'	H-5'	H-5'; H-7'
7'	7'	-	-	H-6'; H-8'
8'	-	H-9'	H-9'	H-7'; H-9'
9'	-	H-3'; H-7'; H-8'	H-8'	H-18; H-3'; H-8'
2-C=O	-	COOMe-2	-	H-12
18-C=O	-	COOMe-18	-	-
19-C=O	-	H-19; COOMe-19	-	H-15
COOMe-2	COOMe-2	-	-	-
COOMe-18	COOMe-18	-	-	-
COOMe-19	COOMe-19	-	-	-

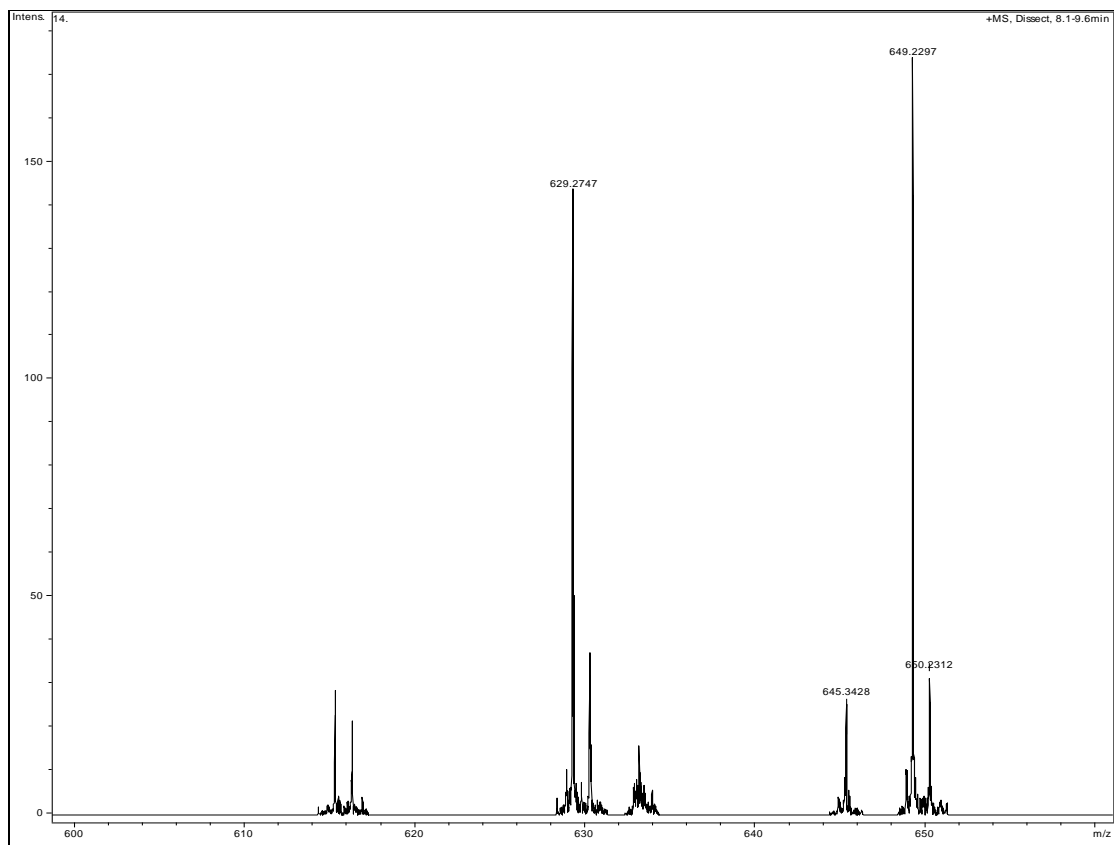


Figura 85. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **9**.

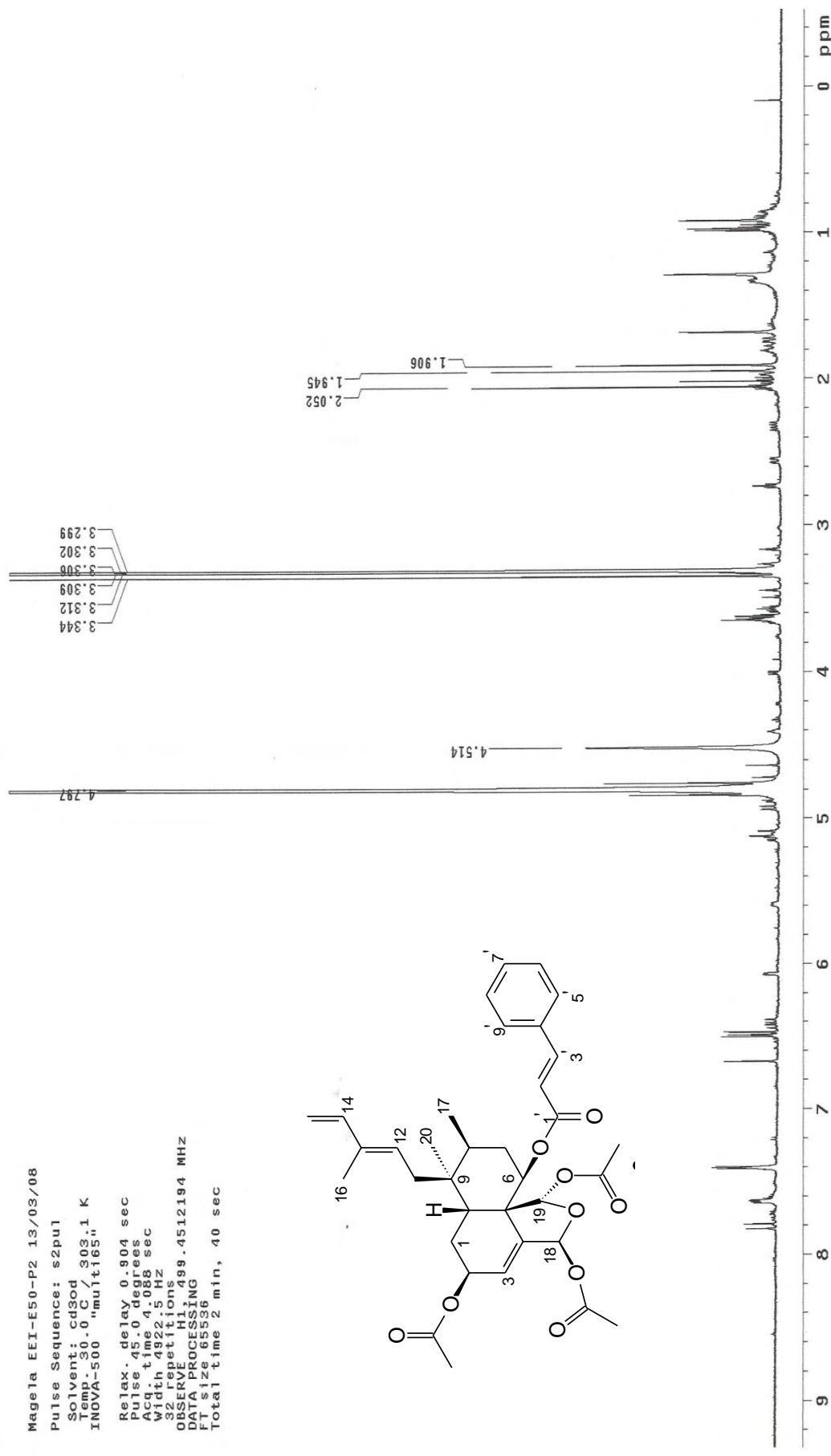


Figura 86. Espectro de RMN ^1H de **9** (500 MHz, CD_3OD).

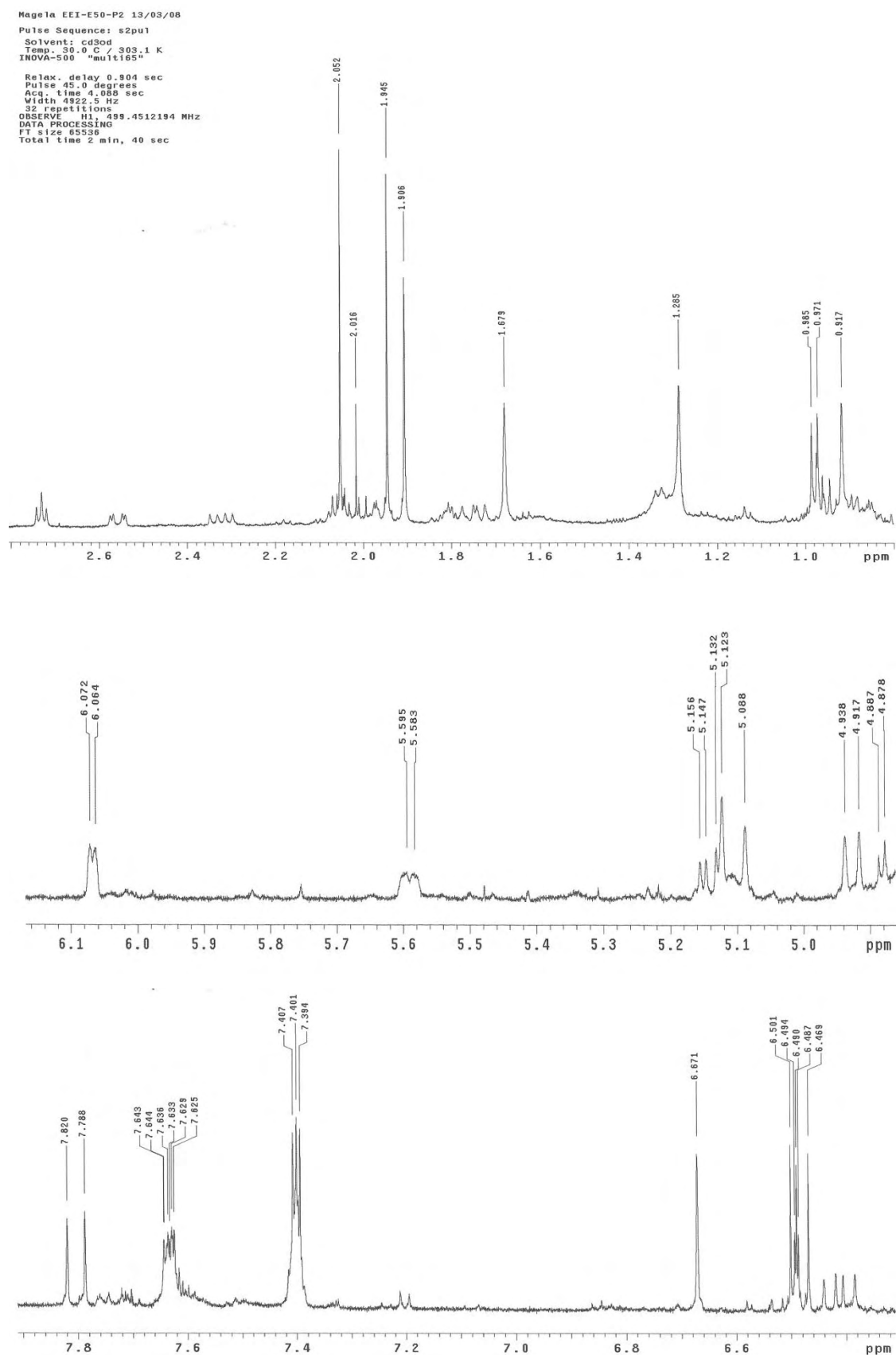


Figura 87. Expansões do espectro de RMN ^1H de **9** (500 MHz, CD_3OD).

Magela EEI-E50-P2 16/05/08
 Pulse Sequence: TOCSY
 Solvent: cd3od 303.1 K
 F1 amp. magela-EEI-E50P2_tocsy
 INOVA-500 "nmult165"
 Relax. delay 1.000 sec
 Mixing 0.100 sec
 Acq. time 0.209 sec
 F2 width 4802.0 Hz
 F1 width 4802.0 Hz
 56 repetitions
 2 x 128 increments
 OBSERVE H1: 499.4447611 MHz
 DATA PROCESSING 0.097 sec
 F2 DATA PROCESSING 0.015 sec
 Gauss apodization 0.015 sec
 FT size 2048 x 2048
 Total time 11 hr, 23 min, 29 sec

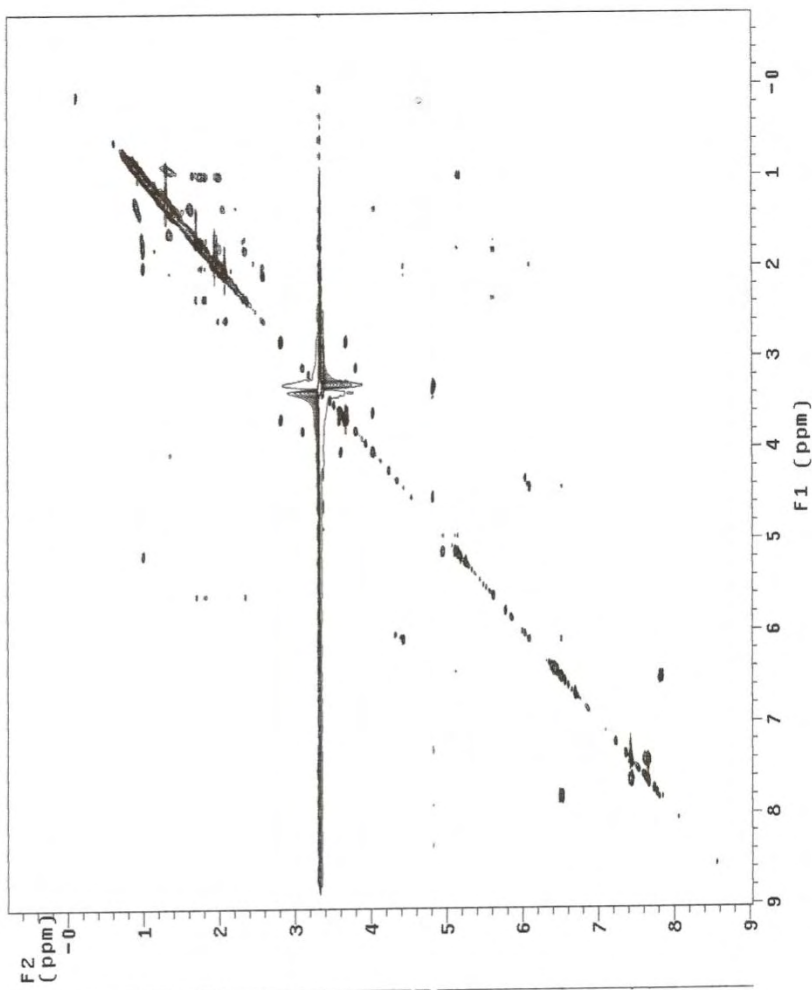


Figura 88. Mapa de contornos TOCSY 2D de **9** (500 MHz, CD₃OD).

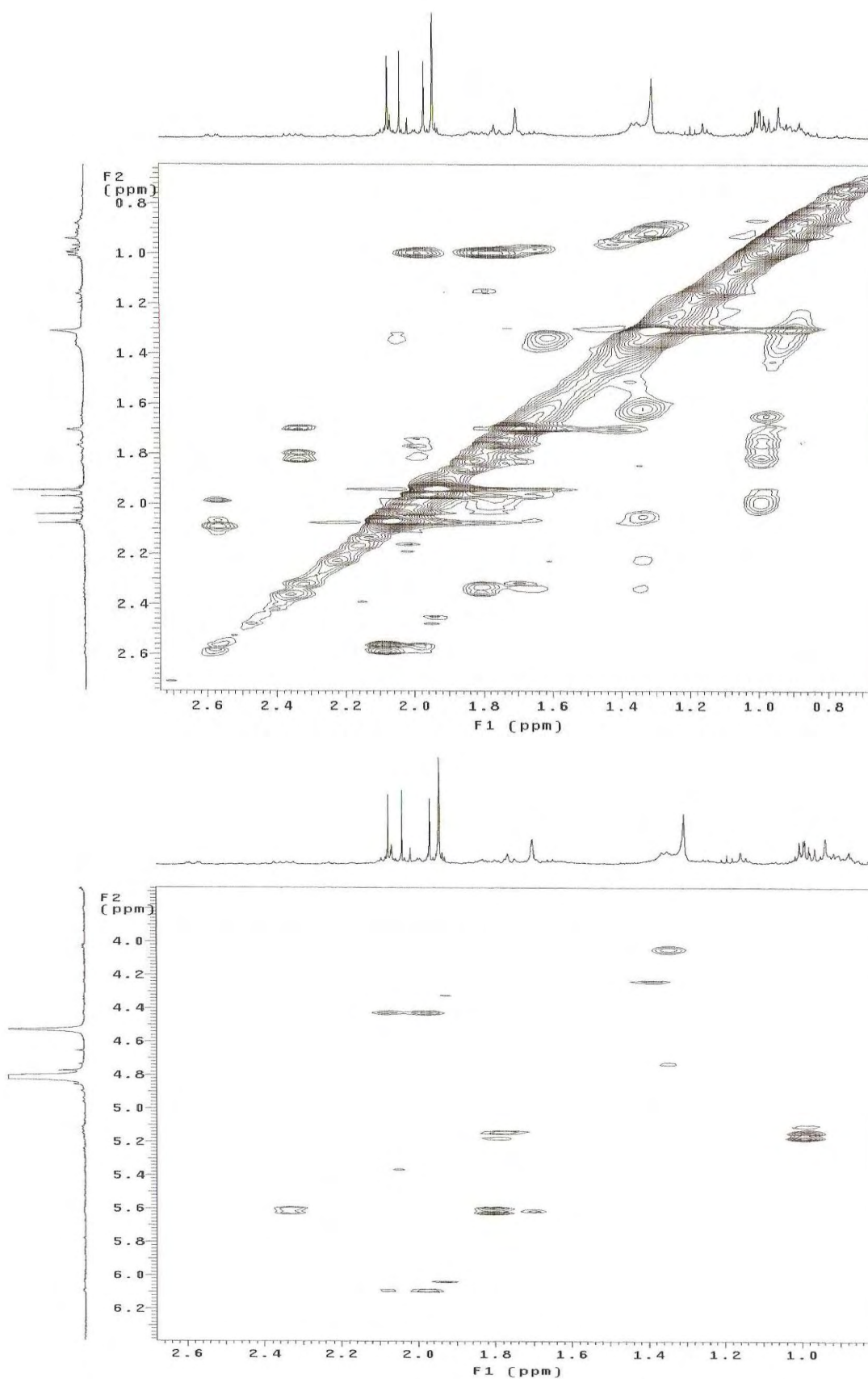


Figura 89. Expansões do mapa de contornos TOCSY 2D de **9** (500 MHz, CD₃OD).

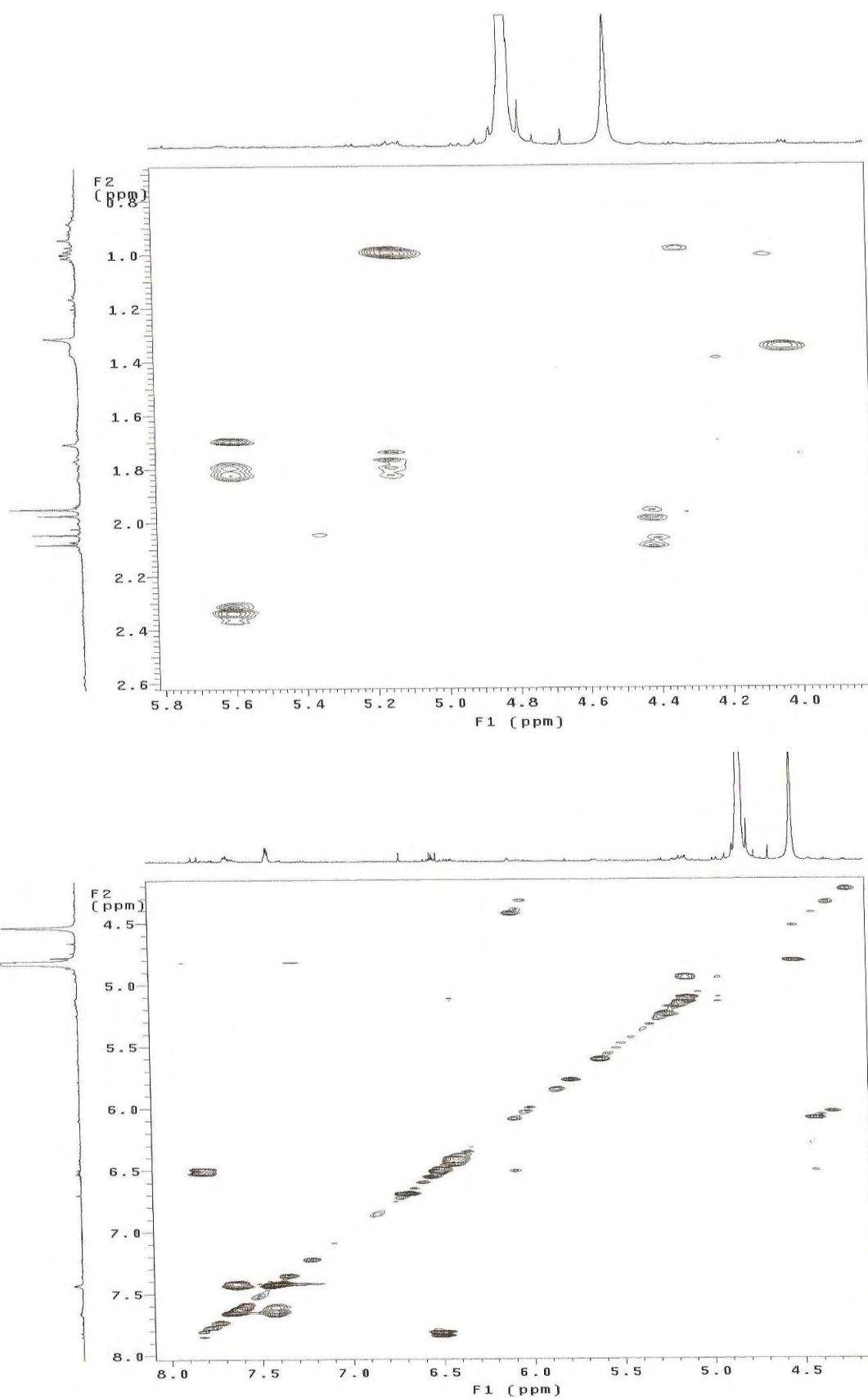


Figura 90. Expansões do mapa de contornos TOCSY 2D de **9** (500 MHz, CD₃OD).

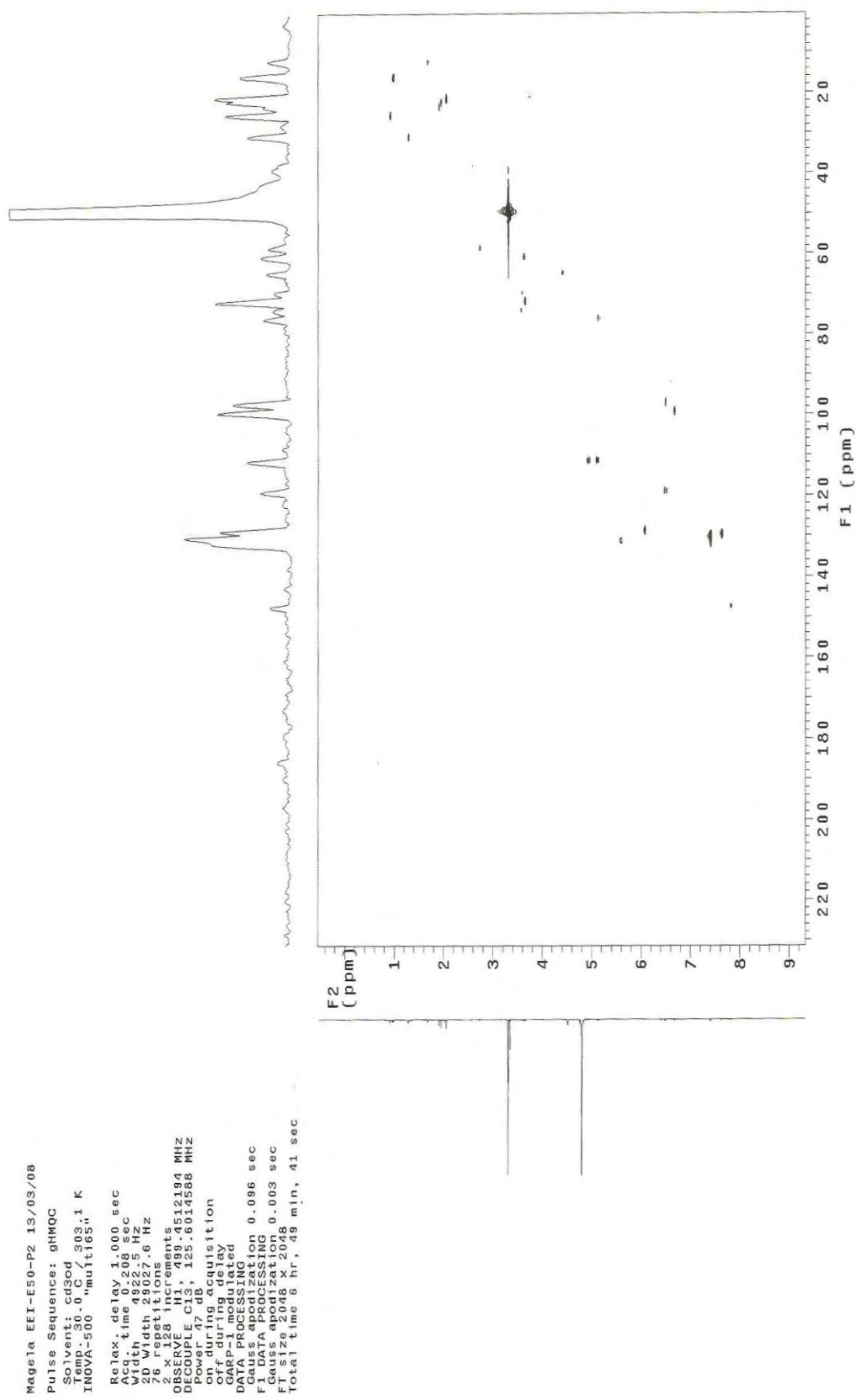


Figura 91. Mapa de contornos gHMQC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

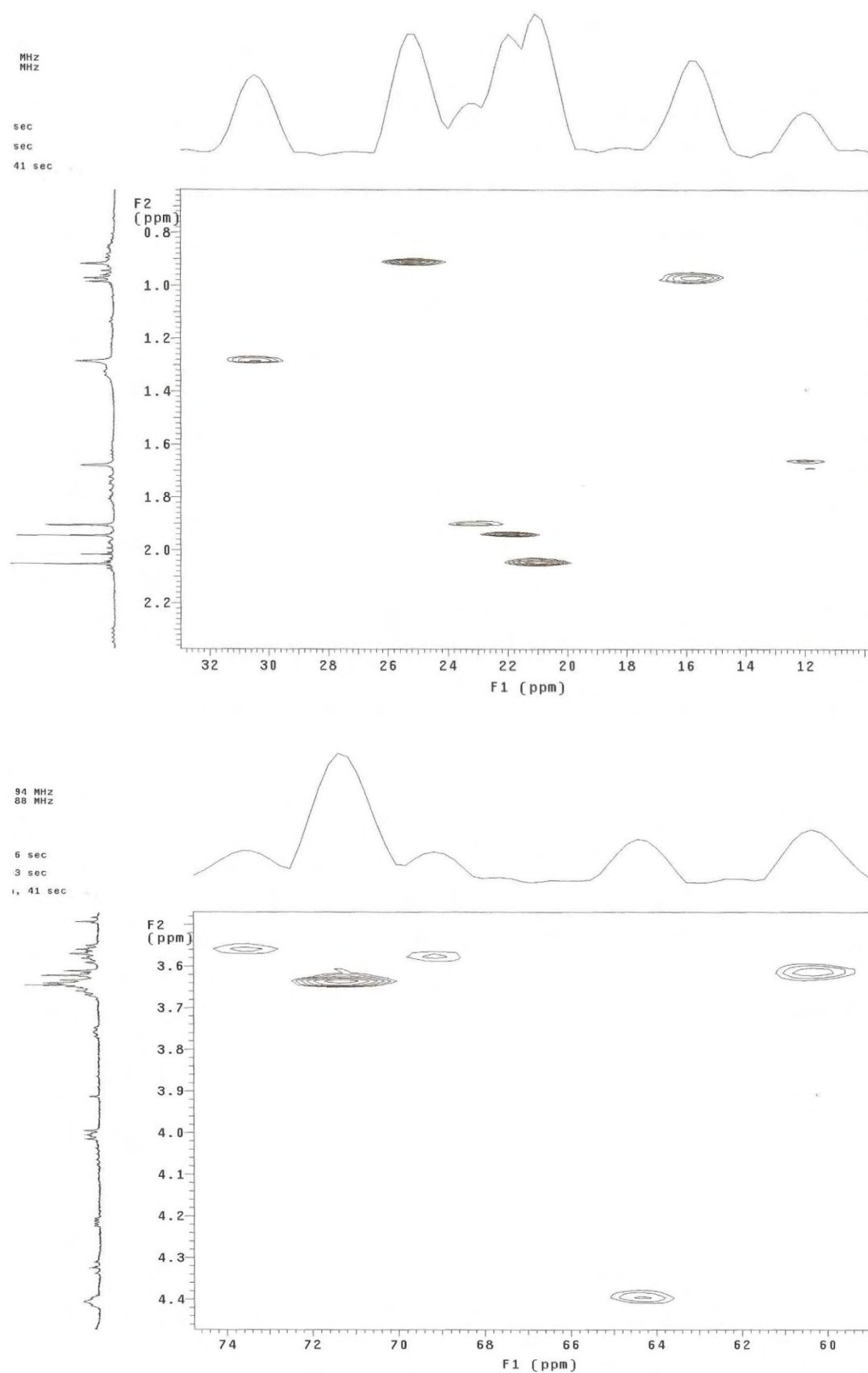


Figura 92. Expansão do mapa de contornos gHMQC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

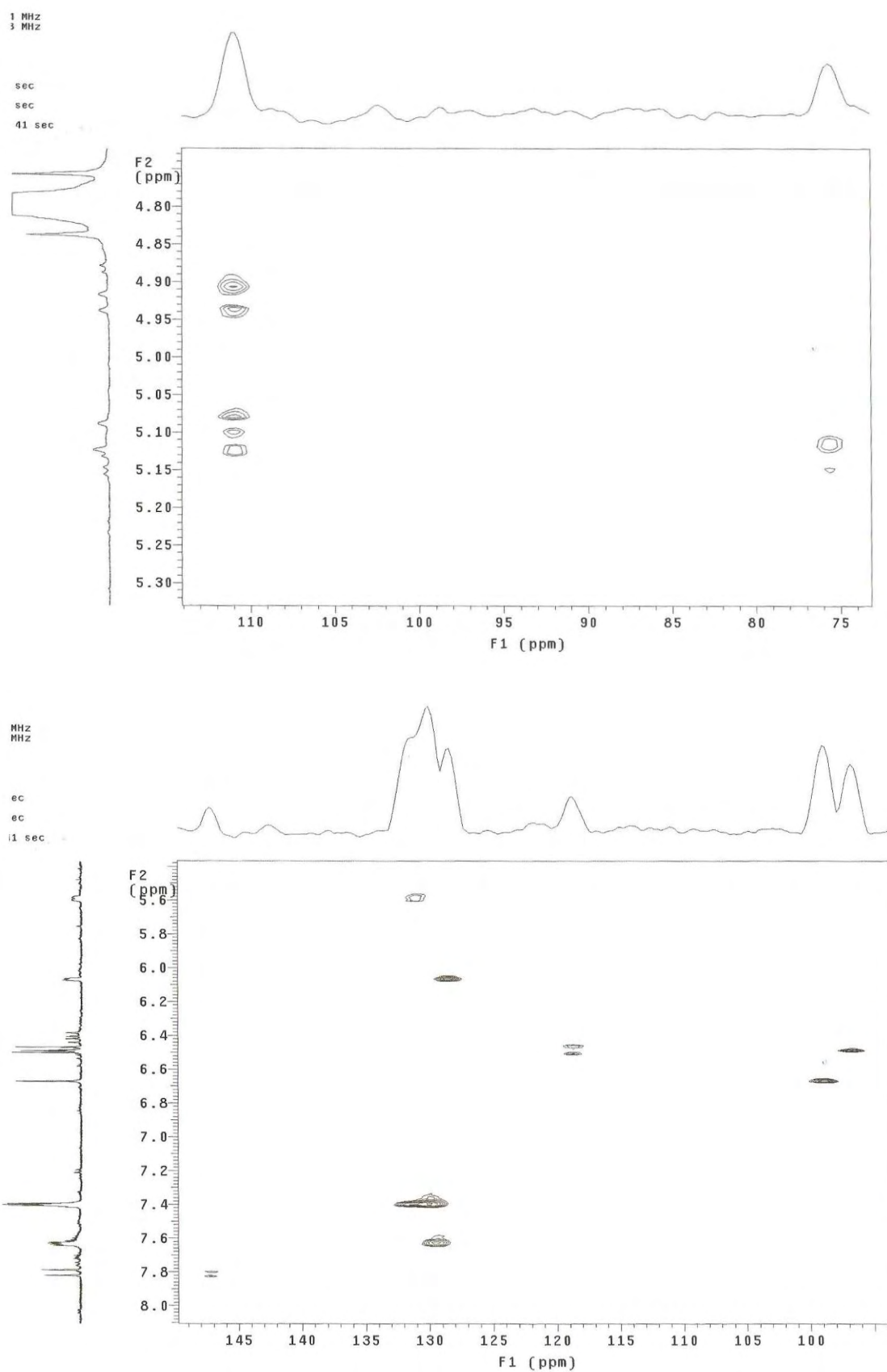


Figura 93. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

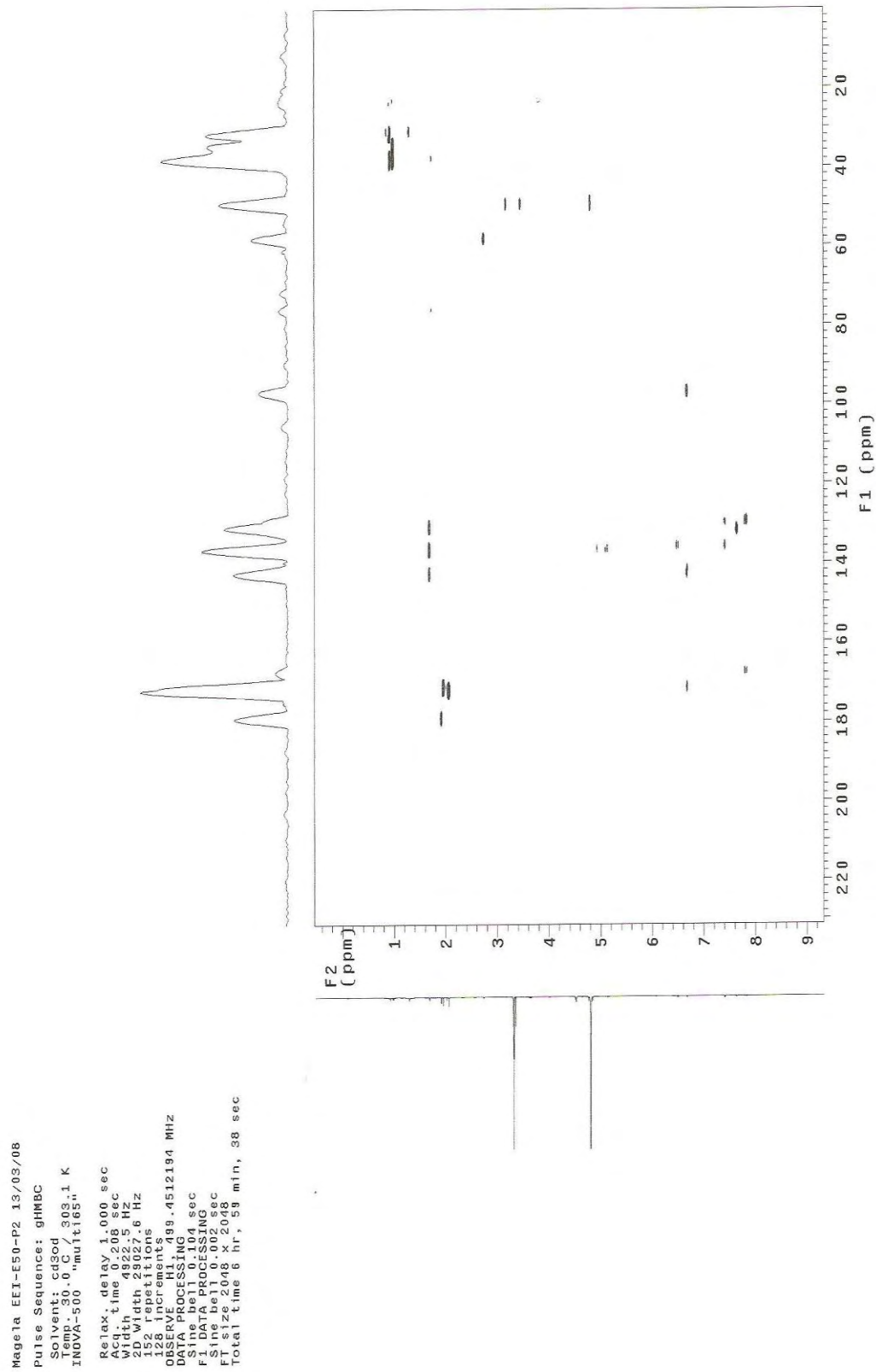


Figura 94. Mapa de contornos gHMBC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

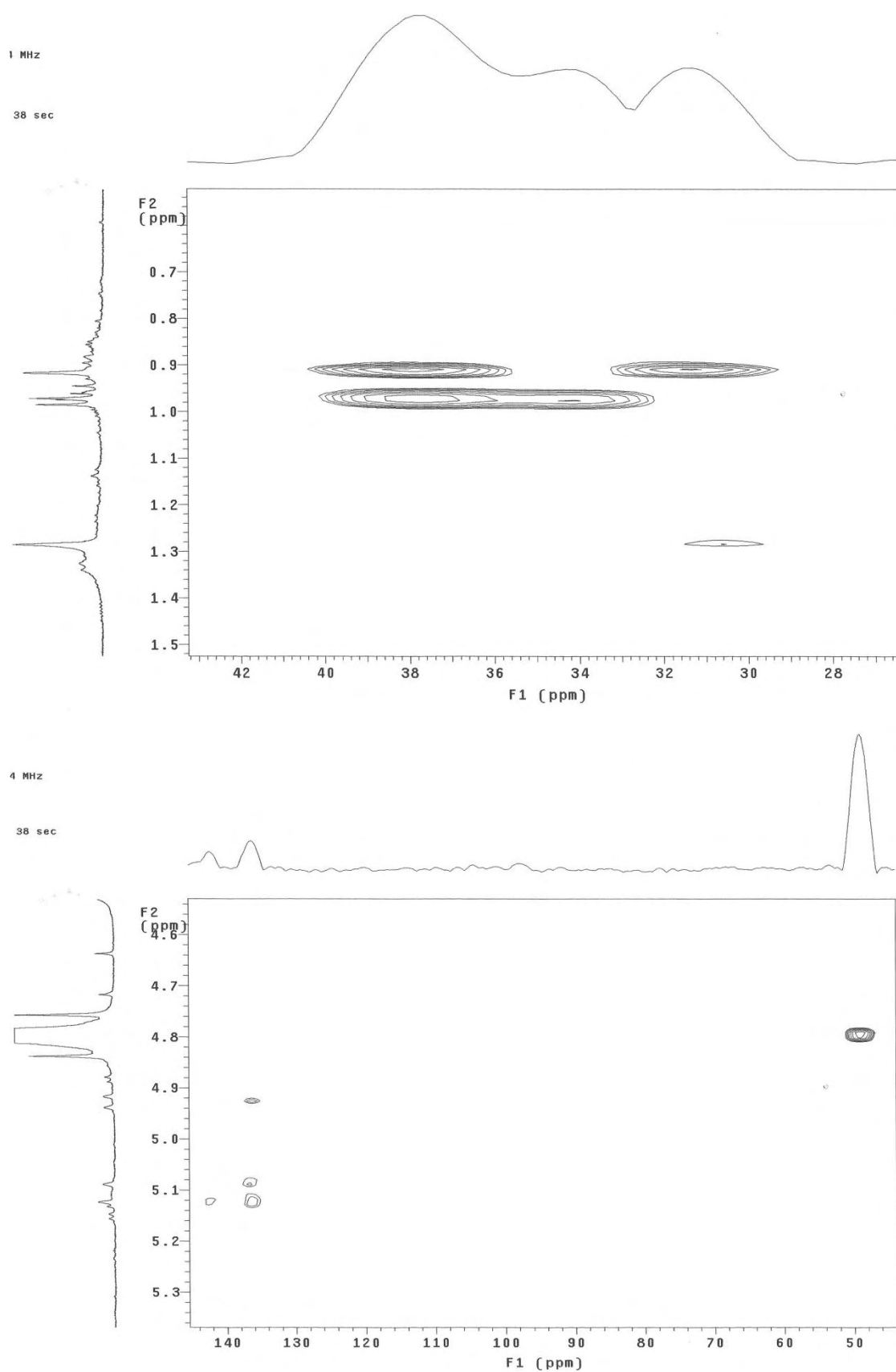


Figura 95. Expansão do mapa de contornos gHMBC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

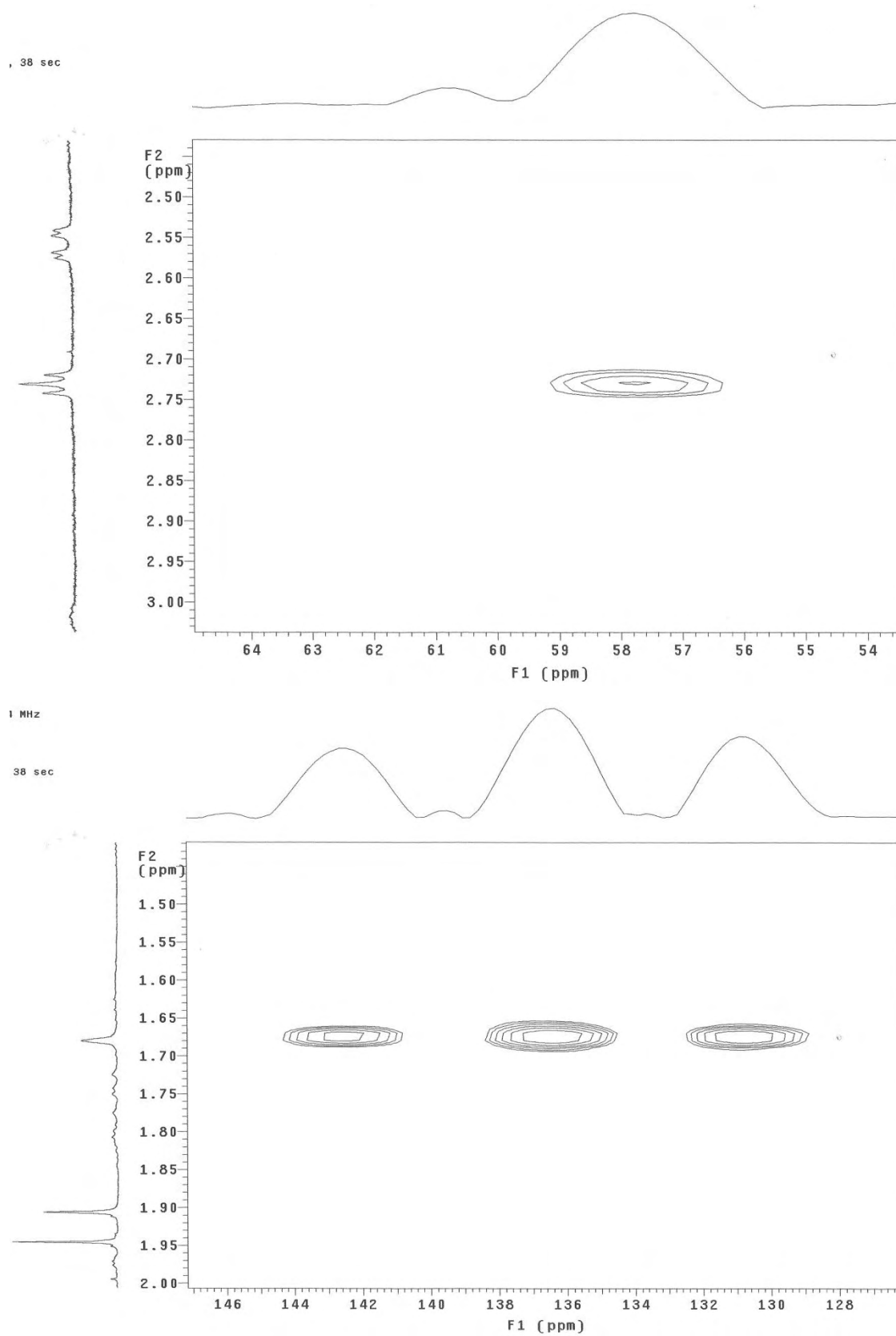


Figura 96. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

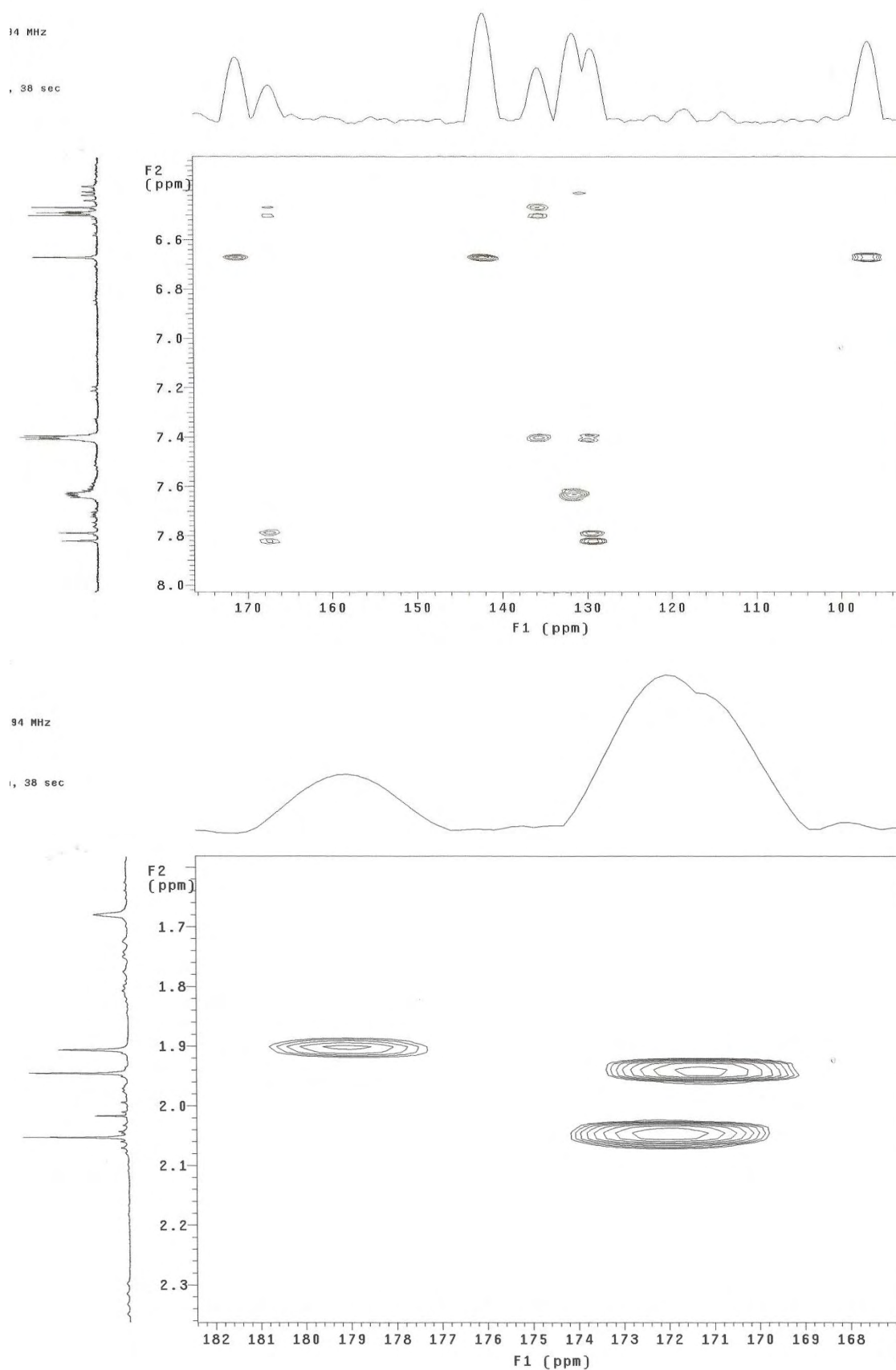


Figura 97. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **9** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

Magela EEI-E50-P2 16/05/08
 Pulse Sequence: NOESY
 Solvent: cd3od 303.1 K
 Temp: 30.0 °C
 File: magela_EEI-E50-P2_noesy
 INOVA-500 "mult165"
 Relax. delay 1.000 sec
 Mixing 1.000 sec
 Acquisition time 3.000 sec
 Width 4802.0 Hz
 2D Width 4802.0 Hz
 48 repetitions
 2 x 128 increments
 2 x 128 increments
 DATA PROCESSING 99.447611 MHz
 Gauss apodization 0.097 sec
 F1 DATA PROCESSING 0.016 sec
 Gauss apodization 0.016 sec
 F1 F2 2048
 Total time 7 hr, 39 min, 1 sec

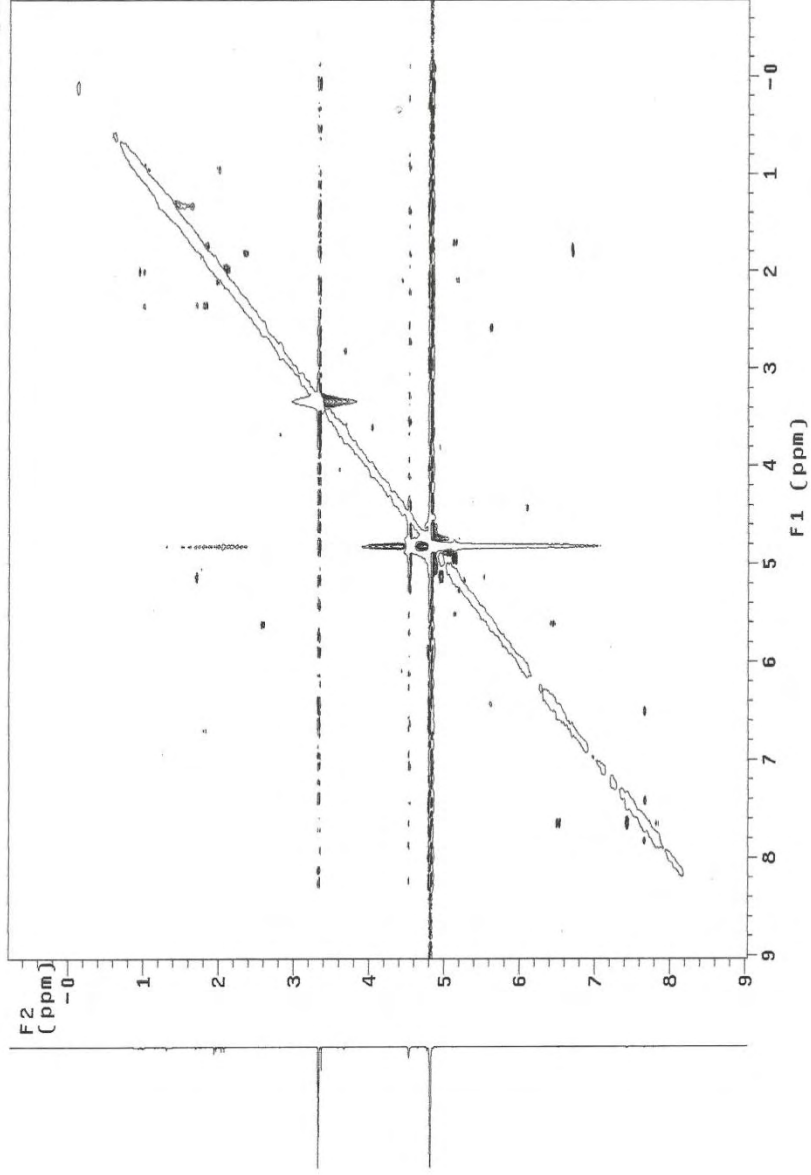


Figura 98. Mapa de contornos NOESY 2D de **9** (500 MHz, CD₃OD).

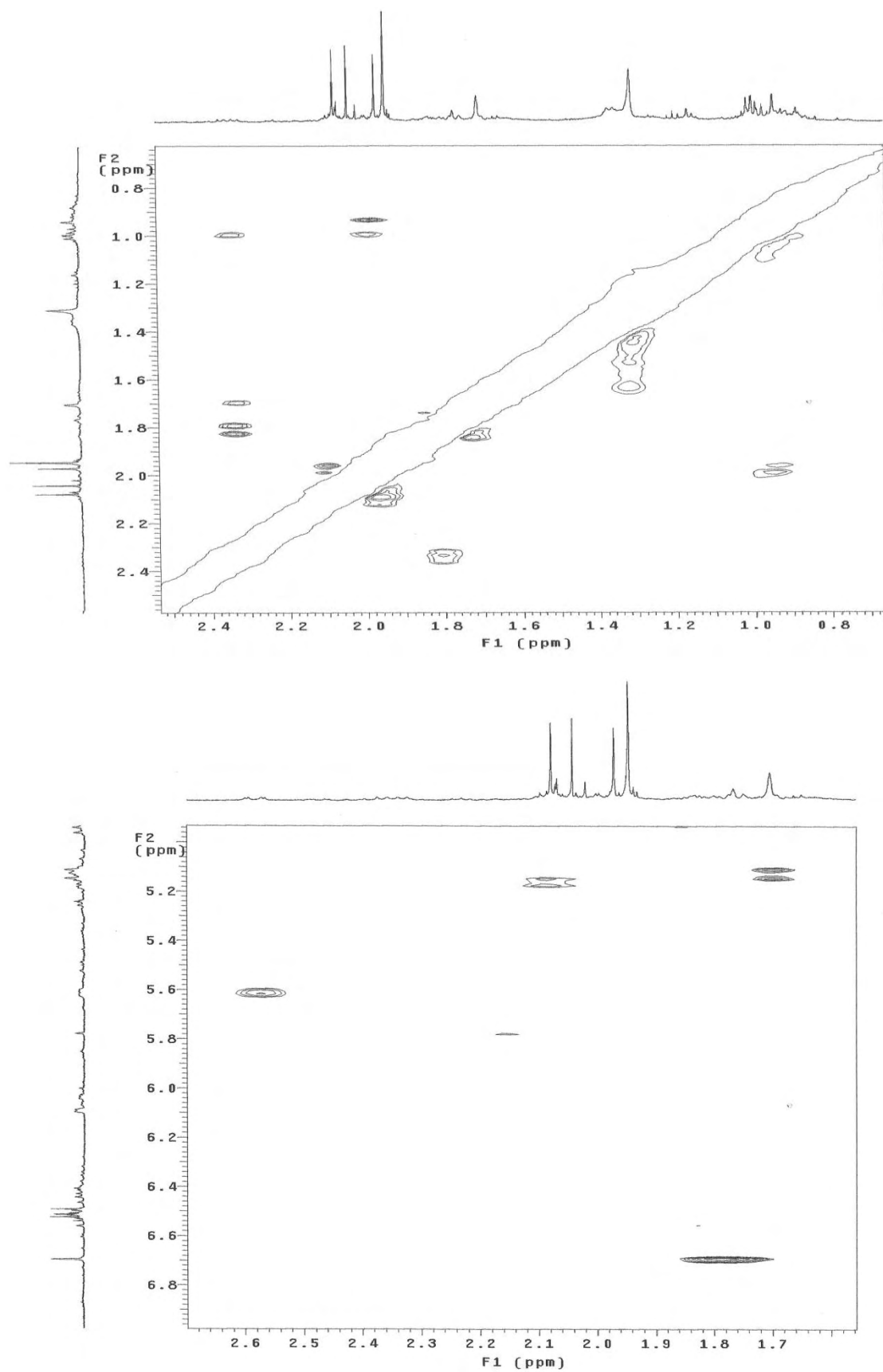


Figura 99. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de **9** (500 MHz, CD₃OD).

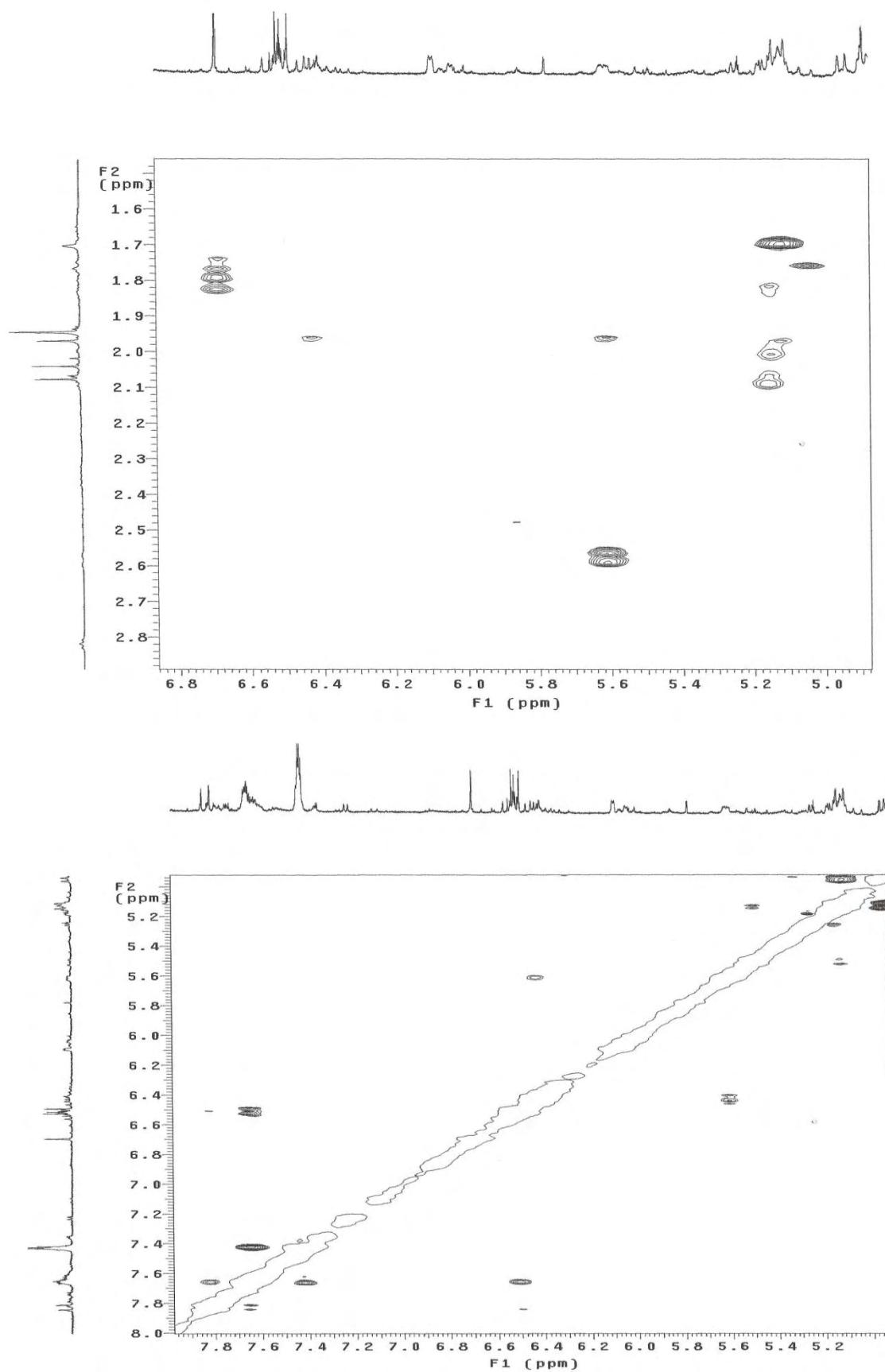
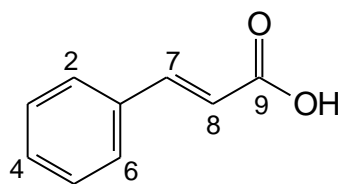


Figura 100. Expansões do mapa de contornos NOESY 2D de **9** (500 MHz, CD₃OD).

5.3.7. Ácido Cinâmico (**10**)



10

O espectro de RMN de ^1H (Figura 101) de **10** apresentou multipletos em δ 7,36 e 7,53, sugerindo a presença de um anel aromático monossustituído na molécula e dois dupletos de hidrogênios olefínicos em δ 7,48 (d, $J = 16,0$ Hz) e 6,52 (d, $J = 16,0$ Hz) que apresentam uma relação *trans* entre si, evidenciado pela alta constante de acoplamento.

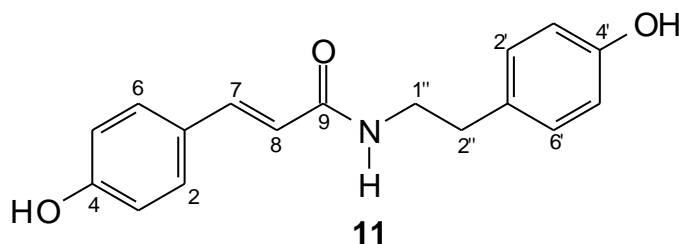
Através da análise dos espectros de RMN de ^{13}C , *g*COSY e *g*HMBC (Figura 102, Tabela 16) foi possível atribuir os deslocamentos químicos dos carbonos e seus respectivos hidrogênios sendo possível identificar a substância **10** como sendo o ácido cinâmico, confirmado pelo espectro de massas que apresentou pico da molécula desprotonada com m/z 147,0451 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calculado para $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2$: m/z 147,0451).

TABELA 16. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **10**, incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos *g*COSY e *g*HMBC, em CD_3OD^a .

C e H	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	<i>g</i> COSY	<i>g</i> HMBC
1	137,0	-	-	H-5; H-6; H-7
2	129,7	7,53 m	-	-
3	128,6	7,36 m	H-4	-
4	130,2	7,36 m	H-3	-
5	128,6	7,36 m	-	-
6	129,7	7,53 m	-	-
7	141,9	7,48 d (16,0)	H-8	H-2; H-6
8	124,0	6,52 d (16,0)	H-7	H-7
9	174,4	-	-	H-7

^aDeslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz

5.3.8. N-*trans*-*p*-Cumaroiltiramina (**11**)



O espectro de RMN de ^1H (Figuras 104-105) de **11** apresentou sinais referentes a hidrogênios olefínicos em δ 6,39 (d, $J = 15,5$ Hz; H-8) e δ 7,45 (d, $J = 15,5$ Hz; H-7), indicando a presença de hidrogênios com relação *trans* em sistema insaturado, devido à alta constante de acoplamento de 15,5 Hz. A região aromática apresentou dois sinais em δ 6,80 (d, $J = 7,0$ Hz; H-3 e H-5) e δ 7,41 (d, $J = 7,0$ Hz; H-2 e H-6) com integração correspondente a dois hidrogênios e constantes de acoplamento ($J = 7,0$ Hz) indicando a presença de hidrogênios em relação *orto*, condizentes com a existência de um anel aromático *para*-substituído. A partir do espectro *g*HMBC (Tabela 19), verificou-se que o par de sinais de hidrogênios olefínicos ligado a este anel aromático, constituindo uma unidade *p*-cumaroíla. Verifica-se também na região aromática a presença de dois sinais em δ 6,74 (d, $J = 8,5$ Hz; H-3' e H-5') e δ 7,07 (d, $J = 8,5$ Hz; H-2' e H-6') com integração correspondente a dois hidrogênios e constantes de acoplamento ($J = 8,5$ Hz) indicando a presença de hidrogênios em relação *orto*, condizentes com a existência de um segundo anel aromático *para*-substituído, o qual através do espectro *g*HMBC (Tabela 19) verificou-se estar correlacionando com sinais de hidrogênios alifáticos em δ 2,77 (t, $J = 7,5$ Hz; H-2'') e 3,47 (t, $J = 7,5$ Hz; H-1'').

O espectro de RMN de ^{13}C (Figuras 106-107, Tabela 17) apresentou 17 sinais de carbonos, 12 referentes a carbonos aromáticos e 5 devido às cadeias alifática, insaturada e a carbonila. Estes deslocamentos químicos de **11** mostraram-se consistentes com os dados relatados na literatura para a amida N-*trans*-*p*-cumaroiltiramina, a qual apresenta atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase (KIM e LEE, 2003).

As correlações observadas nos mapas de contorno *g*COSY, *g*HMQC e *g*HMBC (Tabela 17, Figuras 103 e 108) permitiram a atribuição inequívoca dos carbonos e seus respectivos hidrogênios. O espectro de massas de alta resolução

no modo negativo apresentou pico relativo ao íon $[M-H]^-$ em m/z 282,1135 (calculado para $C_{17}H_{16}NO_3$ m/z 282,1135) confirmando a presença de um número ímpar de átomos de nitrogênios na molécula.

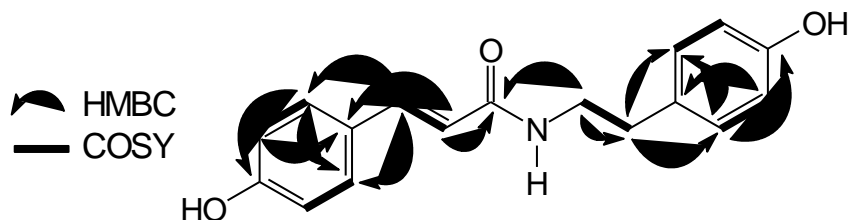


Figura 103. Principais correlações observadas pelos experimentos g COSY (1H - 1H) e g HMBC ($^1H \rightarrow ^{13}C$) para **11**.

TABELA 17. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **11**, incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos, gHMQC e gHMBC, em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz.

C e H	gHMQC $^1J_{\text{CH}}$				gHMBC $^nJ_{\text{CH}}$	
	N- <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroliltiramina (KIM e LEE, 2003) ^a	δ_{C} de 11	δ_{H} de 11	N- <i>trans</i> - <i>p</i> -cumaroliltiramina (KIM e LEE, 2003) ^a	$^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$	
1	127,6	127,7	-	-	H-3; H-5; H-8	
2	130,6	130,5	7,41 d (7,0)	7,30 d (8,8)	H-6; H-7	
3	116,3	116,7	6,80 d (7,0)	6,68 d (8,8)	-	
4	160,6	160,5	-	-	H-2; H-6	
5	116,3	116,7	6,80 d (7,0)	6,68 d (8,8)	-	
6	130,6	130,5	7,41 d (7,0)	7,30 d (8,8)	H-2; H-7	
7	141,8	141,7	7,45 d (15,5)	7,34 d (15,6)	H-2; H-6	
8	118,3	118,4	6,39 d (15,5)	6,28 d (15,6)	-	
9	169,2	169,2	-	-	H-7; H-8; H-1''	
1''	42,6	42,5	3,47 t (7,5)	3,36 t (7,5)	H-2''	
2''	35,8	35,8	2,77 t (7,5)	2,65 t (7,5)	H-1''; H-2'; H-6'	
1'	131,3	131,0	-	-	H-3'; H-5'; H1''	
2'	130,7	130,7	7,07 d (8,5)	6,95 d (8,4)	H-6'; H-2''	
3'	116,7	116,2	6,74 d (8,5)	6,62 d (8,4)	-	
4'	156,9	156,9	-	-	H-2'; H-6'	
5'	116,7	116,2	6,74 dd (1,5 e 8,5)	6,62 d (8,4)	-	
6'	130,7	130,7	7,07 d (8,5)	6,95 d (8,4)	H-2'; H-2''	

^a CD_3OD

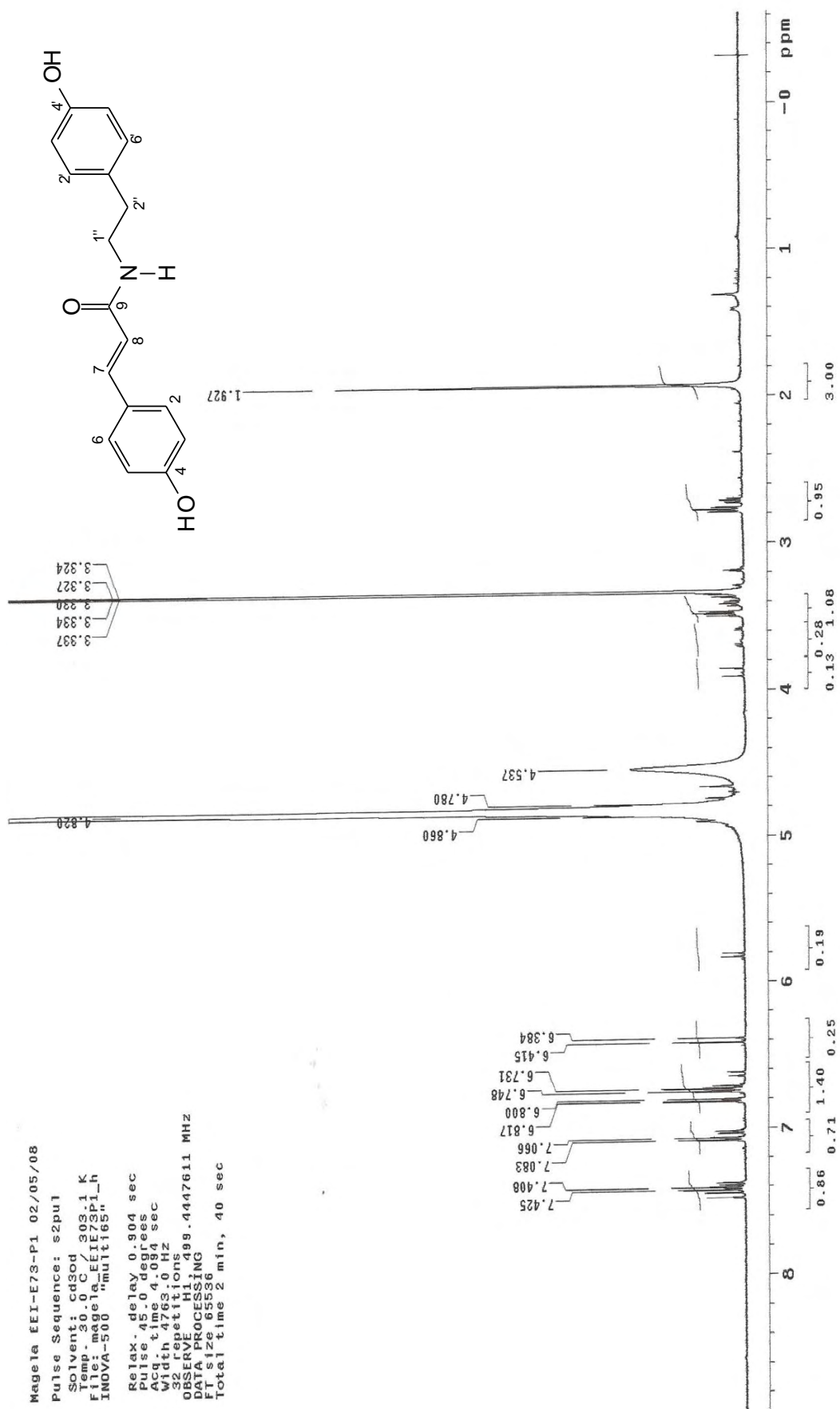


Figura 104. Espectro de RMN ^1H de **11** (500 MHz, CD_3OD).

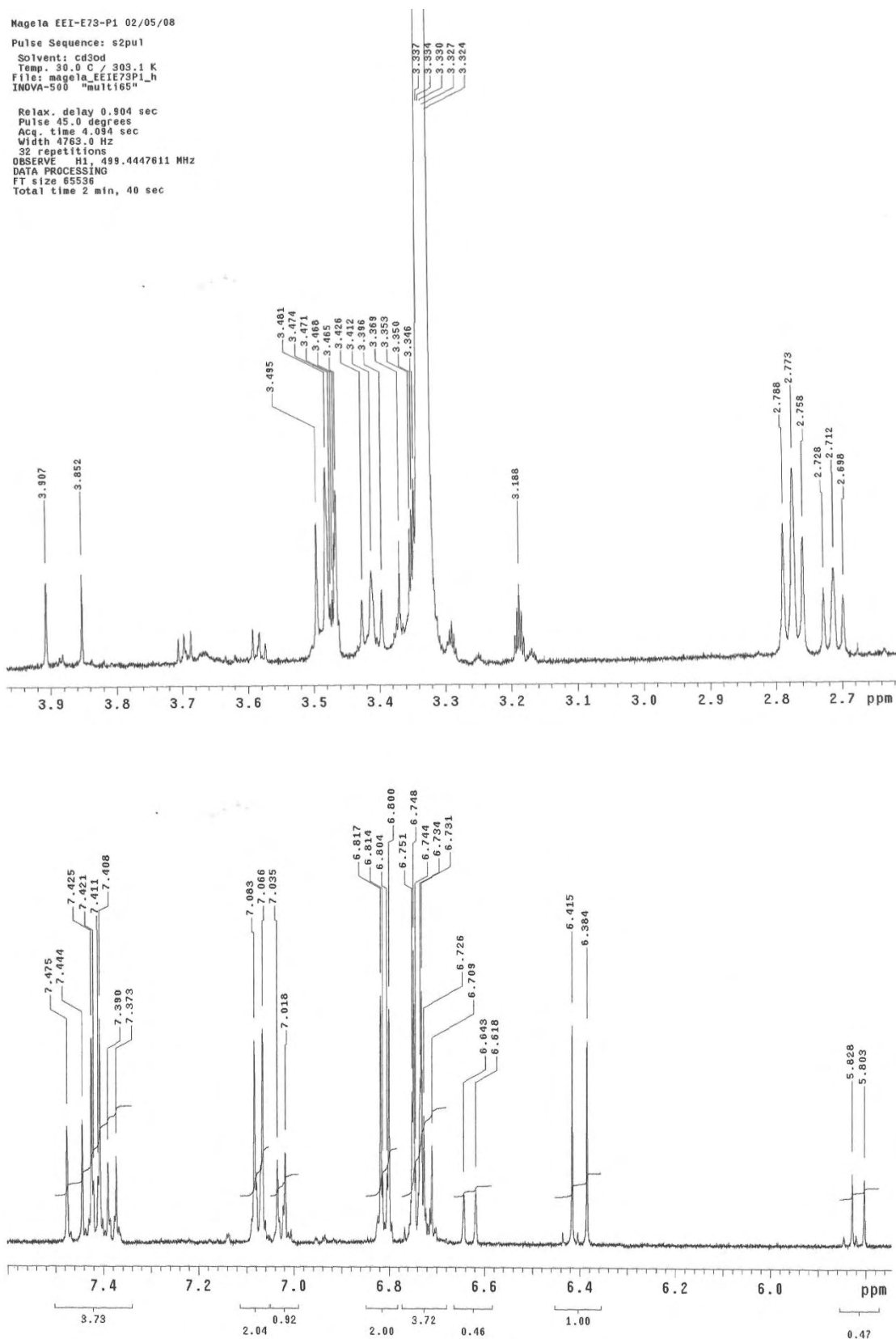


Figura 105. Expansões do espectro de RMN ^1H de **11** (500 MHz, CD_3OD).

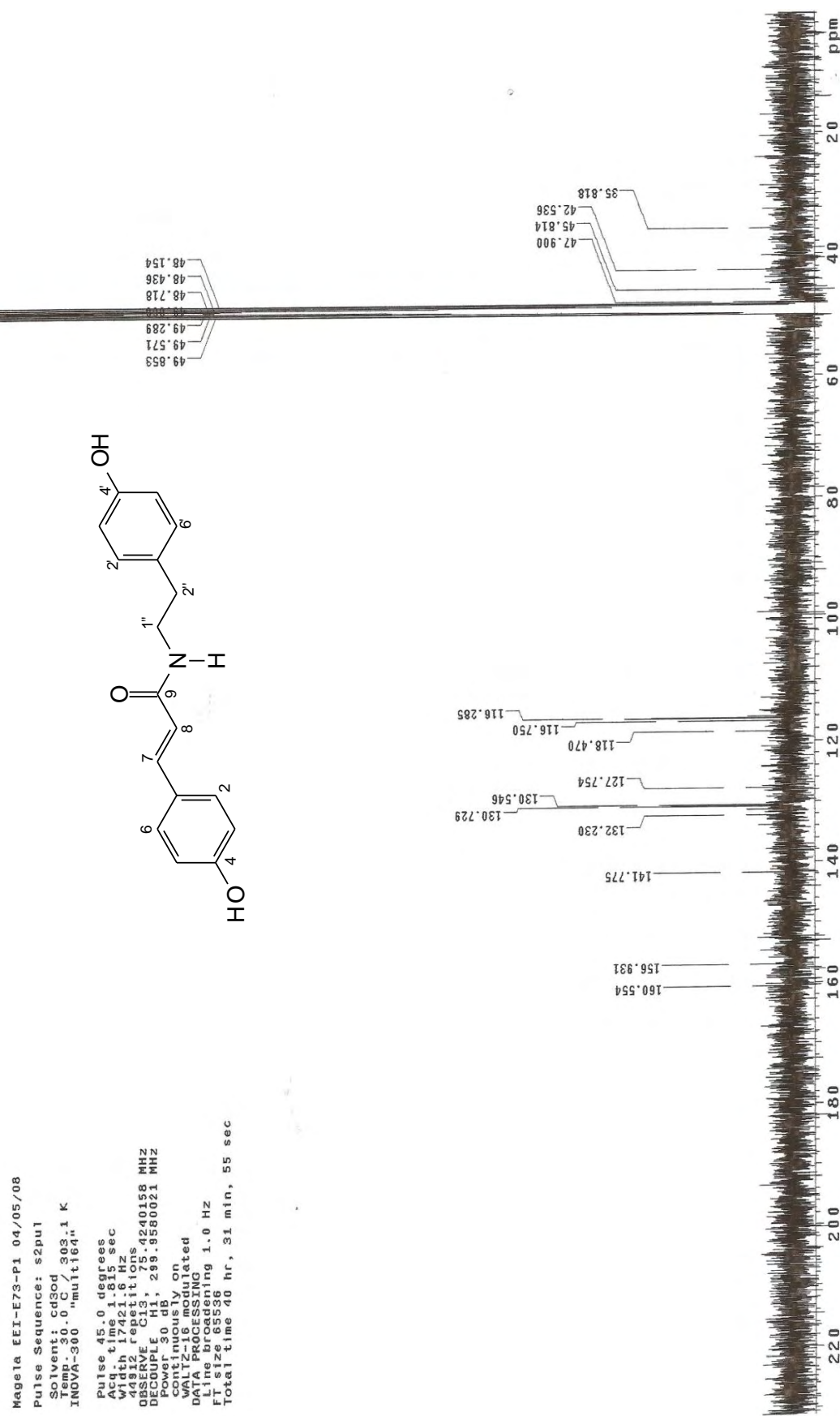


Figura 106. Espectro de RMN ¹³C de **104** (125 MHz, CD₃OD).

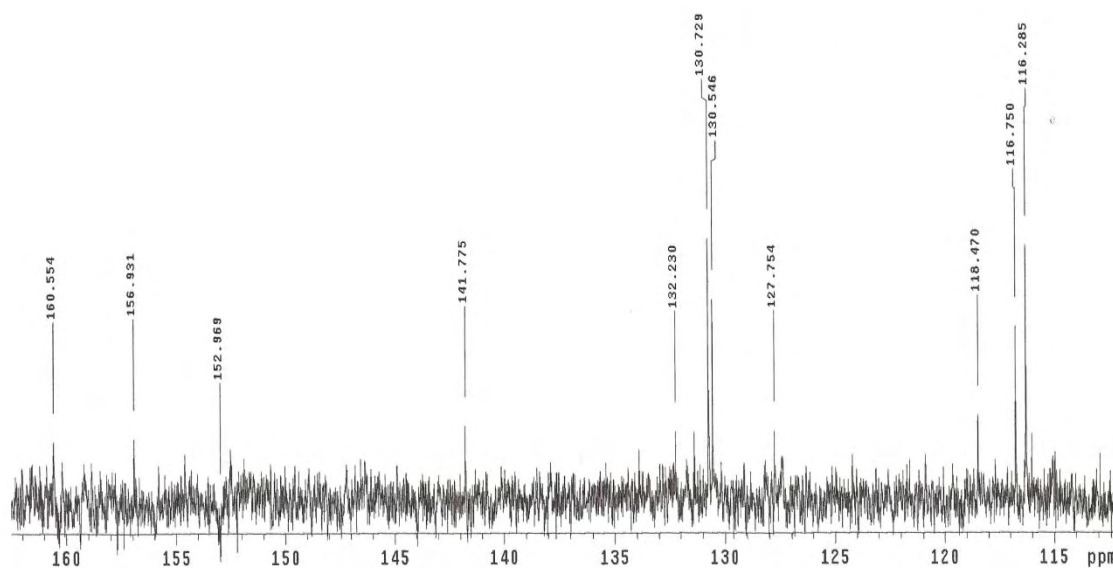


Figura 107. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de **11** (125 MHz, CD_3OD).

Magela EEI-E73-P1 02/05/08
Pulse Sequence: gHMBC
Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
File: magela_eeie73p1_ghmhc
INOVA-500 "multispec"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.215 sec
Width 4763.0 Hz
29 Width 23027.6 Hz
128 repetitions
128 increments
OBSERVE H1, 499.4447611 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.107 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.302 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 5 hr, 55 min, 23 sec

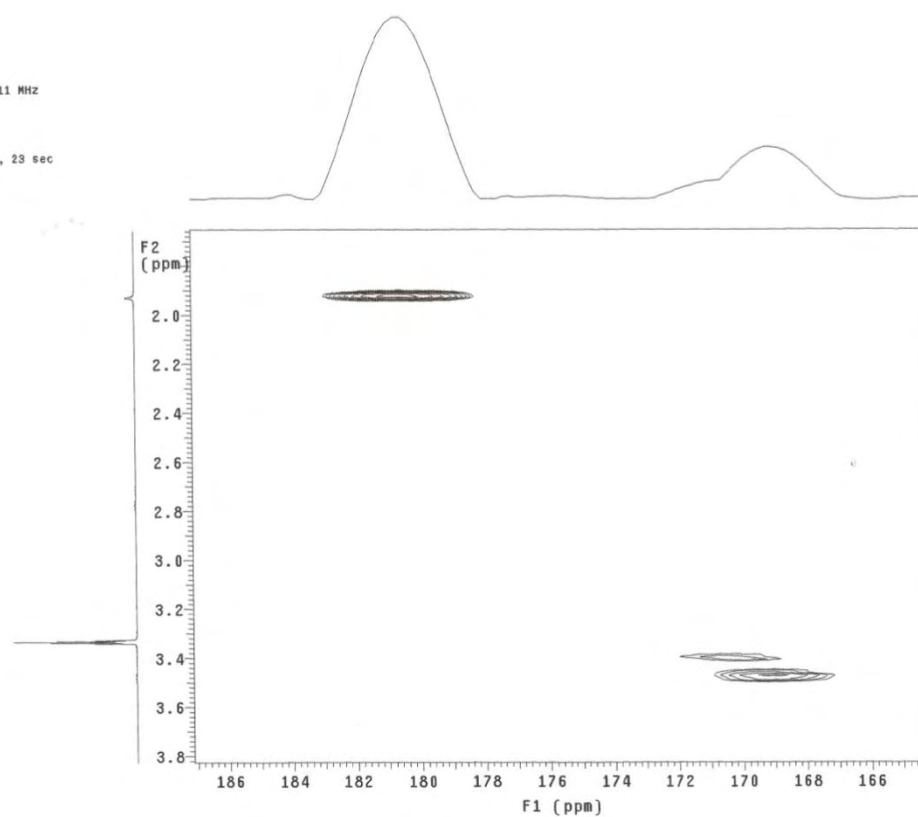
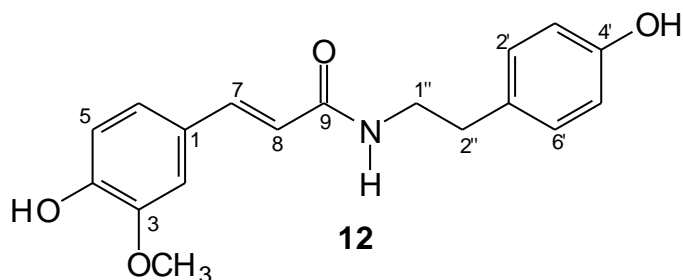


Figura 108. Expansão do mapa de contornos gHMBC de **11** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

5.3.9. N-*trans*-Feruloiltiramina (**12**)



A identificação estrutural de **12** foi feita através da análise dos espectros de massas, o qual apresentou para a molécula desprotonada $[M-H]^-$ m/z 312,1240 (calculado para $C_{18}H_{19}NO_4$ m/z 312,1241) também indicando a presença de um número ímpar de átomos de nitrogênios.

Os espectros RMN de 1H e de ^{13}C e bidimensionais de **12** (Figuras 110-112, Tabela 18) de **12** são muito semelhantes aos de **11**. A diferença básica entre os dados de **12** é a presença de uma unidade feruloíla em substituição a unidade *p*-cumaroíla presente em **11**. Esta unidade apresenta adicionalmente um grupamento metoxílico em C-3 (δ 56,4 e δ 3,90) e com isso a molécula possui um total de 18 carbonos (12 referentes aos dois anéis aromáticos e 5 referentes as cadeia alifática, insaturada e a carbonila e um referente ao grupo metoxílico). As correlações observadas nos mapas de contorno gCOSY, gHMBC e gHMBC (Tabela 18, Figura 109) permitiram a atribuição inequívoca dos carbonos e seus respectivos hidrogênios. A comparação dos dados de RMN de 1H e de ^{13}C de **12** com dados descritos na literatura (EFDI et al., 2007) mostrou tratar-se da substância N-*trans*-feruloiltiramina.

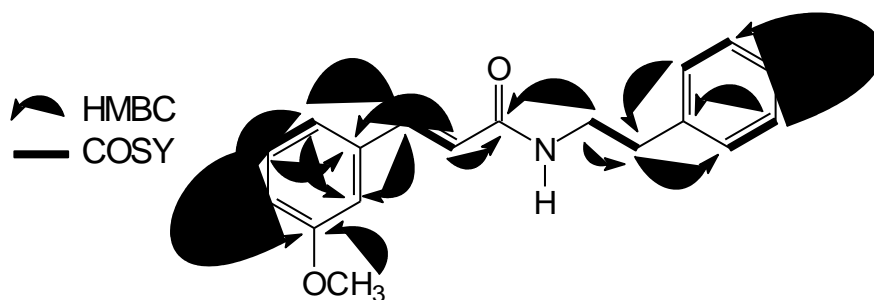


Figura 109. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (1H - 1H) e gHMBC ($^1H \rightarrow ^{13}C$) para **12**.

TABELA 18. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **12**, incluindo resultados obtidos nos mapas de contornos, gHMBC e gHMBC, em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J , entre parênteses) em Hz.

