Liss Maristhane Mineiro Matos

Química de espécies nativas de *Croton* L.
(Euphorbiaceae)

Chemical screening of brazilian *Croton* L.
(Euphorbiaceae) species

Química de espécies nativas de *Croton* L. (Euphorbiaceae)

São Paulo

2011

Liss Maristhane Mineiro Matos

Química de espécies nativas de *Croton* L.
(Euphorbiaceae)

Chemical screening of brazilian *Croton* L.
(Euphorbiaceae) species

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo,
para a obtenção de Título de
Mestre em Ciências, na Área de
Botânica.

Orientador(a): Prof. Dr. Antonio Salatino

São Paulo

2011

Ficha Catalográfica

Matos, Liss Maristhane Mineiro

Química de espécies nativas de
Croton L. (Euphorbiaceae)

Número de páginas 123 p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Botânica.

1. *Croton* 2. química 3. flavonóides
I. Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Antonio Salatino

Orientador

Dedicatória

Para Dezée, Joana, José, Daltiva
e nossos ancestrais.
Para Marlies e Nadim.

Epígrafe

(about knowledge of drugs and their natural sources)

“What is the future for this ancient science? Science?

In many cultures it was, and still is,

an art.”

Cordell, G. A.

“The conventional wisdom 30, 40 years ago was that these things had no real function,

they were physiological noise, but that’s a very naive understanding... and what we

now understand is that secondary compounds are, in a sense,

the language of the plants.”

McKenna, D.

Agradecimentos

Que delícia é poder agradecer.

Gratidão imensa ao Professor Salatino, pela orientação, paciência, respeito e pelas conversas infundáveis sobre tudo, de isoflavonóides a Moisés, de Puccini a cladística, passando pela “miracle fruit”, os limões cotidianos, a ciência, a vida após a morte.

À professora Maria Luiza Faria Salatino, pelo apoio, carinho e atenção. Pelos abraços acolhedores, por me mostrar um lugar pra ocupar.

À família cajuibana, Martha, Roberta e Mia, pelas inspirações e pelo amor. Aos novos Mona e Gandhi e à veterana Lucinda.

A CAPES pela bolsa e FAPESP pelo apoio ao projeto.

À Giuseppina Negri, pelo carinho, pelos ensinamentos tantos e pela paciência em responder minhas perguntas com enorme generosidade e doçura. Se puder, agradeço em nome de todos do Laboratório de Fitoquímica e Biologia Molecular do IB-USP.

À Profa. Claudia Furlan e Cristiane Del Nero Rodrigues, pela inestimável ajuda na qualificação e todos os ensinamentos. À Profa. Déborah pelas prontas respostas, pelas risadas e dicas para degustar um bom café. À Lucimar, sempre, pela generosidade, prestatividade e por nos salvar (aos alunos) nos momentos difíceis.

Muito obrigada a Mourisa, por tudo. Paula Jardim, criatura linda e adorável! E Max, bem-vindo sempre, obrigada.

Aos colegas de projeto, queridos, Jóice, Dani e Diego (Lilian também, por menos tempo). Aos amigos do laboratório, Adne, Alice, Augusto, Bruna, Bruno, Caio, Carmen, Carol, Edegar, Jana, Josi, Kátia, Marianas, Pri, Victor e em especial a Vanessa (coisa linda!), e também Anary.

Aos amigos que sempre me ajudaram direta ou indiretamente: Simone, Rodolfo, Gabriela, Graziela, Clément, Lúcia, Marco, Andreas, Tânia Mucuna, Tiago Pexe, Brilhante, Feijão, Wolfram, Gus, Dani & Gabi, Monique (horas no metrô), Mazó, Tabli, Cris, Cachu, Fionna, Crô, Dedé, Inti. Aos inspiradores Maria Thereza L. de Arruda Camargo, Dr. Dobat e Meistergärtner Lelke.

Ao Leandro, gratidão pelo amor e paciência.

Ao IB e seus funcionários maravilhosos (Wilma, Irineu, Suzy, Linácea, Walter Positivo, Seu Zé, Seu Paulinho, Norberto, Helder e todos).

E sobretudo agradeço às plantas, aos *Croton* que me cederam suas folhas e caules, aos que os coletaram (Profa Dra Inês Cordeiro, Profa Dra Letícia Ribes de Lima, Dra Lucimar querida).