C e H	gHMBC $^1J_{\text{CH}}$			gHMBC $^nJ_{\text{CH}}$	
	N- <i>trans</i> -feruloliltramina (EFDI et al., 2007) ^a	δ_{C} de 12 (DEPT 135°)	δ_{H} de 12	N- <i>trans</i> -feruloliltramina (EFDI et al., 2007) ^a	$^2J_{\text{CH}}$ e $^3J_{\text{CH}}$
1	128,0	128,3 (C)	-	-	H-5; H-8
2	111,5	111,6 (CH)	7,13 d (2,0)	7,09 d (2,3)	H-6; H-7
3	149,4	149,3 (C)	-	-	5-OCH ₃ ; H-5
4	150,2	149,8 (C)	-	-	H-2; H-6
5	116,5	116,5 (CH)	6,81 d (8,5)	6,78 d (8,6)	-
6	123,3	123,2 (CH)	7,04 dd (2,0 e 8,5)	7,00 dd (2,3 e 8,6)	H-2; H-7
7	142,1	142,0 (CH)	7,45 d (15,5)	7,43 d (15,5)	H-2; H-6
8	118,7	118,7 (CH)	6,41 d (15,5)	6,40 d (15,5)	H-7
9	169,2	169,2 (C)	-	-	H-7; H-8; H-1''
1''	42,5	42,5 (CH ₂)	3,48 t (7,0)	3,46 t (7,2)	H-2''
2''	35,8	35,8 (CH ₂)	2,77 t (7,0)	2,75 t (7,2)	H-2'; H-6'; H-1''
1'	131,3	131,3 (C)	-	-	H-3'; H-5'; H-1''
2'	130,7	130,7 (CH)	7,07 d (8,5)	7,04 d (8,6)	H-6'; H-2''
3'	116,3	116,2 (CH)	6,74 d (8,5)	6,72 d (8,6)	H-5'
4'	156,9	156,9 (C)	-	-	H-2'; H-3'; H-5'; H-6'
5'	116,3	116,2 (CH)	6,74 d (8,5)	6,72 d (8,6)	H-5'
6'	130,7	130,7 (CH)	7,07 d (8,5)	7,04 d (8,6)	H-2'; H-2''
5-OCH ₃	56,3	56,4 (CH ₃)	3,90 s	3,86 s	-

^a CD_3OD

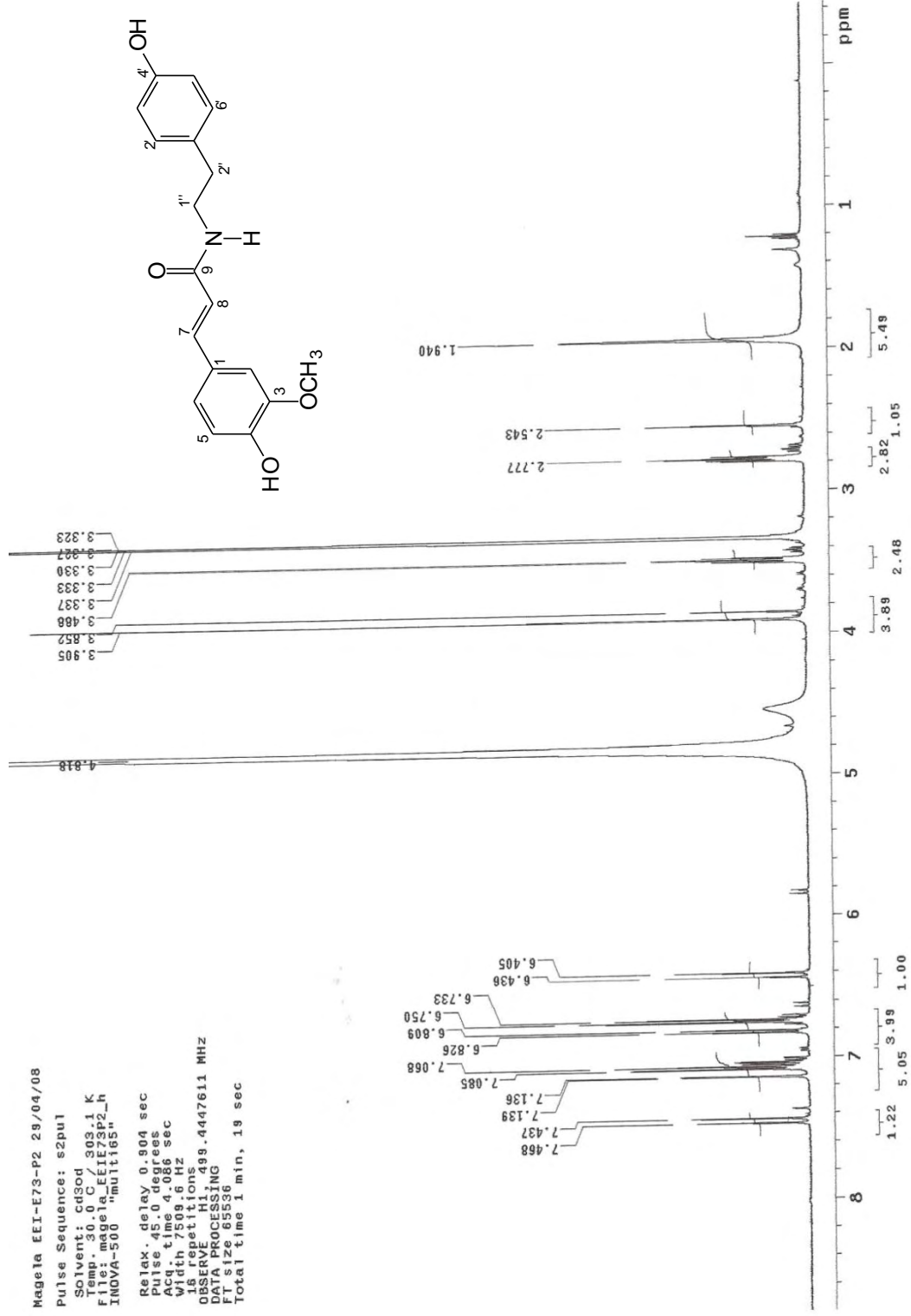


Figura 110. Espectro de RMN ^1H de **12** (500 MHz, CD_3OD).

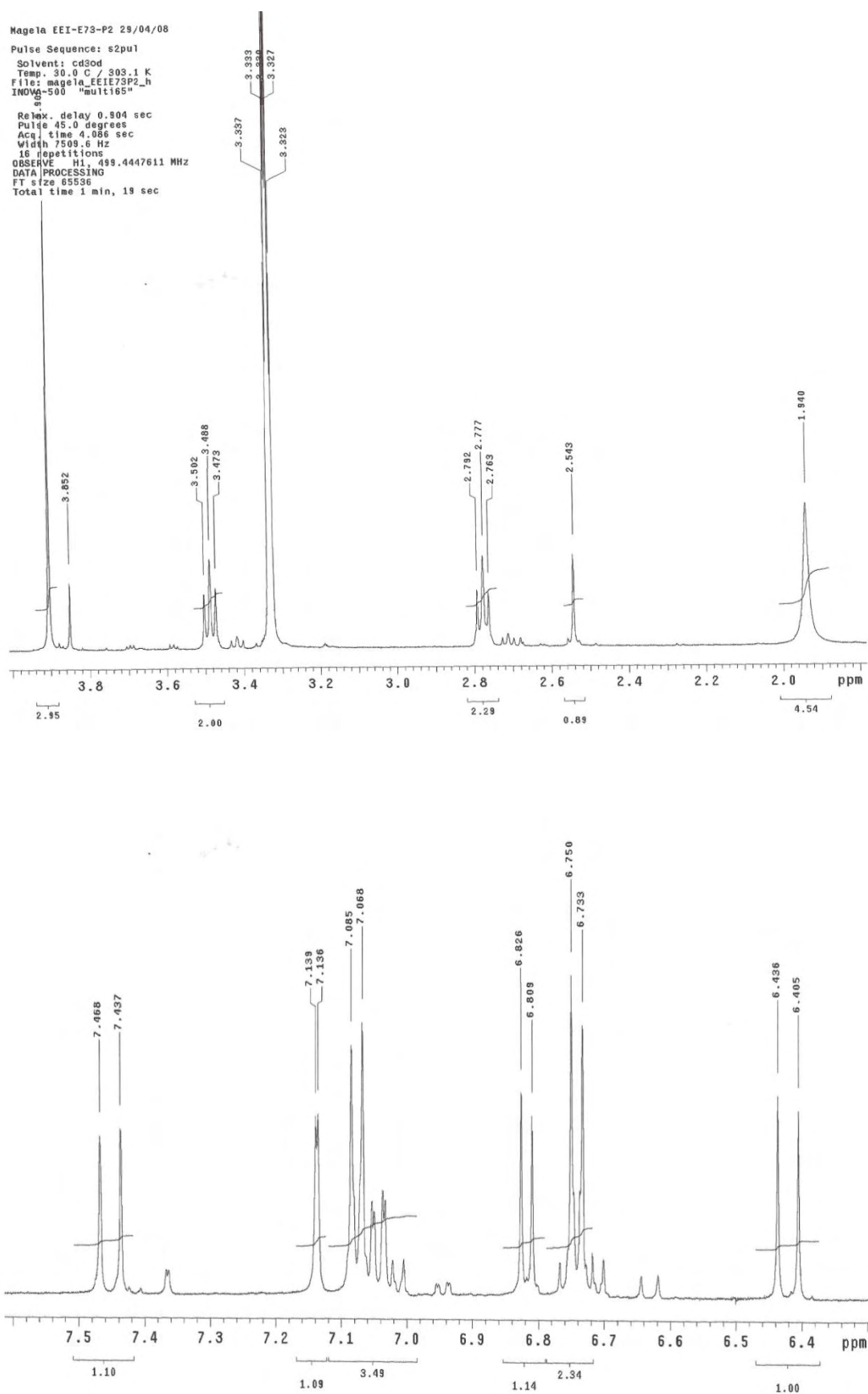


Figura 111. Expansões do espectro de RMN ^1H de **12** (500 MHz, CD_3OD).

Mageta EEI-E73-P2 30/04/08
 Pulse Sequence: s2pul1
 Solvent: cd3od
 Temp. 30.0 C / 303.1 K
 User: i-14-87 EEI-E73-P2-C
 INOVA-500 "multis165"
 Relax. delay 0.957 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.042 sec
 25672 repetitions
 OBSERVE C13, 125.5853089 MHz
 DECOUPLE H1, 499.4472584 MHz
 Power 30 dB
 Modulated by
 VAL12-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 Frequency offset 500.136 MHz
 Total time 15 hr, 59 min, 37 sec

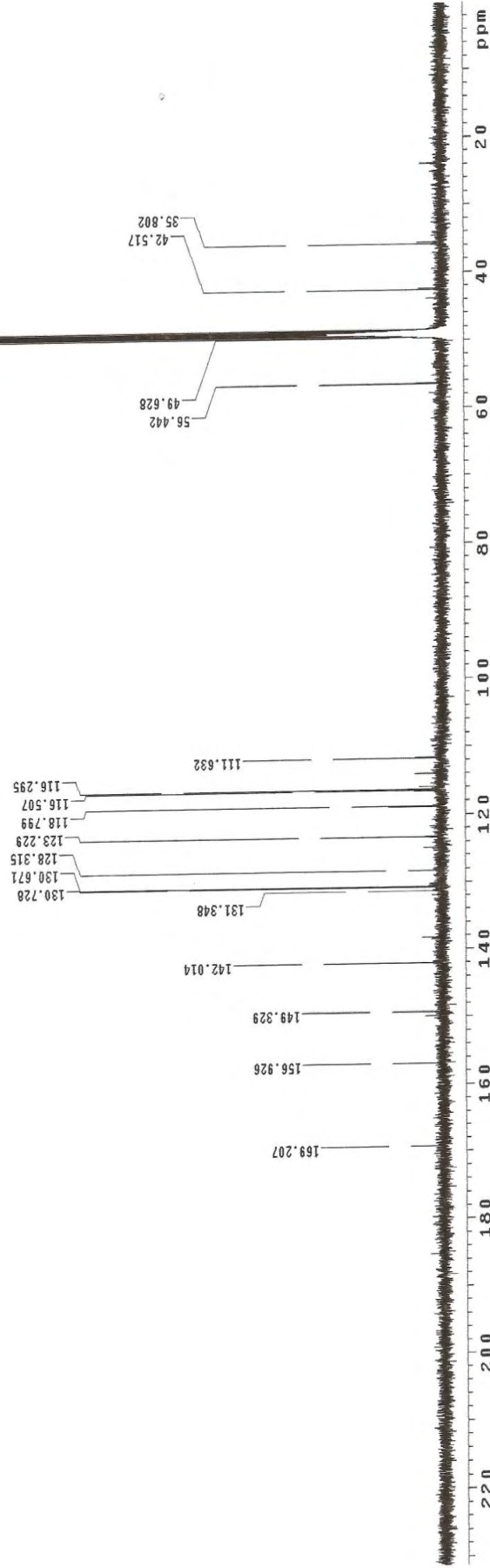
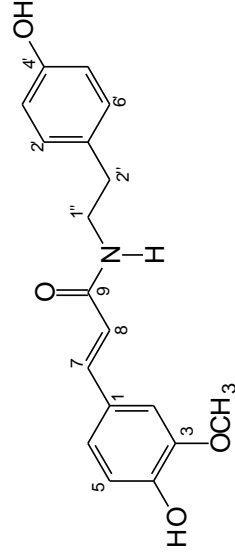


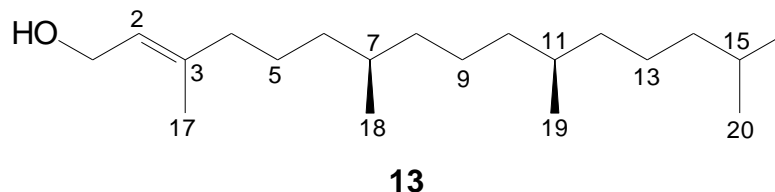
Figura 112. Espectro de RMN ^{13}C de **12** (125 MHz, CD_3OD).

5.4. *Casearia rupestris* Eichler



Fotos: Gerardo Magela Vieira Jr. e Alberto J. Cavalheiro

5.4.1. *E*-Fitol (**13**)



O espectro de RMN de ^1H de **13** (Figura 113) mostrou sinais em uma região característica de substância pertencente a classe dos terpenos δ 0,8-1,6, adicionalmente apresentou na região olefínica um sinal em δ 5,34 (1H, tq, $J = 2,5$ Hz) referente a H-2 e um duplo duplete em δ 4,08 (2H, $J = 1,0$ e 11,0 Hz, H-1).

O espectro de RMN ^{13}C (Figura 114) apresentou 20 sinais, sendo os sinais em δ 59,4 (C-1) atribuído ao carbono carbinólico e o par de sinais δ 123,1 e 140,3 (C-2 e C-3) referentes aos carbonos olefínicos. A análise conjunta com o espectro DEPT 135° (Figura 115, Tabela 19) possibilitou a identificação de cinco carbonos metílicos, dez metilênicos, quatro metínicos e um não hydrogenado. A comparação destes dados com os disponíveis na literatura (RAHMAN; AHMAD, 1992) permitiu identificar a substância **13** como sendo o diterpeno *E*-fitol isolado do extrato etanólico. O *E*-fitol também foi isolado do extrato hexânico em mistura com o sitosterol (**4**+**13** – 362,0 mg). O *E*-fitol é dextrorrotatório, com $[\alpha]_D^{25} = + 12^\circ$ (c 0,1; CHCl_3).

O espectro de massas de alta resolução (HRTOF-ESIMS) apresentou pico relativo ao íon m/z 319,2973 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ que é consistente com o valor de 319,2971, calculado com base na fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}$ para o íon da molécula cationizada.

TABELA 19. Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz) da substância **13**.

C	DEPT 135° de 13	δ (ppm)	
		<i>E</i> -Fitol (RAHMAN; AHMAD, 1992) ^a	13
1	CH ₂	59,4	59,4
2	CH	123,4	123,1
3	C	139,9	140,3
4	CH ₂	39,9	39,8
5	CH ₂	25,3	25,1
6	CH ₂	36,8	36,6
7	CH	32,8	32,6
8	CH ₂	37,5	37,4
9	CH ₂	24,6	24,6
10	CH ₂	37,5	37,3
11	CH	32,9	32,7
12	CH ₂	37,4	37,2
13	CH ₂	24,8	24,7
14	CH ₂	39,5	39,3
15	CH	28,0	27,9
16	CH ₃	22,7	22,6
17	CH ₃	16,2	16,1
18	CH ₃	19,8	19,7
19	CH ₃	19,8	19,7
20	CH ₃	22,6	22,6

^a CDCl_3

Magela Cell-FH 47-6 08/09/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: CDCl₃

Temp: 30.0 C / 303.1 K

INNOVA-300 "mult164"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 3.744 sec

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

32 data points

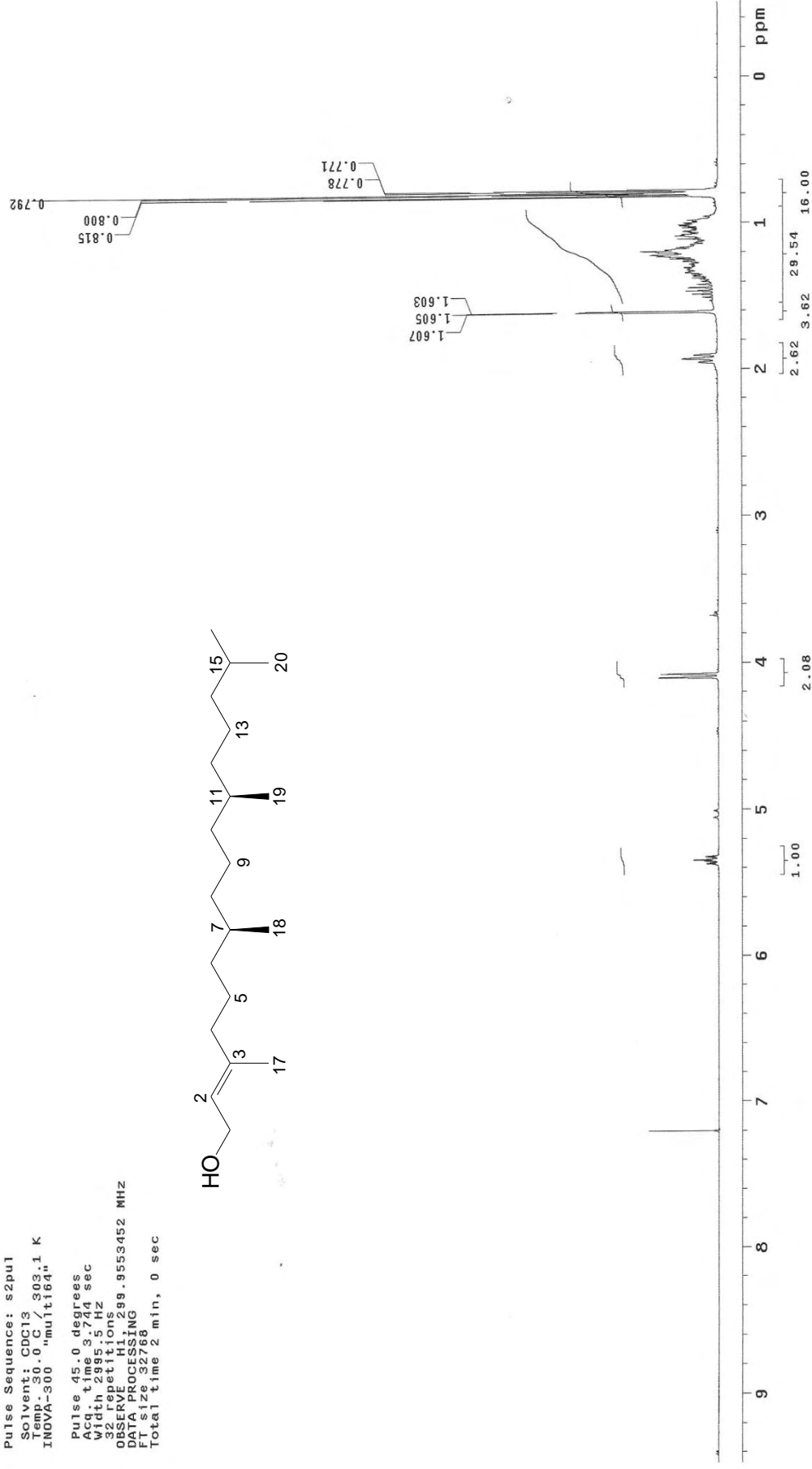
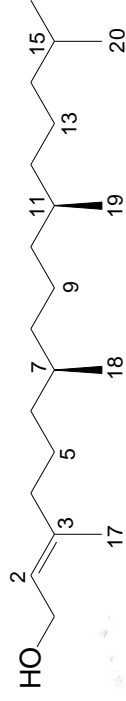


Figura 113. Espectro de RMN ¹H de **13** (500 MHz, CDCl₃).

Magela GeII-FH 47-6 08/09/09

Pulse Sequence: s2pu1

Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-300 "multis64"

Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.815 sec
Width 17421.6 Hz
4479 repetitions
OBSERVE C13, 75.4238244 MHz
DECOUPLE H1, 299.9568203 MHz
Power 30 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 3 hr, 59 min, 54 sec

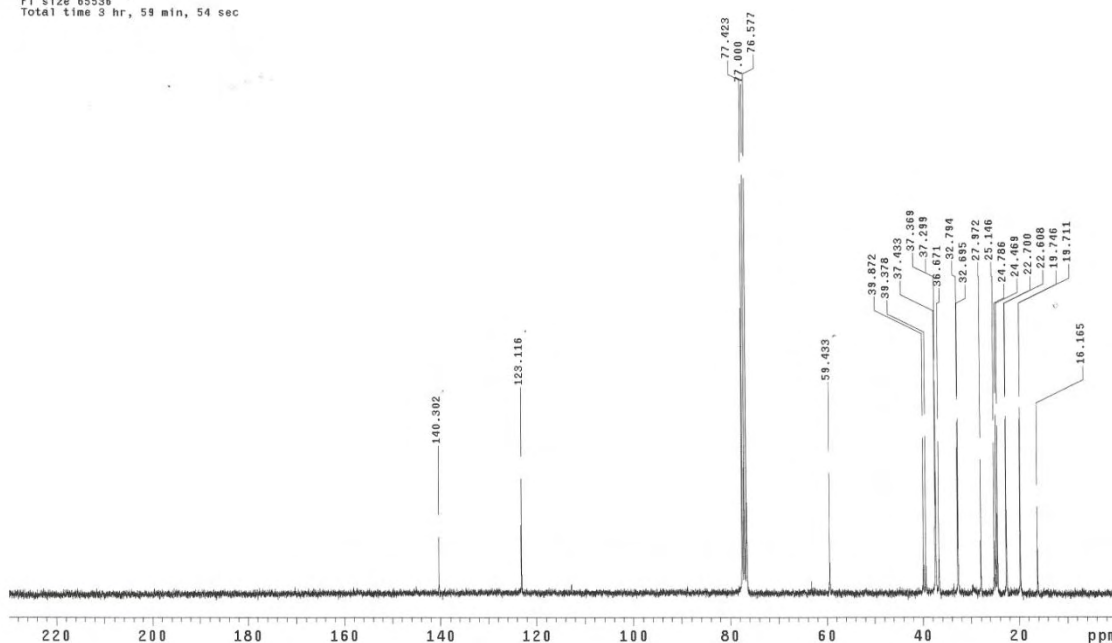
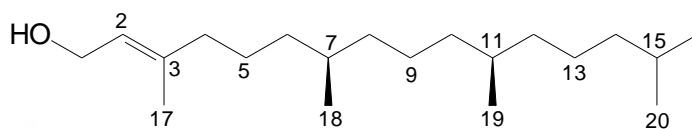


Figura 114. Espectro de RMN ¹³C de **13** (125 MHz, CDCl₃).

Magela GeII-FH 47-6 08/09/09

Pulse Sequence: DEPT

Solvent: CDCl₃
Temp. 30.0 C / 303.1 K
INOVA-300 "multis64"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.815 sec
Width 17421.6 Hz
380 repetitions
OBSERVE C13, 75.4238244 MHz
DECOUPLE H1, 299.9568203 MHz
Power 30 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 28 min, 45 sec

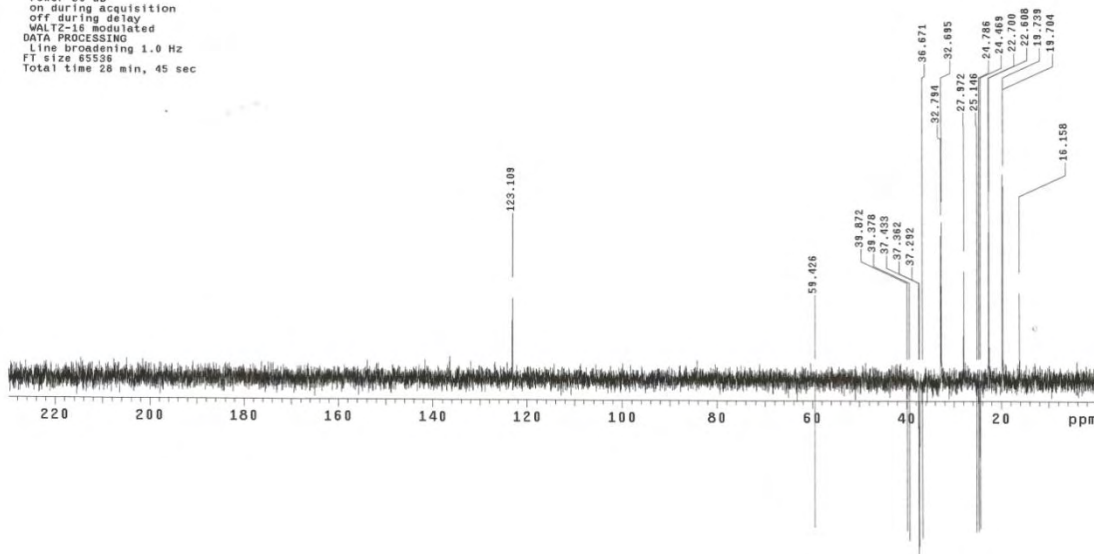
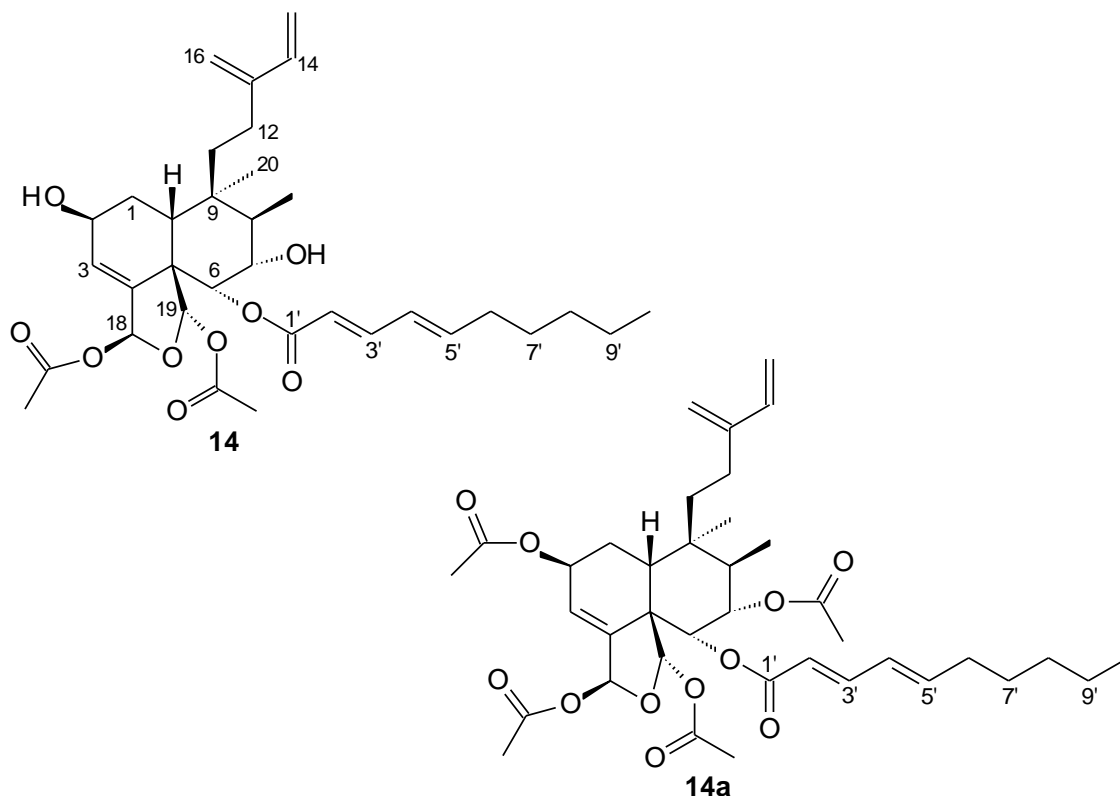


Figura 115. Espectro de RMN DEPT 135° de **13** (125 MHz, CDCl₃).

5.4.2. Casearupestrina A (**14**) e Casearupestrina E (**14a**)



Conforme descrito no procedimento experimental (Esquema 9), a substância **14** foi isolada na forma de um sólido branco e amorfo, solúvel em CHCl_3 e MeOH. A determinação estrutural de **14** foi feita através da análise dos espectros de UV, IV, massas, RMN de ^1H e de ^{13}C uni e bidimensionais (Tabela 22).

A casearupestrina A apresentou no espectro de massas de alta resolução (HRTOF-ESIMS) (Figura 118) pico relativo ao íon da molécula cationizada m/z 623,3190 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_9\text{Na}$, m/z 623,3190).

O espectro na região do ultravioleta (Figura 119) da substância **14** mostrou duas bandas de absorção em 223 nm (MeOH, $\log \varepsilon$ 1,40) e 268 nm (MeOH, $\log \varepsilon$ 1,50), referentes ao dieno conjugado e ao substituinte decadienoato, respectivamente. O espectro de infravermelho (Figura 120) apresentou bandas características de vibrações de estiramento O-H em ν_{max} 3434 cm^{-1} , C-H alifático em ν_{max} $2932\text{--}2959\text{ cm}^{-1}$, C=O de éster em ν_{max} 1746 cm^{-1} e C(=O)-O de acetato em ν_{max} 1230 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (Figuras 121-122) apresentou sinais na região olefínica em δ 5,06 (d, J = 10,5 Hz; H-15a), δ 5,30 (d, J = 17,5 Hz; H-15b) e o

hidrogênio vicinal em δ 6,47 (dd, $J = 10,5$ e $17,5$ Hz; H-14) consistentes com os acoplamentos *cis/trans* dos hidrogênios da ligação dupla terminal monosubstituída, além dos sinais em δ 4,94 (s, H-16a) e 5,03 (s, H-16b) que são atribuídos ao hidrogênio da outra ligação dupla *gem*-dissubstituída. A estrutura parcial formada pela cadeia lateral ligada em C-9 foi confirmada pelas correlações observadas no mapa de contornos *g*HMBC (Figuras 134-137, Tabela 20) entre H-12 e C-11, H-14/H-15 e C-13, H-15/H-16 e C-14; e H-14 com C-16, bem como pelas correlações do mapa de contornos *g*COSY (Figuras 126-129, Tabela 20). O espectro apresentou sinais de hidrogênios alifáticos característicos de diterpenos clerodânicos em δ 1,07 (s, H-20), δ 1,06 (d, H-17), δ 2,47 (dd, $J = 3,5$ e $13,5$ Hz, H-10), δ 3,66 (t, $J = 10,0$ Hz, H-7), δ 5,18 (d, $J = 10,0$ Hz, H-6), δ 6,35 (t, $J = 1,5$ Hz, H-18) e δ 6,49 (s, H-19). Adicionalmente observou-se no espectro dois simpletos em δ 1,86 (s, COOMe-19) e δ 2,02 (s, COOMe-18) correspondentes a grupos metilas de acetato (OBERLIES et al., 2002; ITOKAWA et al., 1990; SANTOS et al., 2007). Os sinais de hidrogênios olefínicos em δ 5,68 (d, $J = 11,5$ Hz, H-2'), δ 6,69 (d, $J = 11,5$ Hz, H-3'), δ 7,37 (ddl, $J = 11,5$ e $14,0$, H-4') e δ 6,16 (dd, $J = 7,0$ e $14,5$, H-5') juntamente com os sinais de hidrogênios alifáticos em δ 2,20 (m, H-5'), δ 1,27 (m, H-6'), δ 1,69 (m, H-7'), δ 1,34 (m, H-8' e H-9') e δ 0,98 (t, $J = 7,0$ Hz, H-10') sugeriram a presença de um substituinte decadienoato em acordo com dados relatados na literatura (GUITTET et al., 1988). Através das correlações observadas no mapa de contornos *g*COSY (Figuras 123-126) confirmou-se o grupo decadienoato. A Tabela 20 e a Figura 116 contém outras correlações importantes entre outros sinais que auxiliaram nas atribuições dos deslocamentos químicos. O sistema decalínico (anéis A e B, C-1 a C-10) também foi confirmado a partir de correlações observadas nos mapas de contornos *g*HMBC, *g*HMQC e *g*COSY (Figuras 126-137 e Tabela 20), além da comparação com dados de RMN de ^{13}C da literatura (BEUTLER et al., 2000b). Outro sinal de hidrogênio olefínico em δ 6,04 (dl, $J = 4,0$ Hz, H-3) foi atribuído à ligação dupla em C-3 (δ 128,6), também característica de diterpenos clerodânicos (OBERLIES et al., 2002; ITOKAWA et al., 1990).

O espectro de RMN ^{13}C (Figuras 123-124) apresentou 34 linhas espectrais e sua análise conjunta com o espectro DEPT 135° (Figura 125, Tabela 20), permitiu identificar a presença de cinco sinais referentes a carbonos metílicos, nove

metilênicos, treze metínicos e sete carbonos não hidrogenados com destaque para os pares de sinais correlacionados pelo mapa de contornos *g*HMBC (Figuras 134-137, Tabela 22), em δ 21,0 (COOMe-18) e δ 171,8 (18-C=O); e δ 21,8 (COOMe-19) e δ 171,4 (19-C=O), correspondentes às metilas e carbonilas dos grupamentos acetatos. Os sinais de carbonos metínicos oxigenados em δ 96,3 (C-18) e 99,8 (C-19) que mostraram correlação no mapa de contornos *g*HMQC (Figuras 130-133, Tabela 20) com os sinais em δ 6,35 (H-18) e δ 6,49 (H-19), respectivamente, indicaram a existência do sistema diacetálico (anel C), típico de diterpenos clerodânicos encontrados em espécies de *Casearia* (CHEN et al., 2008; SANTOS et al., 2007; SHEN et al., 2004a). As correlações observadas no mapa de contornos *g*HMBC (Figuras 134-137, Tabela 20) entre H-19 (δ 6,49) e a carbonila do grupo acetato em δ 171,4 (19-C=O) definiu a posição deste substituinte e por eliminação a posição do segundo grupo acetato foi determinada como estando ligado ao C-18. A posição do substituinte decadienoato foi determinada pela correlação observada entre H-6 (δ 5,18) e a carbonila em δ 167,3 (1'-C=O).

Figura 116. Principais correlações observadas pelos experimentos *g*COSY (^1H - ^1H) e *g*HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **14**.

A estereoquímica relativa dos 8 centros estereogênicos foi determinada a partir dos dados de RMN de ^{13}C , NOESY 1D e dos valores das constantes de acoplamento (Figuras 138-142, 117, Tabela 20). A configuração *cis* na junção dos anéis A e B do sistema decalínico foi deduzida a partir do valor de δ 26,4 observado para a metila em C-20, conforme descrito na literatura (KHAN et al., 1990b;

VIJAYAKUMAR et al., 2002). O deslocamento químico de C-5 (δ 54,3) foi semelhante aos descritos para diterpenos clerodânicos e compostos análogos (ITOKAWA et al., 1990; MORITA et al., 1991; SHEN et al., 2004a), assim como os deslocamentos de C-2 (δ 64,2) e C-10 (δ 37,2). Além disso, os valores de $J = 3,5$ e $13,5$ Hz para δ 2,47 (dd) sugerem que H-10 possui orientação β -axial. As interações observadas no espectro NOESY 1D (Figuras 138-142, 117, Tabela 20) entre H-10 com H-6, H-12, H-19 e Me-20, indicou a mesma orientação β para a cadeia lateral em C-9 e orientação α dos grupos acetato e decadienoato em C-19 e C-6, respectivamente. Finalmente o efeito nuclear Overhauser observado entre H-18 e H-2' do substituinte decadienoato (δ 5,68) só é possível quando o H-18 encontra-se em posição oposta ao H-19 no anel furânico indicando orientação β para o grupo acetato ligado a C-18. A casearupestrina A é dextrorrotatória, com $[\alpha]_D^{24} = + 4,3^\circ$ (CHCl_3 , c 0,1). Com base nas discussões anteriores conclui-se que o composto **14** trata-se de um novo diterpeno clerodânico que foi denominado casearupestrina A.

Figura 117. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D ($^1\text{H} \leftrightarrow ^1\text{H}$) para **14**.

A substância **14** foi submetida a reação de acetilação, resultando em um novo diterpeno clerodânico denominado casearupestrina E (**14a**). O espectro de massas (Figura 143) de **14a** apresentou pico da molécula cationizada em m/z 707,3401 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{O}_{11}\text{Na}$, m/z 707,3401). A análise dos dados de RMN de ^1H , de ^{13}C , DEPT 135° e HETCOR (Figuras 143-150, Tabelas 20 e 21) permitiu

atribuir todos os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos da molécula que apresentou adicionalmente mais dois grupos acetatos nos C-2 [δ 2,12 (s); δ 21,0 e 172,1] e C-7 [δ 1,95 (s); δ 20,6 e 171,6]. A casearupetrina E é dextrorrotatória, com $[\alpha]_D^{25} = +56^\circ$ (MeOH, c 0,1).

TABELA 20. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **14**, incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$) ^a	gHMBC	NOESY 1D
1	30,6 (CH ₂)	1a	2,00 m	-	-
		1b	2,06 m	-	-
2	64,2 (CH)	2	4,45 tl (4,0)	-	H-1; H-3
3	128,6 (CH)	3	6,04 dl (4,0)	-	H-2; H-18
4	141,9 (C)	-	-	H-6; H-19	-
5	54,3 (C)	-	-	H-10	-
6	77,5 (CH)	6	5,18 d (10,0)	H-7; H-19	H-6; H-7; H-18; H-19; Me-18
7	72,2 (CH)	7	3,66 t (10,0)	H-6; H-8; Me-17	H-6; H-19
8	44,8 (CH)	8	1,84 m	H-7; Me-17; Me-20	-
9	39,8 (C)	-	-	H-8; H-10; Me-17; Me-20	-
10	37,2 (CH)	10	2,47 dd (3,5, 13,5)	Me-20	H-6; H-12; H-19; Me-20
11	29,4 (CH ₂)	11	1,47 m	H-12	-
12	25,0 (CH ₂)	12a	2,16 m	-	-
		12b	2,23 m	-	-
13	147,0 (C)	-	-	H-14; H-15	-
14	141,5, CH	14	6,47 dd (10,5, 17,5)	H-15; H-16	-
15	113,2 (CH ₂)	15a	5,06 d (10,5)	-	H-14; H-15
		15b	5,30 d (17,5)	-	-
16	115,5 (CH ₂)	16a	4,94 s	H-14	H-16
		16b	5,03 s	-	-
17	11,7 (CH ₃)	17	1,06 d	H-7; H-8	-
18	96,3 (CH)	18	6,35 t (1,5)	H-3; H-19	H-3; H-6; H-2'
19	99,8 (CH)	19	6,49 s	H-6; H-18	-
20	26,4 (CH ₃)	20	1,07 s	-	-
1'	167,3 (C)	-	-	H-6	-
2'	115,9 (CH)	-	5,68 d (11,5)	-	H-5'; H-18
3'	147,7 (CH)	3'	6,69 t (11,5)	H-5'	H-4'; H-5'
4'	128,3 (CH)	4'	7,37 ddl (11,5, 14,0)	H-6'	H-18; H-2'; H-3' H-5' H-6'
5'	147,2 (CH)	-	6,16 dd (7,0, 14,5)	H-6'	H-2'; H-3''
6'	33,9 (CH ₂)	6'	2,20 m	-	-
7'	30,5 (CH ₂)	7'a	1,27 m	-	-
		7'b	1,69 m	-	-
8'	32,4 (CH ₂)	8'	1,34 m	H-9'; H-10'	-
9'	23,4 (CH ₂)	9'	1,34 m	H-8'; H-10'	-
10'	14,3 (CH ₃)	10'	0,98 t (7,0)	-	-
18-C=O	171,8 (C)	-	-	COOMe-18	-
19-C=O	171,4 (C)	-	-	H-19; COOMe-19	-
COOMe-18	21,0 (CH ₃)	COOMe-18	2,02 s	-	-
COOMe-19	21,8 (CH ₃)	COOMe-19	1,86 s	-	-

^aAtribuições baseadas nos mapas de contornos gCOSY e gHMQC.

TABELA 21. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **14a**, incluindo resultados de mapa de contornos (HETCOR), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$)
1	30,6 (CH_2)	1a	1,35 m
		1b	
2	67,5 (CH)	2	5,55 m
3	125,2 (CH)	3	6,07 dl (5,5)
4	144,2 (C)	-	-
5	54,3 (C)	-	-
6	74,2 (CH)	6	5,31 m
7	74,7 (CH)	7	5,37 m
8	42,5 (CH)	8	2,16 m
9	40,2 (C)	-	-
10	38,3 (CH)	10	2,40 dd (5,0; 22,5)
11	27,8 (CH_2)	11	2,19 m
12	25,1 (CH_2)	12a	2,21 m
		12b	
13	146,6 (C)	-	-
14	141,4 (CH)	14	6,49 ddl (11,0; 18,5)
15	113,2 (CH_2)	15a	5,10 m
		15b	5,33 m
16	115,9 (CH_2)	16a	5,07 s
		16b	
17	11,3 (CH_3)	17	0,92 m
18	96,0 (CH)	18	6,33 t (2,5)
19	99,5 (CH)	19	6,58 s
20	25,8 (CH_3)	20	1,08 s
1'	166,8 (C)	-	-
2'	114,6 (CH)	-	5,55 m
3'	148,9 (CH)	3'	6,74 t (18,5)
4'	128,1 (CH)	4'	7,31 ddl (2,0, 17,0)
5'	148,5 (CH)	-	6,24 dd (11,5, 12,5)
6'	33,9 (CH_2)	6'	2,24 m
7'	29,3 (CH_2)	7'a	1,49 m
		7'b	
8'	32,5 (CH_2)	8'	1,35 m
9'	23,4 (CH_2)	9'	1,35 m
10'	14,3 (CH_3)	10'	0,92 m
2-C=O	172,1 (C)	-	-
6-C=O	171,6 (C)	-	-
18-C=O	172,0 (C)	-	-
19-C=O	170,9 (C)	-	-
COOMe-2	21,0 (CH_3)	COOMe-2	2,12 s
COOMe-6	20,6 (CH_3)	COOMe-6	1,95 s
COOMe-18	20,9 (CH_3)	COOMe-18	2,02 s
COOMe-19	21,7 (CH_3)	COOMe-19	1,86 s

^aAtribuições baseadas no mapa de contornos HETCOR.

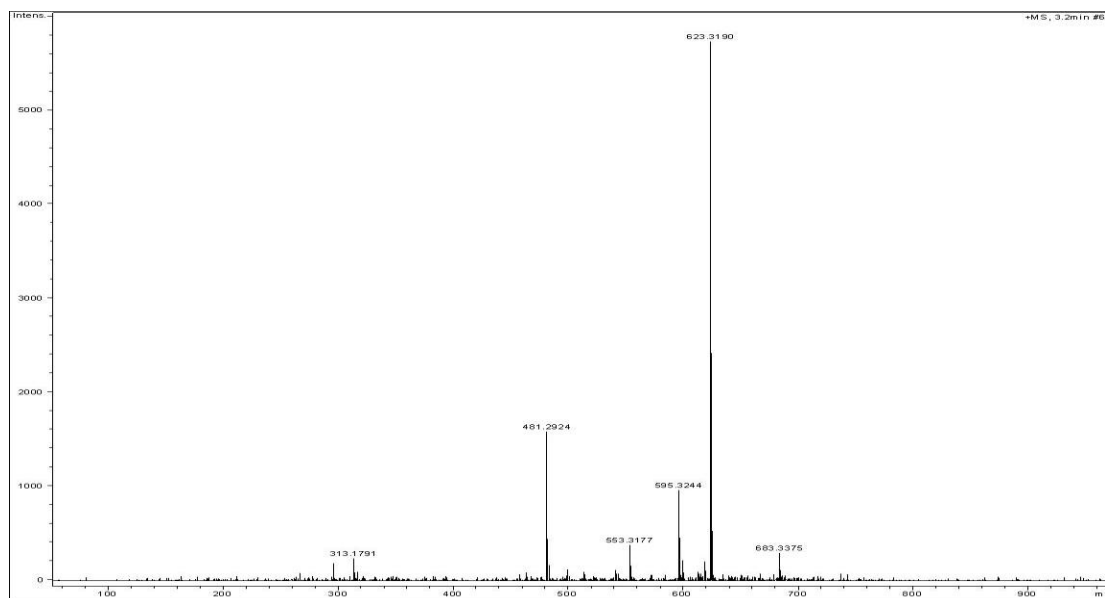


Figura 118. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **14**.

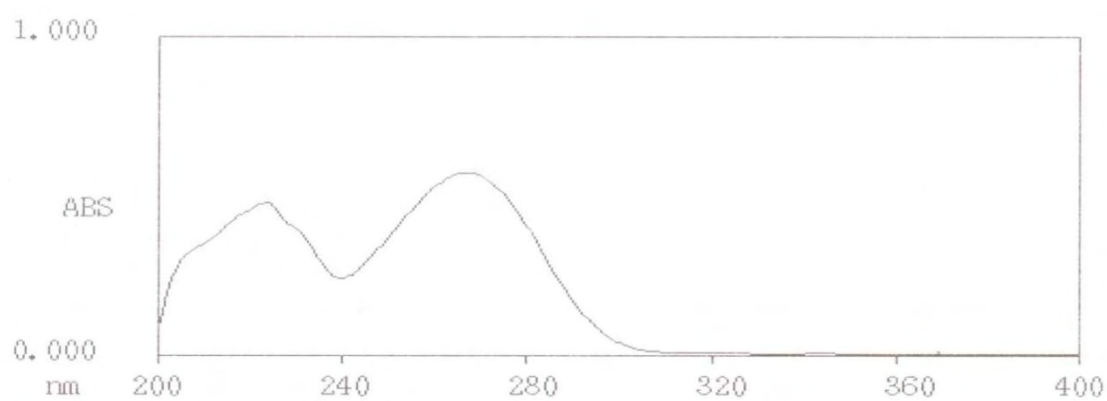


Figura 119. Espectro de absorção no UV de **14**.

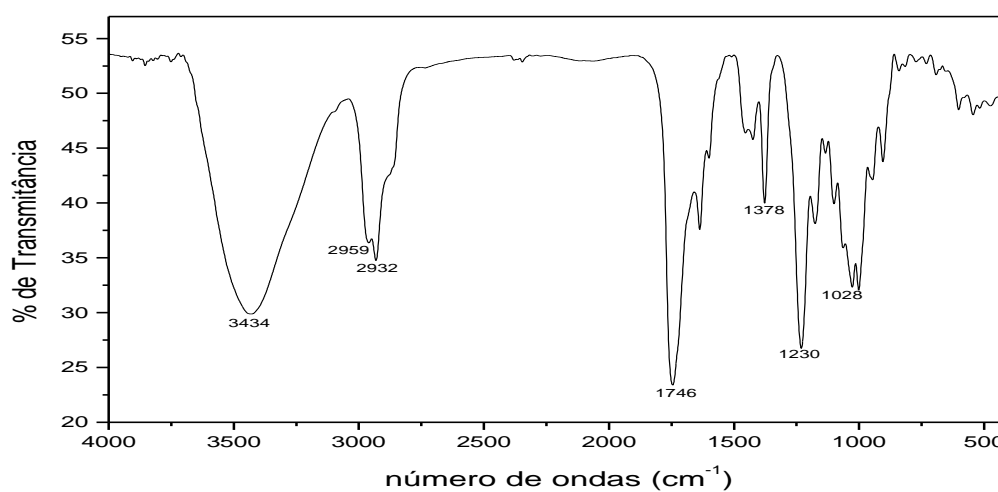


Figura 120. Espectro de absorção na região do IV de **14** (KBr).

Magela GEII-FE12-14 02/04/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp: 30.0 C

INOVA-500 "multis65"

Relax. delay 0.904 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.079 sec

Width 6030.5 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.4042260 MHz

DATA PROCESSING

File size 65536

Total time 1 min, 19 sec

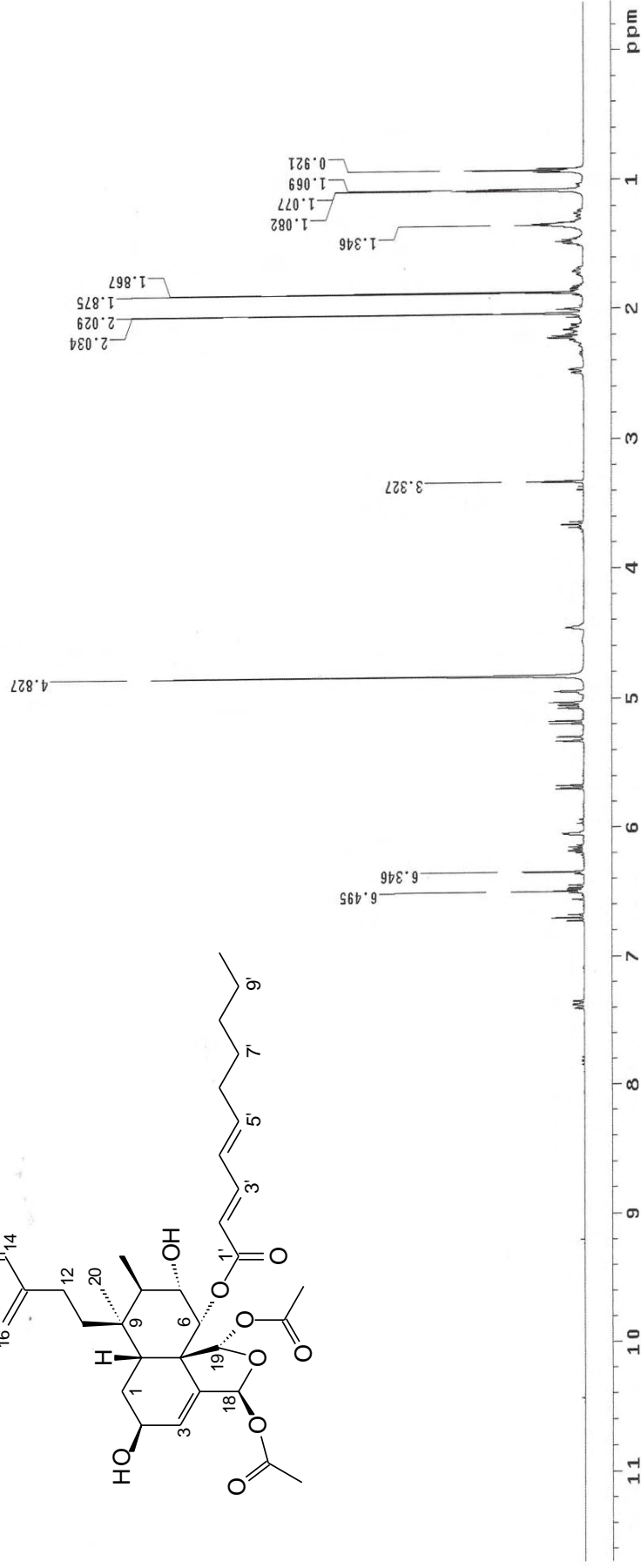
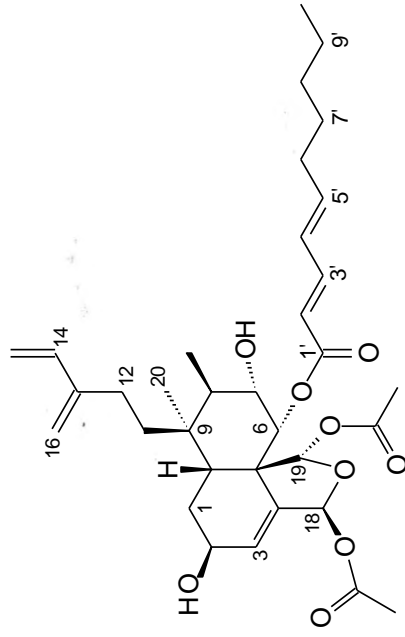


Figura 121. Espectro de RMN ¹H de 14 (500 MHz, CD₃OD).

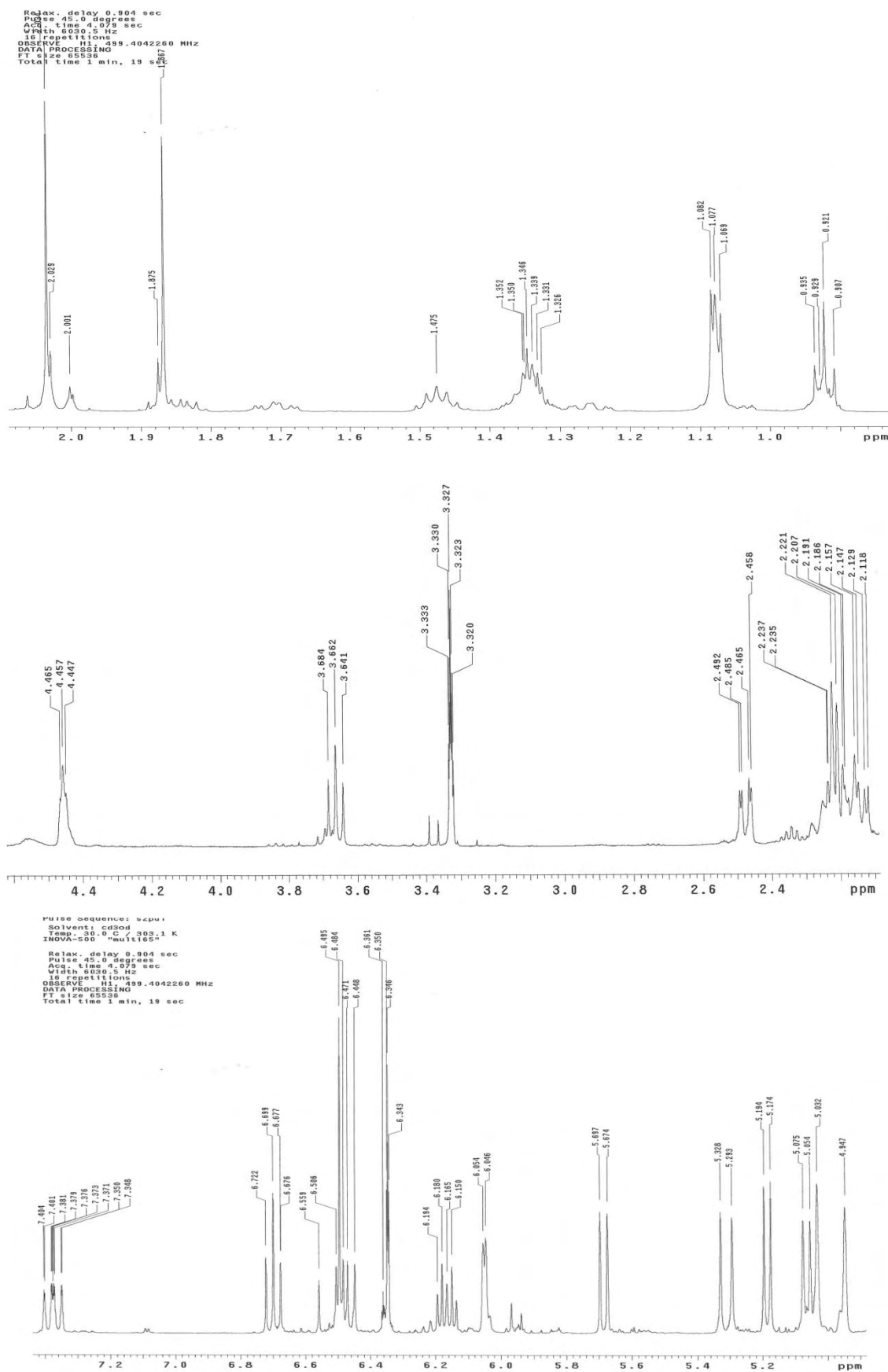


Figura 122. Expansões do espectro de RMN ^1H de **14** (500 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-14 02/04/09

Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: cd3od
 Temp.: 30.0 C / 303.1 K
 User: 1-14-87 "mult165"
 INOVA-500
 Relax. delay 0.957 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.042 sec
 Width 29027.6 Hz
 285 repetitions
 OBSERVE CH1, 125.5751210 MHz
 DECOUPLE CH1, 439.4067231 MHz
 Power 30 dB, continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 File size 65556
 Total time 59 min, 58 sec

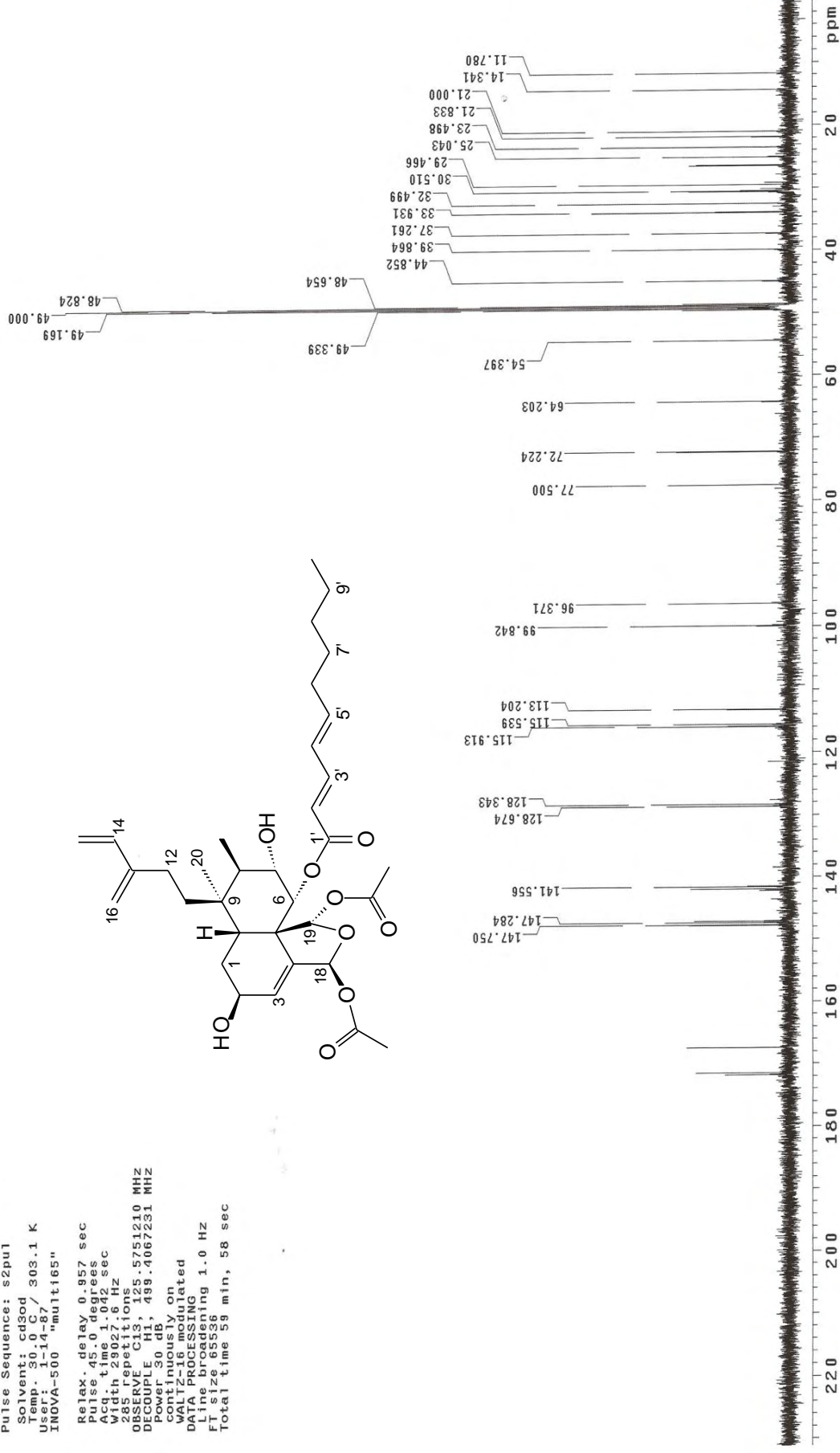


Figura 123. Espectro de RMN ¹³C de **14** (125 MHz, CD₃OD).

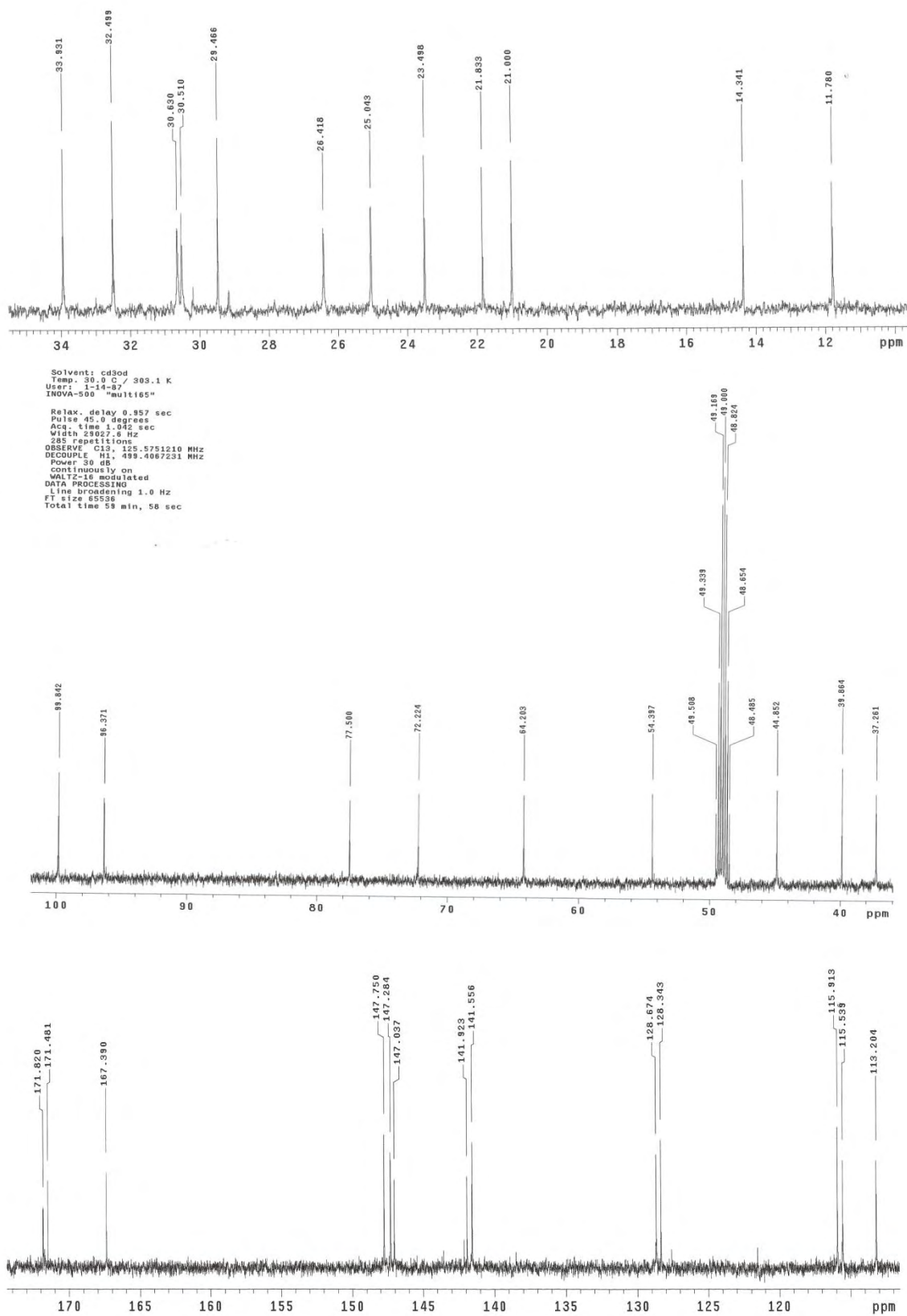


Figura 124. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **14** (125 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-14 02/04/09

Pulse Sequence: DEPT135

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C/ 303.1 K

User: 1-14-87

INOVA-500 "multi65"

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 90.0 degrees

Acq. time 1.042 sec

Width 29027.6 Hz

100 repetitions

OBSERVE C13, 125.5751210 MHz

DECOUPLE H1, 499.4067231 MHz

Power 30 dB

Off during acquisition

Off during delay

WAITZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 7 min, 9 sec

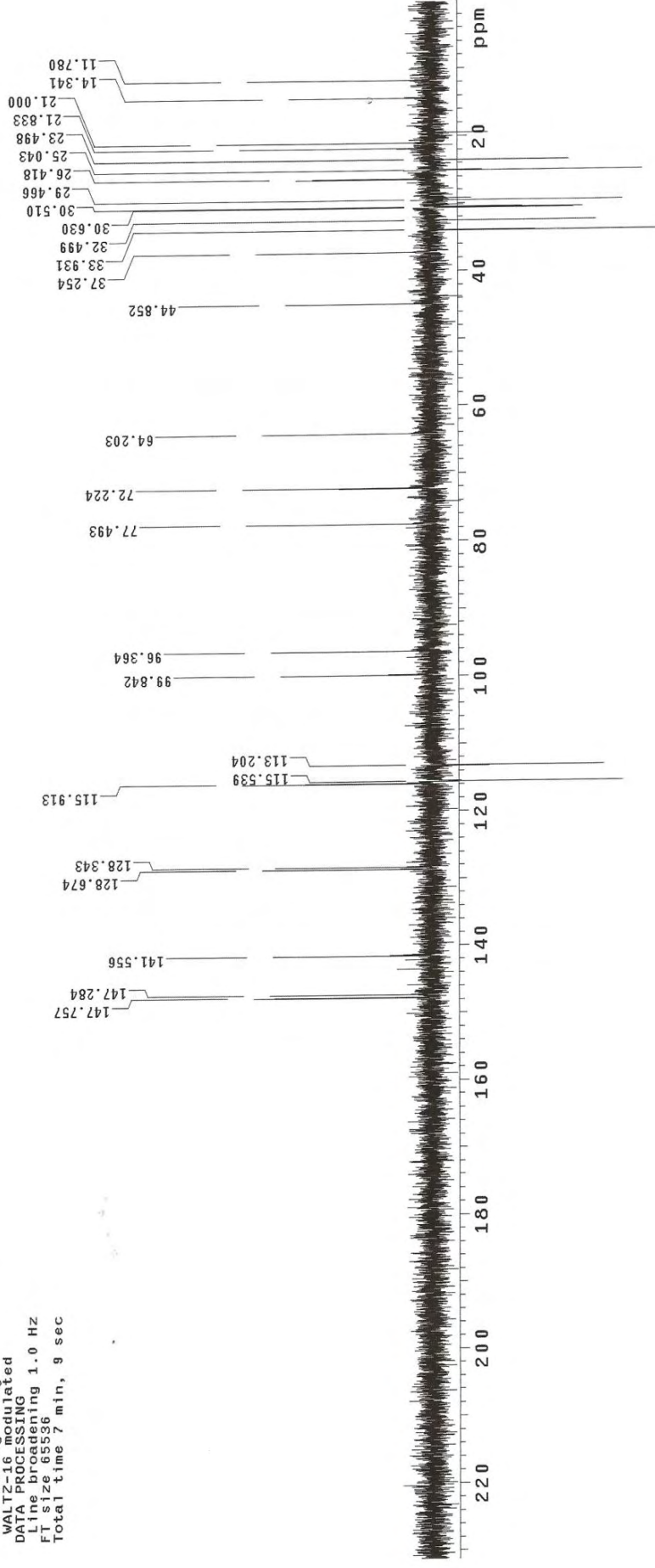


Figura 125. Espectro de RMN DEPT 135° de **14** (125 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE12-14 02/04/09

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od 303.1 K
Temp-SS-0.0°C
INVA-500 "nu1t183"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.170 sec
Width 6030.5 Hz
2D Width 6030.5 Hz
128 repetitions
128 scans

OBSERVE H1 499.4042260 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.085 sec

F2 DATA PROCESSING

FT size 2048 x 2048

Total time 20 min, 40 sec

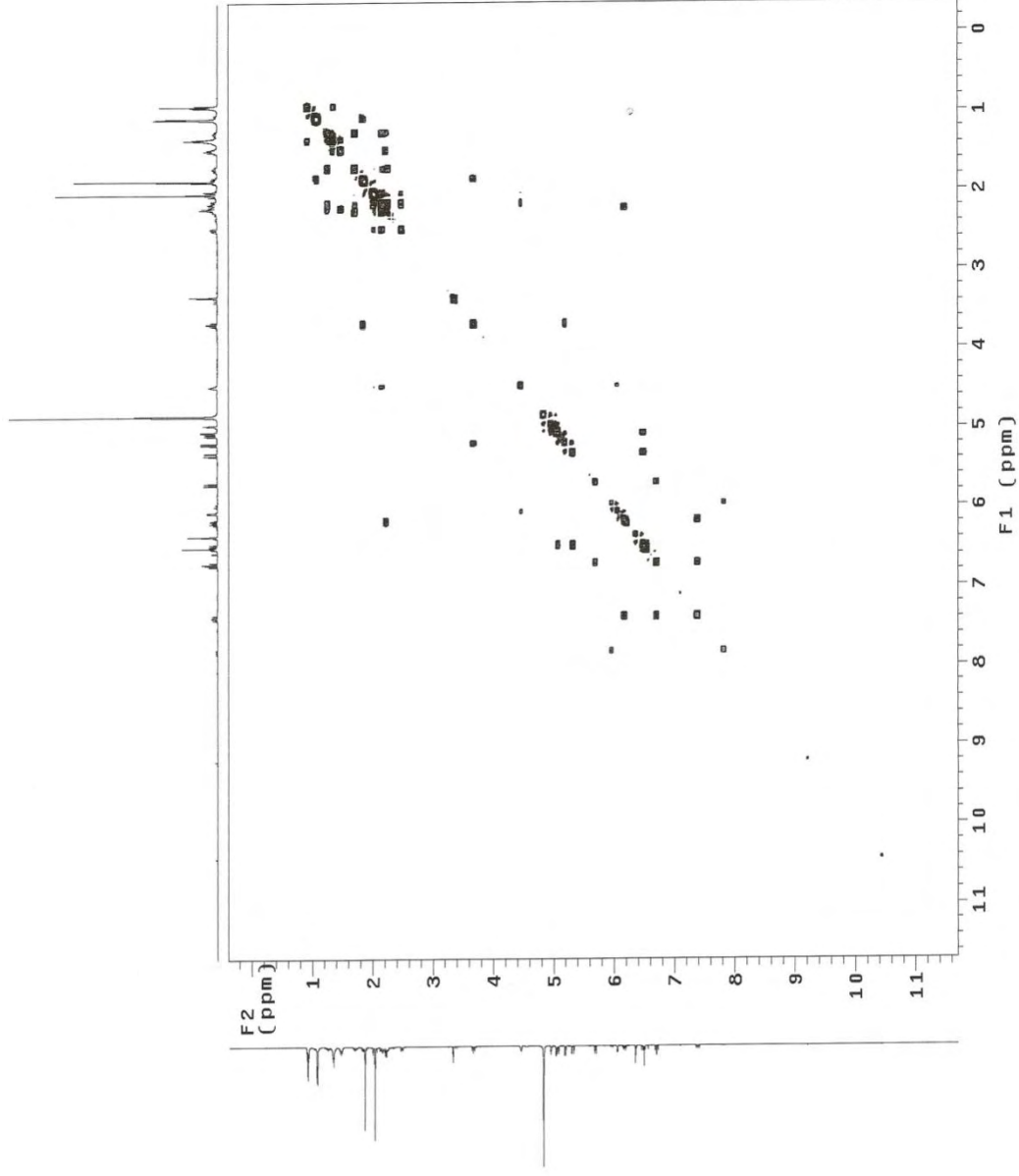


Figura 126. Mapa de contornos gCOSY de **14** (500 MHz, CD₃OD).

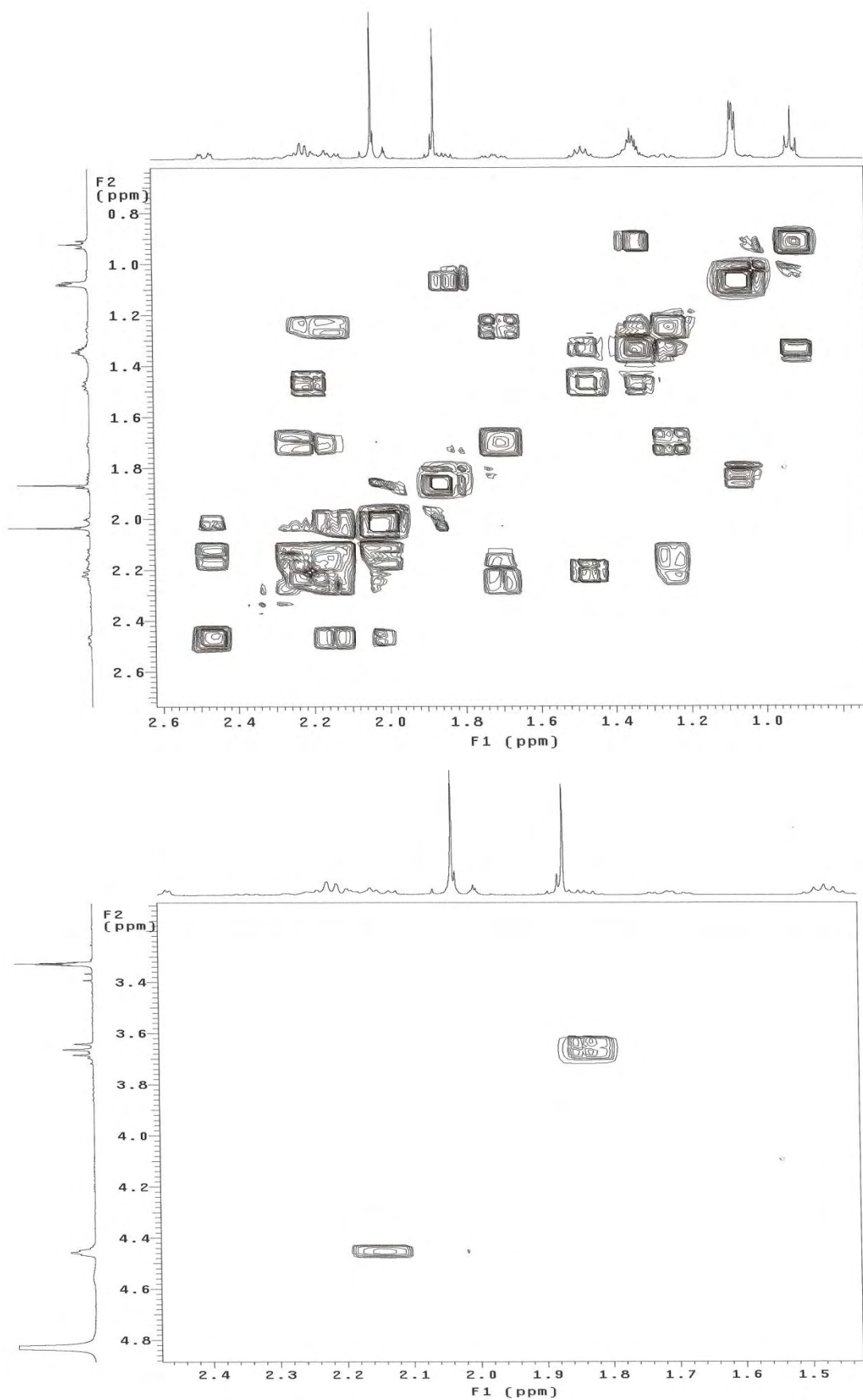


Figura 127. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **14** (500 MHz, CD₃OD).
204

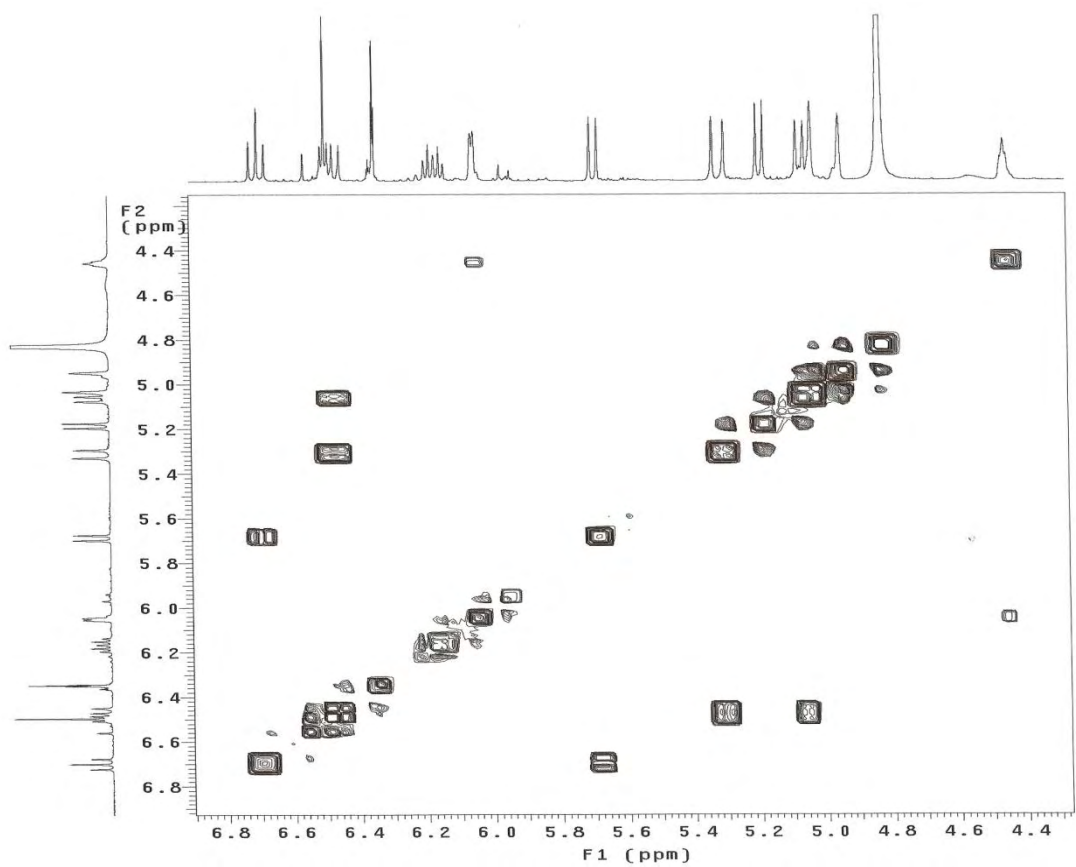
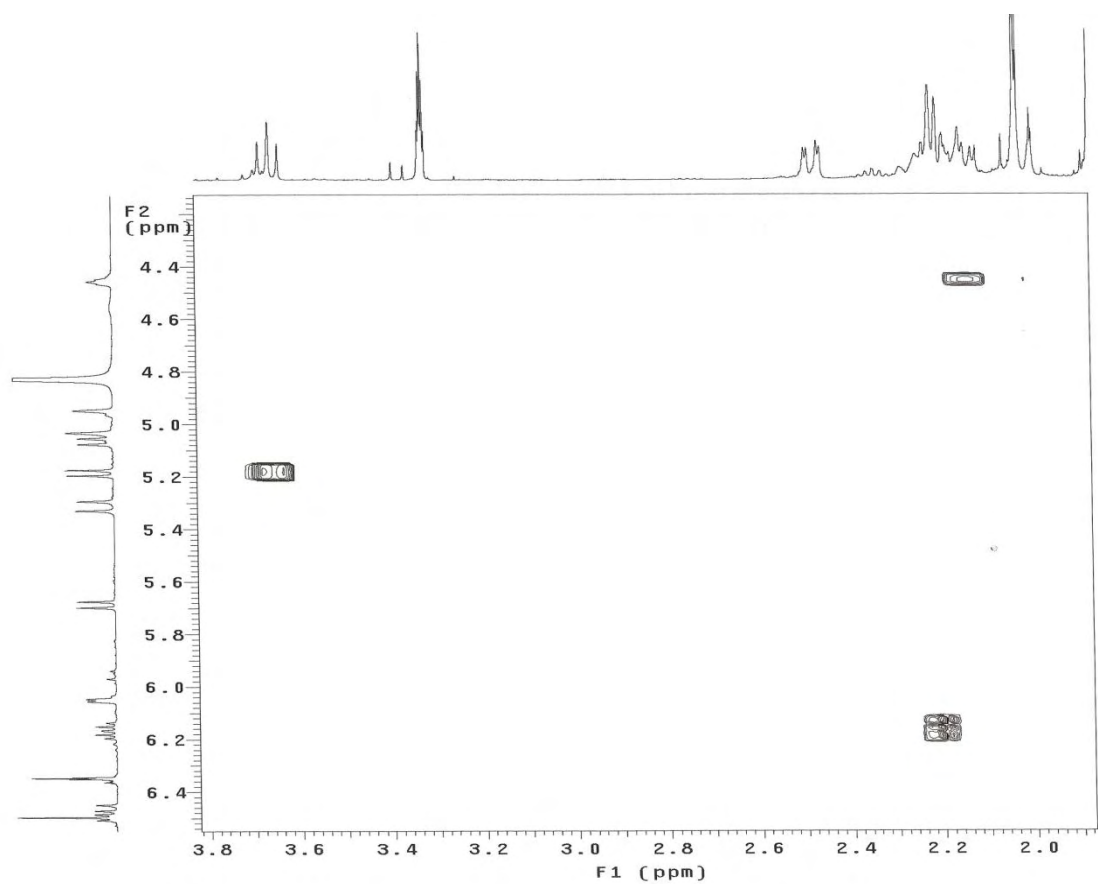


Figura 128. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **14** (500 MHz, CD₃OD).