Às *Erythrinae*, pelo amor tamanho, que às vezes me ultrapassa o 'bom senso'.

∞Gratidão∞

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	
1.1 A química de produtos naturais: breve contextualização	01
1.2 A família Euphorbiaceae	04
1.3 O gênero <i>Croton</i> L.	05
1.3.1 Caracterização geral	05
1.3.2 Usos medicinais e caracterização química	06
1.3.2.1 Sustâncias voláteis	08
1.3.2.2 Flavonóides	19
1.3.2.3 Triterpenos e esteróides	24
1.3.2.4 Alcalóides	27
1.4 Referências bibliográficas	30
2. Capítulo 1: Componentes principais de óleos voláteis de espécies nativas de <i>Croton</i> L.	44
3. Capítulo 2: Tilirosídeo e outros flavonóides de espécies nativas de <i>Croton</i> L.	62
4. Capítulo 3: Componentes principais de extratos etanólicos de espécies nativas de <i>Croton</i> L.	82
5. Discussão geral	100
5.1 <i>Croton betulaster</i> Müll.Arg.	100
5.2 <i>Croton glutinosus</i> Müll.Arg.	103
5.3 <i>Croton</i> cf <i>pycnocephalus</i>	104
5.4 <i>Croton antisiphiliticus</i> Mart.	107
5.5 <i>Croton hemiargyreus</i> Müll.Arg.	109

5.6 <i>Croton grandivelum</i> Baill.	111
5.7 <i>Croton cf montevidensis</i>	113
5.8 Considerações finais	115
5.9 Referências Bibliográficas	116
6. Resumo / <i>Abstract</i>	120

1. INTRODUÇÃO

1.1 A química de produtos naturais: breve contextualização

O uso terapêutico de plantas medicinais é característico da espécie humana e acompanha sua evolução através dos tempos. Morton (1988), ao traçar um perfil cronológico da relação homem-planta desde tempos ancestrais até o século XX, salienta a dicotomia uso-valor como fator que norteou o desenvolvimento da botânica como ciência. Durante a maior parte da história da humanidade a medicina e a botânica não eram disciplinas distintas e sim um conjunto de conhecimentos utilizados pelos xamãs (ou equivalentes sob demais epítetos) para tratar de quaisquer males, físicos ou espirituais, que poderiam afligir os membros de seu grupo (SCHULTES, 1972; CORDELL, 1993).

De forma geral, os primeiros trabalhos que buscavam nomear e categorizar os vegetais tinham como base aqueles de relevância medicinal. Theophrastus (370 – 280 A.C.), contemporâneo (e pupilo, dizem) de Aristóteles, foi o primeiro a compilar informações sobre plantas medicinais oriundas de manuscritos egípcios, assírios e babilônicos, entre outros, e cunhar uma terminologia descritiva em seus trabalhos *Historia Plantarum* e *Causae Plantarum*. Cerca de dois séculos depois, Dioscorides escreve *De Materia Medica*, que pode ser considerado a primeira ‘farmacopéia’ ocidental, persistindo através da Idade Média até a Renascença como peremptória autoridade no tema. Ao longo dos séculos subseqüentes, trabalhos como os de Fuchs, Cesalpinius, Clusius, Lobelius e Ray estabeleceram os fundamentos que influenciaram Linnaeus e deram corpo à ciência botânica como conhecemos hoje (MORTON, 1988).