Magela GEII-FE12-14 02/04/09

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

INOVA-500 "multis65"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.170 sec

Width 5030.5 Hz

2D Method zgpg30

41 repetitions 2.6 Hz

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.4042260 MHz

DECOUPLE C13, 125.5896409 MHz

Power 47 dB

on during acquisition

off during delay

on during delay

off during delay

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.078 sec

F1 DATA PROCESSING

F1 Gauss apodization 0.003 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 21 min, 31 sec

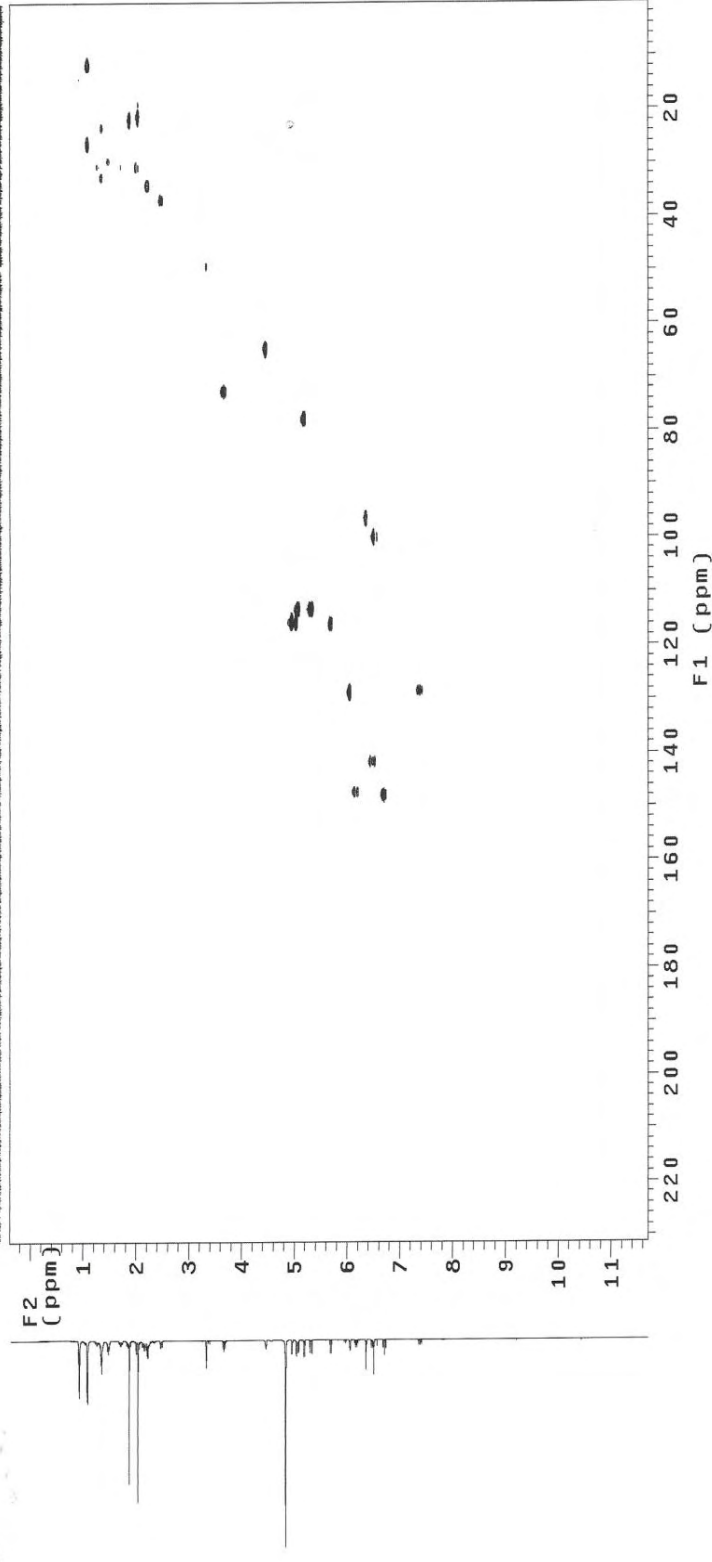


Figura 130. Mapa de contornos gHMQC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

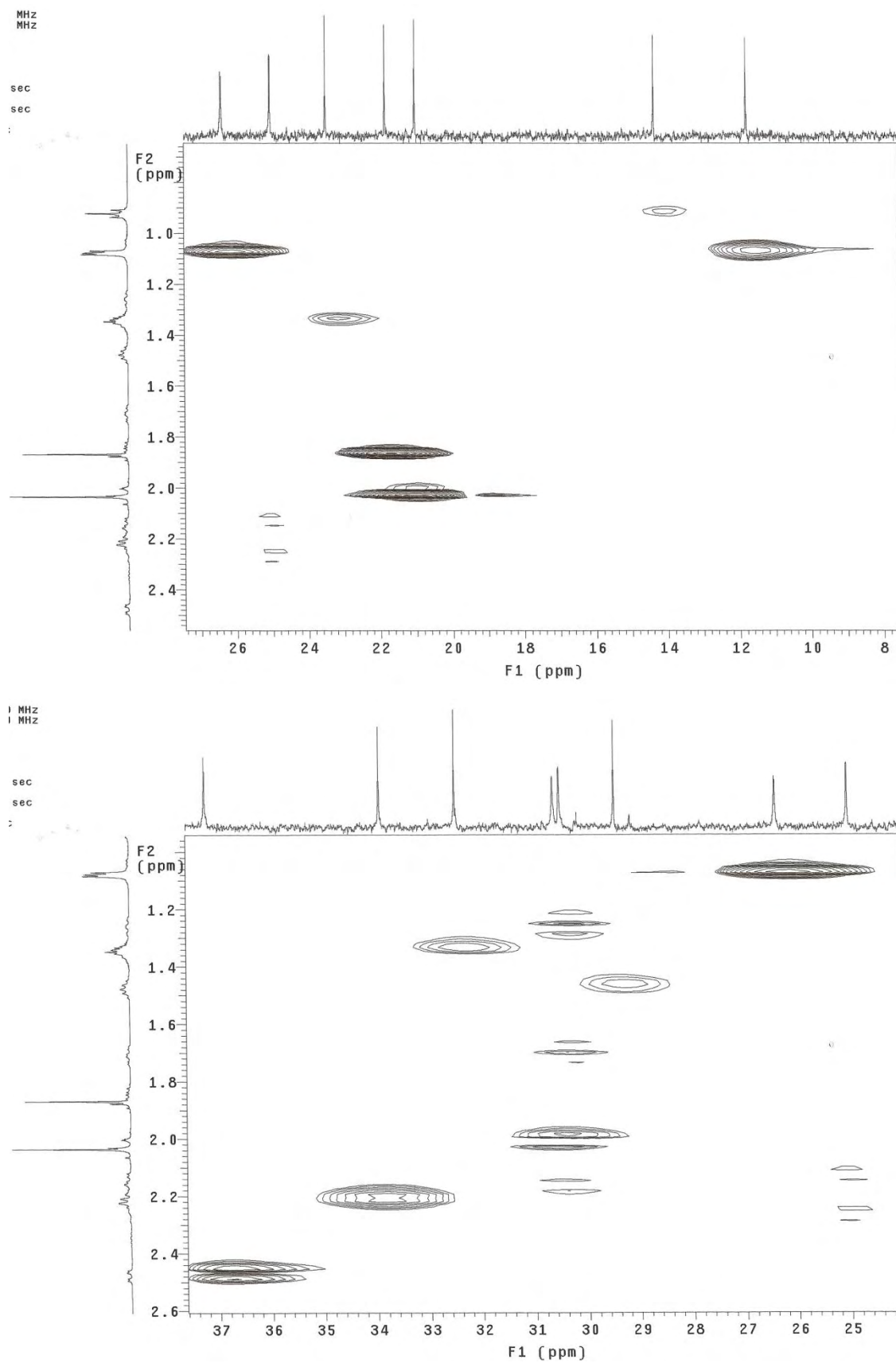


Figura 131. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **14** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

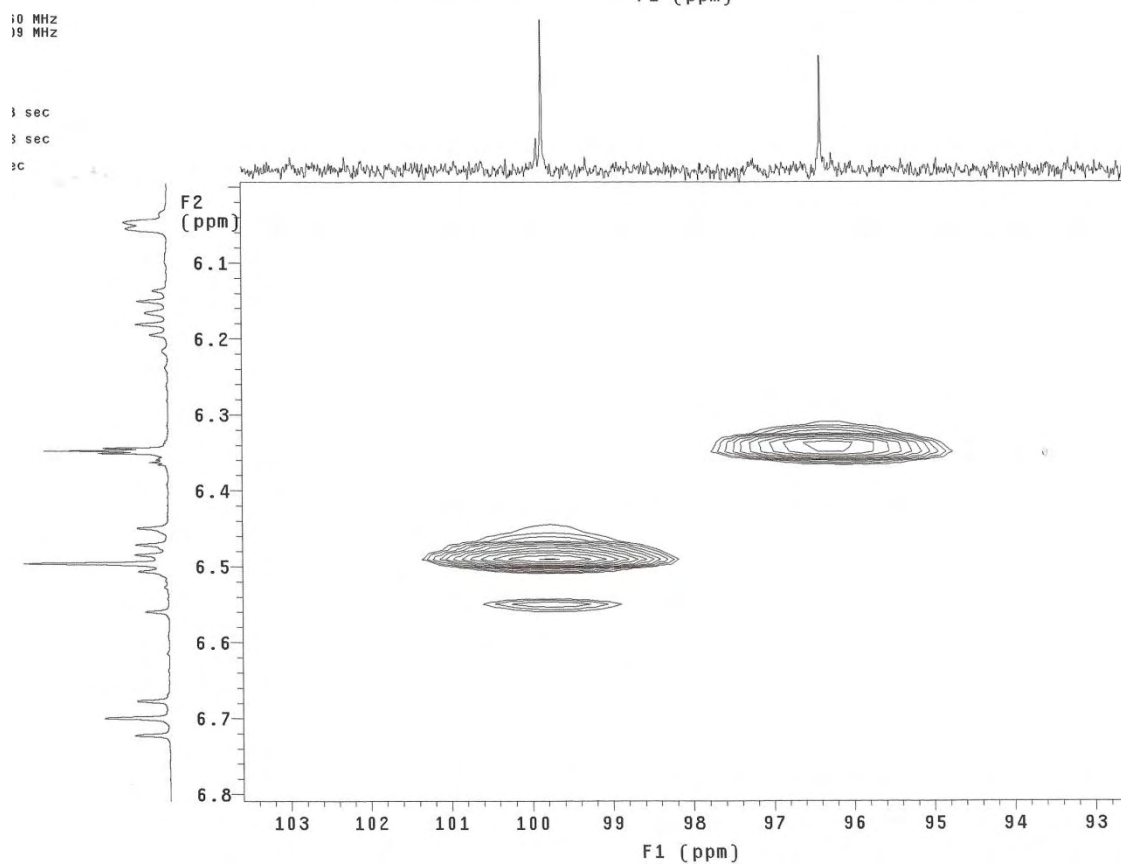
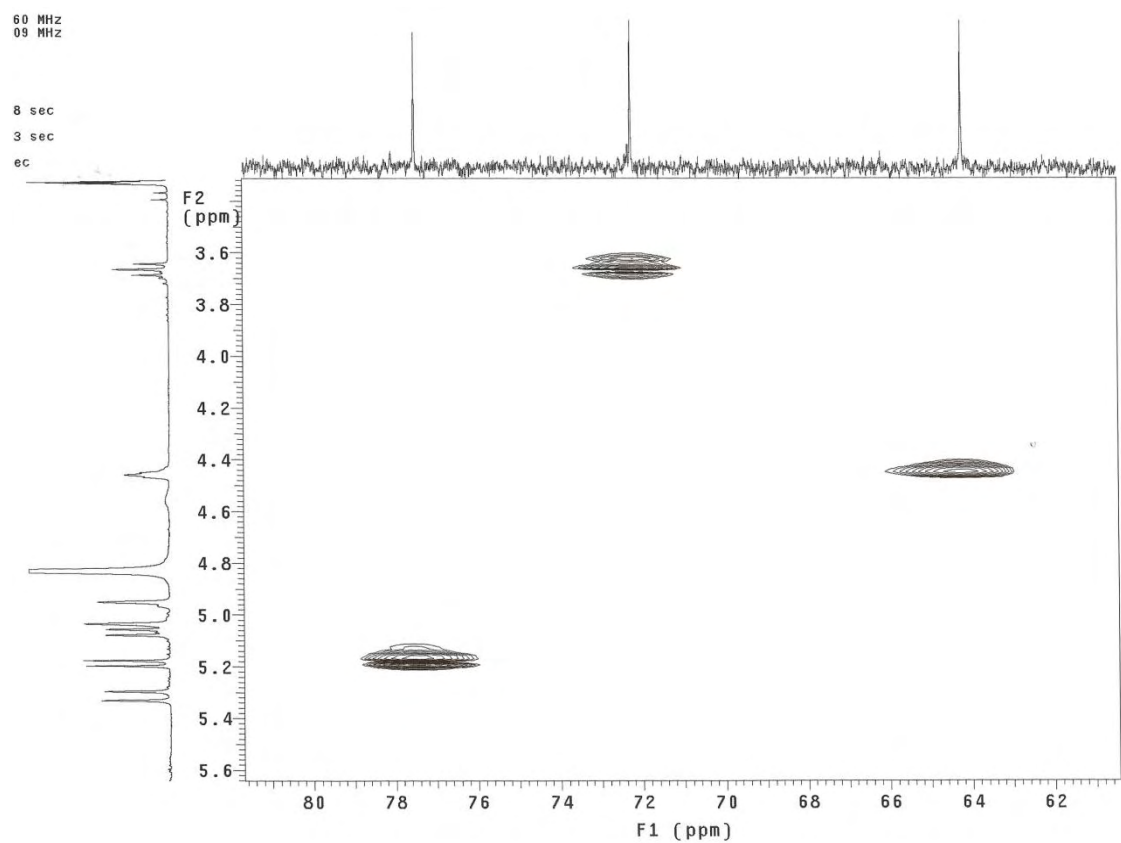


Figura 132. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

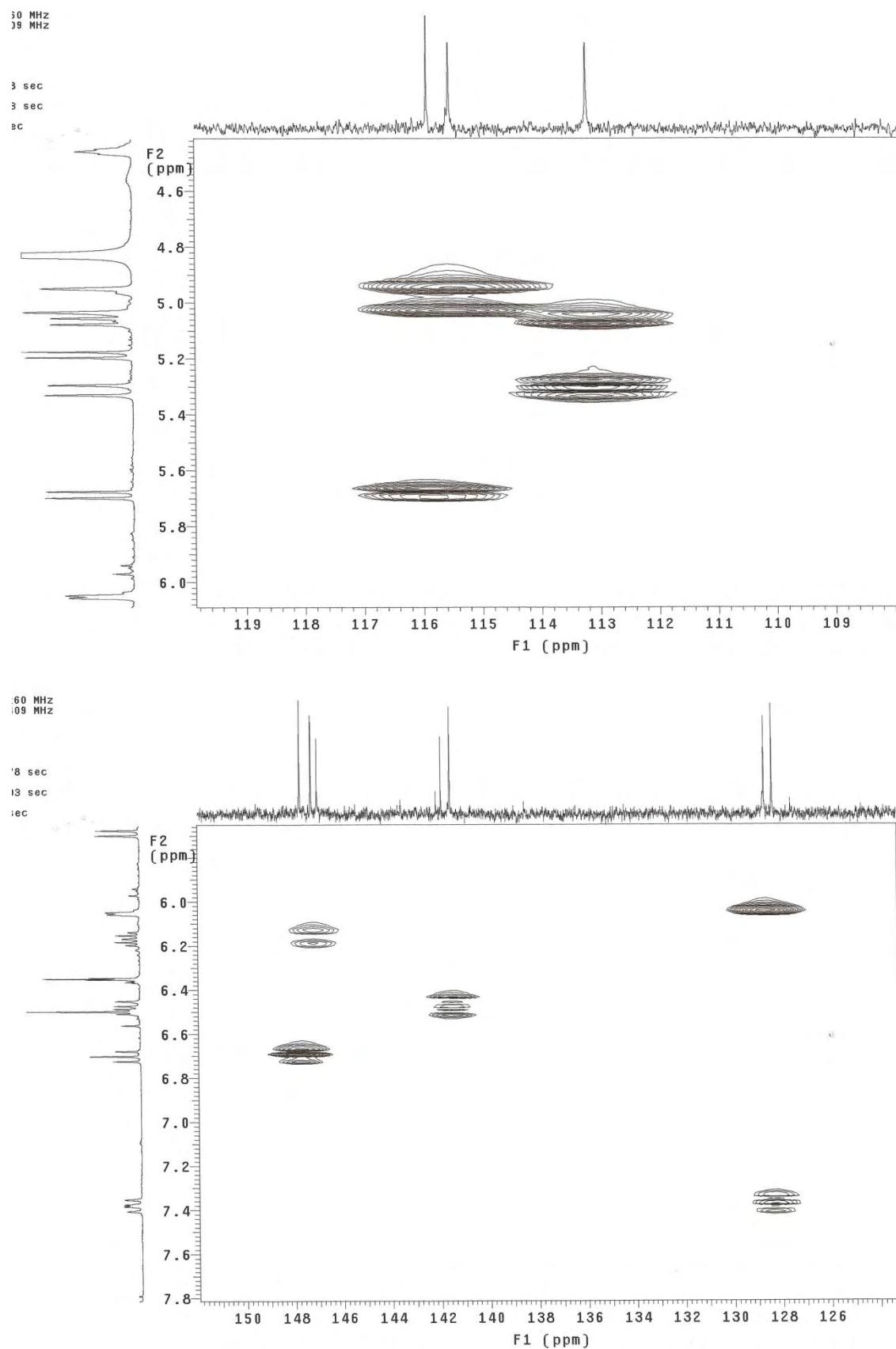


Figura 133. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE12-14 02/04/09
 Pulse Sequence: gHMBC
 Solvent: cd3od
 Temp: 30.0 C/ 303.1 K
 User: 1-14-87 "mult165"
 INOVA-500 "mult165"
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.170 sec
 Width 6030.5 Hz
 2D Width 29027.6 Hz
 8 repetitions
 128 increments
 OBSERVED F2 99.4042260 MHz
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.085 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.003 sec
 FT size 2048 x 2048
 Total time 22 min, 25 sec

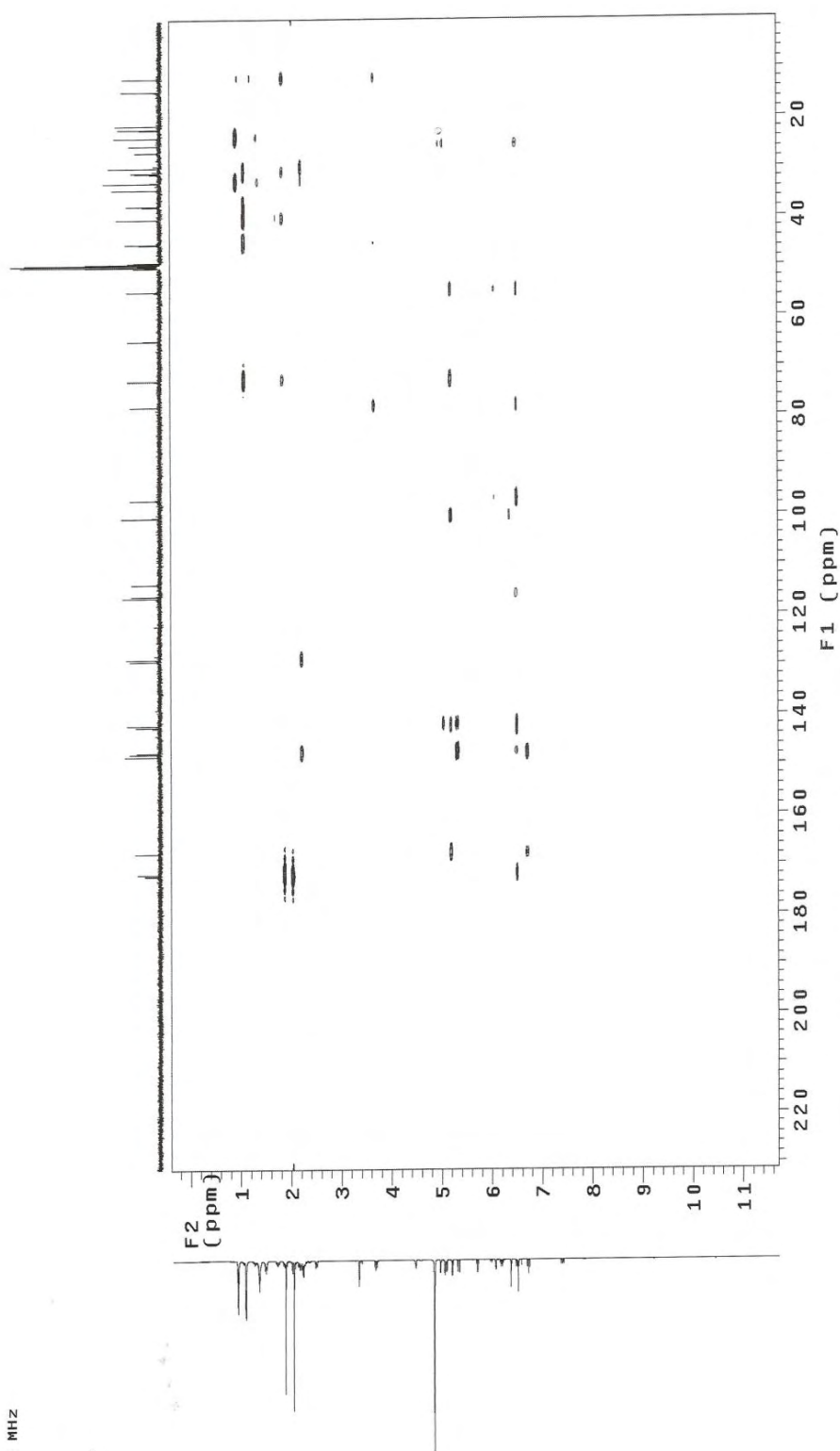


Figura 134. Mapa de contornos gHMBC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

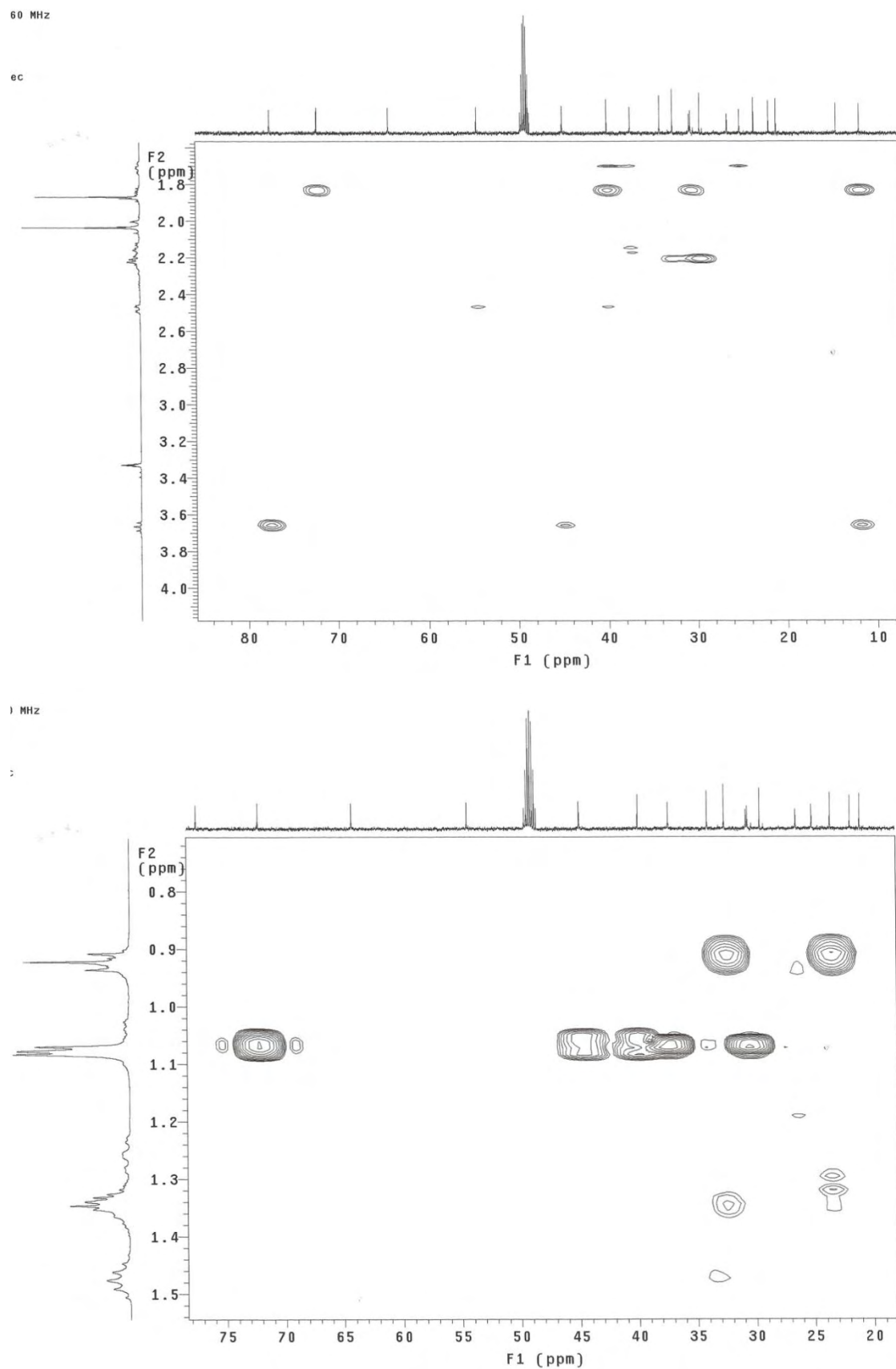


Figura 135. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

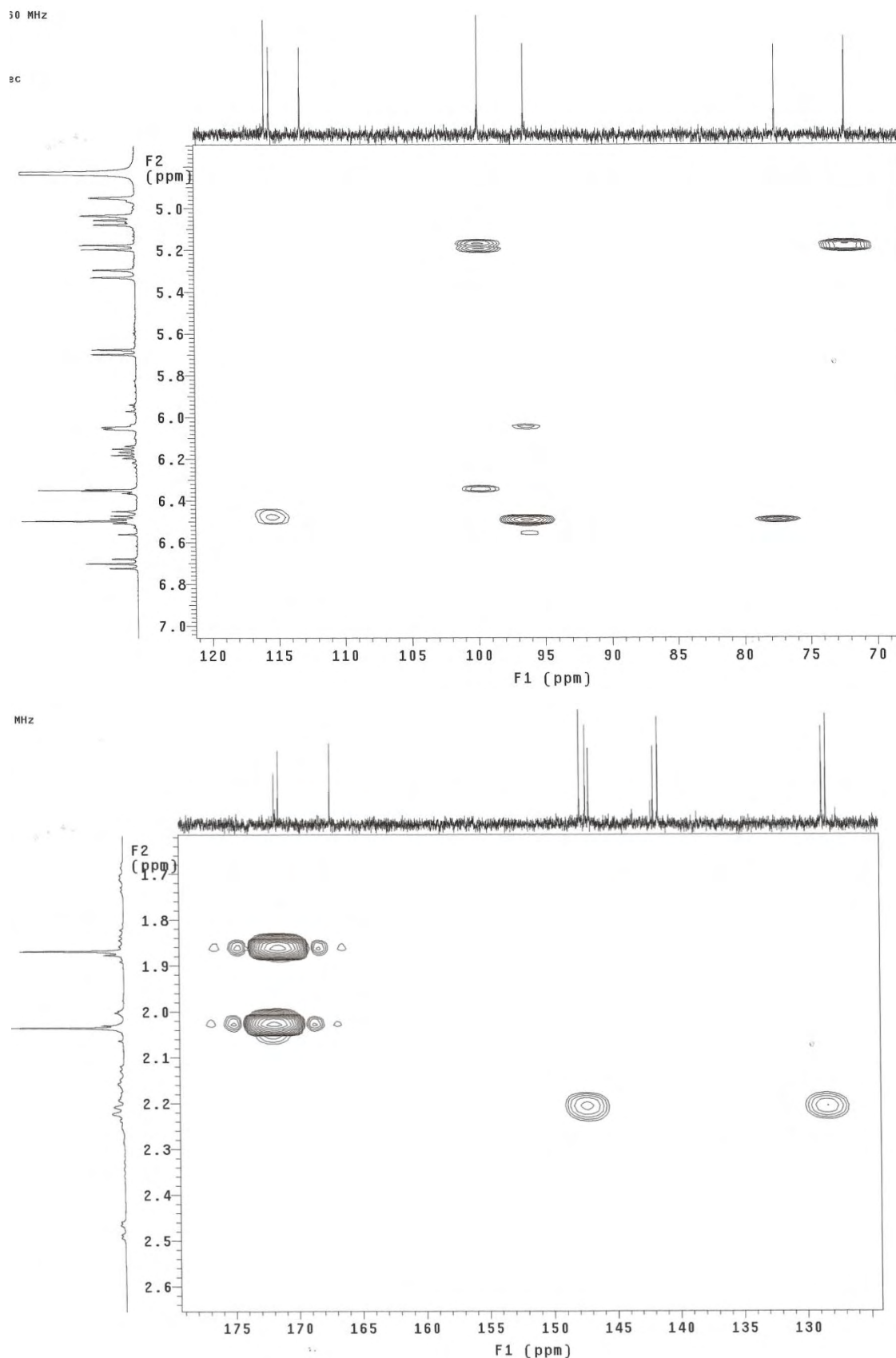


Figura 136. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

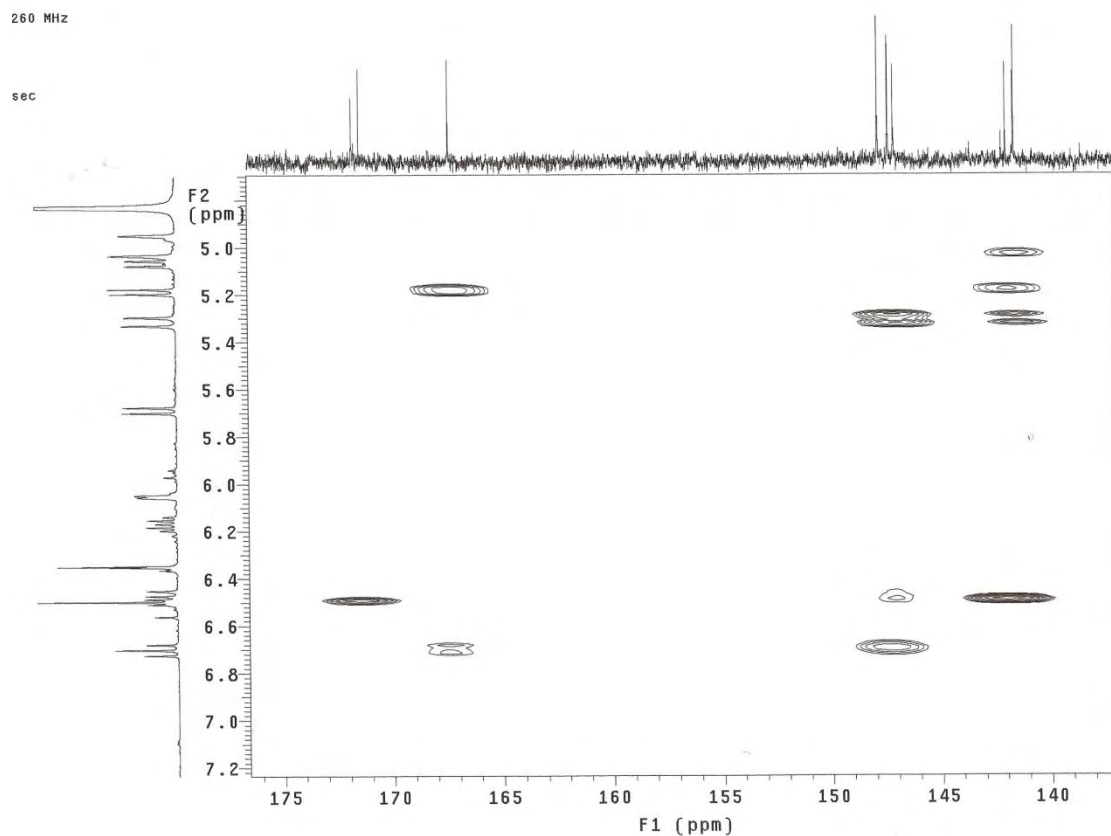


Figura 137. Expansão do mapa de contornos gHMBC de **14** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

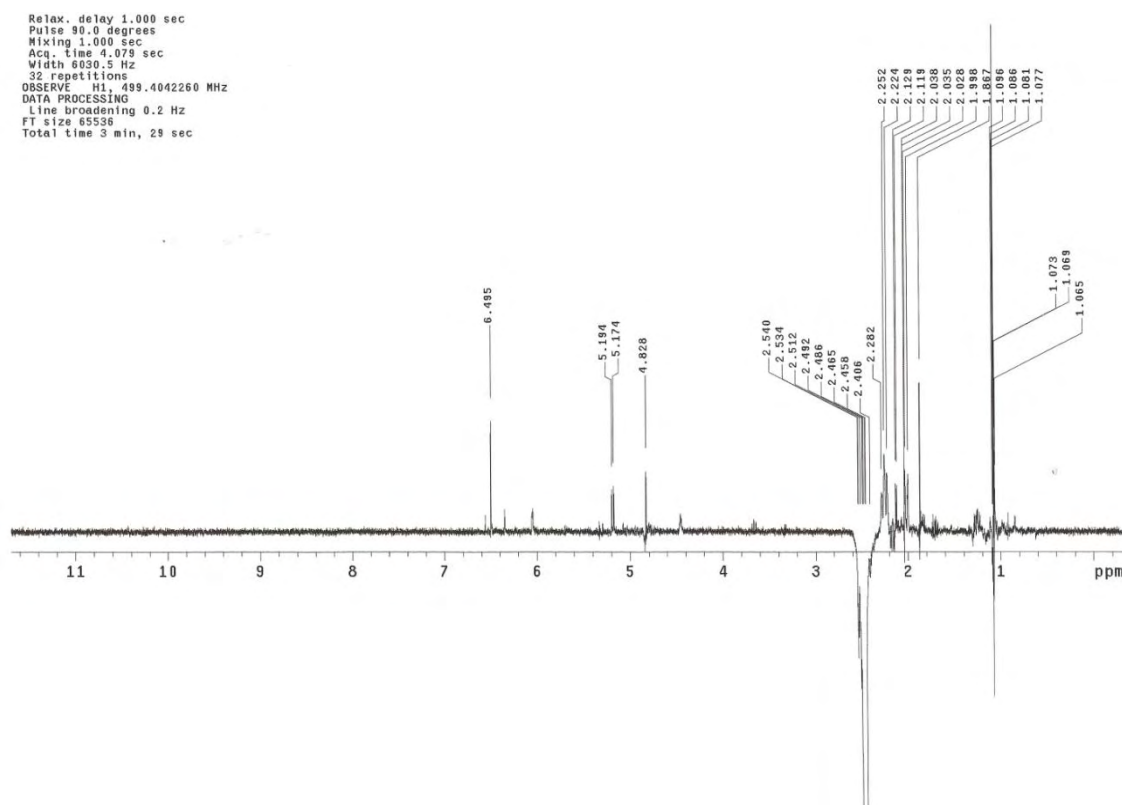


Figura 138. Espectro NOESY 1D de **14** (500 MHz, CD₃OD).

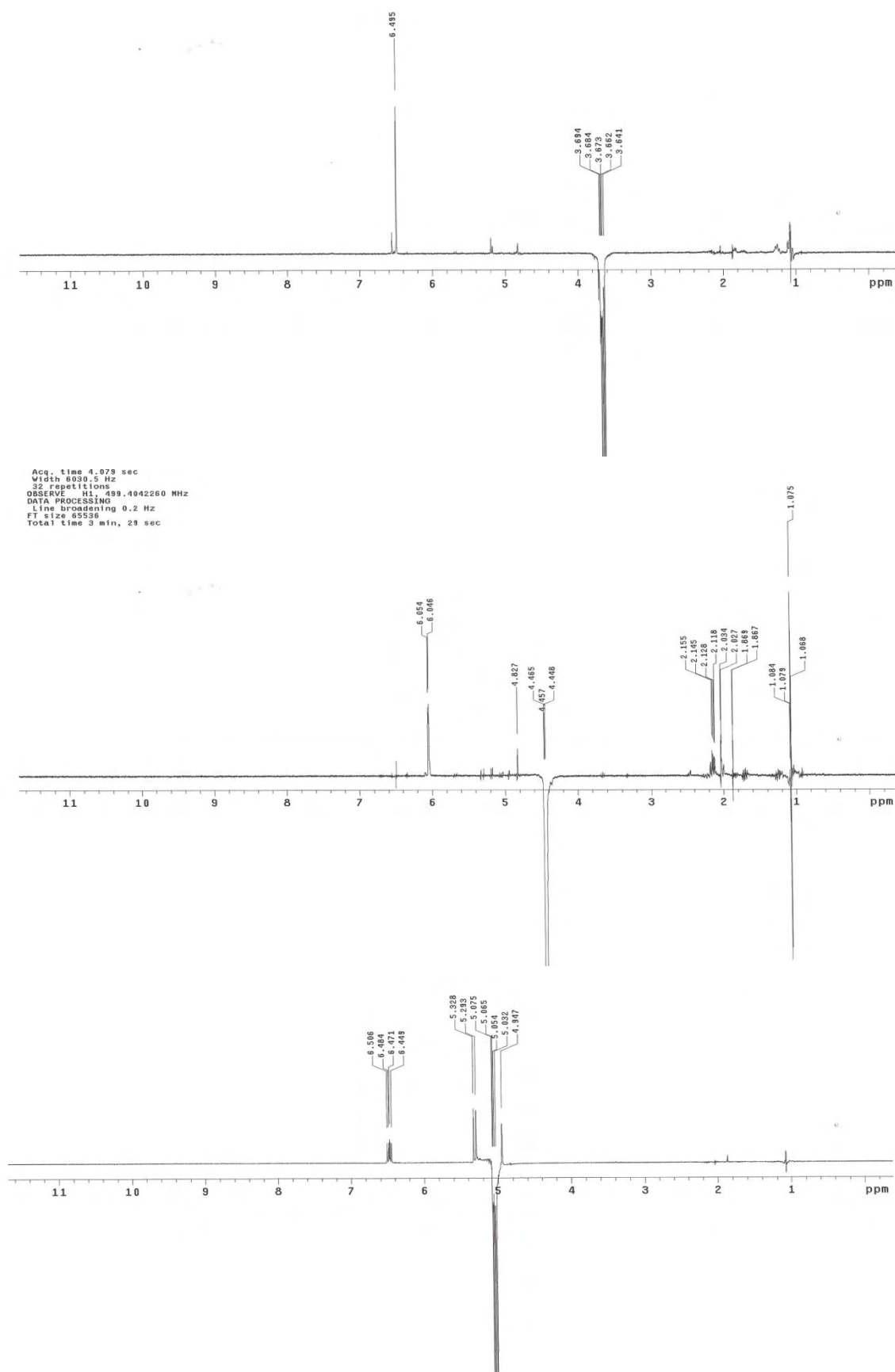


Figura 139. Espectros NOESY 1D de **14** (500 MHz, CD₃OD).

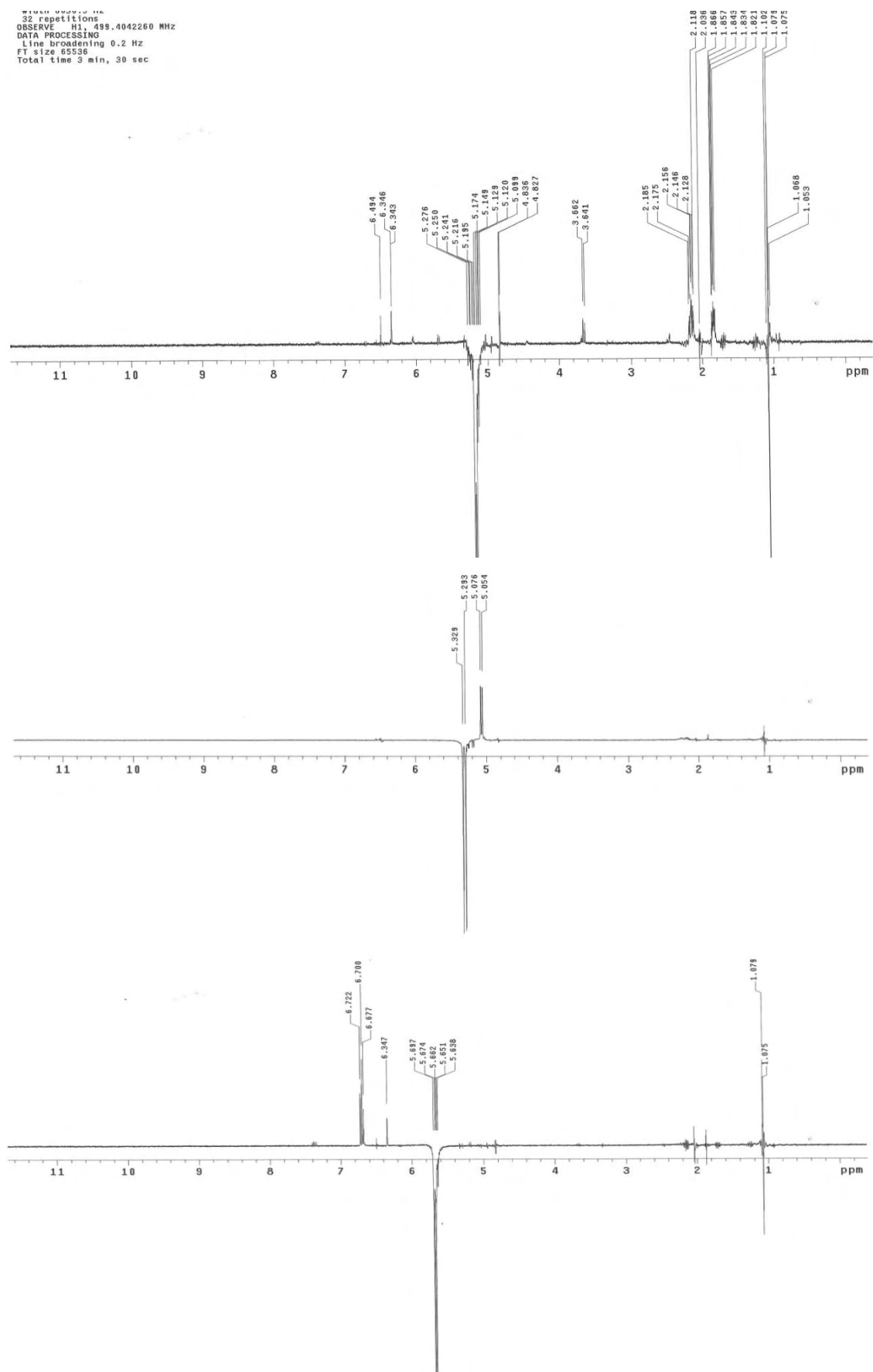


Figura 140. Espectros NOESY 1D de **14** (500 MHz, CD₃OD).
216

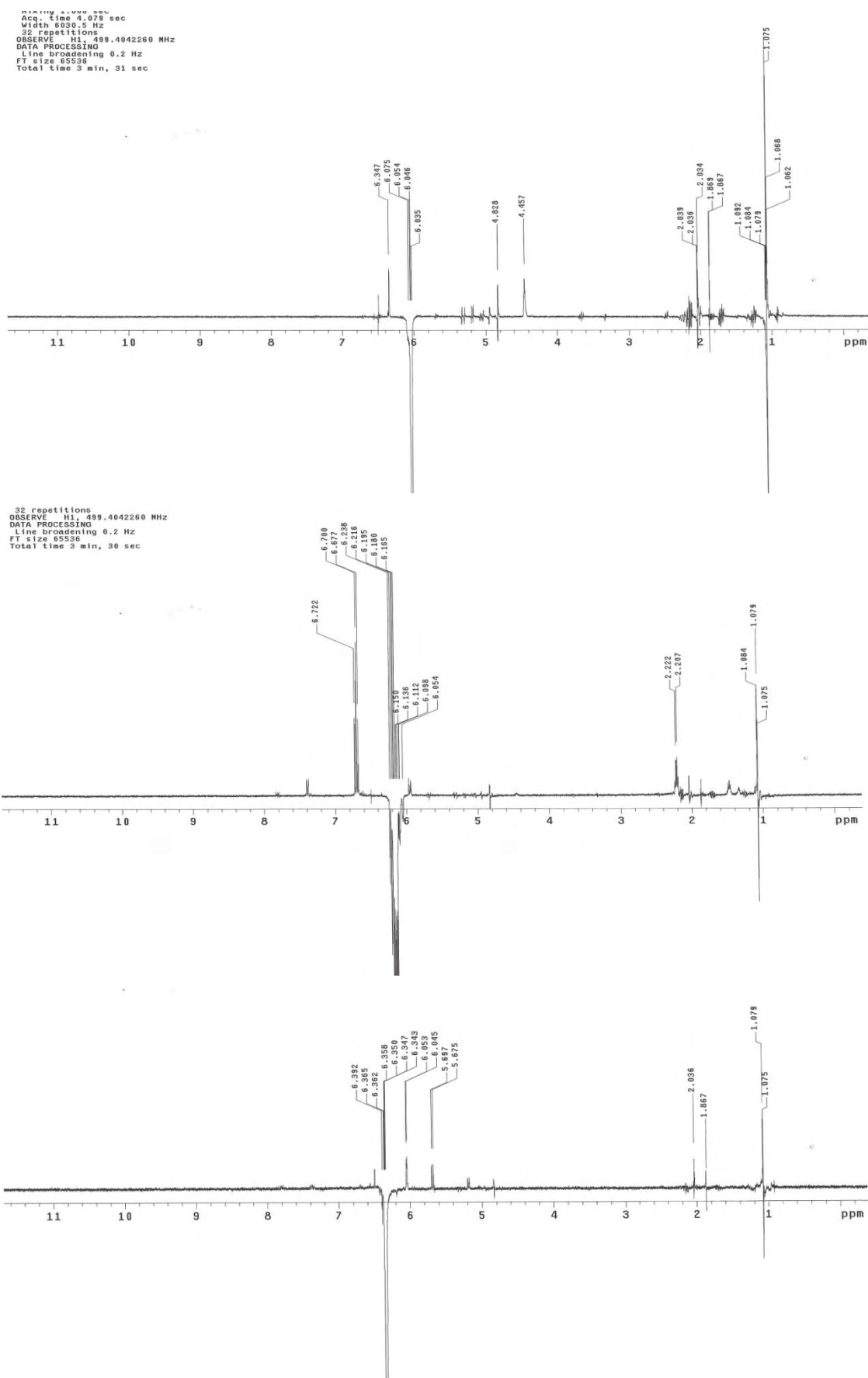


Figura 141. Espectros NOESY 1D de **14** (500 MHz, CD₃OD).

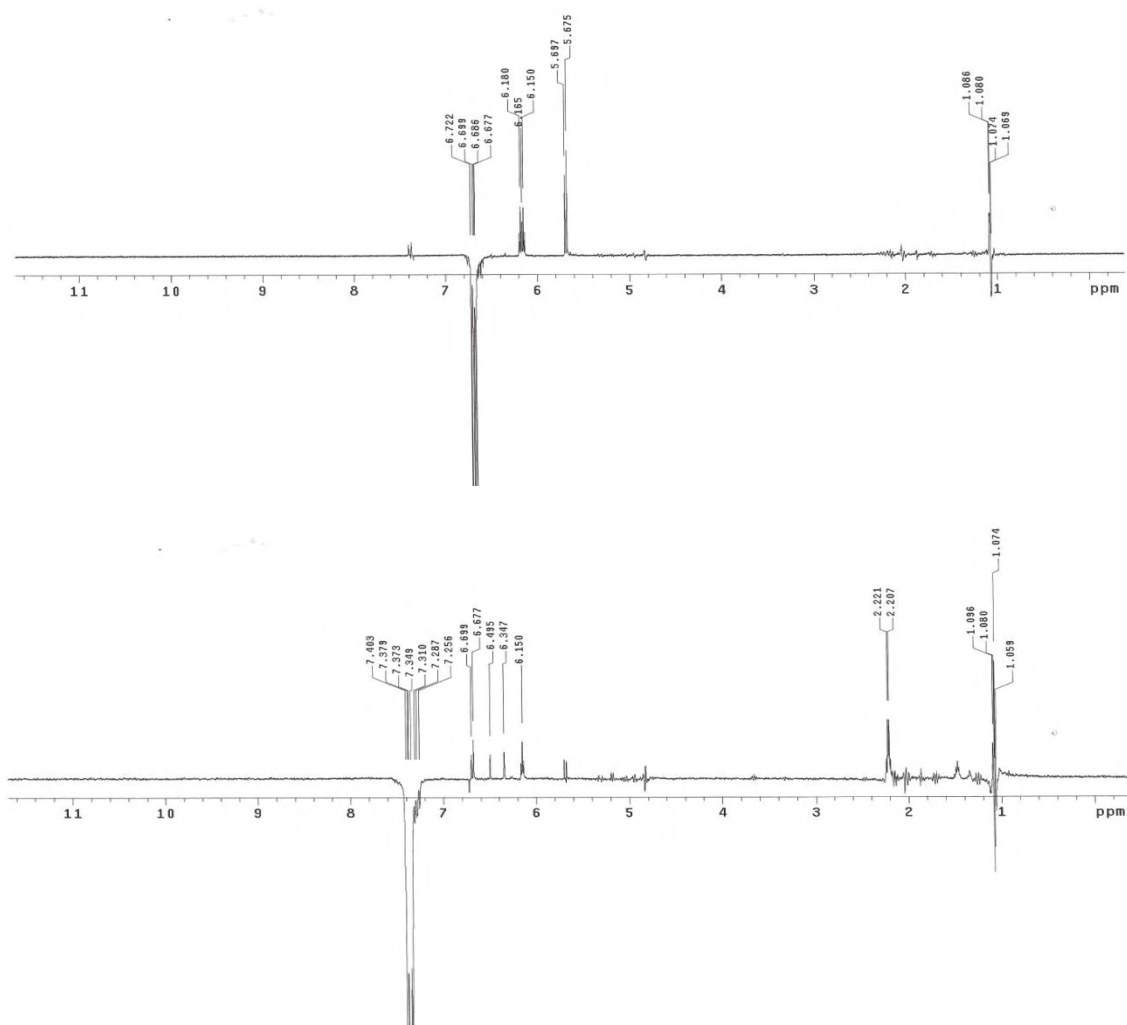


Figura 142. Espectros NOESY 1D de **14** (500 MHz, CD₃OD).

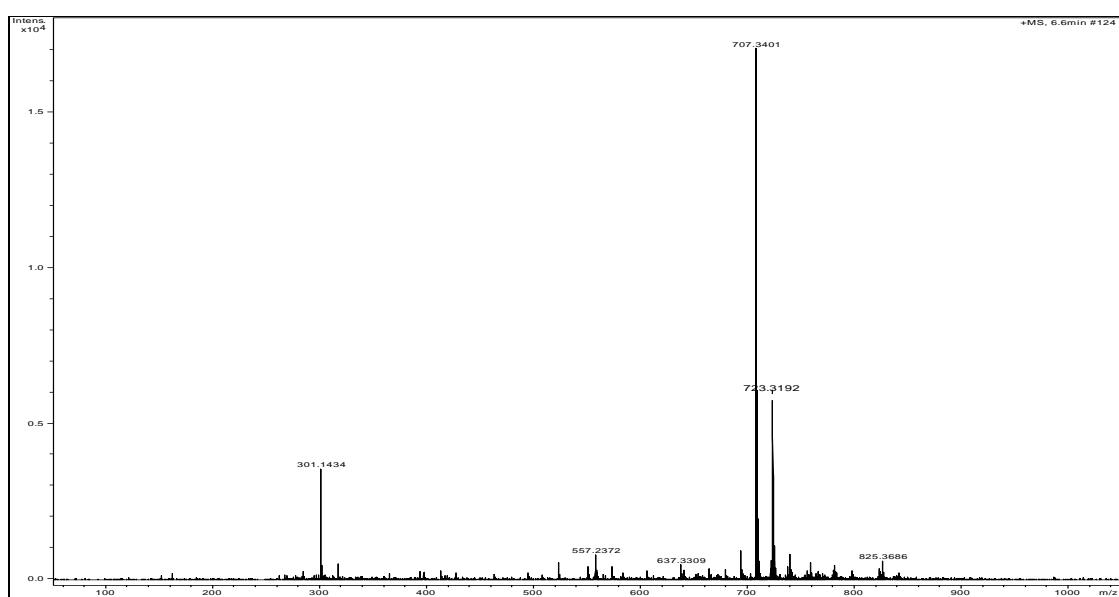


Figura 143. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **14a**.

Magela GEII-FE12-14-2-Ac 04/11/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp: 30.6 C / 303.1 K

INOVA-300 "multis64"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 3.744 sec

Width 3760.9 Hz

Observer: H1

OSERVE: H1 299.9565022 MHz

DATA PROCESSING

FT size 32768

Total time 2 min, 0 sec

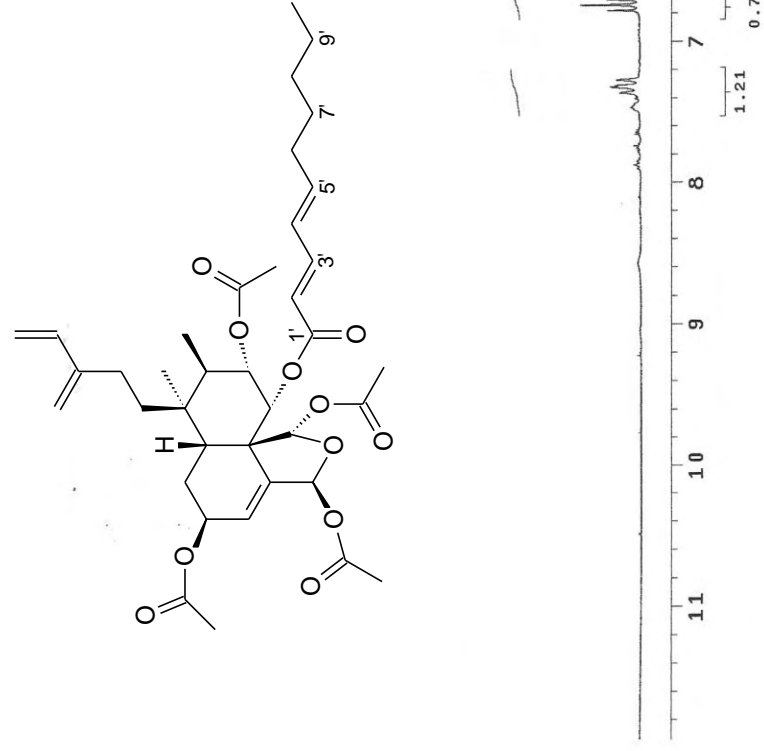


Figura 144. Espectro de RMN ^1H de 14a (300 MHz, CD_3OD).

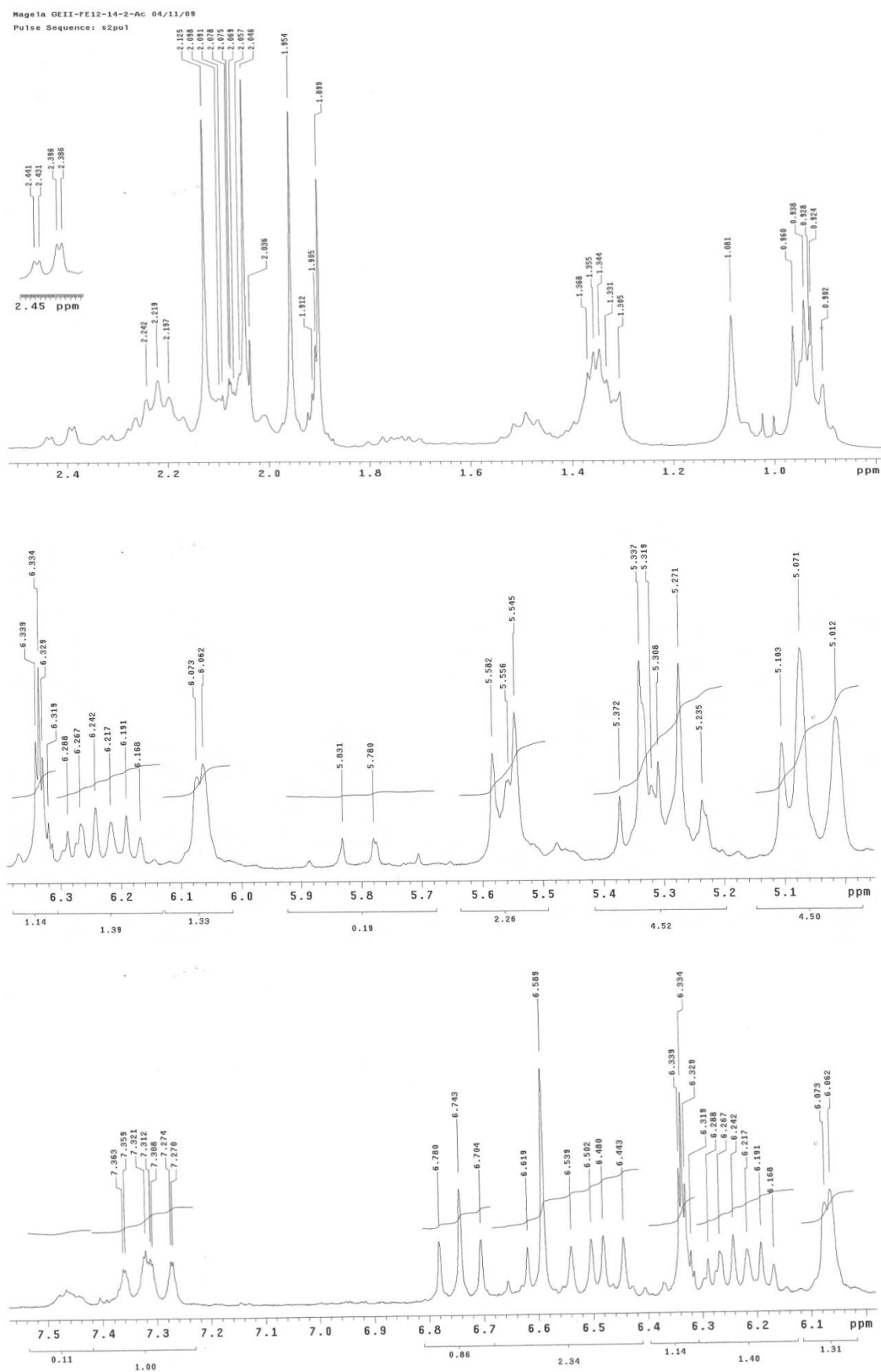


Figura 145. Expansões do espectro de RMN ^1H de **14a** (300 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-14-2-Ac 04/11/09

Pulse Sequence: s2pul1

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INOV-300 "nu1t164"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.815 sec

Width 17421.6 Hz

1364 repetitions

OBSERVE C13, 75.4240174 MHz

DECOUPLE H1, 299.9580021 MHz

Power 30 dB

continuously on

wait 1.000 sec

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 2 hr, 59 min, 57 sec

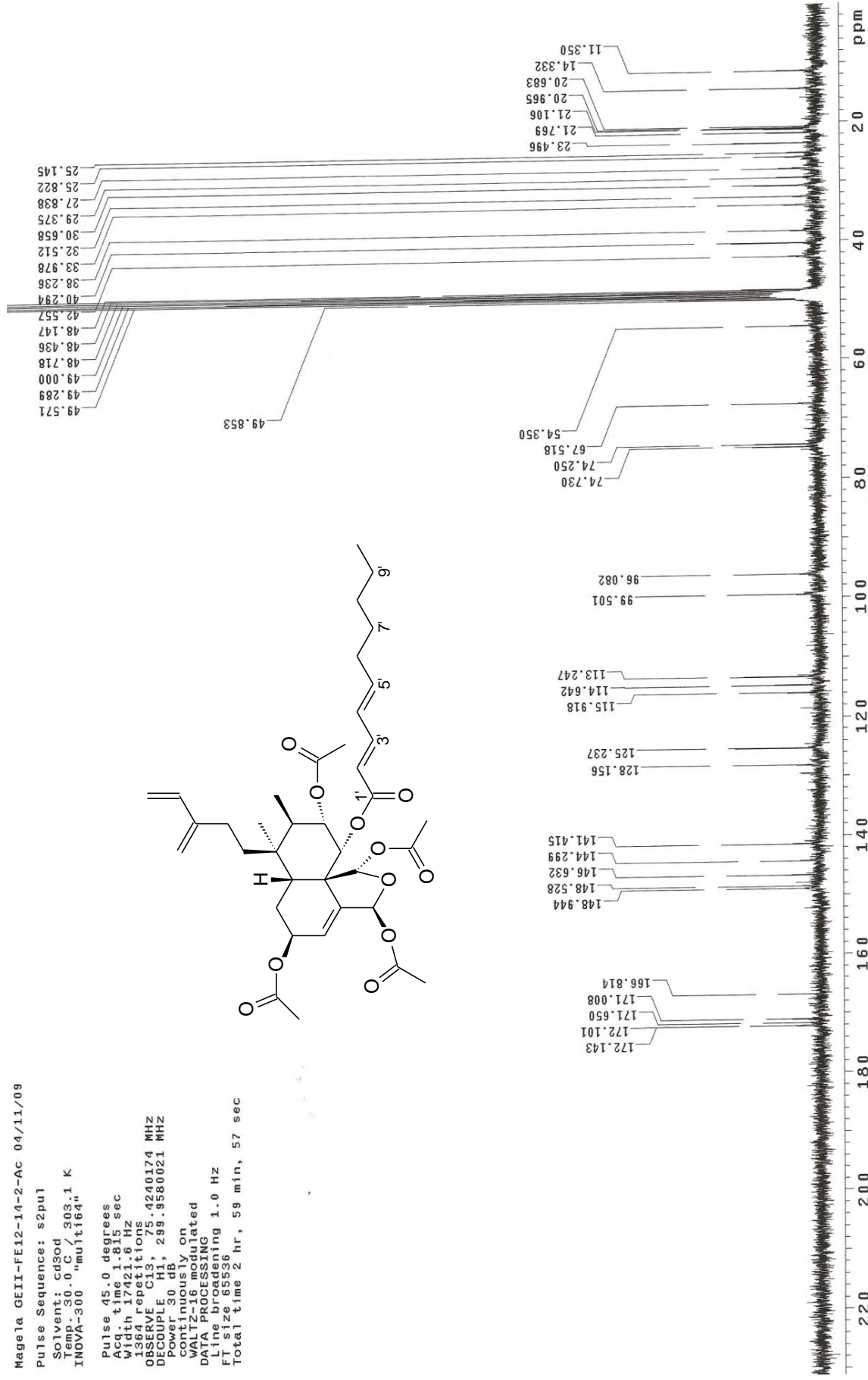
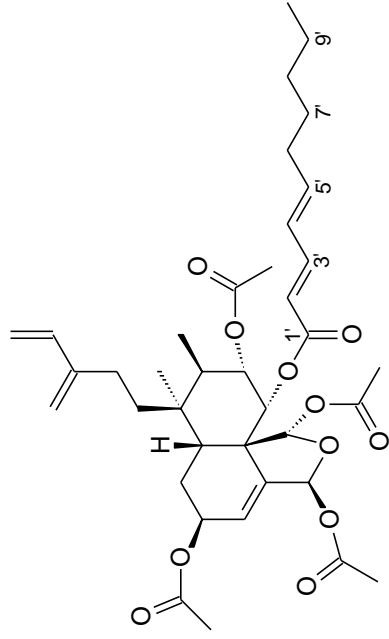


Figura 146. Espectro de RMN ^{13}C de **14a** (75 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-14-2-AC 04/11/08

Pulse Sequence: DEPT

Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
File: magela_GEII-FE12142Ac_dept
INOVA-300 "multis64"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.815 sec
Width 17421.6 Hz
468 repetitions
OBSERVE C13, 75.4240174 MHz
DECOUPLE H1, 299.9580021 MHz
Power 30 dB,
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 44 min, 38 sec

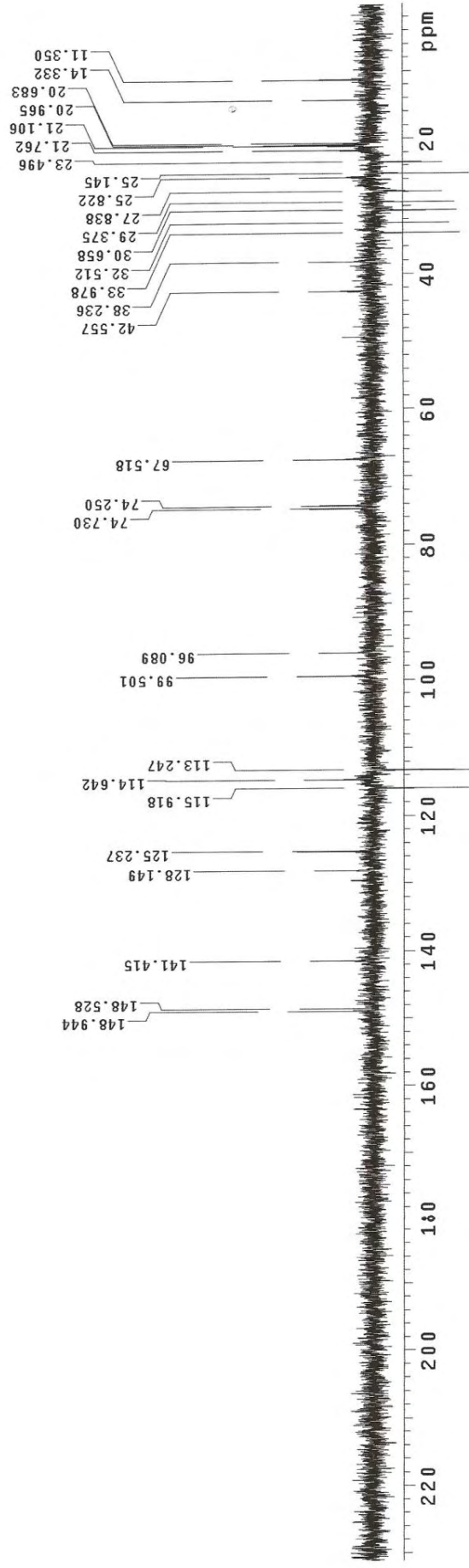


Figura 147. Espectro de RMN DEPT 135° de **14a** (75 MHz, CD₃OD).

Magela OEII-FE12-14-2-Ac 04/11/09

Pulse Sequence: HETCOR

Solvent: cd3od 303.1 K

Temp: 30.0 C

INOVA-300 "multisq"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.059 sec

Width 17421.6 Hz

2D Width 3780.9 Hz

48 repetitions

2 x 128 increments

OBSERVE C13, 75.4240105 MHz

DEVELOPE H1, 299.3581923 MHz

Power 50 dB

on during acquisition

off during delay

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.027 sec

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.021 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 3 hr, 46 min, 30 sec

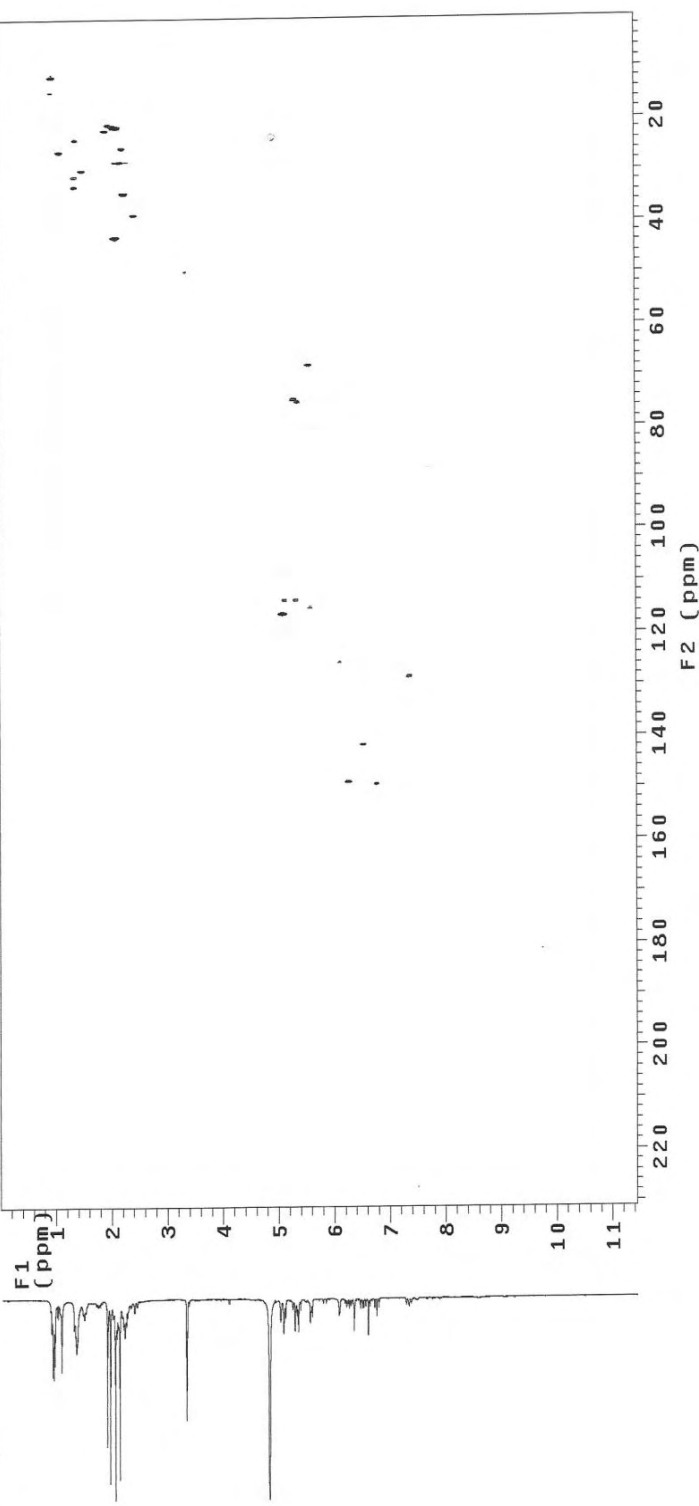


Figura 148. Mapa de contornos HETCOR de **14a** (300 e 75 MHz, CD₃OD).

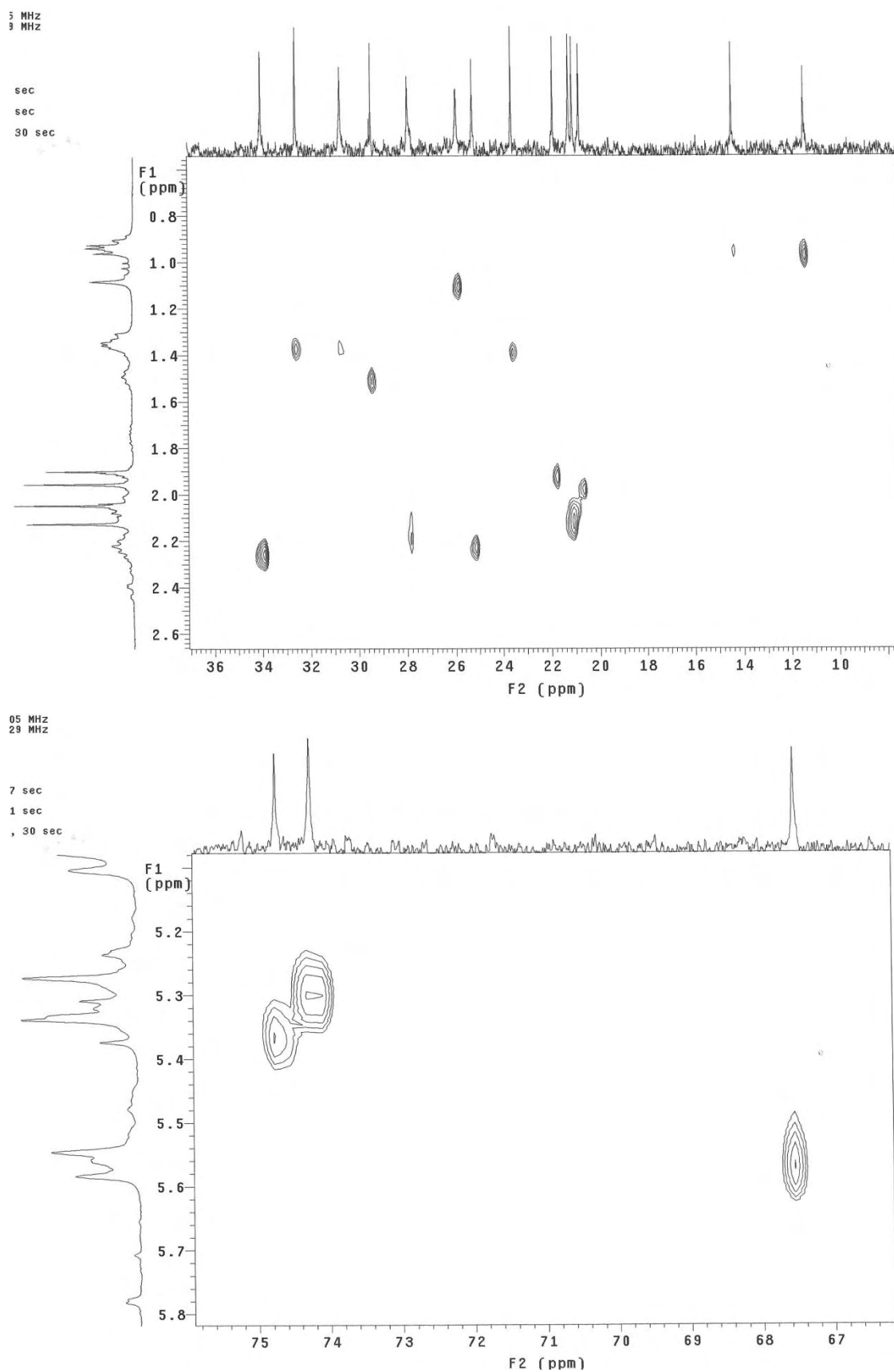


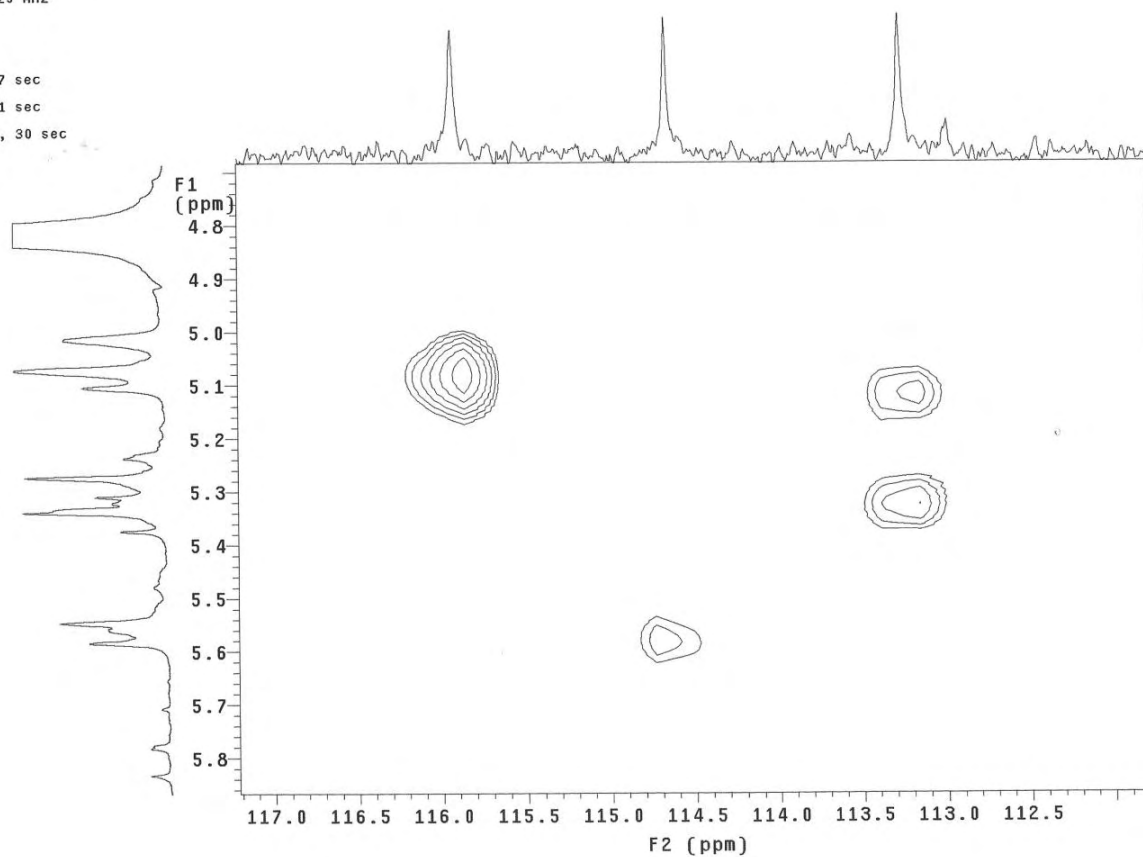
Figura 149. Expansões do mapa de contornos HETCOR de **14a** (300 e 75 MHz, CD₃OD).

29 MHz

0.7 sec

0.1 sec

1, 30 sec



5 MHz
9 MHz

sec

sec

30 sec

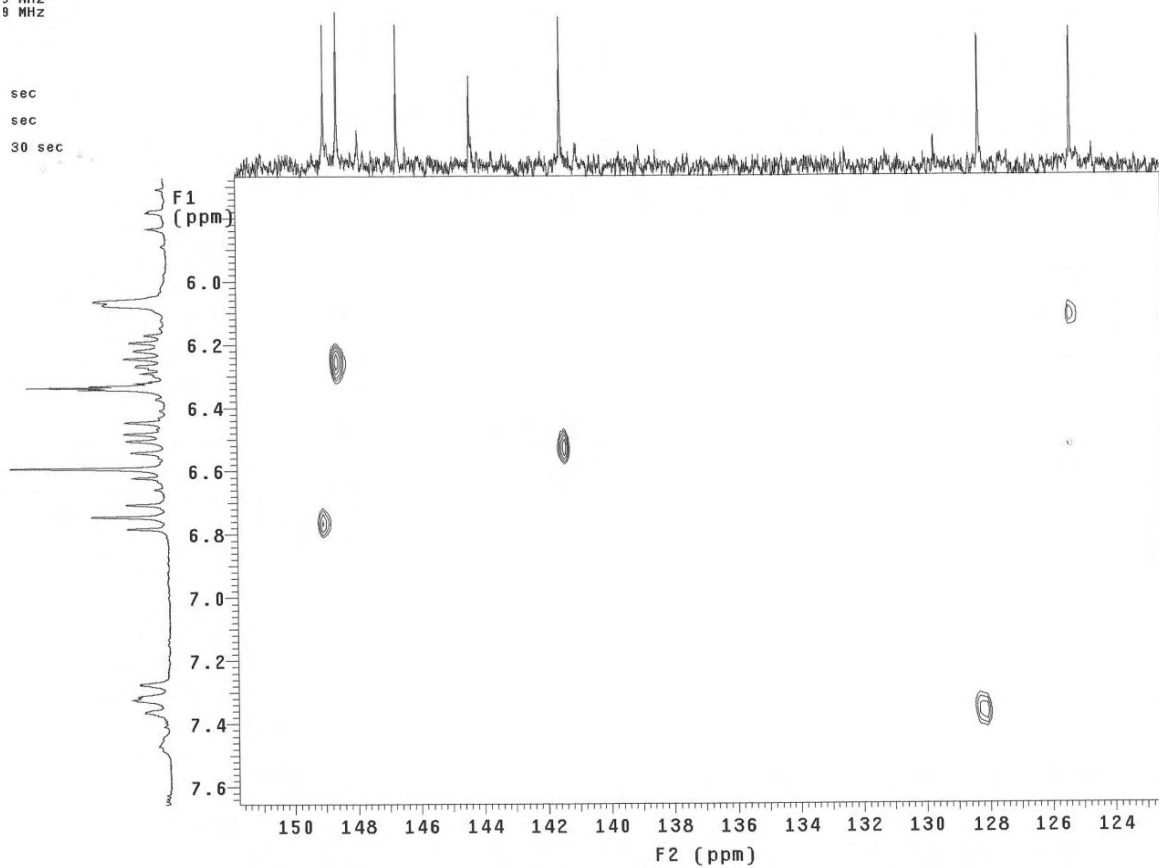
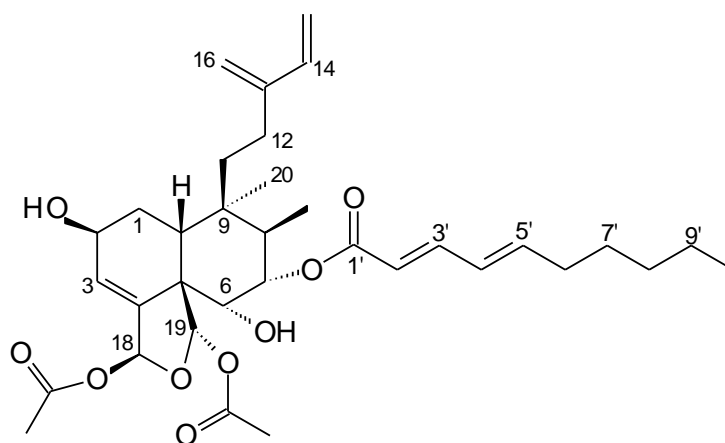


Figura 150. Expansões do mapa de contornos HETCOR de **14a** (300 e 75 MHz, CD₃OD).

5.4.3. Casearupestrinas B-D (**16-18**), Casearupestrina F (**18a**) e Casearupestrina G (**15**)

Outras 4 substâncias purificadas foram identificadas como diterpenos clerodânicos (**15-18**) e outra foi obtida como produto de acetilação (**18a**). Os dados de experimentos de RMN uni (¹H, ¹³C, NOESY 1D, DEPT 90° e 135°) e bidimensionais (gHMQC, gCOSY, HETCOR, gHMBC e NOESY 2D) confirmaram as estruturas químicas propostas, além dos dados de UV, IV e massas. A identificação estrutural foi realizada de maneira muito semelhante ao discutido para a casearupestrina A, confirmando as sub-estruturas referentes ao anel decalínico (A e B, C-1 a C-10), à cadeia lateral em C-9 e ao anel diacetálico (C). A determinação da configuração relativa destas substâncias também foi realizada considerando-se os mesmos aspectos discutidos para a casearupestrina A.

5.4.4. Casearupestrina B (**16**)



16

O espectro de massas (Figura 153) de alta resolução de **16** (HRTOF-ESIMS) no modo positivo apresentou pico relativo ao íon [M+Na]⁺ com valor de *m/z* 623,3206 (calculado para C₃₄H₄₈O₉Na *m/z* 623,3190), concordante com a fórmula molecular C₃₄H₄₈O₉ para o íon molecular. Os espectros de UV e IV (Figuras 154-155) da substância **16** foram muito semelhantes aos de **14**.

Os espectros de RMN de ¹H, de ¹³C e DEPT 135° de **16** (Figuras 156-160 e Tabela 24) revelaram os mesmos substituintes descritos para **14**. No entanto, diferenças nos valores dos deslocamentos químicos de H-6 (δ 3,75, d, *J* = 10,5 Hz) e

H-7 (δ 5,15, t, J = 10,5 Hz) de **16**, quando comparados aos deslocamentos químicos de **14**, sugeriram que o substituinte decadienoato esta no C-7, diferente de **14** em que este substituinte encontra-se no C-6. Esta estrutura foi corroborada pelas mesmas correlações observadas para **14** nos mapas de contornos gCOSY, gHMBC e gHMBC (Figuras 161-170, 151 e Tabela 22). A configuração relativa foi determinada usando os valores das constantes de acoplamento e espectros de NOESY 1D (Figuras 171-173, 152 e Tabela 22).

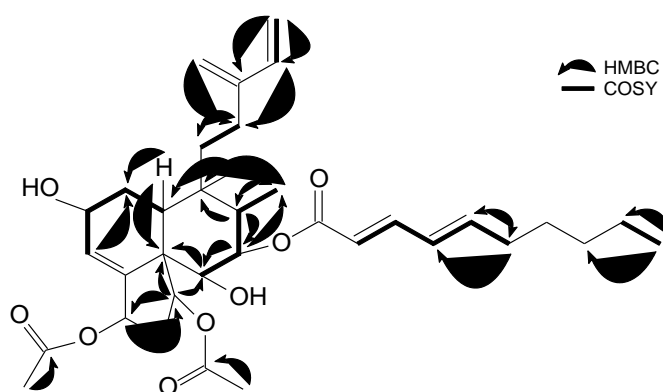


Figura 151. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC (^1H → ^{13}C) para **16**.

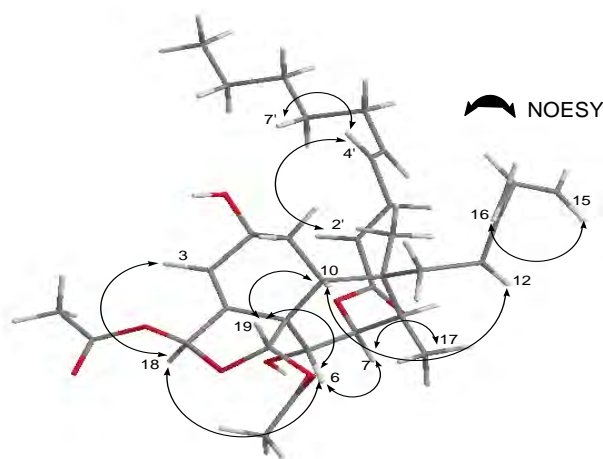


Figura 152. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (^1H ↔ ^1H) para **16**.

Com base nas análises relatadas acima a substância **16** foi elucidada como um novo diterpenóide denominado casearupestrina B, que é dextrorrotatória $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +76^\circ$ (CHCl_3 , c 0,1).

TABELA 22. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **16**, incluindo resultados de mapas de contornos (*g*HMBC e *g*HMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$) ^a	<i>g</i> HMBC	NOESY 1D
1	30,6 (CH_2)	1a	1,34 m	H-10	-
		1b	1,91 m		
2	64,2 (CH)	2	4,39 tl (4,5)	-	H-3; H-5'
3	127,0 (CH)	3	6,02 dl (4,0)	-	H-2
4	143,5 (C)	-	-	H-6; H-19	-
5	55,2 (C)	-	-	H-6; H-10; H-19	-
6	75,2 (CH)	6	3,75 d (10,5)	H-7; H-19	H-7
7	76,1 (CH)	7	5,15 t (10,5)	H-6; H-8; H-17	H-6; H-19
8	43,1 (CH)	8	1,91 m	H-17; H-20	-
9	40,2 (C)	-	-	H-8; H-10; H-17; H-20	-
10	36,5 (CH)	10	2,46 dd (4,0; 13,5)	H-20	-
11	29,5 (CH_2)	11	1,46 m	-	-
12	25,1 (CH_2)	12a	2,25 m	H-14; H-16	H-10
		12b			
13	146,9 (C)	-	-	H-15	-
14	141,6 (CH)	14	6,46 dd (6,5, 17,5)	H-15	H-7; H-15
15	113,1 (CH_2)	15a	5,04 s	-	H-14; H-16
		15b	5,29 d (17,5)		
16	115,7 (CH_2)	16a	5,04 s	-	-
		16b	5,00 s		
17	11,5 (CH_3)	17	0,89 d (7,0)	H-7; H-8	-
18	97,2 (CH)	18	6,65 tl (2,0)	H-19	H-3; H-6
19	100,1 (CH)	19	6,51 s	H-6; H-18	H-6; H-7; H-10
20	26,2 (CH_3)	20	1,04 s	-	-
1'	168,0 (C)	-	-	H-6	-
2'	116,3, (CH)	-	5,63 d (11,5)	-	H-3'; H-5'
3'	147,1 (CH)	3'	6,65 d (7,0)	-	H-2'; H-4'; H-5'
4'	128,3 (CH)	4'	7,38 ddl (11,5, 14,0)	H-6'	H-5'
5'	146,9 (CH)	-	6,14 dd (7,0, 14,0)	H-6'	H-3'; H-4'
6'	33,9 (CH_2)	6'	2,17 m	H-5'	H-5'
7'	30,6 (CH_2)	7'a	1,91 m	-	H-4'
		7'b	1,34 m		
8'	32,5 (CH_2)	8'	1,34 m	H-10'	-
9'	23,5 (CH_2)	9'	1,34 m	H-10'	-
10'	14,3 (CH_3)	10'	0,92 s	-	-
18-C=O	172,0 (C)	-	-	COOMe-18	-
19-C=O	171,5 (C)	-	-	H-19; COOMe-19	-
COOMe-18	21,0 (CH_3)	COOMe-18	2,05 s	-	-
COOMe-19	21,8 (CH_3)	COOMe-19	1,87 s	-	-

^aAtribuições baseadas nos mapas de contornos *g*COSY e *g*HMQC.

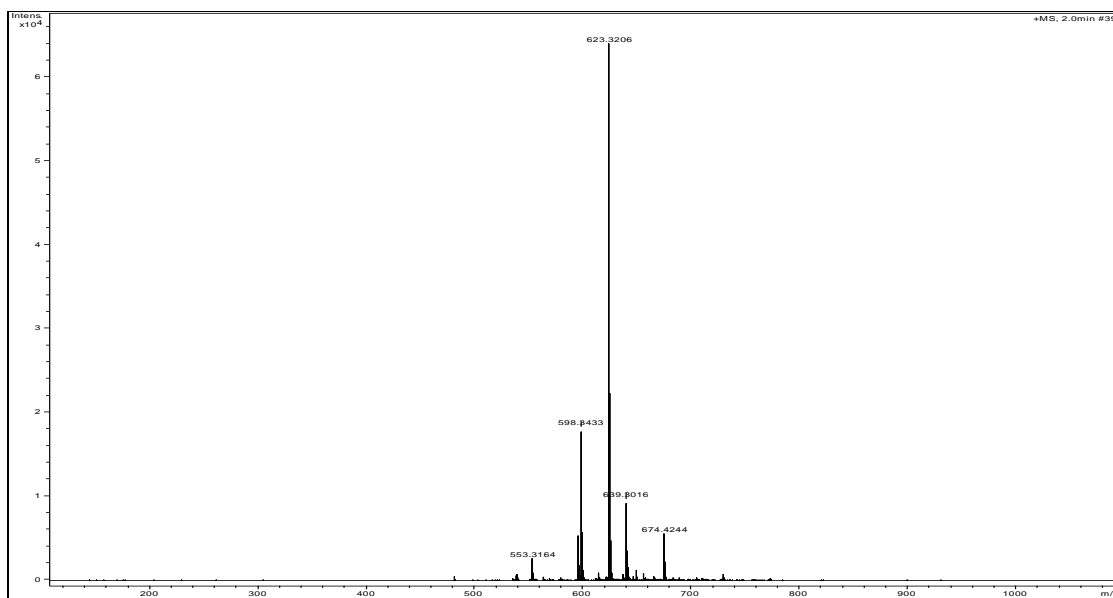


Figura 153. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **16**.

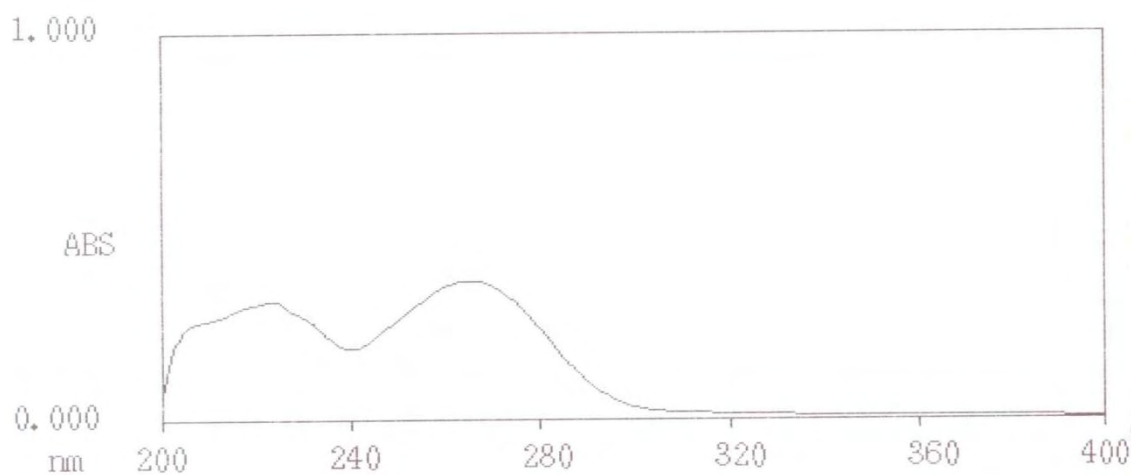


Figura 154. Espectro de absorção no UV de **16**.

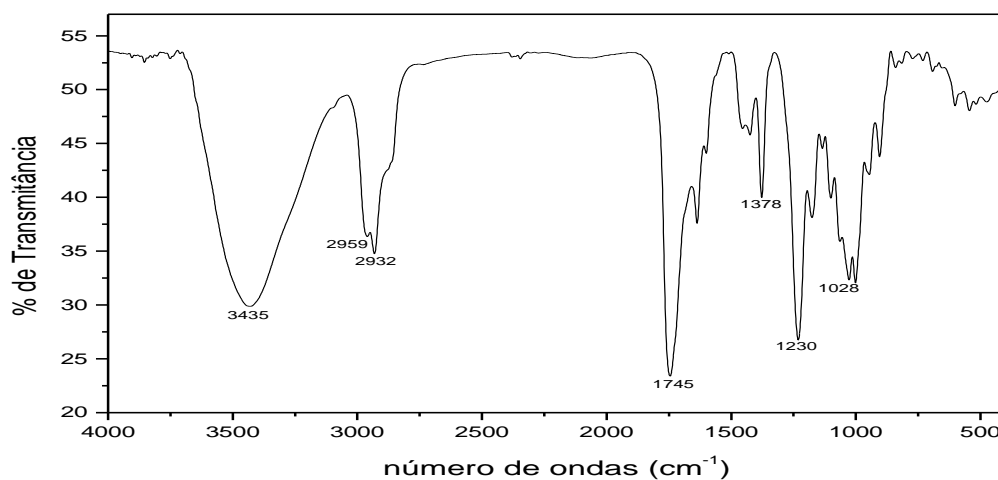


Figura 155. Espectro de absorção na região do IV de **16** (KBr).

()
()
()
O
I
A
= = =
= = =
I
)
= = =
)
. .
{
)
.

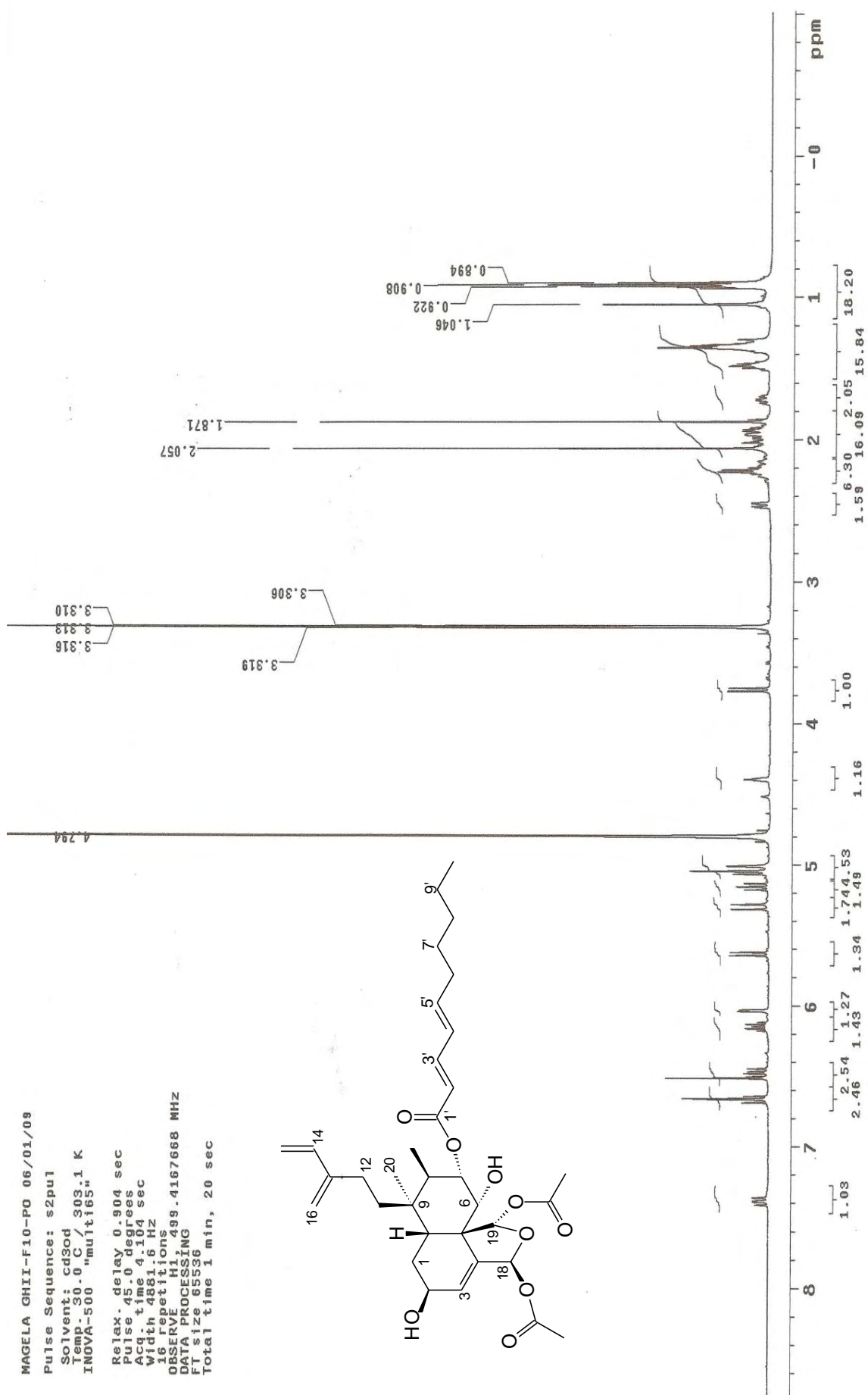
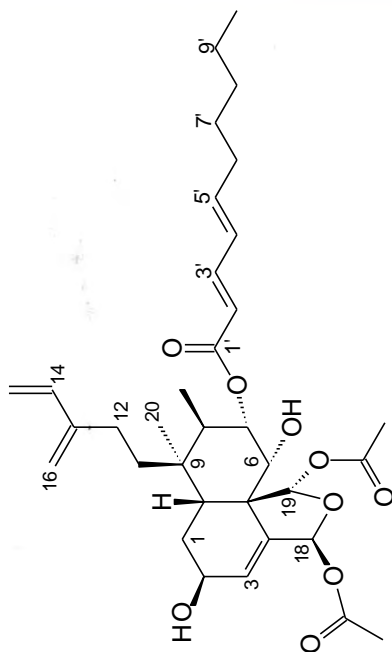


Figura 156. Espectro de RMN ^1H de **16** (500 MHz, CD_3OD).

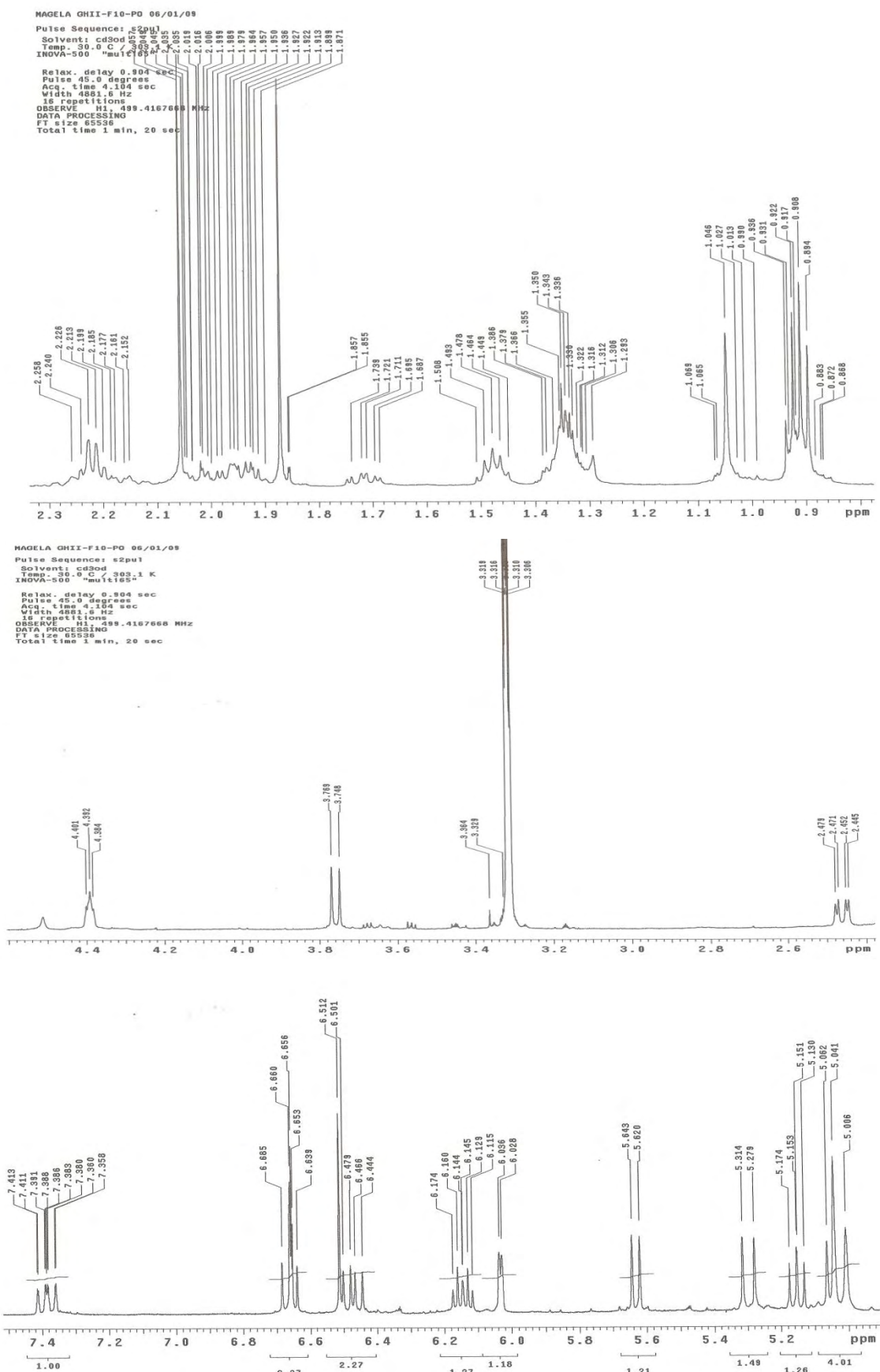


Figura 157. Expansões do espectro de RMN ^1H de **16** (500 MHz, CD_3OD).

STANDARD CARBON PARAMETERS

Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: cd3od
 Temp: 30.0 °C / 303.1 K
 Utemp: 30.0 °C / 303.1 K
 INOVA-500 "multis65"
 Relax. delay 0.957 sec
 Pulse 45.00 degrees
 Acq. time 1.092 sec
 Width 29027.6 Hz
 11480 repetitions
 OBSERVE C13, 125.5782666 MHz
 DECOUPLE H1, 499.4192640 MHz
 Power 30 dB
 Continuously on
 Data type 32
 Data processing
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 65536
 Total time 11 hr, 59 min, 43 sec

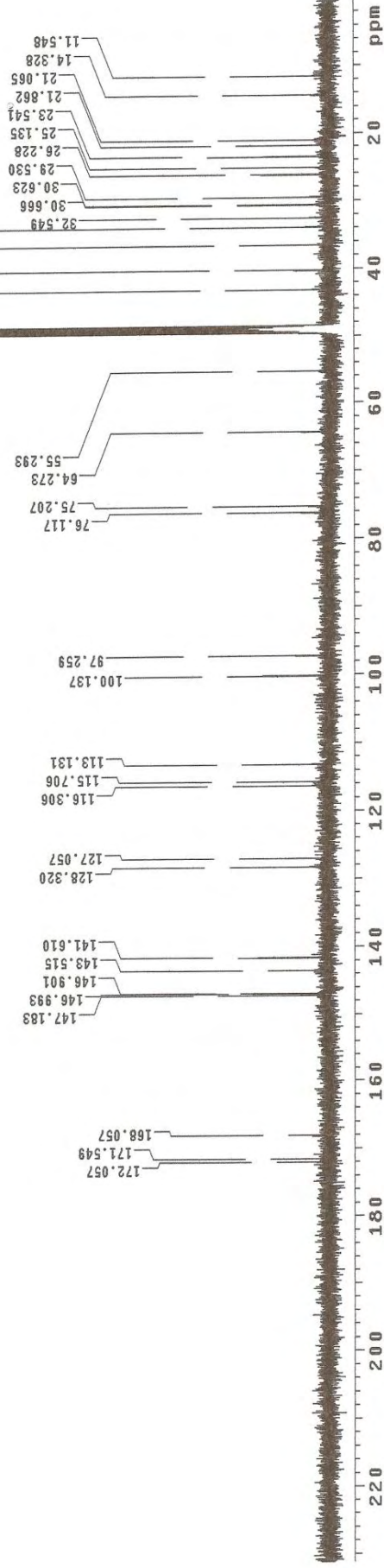
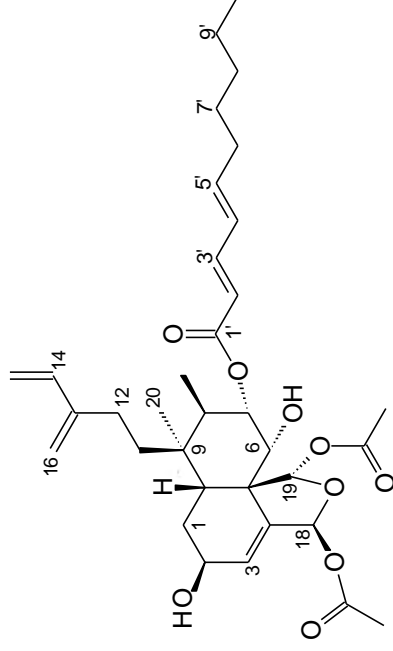


Figura 158. Espectro de RMN ¹³C de **16** (125 MHz, CD₃OD).

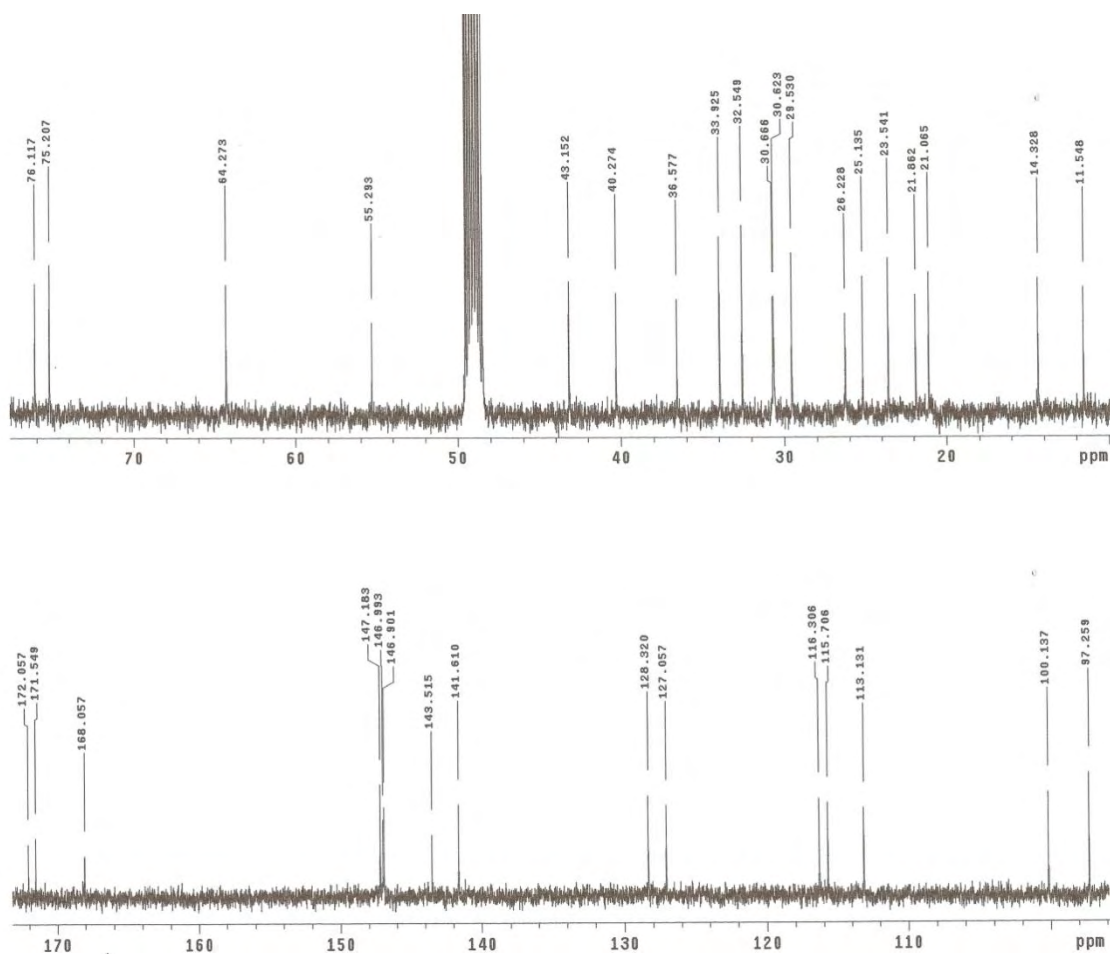


Figura 159. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **16** (125 MHz, CD_3OD).

Magela GHII-F10-PO 06/01/09
Pulse Sequence: DEPT135
Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: i-14-87
INOVA-500 "multis65"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.043 sec
Width 25027.6 Hz
6864 repetitions
OBSERVE C13, 125.5782675 MHz
DECOUPLE H1, 499.4192640 MHz
Power 30 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 7 hr, 59 min, 52 sec

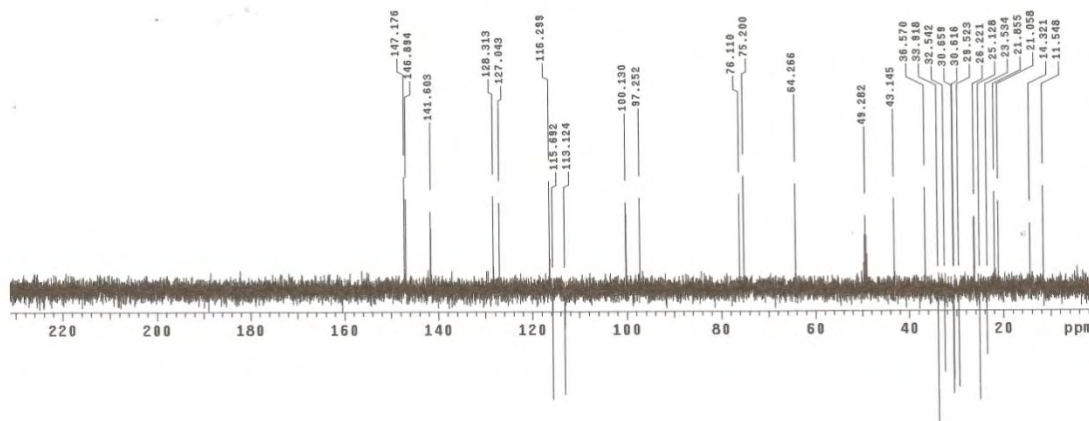


Figura 160. Espectro de RMN DEPT 135° de **16** (125 MHz, CD_3OD).

MAGELA GHII-F10-PO 06/01/09

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od

Temp: 30.0 C / 303.1 K

INNOVA-500 "multispec"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.210 sec

Width 4881.6 Hz

20 MHz

16 resolution

128 increments

OBSERVE H1, 499.4167668 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.105 sec

F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.015 sec

F2, 125.000 MHz

Total time 42 min, 30 sec

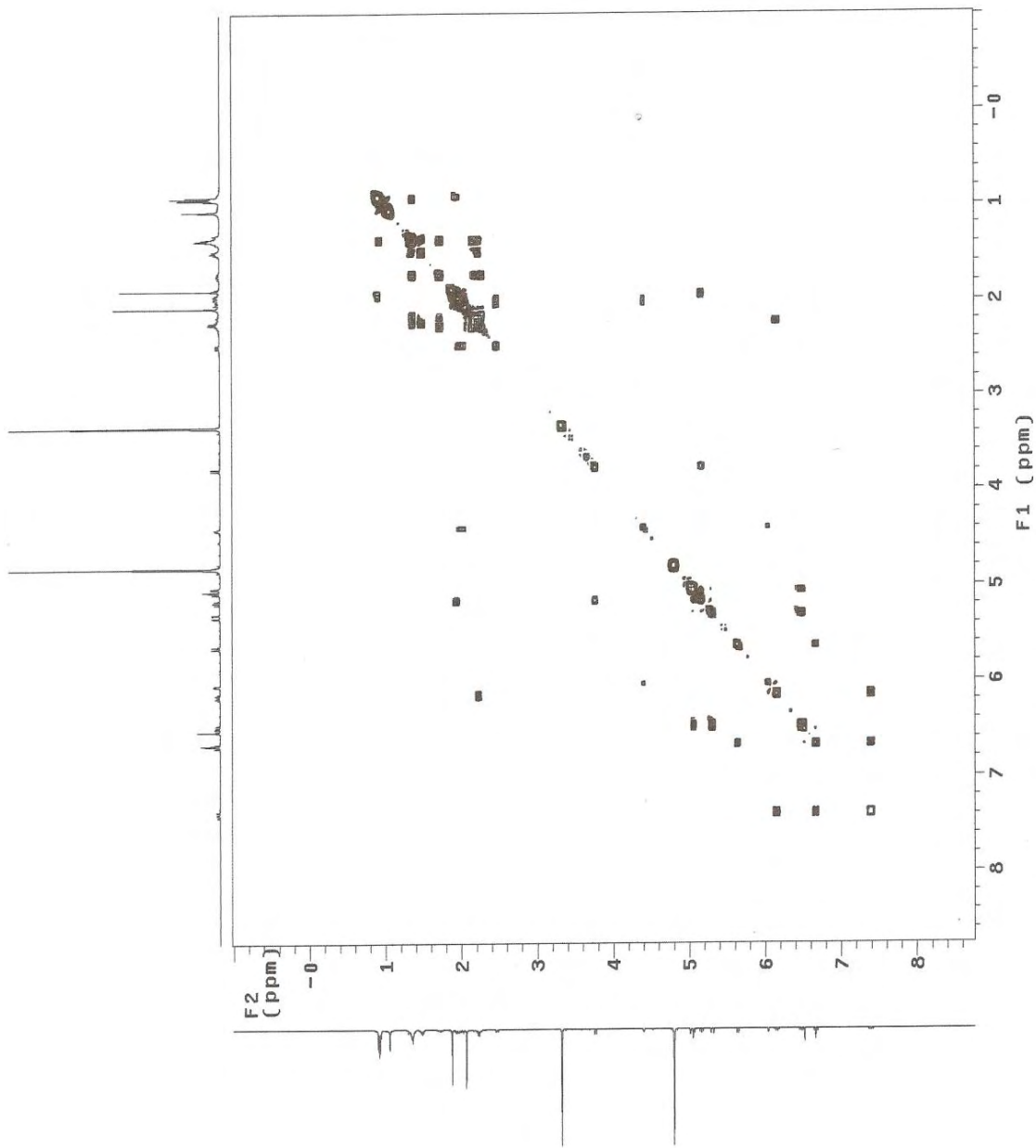


Figura 161. Mapa de contornos gCOSY de **16** (500 MHz, CD₃OD).

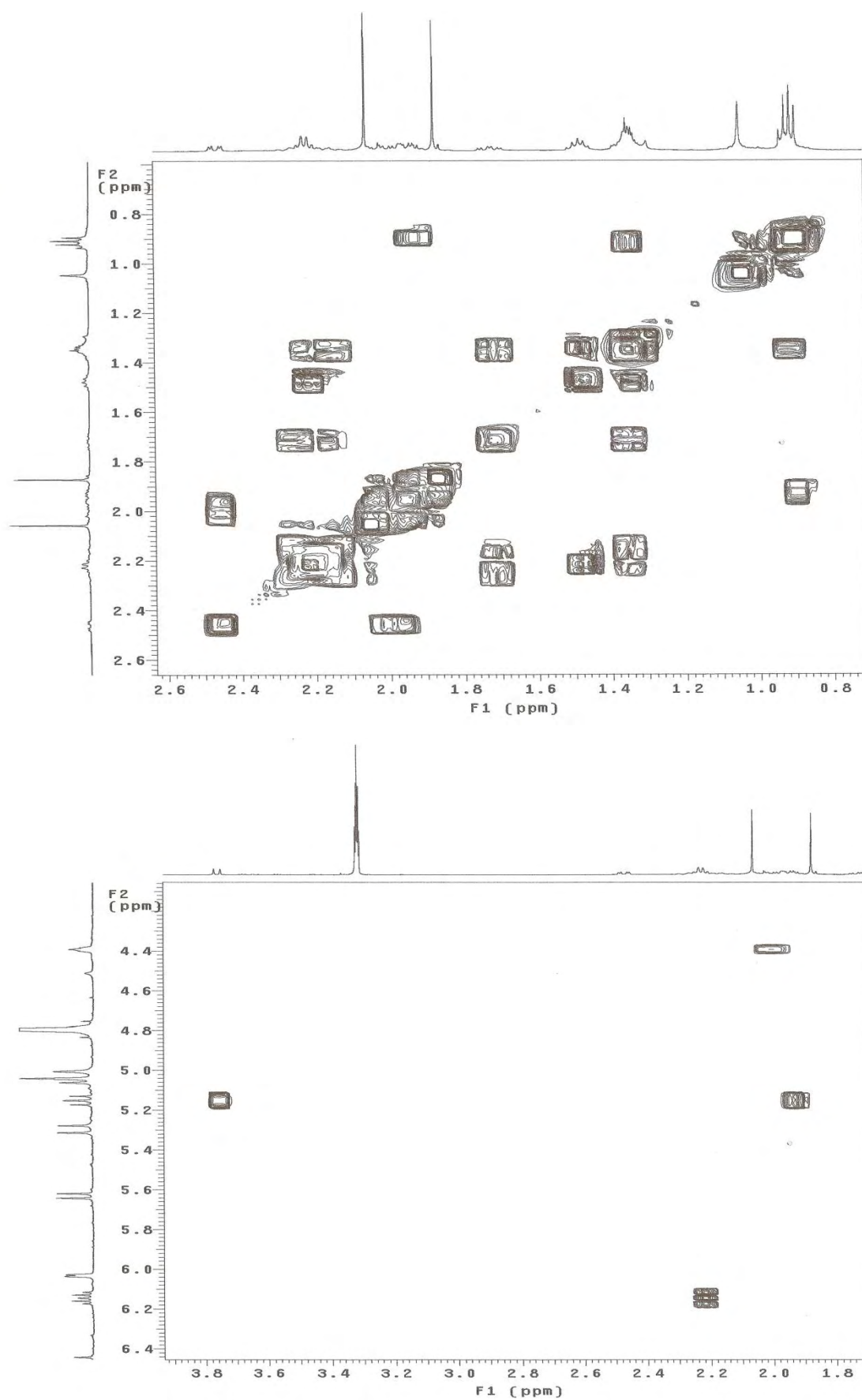


Figura 162. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **16** (500 MHz, CD₃OD).

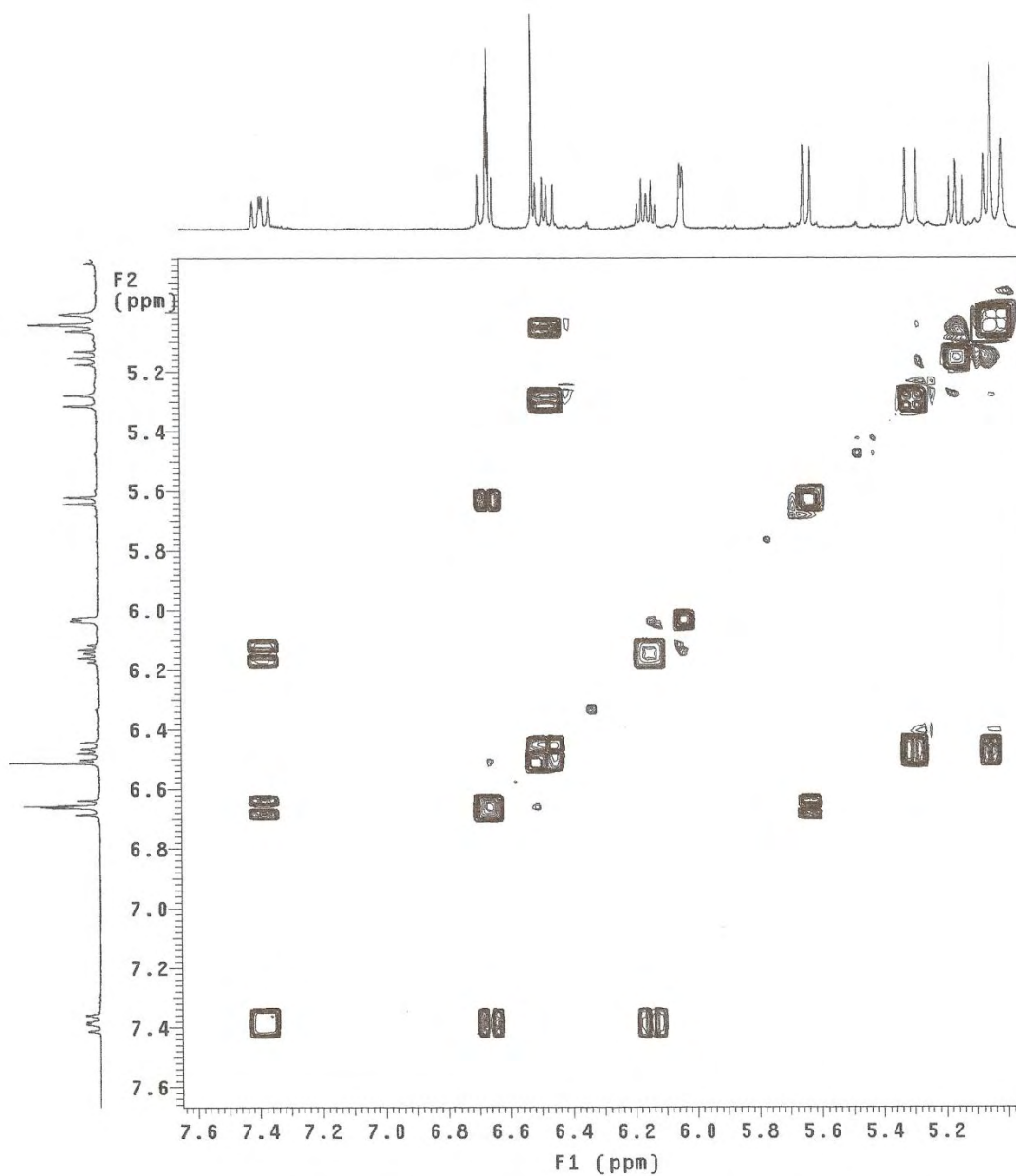


Figura 163. Expansão do mapa de contornos gCOSY de **16** (500 MHz, CD₃OD).

MAGELA GHII-F10-PO 06/01/09

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.210 sec

Width 4881.6 Hz

2D Width 13027.6 Hz

2 x 328 increments

OBSERVE H1, 499.4167668 MHz

DECOUPLE C13, 125.5927947 MHz

Power 47 dB

on during acquisition

off during delay

GRAPHS generated

DATA PROCESSING

F1 DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.087 sec

F1 Gauss apodization 0.003 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 2 hr, 53 min, 7 sec

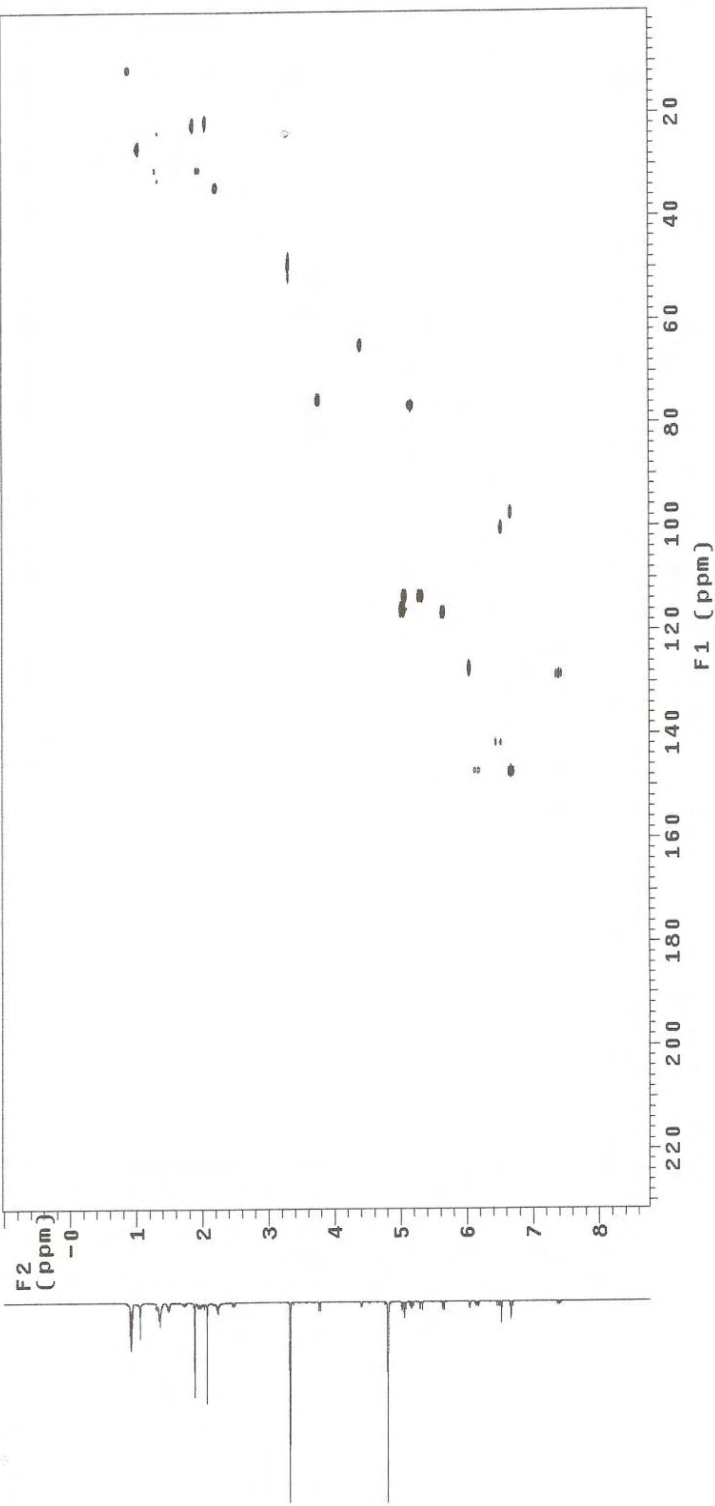


Figura 164. Mapa de contornos gHMQC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

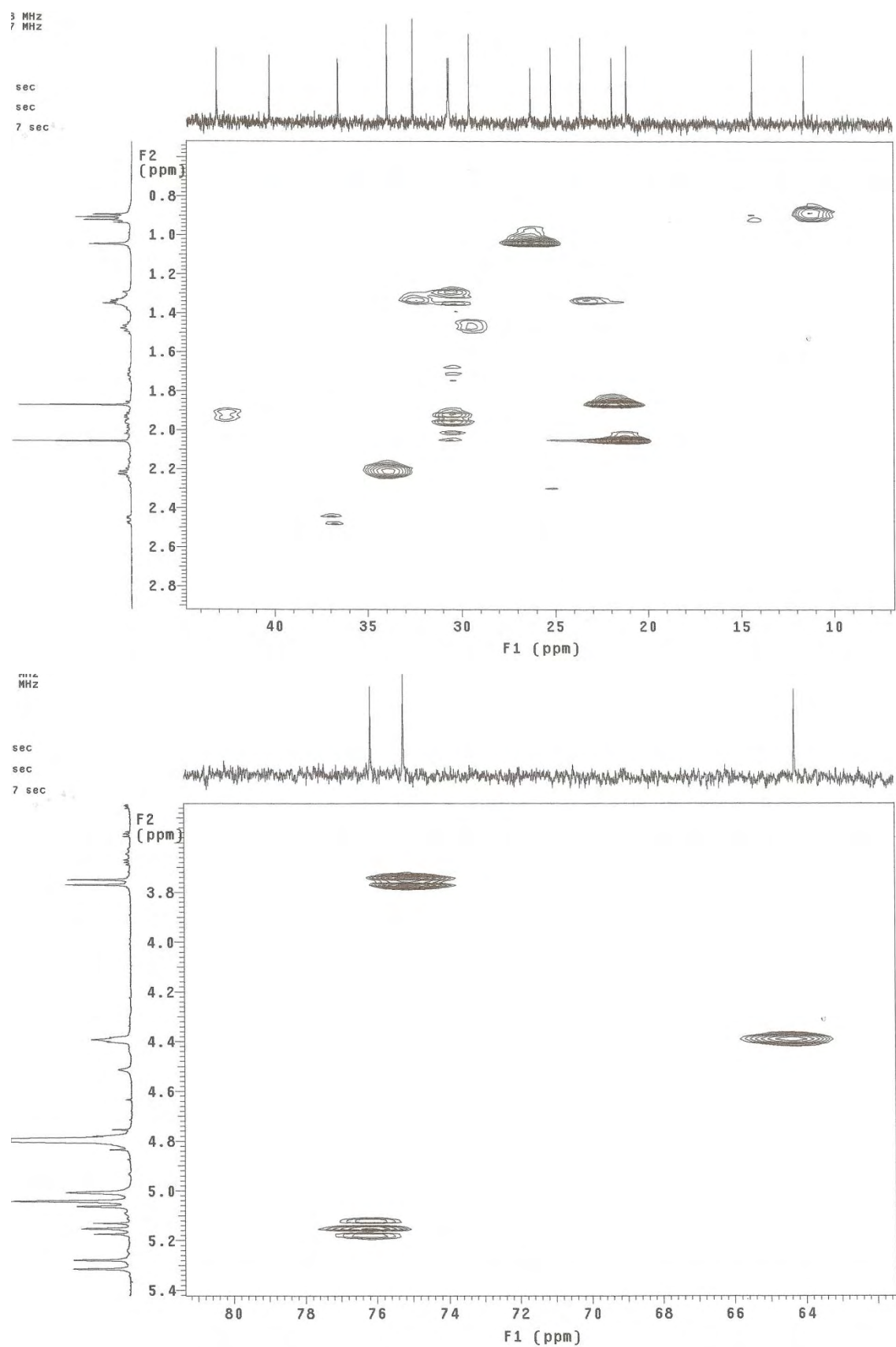


Figura 165. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

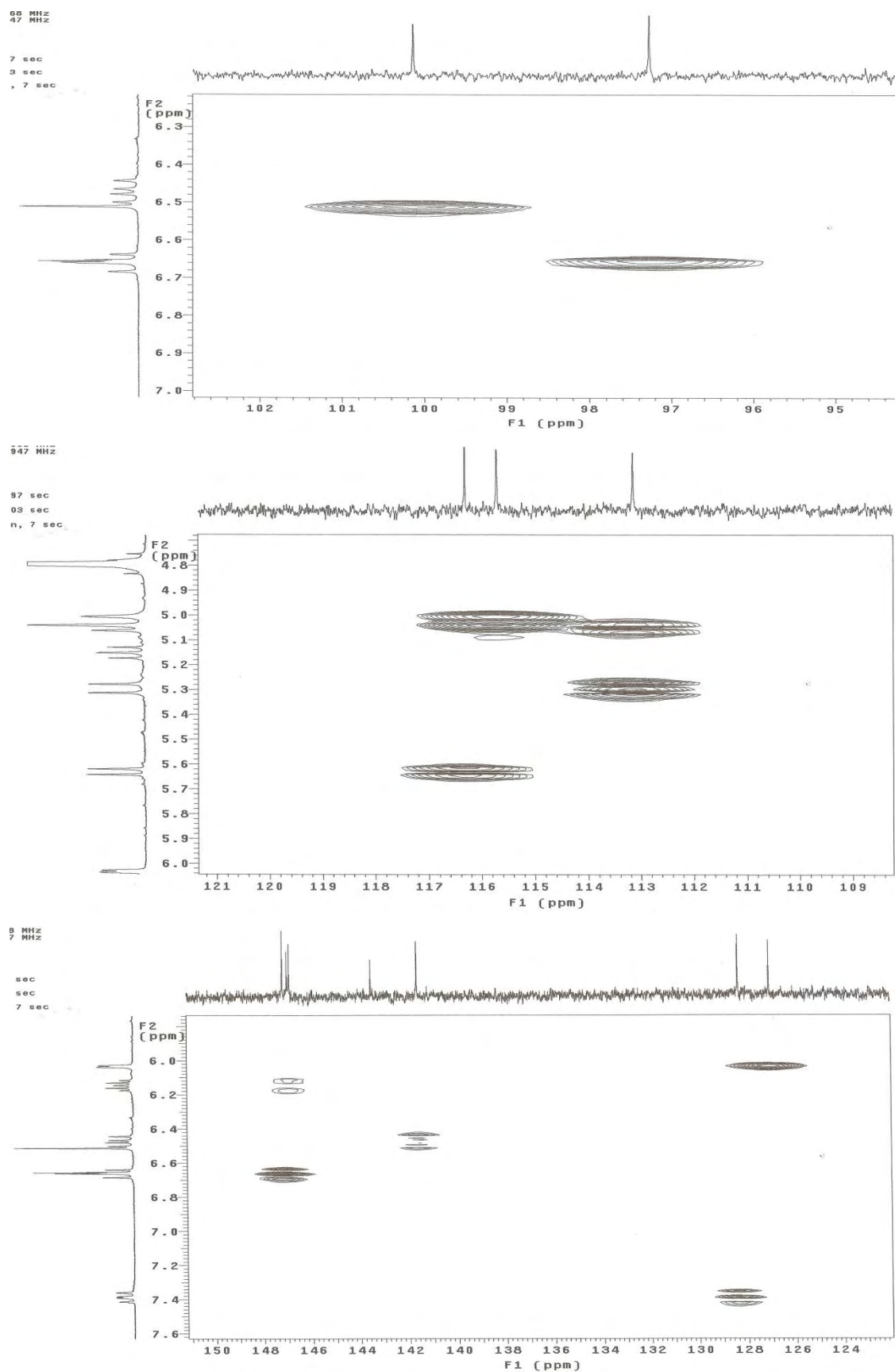


Figura 166. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

MAGELA GHII-F10-PO 06/01/09

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: l14-87
INOVA-500 "MULTI65"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 21.000 sec
Width 4881.6 Hz
2D Width 29027.6 Hz
64 repetitions
128 increments
OBSERVE H1, 499.4167668 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.205 sec
F2 Ref 100.623 MHz
F1 Ref 100.623 MHz
FT size 2048 x 2048
Total time 3 hr, 10 sec

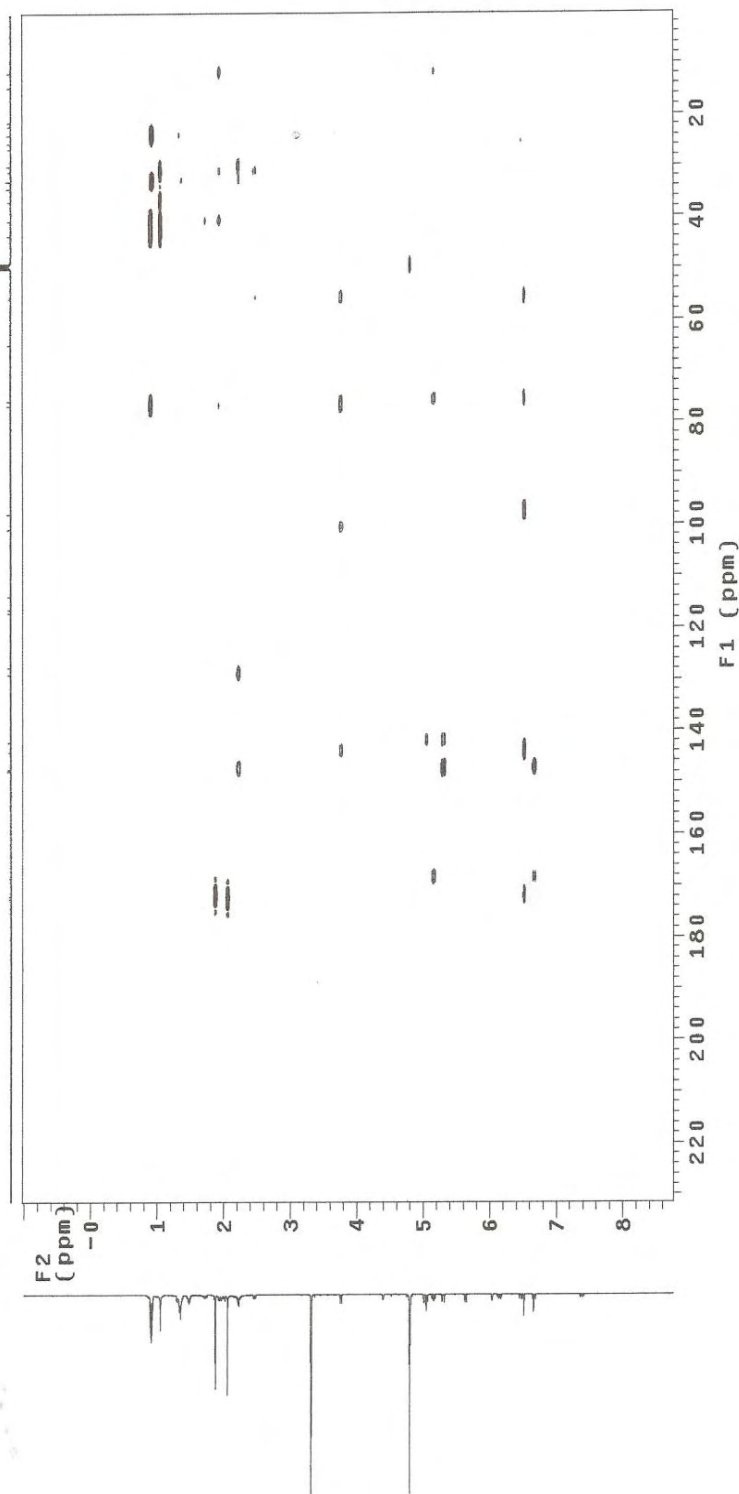


Figura 167. Mapa de contornos gHMBC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

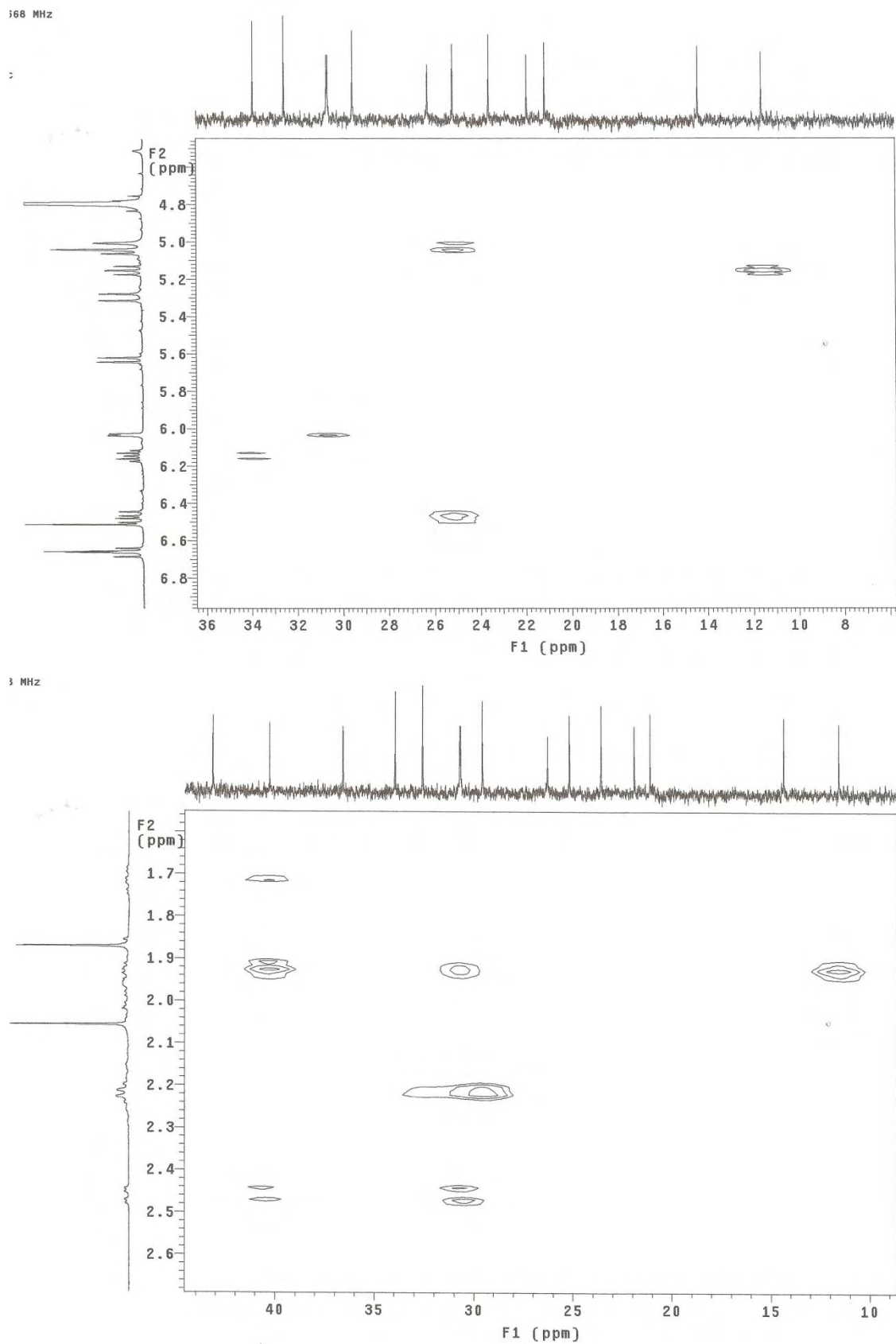


Figura 168. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

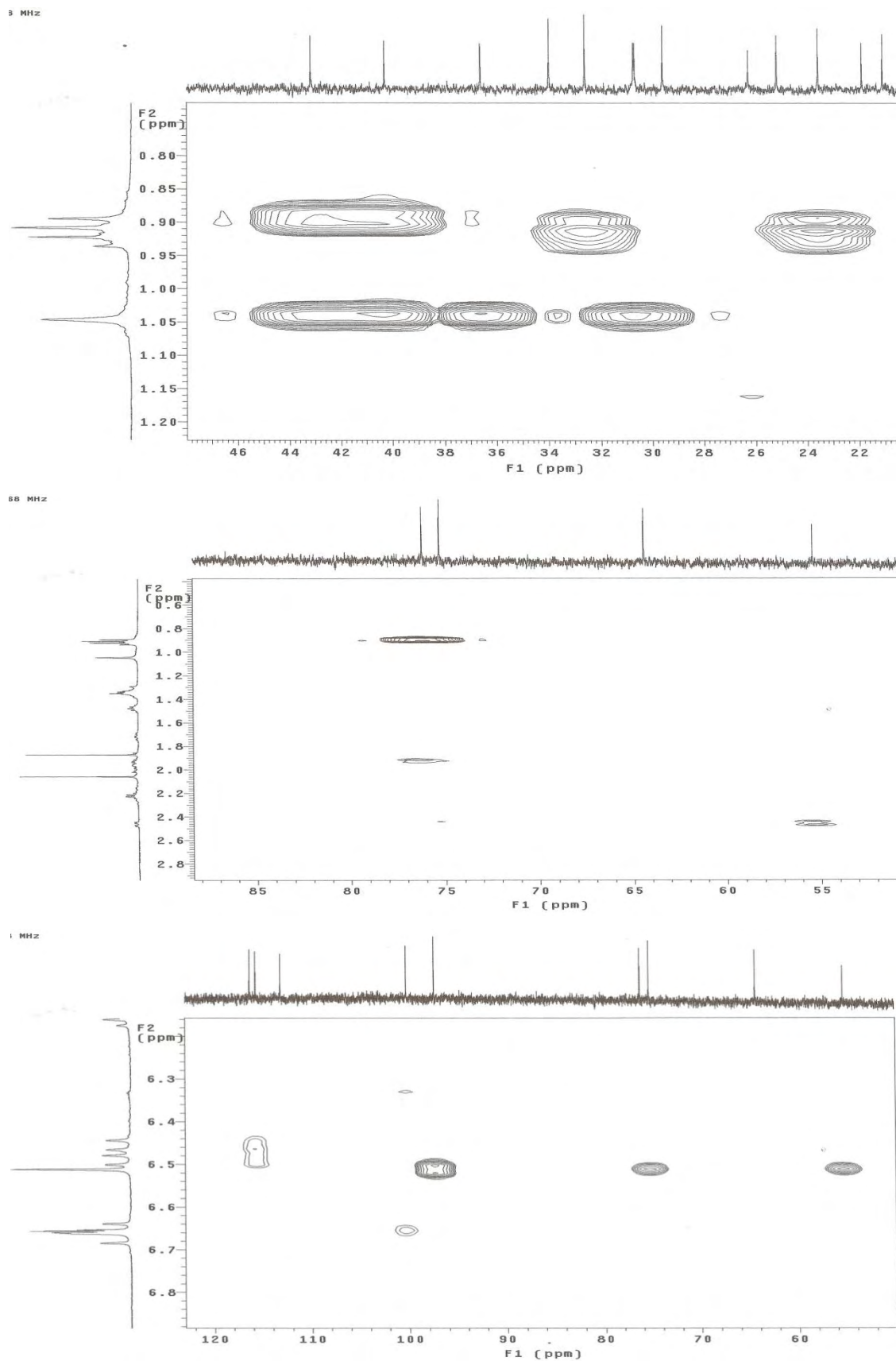


Figura 169. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

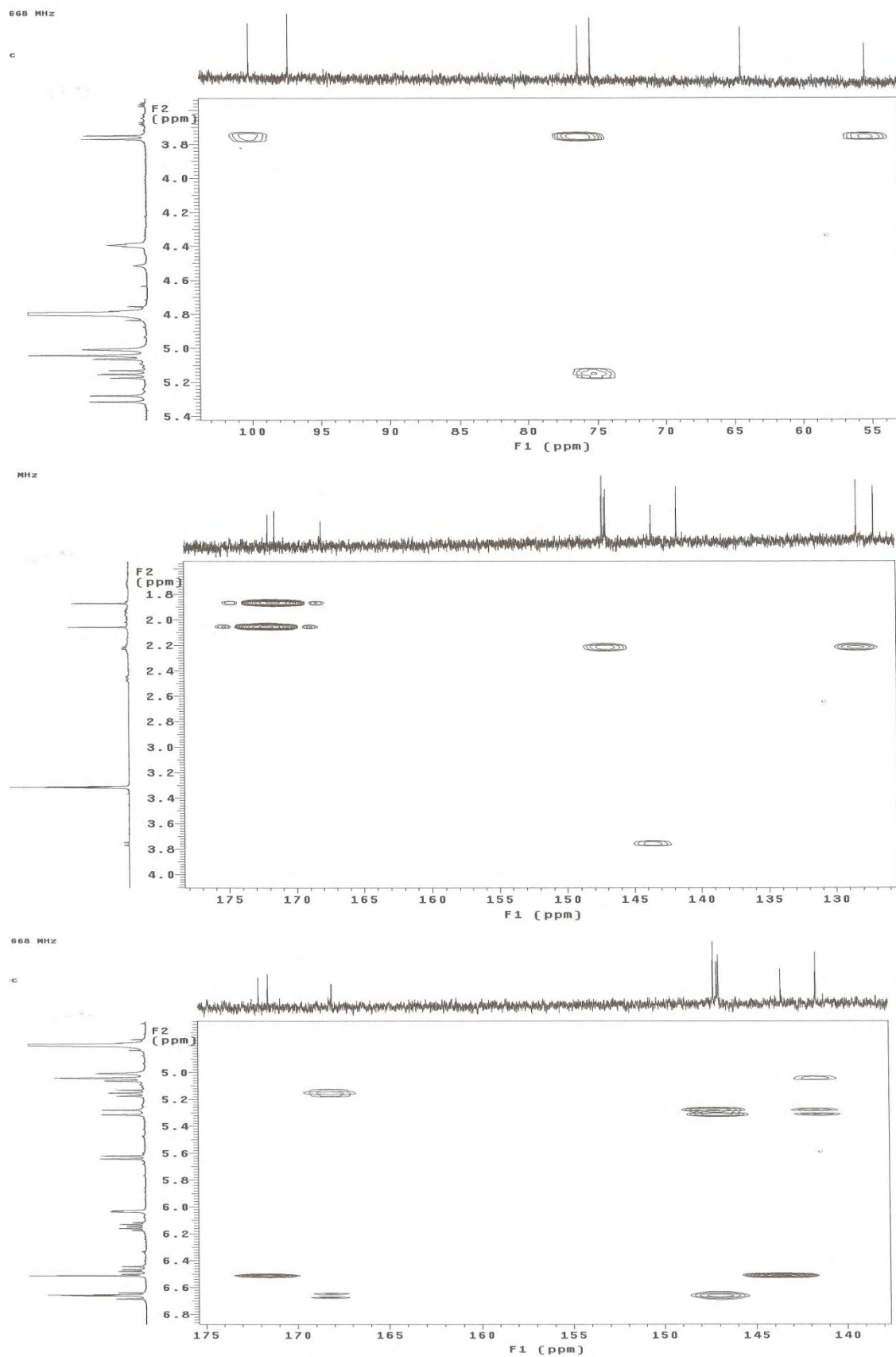


Figura 170. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **16** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

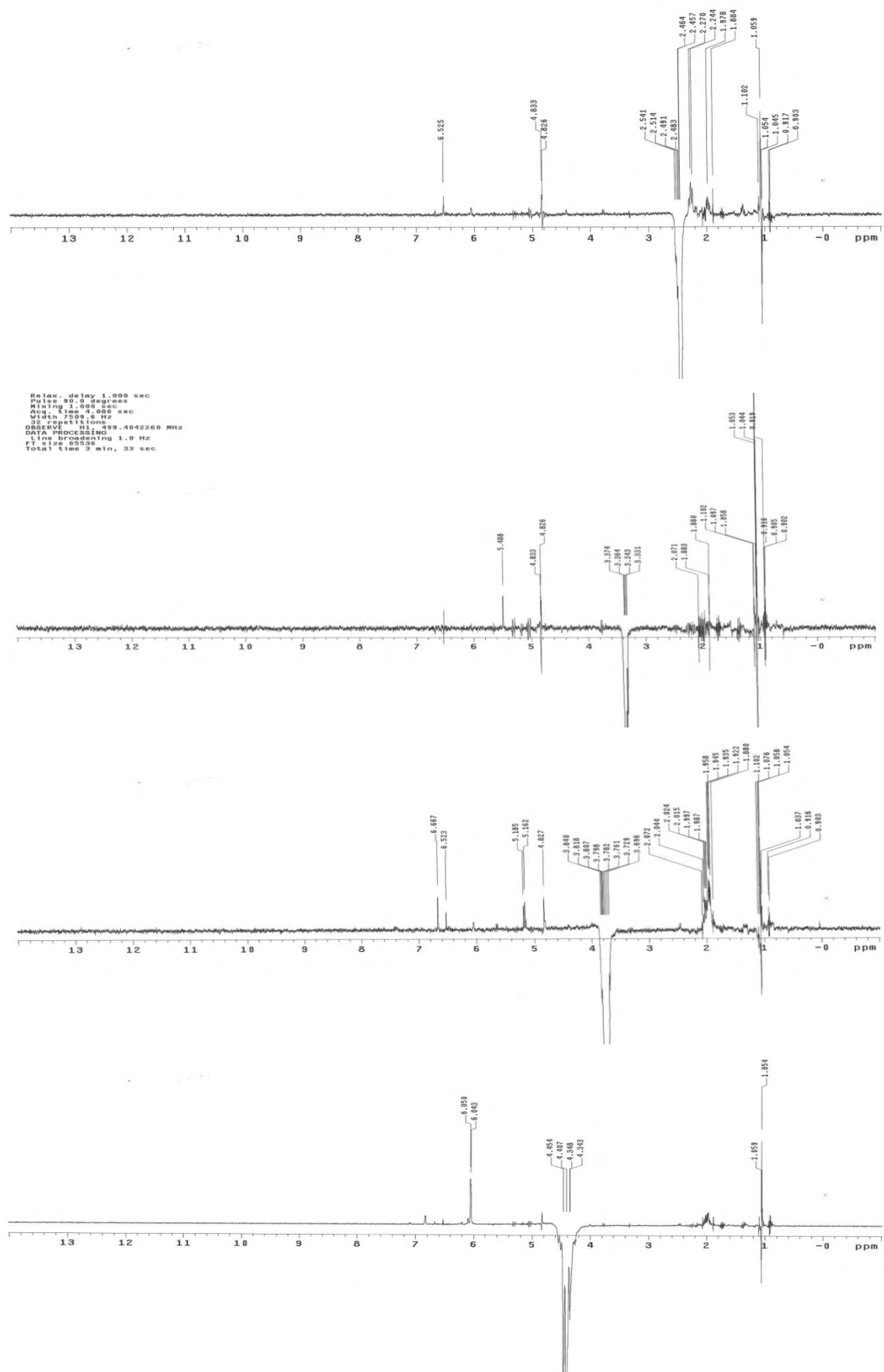


Figura 171. Espectros NOESY 1D de **16** (500 MHz, CD₃OD).
244

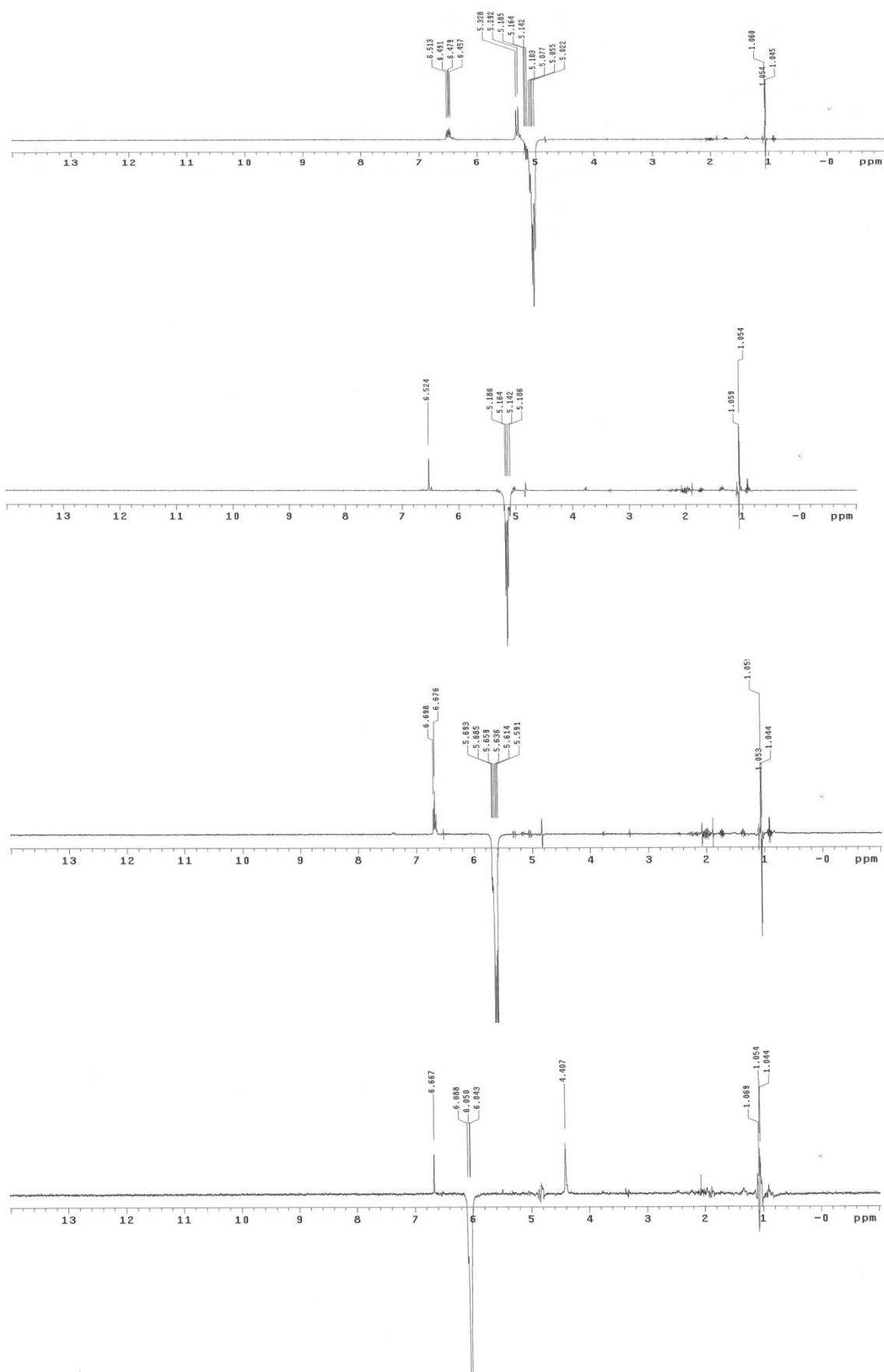


Figura 172. Espectros NOESY 1D de **16** (500 MHz, CD_3OD).

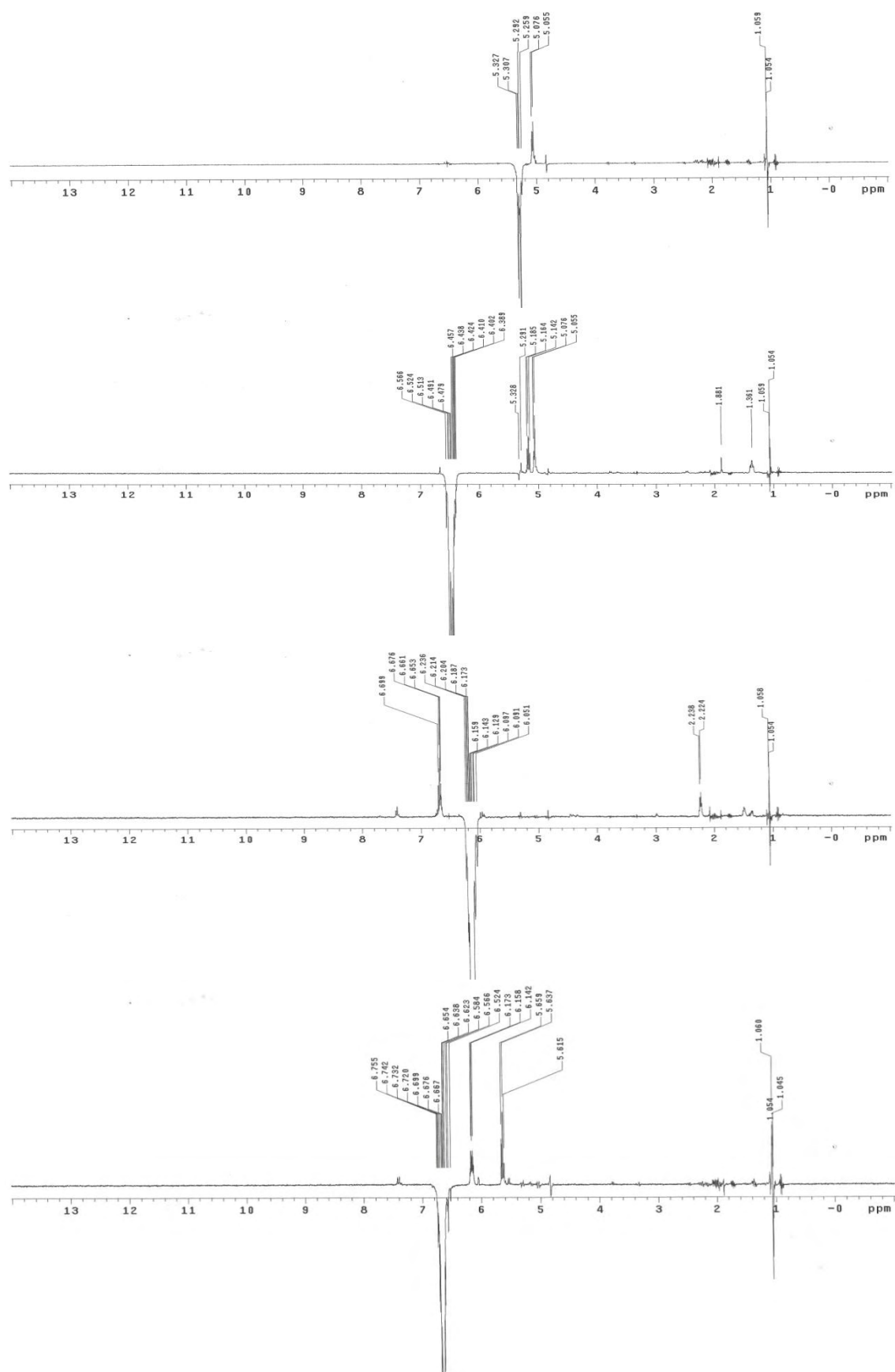
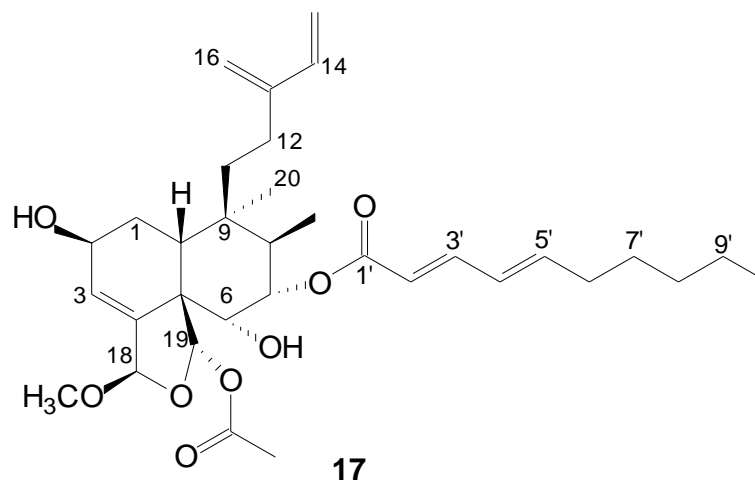


Figura 173. Espectros NOESY 1D de **16** (500 MHz, CD₃OD).

5.4.5. Casearupestrina C (**17**)



O espectro de massas de alta resolução (Figura 176) (HRTOF-ESIMS) da casearupestrina C obtido no modo positivo apresentou pico relativo ao íon $[M+Na]^+$ com valor de m/z 595,3241 (calculado para $C_{33}H_{48}O_9Na$ m/z 595,3241), concordante com a fórmula molecular $C_{33}H_{48}O_9$.

Adicionalmente aos sinais apresentados para **16**, observou-se nos espectros de RMN de ^{13}C e de 1H (Figuras 178-181 e Tabela 23) sinais em δ_C 55,4 e δ_H 3,36 (s) que indicaram a presença de um grupo metoxila na molécula. A banda de absorção no IV (Figura 177) em ν_{max} 1751 cm^{-1} e os sinais nos espectros de RMN ^{13}C em δ 168,0 e 171,9 evidenciaram a presença de um grupo acetato e um decadienoato, respectivamente. As correlações observadas no mapa de contornos gHMBC (Figuras 189-193) entre os hidrogênios do grupo metoxila δ 3,36 (s) e δ 105,7 (C-18), entre δ 5,16 (t, $J = 10,0\text{ Hz}$; H-7) e a carbonila do grupo decadienoato [δ 168,0 (C-1')] e entre o sinal δ 6,48 (s; H-19) e a carbonila do grupo acetato δ 171,9 (19-C=O), permitiram definir as posições dos grupos substituintes oxigenados na molécula. Os deslocamentos químicos de todos os hidrogênios e carbonos foram atribuídos de forma inequívoca com o auxílio dos mapas de contornos gCOSY, gHMQC e gHMBC (Figuras 182-193, 174, Tabela 23). A estereoquímica relativa foi proposta com base nos espectros NOESY 1D (Figuras 194-196, 175, Tabela 23).

Em virtude do exposto, a substância **17** foi elucidada como um novo diterpenóide denominado casearupestrina C, que é dextrorrotatória $[\alpha]_D^{20} = + 72^\circ$ ($CHCl_3$, c 0,1).

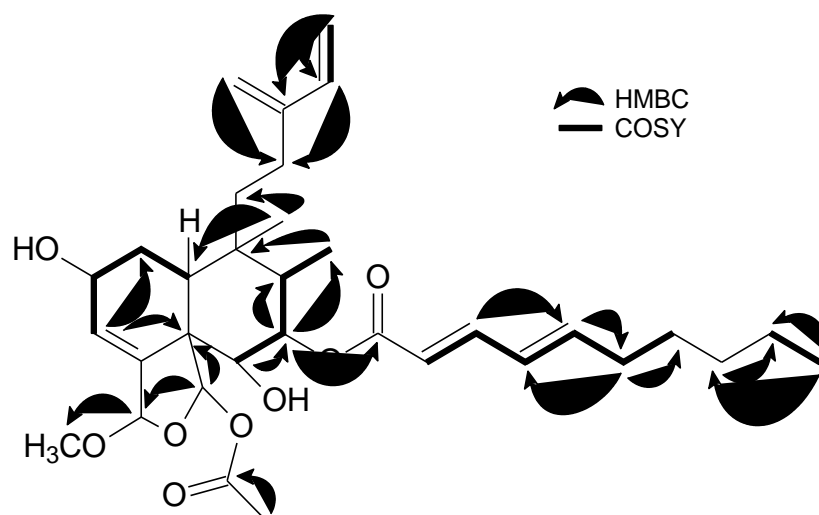


Figura 174. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (¹H-¹H) e gHMBC (¹H→¹³C) para 17.

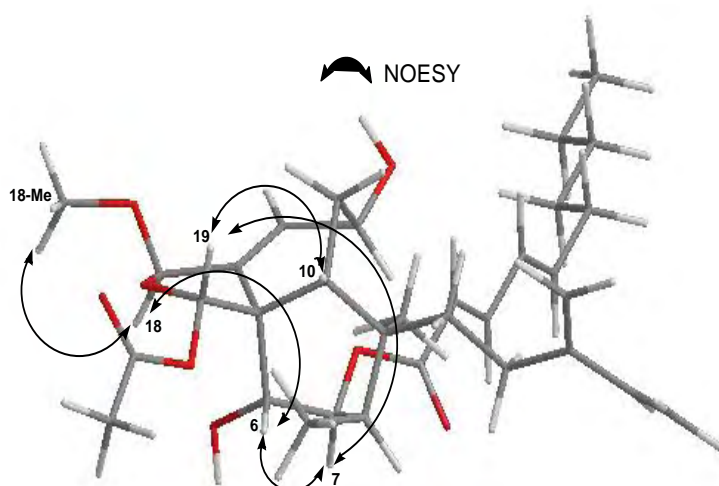


Figura 175. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (¹H↔¹H) para 17.

TABELA 23. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **17**, incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$) ^a	gHMBC	NOESY 1D
1	30,6 (CH_2)	1a 1b	1,96 m	H-3	-
2	64,3 (CH)	2	4,37 tl (4,0)	-	H-3
3	126,5 (CH)	3	6,05 dl (3,5)	-	H-2; H-18; Me-18
4	144,0 (C)	-	-	-	-
5	55,1 (C)	-	-	H-3; H-6; H-10; H-19	-
6	75,3 (CH)	6	3,74 d (10,0)	H-7	H-7; H-18
7	76,1 (CH)	7	5,16 t (10,0)	H-6; H-17	H-19
8	43,0 (CH)	8	1,92	H-7; H-17; H-20	-
9	40,2 (C)	-	-	H-17; H-20	-
10	36,3 (CH)	10	2,44 dd (4,5 13,0)	H-20	H-1; H-19
11	30,5 (CH_2)	11	1,32 m	H-20	-
12	25,0 (CH_2)	12a 12b	-	H-14; H-16	-
13	147,0 (C)	-	-	H-15	-
14	141,6 (CH)	14	6,51 ddl (8,5, 17,5)	H-15	H-15
15	113,1 (CH_2)	15a 15b	5,06 d (8,5) 5,30 d (17,5)	-	H-14; H-16
16	115,6 (CH_2)	16a 16b	5,01 s 5,05 sl	-	H-15
17	11,5 (CH_3)	17	0,91 m	H-7	H-7
18	105,7 (CH)	18	5,48 t (1,5)	H-19; Me-18	Me-18
19	99,7 (CH)	19	6,48 s	H-6; H-18	H-7
20	26,3 (CH_3)	20	1,04 sl	-	H-1
1'	168,0 (C)	-	-	H-7; H-3'	-
2'	116,3 (CH)	-	5,64 d (11,0)	-	H-3'
3'	147,1 (CH)	3'	6,67 m	H-2'; H-5'	H-2'; H-5'
4'	128,2 (CH)	4'	7,39 ddl (11,0, 15,5)	H-6'	H-3'; H-5'; H-6'
5'	146,8 (CH)	-	6,15 dd (7,0, 15,5)	H-3'; H-6'	H-3'; H-6'
6'	33,9 (CH_2)	6'	2,22 m	H-5'	H-4'; H-5'; H-7'
7'	29,5 (CH_2)	7'a 7'b	1,48 m	H-6'	-
8'	32,5 (CH_2)	8'	1,35 m	H-9'; H-10'	-
9'	23,5 (CH_2)	9'	1,35 m	H-8'; H-10'	-
10'	14,3 (CH_3)	10'	0,93 m	-	H-8'; H-9'
18-OMe	55,4 (CH_3)	-	3,36 s	H-18	-
19-C=O	171,9 (C)	-	-	H-19; COOMe-19	-
COOMe-19	21,9 (CH_3)	COOMe-19	1,87 s	-	-

^a Atribuições baseadas nos mapas de contornos gCOSY e gHMQC.

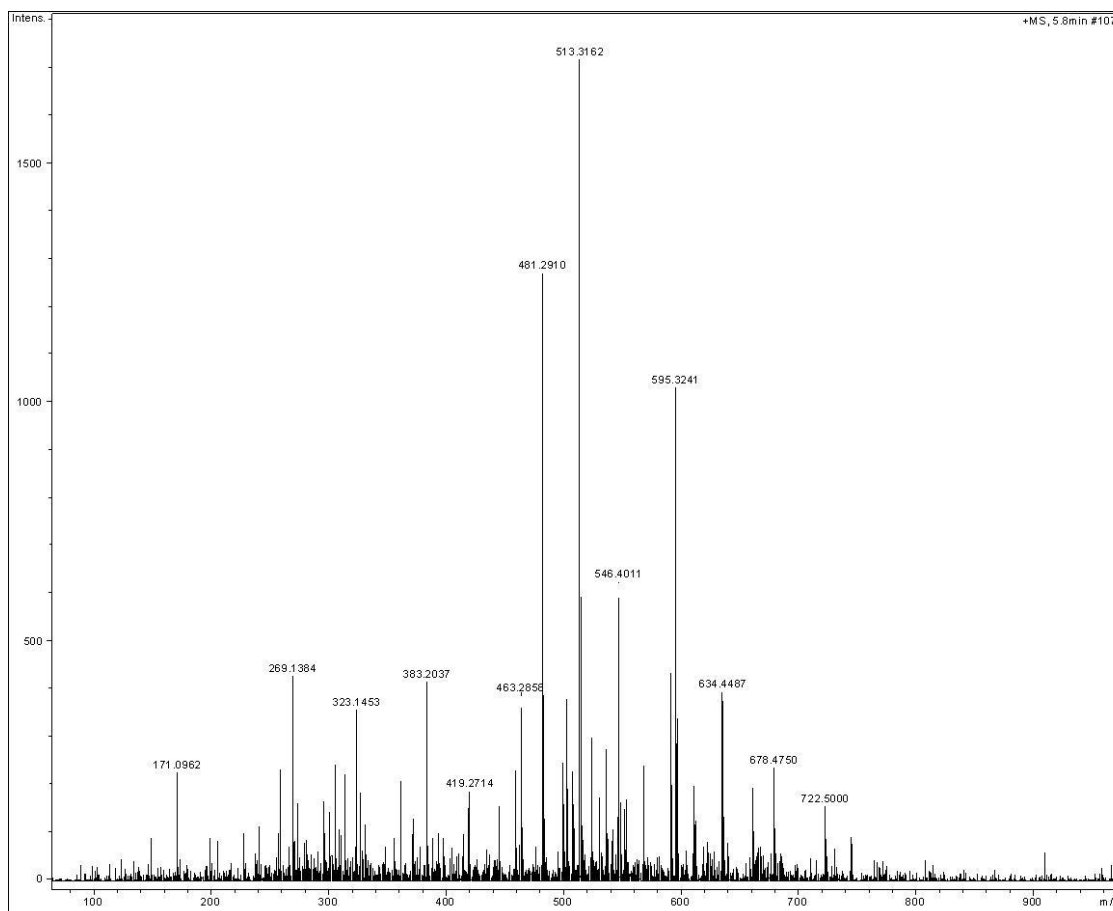


Figura 176. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de 17.

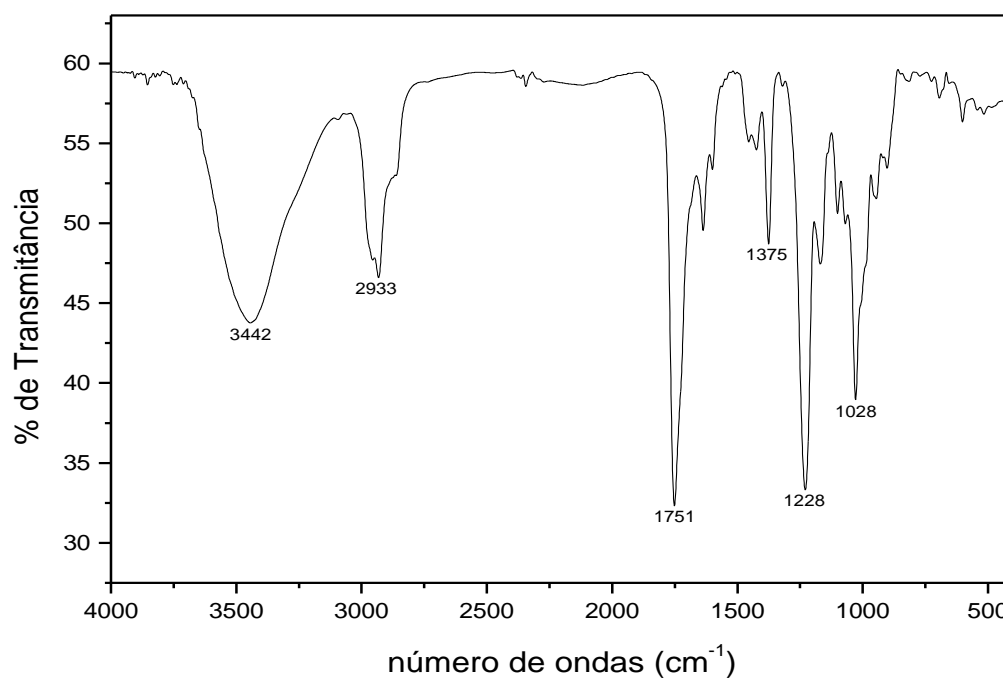


Figura 177. Espectro de absorção na região do IV de 17 (KBr).

Magela GEII-FE12-34 28/04/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp: 30.0 C / 303.1 K

INNOVA-500 "mult165"

Relax. delay 0.904 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 4.078 sec

Width 5738.9 Hz

16 repetitions

OBSERVE H1, 499.4042260 MHz

DATA PROCESSING

FT size 65536

Total time 1 min, 19 sec

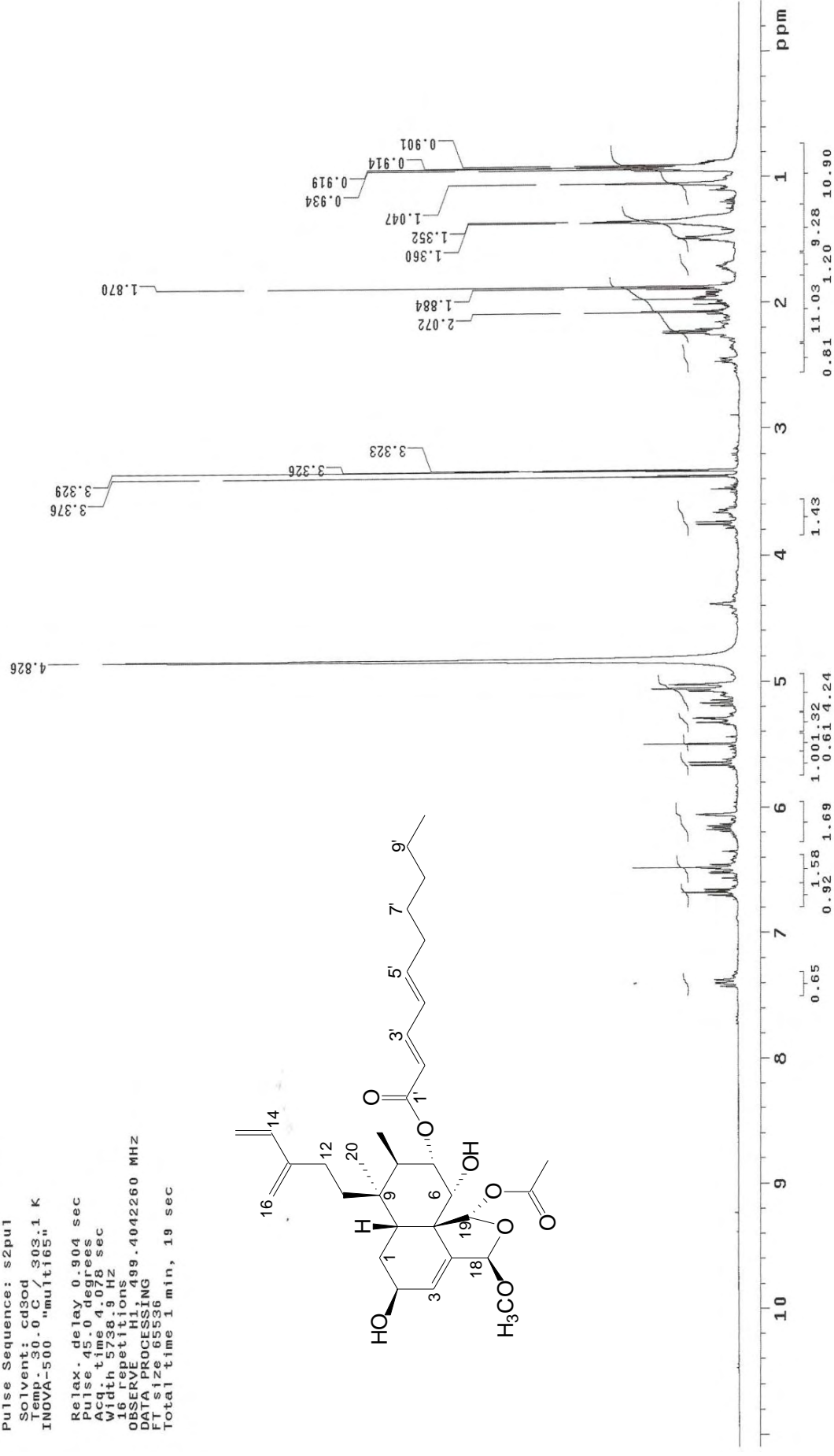
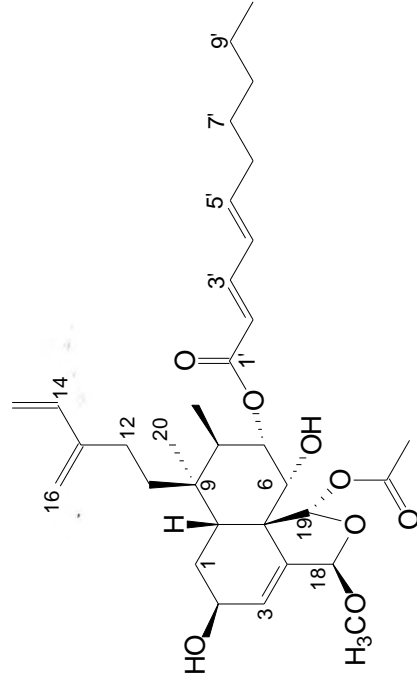


Figura 178. Espectro de RMN ^1H de **17** (500 MHz, CD_3OD).

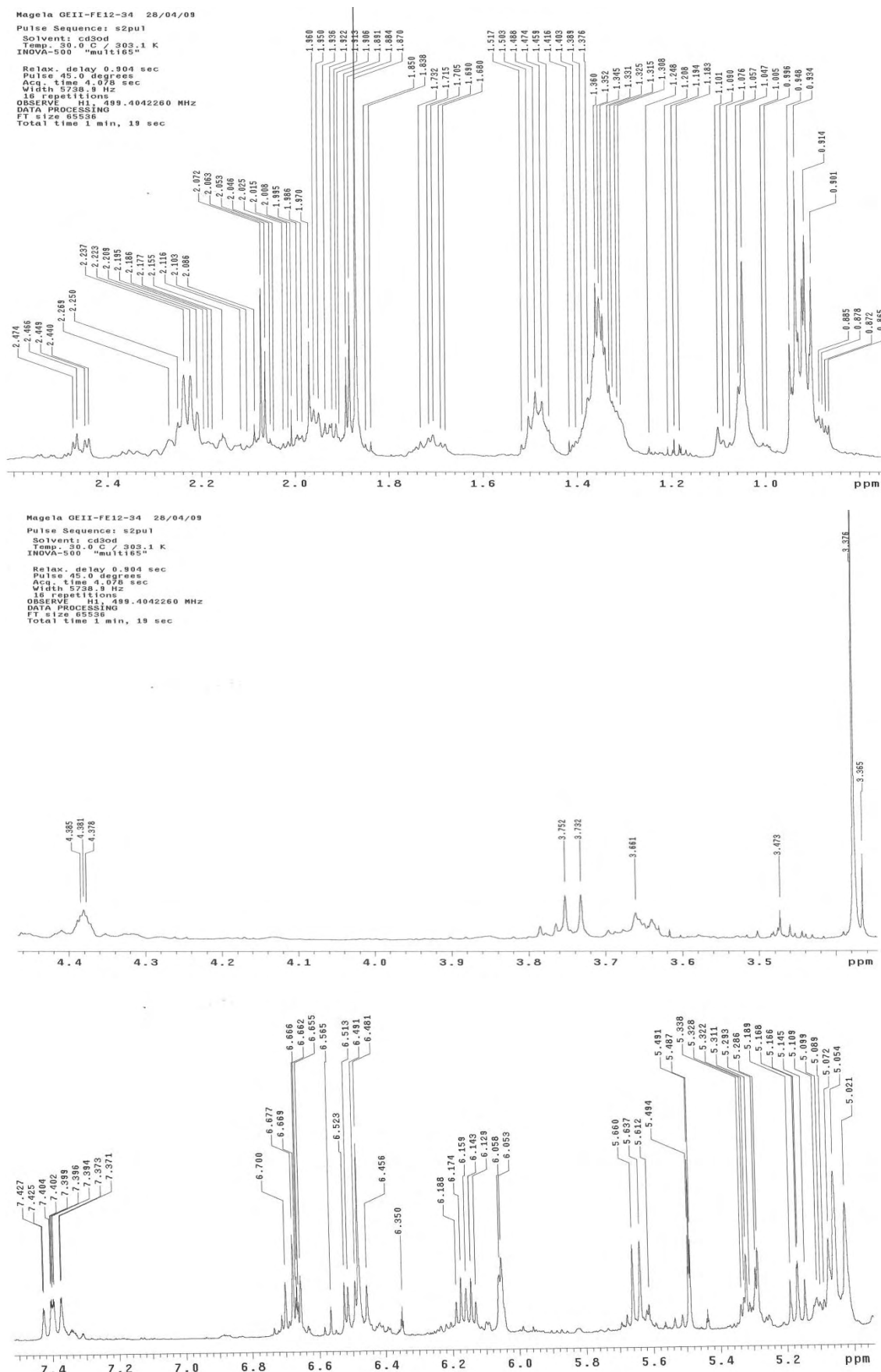


Figura 179. Expansões do espectro de RMN ^1H de **17** (500 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-34 28/04/09

Pulse Sequence: s2pul
 Solvent: cd3od
 Temp: 30.0 C/ 303.1 K
 User: j114-87
 INOVA-500 "mult165"
 Relax. delay 0.957 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Width 1.842 sec
 Width 29027.6 Hz
 567 repetitions
 OBSERVE C13, 125.5751210 MHz
 DECOUPLE H1, 499.4067231 MHz
 Power 30 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Fine broadening 1.0 Hz
 F1 size 3335
 Total time 59 min, 58 sec

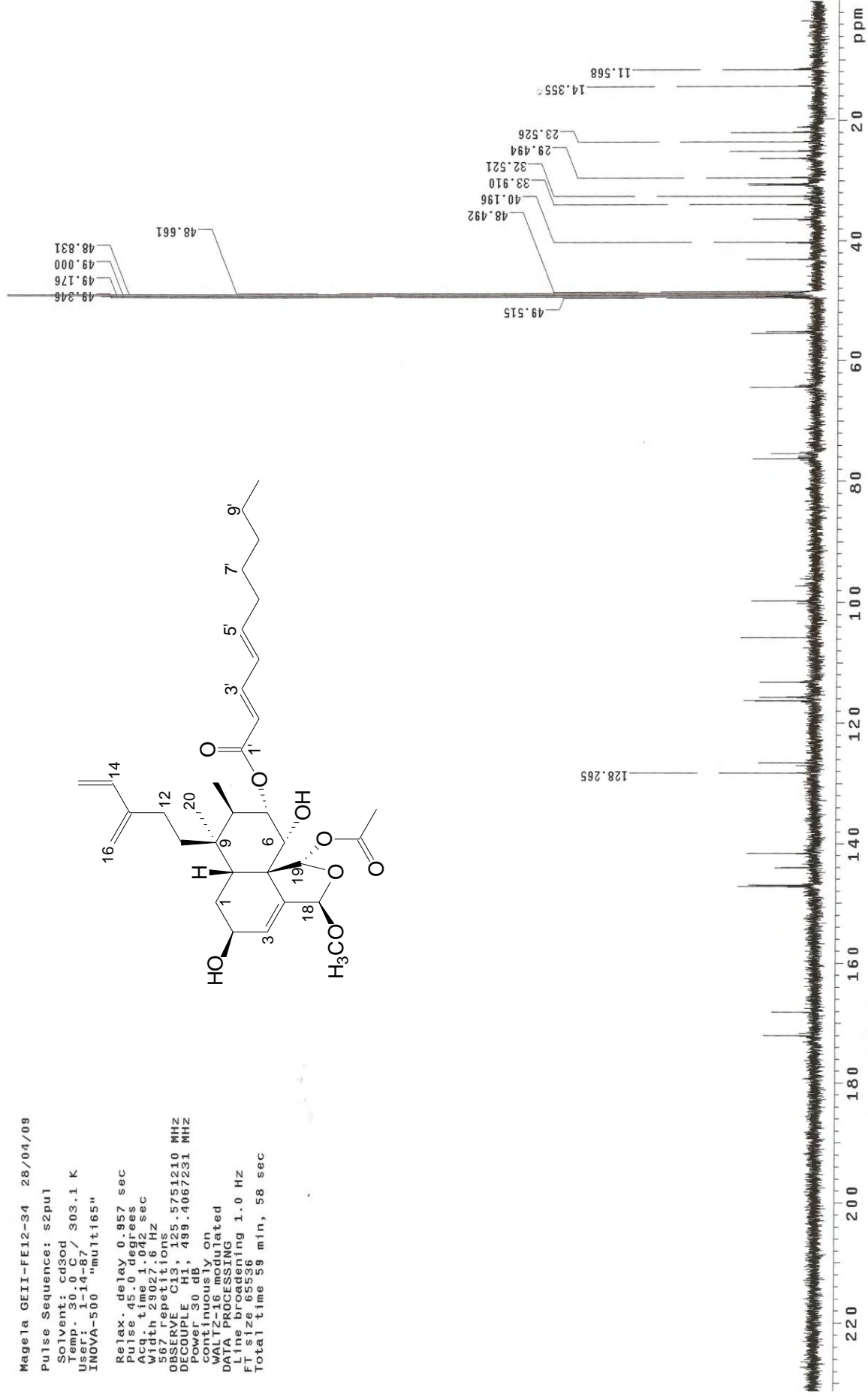
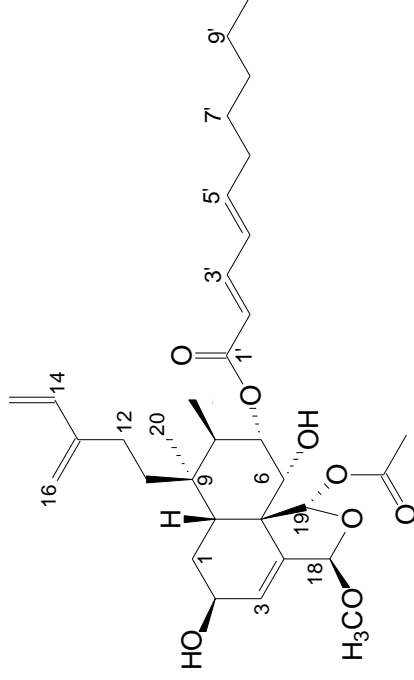


Figura 180. Espectro de RMN ^{13}C de **17** (125 MHz, CD_3OD).