A partir do século XVII houve um grande desenvolvimento teórico e tecnológico proporcionando o advento da química e da farmacologia a partir do século XVIII (após os trabalhos de Lavoisier), culminando no isolamento de princípios ativos dos fitoterápicos, como o da morfina por Sertürner em 1806 (SCHULTES & HOFFMANN, 2000). As plantas permaneceram como principais fontes de recursos para o tratamento dos mais diversos males até o século XX, quando são fundadas algumas das atuais grandes indústrias farmacêuticas e a distribuição e uso de drogas sintéticas passa a fazer parte do cotidiano das práticas medicinais ocidentais. No entanto, o estudo de plantas medicinais ainda possui grande importância tanto para a indústria como para a população, principalmente em países em desenvolvimento, nos quais o acesso à medicina alopática ainda é muito restrito (VEIGA-JUNIOR *et al.*, 2005; CORDELL, 1993). Nesses casos é comum que o conhecimento sobre as plantas medicinais simbolize o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos (MACIEL *et al.*, 2002). Além da importância na medicina tradicional, as plantas podem fornecer para a indústria farmacêutica, direta ou indiretamente, os princípios ativos que serão comercializados como remédios. Um caso conhecido é o antiespasmódico Buscopan® (Boehringer Ingelheim do Brasil Ltda., 2010), sintetizado a partir do alcalóide escopolamina derivado de *Duboisia* (Solanaceae). Há ainda princípios ativos colinérgicos, como a pilocarpina (extraída de espécies de *Pilocarpus*, Rutaceae), utilizada no tratamento do glaucoma. Vincristina (Oncovin®) e vinblastina (Velban®), alcalóides utilizados no tratamento do câncer, isolados de *Catharanthus roseus* (L.) G.Don. (Apocynaceae) de Madagascar. Paclitaxel (Taxol®) de *Taxus brevifolia* Nutt. (Taxaceae) também tem, é claro, reconhecida atividade antitumoral. Virend® é um medicamento antiviral cujo princípio ativo é a SP 303, uma

proantocianidina isolada do látex de *Croton lechleri* Müll. Arg (OROZCO-TOPETE *et al.*, 1997). Além desses existem inúmeros outros exemplos, como a morfina, potente analgésico de *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae) e a quinina, substância antimalárica de *Cinchona* (Rubiaceae) (FARNSWORTH & MORRIS, 1976; CUENDET & PEZZUTO, 2008).

No Brasil a trajetória das plantas empregadas em práticas medicinais nasce do sincretismo entre três grandes matrizes de influência: a indígena, a portuguesa e a africana (CAMARGO, 1998). A intrincada teia resultante da mistura entre essas três matrizes, que se esboça no cenário atual, tem como substrato a imensa biodiversidade brasileira e é permeada por correspondências entre espécies exóticas e nativas. Contudo está longe de esgotar o vasto potencial florístico para a provisão de recursos medicinais naturais e de fármacos potentes para a indústria. A crescente procura por fitoterápicos em detrimento de seus correspondentes sintéticos atualmente conduz a pesquisa científica na direção da validação das propriedades farmacológicas de espécies nativas usadas tradicionalmente no tratamento de doenças.

O potencial farmacológico de uma espécie está direta e positivamente relacionado ao potencial econômico, representando forte argumento para a conservação das áreas nativas, uma vez que a extinção de espécies com elevado potencial terapêutico denotaria uma perda significativa para a medicina. Alguns autores, como Edwards-Jones (2000), ressaltam o valor econômico que pode ser atribuído a espécies, conhecimento tradicional e até mesmo ecossistemas, estendendo às esferas econômicas os tradicionais argumentos conservacionistas.

Por fim, quiçá o futuro da química de produtos naturais esteja em uma abordagem complexa, em contraposição à reducionista, que abranja os conhecimentos gerados

pelos métodos científicos tradicionais, valorizando também a história e o conhecimento popular oriundo de uma relação milenar entre o homem e as plantas (VASCONCELLOS *et al.*, 2002). O paradigma da complexidade (ver MORIN, 1996) neste contexto deve influenciar a pesquisa no sentido de fazer comunicar, distinguir para integrar, a partir da percepção que só é possível compreender as propriedades terapêuticas de uma planta a partir do conhecimento de seus constituintes, mas também só é possível compreender as propriedades terapêuticas de seus constituintes através do conhecimento integral e complexo da planta.

1.2 A família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae, pertencente à ordem Malpighiales (APGIII, 2009), é uma das mais diversificadas e complexas entre as Angiospermae, com aproximadamente 8000 espécies, constituindo a sexta maior família depois das Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Orchidaceae e Rubiaceae (LIMA, 2006).

As Euphorbiaceae *sensu lato* eram tradicionalmente divididas em cinco subfamílias (Acalyphoideae, Crotonoideae, Euphorbioideae, Oldfieldioideae e Phyllantoideae) com grande variabilidade morfológica e poucas características em comum (CARUZO, 2005). Após estudos filogenéticos os limites da família foram redefinidos devido ao polifiletismo das Euphorbiaceae *sensu lato*, com a exclusão das subfamílias Phyllantoideae e Oldfieldioideae e Euphorbiaceae *sensu stricto* compreendendo Euphorbioideae, Crotonoideae e Acalyphoideae (LIMA, 2006).