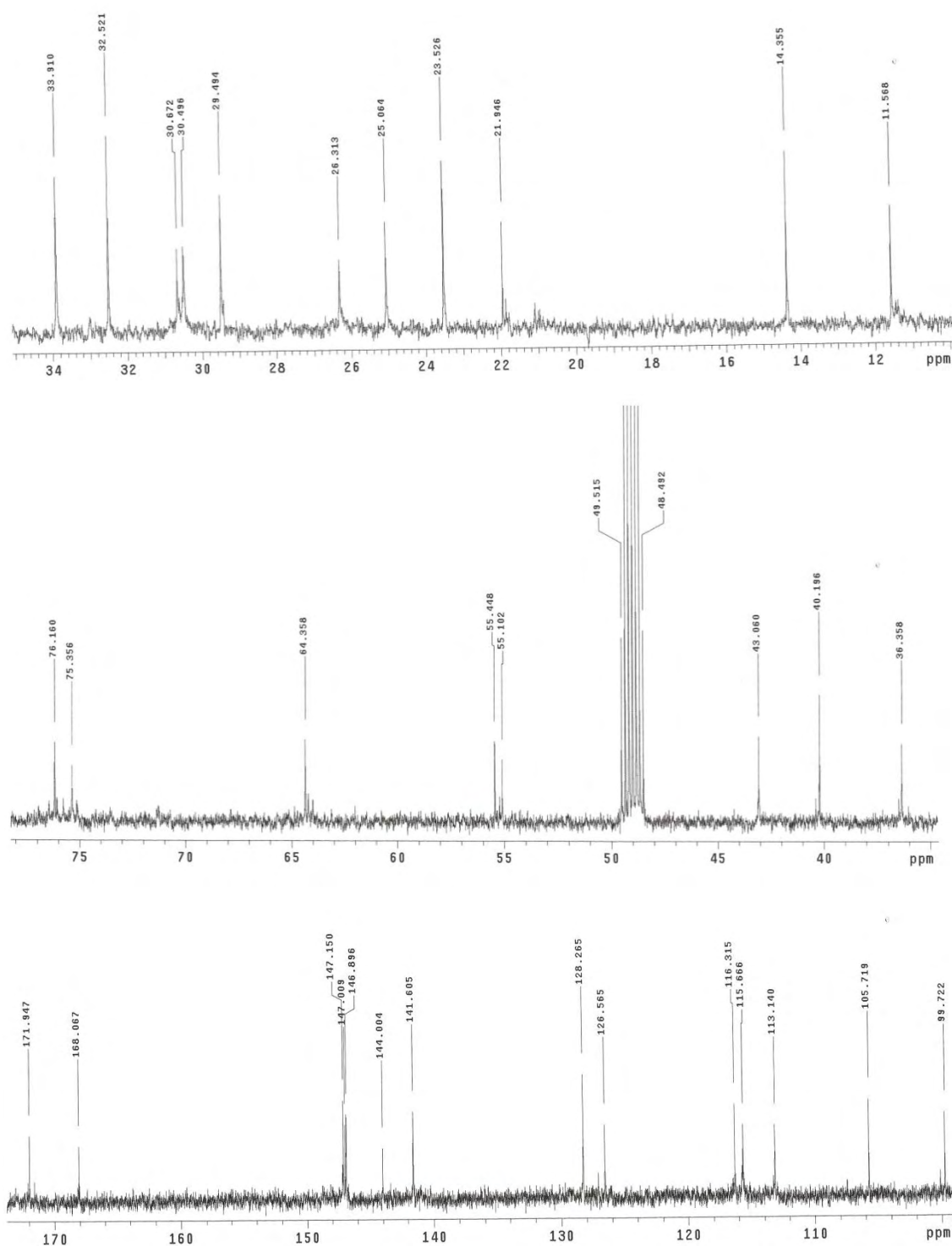


Figura 181. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **17** (125 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-34 28/04/09

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od
Temp: 30.0 C / 303.1 K
INOVA-500 "mult165"

Relax: delay 1.000 sec
Acq. time 0.178 sec
Width 5738.9 Hz
2048 x 2048
8 repetitions

128 increments
OBSERVE H1, 499.4042260 MHz
DATA PROCESSING
F1: sine bell 0.089 sec
F1: DATA PROCESSING
F2: sine bell 0.013 sec
F1 size 2048 x 2048
Total time 20 min, 50 sec

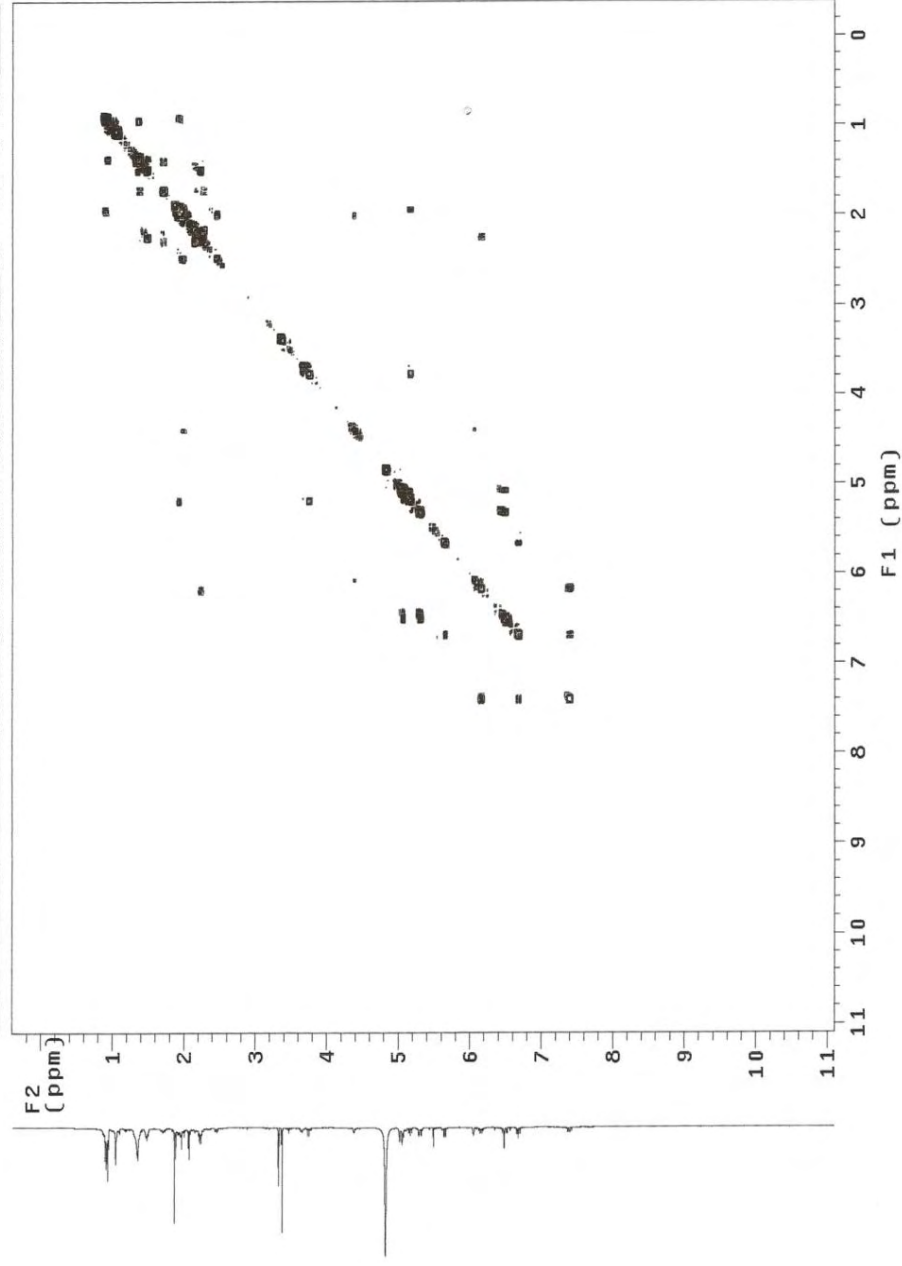


Figura 182. Mapa de contornos gCOSY de **17** (500 MHz, CD₃OD).

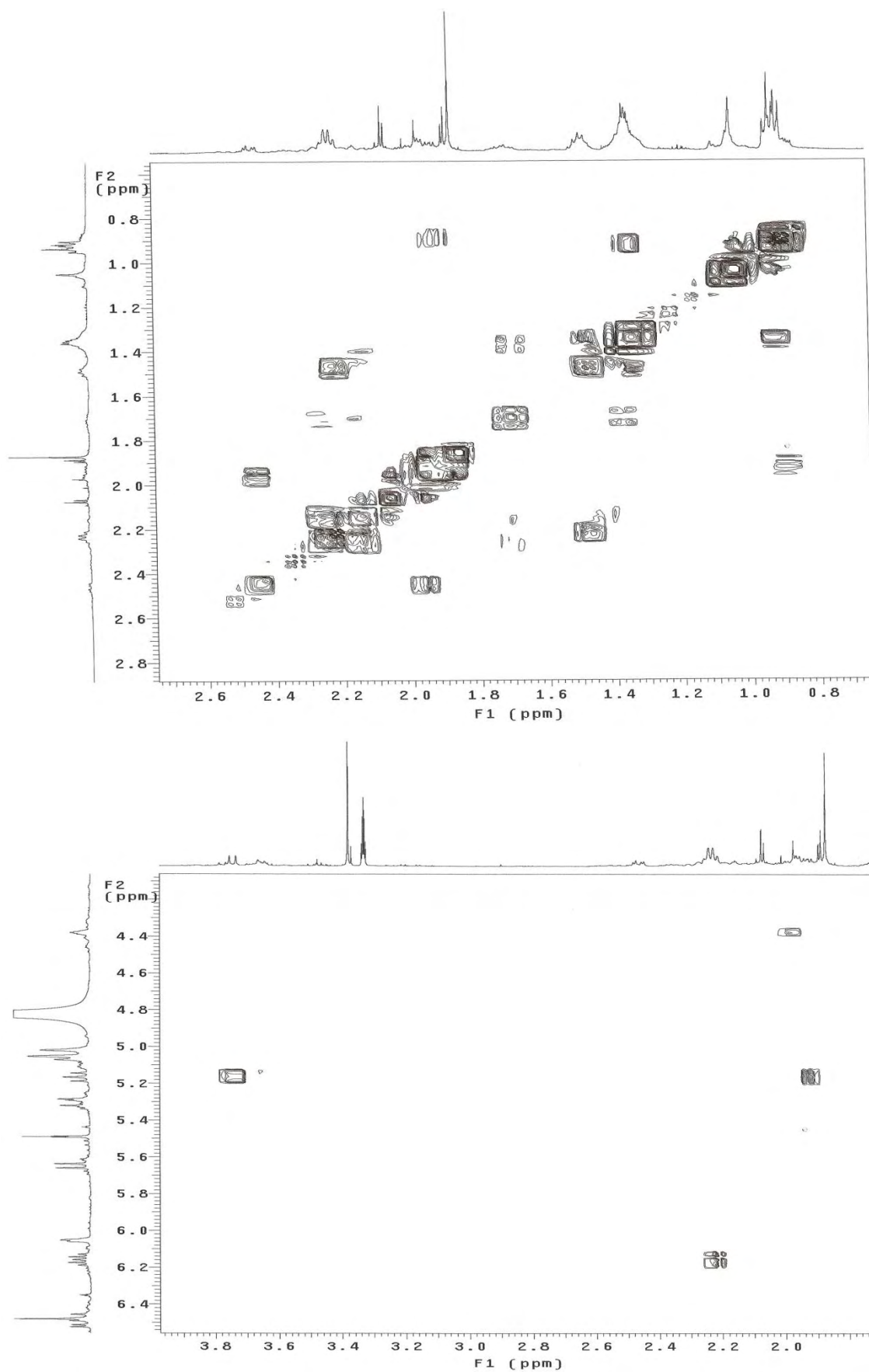


Figura 183. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **17** (500 MHz, CD₃OD).



Magela GEII-FE12-34 28/04/09

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

INOVA-500 "multis5"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.178 sec

Width 5738.9 Hz

SD Width 23027.6 Hz

2 x 128 increments

OBSERVE H1, 499.4042260 MHz

DECOUPLE C13, 125.5896409 MHz

Power 47 dB

on during acquisition

off during delay

GARP-1 modulated

DATA PROCESSING

F1 Gauss apodization 0.082 sec

F2 Gauss apodization 0.003 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 42 min, 42. sec

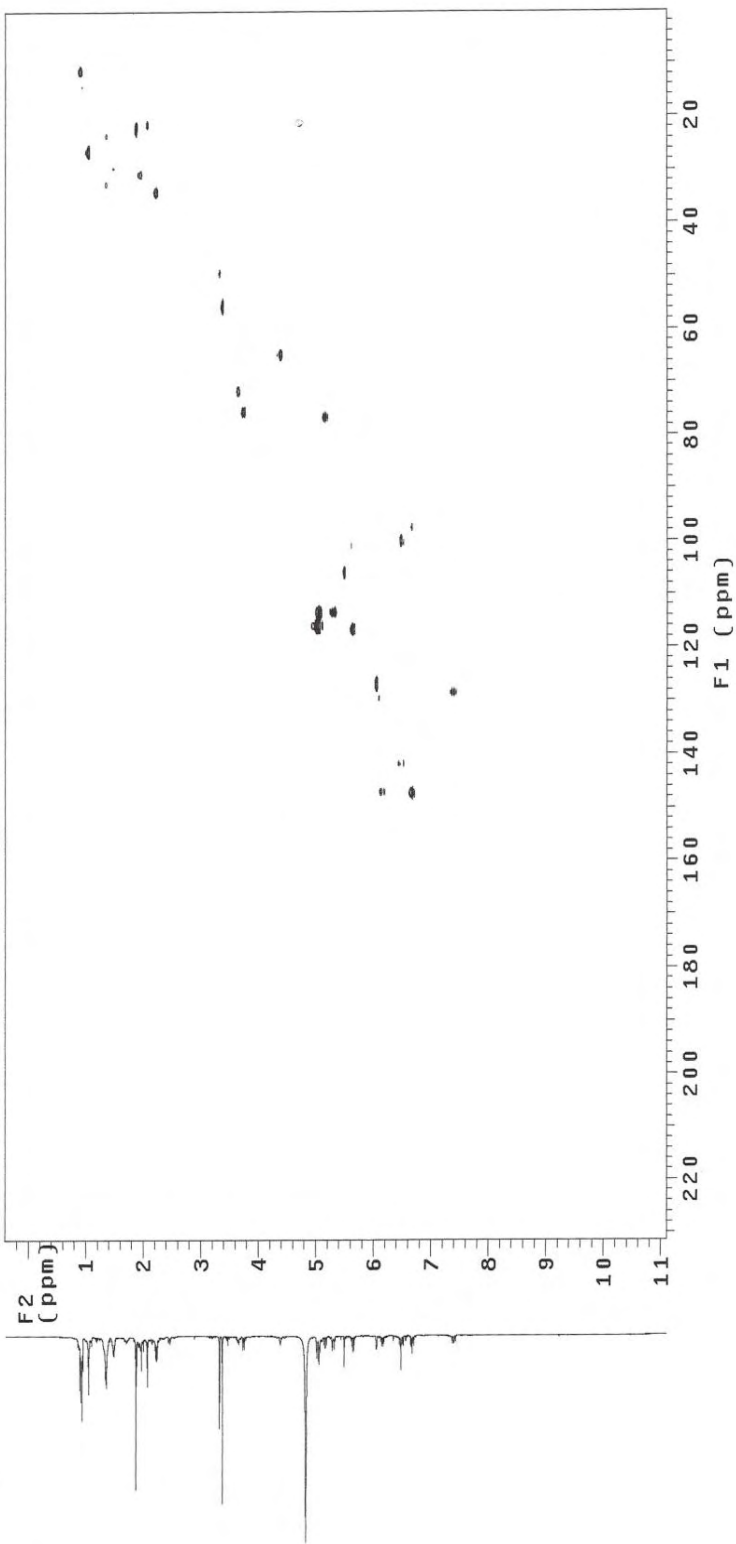


Figura 185. Mapa de contornos gHMQC de **17** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

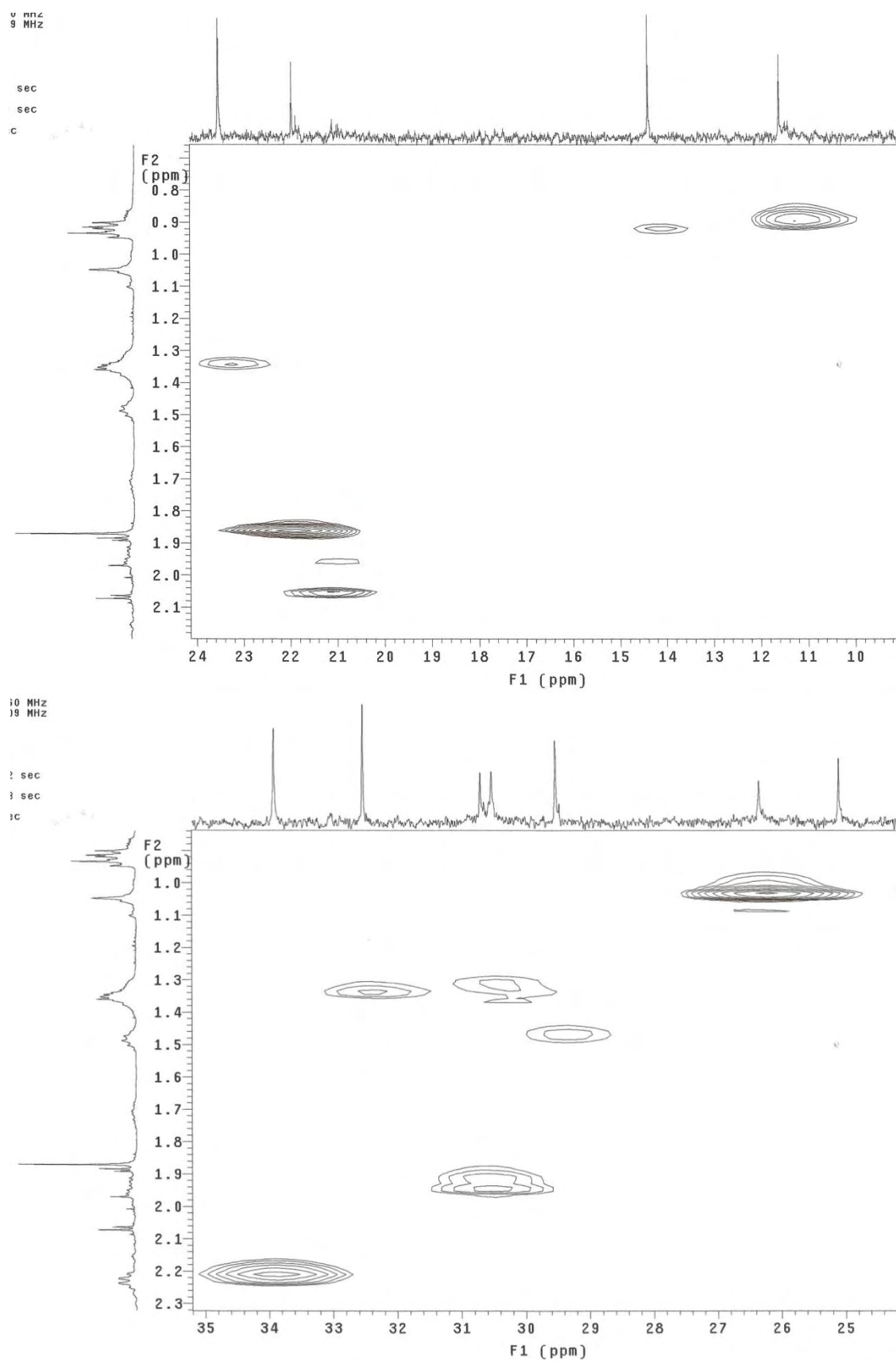


Figura 186. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **17** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

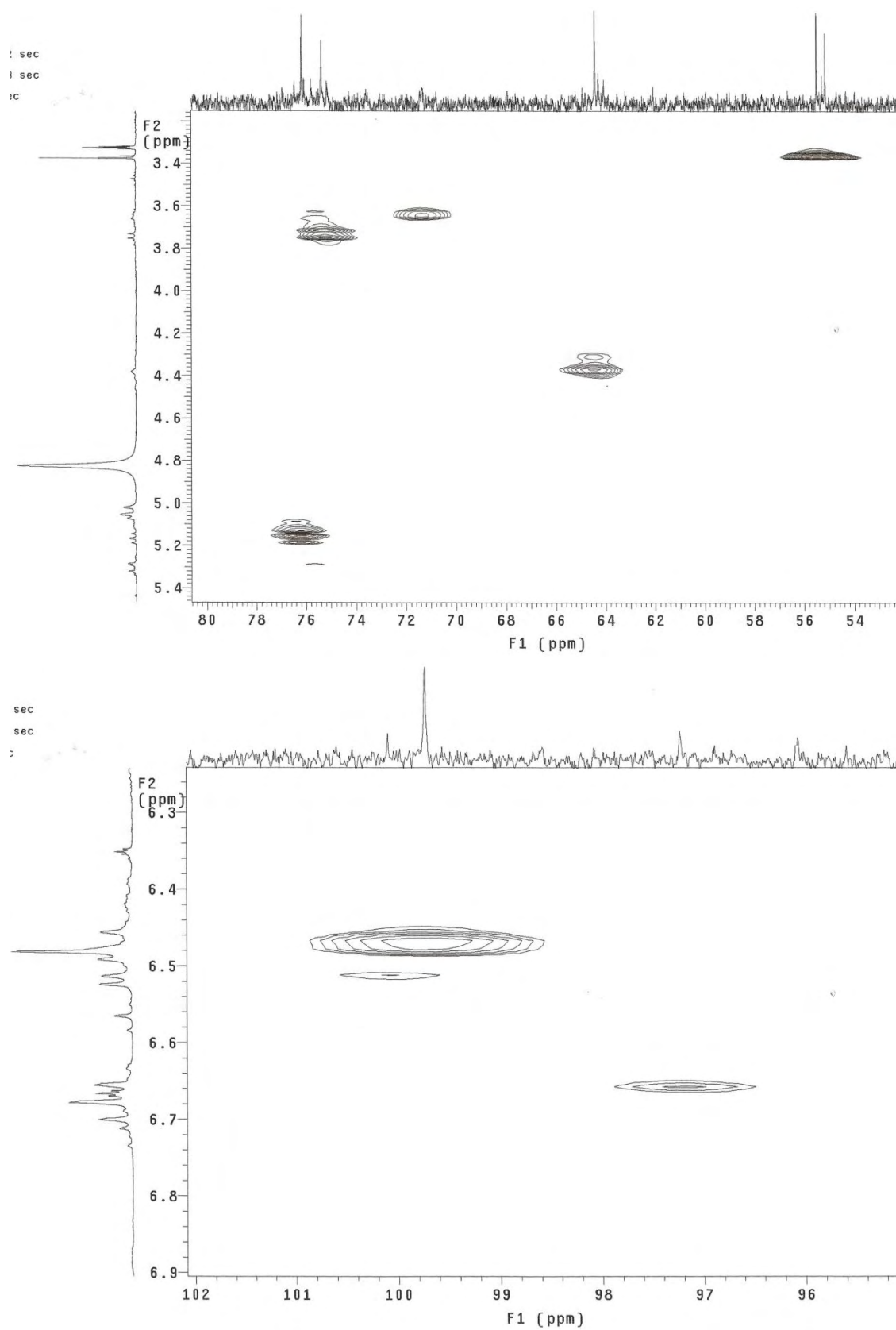


Figura 187. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **17** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

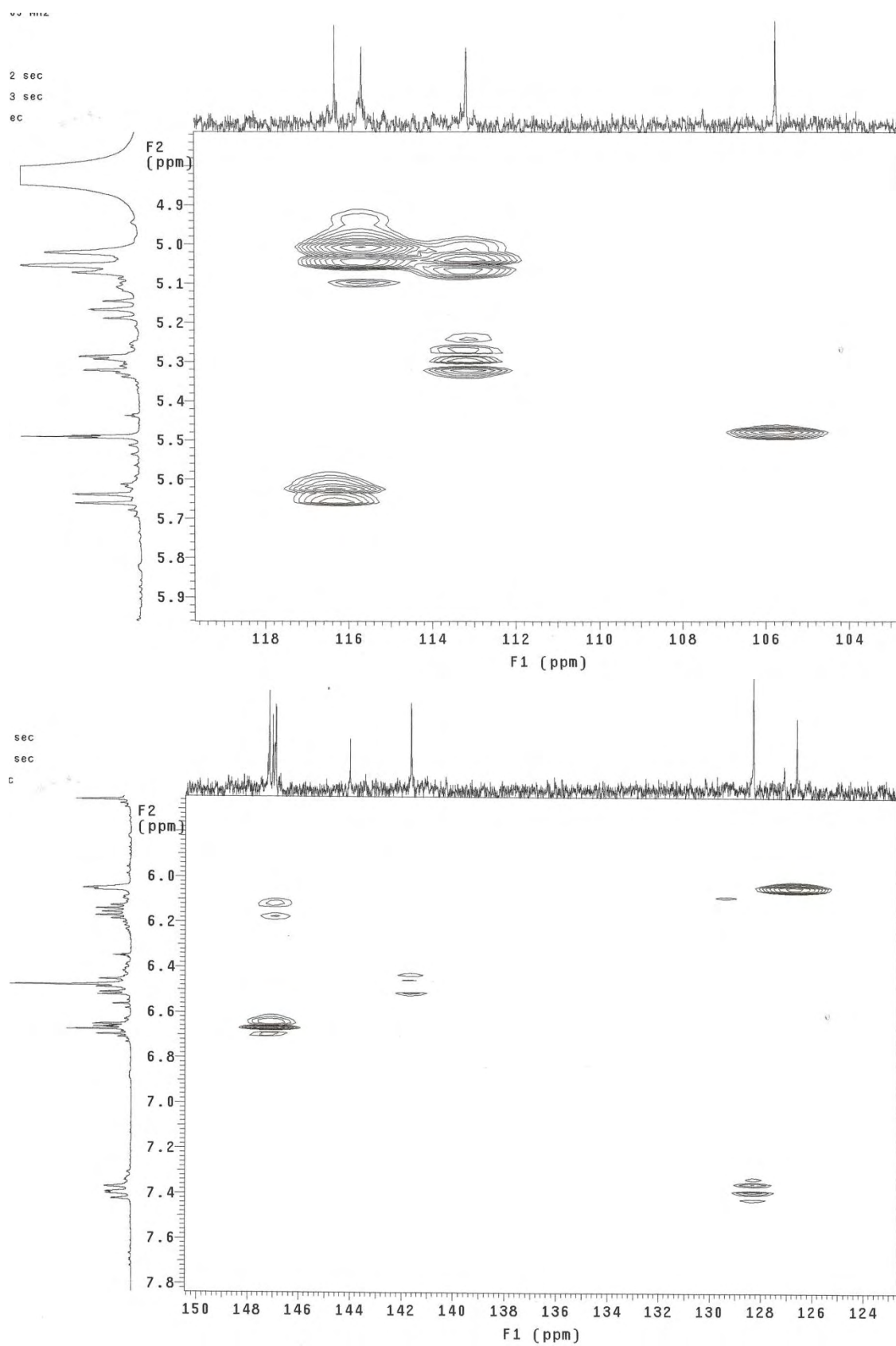


Figura 188. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **17** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

Solvent: cd3od
 Temp. 30.0 C / 303.1 K
 User: 1-14-87
 INOVA-500 "mult165"
 Relax. delay 1.000 sec
 Acq. time 0.178 sec
 Width 5738.9 Hz
 GR width 29027.6 Hz
 Spectroscopy
 128 increments
 OBSERVE H1 499.4042260 MHz
 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.089 sec
 F1 DATA PROCESSING
 Sine bell 0.003 sec
 F1 size 2048 x 2048
 Total time 22 min, 35 sec

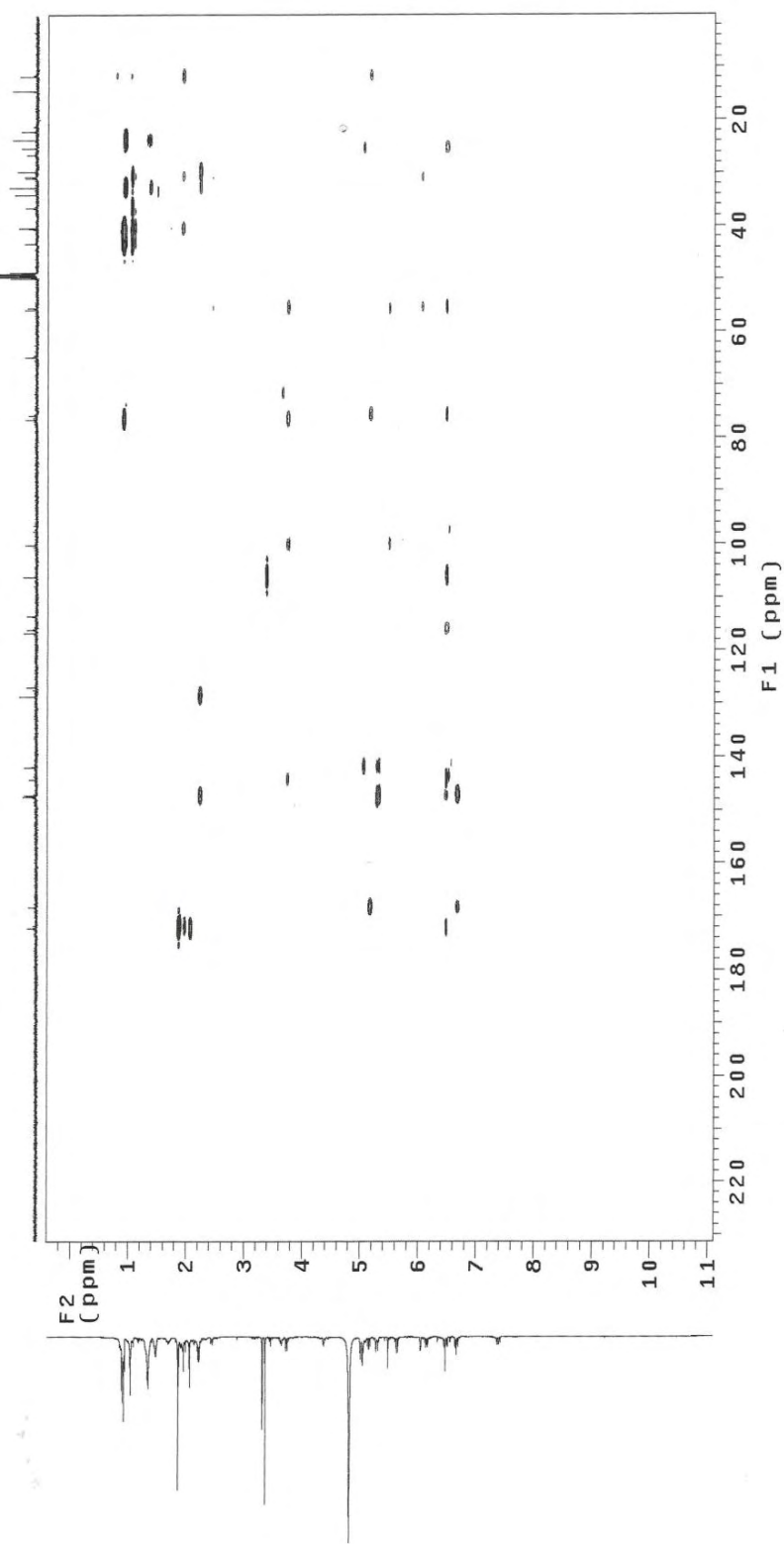


Figura 189. Mapa de contornos gHMBC de **17** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

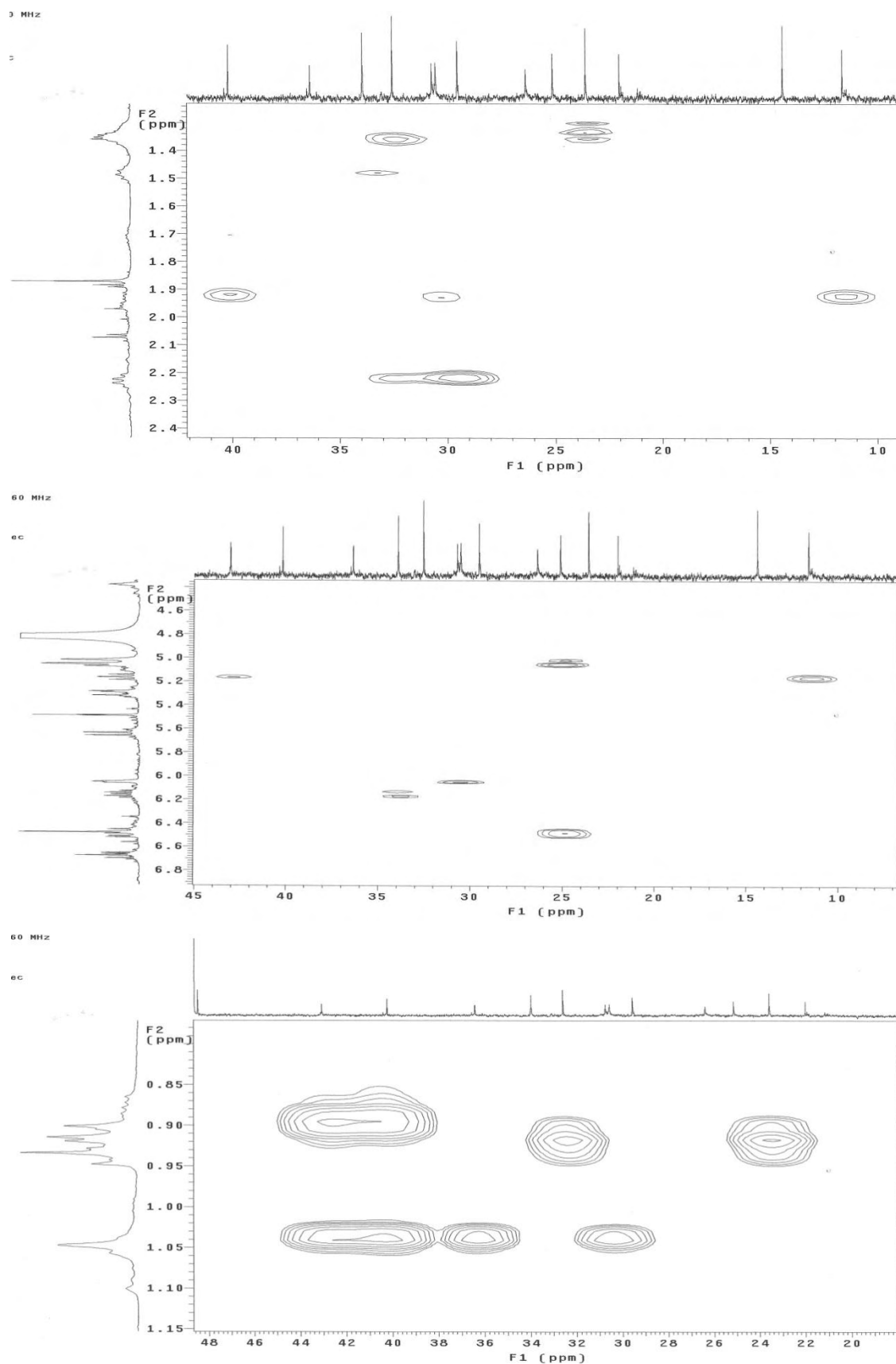


Figura 190. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **17** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

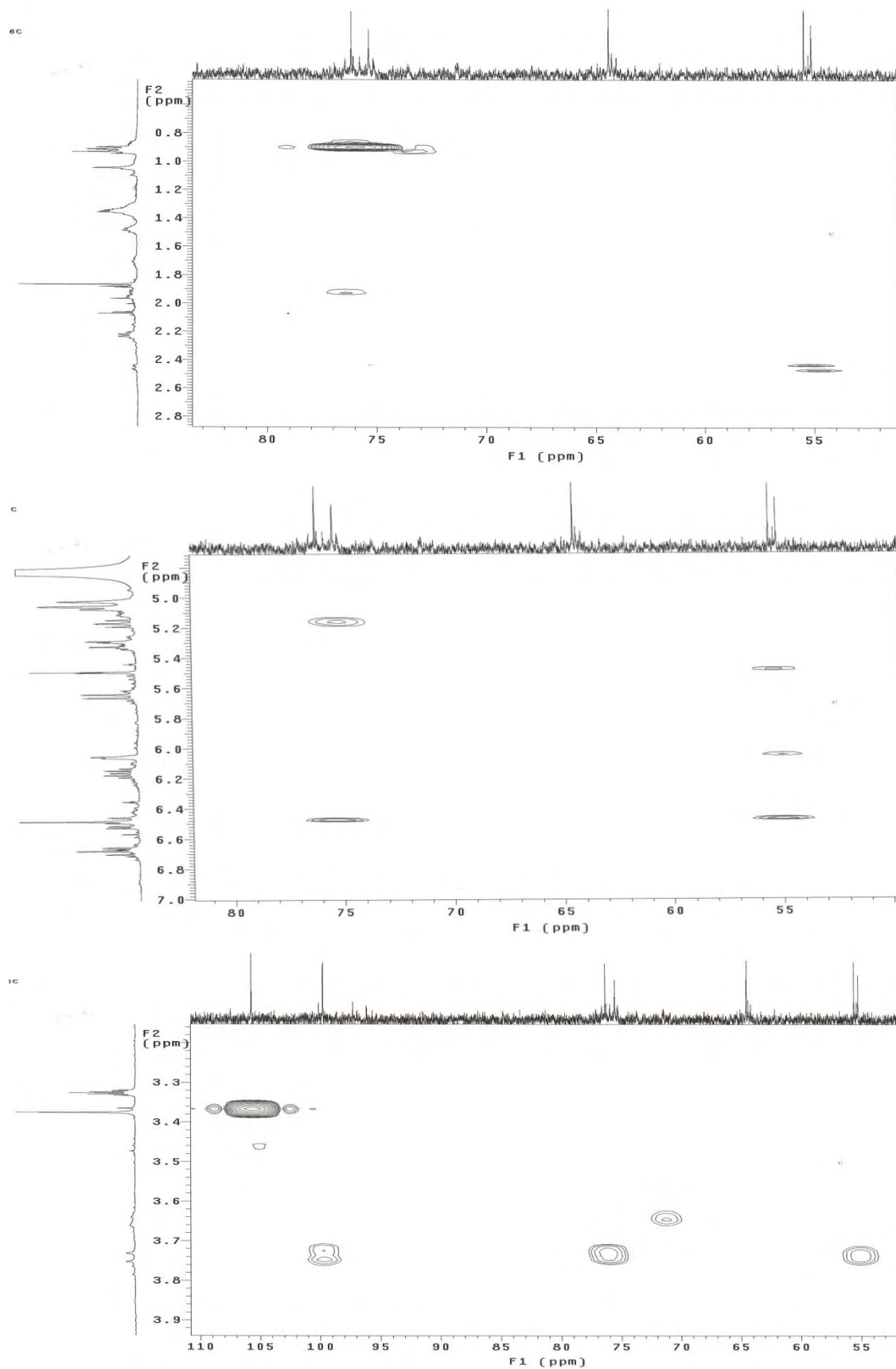


Figura 191. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **17** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

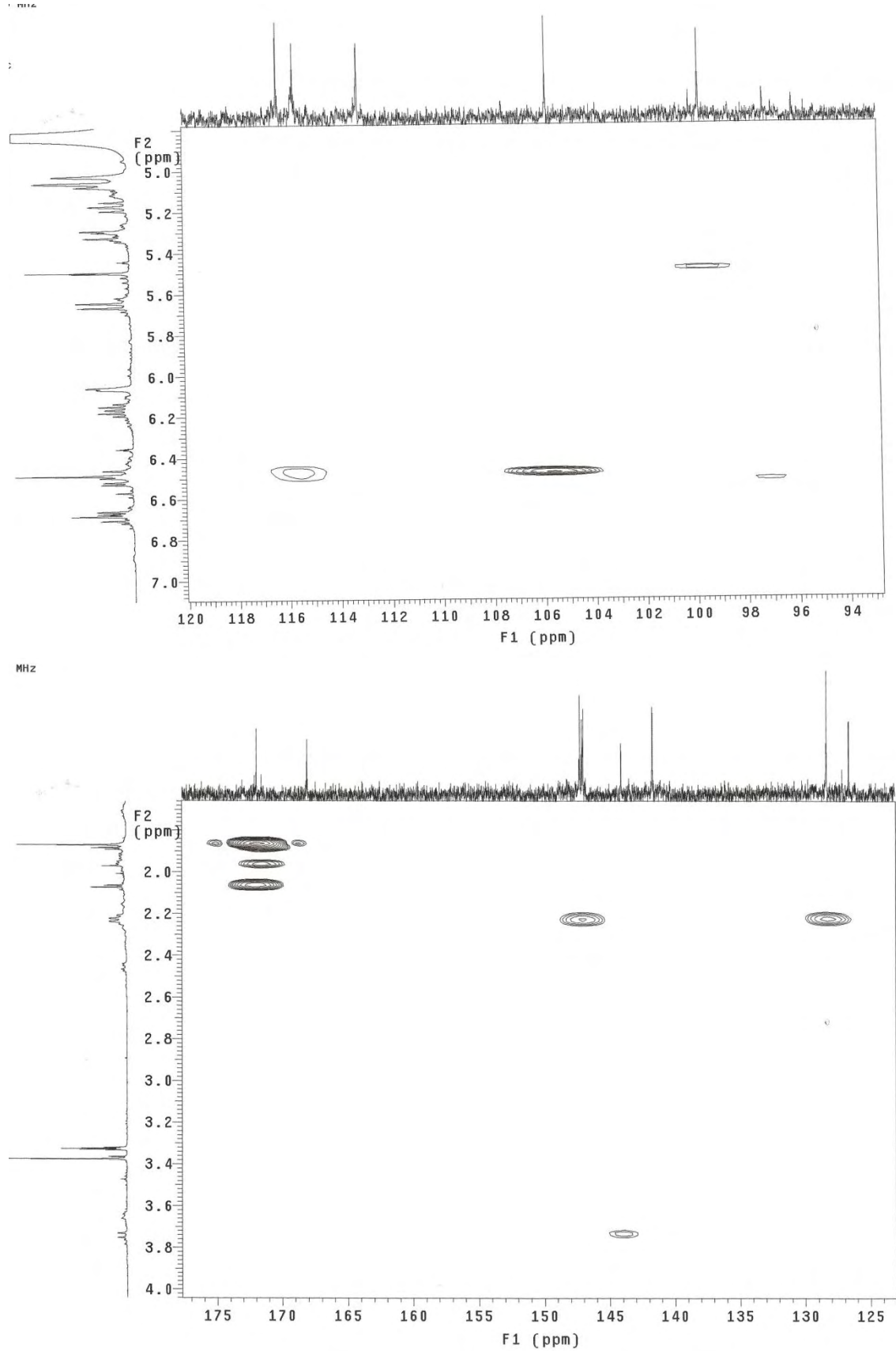


Figura 192. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **17** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

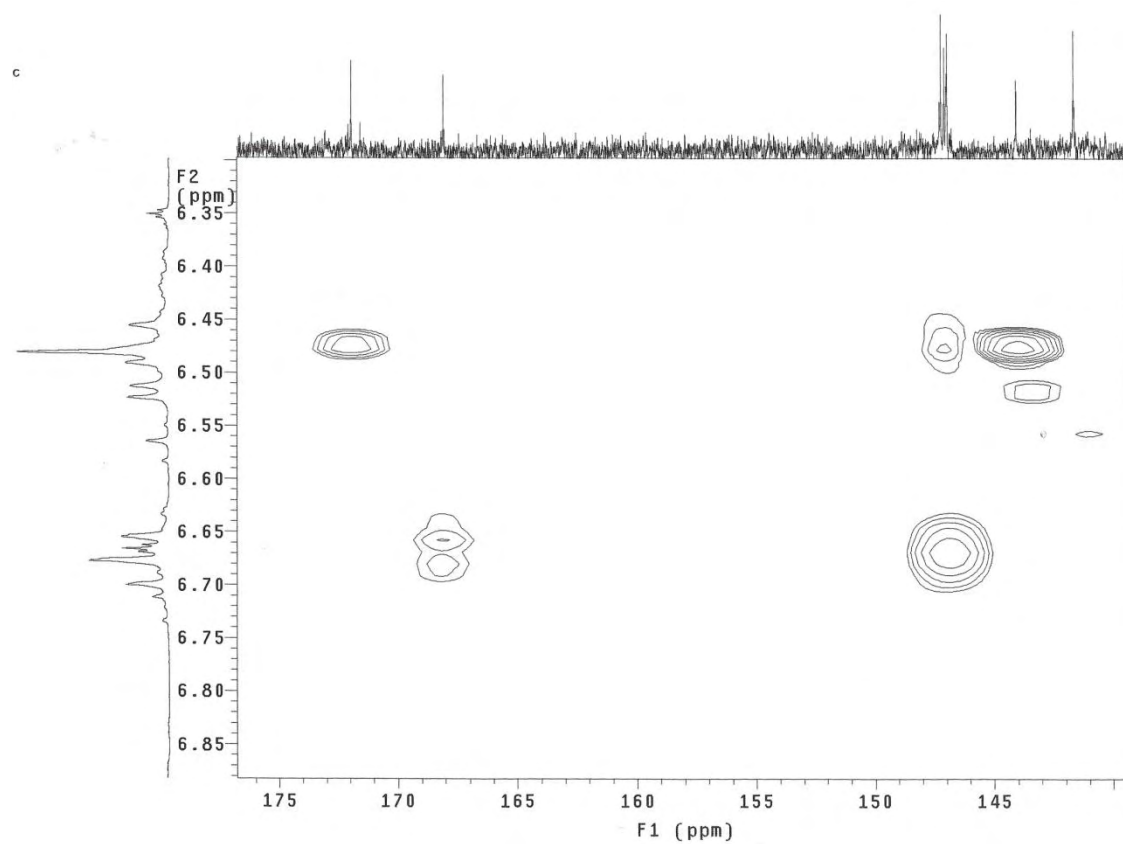
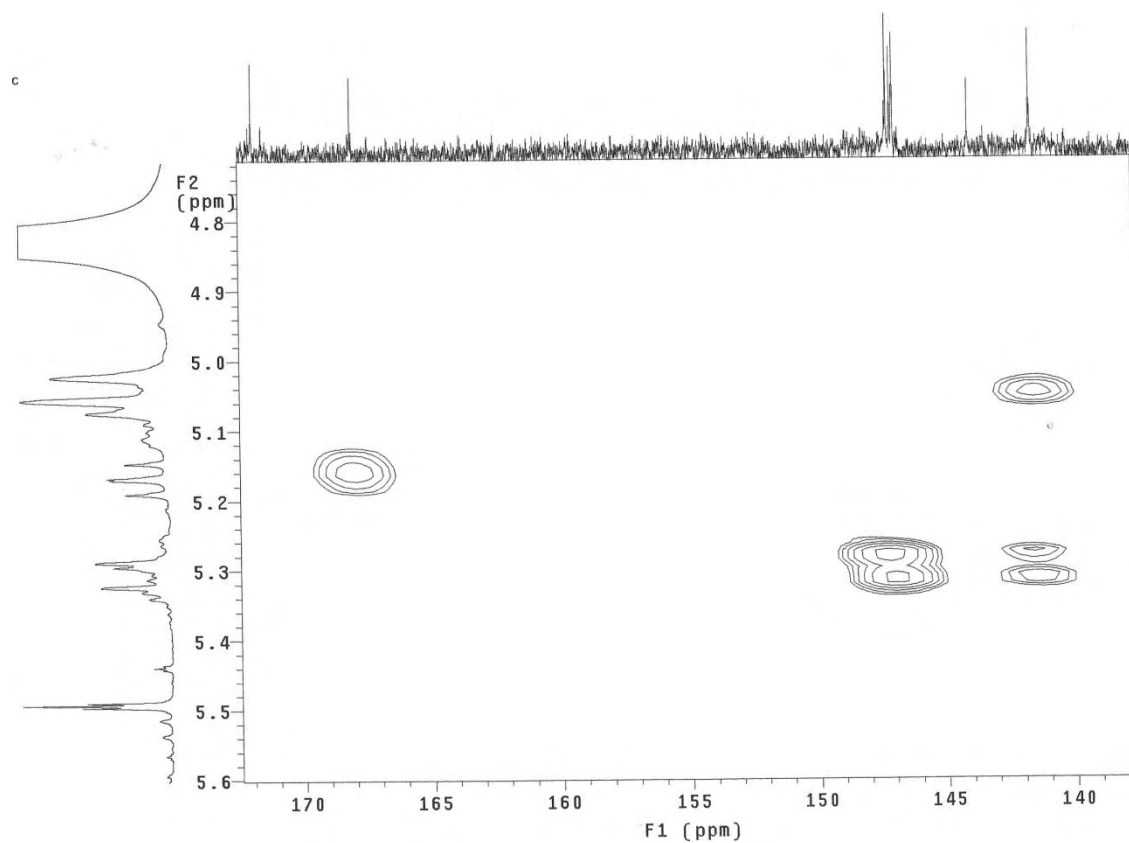


Figura 193. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **17** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

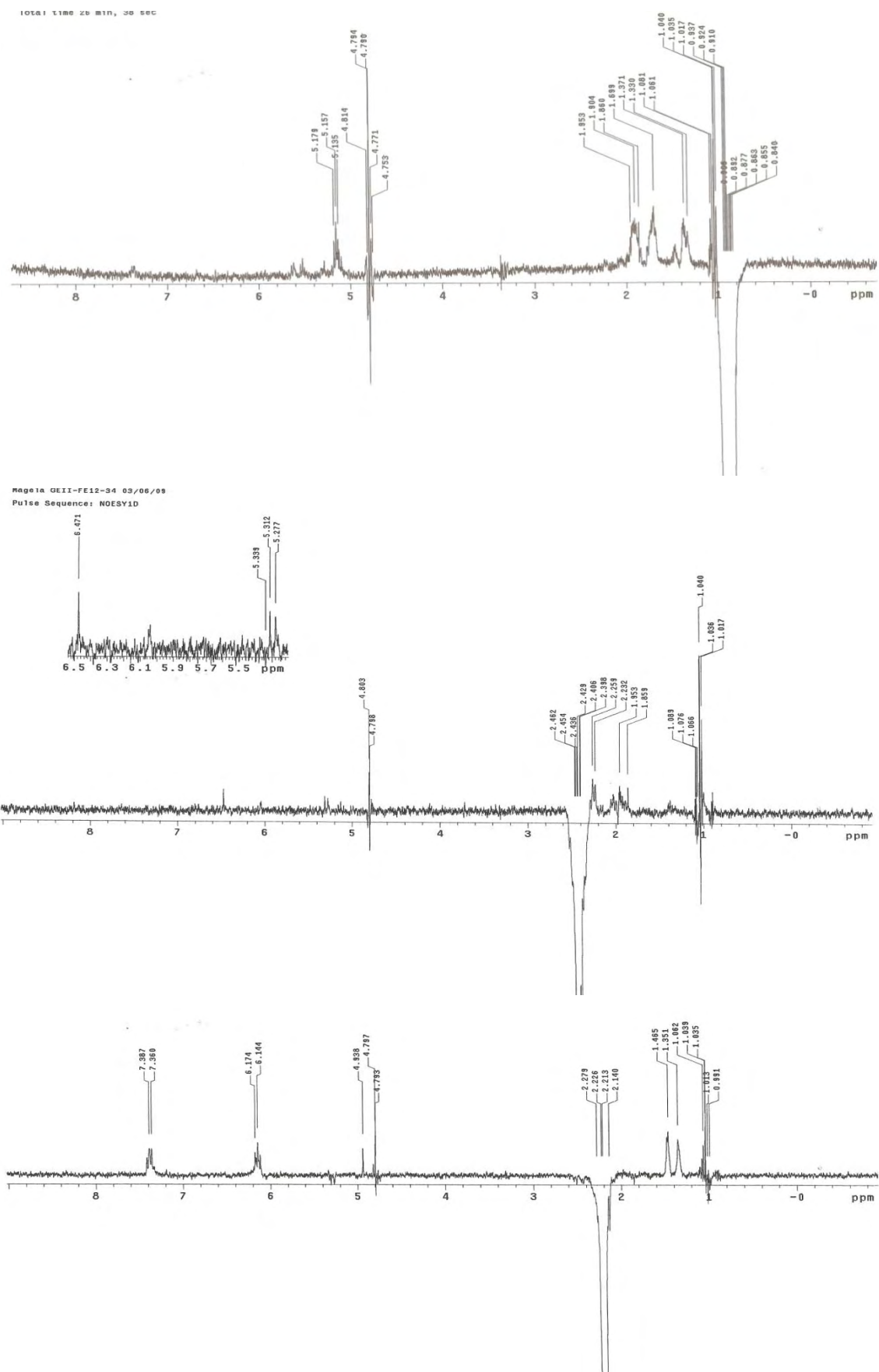


Figura 194. Espectros NOESY 1D de **17** (500 MHz, CD₃OD).

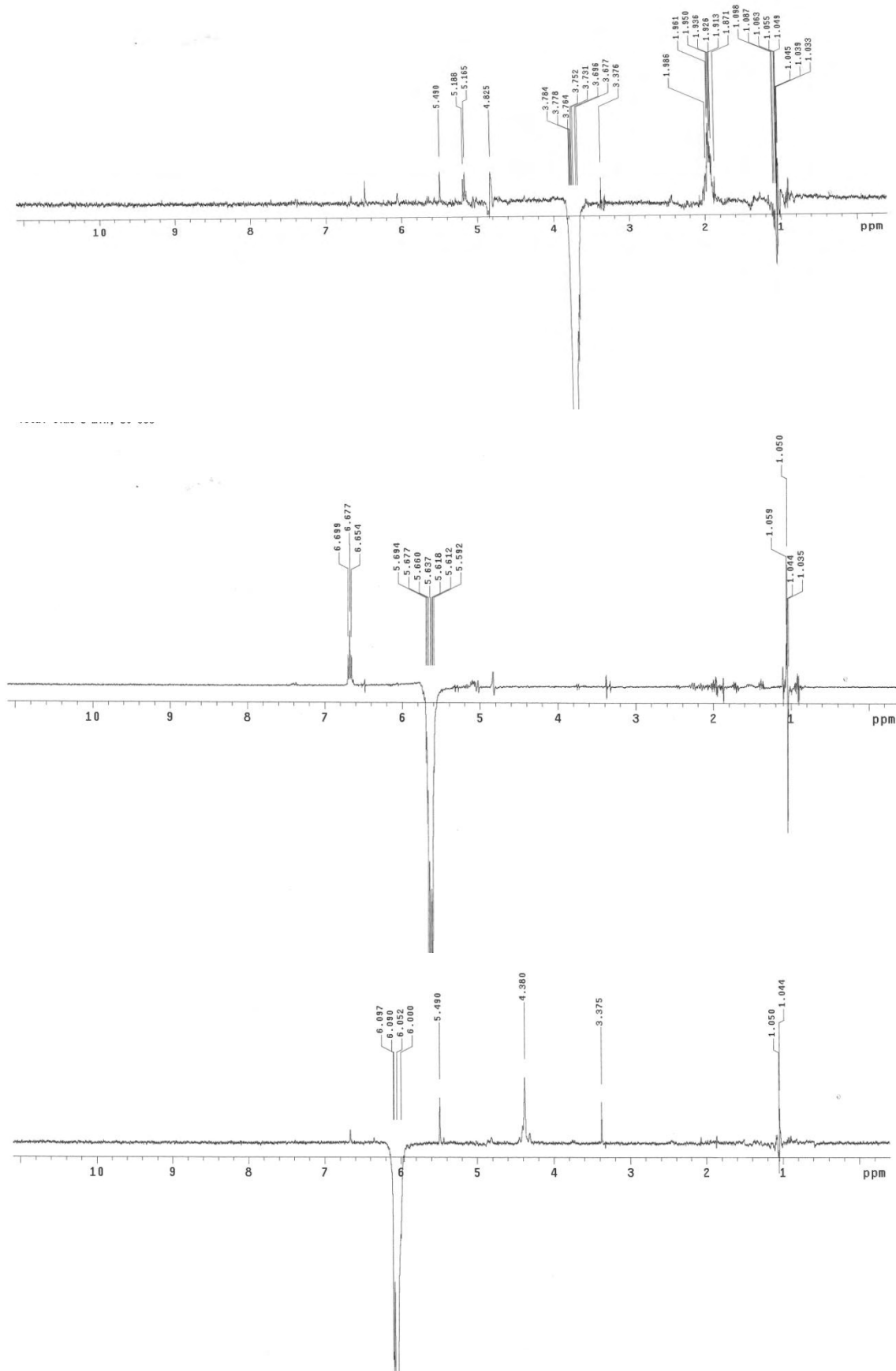


Figura 195. Espectros NOESY 1D de **17** (500 MHz, CD_3OD).

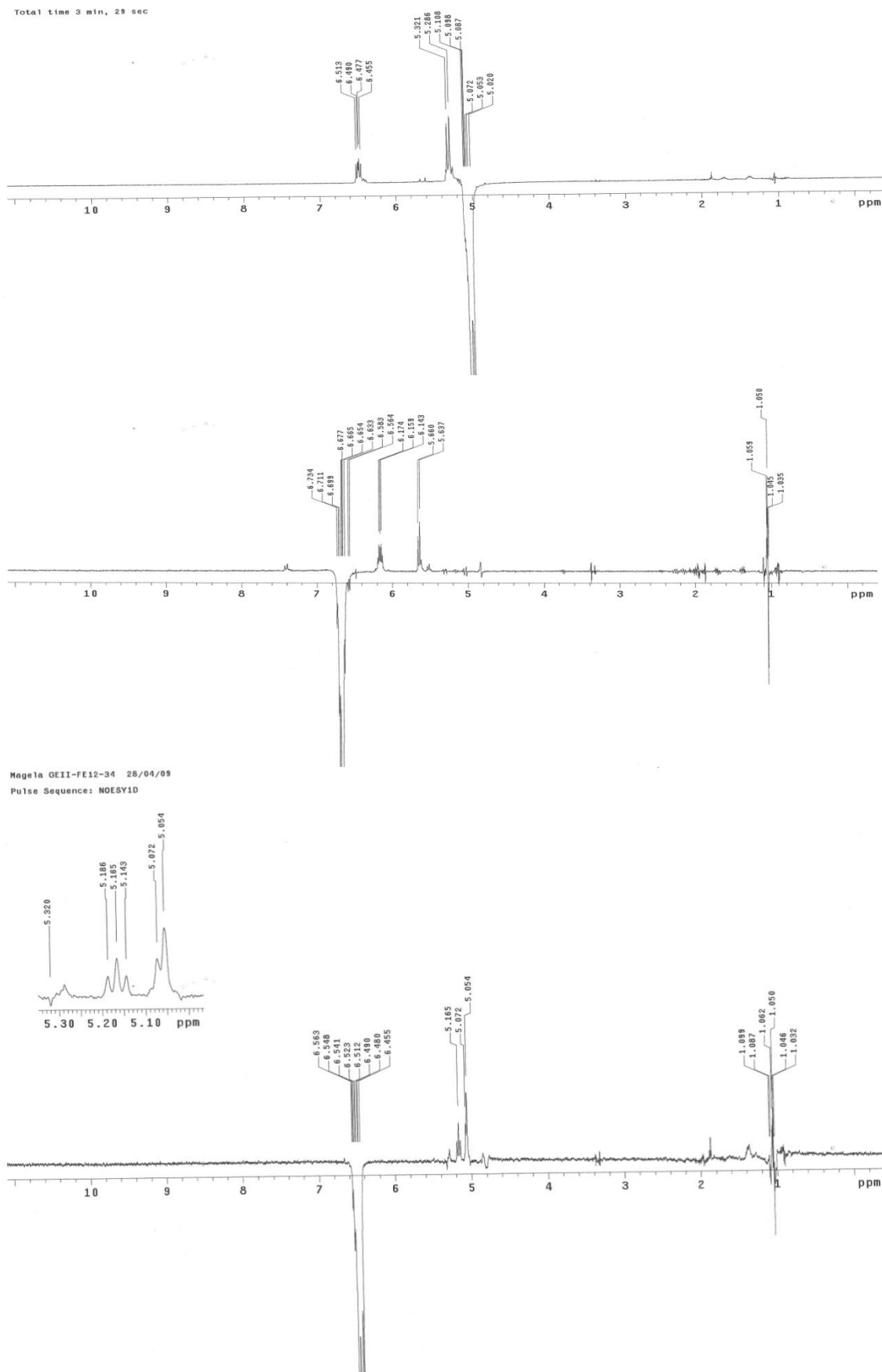
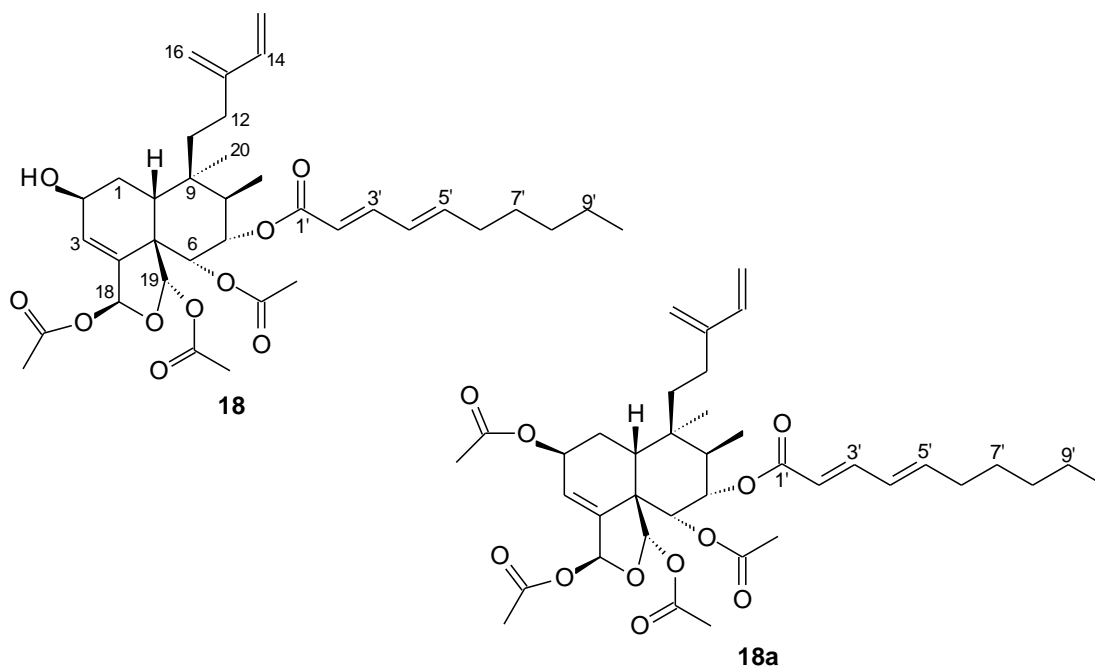


Figura 196. Espectros NOESY 1D de **17** (500 MHz, CD₃OD).

5.4.6. Casearupestrina D (**18**) e Casearupestrina F (**18a**)



A substância **18** apresentou no espectro de massas de alta resolução (Figura 199) (HRTOF-ESIMS) pico relativo ao íon $[M+Na]^+$ com valor de m/z de 665,3297 (calculado para $C_{36}H_{50}O_{10}Na$ m/z 665,3296), compatível com a fórmula molecular de $C_{36}H_{50}O_{10}$. Os espectros de UV e IV (Figuras 200-201) da substância **18** foram muito semelhantes aos de **16**.

Os espectros de RMN de 1H e de ^{13}C (Figuras 202-204, Tabela 24) foram similares aos da casearupestrina B (**16**), exceto pela presença adicional de um grupo acetato [δ 1,97 (3H, s), δ 171,5 e δ 20,9] em C-6. Em **16** há um substituinte hidroxila nesta posição. As multiplicidades dos carbonos foram atribuídas com base no espectro DEPT 135° (Figura 205) e os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos confirmados pelos mapas de contornos $gCOSY$, $gHMQC$ e $gHMBC$ (Figuras 206-217, 197, Tabela 24). A configuração relativa foi determinada com base nas constantes de acoplamento e pelas correlações observadas nos espectros NOESY 1D (Figuras 218-221, 198 e Tabela 24) e no valor obtido de $[\alpha]_D^{25} = + 81^\circ$ ($CHCl_3$, c 0,1).

Os dados espectrais reunidos foram suficientes para elucidar a estrutura da substância **18**, identificada como um novo diterpeno clerodânico denominado trivialmente de casearupestrina D.

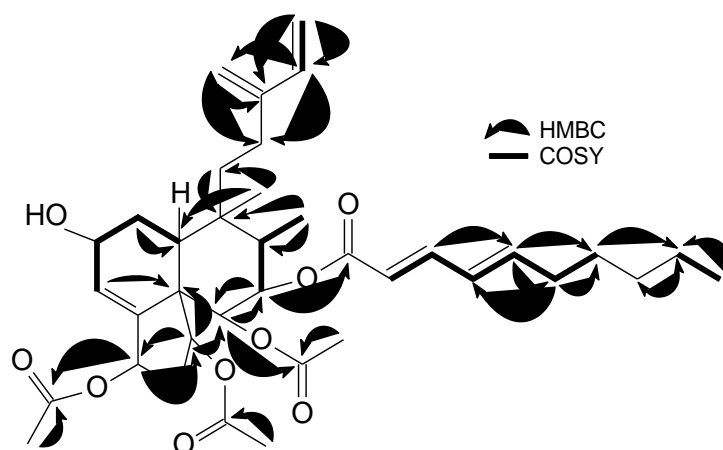


Figura 197. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC (^1H → ^{13}C) para **18**.

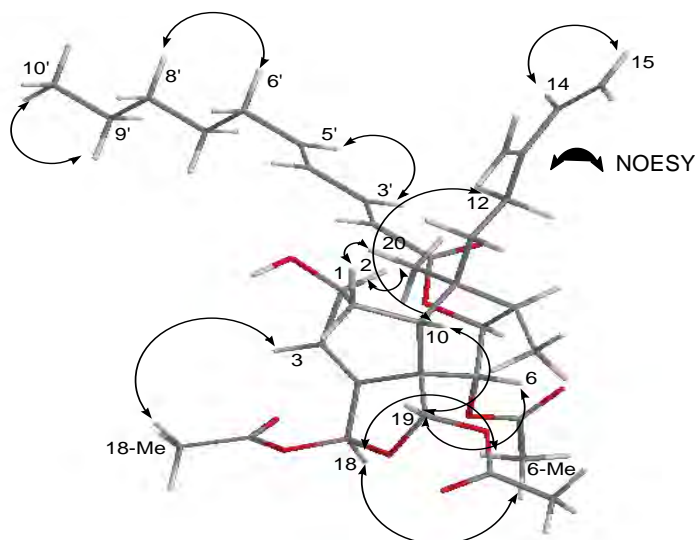


Figura 198. Principais interações observadas pelo experimento NOESY 1D (^1H ↔ ^1H) para **18**.

A substância **18** foi acetilada, resultando em um novo diterpeno clerodânico denominado casearupestrina F (**18a**). O espectro de massas (Figura 222) de **18a** apresentou pico da molécula cationizada em m/z 707,3401 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{O}_{11}\text{Na}$, m/z 707,3401). A análise dos dados de RMN de ^1H , de ^{13}C e HETCOR (Figuras 223-228, Tabela 25) permitiu atribuir todos os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos da molécula que apresentou adicionalmente mais um grupo

acetato em C-2 [δ_{H} 2,12 (s); δ_{C} 21,0 e 172,1]. A casearupetrina F é dextrorrotatória, com $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +99^{\circ}$ (MeOH, c 0,1).

TABELA 24. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **18**, incluindo resultados de mapas de contornos (gHMBC e gHMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$) ^a	gHMBC	NOESY 1D
1	33,9 (CH ₂)	1a 1b	1,74 m 2,10 m	-	H-20
2	64,0 (CH)	2	4,35 tl (4,0)	-	H-3; Me-18
3	129,3 (CH)	3	6,07 dl (4,0)	-	H-2; H-18
4	141,1 (C)	-	-	H-6; H-19	-
5	54,3 (C)	-	-	H-3; H-19	-
6	75,8 (CH)	6	5,28 sl	H-7; H-19	H-19
7	73,5 (CH)	7	5,30 d (12,0)	H-6; H-17	H-19
8	42,7 (CH)	8	-	H-17	-
9	40,2 (C)	-	-	H-11; H-17	-
10	37,3 (CH)	10	2,51 dd (3,5, 13,5)	H-1; H-20	H-12; H-19
11	30,5 (CH ₂)	11	1,97 m 2,08 m	H-20	-
12	25,0 (CH ₂)	12a 12b	2,24 m	H-14; H-16	-
13	146,8 (C)	-	-	H-14; H-15; H-16	-
14	141,5 (CH)	14	6,47 dd (7,0, 11,0)	H-15; H-16	H-15
15	113,2 (CH ₂)	15a 15b	5,03 d (7,0) 5,30 d (11,0)	-	H-14
16	115,1 (CH ₂)	16a 16b	5,06 s 5,40 sl	H-14	-
17	11,3 (CH ₃)	17	0,93 sl	-	-
18	96,0 (CH)	18	6,33 t (1,5)	H-19	H-3; Me-18
19	99,5 (CH)	19	6,53 s	H-6; H-18	H-7; Me-19
20	26,0 (CH ₃)	20	0,98 s	-	H-1; H-10
1'	167,4 (C)	-	-	H-7; H-3'	-
2'	115,7 (CH)	2'	5,40 d (11,0)	-	H-3'
3'	148,1 (CH)	3'	6,54 s	-	H-2'; H-5'
4'	128,0 (CH)	4'	7,32 ddl (11,0, 15,5)	H-6'	H-3'; H-5'; H-6'
5'	148,0 (CH)	5'	6,18 dd (7,5, 15,5)	H-3'; H-6'; H-7'	H-3'; H-4'; H-6'
6'	33,9 (CH ₂)	6'	2,22 m	H-5'; H-7'	H-7'; H-8'; H-9'
7'	29,4 (CH ₂)	7'a 7'b	1,46 m	H-5'; H-6'	H-6'
8'	32,5 (CH ₂)	8'	1,35 m	H-9'; H-10'	H-6'
9'	23,5 (CH ₂)	9'	1,35 m	H-7'; H-8'; H-10'	H-6'; H-10'
10'	14,3 (CH ₃)	10'	0,92 t	-	H-9'
6-C=O	171,5 (C)	-	-	H-6; COOMe-6	-
18-C=O	171,9 (C)	-	-	H-18; COOMe-18	-
19-C=O	171,9 (C)	-	-	H-19; COOMe-19	-
COOMe-6	20,9 (CH ₃)	COOMe-6	1,95 s	-	H-18
COOMe-18	20,9 (CH ₃)	COOMe-18	2,04 s	-	-
COOMe-19	21,9 (CH ₃)	COOMe-19	1,87 s	-	-

^aAtribuições baseadas nos mapas de contornos gCOSY e gHMQC.

TABELA 25. Dados de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância **18a**, incluindo resultados de mapa de contornos (HETCOR), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$) ^a
1	30,6 (CH_2)	1a 1b	1,38 m
2	67,4 (CH)	2	5,52 m
3	125,3 (CH)	3	6,07 dl (4,0)
4	144,1 (C)	-	-
5	54,2 (C)	-	-
6	75,6 (CH)	6	5,29 dl
7	73,4 (CH)	7	5,32 dl
8	42,5 (CH)	8	2,10 m
9	40,2 (C)	-	-
10	38,3 (CH)	10	2,40 dd (5,0, 22,0)
11	27,8 (CH_2)	11	2,08 m 2,17 m
12	25,1 (CH_2)	12a 12b	2,40 dd (5,0, 22,0)
13	146,6 (C)	-	-
14	141,4 (CH)	14	6,50 ddl (11,0, 18,0)
15	113,2 (CH_2)	15a 15b	5,10 m 5,38 m
16	115,9 (CH_2)	16a 16b	5,06 s
17	11,3 (CH_3)	17	0,95 dl (11,0)
18	95,9 (CH)	18	6,36 t (3,0)
19	99,5 (CH)	19	6,58 s
20	25,8 (CH_3)	20	1,08 s
1'	167,4 (C)	-	-
2'	115,1 (CH)	2'	5,54 dl (19,0)
3'	148,2 (CH)	3'	6,71 t (19,0)
4'	128,0 (CH)	4'	7,34 ddl (6,5, 19,0)
5'	148,0 (CH)	5'	6,20 dd (11,0, 12,5)
6'	33,9 (CH_2)	6'	2,24 m
7'	29,4 (CH_2)	7'a 7'b	1,49 m
8'	32,5 (CH_2)	8'	1,36 m
9'	23,5 (CH_2)	9'	1,36 m
10'	14,3 (CH_3)	10'	0,93 tl
2-C=O	172,1 (C)	-	-
6-C=O	171,5 (C)	-	-
18-C=O	171,8 (C)	-	-
19-C=O	171,0 (C)	-	-
COOMe-2	21,0 (CH_3)	COOMe-2	2,12 s
COOMe-6	20,9 (CH_3)	COOMe-6	1,97 s
COOMe-18	20,9 (CH_3)	COOMe-18	2,07 s
COOMe-19	21,7 (CH_3)	COOMe-19	1,90 s

^aAtribuições baseadas no mapa de contornos HETCOR.

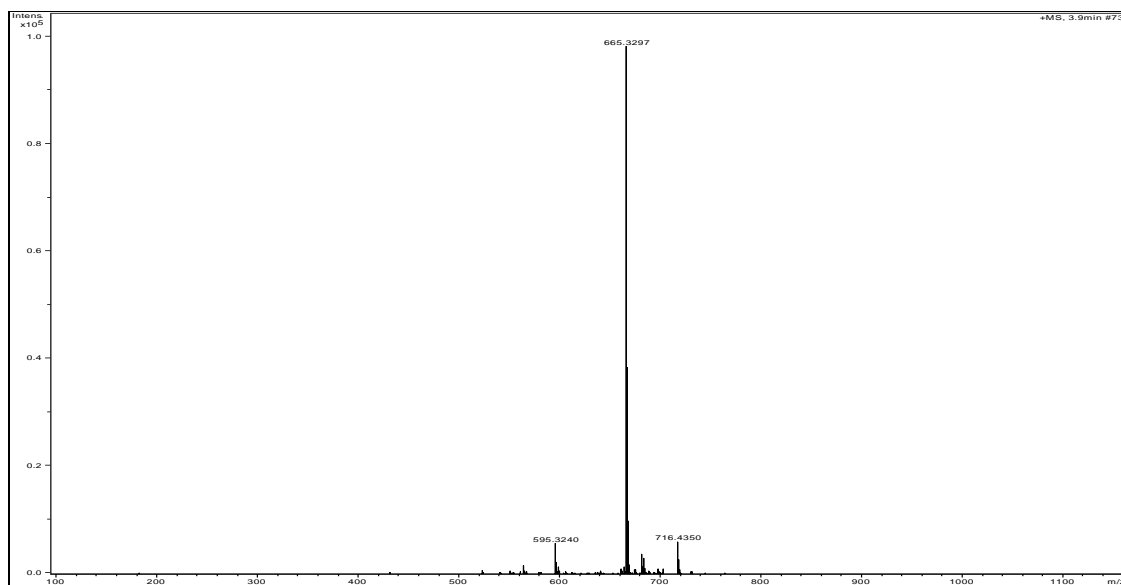


Figura 199. Espectro de massas de alta resolução (modo negativo) de **18**.

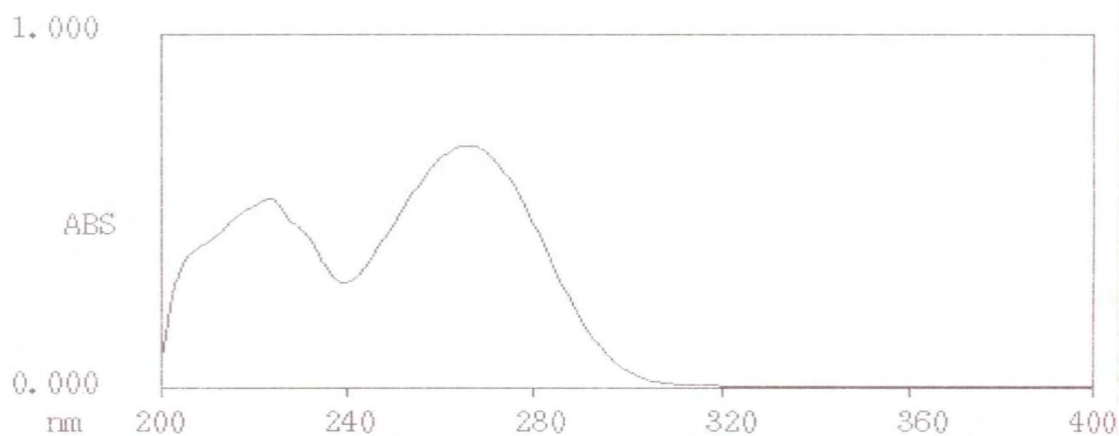


Figura 200. Espectro de absorção no UV de **18**.

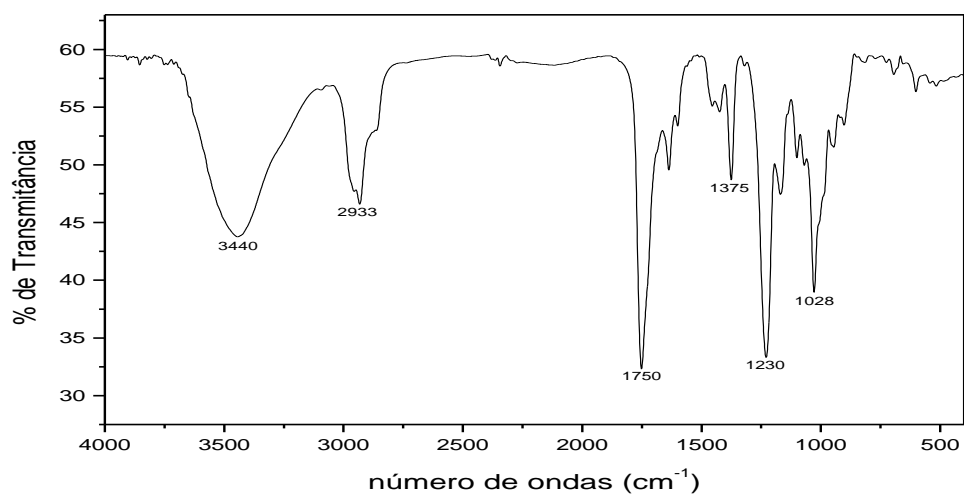


Figura 201. Espectro de absorção na região do IV de **18** (KBr).

.....

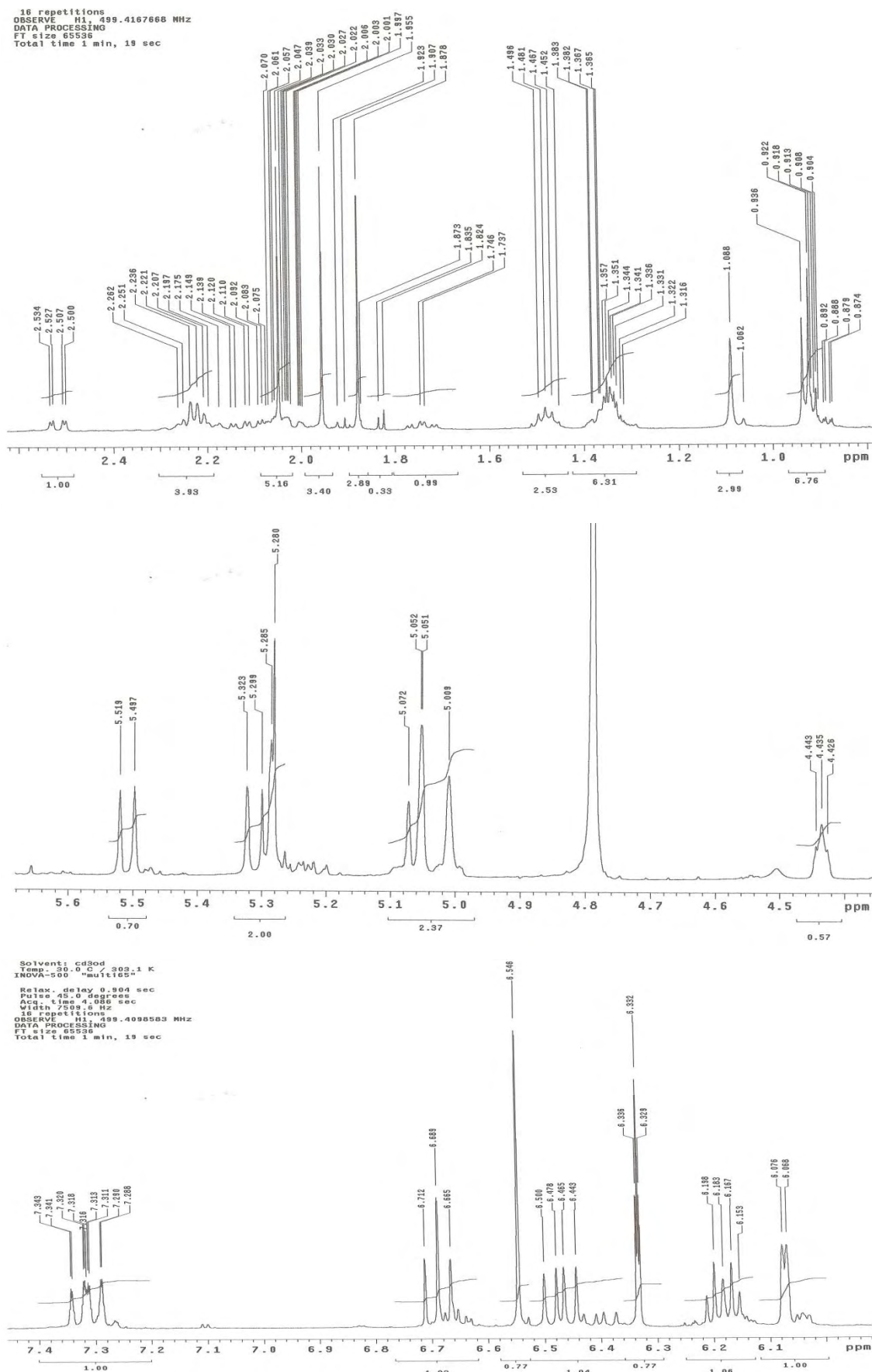


Figura 203. Expansões do espectro de RMN ^1H de **18** (500 MHz, CD_3OD).

Magela GHII-F10-P1 30/01/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

File: magela_GHII-F10-P1_c

INOVA-500 "multif5"

Relax. delay 0.957 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.041 sec

Waltz 2027.64 Hz

2688 repetitions

OBSERVE C13, 125.5782693 MHz

DECOUPLE H1, 499.4192640 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA ACQUISITION

File size 65536

Total time 1 hr, 29 min, 57 sec

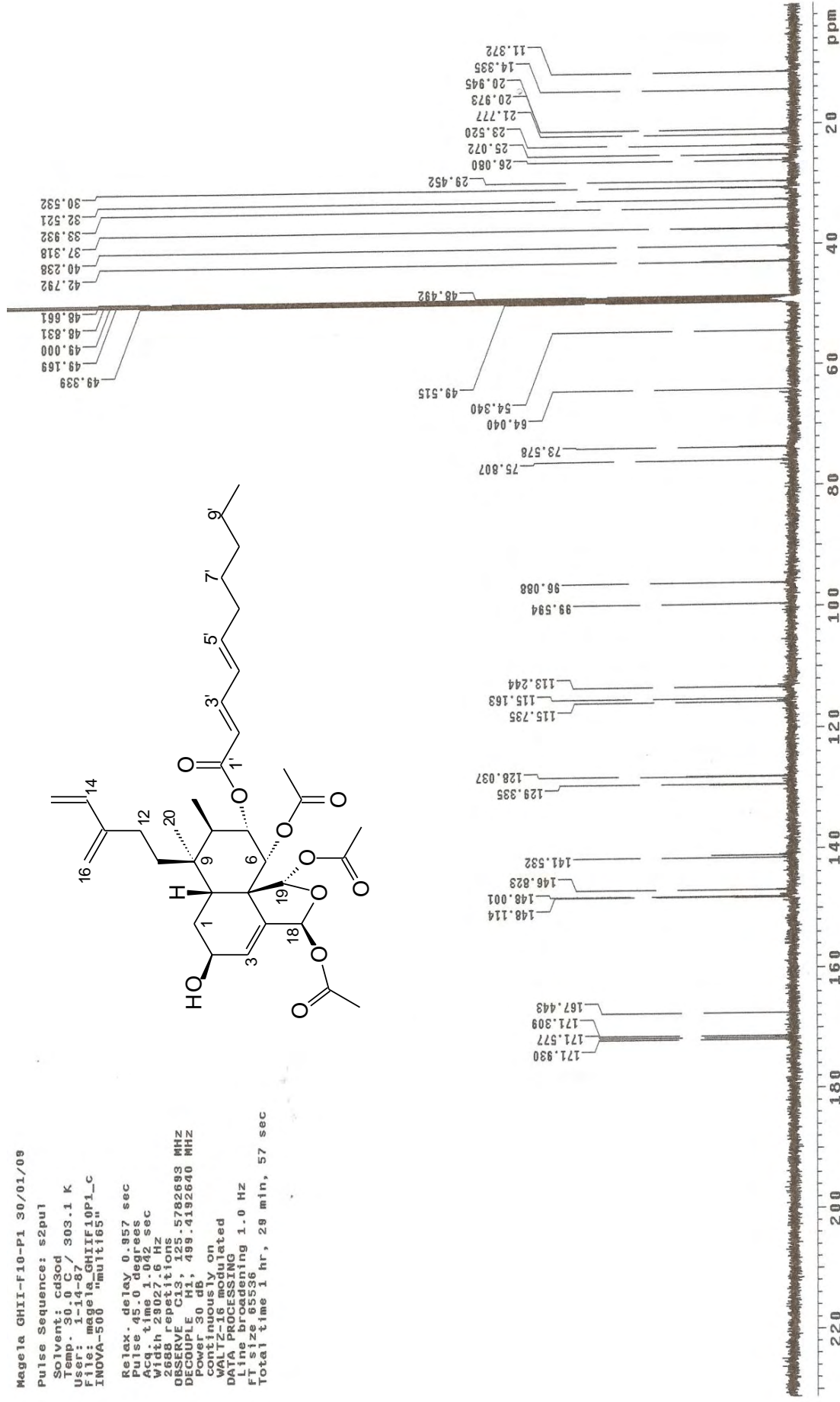
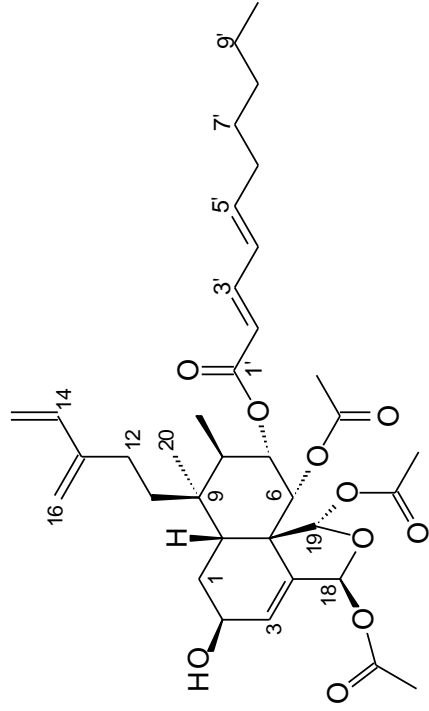


Figura 204. Espectro de RMN ^{13}C de **18** (125 MHz, CD_3OD).

Magela GHII-F10-P1 30/01/09

Pulse Sequence: DEPT135

Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
INOVA-500 "multi65"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.042 sec
Width 23027.6 Hz
864 repetitions
OBSERVE C13, 125.5782893 MHz
DECOUPLE H1, 499.4192640 MHz
Power 30 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ16 calculated
DATA PROCESSING
line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 59 min, 45 sec

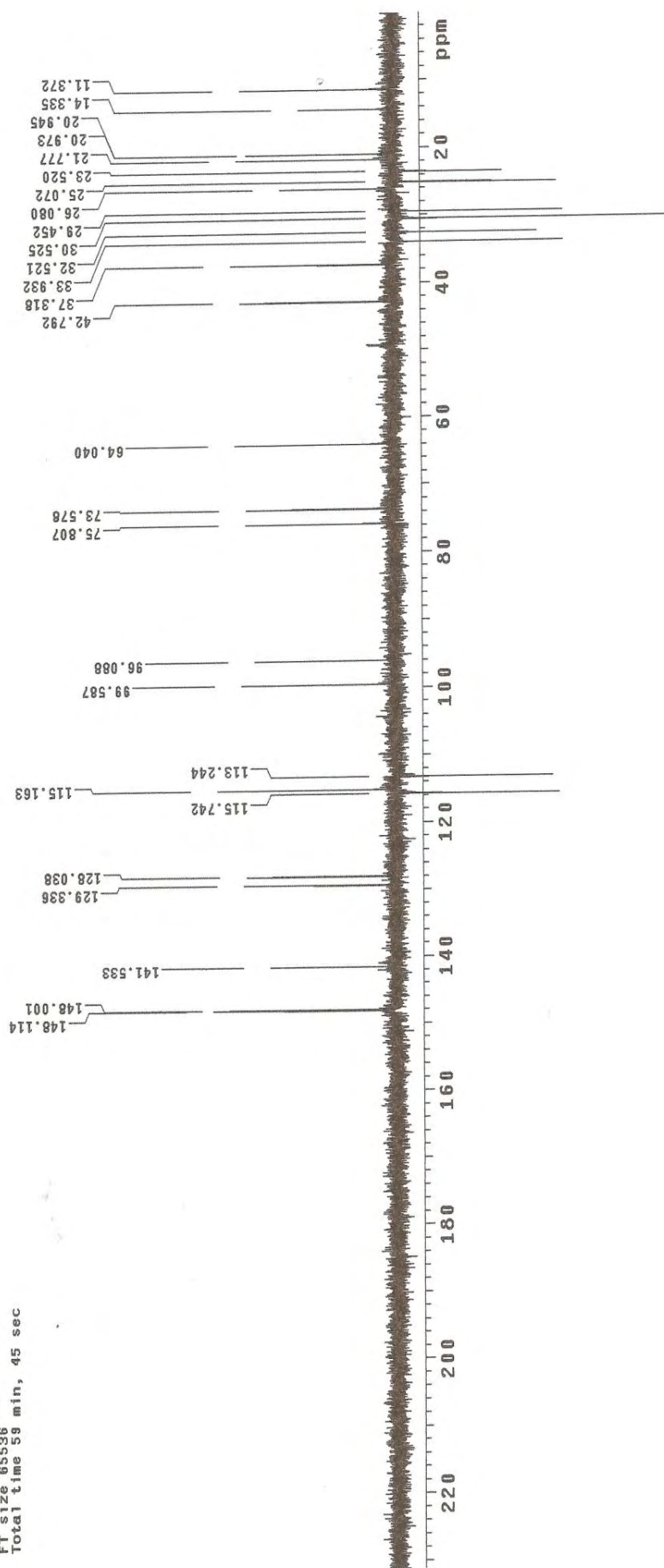


Figura 205. Espectro de RMN DEPT 135° de **18** (125 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE12-37 03/04/09

Pulse Sequence: gCOSY

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

INNOVA-500 "multif65"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.136 sec

Width 7509.6 Hz

2D Width 7509.6 Hz

128 repetitions

128 scans

OBSERVE F1 499.4042260 MHz

DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.068 sec

F1 DATA PROCESSING

Sq. sine bell 0.010 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 5 min, 14 sec

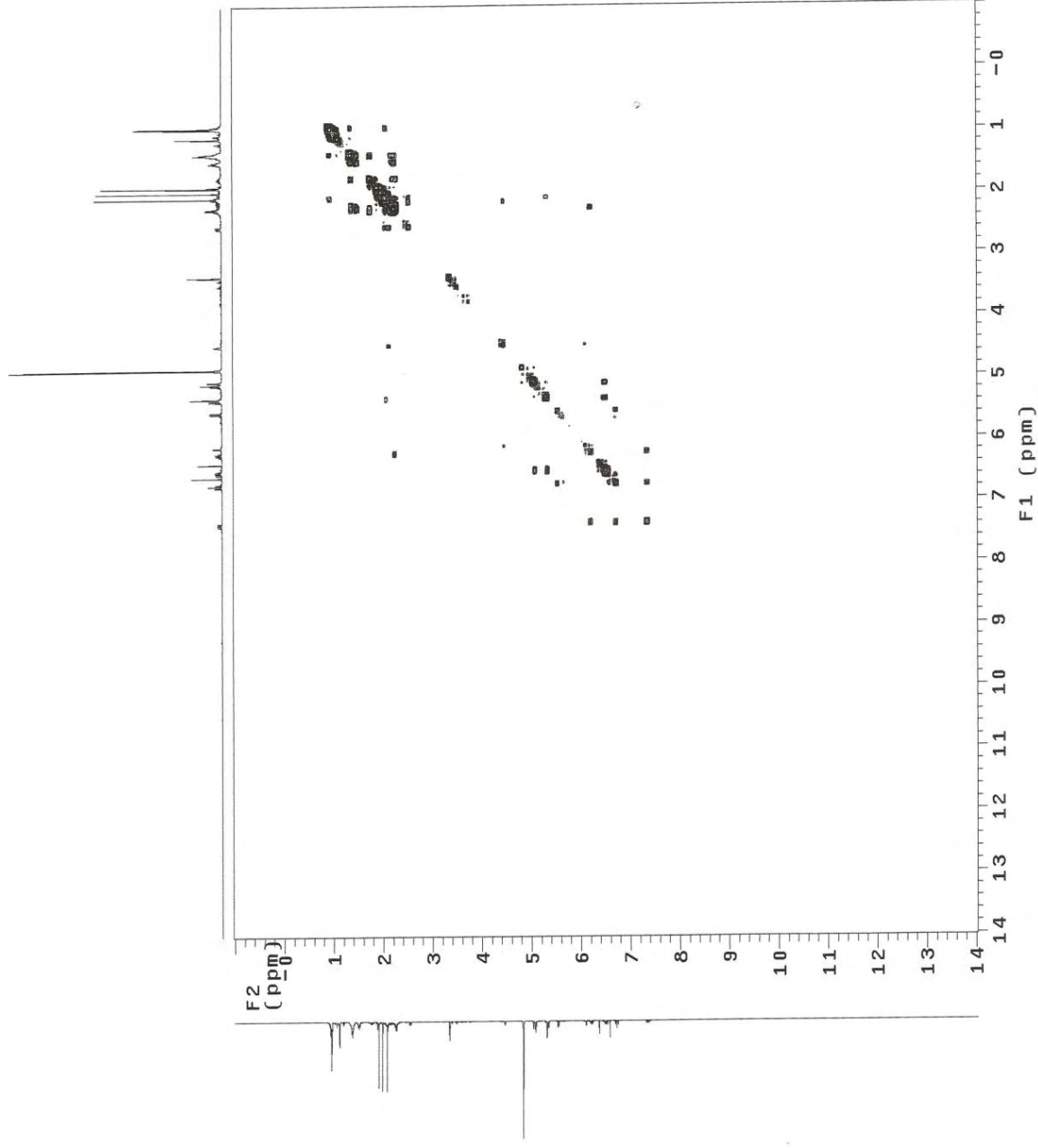


Figura 206. Mapa de contornos gCOSY de **18** (500 MHz, CD₃OD).

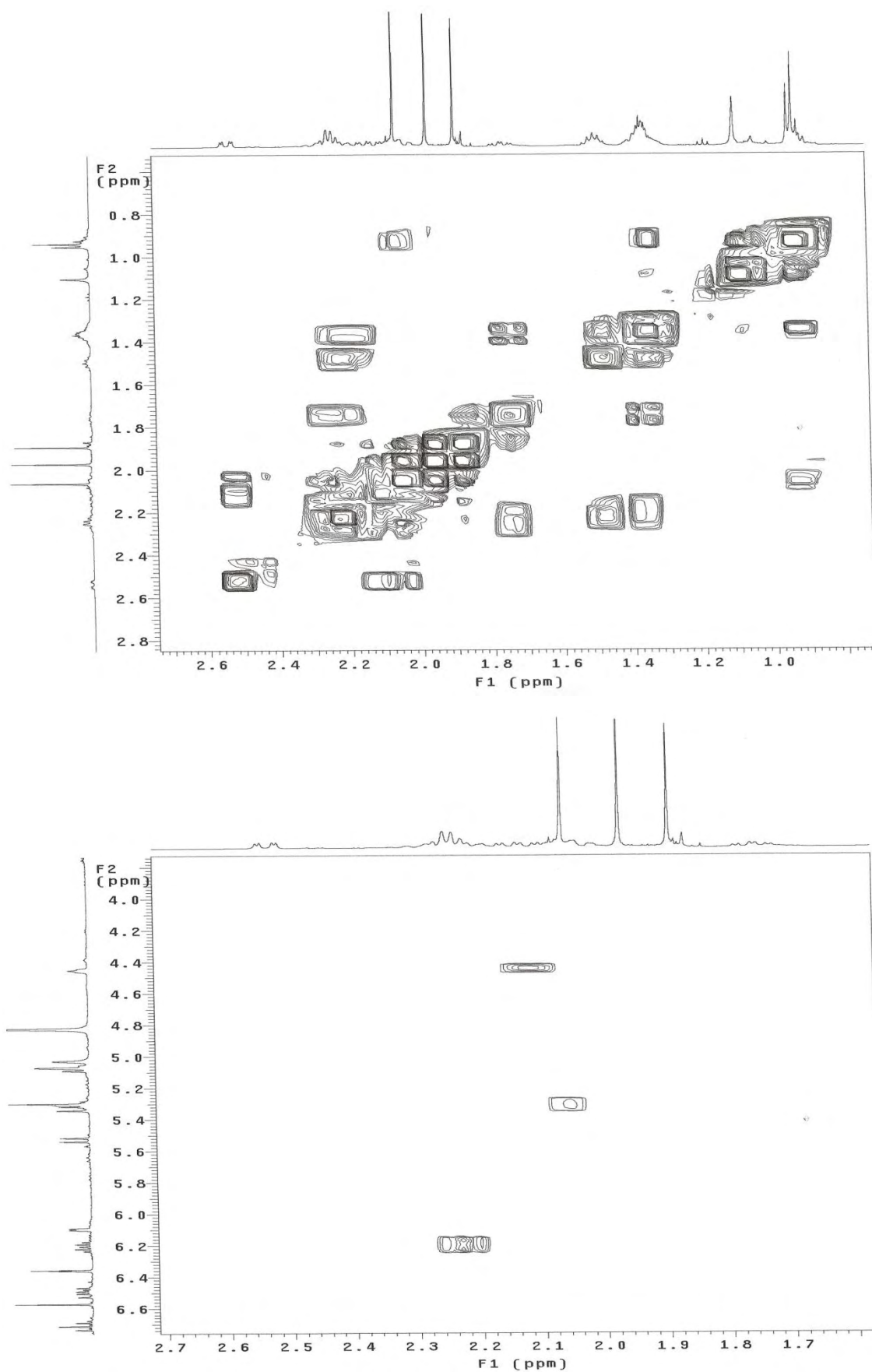


Figura 207. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **18** (500 MHz, CD₃OD).

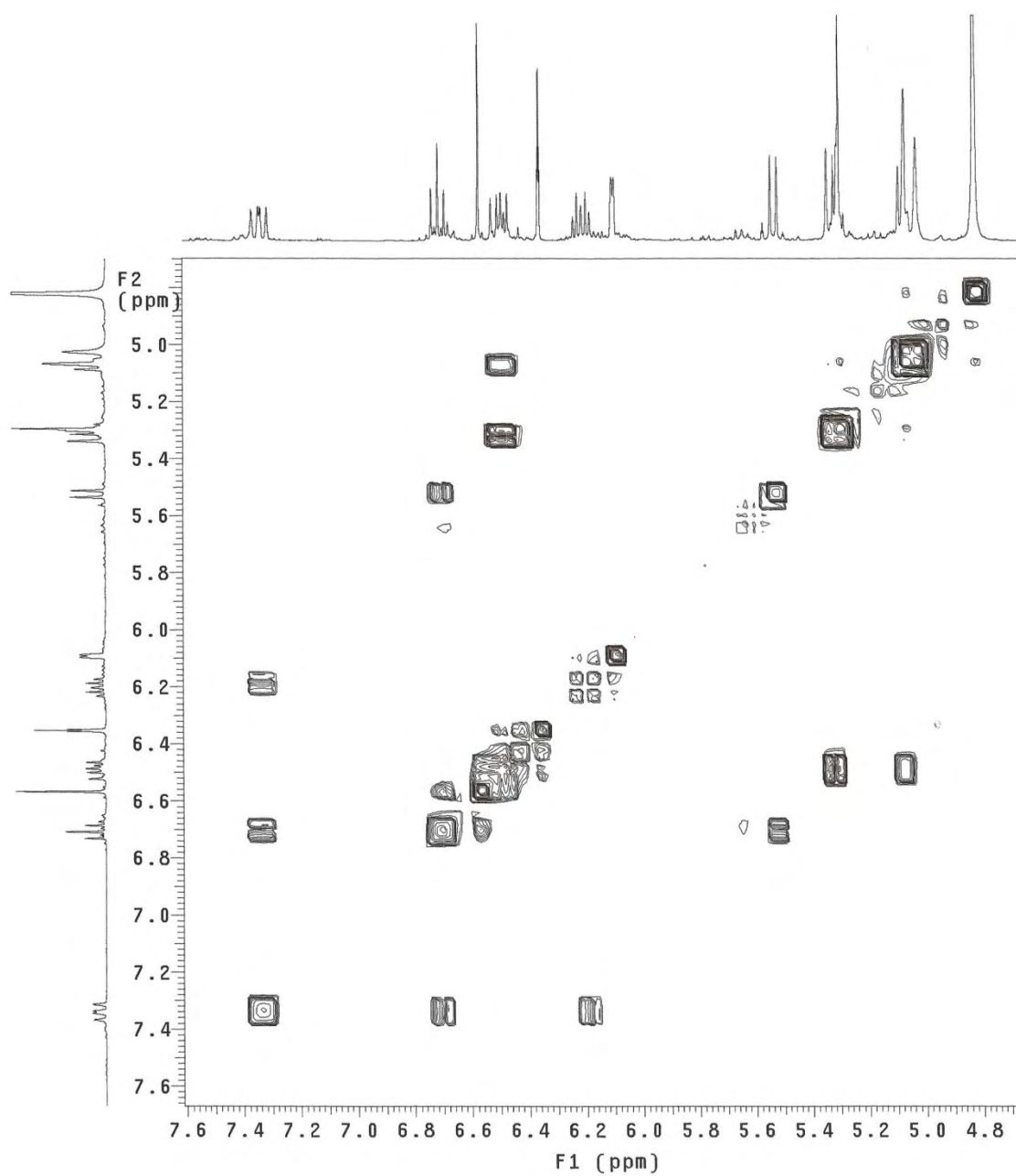


Figura 208. Expansão do mapa de contornos gCOSY de **18** (500 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE12-37 03/04/09

Pulse Sequence: gHMQC

Solvent: cd3od

Temp. 30.0 C / 303.1 K

User: 1-14-87

INOVA-500 "multies"

Relax. delay 1.000 sec

Acq. time 0.136 sec

Width 7509.6 Hz

2D Width 29027.6 Hz

2 x 128 increments

2 x 128 F2

OBSERVE H1, 499.4042260 MHz

DECOUPLE C13, 125.5896409 MHz

Power 47 dB, 125.5896409 MHz

on during acquisition

off during delay

GAPPI modulated

DATA PROCESSING

Gauss apodization 0.063 sec

F1 DATA PROCESSING 0.003 sec

FT size 2048 x 2048

Total time 20 min, 56 sec

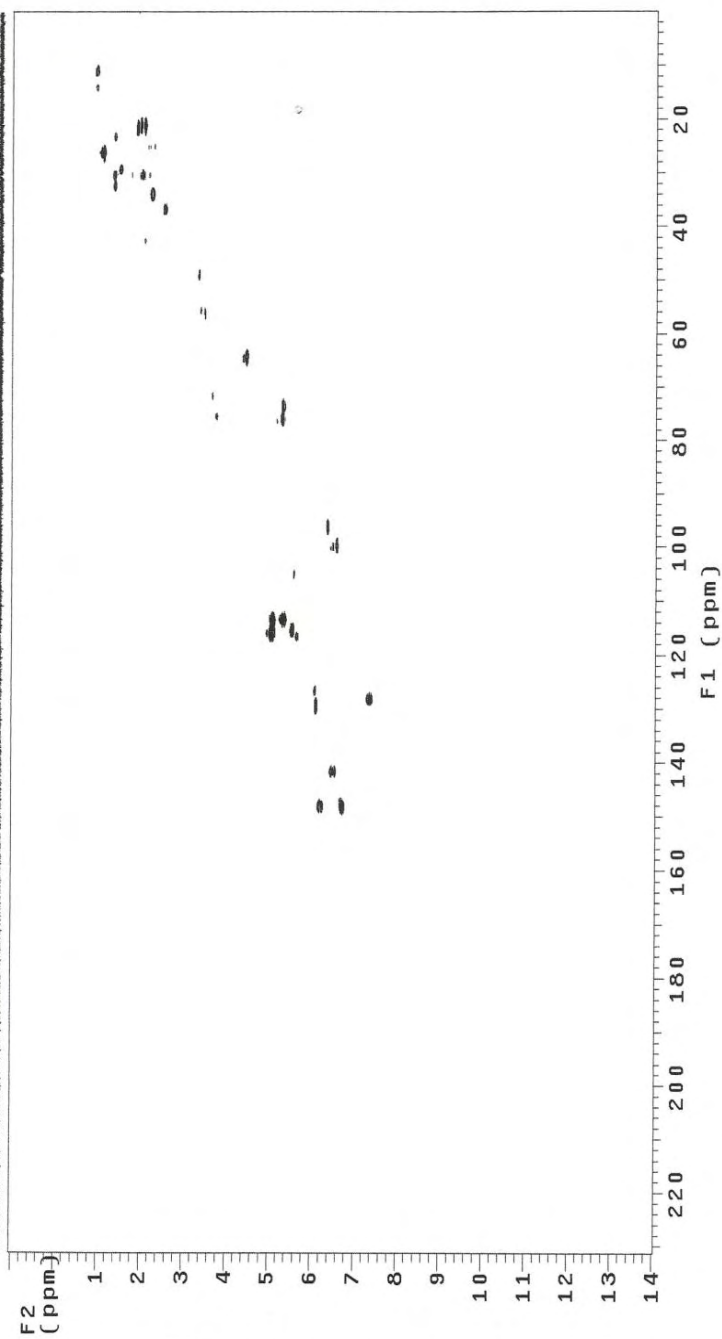


Figura 209. Mapa de contornos gHMQC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

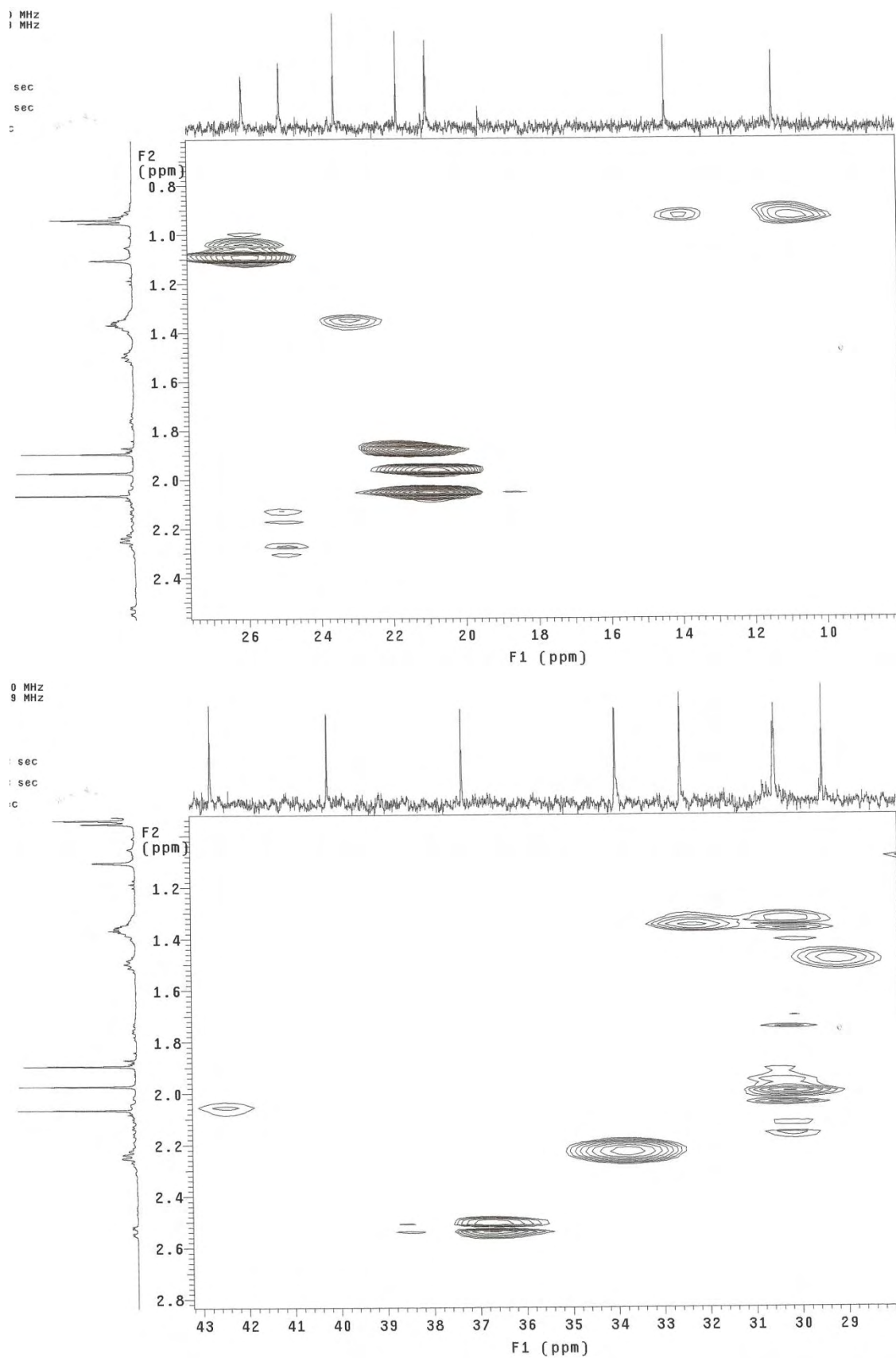


Figura 210. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

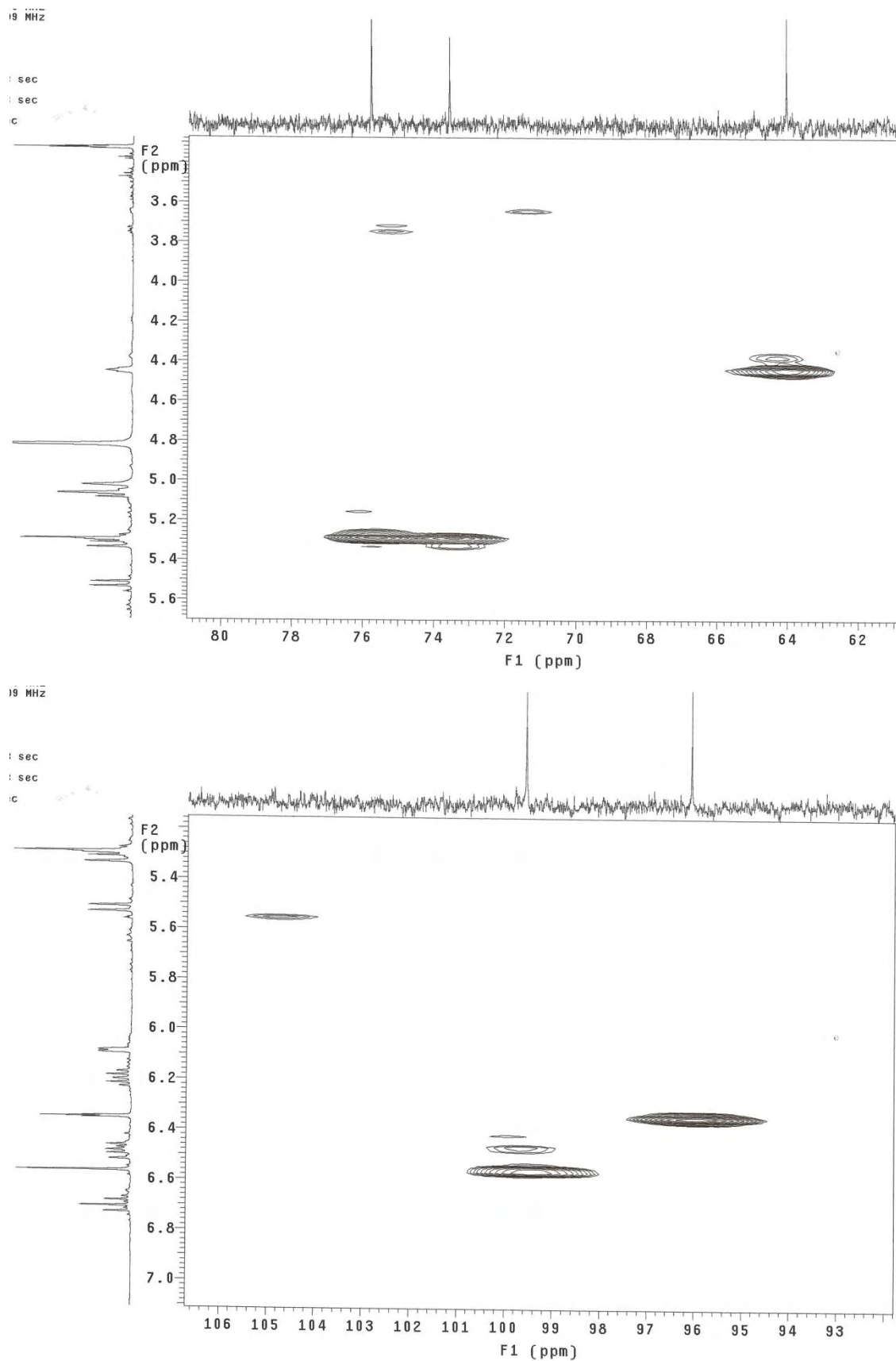


Figura 211. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

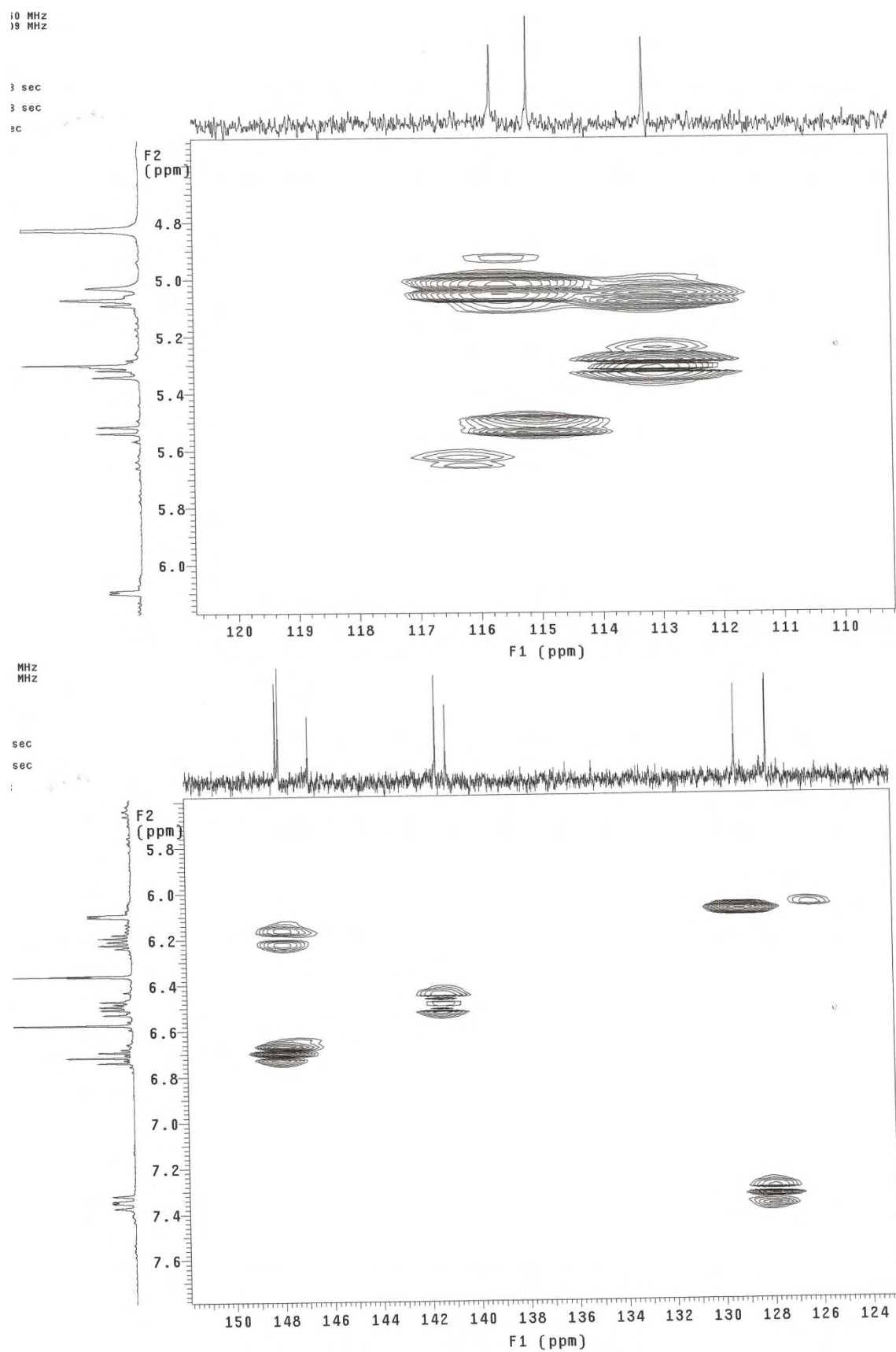


Figura 212. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE12-37 03/04/09

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od
Temp: 301.2 K / 303.1 K
Usr1: 11-87
INOVA-500 "multi65"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 136 sec
Width 7509.6 Hz
2D Width 29027.6 Hz
8 repetitions
128 increments
OBSERVE H1, 499.4042260 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.068 sec
F1 DATA PROCESSING
F1 time 136 sec
F1 size 2048 x 2048
Total time 21 min, 50 sec

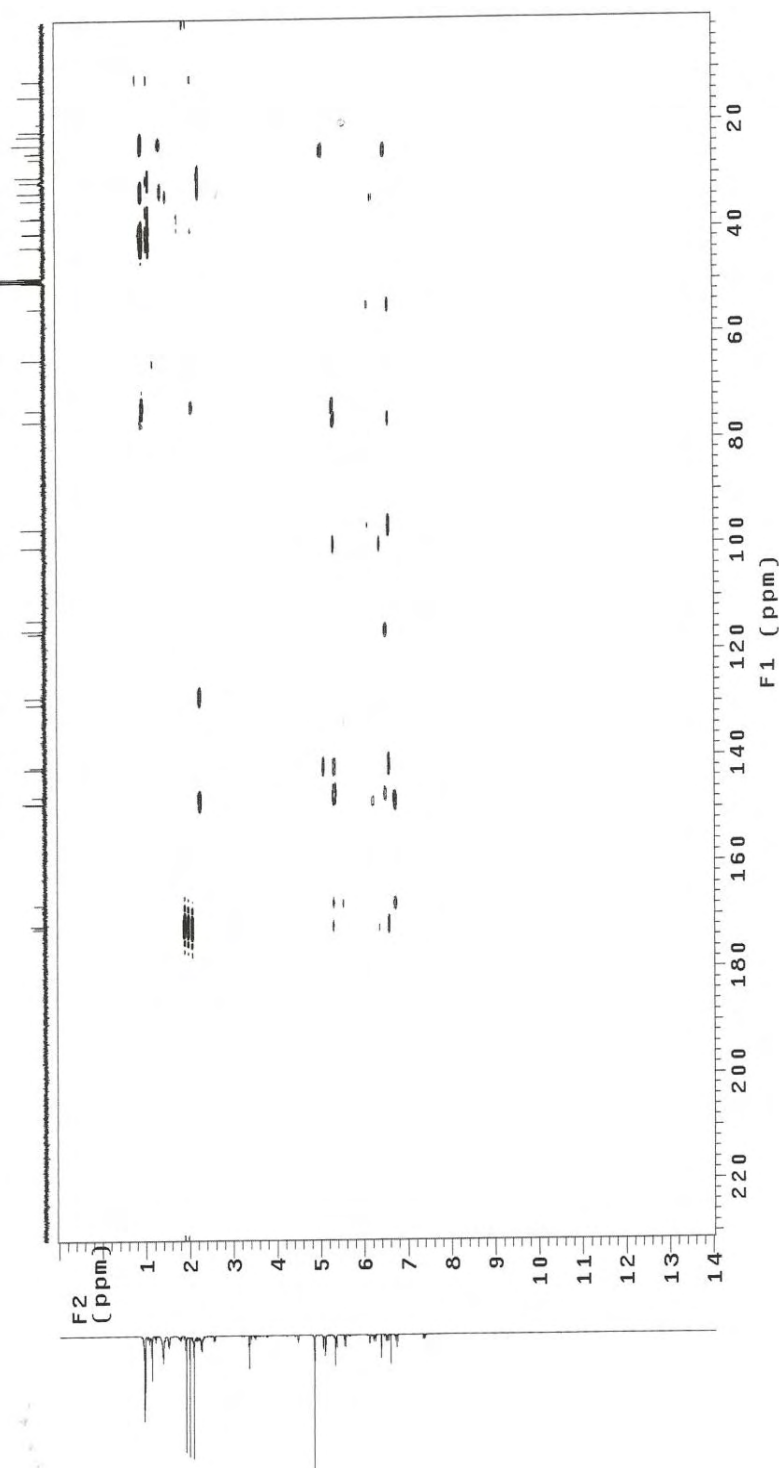


Figura 213. Mapa de contornos gHMBC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

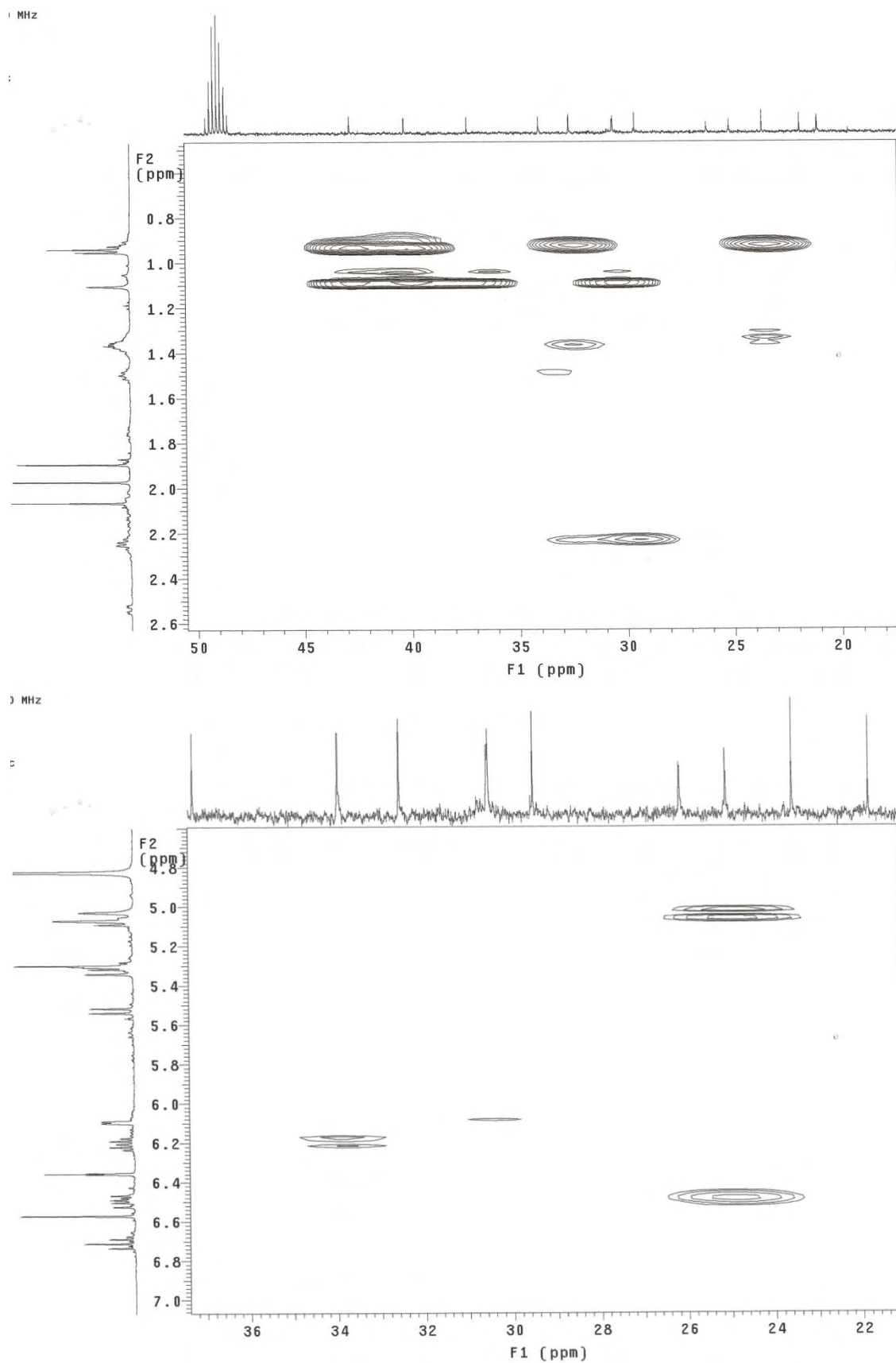


Figura 214. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

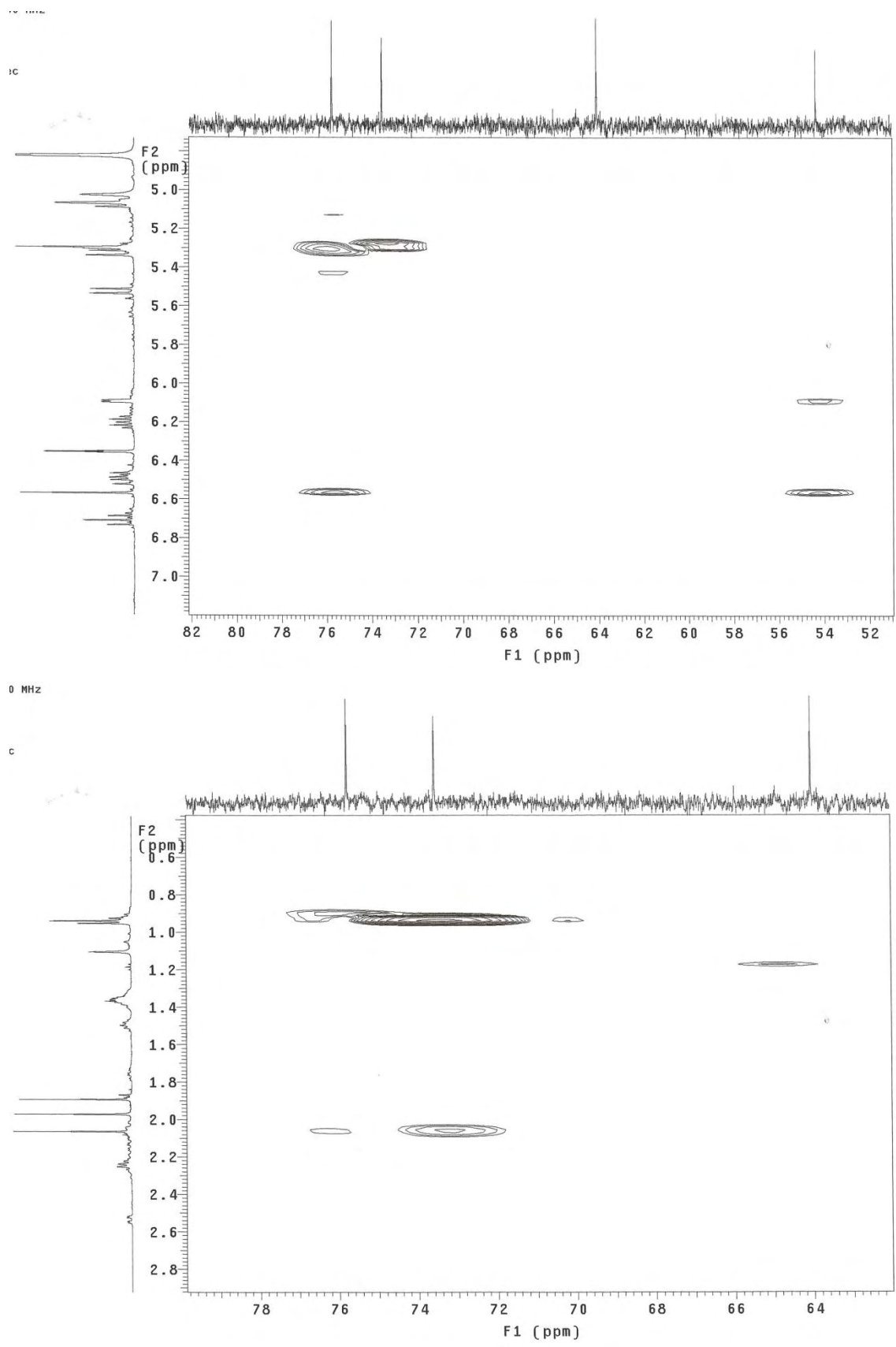


Figura 215. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

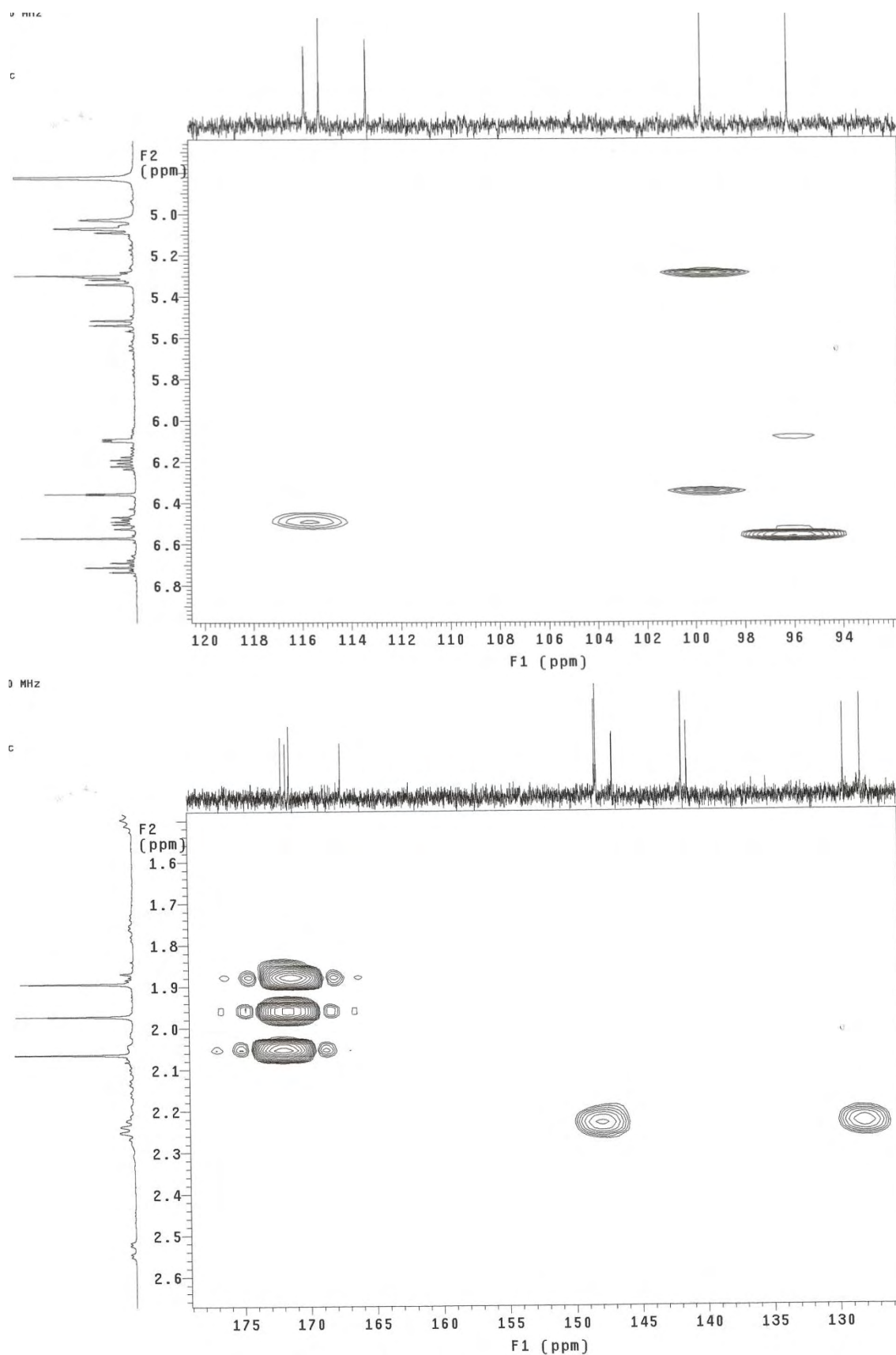


Figura 216. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

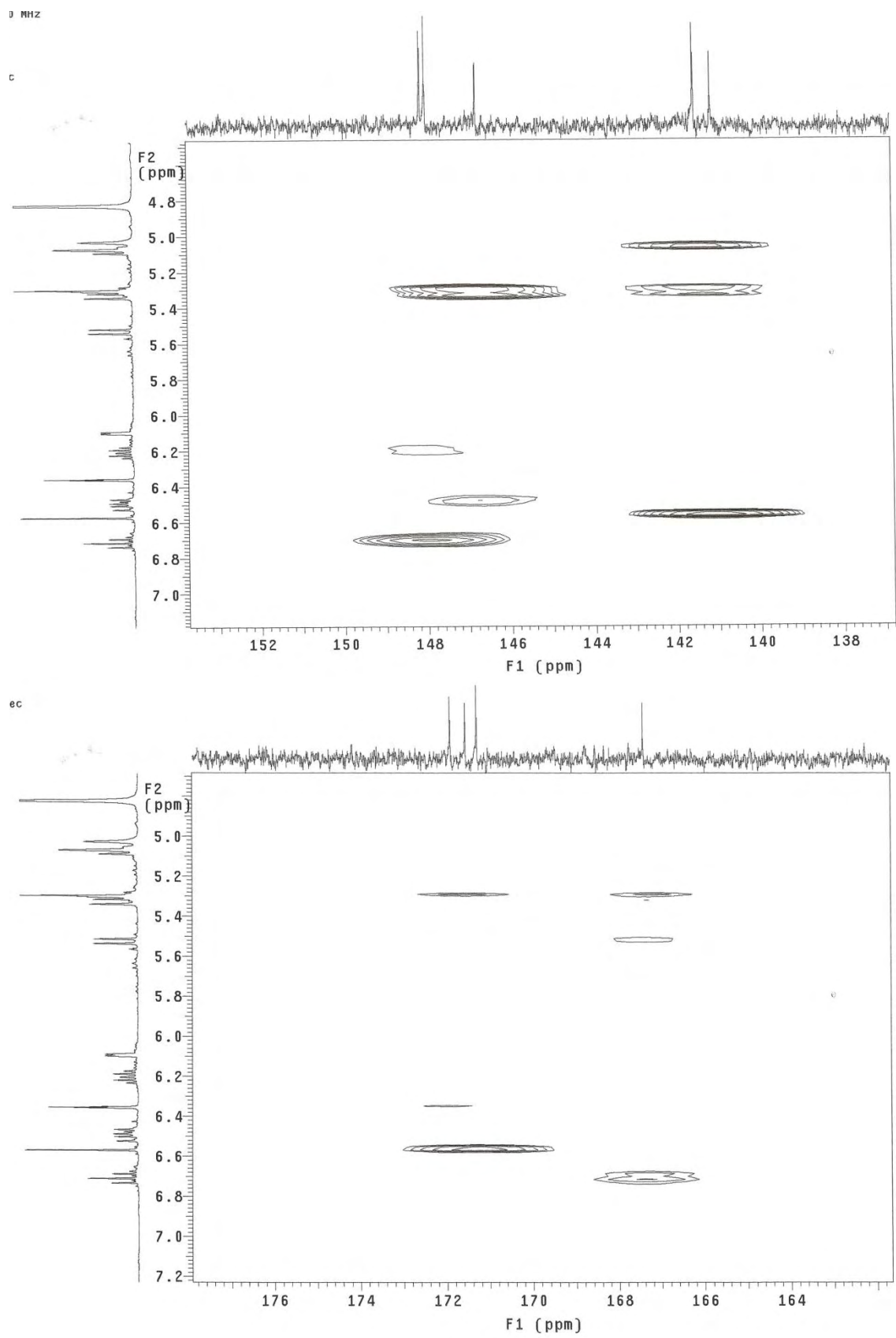


Figura 217. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **18** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

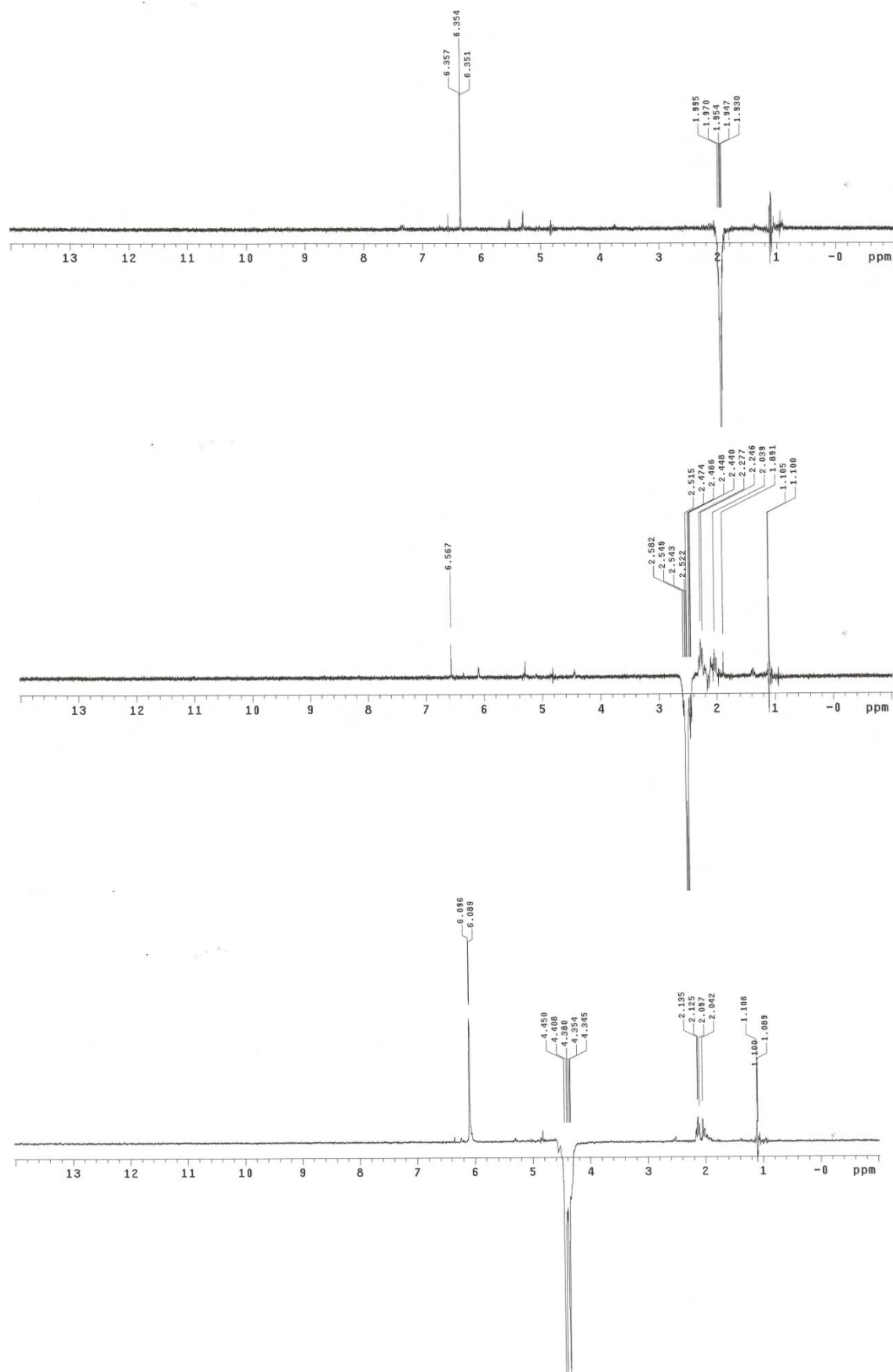


Figura 218. Espectros NOESY 1D de **18** (500 MHz, CD₃OD).

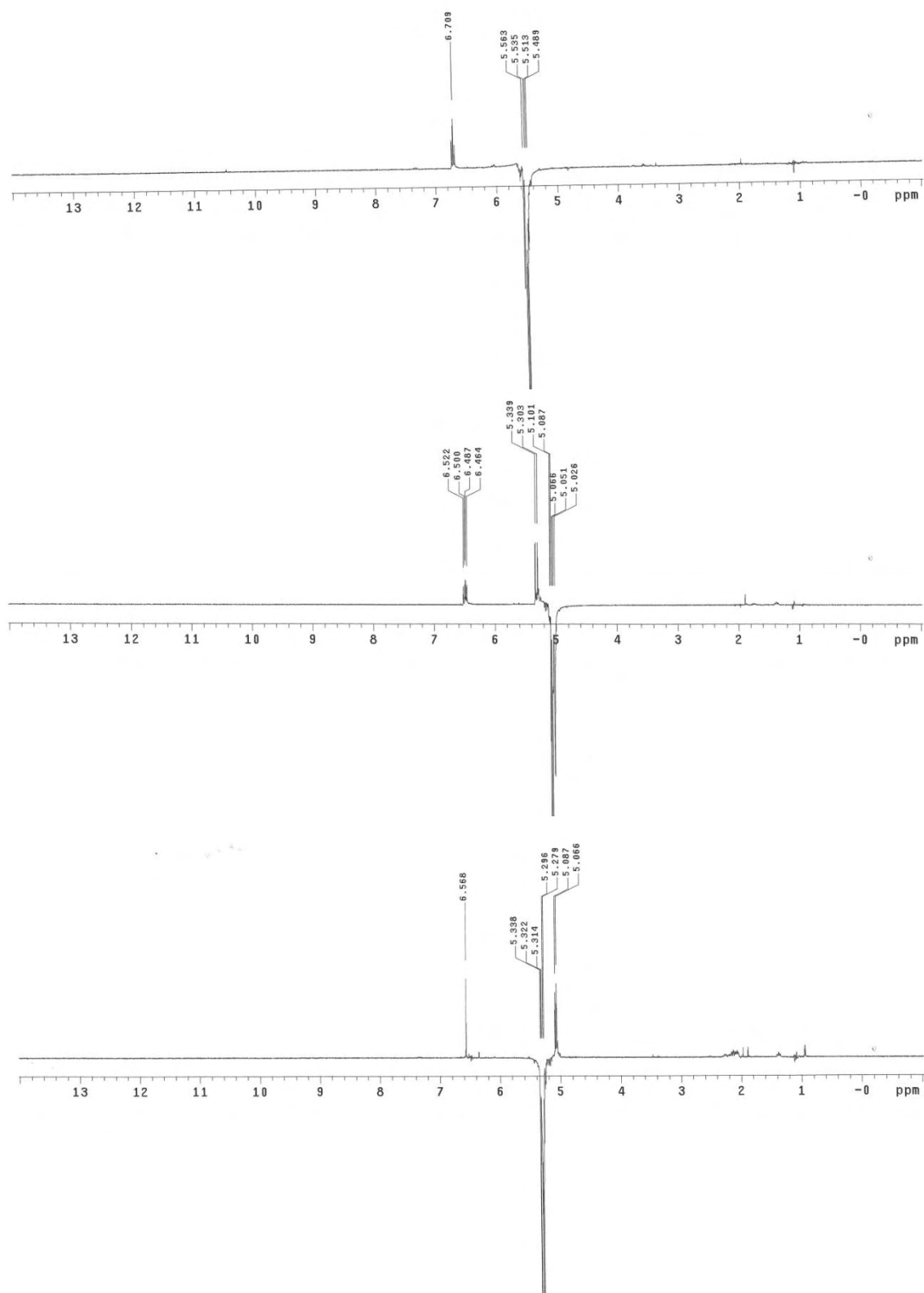


Figura 219. Espectros NOESY 1D de **18** (500 MHz, CD₃OD).

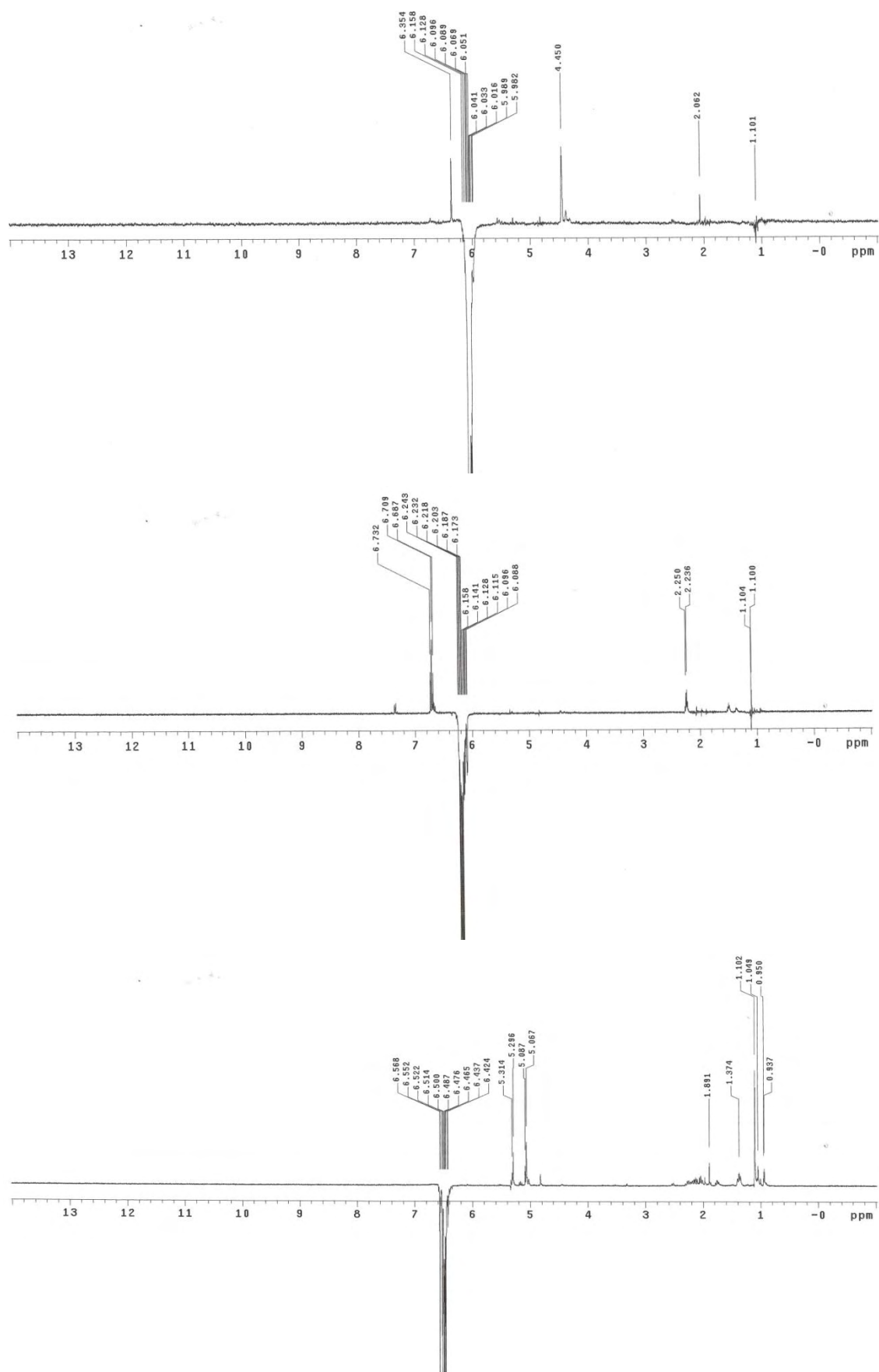


Figura 220. Espectros NOESY 1D de **18** (500 MHz, CD₃OD).

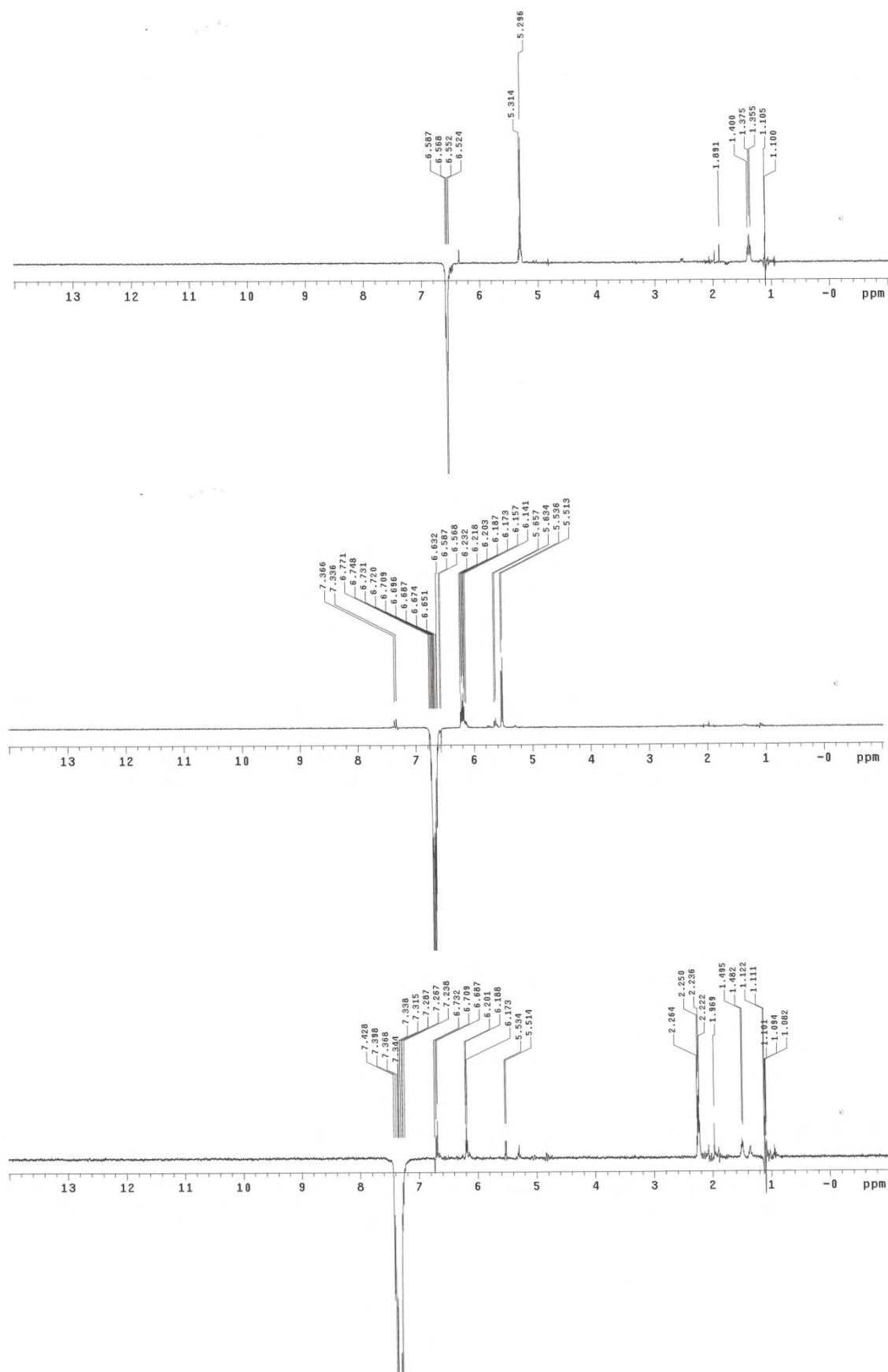


Figura 221. Espectros NOESY 1D de **18** (500 MHz, CD₃OD).

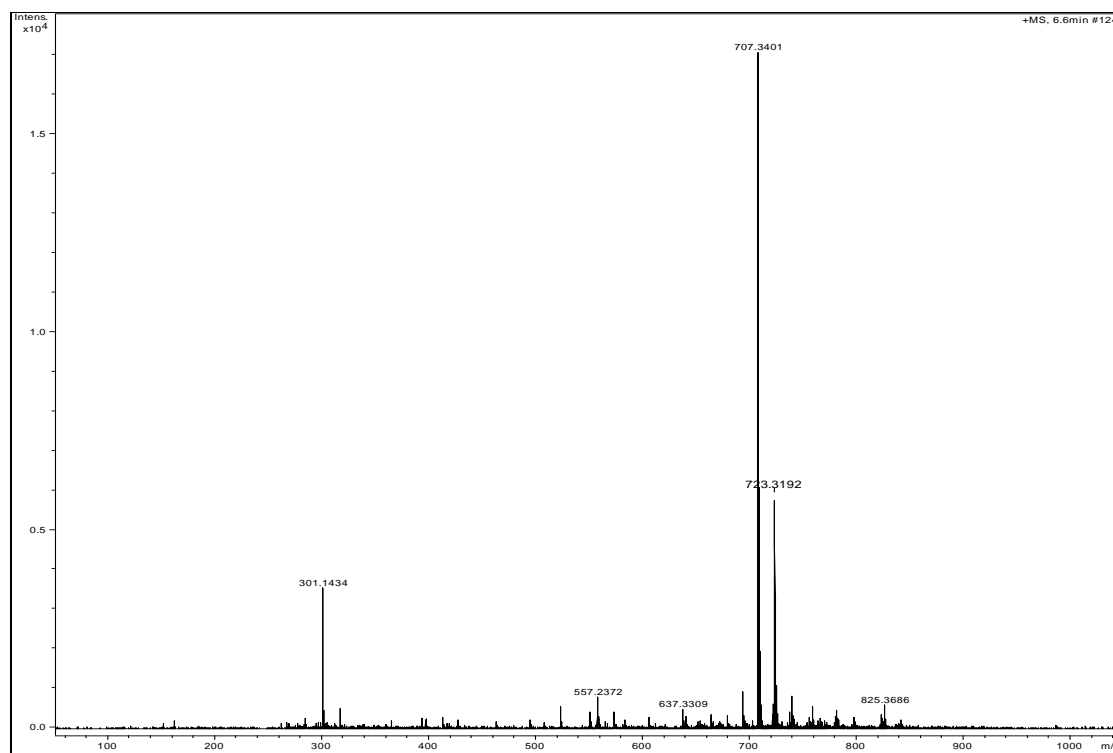


Figura 222. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **18a**.

Magela GEII-FE12-36-Ac 21/09/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp.: 30.0 C / 303.1 K

INOVIA-300 "mult164"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 3.744 sec

Width 2861.3 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1 299.9565022 MHz

DATA PROCESSING

File size 32766

Total time 2 min, 0 sec

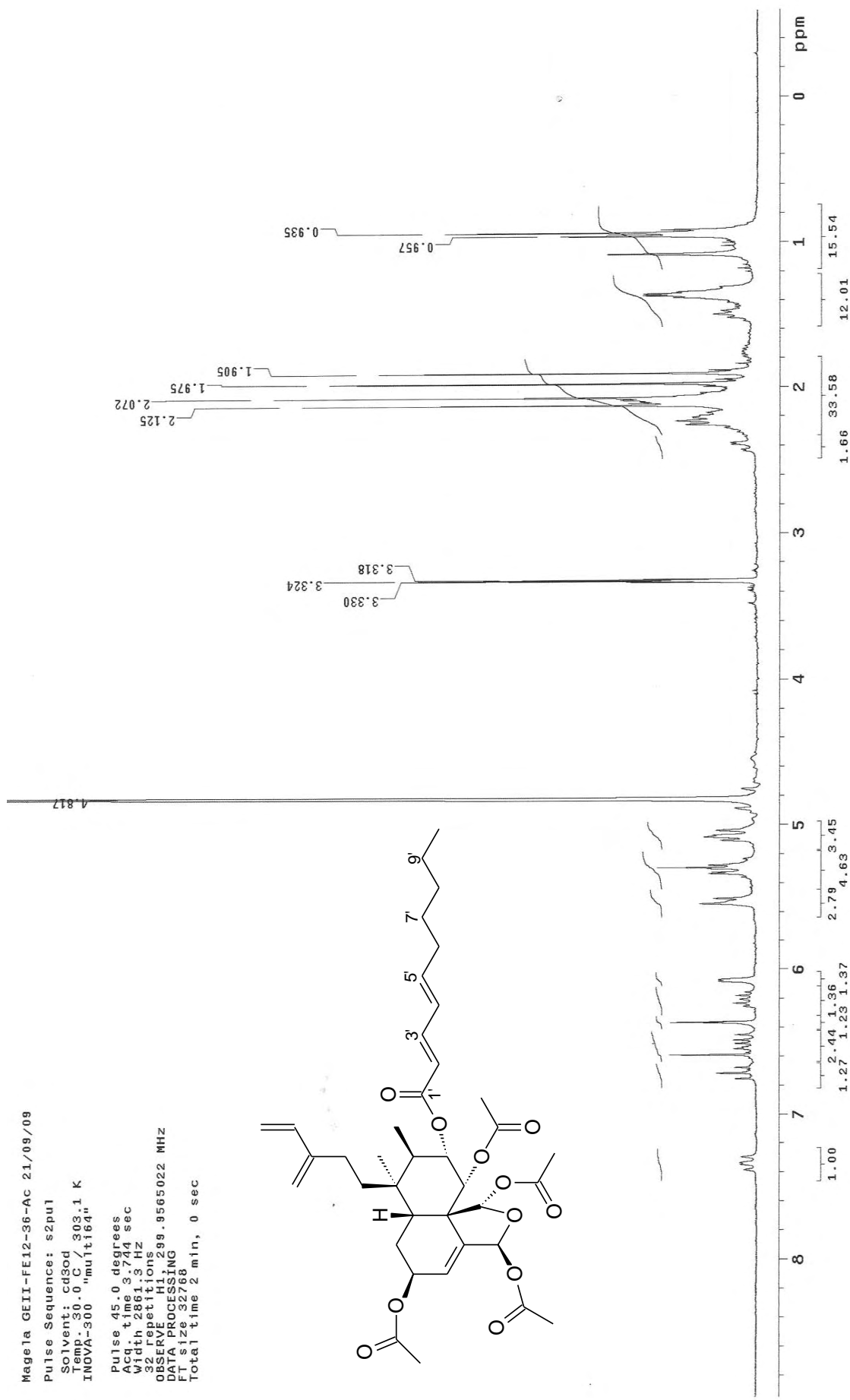
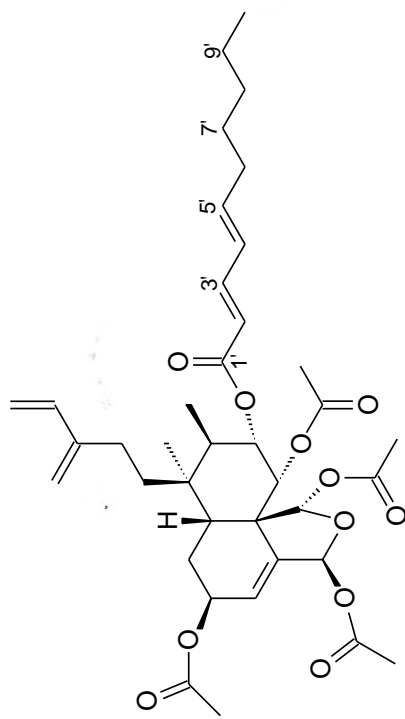


Figura 223. Espectro de RMN ¹H de 18a (300 MHz, CD₃OD).

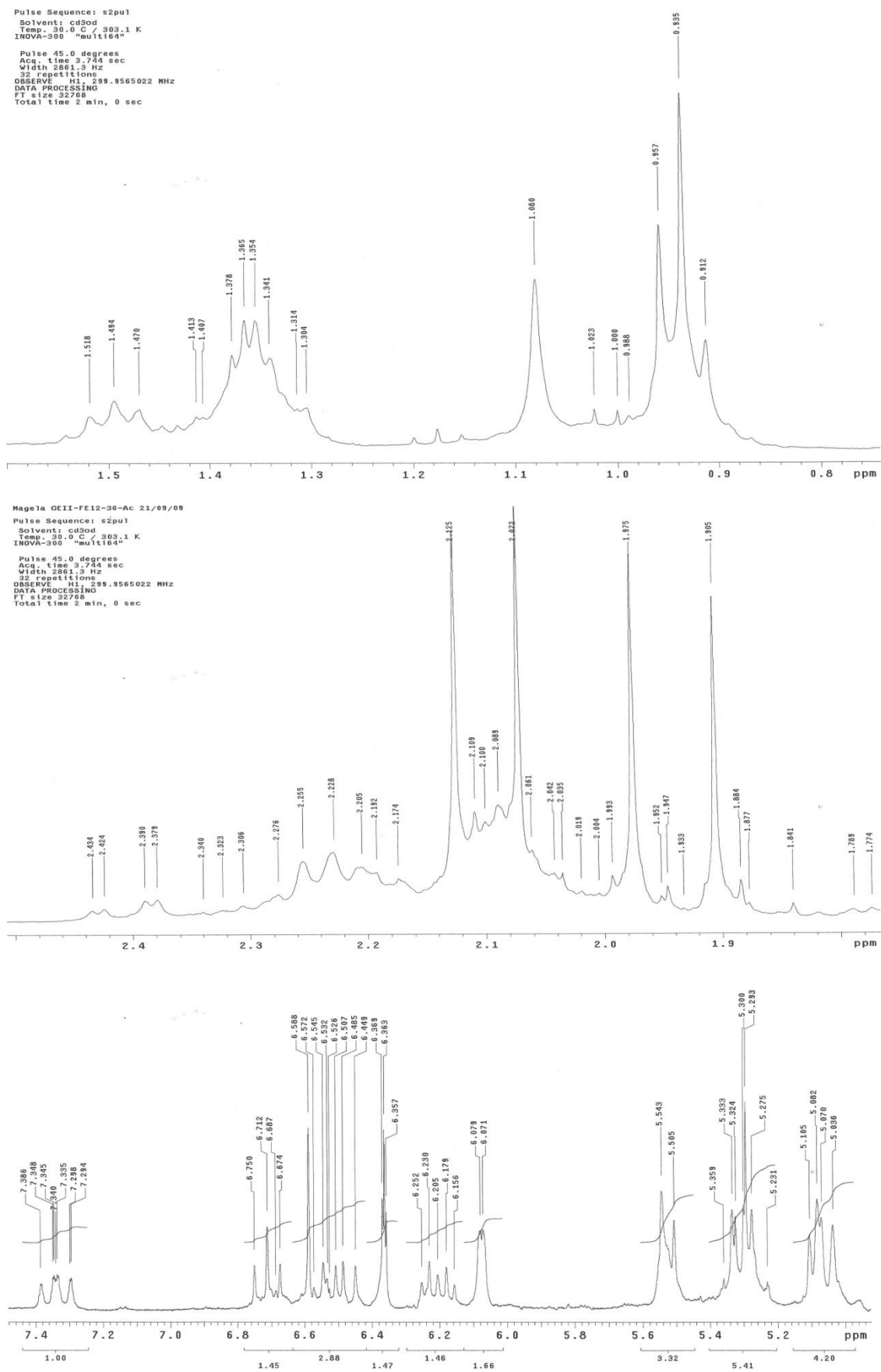


Figura 224. Expansões do espectro de RMN ^1H de **18a** (500 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE12-36-Ac 21/09/09

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cd3od

Temp: 30.0 C / 303.1 K

INNOVA-300 "multis164"

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 1.815 sec

4169 Hz

4169 Hz

OBSERVE C13: 299.4240169 MHz

DECOUPLE H1: 299.9580021 MHz

Power 30 dB

continuously on

WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

FT size 65536

Total time 3 hr, 59 min, 54 sec

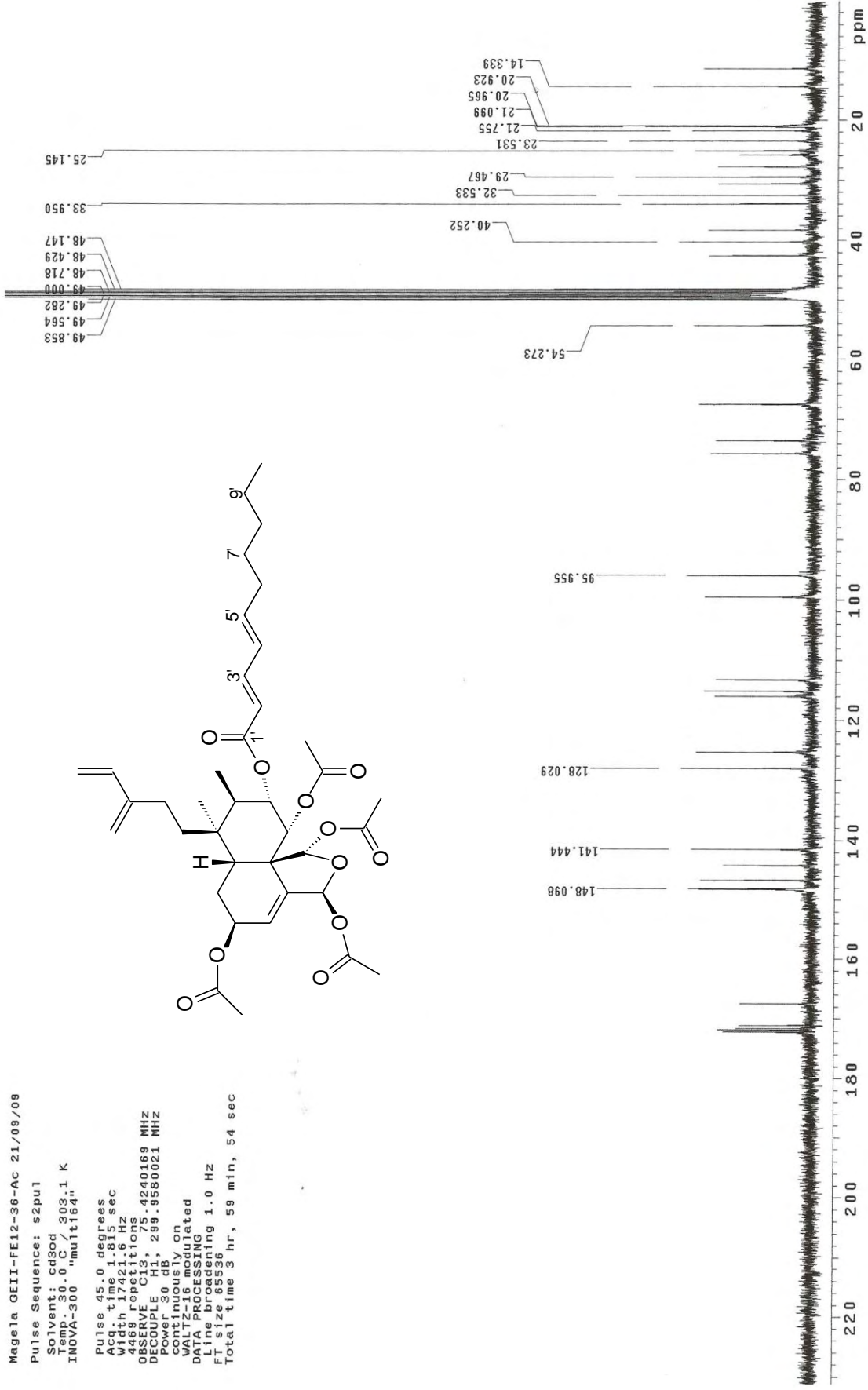


Figura 225. Espectro de RMN ^{13}C de 18a (75 MHz, CD_3OD).

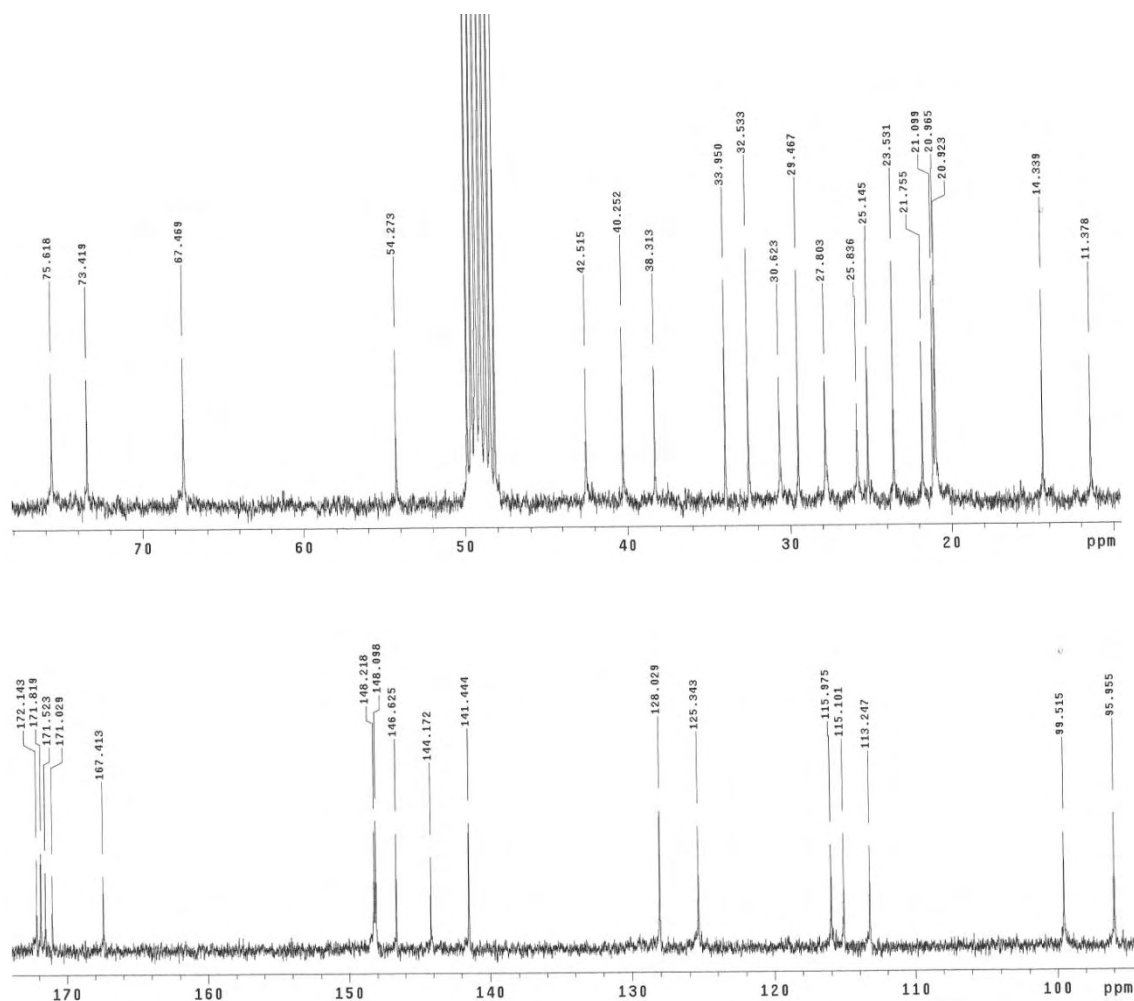


Figura 226. Expansões do espectro de RMN ^{13}C de **18a** (75 MHz, CD_3OD).

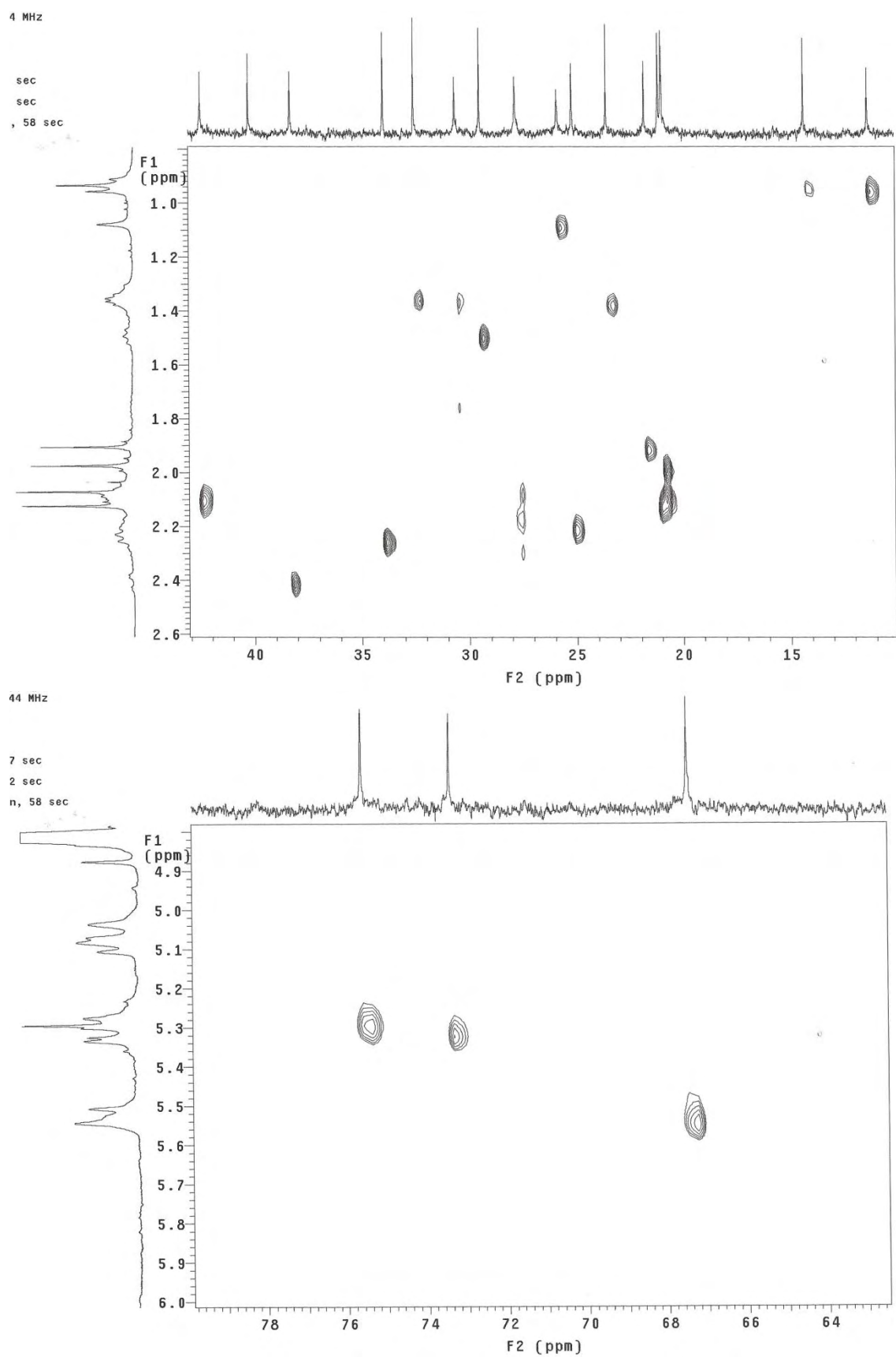


Figura 227. Expansões do mapa de contornos HETCOR de **18a** (300 e 75 MHz, CD₃OD).

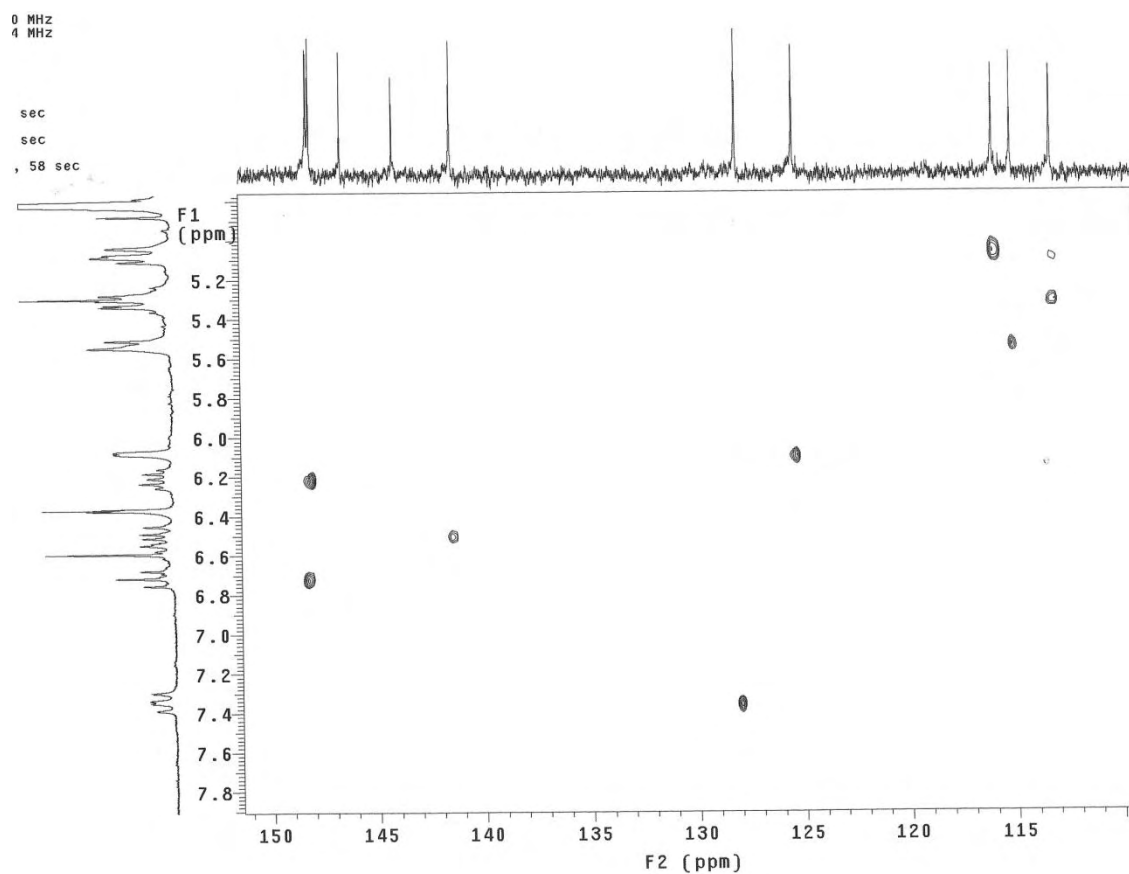
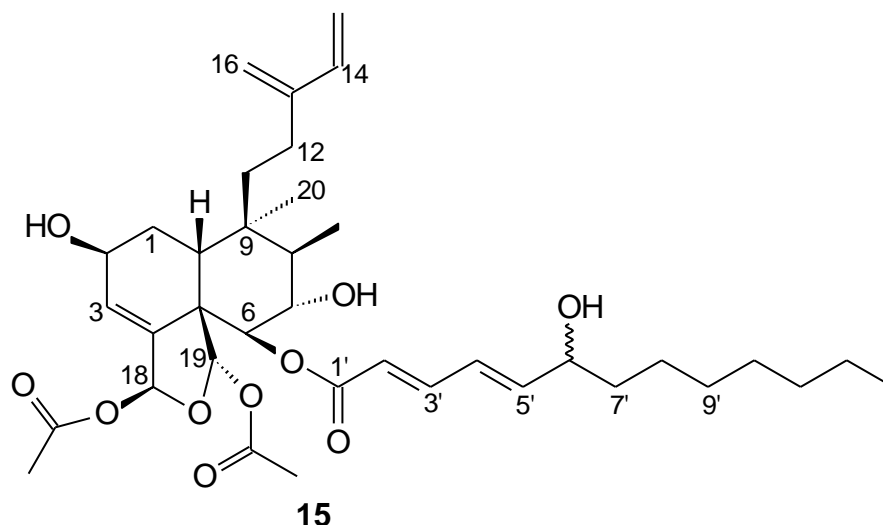


Figura 228. Expansão do mapa de contornos HETCOR de **18a** (300 e 75 MHz, CD₃OD).