Espécies de notável importância econômica são abundantes na família, que compreende desde plantas ornamentais como *Euphorbia milii* Des Moul., a coroa-de-cristo, e *Codiaeum variegatum* (L.) A.Juss., o louro-variegado (SOUZA & LORENZI,

2008), até espécies emblemáticas na história e cultura brasileiras, como a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e a seringueira (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.).

Entre as plantas pertencentes à família Euphorbiaceae com uso medicinal amplamente registrado na literatura etnofarmacológica podem ser destacadas *Phyllanthus niruri* L.(quebra-pedra), *Jatropha gossypifolia* L. (pinhão-roxo), *Ricinus communis* L. (mamona), além de diversas espécies do gênero *Croton* L. (LORENZI & MATOS, 2002, PIO-CORREA, 1974).

1.3 O gênero *Croton* L.

1.3.1 Caracterização geral

Croton (Euphorbiaceae s.s.) é um dos maiores gêneros de Angiospermae e o segundo maior da família, com aproximadamente 1300 espécies arbóreas, arbustivas e herbáceas, distribuídas em zonas tropicais e subtropicais das Américas, África e Ásia (GOVAERTS *et al.*, 2000). No Brasil há 300 espécies nativas que podem ser encontradas em praticamente todos os ecossistemas (ALLEM, 1979 *apud* LIMA, 2001a).

Entre as principais características do gênero estão inflorescências espiciformes, flores femininas com pétalas reduzidas, estames encurvados no botão, tipo de indumento (estrelado, escamiforme ou simples) e látex não-leitoso, que permitem distingui-lo de outros gêneros da subfamília Crotonoideae, tais como os já citados *Jatropha*, *Hevea* e *Manihot* (LIMA, 2006).

Apesar do grande número de espécies e acentuado poliformismo, autores como Mueller e Baillon propuseram classificações infragenéricas de *Croton* ainda no século XIX. Com base nesses trabalhos, Webster (1993) utilizou características morfológicas

para propor a subdivisão do gênero em 40 seções. Em 2005, Berry e colaboradores publicaram o primeiro estudo filogenético de *Croton*, incluindo 88 taxa, baseado em dados moleculares, morfológicos e biogeográficos. Os autores salientam a importância de futuros estudos que possam contribuir para elucidar as complexas relações entre as espécies de um gênero tão diverso, abundante em ecossistemas tropicais e com amplo potencial farmacológico.

1.3.2 Usos medicinais e caracterização química

A variedade de usos medicinais de espécies de *Croton* nas diferentes regiões do mundo é proporcional a toda variabilidade inerente ao gênero. Cascas, folhas, raízes e sementes são utilizadas no tratamento de uma série de males, tais como diabetes, colesterol alto, problemas gastrointestinais, leucemia, úlcera, reumatismo, diarreia, disenteria, anorexia, hepatite, obesidade, problemas respiratórios, como antiinflamatório, analgésico, e até mesmo adoçante (SALATINO *et al.*, 2007).

No Brasil algumas espécies da região amazônica representam um recurso medicinal de grande importância no tratamento de várias doenças. Um exemplo é *Croton cajucara* Benth., espécie nativa da região amazônica, conhecida popularmente como sacaca, cujos extratos mostraram atividades antilipídêmica (FARIAS *et al.*, 1997; GRASSI-KASSISSE *et al.*, 2003), antioxidante (TIEPPO *et al.*, 2006), no tratamento de afecções do trato gastrointestinal (HIRUMA-LIMA *et al.*, 2000; CAMPOS *et al.*, 2002), no combate a diabetes, diarreia, malária, febre, inflamações do fígado, rins, vesícula e no controle de elevados índices de colesterol (MACIEL *et al.*, 1998, 2000). Outra espécie amazônica cujas atividades farmacológicas já foram estudadas é *Croton lechleri* Müll. Arg., conhecida como sangue-de-drago ou sangra-d'água. Apesar de ser mais conhecida

pela atividade antiinflamatória e hemostática do látex (CAI *et al.*, 1991; CHEN *et al.*, 1994; JONES, 2003; RISCO *et al.*, 2003), atividades imunomoduladora (RISCO *et al.*, 2003), antimutagênica (ROSSI *et al.*, 2003), antioxidante (DESMARCHELIER *et al.*, 1997; DE MARINO *et al.*, 2008), antimicrobiana e antiviral (GUPTA *et al.*, 2008) também foram identificadas para a espécie. A literatura etnofarmacológica estende-se ainda a algumas outras espécies nativas, tais como *Croton brasiliensis* Müll.Arg. (PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2005), *C. urucurana* Baill. (PERES *et al.*, 1997, 1998a), *C. celtidifolius* Baill. (NARDI *et al.*, 2003, 2007), *C. zehntneri* Pax et Hoffm. (COELHO-DE-SOUZA, 1997, 1998), entre outras (SALATINO *et al.*, 2007).