5.4.7. Casearupestrina G (**15**)



O espectro de massas de alta resolução (Figura 232) (HRTOF-ESIMS) que apresentou pico relativo ao íon $[M+K]^+$ com valor de m/z de 697,3802 (calculado para $C_{37}H_{54}O_{10}$ m/z 697,3350). Os espectros de UV e IV (Figuras 230-231) da substância **15** foram muito semelhantes aos de **14**. Os espectros de RMN de 1H e de ^{13}C (Figuras 233-237, Tabela 26) foram similares aos da casearupestrina A (**14**), porém o substituinte decadienoato em C-6 foi substituído pelo substituinte 6-hidroxi-tridecadienoato. As multiplicidades dos carbonos foram atribuídas com base no espectro DEPT 135° (Figura 238) e os deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos confirmados pelos mapas de contornos $gCOSY$, $gHMQC$ e $gHMBC$ (Figuras 239-251, 254, Tabela 26). A configuração relativa foi determinada com base nas constantes de acoplamento e pelas correlações observadas nos espectros NOESY 1D (Figuras 252-255 e Tabela 26) e no valor obtido de $[\alpha]_D^{24} = +8^\circ$ (CD_3OD , c 0,1).

Os dados espectrais reunidos permitiram elucidar a substância **15** como um novo diterpeno clerodânico, denominado trivialmente de casearupestrina G.

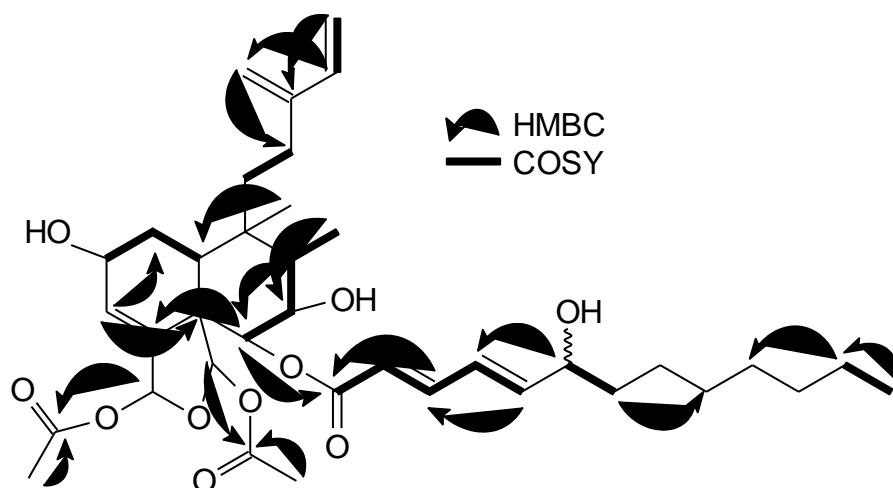


Figura 229. Principais correlações observadas pelos experimentos gCOSY (^1H - ^1H) e gHMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) para **15**.

TABELA 26. Dados de RMN de ^1H (500 MHz) e de ^{13}C (125 MHz) da substância **15**, incluindo resultados de mapas de contornos (*g*HMBC e *g*HMQC), em CD_3OD . Deslocamentos químicos em δ (ppm).

C	δ_{C} (DEPT 135°)	H	δ_{H} ($J = \text{Hz}$) ^a	<i>g</i> HMBC	NOESY 1D
1	30,6 (CH_2)	1a 1b	1,97 m	H-3	-
2	64,1 (CH)	2	4,45 tl (4,5)	-	H-3; Me-18
3	128,7 (CH)	3	6,03 dl (4,0)	-	H-2; H-18
4	141,8 (C)	-	-	H-6; H-19	-
5	54,4 (C)	-	-	H-3; H-6; H-19	-
6	77,7 (CH)	6	5,19 d (10,0)	H-7; H-8; H-19	H-7; H-18; H-12
7	72,2 (CH)	7	3,66 t (10,0)	H-6; H-8; Me-17	H-19
8	44,8 (CH)	8	1,83 m	H-6; H-7; Me-17; Me-20	-
9	39,8 (C)	-	-	H-8; Me-17; Me-20	-
10	37,2 (CH)	10	2,47 dd (3,5; 14,0)	Me-20	H-12; H-19
11	30,3 (CH_2)	11	1,26 m	H-8; Me-20	-
12	25,0 (CH_2)	12a 12b	2,11 m	H-14; H-16	-
13	147,0 (C)	-	-	H-12; H-14; H-15	-
14	141,5, CH	14	6,48 dd (11,0; 18,0)	H-15	-
15	113,2 (CH_2)	15a 15b	5,06 d (11,0) 5,30 d (18,0)	-	H-14; H-15
16	115,5 (CH_2)	16a 16b	4,94 s 5,03 s	H-14	H-16
17	11,7 (CH_3)	17	1,07 d	H-7; H-8	-
18	96,3 (CH)	18	6,33 t (2,0)	H-3; H-19	H-3; H-6; H-2'
19	99,8 (CH)	19	6,49 s	H-6; H-18	H-7; H-15; Me-18
20	26,4 (CH_3)	20	1,07 s	-	-
1'	167,2 (C)	-	-	H-6; H-2'; H-3'	-
2'	117,8 (CH)	2'	5,77 d (11,5)	-	H-3'
3'	146,7 (CH)	3'	6,74 t (11,5)	H-5'	H-2'; H-4'; H-5'
4'	127,0 (CH)	4'	7,51 ddl (11,5, 15,0)	H-6'	H-18; H-3'; H-5'; H-6'
5'	148,3 (CH)	5'	6,11 dd (6,0, 15,0)	H-3'; H-7'	H-3'; H-4'; H-6'
6'	72,2 (CH)	6'	4,18 q (6,0)	H-4'; H-5'; H-7'	H-4'; H-5'; H-7'
7'	37,9 (CH_2)	7'a 7'b	1,55 m	H-5'; H-6'	-
8'	26,4 (CH_2)	8'	-	H-6'; H-7'	-
9'	30,6 (CH_2)	9'	1,99 m	H-7'	-
10'	30,5 (CH_2)	10'	1,32 m	H-11'; H-12'	-
11'	33,0 (CH_2)	11'	1,32 m	H-12'	-
12'	23,6 (CH_2)	12'	1,32 m	H-13'	-
13'	14,3 (CH_3)	13'	0,91 t	-	-
18-C=O	171,8 (C)	-	-	H-18; COOMe-18	-
19-C=O	171,4 (C)	-	-	H-19; COOMe-19	-
COOMe-18	21,0 (CH_3)	COOMe-18	2,03 s	-	-
COOMe-19	21,8 (CH_3)	COOMe-19	1,86 s	-	-

^aAtribuições baseadas nos mapas de contornos *g*COSY e *g*HMQC.

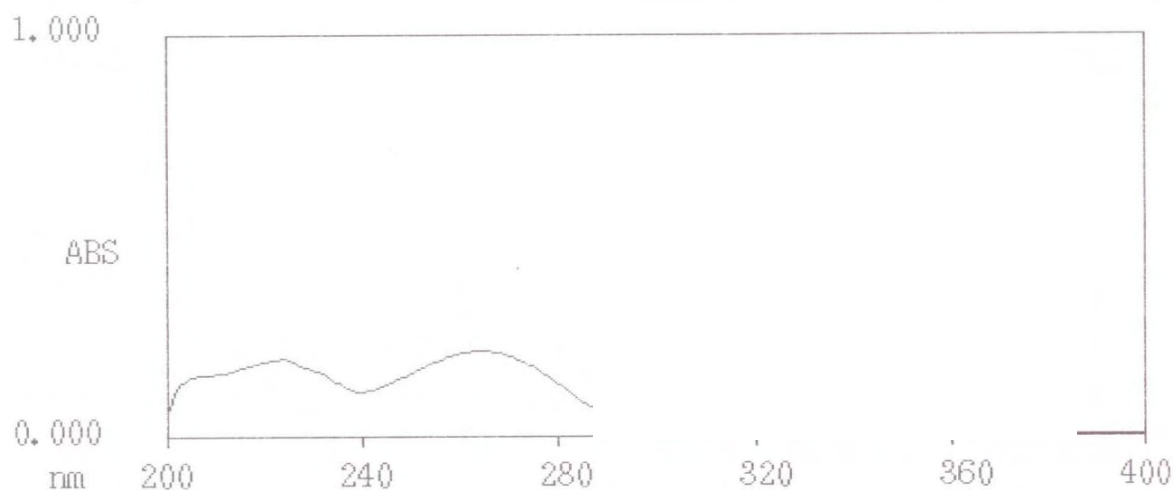


Figura 230. Espectro de absorção no UV de **15**.

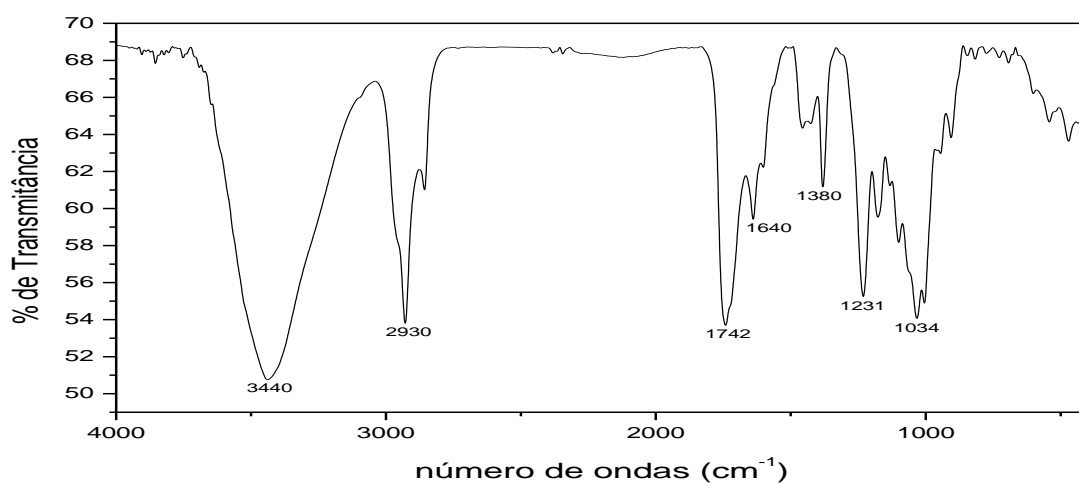


Figura 231. Espectro de absorção na região do IV de **15** (KBr).

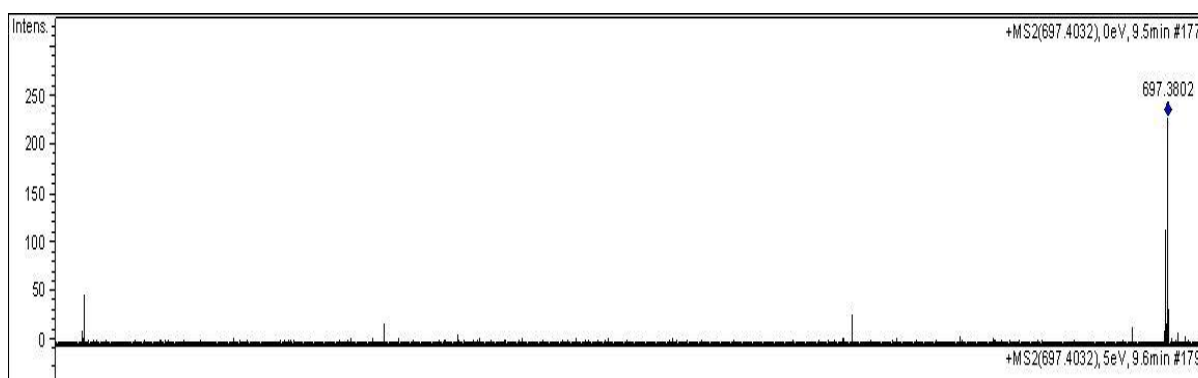
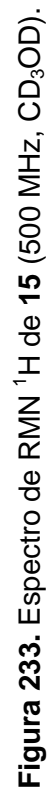


Figura 232. Espectro de massas de alta resolução (modo positivo) de **15**.

Total time 1 min, 19 sec



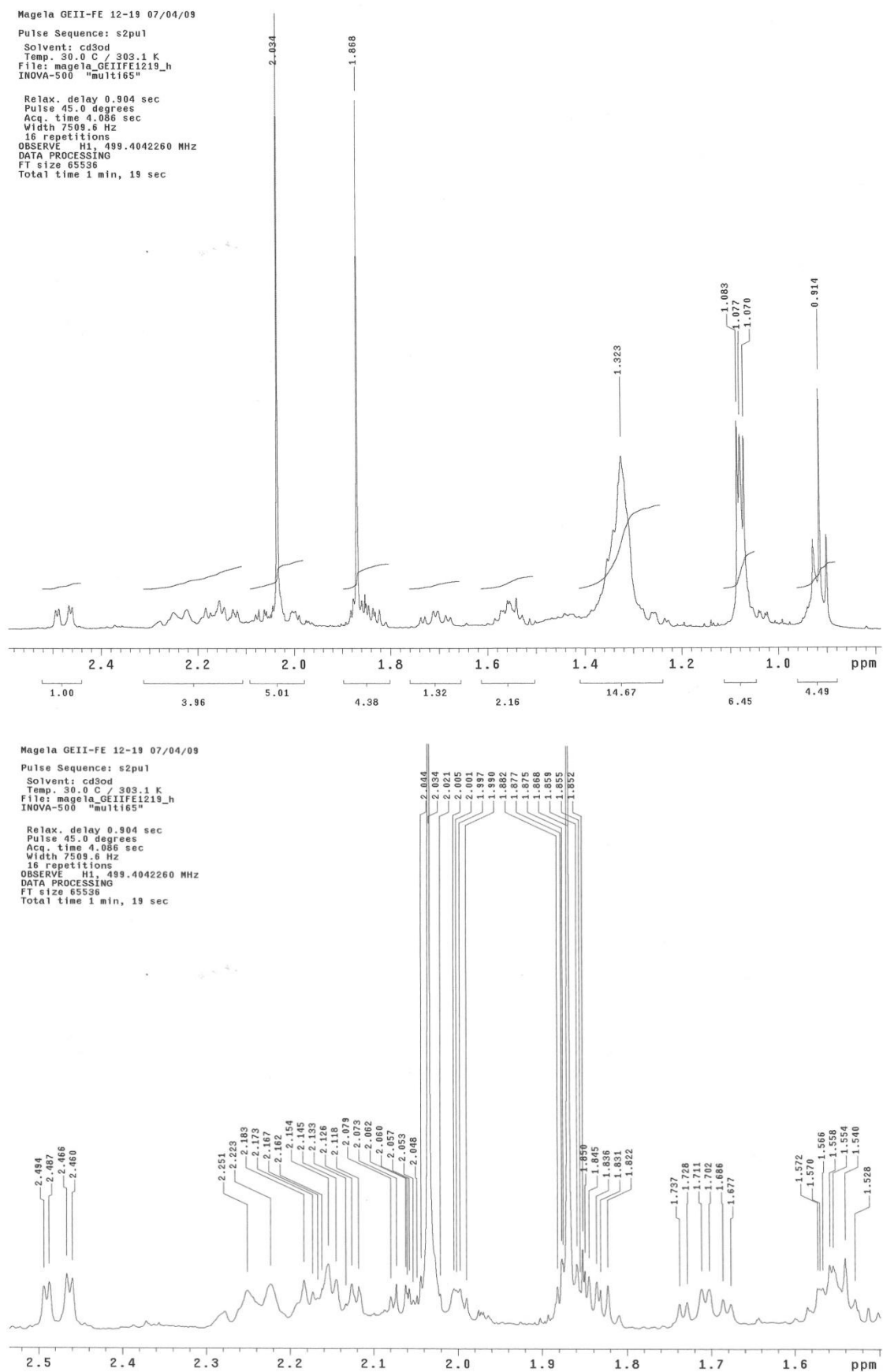


Figura 234. Expansões do espectro de RMN ^1H de **15** (500 MHz, CD_3OD).

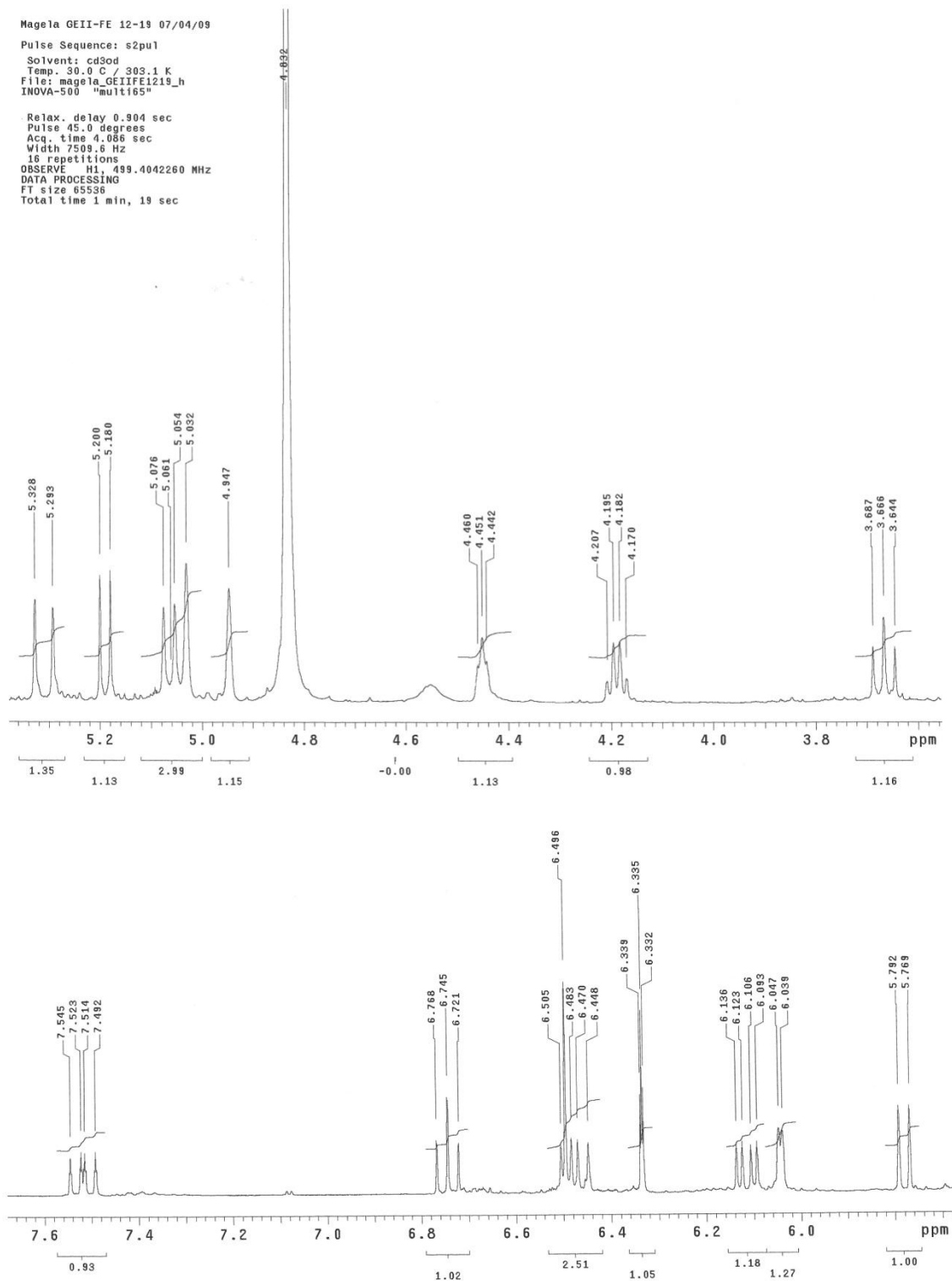


Figura 235. Expansões do espectro de RMN ^1H de **15** (500 MHz, CD_3OD).

Magela GEII-FE 12-19 07/04/09

Pulse Sequence: s2pul
Solvent: cd3od
Temp: 30.0 C / 303.1 K
Jser: 1-14-87
File: magela_GEII-FE1219_c
INOVA-500 "mult165"

Relax. delay 0.957 sec
Pulse 4.000 sec
Acq. time 1.042 sec
Width 29027.6 Hz
1000 Repetitions
Observed CH3, 438.5751193 MHz
DECOUPLE CH3, 438.4067231 MHz
Power 30 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated
DATA ACQUISITION
Fine broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 33 min, 28 sec

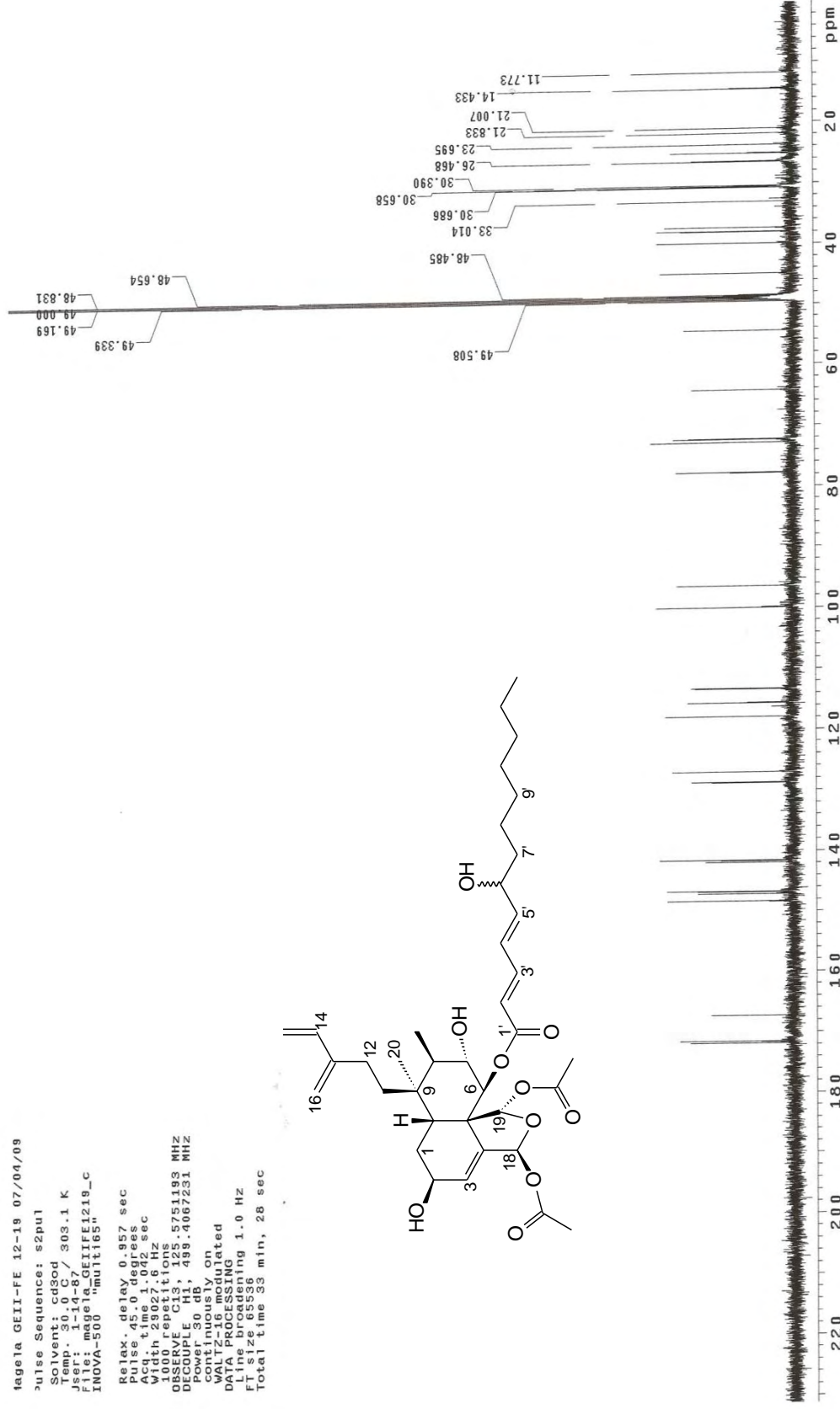
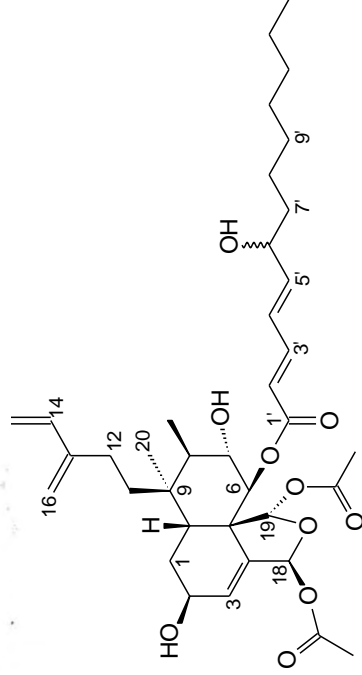


Figura 236. Espectro de RMN ^{13}C de **15** (125 MHz, CD_3OD).

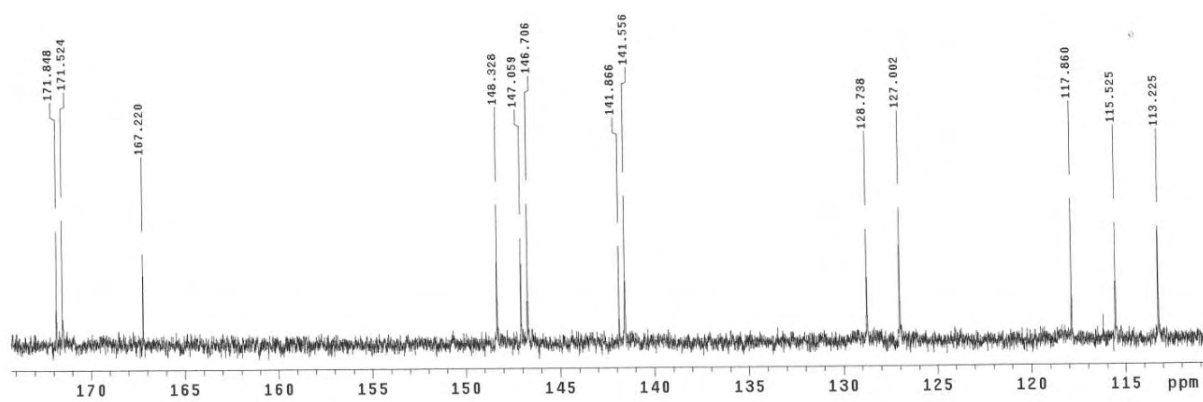
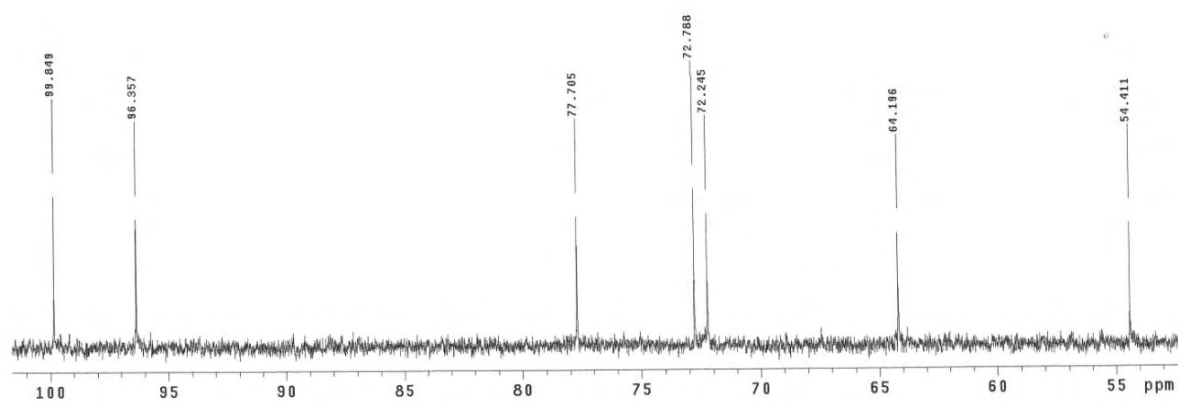
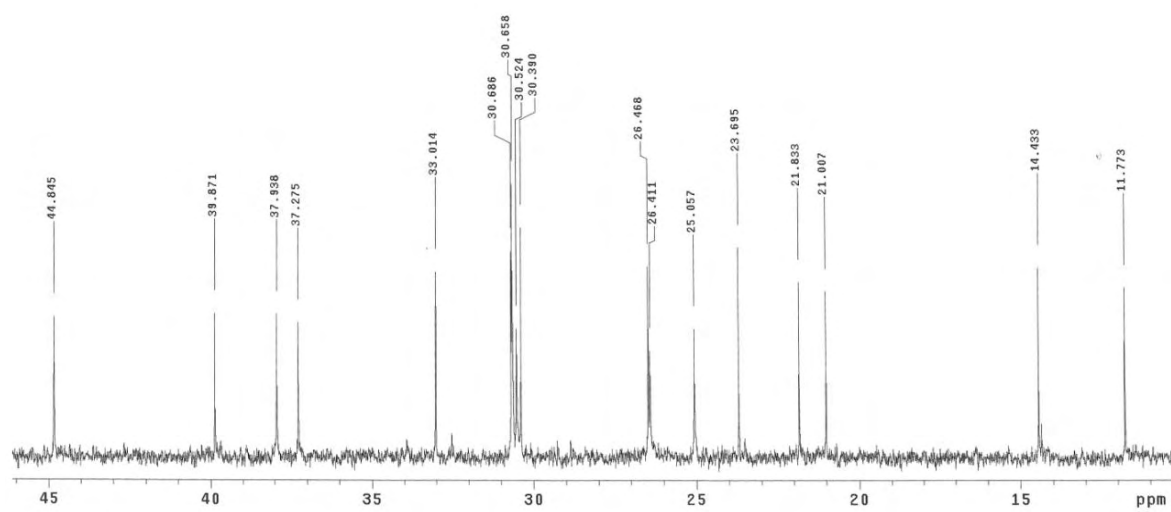


Figura 237. Expansões do espectro de RMN ¹³C de **15** (125 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE 12-19 07/04/09
Pulse Sequence: DEPT 135
Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
File: magela_GEIIIFE1219_dept
INNOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 90.0 degrees
Acq. time 1.042 sec
Width 29027.6 Hz
428 repetitions
OBSERVE C13, 125.5751193 MHz
DECOUPLE H1, 499.4067231 MHz
Power 30 dB
on during acquisition
off during delay
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 29 min, 44 sec

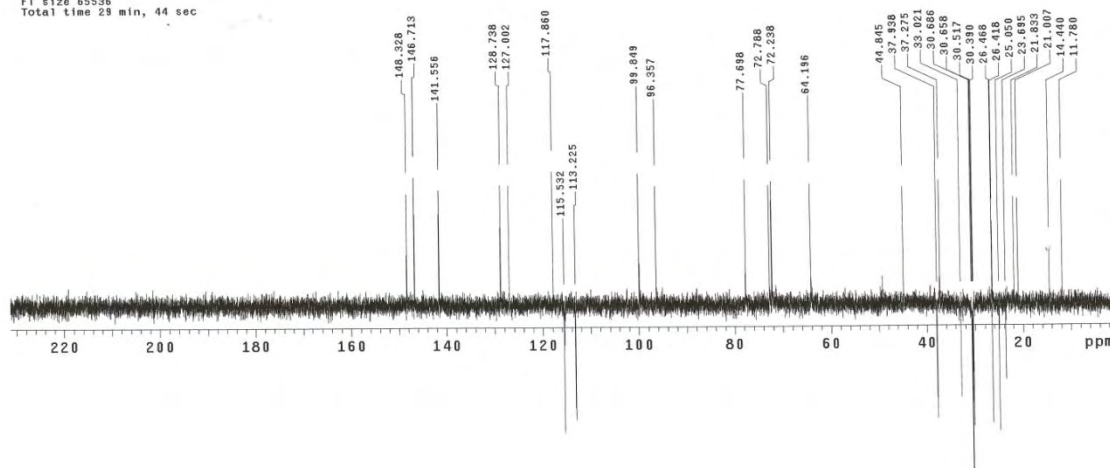


Figura 238. Espectro de RMN DEPT 135° de **15** (125 MHz, CD₃OD).

Magela GEII-FE 12-19 07/04/09
Pulse Sequence: gCOSY
Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
File: magela_GEIIIFE1219_gcosy
INNOVA-500 "mult165"

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.136 sec
Width 7509.6 Hz
2D Width 7509.6 Hz
4 repetitions
128 increments
OBSERVE H1, 499.4042260 MHz
DATA PROCESSING
Sq. sine bell 0.068 sec
F1 DATA PROCESSING
Sq. sine bell 0.010 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 10 min, 11 sec

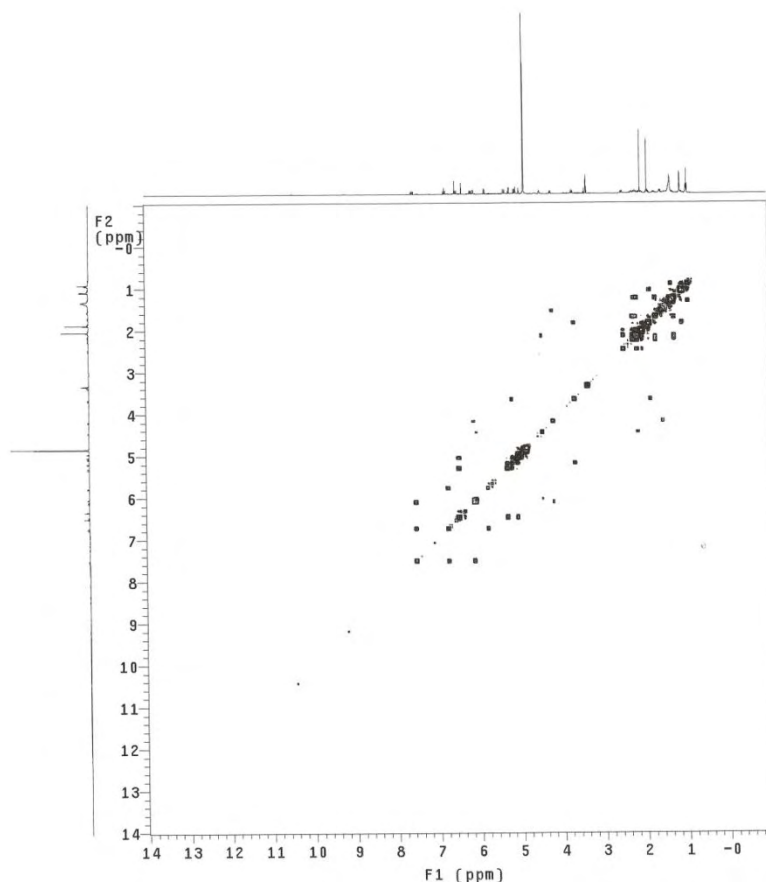


Figura 239. Mapa de contornos gCOSY de **15** (500 MHz, CD₃OD).

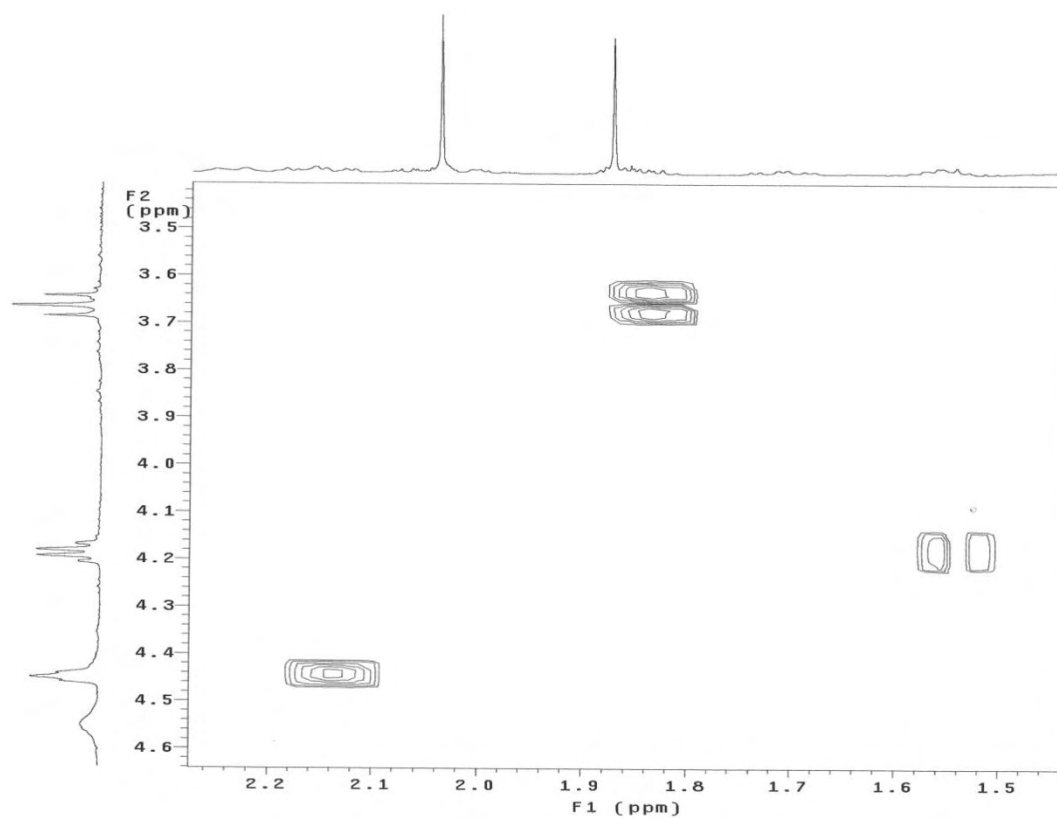
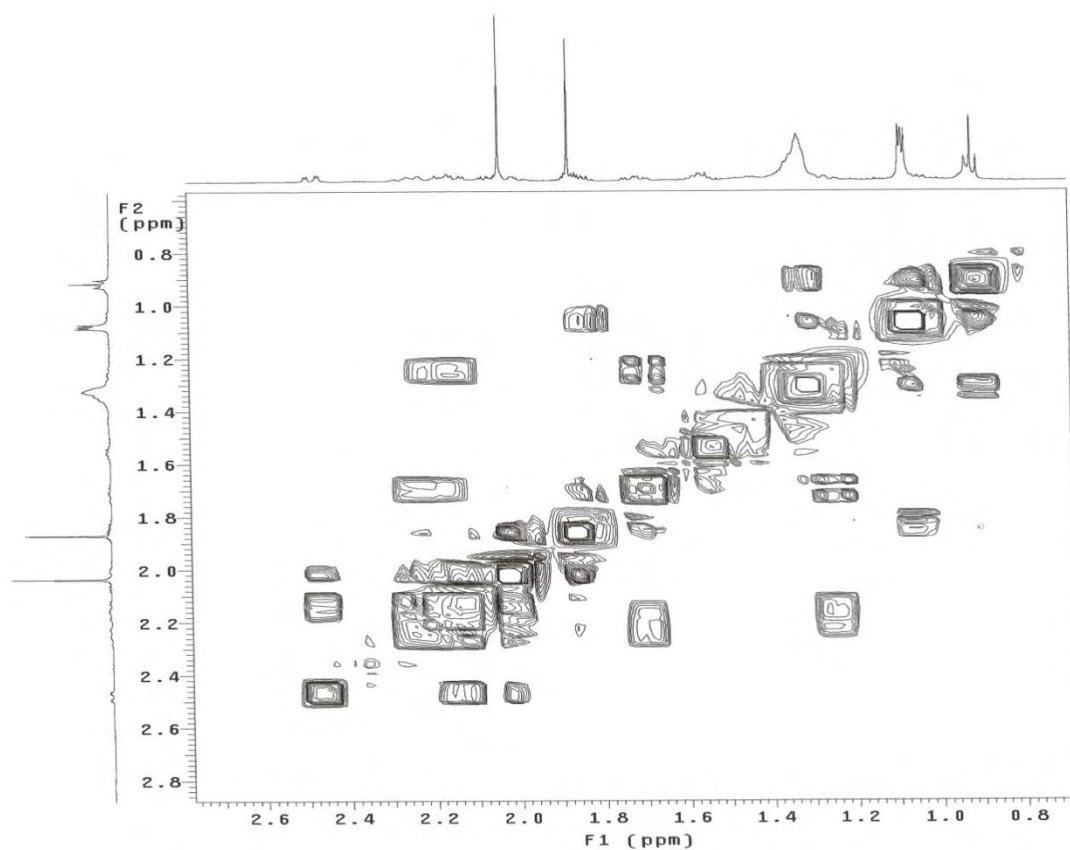


Figura 240. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **15** (500 MHz, CD₃OD).

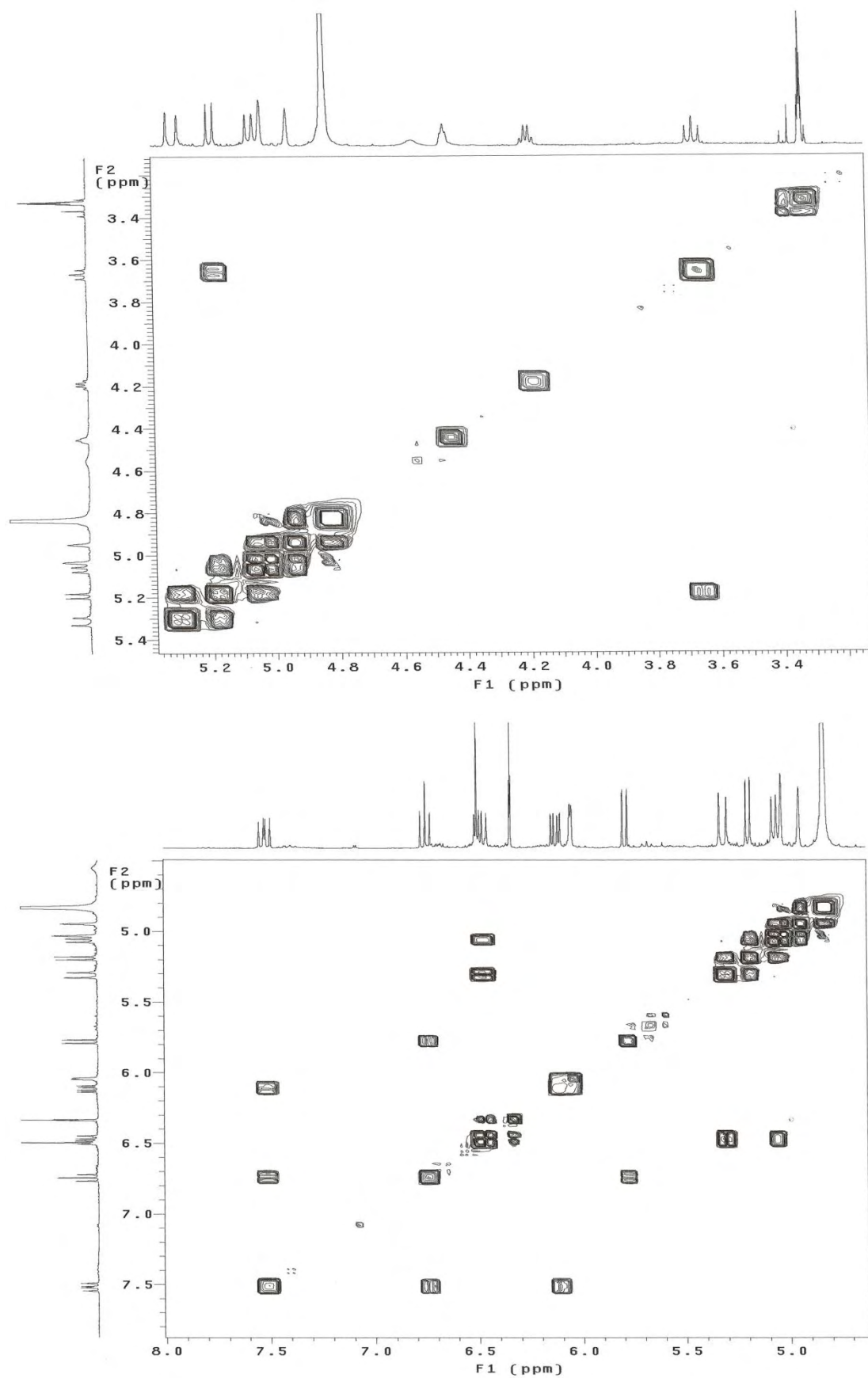


Figura 241. Expansões do mapa de contornos gCOSY de **15** (500 MHz, CD₃OD).

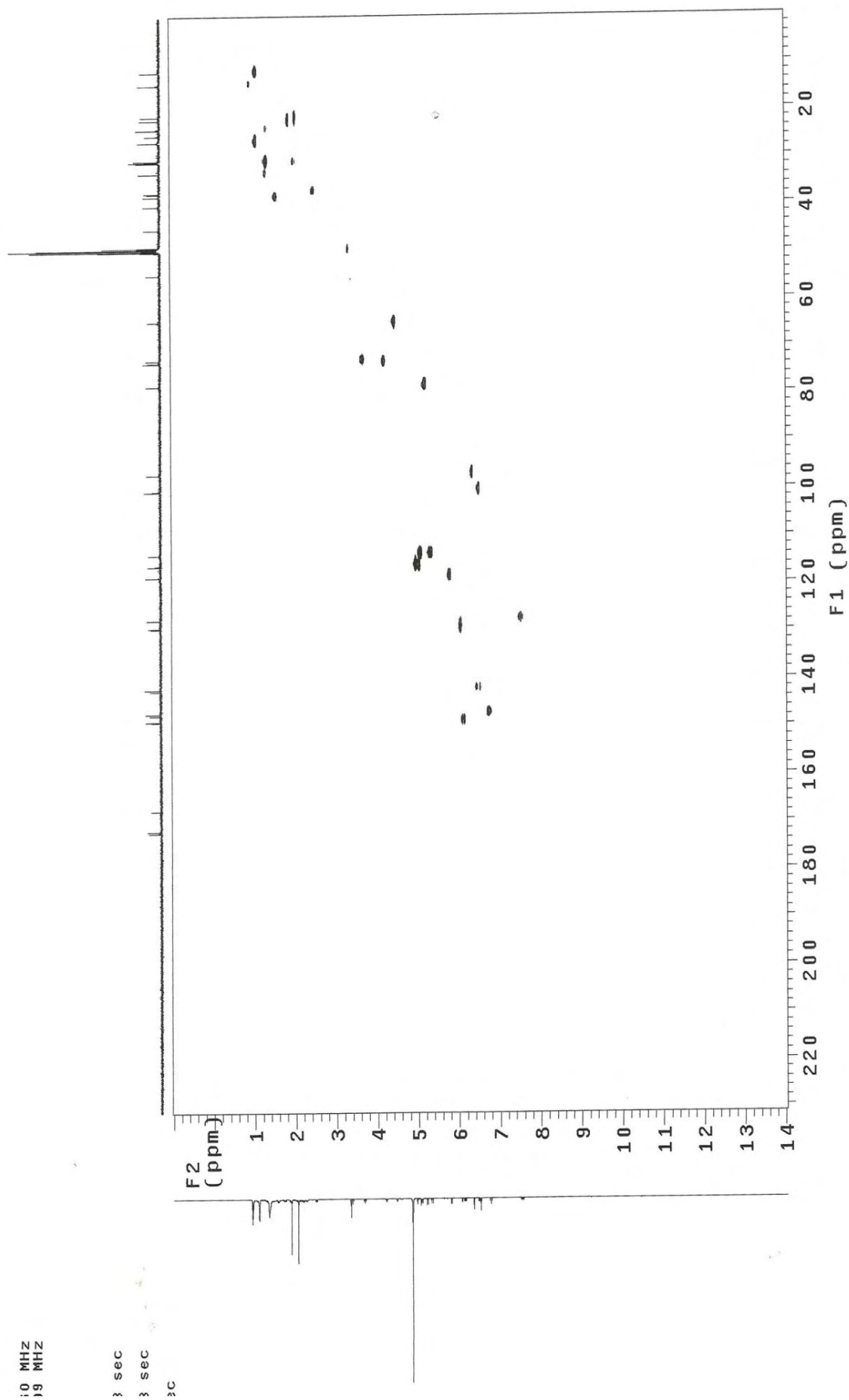


Figura 242. Mapa de contornos gHMQC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

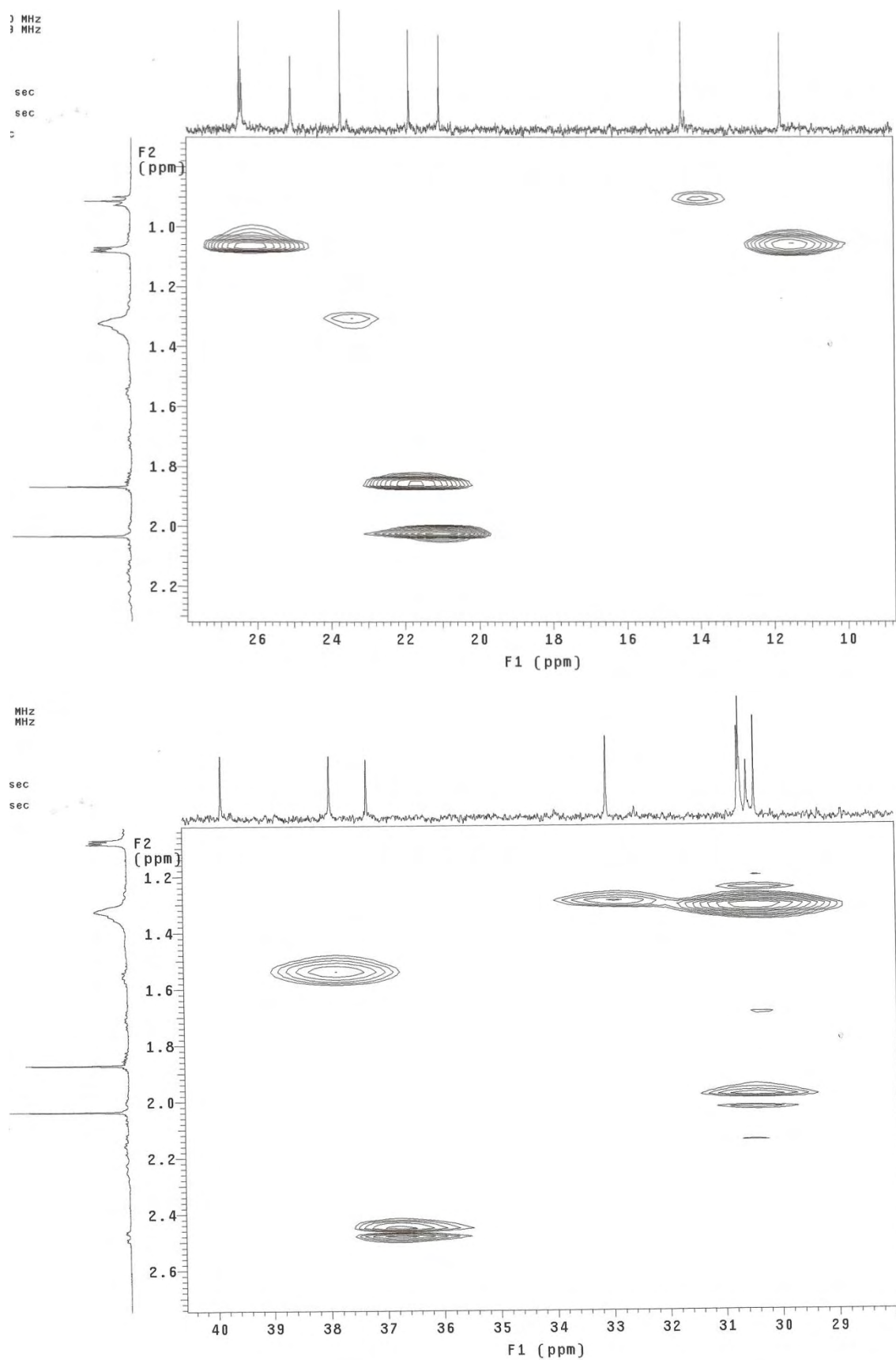


Figura 243. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

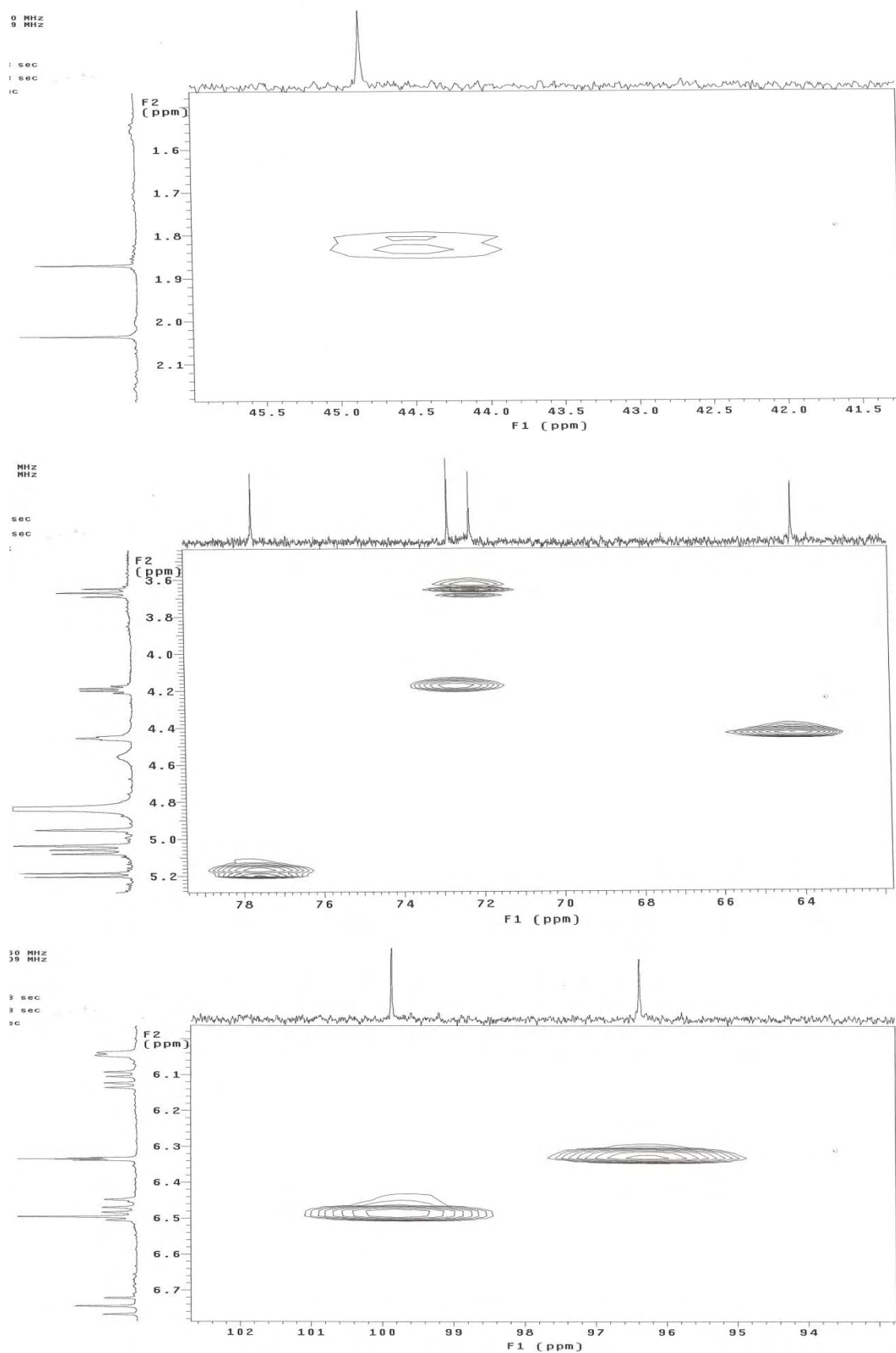


Figura 244. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **15** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

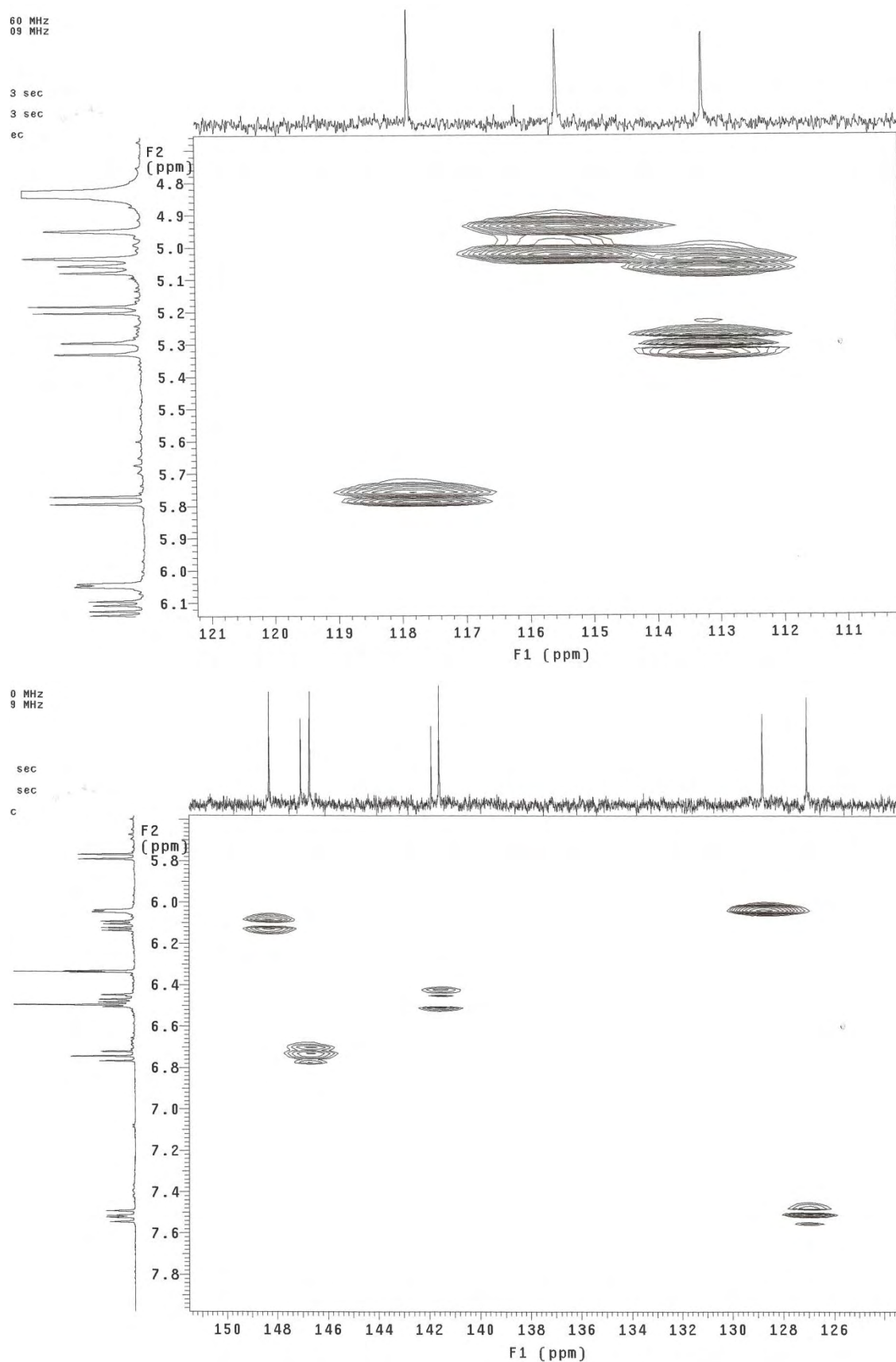


Figura 245. Expansões do mapa de contornos gHMQC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

Pulse Sequence: gHMBC

Solvent: cd3od
Temp. 30.0 C / 303.1 K
User: 1-14-87
File: magela_GEIIFE1219-
INOVA-500 "multi65"

```

Relax. delay 1.000 sec
Acq. time 0.436 sec
Width 7509.6 Hz
2D Width 29027.6 Hz
16 repetitions
128 observations
OBSERVE H1, 499.4042260 MHz
DATA PROCESSING
Sine bell 0.068 sec
F1 DATA PROCESSING
Sine bell 0.002 sec
FT size 2048 x 2048
Total time 43 min, 1 sec

```

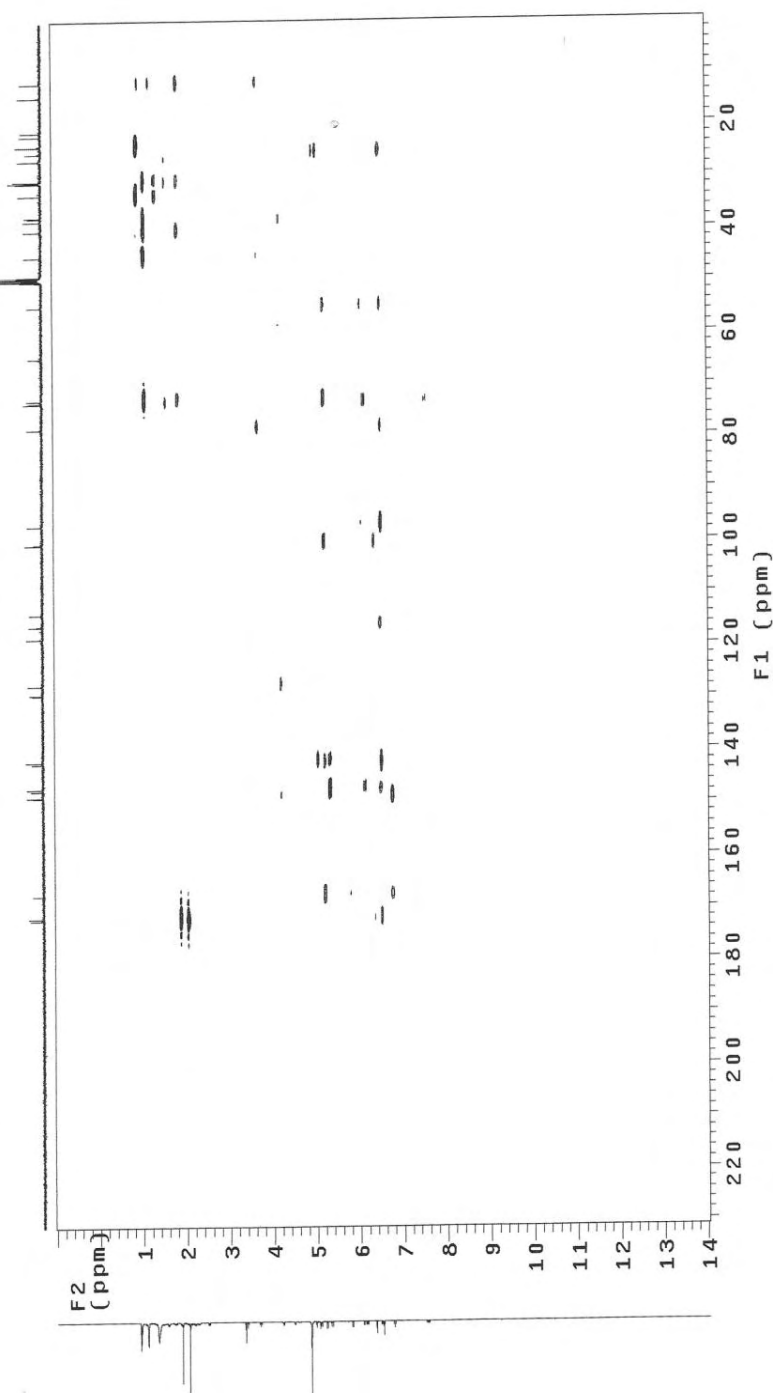


Figura 246. Mapa de contornos gHMBC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

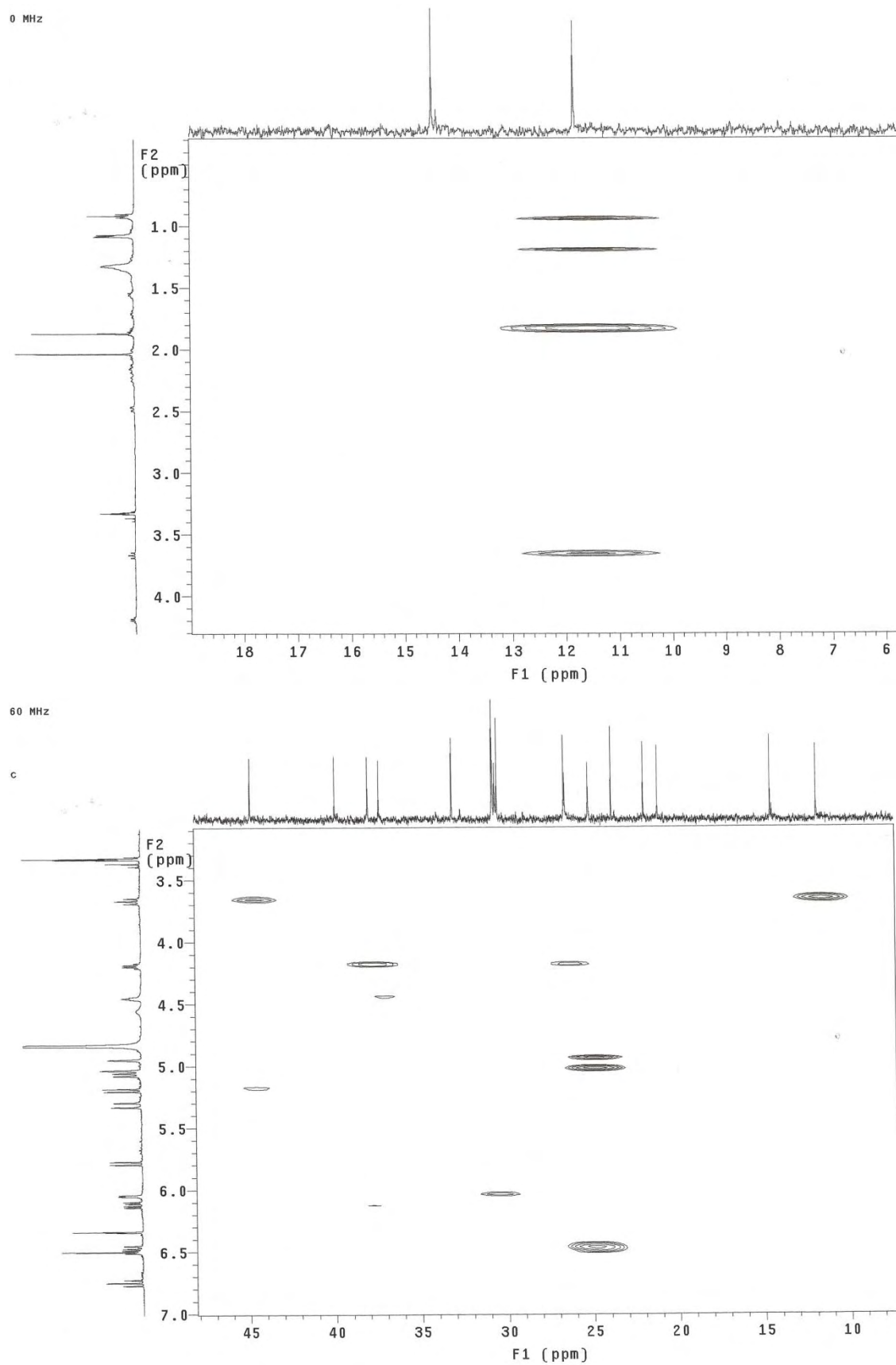


Figura 247. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **15** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

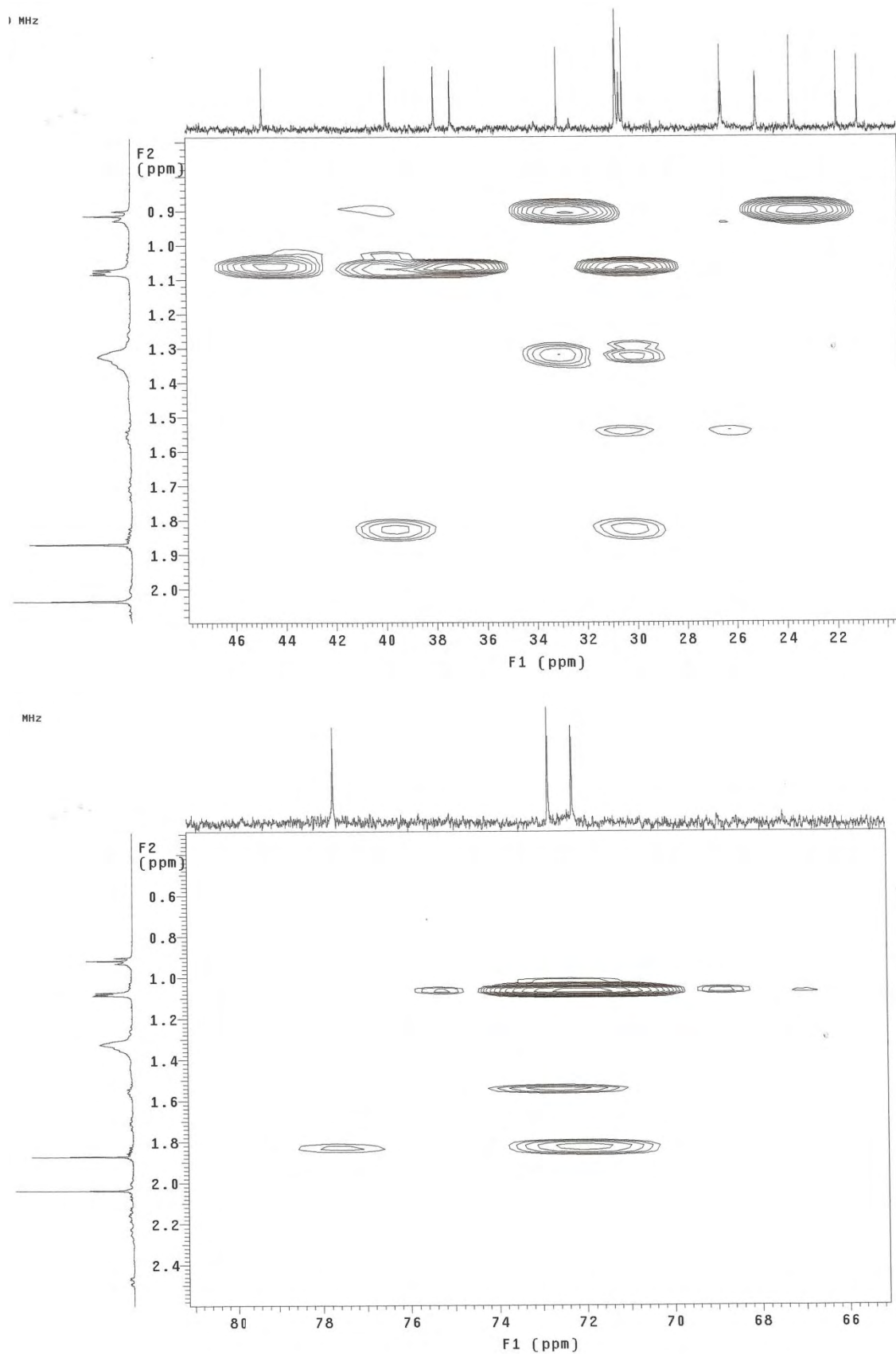


Figura 248. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **15** (500 e 125 MHz, CD_3OD).

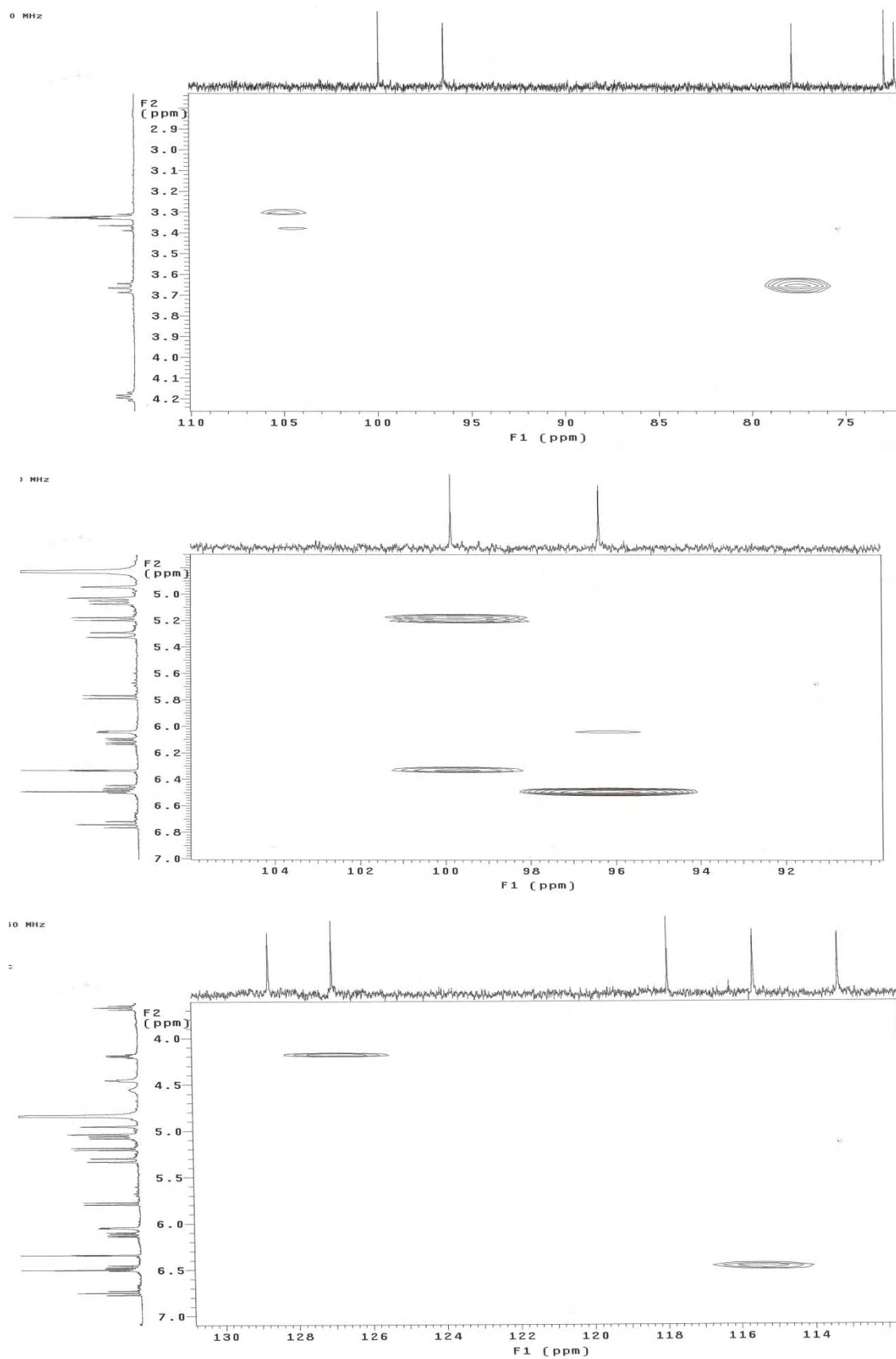


Figura 249. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

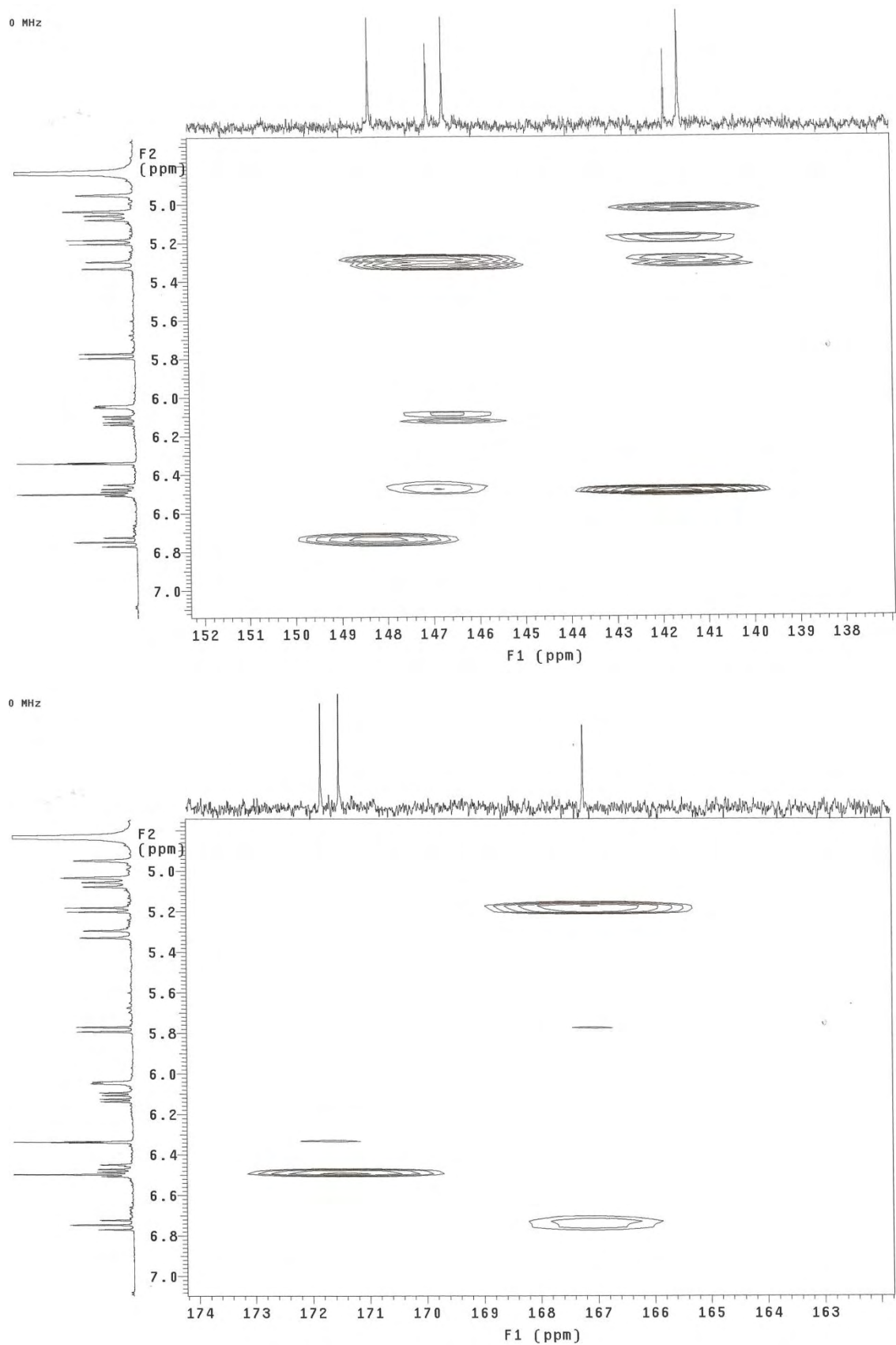


Figura 250. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

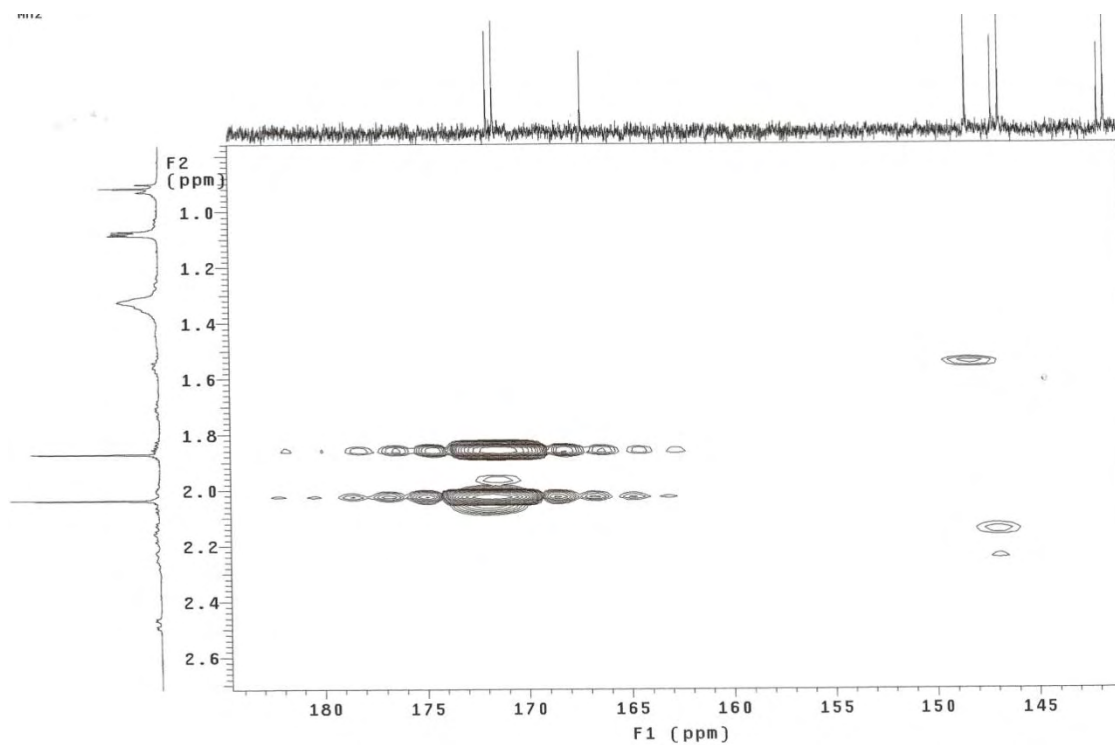


Figura 251. Expansões do mapa de contornos gHMBC de **15** (500 e 125 MHz, CD₃OD).

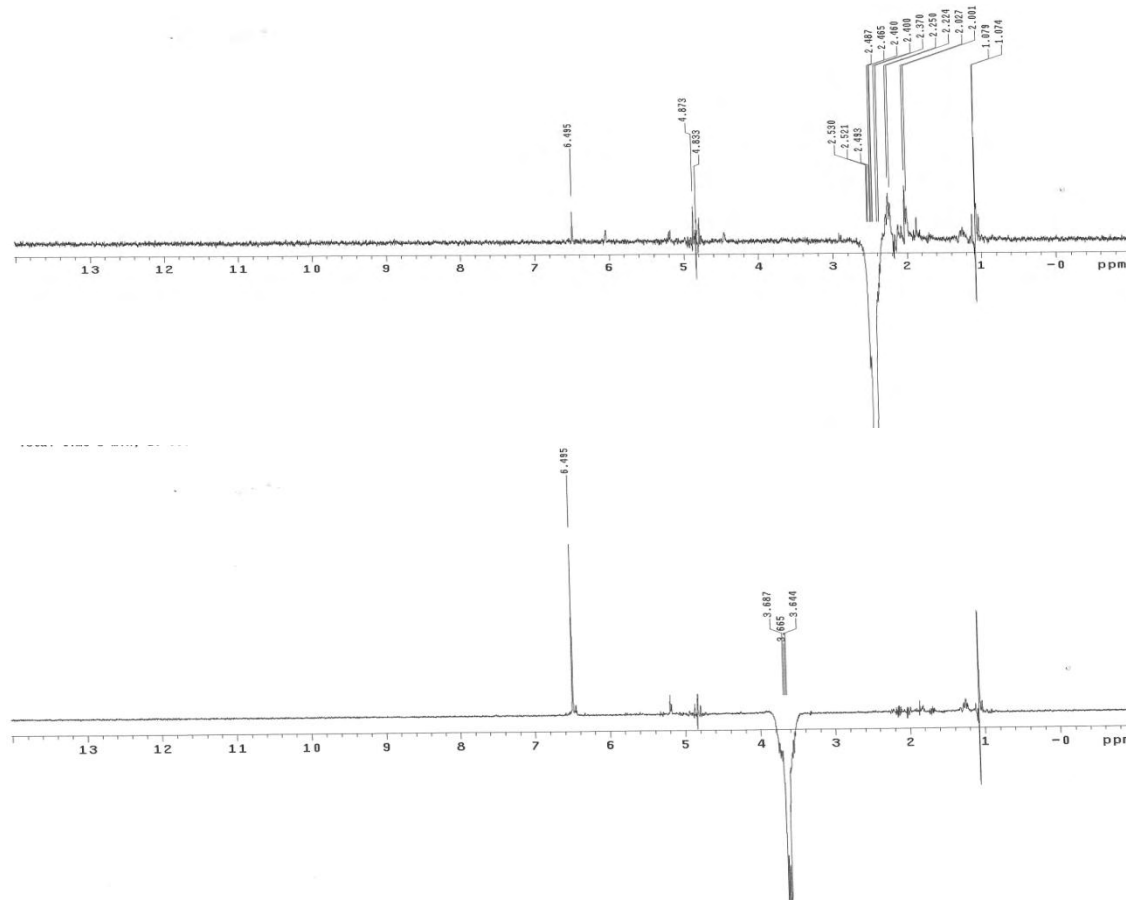


Figura 252. Espectros NOESY 1D de **15** (500 MHz, CD₃OD).

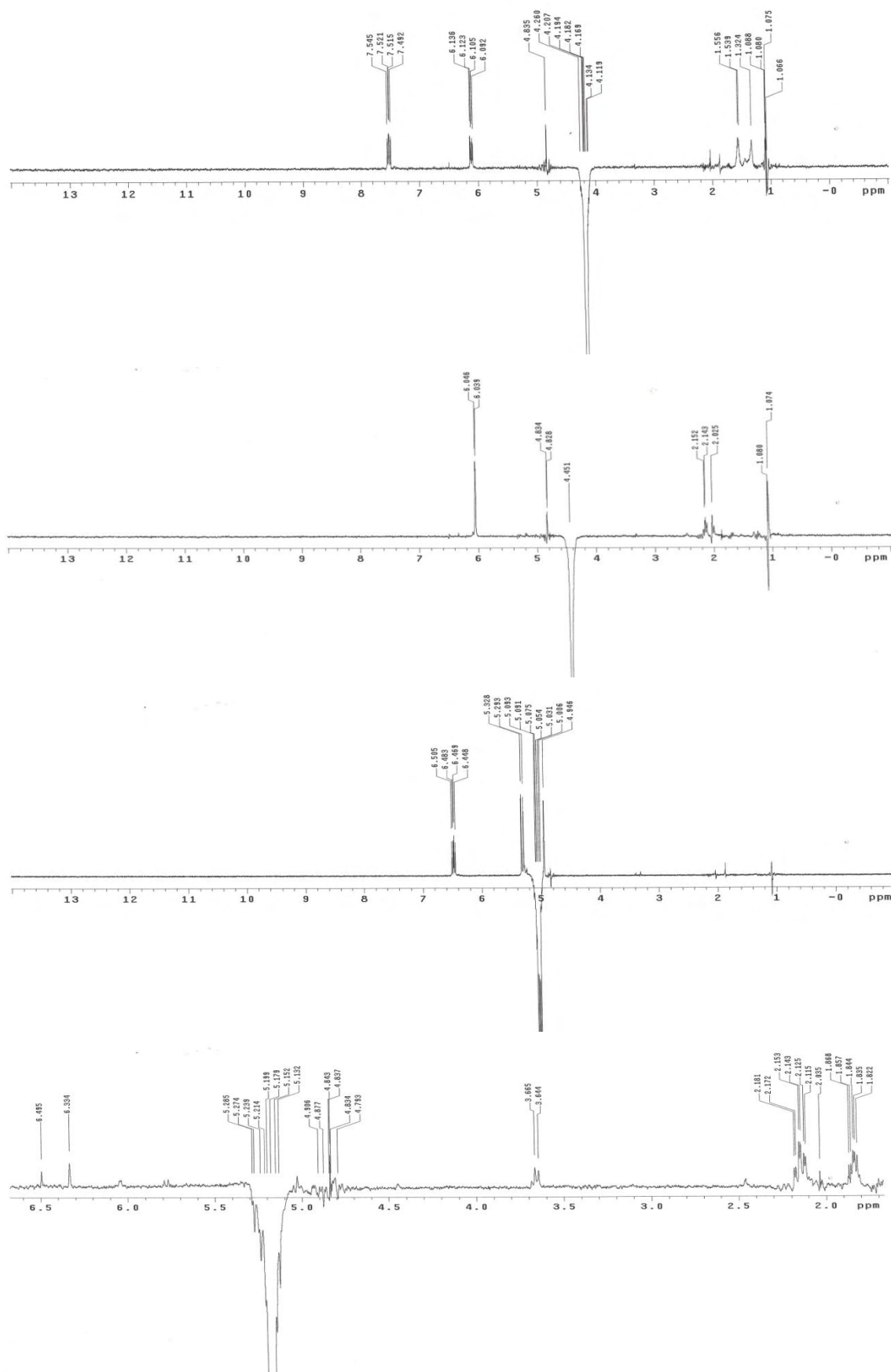


Figura 253. Espectros NOESY 1D de **15** (500 MHz, CD₃OD).

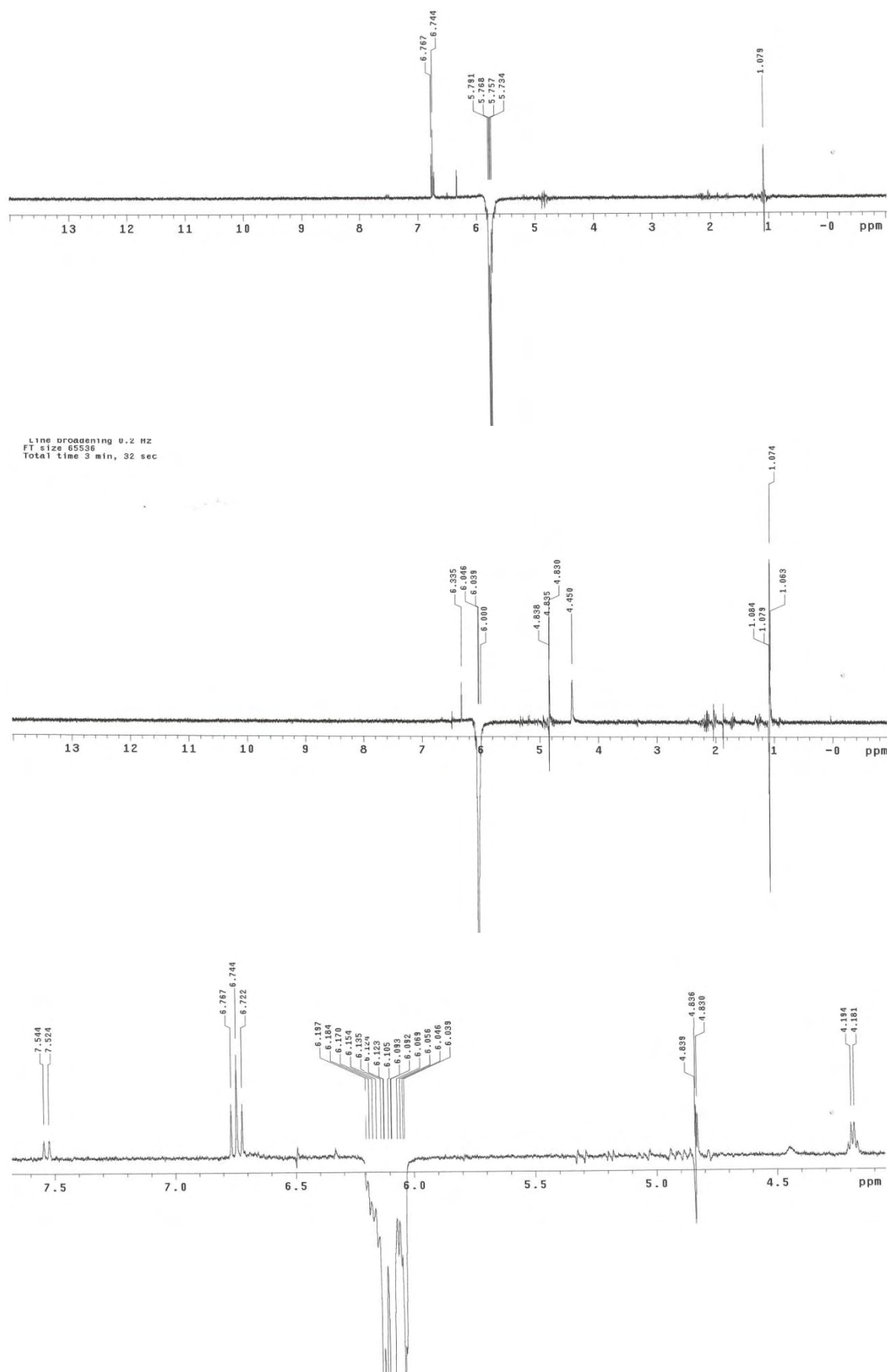


Figura 254. Espectros NOESY 1D de **15** (500 MHz, CD₃OD).

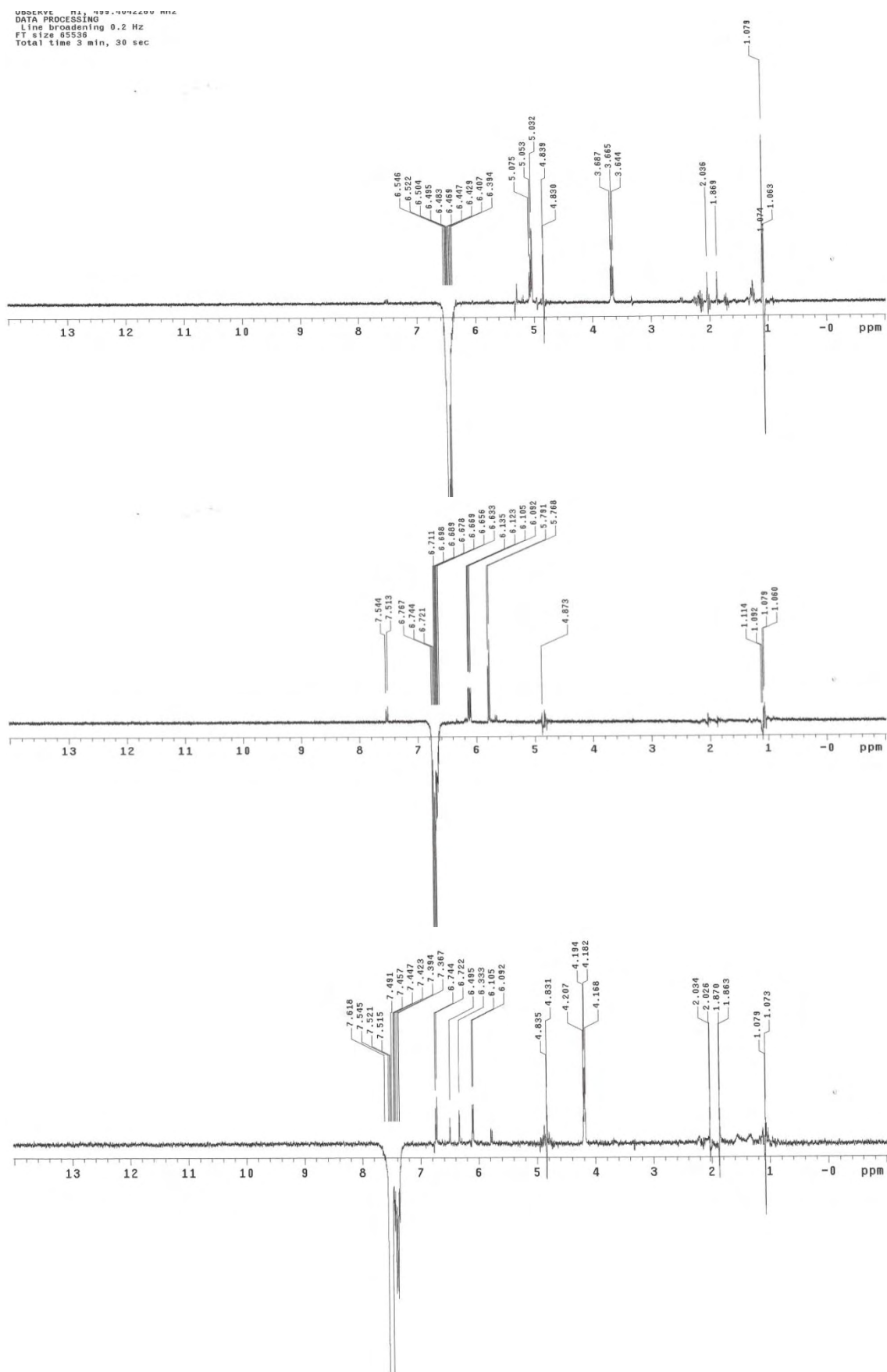


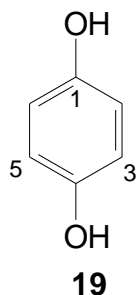
Figura 255. Espectros NOESY 1D de **15** (500 MHz, CD₃OD).

5.5. *Casearia decandra* Jacquin



Fotos: Gerardo Magela Vieira Jr. e Alberto J. Cavaleiro

5.5.1. Hidroquinona (**19**)



O espectro de IV de **19** (Figura 256) apresenta bandas características, como por exemplo: vibração de estiramento de O–H fenólico em 3145 cm^{-1} , C=C aromático em 1516 e 1463 cm^{-1} , C–H em 1186 cm^{-1} e C–H fora do plano em 761 cm^{-1} .

O espectro de RMN de ^1H (Figura 257) apresentou um simpleto em $\delta\ 6,62$ correspondente aos 4H do anel aromático e outro em $\delta\ 8,50$, correspondente aos 2H das hidroxilas. O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 258) apresentou 2 sinais, sendo um em $\delta\ 115,60$, correspondente aos 4 carbonos hidrogenados do anel aromático e outro em $\delta\ 149,70$ equivalente aos dois carbonos quaternários do anel. Esta análise, juntamente com dados da literatura [RMN de ^{13}C , WSS: Spectral data were obtained from Wiley Subscription Services, Inc. – US] and [RMN de ^1H , AIST: Integrated Spectral Data Base System of Organic Compounds (data were obtained from the National Institute of Advanced Industrial Science and Technology – Japan)] permitiram identificar a substância **19** como sendo a hidroquinona.

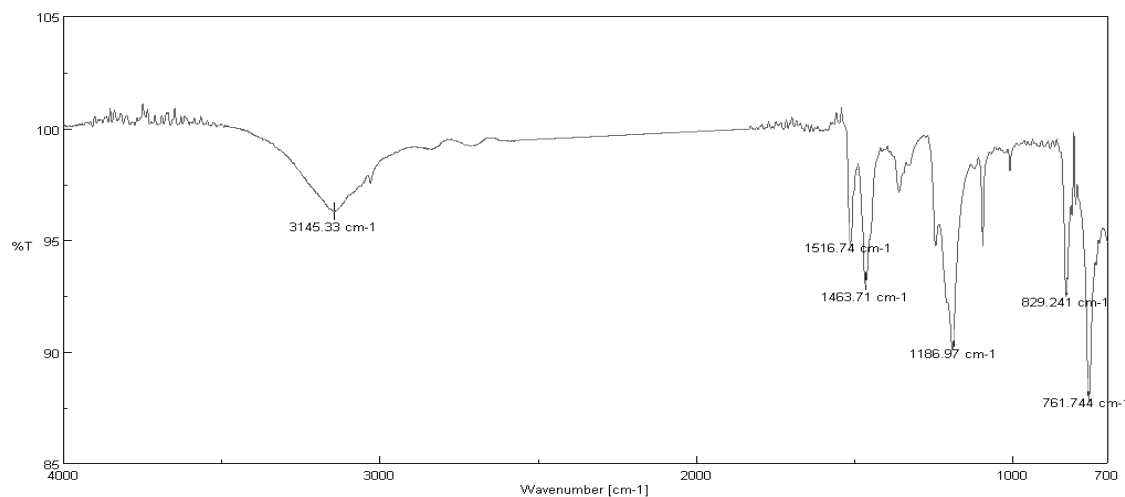


Figura 256. Espectro de absorção de **19**, na região do IV (sólido).

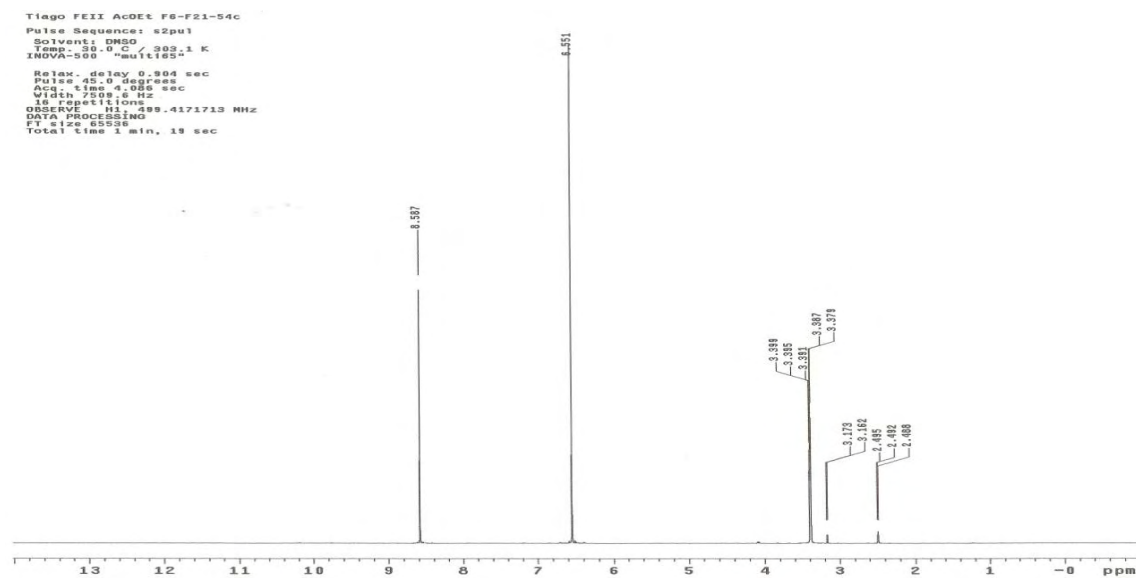


Figura 257. Espectro de RMN ¹H de **19** (500 MHz, DMSO-d₆).

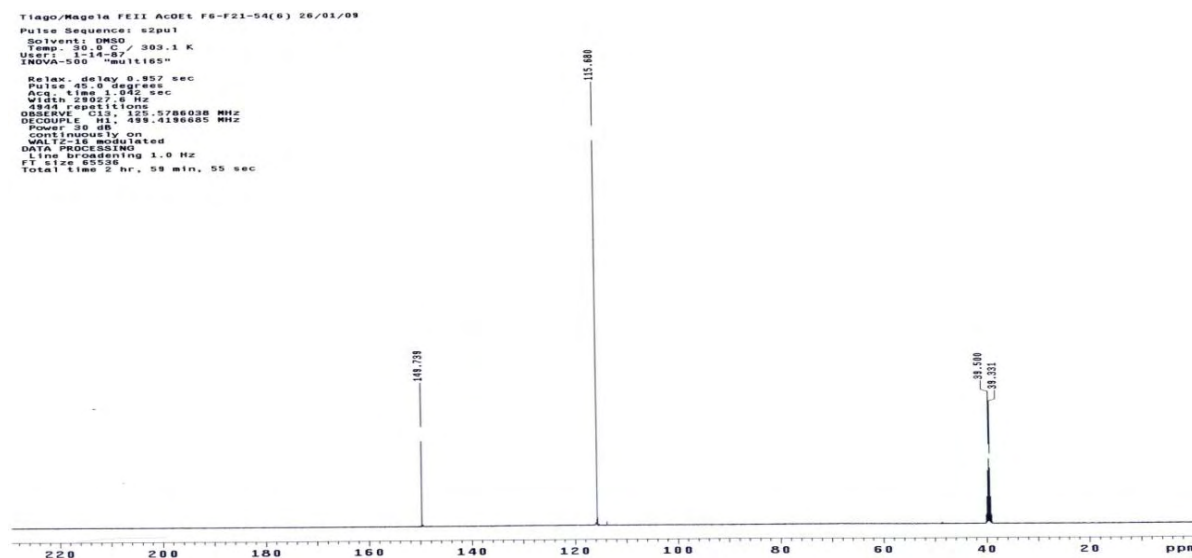


Figura 258. Espectro de RMN de ¹³C de **19** (125 MHz, DMSO-d₆).

5.6. Perfil fitoquímico dos extratos hexânicos em CG-FID

Os triterpenos e esteróides identificados nos extratos hexânicos das quatro espécies de *Casearia* encontram-se na Tabela 27. Os resultados mostraram que o esteróide sitosterol (**4**) está presente em todos os extratos analisados, enquanto que estigmasterol (**20**) e campesterol (**21**) foram detectados apenas nos extratos dos galhos (CgGI) e folhas (CgFI) de *C. gossypiosperma*. Os triterpenos α -amirina (**22**) e β -amirina (**23**) foram detectados somente em *C. gossypiosperma* (galhos – CgGI) e em *C. rupestris* (folhas – CrFI), respectivamente, enquanto que o acetato de lupeol (**24**) foi detectado nos galhos (CgGI) de *C. gossypiosperma*. Esses resultados demonstram que o perfil químico das quatro espécies de *Casearia* apresenta pequenas diferenças na composição terpênica e esteroidal, com destaque para a presença de sitosterol em todos os extratos analisados.

TABELA 27. Triterpenos e esteróides identificados nos extratos hexânicos de espécies de *Casearia*, através de GC-FID.

Substância	CgGI	CgFI	CoGI	CoFI	CdGI	CdFI	CrGI	CrFI	RR (SPB-5)	RR (SPB-50)
α -amirina	+	-	-	-	-	-	-	-	1,326	2,006
β -amirina	-	-	-	-	-	-	-	+	1,290	1,774
lupeol	-	-	-	-	-	-	-	-	1,326	2,163
taraxerol	-	-	-	-	-	-	-	-	1,261	1,710
acetato de α -amirina	-	-	-	-	-	-	-	-	1,544	2,156
acetato de β -amirina	-	-	-	-	-	-	-	-	1,464	1,928
acetato de lupenila	+	-	-	-	-	-	-	-	1,544	2,239
acetato de baurenila	-	-	-	-	-	-	-	-	1,704	2,511
acetato de taraxerol	-	-	-	-	-	-	-	-	1,427	1,934
acetato de friedelanol	-	-	-	-	-	-	-	-	1,785	2,887
friedelina	-	-	-	-	-	-	-	-	1,550	2,750
lupenona	-	-	-	-	-	-	-	-	1,325	2,011
α -amirenona	-	-	-	-	-	-	-	-	1,325	1,937
β -amirenona	-	-	-	-	-	-	-	-	1,265	1,725
germaniconona	-	-	-	-	-	-	-	-	1,256	1,648
campesterol	+	+	-	-	-	-	-	-	1,124	1,239
estigmasterol	+	+	-	-	-	-	-	-	1,167	1,314
sitosterol	+	+	+	+	+	+	+	+	1,246	1,457

RR = retenção relativa em relação ao padrão interno (colesterol); (+) presença da substância; (-) ausência da substância.

5.7. Considerações sobre os bioensaios realizados com extratos e substâncias isoladas das espécies de *Casearia*

5.7.1 Avaliação da atividade antioxidante

Os testes para atividade antioxidante, frente ao DPPH, realizados nas frações obtidas da partição líquido-líquido dos extratos etanólicos de *C. decandra* indicaram a seguinte ordem decrescente de atividade seqüestradora de radicais livres para amostras dos galhos (Figura 258): fração acetato de etila (CdGII-FA) > etérea (CdGII-FE) > extrato EtOH (CdGII) > fração MeOH/H₂O (CdGII-FHA) > interfase (CdGII-IN) > fração hexânica (CdGII-FH). Para amostras das folhas, a atividade antioxidante apresentou a seguinte ordem decrescente (Figura 259): fração acetato de etila (CdFII-FA) > etérea (CdFII-FE) > extrato EtOH (CdFII) > fração MeOH/H₂O (CdFII-FHA) > hexânica (CdFII-FH).

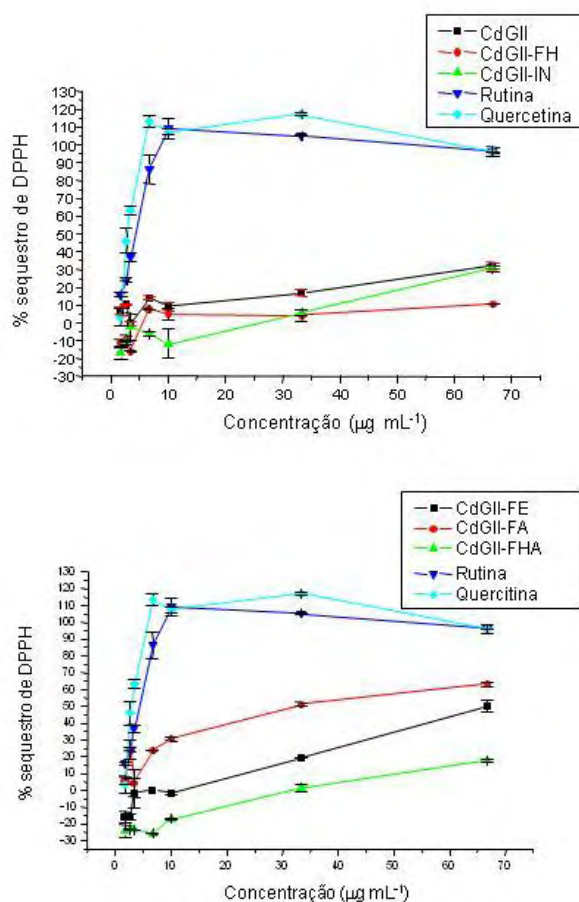


Figura 258. Atividade antioxidante do extrato EtOH e partições dos galhos de *Casearia decandra*.

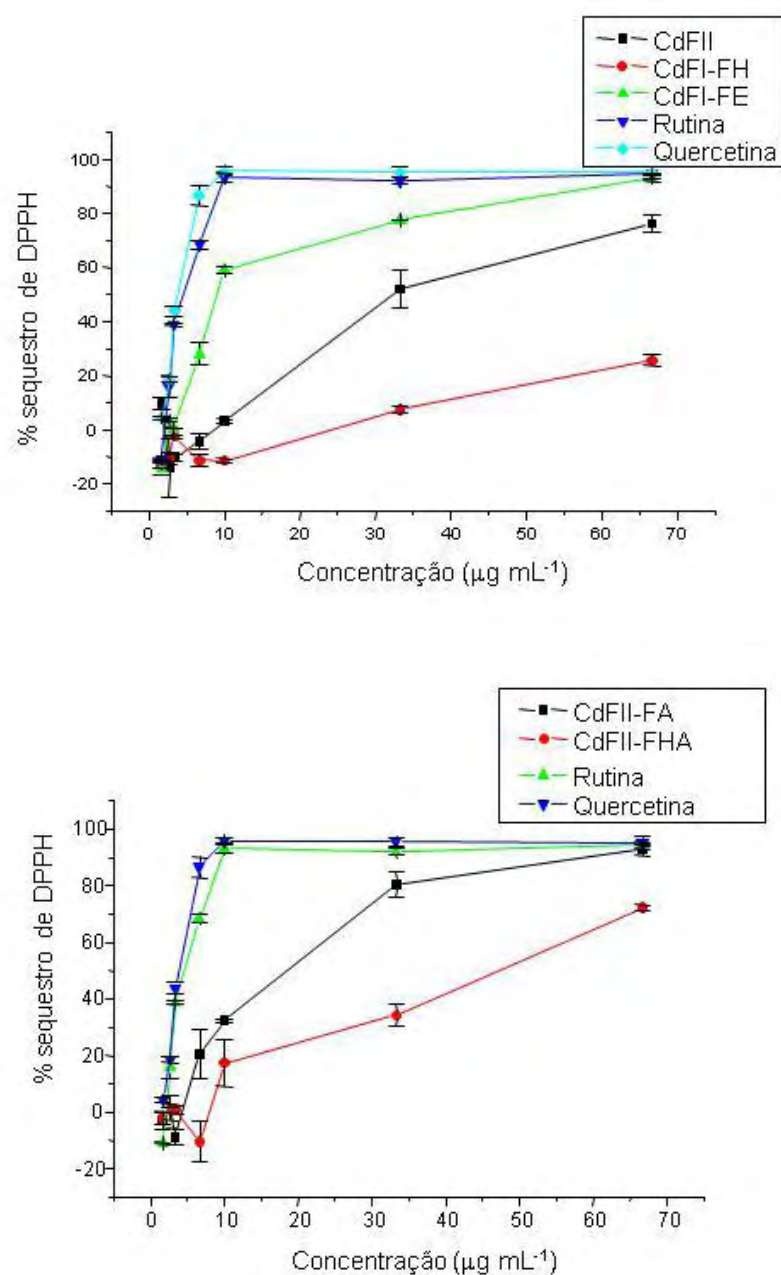


Figura 259. Atividade antioxidante do extrato EtOH e partições das folhas de *Casearia decandra*.

O fracionamento cromatográfico dos extratos de *C. decandra* resultou no isolamento e identificação de hidroquina (**19**). A análise de **19** (Figura 260) indicou que esta possui um bom potencial antioxidante, indicado pela concentração inibitória média (CI₅₀), porém inferior aos padrões rutina e quercetina (Quadro 2). No entanto,

o alto teor dessa substância nas fases AcOEt e MeOH/H₂O de *C. decandra* justificam as propriedades antioxidantes observadas para estas frações.

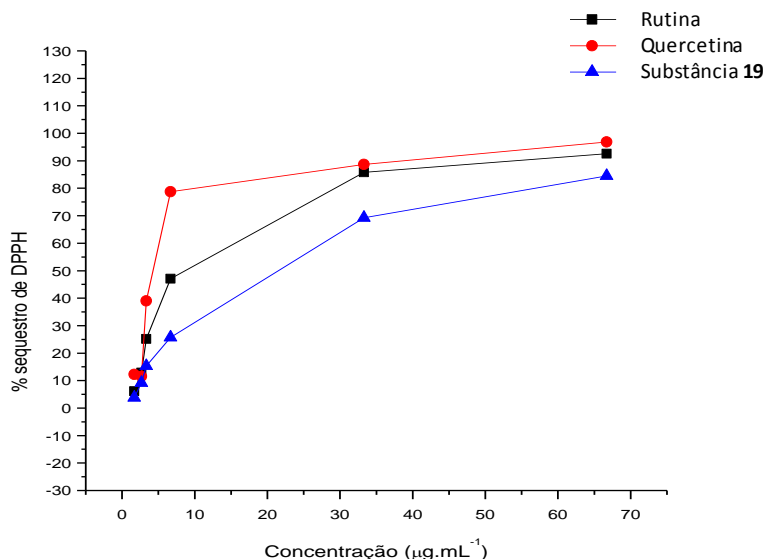


Figura 260. Atividade antioxidante da hidroquinona obtida folhas de *C. decandra*.

Quadro 2. Valores de CI₅₀ da substância **19** e padrões frente ao ensaio do DPPH.

Substância	CI ₅₀ (µg mL ⁻¹)
19	21,4
Rutina	4,3
Quercetina	8,6

5.7.2. Avaliação da atividade anticolinesterásica

O ensaio de bioautografia (Figura 261), visando a identificação de substâncias com atividade inibidora de acetilcolinesterase, apresentou manchas indicativas de substâncias com possível atividade anticolinesterásica em muitos extratos (Tabela 28), com destaque para os extratos etanólico e aquoso das folhas de *C. gossypiosperma* CEII (R_f = 0,34) e CAII (R_f = 0,54). A substância ativa presente nos dois extratos foi isolada e identificada como a (+)-taxifolina (**1**).

Após isolamento de **1**, fez-se o teste quantitativo em microplacas, onde verificou-se um percentual de 76 % de inibição da enzima acetilcolinesterase.

As substâncias **14-18** foram avaliadas também por bioautografia (Figura 261), porém não apresentaram atividade anticolinesterásica.

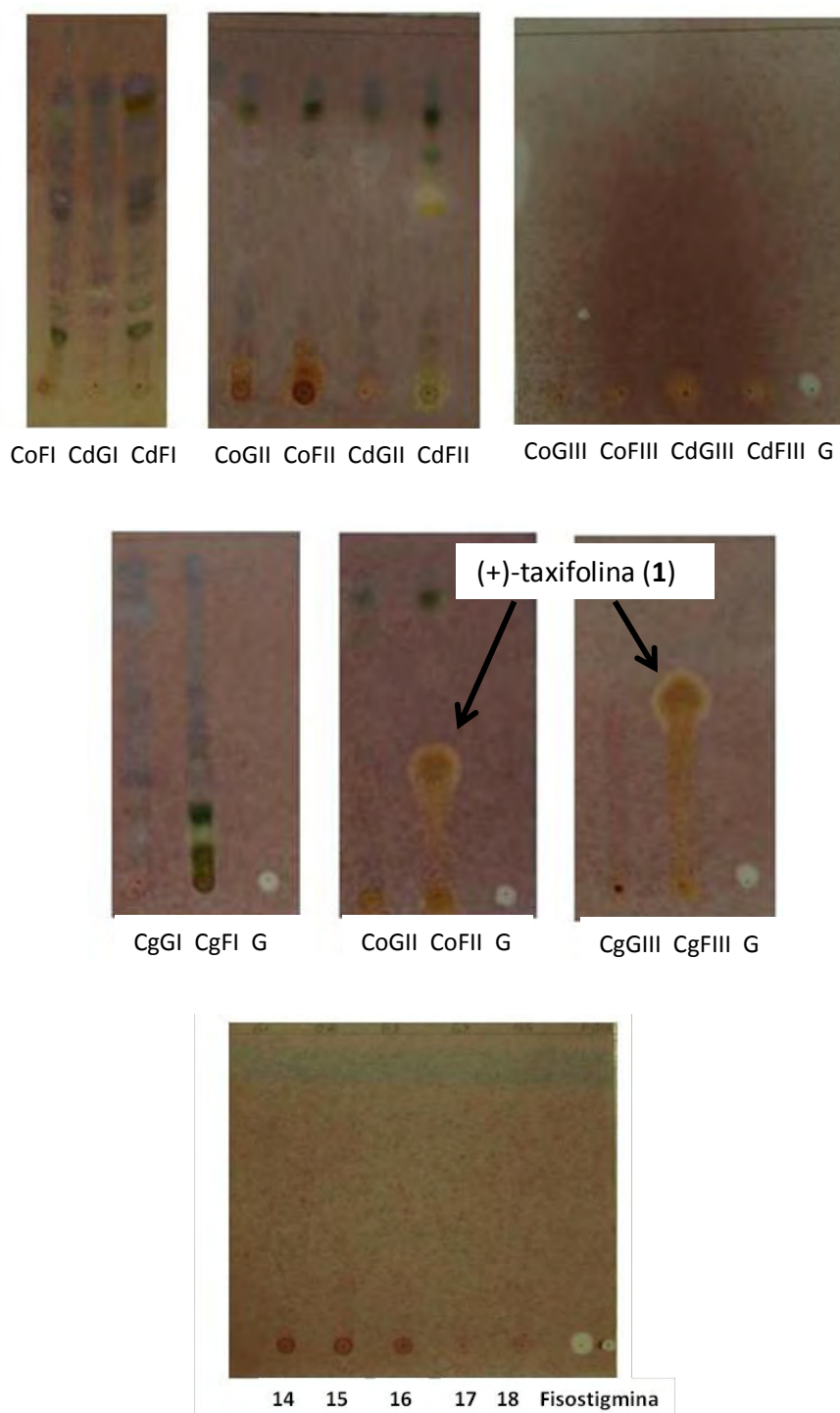


Figura 261. Ensaio de bioautografia frente à enzima acetilcolinesterase (G = galantamina) de extratos e substâncias isoladas.

TABELA 28. Atividade anticolinesterásica (bioautografia) dos extratos hexânicos, EtOH e aquosos de folhas e galhos de espécies de *Casearia*.

Amostra	Eluente	Substância Inibidora
		Rf
CgGI	Hex:AcOEt (8:2)	0,79/ 0,13
CgFI	“	0,29 / 0,13
CgFII	AcOEt:Hex (7:3)	-
CgFII	“	0,34
CgGIII	AcOEt:MeOH (8:2)	-
CgFIII	“	0,54
CoFI	“	0,51
CoGII	AcOEt:Hex (7:3)	0,66 / 0,36
CoFII	“	-
CoGIII	AcOEt:MeOH (7:3)	-
CoFIII	“	-
CdGI	Hex:AcOEt (8:2)	0,25
CdFI	“	0,82/0,27/0,13
CdGII	AcOEt:Hex (7:3)	0,65/0,54/0,36
CdFII	“	0,55
CdGIII	AcOEt:MeOH (7:3)	-
CdFIII	“	-
14-18	AcOEt:MeOH (9:1)	-

5.7.3 Avaliação da atividade antifúngica

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antifúngica estão apresentados nas Tabelas 29 e 30, para fungos patogênicos humanos e fungos fitopatogênicos, respectivamente.

O extrato hexânico dos galhos de *C. gossypiosperma* apresentou atividade para *Candida krusei*, *C. albicans* e *Cryptococcus neoformans*, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) 250, 15,6 e 15,6 µg/mL, respectivamente. Já o extrato hexânico das folhas apresentou atividade para *C. krusei* e *C. neoformans*, com valores de CIM 250 e 125 µg/mL, respectivamente. O extrato EtOH dos galhos de *C. gossypiosperma* apresentou atividade para *C. krusei* e *C. neoformans*, com valores de CIM 250 e 62,5 µg mL⁻¹, respectivamente. Já o extrato EtOH das folhas apresentou atividade somente frente a *C. neoformans*, com valor de CIM 31,2 µg

mL⁻¹. Dentre os extratos aquosos, apenas o extrato aquoso das folhas de *C. gossypiosperma* apresentou atividade para *C. neoformans*, com valor de CIM 15,6 µg mL⁻¹, sendo um dos mais ativos juntamente com o extrato hexânico dos galhos. Todos os extratos de *C. rupestris* apresentaram atividade frente a *C. neoformans*, exceto o extrato aquoso das folhas (Tabela 29).

Das substâncias isoladas, a substância **14** mostrou-se ativa frente a *C. albicans* com CIM de 1,95 µg mL⁻¹ que é equivalente aos valores obtidos para os controles positivos fluconazol (2,00 µg mL⁻¹) e anfotecina B (2,00 µg mL⁻¹). Contra *C. krusei* e *C. neoformans*, essa mesma substância apresentou também ação significativa, com valores de CIM de 3,90 µg mL⁻¹ e 0,48 µg mL⁻¹, respectivamente, quando comparado ao controle positivo fluconazol (64,0 e 4,00 µg mL⁻¹). A substância **19** também apresentou potente atividade antifúngica frente às cepas de *C. krusei* (CIM 31,2 µg mL⁻¹) e *C. neoformans* (CIM 1,95 µg mL⁻¹) quando comparadas ao controle positivo fluconazol que apresenta CIM 64,0 e 4,00 µg mL⁻¹ frente a *C. krusei* e *C. neoformans*, respectivamente.

TABELA 29. Atividade antifúngica ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos hexânicos, EtOH e aquosos de folhas e galhos de *C. gossypiosperma* e *C. rupestris*.

Fração	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
	CIM*	CIM	CIM	CIM
CgGI	15,6	250	sa	15,6
CgFI	250	sa	sa	125
CgGII	250	sa	sa	62,5
CgFII	sa	sa	sa	31,2
CgGIII	sa	sa	sa	sa
CgFIII	sa	sa	sa	15,6
CrGI	sa	sa	sa	250
CrFI	sa	sa	sa	125
CrGII	sa	sa	sa	125
CrFII	sa	250	sa	125
CrGIII	sa	sa	sa	125
CrFIII	sa	sa	sa	sa

*Concentração Inibitória Mínima $\mu\text{g/mL}^{-1}$; sa – sem atividade.

TABELA 30. Atividade antifúngica ($\mu\text{g/mL}$) das substâncias **14-18** isoladas das folhas de *C. rupestris*.

Substância	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
	CIM*	CIM	CIM	CIM
14	1,95	3,9	125	0,48
15	31,2	nt	nt	nt
16	3,9	31,2	62,5	1,95
17	62,5	nt	>250	31,2
18	62,5	125	>250	nt
fluconazol	2,00	64,0	8,00	4,00
anfotecina B	2,00	2,00	1,00	0,06

nt – não testada

Nos testes de bioautografia (Figura 261, Tabela 31) realizados contra fungos fitopatogênicos (*C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*), apresentaram atividade forte as substâncias com $R_f = 0,40$ (CgFII) contra *C. cladosporioides* e a substância com $R_f = 0,57$ (CgFIII) contra *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*. Esta substância foi isolada de ambos os extratos e identificada como o flavononol (+)-taxifolina (**1**). A análise quantitativa mostrou que **1**, na quantidade de 100 μg , apresentou atividade fungitóxica para *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum* equiavalente àquela observada para o controle positivo nistatina na dose de 1,00 μg . Conclue-se desse resultado que a ação fungitóxica de **1** é cerca de 100 x menor que a observada para nistatina (Tabela 32).

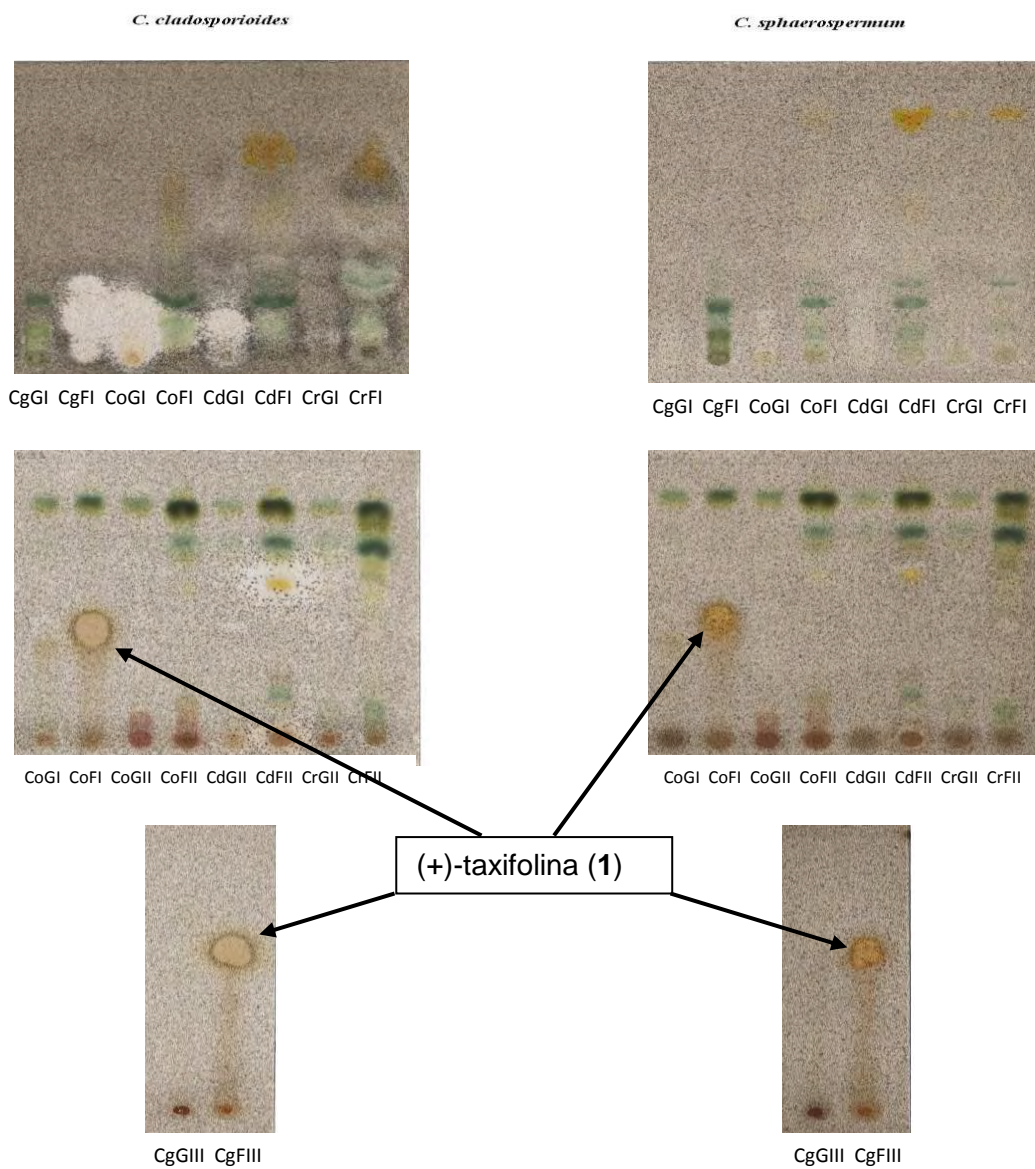


Figura 262. Ensaio de bioautografia frente aos fungos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*.

TABELA 31. Atividade antifúngica ($\mu\text{g/mL}$) dos extratos hexânicos, EtOH e aquosos de folhas e galhos de espécies de *Casearia*.

Amostra	Eluente	<i>C. cladosporioides</i>		<i>C. sphaerospermum</i>	
		Rf	Potencial	Rf	Potencial
CgGI	Hex:AcOEt (8:2)	0,09	*	--	i
CgFI	"	--	i	--	i
CgGII	AcOEt:Hex (7:3)	--	i	--	i
CgFII	"	0,4	***	--	i
CgGIII	AcOEt:MeOH (8:2)	--	i	--	i
CgFIII	"	0,57	***	0,57	***
CoGI	Hex:AcOEt (8:2)	origem a 0,22	***	--	i
CoFI	"	0,08	***	--	i
CoGII	AcOEt:Hex (7:3)	--	i	--	i
CoFII	"	--	i	--	i
CoGIII	AcOEt:MeOH (7:3)	--	i	--	i
CoFIII	"	--	i	--	i
CdGI	Hex:AcOEt (8:2)	0,11	**	--	i
CdFI	"	--	i	--	i
CdGII	AcOEt:Hex (7:3)	--	i	--	i
CdFII	"	origem/0,56	**/**	--	i
CdGIII	AcOEt:MeOH (7:3)	--	i	--	i
CdFIII	"	--	i	--	i
CrGI	Hex:AcOEt (8:2)	--	i	--	i
CrFI	"	--	i	--	i
CrGII	AcOEt:Hex (7:3)	--	i	--	i
CrFII	"	--	i	--	i
CrGIII	AcOEt:MeOH (7:3)	--	i	--	i
CrFIII	"	--	i	--	i

Atividade fraca = *; Atividade moderada = **; Atividade forte = ***; Inativo = i

TABELA 32. Atividade antifúngica ($\mu\text{g } 10\mu\text{L}^{-1}$) de **1** isolado das folhas de *C. gossypiosperma*.

Substância	Quantidade ($\mu\text{g } 10\mu\text{L}^{-1}$)	<i>C. cladosporioides</i>	<i>C. sphaerospermum</i>
		Potencial	Potencial
1	100	***	***
nistatina	1	***	***

Atividade fraca = *; Atividade moderada = **; Atividade forte = ***; Inativo = i

As substâncias isoladas das folhas de *C. rupestris* (**14-18**) foram testadas contra os fitopatógenos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum* (Figura 262), porém nenhuma das substâncias apresentou atividade.

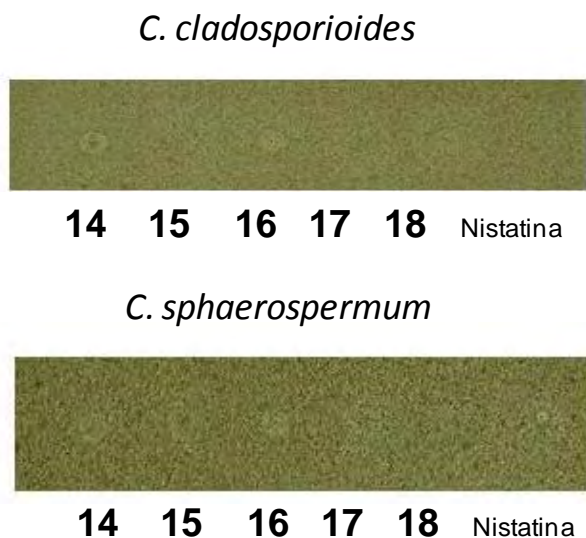


Figura 262. Ensaios de bioautografia frente aos fungos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*.

A hidroquinona (**19**), isolada das folhas de *C. decandra*, apresentou atividade antifúngica dose dependente frente às duas cepas testadas (*C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*), na faixa de dosagem testada, compreendida entre $100 \mu\text{g}/10\mu\text{L}$ e $5 \mu\text{g}/10\mu\text{L}$ (Figura 263).

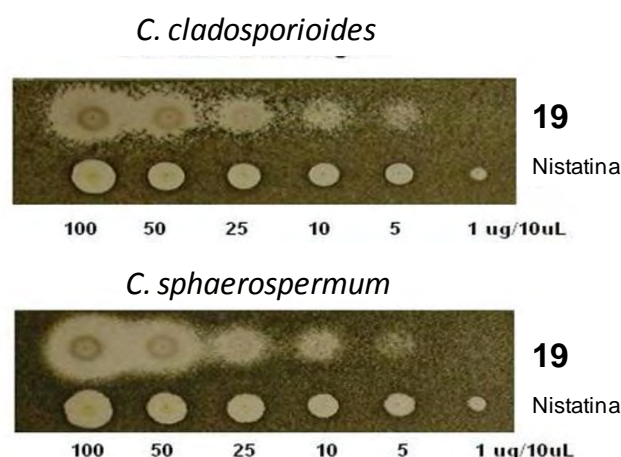


Figura 263. Ensaios de bioautografia frente aos fungos *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*.

5.7.4. Avaliação da atividade citotóxica

O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE et al., 1993). O objetivo desta etapa do trabalho foi verificar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos de espécies de *Casearia* e substâncias isoladas a partir destes, em 4 linhagens de células tumorais. Esta análise faz parte de um *screening* inicial para determinação do potencial antitumoral desta espécie. Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos erros-padrão. O cálculo das CI_{50} (concentração inibitória média capaz de provocar 50% do efeito máximo) e seus respectivos intervalos de confiança foram realizados a partir da regressão não-linear no programa *GraphPad Prism*, sendo que cada amostra foi analisada a partir de dois experimentos realizados em triplicata. Inicialmente fez-se a análise preliminar dos extratos (Tabela 33), onde observou-se o potencial citotóxico principalmente nos extratos hexânico (CoGI) e etanólicos (CoGI e CoFI) de *C. obliqua*, com valores de percentual de inibição do crescimento celular (IC %) variando de 81,76 a 103,70%, indicativo da presença de substância(s) com potencial citotóxico. Os extratos foram submetidos a determinação da CI_{50} . A Tabela 34 contém os valores de CI_{50} . Dentre as amostras testadas, o extrato CoFI revelou ser o único a possuir potencial citotóxico frente às linhagens celulares tumorais, com CI_{50} variando de 3,77 a 17,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para as linhagens SF-295 e HL-60, respectivamente.

TABELA 33. Percentual de inibição do crescimento celular (IC %) das amostras de *Casearia* em três linhagens tumorais testadas em dose única. Valores correspondem à média ± DPM.

Extratos	SF-295		HCT-8		MDA/MB-435	
	Média	DPM	Média	DPM	Média	DPM
CgGI	4,63	4,02	9,43	4,69	27,25	9,40
CgFI	19,97	2,05	29,04	6,64	-24,62	5,78
CgGII	5,22	9,35	-10,09	2,47	18,94	8,99
CgFII	23,89	3,74	27,3	3,95	-15,72	11,42
CgGIII	2,51	8,69	-4,43	4,35	10,44	4,98
CgFIII	1,98	7,01	-7,02	9,54	5,74	2,49
CoFI	103,70	0,26	103,14	1,57	94,35	0,91
CoGII	95,55	5,49	70,79	1,89	85,74	1,30
CoFII	90,00	7,33	81,02	1,17	81,76	0,91
CdGI	26,86	7,72	15,98	1,63	-10,91	0,78
CdFI	39,40	7,79	22,23	6,02	-4,80	0,65
CdGII	50,42	6,21	28,06	7,72	18,66	2,02
CdFII	42,69	5,23	30,70	7,00	23,01	8,83
CdGIII	22,18	16,19	-5,72	4,97	6,53	12,64
CdFIII	6,53	13,55	18,48	8,18	16,30	1,047
doxorubicina	87,79	3,99	101,40	7,36	90,92	6,93

TABELA 34. Atividade citotóxica de CoGII, CoFII e CoFI e suas respectivas CI_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) frente a linhagens de células tumorais.

Linhagem Amostra	HL-60	SF-295	HCT-8	MDA/MB-435
CoGII	> 50	> 50	> 50	> 50
CoFII	> 50	> 50	> 50	> 50
CoFI	17,07	3,77	4,07	6,37
	10,52-27,71	2,87-4,93	2,59-6,41	5,02-8,08

Os diterpenos clerodânicos **5+6**, **7**, e **8**, isolados de *C. obliqua*, foram testados frente às 4 linhagens de células pelo ensaio do MTT, corroborando a citotoxicidade desta classe de compostos. Os valores de CI_{50} foram determinados usando-se o protocolo do National Cancer Institute (NCI) com pequenas modificações e são apresentados na Tabela 35. Todas as substâncias apresentaram atividade citotóxica, porém a mistura de compostos (**5+6**) mostrou-se a mais potente contra os quatro tipos de linhagens de células tumorais, com destaque para os valores de CI_{50} de 0,13 μM (HCT-8) e 0,14 μM (SF-295) que foram menores que os valores apresentados pelo padrão doxorrubicina de 1,5 e 0,75 μM para HCT-8 e SF-295, respectivamente.

TABELA 35. Atividade citotóxica de **5+6**, **7** e **8** isolados de *C. obliqua* frente a linhagens de células tumorais^a.

substância	Linhagem celular			
	HL-60 (leucemia)	HCT-8 (colon)	MDA-MB-435 (melanoma)	SF-295 (glioblastoma)
5+6	1,0	0,13	0,33	0,14
7	8,86	8,86	8,86	8,86
8	7,38	8,38	8,38	8,38
doxorrubicina	0,07	1,5	0,12	0,75

^aDados de CI_{50} são apresentados em μM obtidos por regressão não-linear.

Os resultados da atividade citotóxica dos compostos **14-18** e dos derivados **14a** e **18a** são apresentados na Tabela 36. Todas estes diterpenos testados apresentaram atividade citotóxica significativa frente as linhagens tumorais testadas, com valores de CI_{50} variando de 0,1 a 20,6 μM .

As casearupetrinas A (**14**) e G (**15**) mostraram potente citotoxicidade principalmente frente as linhagens MDA-MB-435 (melanoma) e SF-295 (glioblastoma), pois apresentaram valores de CI_{50} menores que os apresentados pelo controle positivo doxorrubicina (Tabela 36). Os derivados acetilados **14a** e **18a**, apesar de não perderem a citotoxicidade, apresentaram valores de CI_{50} maiores que os apresentados pelas substâncias **14** e **18**.

A hidroquinona (**19**) isolada de *C. decandra* também apresentou citotoxicidade frente às linhagens, porém com valores de CI_{50} muito superiores a concentração de 25 μM .

TABELA 36. Atividade citotóxica de **14-18** isolados de *C. rupestris*, dos derivados **14a** e **18a**, e de **19** isolado de *C. decandra* frente a linhagens de células tumorais^a.

substância	Linhagem celular			
	HL-60 (leucemia)	HCT-8 (colon)	MDA-MB-435 (melanoma)	SF-295 (glioblastoma)
14	0,10	0,13	0,36	0,36
15	0,14	0,47	0,20	0,26
16	0,85	0,28	1,3	0,80
17	8,74	8,74	8,74	8,74
18	0,25	0,25	0,93	0,43
14a	4,3	12,4	20,6	10,5
18a	8,1	14,0	15,9	8,4
19	>25	>25	>25	>25
doxorubicina	0,04	0,02	0,83	0,40

^aDados de CI_{50} são apresentados em μM obtidos por regressão não-linear.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante proposta definida para este trabalho, de contribuir fitoquimicamente com o estudo de quatro espécies ainda não estudadas do gênero *Casearia*, realizou-se o isolamento e/ou identificação de vinte e seis substâncias, sendo vinte e quatro naturais e dois derivados, pertencentes a classes distintas de metabólitos, tais como: flavonóides, ciclitol, quinona, ácido carboxílico, amidas, esteróides, triterpenos e diterpenos.

De *C. gossypiosperma* foram isoladas três substâncias do extrato etanólico das folhas, sendo dois flavonóides: (+)-taxifolina (**1** – também isolada do extrato aquoso das folhas) e quercetina (**3**) e um novo ciclitol: *rel*-(2*R*, 3*S*, 4*R*, 5*R*)-3,4,5-triidroxi-2-etóxi-ciclohexanona (**2**).

A partir do extrato hexânico das folhas de *C. obliqua* isolou-se quatro substâncias, um esteróide: sitosterol (**4**) e três diterpenos clerodânicos: (*rel*)-2 β -benzoato-6 β -hidroxizuelanina + (*rel*)-6 β -benzoato-2 α -hidroxizuelanina (**5+6**) e 6 β -cinamato-2 β -hidroxizuelanina (**7**). Da fase etérea oriunda do extrato etanólico dos galhos foram isoladas cinco substâncias, sendo dois diterpenos clerodânicos inéditos: caseobliquina A (**8**) e B (**9**), um ácido carboxílico: ácido cinâmico (**10**) e duas amidas: *N-trans-p*-cumaroiltiramina (**11**) e *N-trans*-feruloiltiramina (**12**).

Em *C. rupestris* foram isolados, a partir do extrato hexânico das folhas, quatro substâncias: uma mistura de esteróide e diterpeno: sitosterol+*E*-fitol (**4+13**) e dois novos diterpenos clerodânicos: casearupestrina B (**16**) e casearupestrina D (**18**). Da fase hexânica oriunda do extrato etanólico das folhas foi isolado o diterpeno *E*-fitol (**13**) e da fase etérea também obtida do extrato etanólico das folhas foram isolados cinco diterpenos clerodânicos inéditos: casearupestrina A (**14**), B (**16**), C (**17**), D (**18**) e G (**15**). A partir de **14** e **18** foram obtidos, por acetilação, mais dois diterpenos inéditos: casearupestrina E (**14a**) e F (**18a**).

De *C. decandra* foi isolada a hidroquinona (**19**) a partir das fases hexânica, acetato de etila e hidroalcoólica, todas obtidas do extrato etanólico das folhas.

As análises dos espectros de NOESY 1D e 2D, juntamente com análises comparativas entre as curvas de DC e os espectros de absorção na região do UV, das substâncias **8** e **9** evidenciaram de forma inequívoca as estereoquímicas relativa

e absoluta destes compostos, bem como a estereoquímica relativa dos demais diterpenos clerodânicos **5-7** e **14-18**.

De *C. gossypiosperma* ressaltar-se a grande quantidade isolada do flavonóide **1** a partir do extrato etanólico, que responde por 10% da constituição química deste extrato.

A partição dos extratos etanólicos de *C. obliqua* e *C. rupestris* resultou no isolamento de diterpenos clerodânicos a partir da fase etérea enriquecida nestes constituintes, mais uma vez corroborando a presença desta classe de compostos no gênero *Casearia*. Vale ressaltar o padrão distinto dos diterpenos clerodânicos isolados, que em *C. obliqua* apresentaram substituintes aromáticos e em *C. rupestris* apresentaram substituintes alifáticos.

A substância **19** isolada de *C. decandra* apresentou atividade antioxidante significativa, porém inferior a dos padrões. A atividade antioxidante apresentada pelos extratos e frações pode ser atribuída à presença da hidroquinona (**19**). A presença de hidroquinona em material vegetal gera grande interesse, pois esta vem sendo utilizada na indústria de cosméticos, e, estudos clínicos demonstram benefício terapêutico no tratamento de melasma, sardas, lentigines e outras desordens de hiperpigmentação da cútis (GARCIA et. al., 2005). Por outro lado, estudos demonstram seu potencial mutagênico *in vitro* e *in vivo*, devido provavelmente a interações com proteínas do fuso mitótico (McGREGOR, 2007). Em virtude do exposto é fundamental a identificação correta das espécies *C. decandra* e *C. sylvestris* quando da obtenção de material vegetal para uso medicinal, no sentido de evitar efeitos tóxicos, pois estas são morfologicamente semelhantes.

O perfil fitoquímico dos extratos hexânicos por CG-FID mostrou-se uma técnica rápida e simples que não requer pré-derivatização para análises de triterpenos e esteróides em matrizes complexas. Os resultados mostraram que o esteróide sitosterol (**4**) está presente em todos os extratos analisados, demonstrando que o perfil químico das quatro espécies de *Casearia* apresentou pequenas diferenças na composição terpênica e esteroidal.

A avaliação da atividade anticolinesterásica dos extratos por bioautografia apresentou resultados interessantes para os extratos etanólico e aquoso das folhas de *C. gossypiosperma*, resultando no isolamento de **1** em ambos os extratos, a qual apresentou percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase de 78%.

A atividade antifúngica frente a patógenos humanos, resultou no isolamento da substância **14** que mostrou-se ativa frente a *C. albicans* com CIM de $1,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ que é menor que os controles positivos fluconazol ($2,00 \mu\text{g mL}^{-1}$) e anfotecina B ($2,00 \mu\text{g mL}^{-1}$) e também contra *C. krusei* e *C. neoformans* com valores de CIM de $3,90 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $0,48 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, quando comparado ao controle positivo fluconazol ($64,0$ e $4,00 \mu\text{g mL}^{-1}$). A substância **19** também apresentou potente atividade antifúngica frente as cepas de *C. krusei* (CIM $31,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *C. neoformans* (CIM $1,95 \mu\text{g mL}^{-1}$) quando comparadas ao controle positivo fluconazol que apresenta CIM $64,0$ e $4,00 \mu\text{g mL}^{-1}$ frente a *C. krusei* e *C. neoformans*, respectivamente. Já na atividade antifúngica contra fitopatógenos, as substâncias **1** e **19** mostraram-se ativas frente as cepas de *C. cladosporioides* e *C. sphaerospermum*, nas concentrações de 100 e $5 \mu\text{g } 10\mu\text{L}^{-1}$, respectivamente.

Os resultados citotóxicos mostraram que as substâncias **5-8**, **14-19**, **14a** e **18a** apresentaram citotoxicidade, confirmando esse potencial dos diterpenos clerodânicos (KANOKMEDHAKUL et al., 2005; VIEIRA JUNIOR et al., 2009). Ressalta-se que as substâncias **5+6**, **14** e **15** foram mais potentes que o controle positivo doxorubicina contra algumas linhagens de células tumorais.

Em virtude do exposto acima, este trabalho poderá servir de referência na compreensão sobre a composição, ocorrência e distribuição de diterpenos clerodânicos no gênero *Casearia*, bem como em estudos metabolômicos posteriores.

7. DADOS ESPECTROMÉTRICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E DERIVADOS

(+)-Taxifolina (1)

Sólido amorfo amarelo; $[\alpha]_D^{22} = +20^\circ$ (c 0,1, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ); 293 (1,76); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3398, 1641, 1458, 1365, 1259, 1164, 1080, 995; dados de RMN ^1H e ^{13}C em conformidade com os descritos na literatura (AGRAWAL, 1989; KIM et al., 2003) (Tabela 4); EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 305,0510 $[\text{M-H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ - H: m/z 305,0510).

***rel*-(2R, 3S, 4R, 5R)-3,4,5-Triidroxi-2-etóxi-ciclohexanona (2)**

Sólido amorfo amarelo; $[\alpha]_D^{26} = +12^\circ$ (c 0,1, MeOH); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3404, 2931, 1741, 1633, 1119, 1058; dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabela 5, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 229,0663 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (100) (calculado para $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_5\text{K}$: m/z 229,0472).

Quercetina (3)

Sólido amorfo amarelo; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ); 293 (1,55), 370 (1,55); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3290, 1629, 1518, 1369, 1165; dados de RMN ^1H ver Tabela 6, dados de RMN ^{13}C em conformidade com os descritos na literatura (AGRAWAL, 1989) (Tabela 6); EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 301,0354 $[\text{M-H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_7$ - H: m/z 301,0353).

Sitosterol (4)

Sólido amorfo branco; $[\alpha]_D^{30} = -28^\circ$ (c 0,1, CHCl_3); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3429, 2956, 2935, 2866, 1463, 1380, 1056; dados de RMN ^{13}C em conformidade com os descritos na literatura (DE-EKNAMKUL; POTDUANG, 2003) (Tabela 7).

**(rel)-6 β -Hidroxizuelanina-2 β -benzoato + (rel)-2 α -Hidroxizuelanina-6 β -benzoato
(5+6)**

Sólido amorfo amarelo claro; $[\alpha]_D^{30} = +70^\circ$ (c 0,1, CHCl₃); UV $\lambda_{\max}^{CHCl_3}$ nm (log ϵ): 243 (4,12); IV ν_{\max} cm⁻¹ (KBr): 3440, 2965, 2927, 1751, 1715, 1450, 1377, 1270. 1228, 1105, 715; dados de RMN ¹H em conformidade com os descritos na literatura (KHAN et al., 1990b) (Tabela 12), dados de RMN ¹³C ver Tabela 12; EM-ESI-AR, *m/z* (int. rel.): 577,2199 [M+K]⁺ (100) (calculado para C₃₁H₃₈O₈K: *m/z* 577,2198).

2 β -Hidroxizuelanina-6 β -cinamato (7)

Sólido amorfo amarelo claro; $[\alpha]_D^{30} = +66^\circ$ (c 0,1, CHCl₃); DC (c 0,03, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +20 (239), +9,6 (282); UV $\lambda_{\max}^{CHCl_3}$ nm (log ϵ): 239 (3,80), 282 (4,0); IV ν_{\max} cm⁻¹ (KBr): 3440, 2921, 1716, 1637; dados de RMN ¹H e ¹³C em conformidade com os descritos na literatura (KHAN et al., 1990c) (Tabela 14); EM-ESI-AR, *m/z* (int. rel.): 603,2521 [M+K]⁺ (100) (calculado para C₃₃H₄₀O₈K: *m/z* 603,2354).

Caseobliquina A (8)

Sólido amorfo amarelo claro; $[\alpha]_D^{25} = +52^\circ$ (c 0,1, MeOH); DC (c 0,03, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +4,5 (241), +2,4 (280); UV $\lambda_{\max}^{CHCl_3}$ nm (log ϵ): 241 (3,48), 280 (3,50); IV ν_{\max} cm⁻¹ (KBr): 3436, 2962, 2927, 1735, 1714, 1608, 1375, 1272, 1232, 1099; dados de RMN ¹H e ¹³C ver Tabela 10; EM-ESI-AR, *m/z* (int. rel.): 619,2512 [M+Na]⁺ (100) (calculado para C₃₃H₄₀O₁₀Na: *m/z* 619,2513).

Caseobliquina B (9)

Sólido amorfo amarelo claro; $[\alpha]_D^{29} = +51^\circ$ (c 0,05, CHCl₃); UV $\lambda_{\max}^{CHCl_3}$ nm (log ϵ): 241 (3,48), 280 (3,50); dados de RMN ¹H e ¹³C ver Tabelas 16; EM-ESI-AR, *m/z* (int. rel.): 629,2747 [M+Na]⁺ (100) (calculado para C₃₅H₄₂O₉Na: *m/z* 629,2721).

Ácido cinâmico (10)

Sólido amorfo amarelo; UV $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ nm (log ϵ): 268 (3,97); dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabelas 18; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 147,0451 $[\text{M-H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$ - H: m/z 147,0451).

N-trans-p-Cumaroiltiramina (11)

Sólido amorfo amarelo claro; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 225 (4,08), 290 (4,03); IV $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$ (KBr): 3407, 2923, 1593, 1415, 1383, 1225; dados de RMN ^1H e ^{13}C em conformidade com os descritos na literatura (KIM; LEE, 2003) (Tabela 19); EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 282,1135 $[\text{M-H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ - H: m/z 282,1135).

N-trans-Feruloiltiramina (12)

Sólido amorfo amarelo claro; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 224 (4,54), 320 (4,45); IV $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$ (KBr): 3408, 2923, 1593, 1512, 1425, 1266; dados de RMN ^1H e ^{13}C em conformidade com os descritos na literatura (EFDI et al., 2007) (Tabela 20); EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 312,1240 $[\text{M-H}]^-$ (100) (calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_4$ - H: m/z 312,1241).

E-Fitol (13)

Óleo incolor; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +12^\circ$ (c 0,1, CHCl_3); IV $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$ (KBr): 3363, 2928, 2865, 1673, 1463, 1381, 1004; dados de RMN ^{13}C em conformidade com os descritos na literatura (RAHMAN; AHMAD, 1992) (Tabela 21); EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 319,2973 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (80) (calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{ONa}$ - H: m/z 319,2971).

Casearupestrina A (14)

Sólido amorfo branco; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +4,3^\circ$ (c 0,1, CHCl_3); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) 223 (1,40), 268 (1,50); DC (c 0,02, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +6,5 (223), +6,6 (268); IV $\nu_{\max} \text{ cm}^{-1}$ (KBr): 3434, 2959, 2932, 1746, 1378, 1230, 1028; dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabela 22, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 623,3190 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100) (calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_9\text{Na}$ - H: m/z 623,3190).

Casearupetrina E (14a)

Óleo incolor; $[\alpha]_D^{25} = +56^\circ$ (c 0,1, MeOH); UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) 223 (1,43), 268 (1,60); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3454, 2953, 1752, 1374, 1227, 1026; dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabelas 23, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 707,3401 (100) $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{O}_{11}\text{Na}$, 707,3401).

Casearupetrina G (15)

Sólido amorfo branco; $[\alpha]_D^{24} = +8^\circ$ (c 0,1, CHCl_3); UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) 223 (1,40), 268 (1,50); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3445, 2928, 1742, 1640, 1382, 1232, 1031; dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabela 28, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 695,3739 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (100) (calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_8\text{K} - \text{H}$: m/z 695,3668).

Casearupetrina B (16)

Sólido amorfo branco; $[\alpha]_D^{24} = +76^\circ$ (c 0,1, CHCl_3); UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) 223 (1,48), 268 (1,55); DC (c 0,03, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +5,4 (223), +6,0 (268); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3436, 1746, 1712, 1636, 1177, 1000, 900; dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabelas 24, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 623,3206 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100) (calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_9\text{Na}$, 623,3190).

Casearupetrina C (17)

Sólido amorfo branco; $[\alpha]_D^{20} = +72^\circ$ (c 0,1, CHCl_3); UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) 223 (1,43), 268 (1,48); DC (c 0,03, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +5,2 (223), +5,7 (268); IV ν_{\max} cm^{-1} (KBr): 3436, 1.45, 1714, 1636, 1178, 1001, 897; dados de RMN ^1H e ^{13}C ver Tabela 25, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 595,3241 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100) (calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{Na}$, 595,3241).

Casearupetrina D (**18**)

Sólido amorfo branco; $[\alpha]_D^{25} = +81^\circ$ (c 0,1, CHCl₃); UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) 223 (1,70), 268 (1,80); DC (c 0,04, MeOH) $\Delta\epsilon$ (nm) +5,2 (223), +5,0 (268); IV ν_{\max} cm⁻¹ (KBr): 3446, 1746, 1225, 1029, 905; dados de RMN ¹H e ¹³C ver Tabela 26, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 665,3297 [M+Na]⁺ (100) (calculado para C₃₆H₅₀O₁₀Na, 665,3296).

Casearupetrina F (**18a**)

Óleo incolor; $[\alpha]_D^{25} = +99^\circ$ (c 0,1, MeOH); UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ) 223 (1,40), 268 (1,55); IV ν_{\max} cm⁻¹ (KBr): 3455, 2953, 1750, 1374, 1227, 1026; ¹H and ¹³C NMR (CD₃OD) dados de RMN ¹H e ¹³C ver Tabela 27, respectivamente; EM-ESI-AR, m/z (int. rel.): 707,3401 [M+Na]⁺ (100) (calculado para C₃₈H₅₂O₁₁Na, 707,3401).

Hidroquinona (**19**)

Sólido amorfo amarelo; UV λ_{\max}^{MeOH} nm (log ϵ): 293 (1,38); IV ν_{\max} cm⁻¹ (KBr): 3145, 1516, 1463, 1186, 761.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, P. K. **Carbon-13 of flavonoids**. Amsterdam: Elsevier, 1989. 564 p.
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, n. 141, p. 399-436, 2003.
- AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH (Germany). S. Bal-Tembe; K. E. K. S. Vijaya; D. V. Bhagwan; J. K. Sanjay. **Isolation of 18 β ,19 β -diacetoxy-18 β ,19 β -epoxy-3,13(16),14-clerodatrien-2-one (esculentin A) and 18 α ,19 α -diacetoxy-18 α ,19 α -epoxy-3,12,14-clerodatrien-2 β -isovaleryloxy-6 β ,7 α -diol (esculentin B) from the Samydaceae family, particularly *Casearia esculenta* and their medicinal use**. EP 0916663A1, 12 Nov. 1998, 19 May 1999.
- BERRIDGE, M. V.; TAN, A. S.; McCOY, K. D.; WANG, R. The biochemical and cellular basis of cell proliferation assays that use tetrazolium salts. **Biochemica**, v. 4, p. 14-19, 1996.
- BEUTLER, J. A.; McCALL, K. L.; HERBERT, K.; JOHNSON, T.; SHOEMAKER, R. H.; BOYD, M. R. Cytotoxic clerodane diterpenes esters from *Laetia procera*. **Phytochemistry**, v. 55, n. 3, p. 233-236, 2000a.
- BEUTLER, J. A.; McCALL, K. L.; HERBERT, K.; HERALD, D. L.; PETTIT, G. R.; JOHNSON, T.; SHOEMAKER, R. H.; BOYD, M. R. Novel cytotoxic diterpenes from *Casearia arborea*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 1, p. 657-661, 2000b.
- BLÄS, B.; ZAPP, J.; BECKER, H. *ent*-Clerodane diterpenes and other constituents from the livewort *Adelanthus lindenbergianus* (Lehm.) Mitt. **Phytochemistry**, v. 65, p.127-137, 2004.
- BRETELIER, F. J. A synopsis of *Casearia* Jacq. (Samydeae – Salicaceae) in West and Central Africa with a description of a new species from Eastern Congo (Kinshasa). **Kew Bulletin**, v. 63, p. 101-112, 2008.
- CARVALHO, P. R. F.; FURLAN, M.; YOUNG, M. C. M.; KINGSTON, D. G. I.; BOLZANI, V. da S. Acetylated DNA-damage clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 6, p. 1659-1662, 1998.

CHASE, M. W.; ZMARTZTY, S.; LLEDÓ, M. D.; WURDACK, K. J.; SWENSEN, S. M.; FAY, M. F. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid *rbcL* DNA sequences. **Kew Bulletin**, n. 57, p. 141-181, 2002.

CHANG, K-C.; DUH, C-Y.; CHEN, I-S.; TSAI, I-L. A cytotoxic butenolide, two new dolabellane diterpenoids, a chroman and a benzoquinol derivative from Formosan *Casearia membranacea*. **Planta Medica**, v. 69, n. 7, p. 667-672, 2003.

CHEN, C-Y.; CHENG, Y-B.; CHEN, S-Y.; CHIEN, C-T.; KUO, Y-H.; GUH, J-H.; KHALIL, A. T.; SHEN, Y-C. New bioactive clerodane diterpenoids from the roots of *Casearia membranacea*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 5, p. 162-167, 2008.

CHEN, T. B.; WIEMER, D. F. Corymbotins A-I: highly oxidized kolovane derivatives from *Casearia corymbosa*. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 6, p. 1612-1618, 1991.

CREME à base de erva combate herpes labial. **Jornal da UNICAMP**, p. 8, 14 a 27 nov. 2005.

DE-EKNAMKUL, W.; POTDUANG, B. Biosynthesis of β -sitosterol and stigmasterol in *Croton sublyratus* proceeds via a mixed origin of isoprene units. **Phytochemistry**, v. 62, n. 3, p. 389-398, 2003.

EFDI, M.; ITOH, T.; AKAO, Y.; NOZAWA, Y.; KOKETSU, M.; ISHIHARA, H. The isolation of secondary metabolites and *in vitro* potent anti-cancer activity of clerodermic acid from *Enicosanthum membranifolium*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 3667-3671, 2007.

ESPÍNDOLA, L. S.; VASCONCELOS JUNIOR, J. R.; MESQUITA, M. L.; MARQUIE, P.; PAULA, J. E.; MAMBU, L.; SANTANA, J. M. Trypanocidal activity of a new diterpene from *Casearia sylvestris* var. *lingua*. **Planta Medica**, v. 70, n. 11, p. 1093-1095, 2004.

ESTEVEES, I.; SOUZA, I. R.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. G. V.; SANTOS, L. S.; SERTIÈ, J. A. A.; PERAZZO, F. F.; LIMA, L. M.; SCHNEEDORF, J. M.; BASTOS, J. K.; CARVALHO, J. C. T. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 191-196, 2005.

ETSE, J. T.; GRAY, A. I.; THOMAS, D. W.; WATERMAN, P. G. Terpenoid and alkaloid compounds from the seeds of *Monodora brevipes*. **Phytochemistry**, v. 28, n. 9, p. 2489-2492, 1989.

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA NO ESTADO DE SÃO PAULO;
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO; UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (Brasil).
J. A. A. Sertié; R. G. Woisky; A. J. Cavalheiro; V. S. Bolzani; A. G. Santos; A. G. Tininis. **Processo de obtenção de extratos de *Casearia sylvestris*, processos de obtenção de frações ativas, extratos, frações ativas, uso de extratos e frações ativas, composição, unidade de dosagem, método para prevenir, tratar, combater ou suspender distúrbios gastrointestinais, medicamento e princípio ativo**. PI 0306167-1, 18 dez. 2003, 27 mar. 2007.

GARCIA, P. L.; SANTORO, M. I. R. M.; KEDOR-HACKMAN, E. R. M.; SINGH, A. K. Development and validation of a HPLC and a UV derivative spectrophotometric methods for determination of hydroquinone in gel and cream preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 764-768, 2005.

GEIS, W.; BUSCHAUER, B.; BECKER, H. *cis*-Clerodanes from axenic cultures of the liverwort *Scapania nemorea*. **Phytochemistry**, v. 51, n. 5, p. 643-649, 1999.

GIBBONS, S.; GRAY, A. I.; WATERMAN, P. G. Clerodane diterpenes from the bark of *Casearia tremula*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 2, p. 565-570, 1996.

GUITTET, E.; STOVEN, V.; LALLEMAND, J.; RAMIANDRASOA, F.; KUNESCH, G. Pitumbin, a novel kolavene acylal from *Casearia pitumba* Pleumer. **Tetrahedron**, v. 44, n. 10, p. 2893-2901, 1988.

GUNASEKERA, S. P.; SULTANBAWA, M. U. S.; BALASUBRAMANIAM, S. Triterpenes of some species of *Flacourtiaceae*. **Phytochemistry**, v. 16, n. 6, p. 788-789, 1977.

HAYASHI, K-I.; NAKANISHI, Y.; BASTOW, K. F.; CRAHH, G.; NOZAKI, H.; LEE, K-H. Antitumor agents. Part 212 – Bucidasins A-C, three new cytotoxic clerodane diterpenes from *Bucida buceras*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, p. 345-348, 2002.

HOMANS, A. L.; FUNCHS, A. Direct bioautography on thin-layer chromatograms as a method to detecting fungitoxic substances. **Journal of Chromatography**, v. 51, p. 327-331, 1970.

HUNTER, M. S.; CORLEY, D. G.; CARRON, C. P.; ROWOLD, E.; KILPATRICK, B. F.; DURLEY, R. C. Four new clerodane diterpenes from the leaves of *Casearia guianensis* which inhibit the interaction of leukocyte function antigen 1 with intercellular adhesion molecule 1. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 9, p. 894-899, 1997.

ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; IITAKA, Y.; SCHENKEL, E. P.; MOTIDOME, M. Antitumor principles from *Casearia sylvestris* Sw. (*Flacourtiaceae*), structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 3384-3388, 1990.

JULLIAN, V.; BONDUELLE, C.; VALENTIN, A.; ACEBEY, L.; DUIGOU, A-G.; PRÉVOST, M-F.; SAUVAIN, M. New clerodane diterpenoids from *Laetia procera* (Poepp.) Eichler (*Flacourtiaceae*), with antiplasmodial and antileishmanial activities. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, p. 5065-5070, 2005.

KANOKMEDHAKUL, S.; KANOKMEDHAKUL, K.; BUAYAIRAKSA, M. Cytotoxic clerodane diterpenoids from fruits of *Casearia grewiifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 7, p. 1122-1126, 2007.

KANOKMEDHAKUL, S.; KANOKMEDHAKUL, K.; KANARSA, T.; BUAYAIRAKSA, M. New bioactive clerodane diterpenoids from the bark of *Casearia grewiifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 2, p. 183-188, 2005.

KHAN, M. R.; GRAY, A. I.; WATERMAN, P. G. Clerodane diterpenes from *Zuelania guidonia* stem bark. **Phytochemistry**, v. 29, n. 9, p. 2939-2942, 1990.

KHAN, M. R.; GRAY, A. I.; SADLER, I. H.; WATERMAN, P. G. Clerodane diterpenes from *Casearia corymbosa* stem bark. **Phytochemistry**, v. 29, n. 11, p. 3591-3595, 1990a.

KHAN, M. R.; GRAY, A. I.; REED, D. R.; SADLER, I. H.; WATERMAN, P. G. Diterpenes from *Zuelania guidonia*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 5, p. 1609-1614, 1990b.

KIM, D. K.; LEE, K. Inhibitory effect of *trans*-N-*p*-coumaroyl tryamine from the twigs of *Celtis chinensis* on the Acetylcholinesterase. **Archives of Pharmacal Research**, v. 26, n. 9, p. 735-738, 2003.

KIM, N. C.; GRAF, T. N.; SPARACINO, C. M.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 1, p. 1684-1689, 2003.

KIRIN BREWERI (Japan). H. Itokawa. **Isolation of diterpenes as antitumor agents from Plants**. JP 01.149.779, 05 Dec. 1987, 12 June 1989.

KLEIN, R.M.; SLEUMER, H.O. Flacourtiáceas. In: REITZ, R. **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí: [S.n.], 1984. p.1-96.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 220-221.

MARQUETE, R. Reserva ecológica do IBGE (Brasília-DF): Flacourtiaceae. **Rodriguésia**, v. 52, n. 80, p. 5-16, 2001.

MARSTON, A.; KISSLING, J.; HOSTETTMANN, K. A rapid TLC bioautographic method for the detection of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors in plants. **Phytochemical Analysis**, v. 13, p. 51-54, 2002.

MATILDA, A. K.; ROSSI, M. E.; BLUMENTHAL, E. E. A.; SCHUQUEL, J. T. A.; MALHEIROS, A.; VIDOTT, G. S. 3β -O- β -D-Glucopyrnosylsitosterol in Species of *Labiatae*, *Verbenaceae* and *Apocynaceae*. **Anais da Associacao Brasileira de Quimica**, v. 43, p. 147-150, 1996.

McGREGOR, D. Hydroquinone: an evaluation of the human risks from its carcinogenic and mutagenic properties. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 37, p. 887-914, 2007.

MIN, B-S.; LEE, S-Y.; KIM, J-H.; LEE, J-K.; KIM, T-J.; KIM, D-H.; KIM, Y-H.; JOUNG, H.; LEE, H-K.; NAKAMURA, N.; MIYASHIRO, H.; HATTORI, M. Anti-complement activity of constituents from the stem-bark of *Juglans mandshurica*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, p. 1042-1044, 2003.

MOREIRA, D. L.; LEITÃO, S. G.; GONÇALVES, J. L. S.; WIGG, M. D.; LEITÃO, G. G. Antioxidant and antiviral properties of *Pseudopiptadenia contorta* (LEGUMINOSAE) and of quebracho (*Schinopsis* sp.) extracts. **Quimica Nova**, v. 28, n. 3, p. 421-425, 2005.

MORITA, H.; NAKAYAMA, M.; KOJIMA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H.; SCHENKEL, E. P.; MOTIDOME, M. Structures and cytotoxic activity relationship of casearins, new clerodane diterpenes from *Casearia sylvestris* Sw. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 3, p. 693-697, 1991.

MOSADDIK, M. A.; WATERMAN, P. G. A sesquiterpene, clerodane diterpenes and a furanone from the roots of *Casearia multinervosa* (Flacourtiaceae/ Salicaceae).

Natural Products Communications, v. 1, n. 8, p. 601-607, 2006a.

MOSADDIK, M. A.; FORSTER, P. I.; BOOTH, R.; WATERMAN, P. G. New clerodane and halimane diterpenes from the leaves and woody stems of *Casearia grayi* (Flacourtiaceae/ Salicaceae). **Natural Products Communications**, v. 1, n. 6, p. 441-448, 2006b.

MOSADDIK, M. A.; FORSTER, P. I.; BOOTH, R.; WATERMAN, P. G. Clerodane diterpenos from the stems of *Casearia grewiifolia* var. *gelonioides* (Flacourtiaceae/Salicaceae *sensu lato*). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p. 631-633, 2007a.

MOSADDIK, M. A.; FORSTER, P. I.; BOOTH, R.; WATERMAN, P. G. Phenolic glycosides from some Australian species of Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, p.166-168, 2007b.

MOSSMAN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Immunology Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

NAPOLITANO, D. R.; MINEO, J. R.; SOUZA, M. A.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S.; ESPÍNDOLA, F. S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p. 37-41, 2005.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS.

Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters: approved guideline M23-A. Pennsylvania: Villanova, 1994.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast**.

Pennsylvania: Villanova, 1997.

NOGUEIRA, R. T.; SHEPERD, G. J.; LAVERDE JÚNIOR, A.; MARSAIOLI, A. J.; IMAMURA, P. M. Clerodane-type diterpenes from the seed pods of *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa*. **Phytochemistry**, v. 58, n. 8, p. 1153-1157, 2001.

OBERLIES, N. H.; BURGESS, J. P.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Bioactive constituents of the roots of *Licania intrapetiolares*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 4, p. 497-501, 2001.

OBERLIES, N. H.; BURGESS, J. P.; NAVARRO, H. A.; PINOS, R. E.; FAIRCHILD, C. R.; PETERSON, R. W.; SOEJARTO, D. D.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; WANI, M. C.; WALL, M. E. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.

OLIVEIRA, A. M.; SANTOS, A. G.; SANTOS, R. A.; CSIPAK, A. R.; OLIVATO, C.; SILVA, I. C.; FREITAS, M. B.; BASSI, C. L.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S. SILVA, D. H. S.; SAKAMOTO-HOJO, E. T.; TAKAHASHI, C. S.; SOARES, C. P. Ethanol extract of *Casearia sylvestris* and its clerodane diterpen (caseargrewiin F) protect against DNA damage at low concentrations and cause DNA damage at high concentrations in mice's blood cells. **Mutagenesis**, v. 24, n. 6, p. 501-506, 2009.

PRAKASH, C. V. S.; HOCH, J. M.; KINGSTON, D. G. I. Structure and stereochemistry of new cytotoxic clerodane diterpenoids from the bark of *Casearia lucida* from the Madagascar rainforest. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 100-107, 2002.

RAHMAN, A-U.; AHMAD, V. U. **¹³C-NMR of natural products: diterpenes**. New York: Plenum Press, 1992. v. 2, 957 p.

RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; DUARTE, D. S.; BORGES, M. H.; LIMA, M. E. Anti-PLA2 action test of *Casearia sylvestris* Sw. **Bolletín Chimie et Farmacie**, v. 141, n. 6, p. 457-460, 2002.

REGASINI, L. O.; VIEIRA JÚNIOR, G. M.; FERNANDES, D. C.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J.; SILVA, D. H. S. Identification of triterpenes and sterols from *Pterogyne nitens* (Fabaceae-Caesalpinioideae) using high-resolution gas chromatography. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 54, n. 3, p. 218-221, 2009.

SANTOS, A. G.; PEREZ, C. C.; TININIS, A. G.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Swartz. **Química Nova**, v. 30, n. 30, p. 1100-1103, 2007.

SANTOS, A. G.; FERREIRA, P. M. P.; VIEIRA JÚNIOR, G. M.; PEREZ, C. C.; TININIS, A. G.; BOLZANI, V. S.; LOTUFO, L. V.; PESSOA, C. O.; CAVALHEIRO, A. J. Casearin U, its degradation product and other clerodane diterpenes from leaves of *Casearia sylvestris*: evaluation of cytotoxicity against normal and tumour human cells. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, p. 205-215, 2010.

SCHOENFELDER, T.; PICH, C. T.; GEREMIAS, R.; ÁVILA, S.; DAMINELLI, E. N.; PEDROSA, R. C.; BETTIOL, J. Antihyperlipidemic effect of *Casearia sylvestris* methanolic extract. **Fitoterapia**, v. 79, p. 465-467, 2008.

SERTIÉ, J. A. A.; CARVALHO, J. C. T.; PANIZZA, S. Antiulcer activity of the crude extract from the leaves of *Casearia sylvestris*. **Pharmaceutical Biology**, v. 38, n. 2, p. 112-119, 2000.

SHAARI, K.; WATERMAN, P. G. Podophyllotoxin-type lignans as major constituents of the stems and leaves of *Casearia clarkei*. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 6, p. 720-724, 1994.

SHEN, Y-C.; WANG, L-T.; WANG, C-H.; KHALIL, A. T.; GUH, J-H. Two new cytotoxic clerodane diterpenoids from *Casearia membranacea*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 1, p. 108-110, 2004a.

SHEN, Y-C.; WANG, C-H.; CHENG, Y-B.; WANG, L-T.; GUH, J-H.; CHIEN, C-T.; KHALIL, A. T. New cytotoxic clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia membranacea*. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 3, p. 316-321, 2004b.

SHEN, Y-C.; CHENG, Y-B.; CHEN, Y-H.; KHALIL, A. T.; KO, C-L. Three new clerodane diterpenes derivatives from *Casearia membranacea*. **Journal of Chinese Chemical Society**, v. 52, n. 6, p. 1263-1268, 2005a.

SHEN, Y-C.; LEE, C. L.; KHALIL, A. T.; CHENG, Y-B.; CHIEN, C-T.; KUO, Y-H. New clerodane diterpenoids from *Casearia membranacea*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 88, n. 1, p. 68-77, 2005b.

SHEN, Y-C.; CHENG, Y-B.; AHMED, A. F.; CHENG, L. L.; CHEN, S-T.; CHIEN, C-T.; KUO, Y-H.; TZENG, G-L. Cytotoxic clerodane diterpenoids from *Casearia membranacea*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 11, p. 1665-1668, 2005c.

SILVA, A. C.; BALZ, D.; SOUZA, J. B. D.; MORSCH, V. M.; CORRÊA, M. C.; ZANETTI, G. D.; MANFRON, M. P.; SCHETINGER, M. R. C. Inhibition of NTPDase, 5'-nucleotidase, Na⁺/K⁺-ATPase and acetylcholinesterase activities by subchronic treatment with *Casearia sylvestris*. **Phytomedicine**, v. 13, p. 509-514, 2006.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; DAMICO, D. C. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Antimicrobial activity of ethanol extract from leaves of *Casearia sylvestris*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 5, p. 347-351, 2008.

SLEUMER, H. O. **Flacourtiaceae**: flora neotropica. New York: The New York Botanic Garden, 1980. p. 373, 384-385, 388-389.

TALAPATRA, S. K.; CANGULY, N. C.; GOSWAMI, S.; TALAPATRA, B. Chemical constituents of *Casearia graveolens*: some novel reactions and the preferred molecular conformation of the major coumarin, micromelin. **Journal of Natural Products**, v. 46, n. 3, p. 401-408, 1982.

TININIS, A. G. **Desenvolvimento, otimização, validação e utilização de métodos de extração e análise de casearinas em *Casearia sylvestris* Sw.** 2006. 182 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

VIEIRA JÚNIOR, G. M.; GONCALVES, T. O.; RAGASINI, L. O.; FERREIRA, P. M. P.; PESSOA, C. do Ó.; LOTUFO, L. V.; TORRES, R. B.; BORALLE, N.; BOLZANI, V. S.; CAVALHEIRO, A. J. Cytotoxic clerodane diterpenoids from *Casearia obliqua*. **Journal of Natural Products**. v. 72, p. 1847-1850, 2009.

VIJAYAKUMAR, E. K. S.; BAL-TEMBE, S.; JOSHI, K. S.; DEORE, V. B. Esculentins A & B, two new diterpenes from *Casearia esculenta*. **Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry**, v. 41B, n. 12, p. 2706-2708, 2002.

YAMASHITA, C. I.; SAIKIA, M.; VASCONCELLOSA, M. B. A.; SERTIÉ, J. A. A. Characterization of trace elements in *Casearia* medicinal plant by neutron activation analysis. **Applied Radiation Isotopes**, v. 63, p. 841-846, 2005.

WANG, W.; LI, X. C.; ZULFIQAR, A.; KHAN, I. A. Two New C13 *nor*-Isoprenoids from the Leaves of *Casearia sylvestris*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 6, p. 636-638, 2009a.

WANG, W.; ZULFIQAR, A.; LI, X. C.; KHAN, I. A. Clerodane and *ent*-kaurane diterpene glycosyl and glycoside derivatives from the leaves of *Casearia sylvestris*. **Helvetica Chimica Acta**, v. 92, p. 1829-1838, 2009b.

WANG, W.; ZHAO, J.; WANG, Y. H.; SMILLIE, T. A.; LI, X. C.; KHAN, I. A. Diterpenoids from *Casearia sylvestris*. **Planta Medica**, v. 75, p. 1436-1441, 2009c.

WANG, W.; ZULFIQAR, A.; LI, X. C.; SMILLIE, T. A.; GUO, D. A.; KHAN, I. A. New clerodane diterpenoids from *Casearia sylvestris*. **Fitoterapia**, v. 80, p. 404-407, 2009d.

WANG, W.; ZULFIQAR, A.; LI, X. C.; KHAN, I. A. Neolignans from the Leaves of *Casearia sylvestris* Swartz. **Helvetica Chimica Acta**, v. 93, p. 139-146, 2010.

WENIGER, B.; HAAG-BERRURIER, M.; ROHMER, M.; ANTON, R. Some constituents of *Casearia ilicifolia* Vent. **Planta Medica**, v. 33, n. 2, p. 170-172, 1978.

WILLIAMS, R. B.; NORRIS, A.; MILLER, J. S.; BIRKINSHAW, C.; RATOVOSON, F.; ANDRIANTSIFERANA, R.; RASAMISON, V. E.; KINGSTON, D. G. I. Cytotoxic clerodane diterpenoids and their hydrolysis products from *Casearia nigrescens* from the Rainforest of Madagascar. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 2, p. 206-209, 2007.