Estudos sobre o potencial farmacológico dos extratos ou componentes isolados das espécies de *Croton* são relevantes, tendo-se em vista a diversidade de usos na medicina popular tradicional ou terapias alopáticas. Pelo ponto de vista da quimiotaxonomia, a grande variedade de compostos encontrados nessas plantas pode prover também características diagnósticas de determinados grupos ou espécies. A diversidade inerente ao gênero se reflete na descoberta de novas estruturas como, por exemplo, novas classes de diterpenos (HELUANI *et al.*, 2000) e alcalóides (ARAÚJO JUNIOR *et al.*, 2005).

A química de *Croton* abrange terpenos, principalmente diterpenos, óleos voláteis, alcalóides e flavonóides (SALATINO *et al.*, 2007). Entre os diterpenos podem ser destacados os clerodanos (como a *trans*-desidroctonina, obtida de *C. cajucara*), traquilobanos, labdanos, cauranos, ésteres de forbol e uma nova classe de diterpenos, os sarcopetalanos (obtidos de *C. sarcopetalus* Müll.Arg.). Óleos voláteis são comuns entre as espécies de *Croton*. Como componentes desses óleos foram identificados monoterpenos como cineol e linalol, sesquiterpenos como cariofileno e

fenilpropanóides, como eugenol e anetol (SALATINO *et al.*, 2007). No látex vermelho de algumas espécies, como *C. lechleri* e *C. urucurana*, são encontradas proantocinidinas. Do látex de *C. lechleri* e *C. palanostigma* Klotzsch é extraído um alcalóide, a taspina, juntamente com uma lignana, a única relatada até hoje no gênero (PIETERS *et al.*, 1993). Os alcalóides mais freqüentemente encontrados em *Croton* são benzilisoquinolínicos, tais como os encontrados em Ranunculales. Os flavonóides até hoje encontrados são em sua maioria agliconas de flavonóis altamente metoxilados. Triterpenos têm sido isolados de espécies de *Croton*, e até mesmo fenilbutanóides, uma rara classe de substâncias, já foram obtidos de *C. schideanus* Schlecht (PUEBLA *et al.*, 2005).

A composição química de *Croton* pode estar relacionada com a distribuição geográfica das espécies. Alguns padrões puderam ser observados com os dados obtidos até o momento. Diterpenos clerodanos ocorrem em espécies de todos os continentes, no entanto cauranos e labdanos ainda não foram relatados para espécies do Novo Mundo. Em contrapartida, alcalóides foram identificados somente em espécies das Américas. A maior parte das espécies aromáticas também é americana. Portanto, a combinação de dados químicos, geográficos e moleculares pode ajudar a elucidar alguns aspectos da complexa filogenia do gênero.

1.3.2.1 Óleos voláteis

O termo 'óleos voláteis' refere-se a uma mistura de substâncias voláteis, geralmente monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, acumulados em estruturas especializadas como tricomas glandulares e idioblastos (GERSCHENZON, 1994a; GERSCHENZON, 1994b). Monoterpenos e sesquiterpenos são sintetizados a partir de

unidades de cinco carbonos (isopreno), provenientes das vias do MEP (metil-eritritol-fosfato) ou do acetato-mevalonato. Os fenilpropanóides são sintetizados a partir da via do ácido chiquímico (DEWICK, 2002).

Componentes de óleos voláteis podem possuir inúmeras atividades biológicas (LAHLOU, 2004). Para a planta, esses compostos consistem, direta ou indiretamente, em mecanismos de defesa (ROSS & SOMBRERO, 1991), como atividade alelopática (FISCHER, 1991; FISCHER *et al.*, 1994), antimicrobiana, antifúngica e antioxidante, assim como para atrair polinizadores e entomófagos (GERSHENZON, 1994a; LANGENHEIM, 1994). A espécie humana reconheceu essas propriedades, e ao longo dos séculos foi inserindo as plantas com óleos voláteis em diversos contextos do seu *ethos*, incluindo litúrgico, social e medicinal (CZYGAN, 1982; SUMNER, 2000; CARNEIRO, 2002). Muitas vezes as evidências testadas em pesquisas científicas corroboram os usos na medicina tradicional (LIMA, 2001b; MALHEIROS & PERES, 2001; ROSS & SOMBRERO, 1991). Demais potenciais atividades desses compostos também vêm sendo investigadas: a atividade anticancerígena (REN & GOULD, 1998; LEGAULT *et al.*, 2003; SYLVESTRE *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2007), assim como atividade antiviral (FARAG *et al.*, 2004), inseticida (GRACE, 2002), moluscicida (LAHLOU & BERRADA, 2001), antioxidante (TEL *et al.*, 2010), anti-inflamatória (FALCÃO *et al.*, 2005), efeitos sobre a musculatura lisa (COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1997; COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1998; MAGALHÃES *et al.*, 1998), o sistema nervoso (BUCHBAUER *et al.*, 1993) e a pressão sangüínea (LAHLOU *et al.*, 1999). Uma evidência do crescente interesse acerca do potencial desses compostos é o grande número de publicações que se encontra em uma rápida busca pelos tópicos “óleos essenciais” e “atividade biológica” ou “atividade antimicrobiana” nos sites especializados.

Algumas espécies de *Croton* já foram investigadas quanto às atividades dos óleos voláteis. O óleo de *C. cajucara*, rico em linalol, é tóxico para *Leishmania amazonensis* (ROSA *et al.*, 2003). Efeito modulatório na contração de musculatura lisa foi observado para o óleo de *C. zehntneri* (COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1997; COELHO-DE-SOUZA *et al.*, 1998; MAGALHÃES *et al.*, 1998), assim como efeitos no sistema nervoso, que podem justificar os usos tradicionais no tratamento de problemas do trato gastrointestinal (ALBUQUERQUE *et al.*, 1995) e distúrbios nervosos, como ansiedade (BATATINHA *et al.*, 1995). Óleos de *C. zehntneri* (rico em anetol) e *C. argyrophylloides* Müll.Arg. (rico em α -pineno e espatulenol) apresentaram maior atividade antioxidante em relação ao óleo de *C. nepetaefolius* Baill. (rico em metileugenol e α -copaeno) (MORAIS *et al.*, 2006). Simionatto e colaboradores (2007) investigaram a atividade antioxidante e bactericida do óleo do caule de *C. urucurana*. Óleos de folha e raiz da espécie argentina *C. hienonymi* Griseb. apresentaram atividade antimicrobiana (HELUANI *et al.*, 2005). O óleo do caule de *C. stellulifer* Hutch, uma espécie endêmica de São Tomé e príncipe, também apresenta atividade contra bactérias e fungos (MARTINS *et al.*, 2000). Sylvestre e colaboradores (2006) relataram a atividade anticancerígena de óleo de *Croton flavens* L., que tem viridifloreno e germacrona como componentes principais.

Em geral, nos óleos voláteis obtidos de espécies de *Croton* brasileiras (Tabela 1), monoterpenos e sesquiterpenos são os compostos mais abundantes, com exceção de *C. zehntneri*, na qual podem ser predominantes os fenilpropanóides eugenol e anetol (CRAVEIRO *et al.*, 1978, 1980, 1981). No nordeste muitas espécies são aromáticas (CRAVEIRO *et al.*, 1981; MORENO *et al.*, 2009).

Tabela 1 - Principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton*

Local	Espécie	Composto	%	Referência
Brasil	<i>C. argyrophylloides</i> Müll.Arg.	Sabineno	41,1	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		α pineno	27,4	
	<i>C. cajucara</i> Benth.	Linalool	41,2	Lopes <i>et al.</i> , 2000
		(E) nerolidol	12,6	
		β cariofileno	6,9	
	<i>C. cajucara</i> (sacaca branca)	Linalol	28,7	Chaves <i>et al.</i> , 2006
		β cariofileno	13	
		Nerolidol	9,3	
	<i>C. cajucara</i> (sacaca vermelha)	5-hidroxi-calameno	25,5	
		Linalol	18,9	
		δ cadineno	7,1	
	<i>C. campestris</i> A.St.-Hil	óxido de cariofileno	29,9	El Babili <i>et al.</i> , 2009
		óxido de humuleno II	8	
	<i>C. essequiboensis</i> Kl.	β cariofileno	19,6	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		α pineno	18,4	
	<i>C. glandulosus</i> L.	β cariofileno	42,3	Andrade-Neto <i>et al.</i> , 1994*
		γ cadineno	14,1	
		γ elemeno	14,1	
	<i>C. heterocalyx</i> Baill.	germacreno D	12,5	Moreno <i>et al.</i> , 2009
		Biciclogermacreno	11,2	
	<i>C. jacobinensis</i> Baill.	γ elemeno	33,8	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		β elemeno	28	
	<i>C. lundianus</i> Müll.Arg.	γ elemeno	21,1	Andrade-Neto <i>et al.</i> , 1994*
		β cariofileno	20,5	

Tabela 1 - Principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton*

Local	Espécie	Composto	%	Referência
Brasil	<i>C. micans</i> Sw.	β cariofileno	19	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		β elemeno	14,2	
	<i>C. matourensis</i> Aubl.	α pineno	86,7	Gottlieb <i>et al.</i> , 1981
		Elemicina	2,9	
		<i>p</i> -cimeno	2,1	
	<i>C. aff mucronifolius</i>	<i>p</i> -cimeno	32,4	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		Isoascaridol	28,9	
	<i>C. nepetaefolius</i> Baill.	1,8-cineol	37,5	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		β cariofileno	23	
		1,8 cineol	25,4	Magalhães <i>et al.</i> , 1998
		Metileugenol	14,9	
	<i>C. palanostigma</i> Klotzsch	Linalool	25,4	Brasil <i>et al.</i> , 2009
		(E) cariofileno	21	
		Metileugenol	17,2	
	<i>C. rhamnifolius</i> H.B.K.	<i>p</i> -cimeno	20,3	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		1,8-cineol	11	
	<i>C. sacaquinha</i> Croizat	β elemeno	12	Lopes <i>et al.</i> , 2003
		germacreno D	10	
		Linalool	5,7	
		β cariofileno	5,7	
	<i>C. sellowii</i> Baill.	óxido de cariofileno	26,5	Palmeira Jr <i>et al.</i> , 2006
		Cubenol	16,7	

Tabela 1 - Principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton*

Local	Espécie	Composto	%	Referência
Brasil	<i>C. sellowii</i> Baill.	óxido de cariofileno	43,8	Dias <i>et al.</i> , 2006
		epi- α -muurolol	6,4	
	<i>C. sonderianus</i> Müll.Arg.	B-cariofileno	24,4	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		<i>p</i> -cimeno	14,3	
		β felandreno	20,4	Dourado & Silveira., 2005
		Biciclogermacreno	17,7	
	<i>C. zehntneri</i> var. <i>anethole</i>	Estragol	52,4	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		trans anetol	32,3	
	<i>C. zehntneri</i> var. <i>eugenol</i>	Eugenol	47,2	Craveiro <i>et al.</i> , 1981
		Geranial	23,1	

**apud* MECCIA *et al.*, 2000

Em função do potencial farmacológico das espécies, diversas pesquisas visando à elucidação dos componentes voláteis de *Croton* foram conduzidas ao longo das últimas décadas.

Bracho e Crowley (1966), pioneiros na análise de constituintes voláteis de espécies venezuelanas de *Croton*, indicaram a presença concomitante de α -pineno, β -pineno, *p*-cimeno e citrônolol nas cascas e caules das espécies analisadas. Apenas *Croton malambo* apresentou fenilpropanóides (metileugenol). No entanto, elemicina, isoeugenol e eugenol já haviam sido identificados em *C. parvifolius* Müll.Arg., *C. echinocarpus* Müll.Arg. e *C. eluteria* (L.) W.Wright, respectivamente. Posteriormente Suarez *et al.* (2005) também relataram metileugenol como componente mais abundante do óleo da casca de *C. malambo* H.Karst, juntamente com outros fenilpropanóides (metiliseugenol, elemicina, isoelemicina). Em mais uma espécie

venezuelana, *C. cuneatus* Klotzsch, o sesquiterpeno α -11-eudesmeno foi o componente mais abundante, seguido de metileugenol (SUAREZ *et al.*, 2005). Monoterpenos foram muito pouco representativos nessas análises, em contraposição aos resultados obtidos por Bracho e Crowley (1966). Já nas folhas de *C. ovalifolius* Vahl. 88,8% do óleo é constituído de sesquiterpenos, sendo os mais abundantes β -cariofileno e biciclogermacreno (MECCIA *et al.*, 2000), com apenas 1,6% de monoterpenos e ausência de fenilpropanóides. Esse padrão diverge das espécies venezuelanas até então analisadas, no entanto converge com o padrão encontrado para as espécies brasileiras e africanas. Compagnone *et al.* (2010) relatam a presença majoritária de fenchil acetato (19,5%) e metileugenol (14,2%) no óleo de folhas de *C. matourensis* coletadas na Venezuela. Em uma amostra brasileira da mesma espécie analisada anteriormente, o componente majoritário do óleo foi α -pineno (GOTTLIEB *et al.*, 1981). Tanto nas folhas como nas flores de *C. micans* o principal componente do óleo foi fenchil acetato, seguido de α -cariofileno (COMPAGNONE *et al.*, 2010), resultados também diferentes dos encontrados anteriormente para uma amostra brasileira da mesma espécie, rica em β -cariofileno, β -elemeno e germacreno B. Além dessas espécies da Venezuela, outras foram pontualmente estudadas quanto ao conteúdo dos óleos em outros locais das Américas, nos quais são nativas (Tabela 2).

Tabela 2. Principais componentes dos óleos voláteis de espécies do México, Argentina, Cuba, Guadeloupe e Costa Rica.

Local	Espécie	parte da planta	Composto	%	Referência
Guadeloupe	<i>C. flavens</i> L.	Folhas	Viridifloreno	12,22	Sylvestre <i>et al.</i> , 2006
			Germacrona	5,27	
			(E)- γ -bisaboleno	5,25	
			β -cariofileno	4,95	

Tabela 2. Principais componentes dos óleos voláteis de espécies do México, Argentina, Cuba, Guadeloupe e Costa Rica.

Local	Espécie	parte da planta	Composto	%	Referência
Cuba	<i>C. rosmarinoides</i> Millsp.	Folhas	1,8-cineol	15	Pino <i>et al.</i> , 2006
			Espatulanol	13,8	
			α -terpineol	11,6	
	<i>C. litoralis</i> Urb.	Folhas	1,8-cineol	20,9	
			α -terpineol	11,1	
	<i>C. spiralis</i> Müll.Arg.	Folhas	α -bisabolol	16,2	
			(<i>E</i>)- γ -atlantona	13,4	
	<i>C. myricifolius</i> Griseb.	Folhas	óxido de cariofileno	8,8	
			Borneol	8,8	
			bornil acetato	7,7	
	<i>C. hieronymi</i> Griseb.	Folha	Cânfora	13,9	
			Borneol	5,9	
		Raiz	γ -asarona	25,7	
			Borneol	19	
			(<i>E</i>) asarona	11,4	
			Cânfora	11,1	
Costa Rica	<i>C. jimenezii</i> Standl.&Valerio	Folhas (amostra 1)	Metileugenol	29,5	Ciccio & Segnini, 2002
			germacreno D	15,6	
			β cariofileno	12,9	
		Folhas (amostra 2)	ácido hexadecanóico	16,1	
			Fitol	10,6	
			β cariofileno	10,4	
			germacreno D	9,8	

Tabela 2. Principais componentes dos óleos voláteis de espécies do México, Argentina, Cuba, Guadeloupe e Costa Rica.

Local	Espécie	parte da planta	Composto	%	Referência
Mexico	<i>C. californicus</i> Müll.Arg.	Folhas	β -mirceno	46	Williams <i>et al.</i> , 2001
			β -cariofileno	30	
			δ -terpineno	4	
		Frutos	β -mirceno	58	
			β -cariofileno	23	
			α -cariofileno	3	

Entre as espécies africanas, *C. zambesicus* recebeu atenção, provavelmente em função de sua larga distribuição pela África tropical e o conhecido uso no tratamento de hipertensão, febres associadas à malária, infecções urinárias e diarreia (BLOCK *et al.*, 2006; BOYOM *et al.*, 2002). Espécies de Madagascar (RADULOVIC *et al.*, 2006) e São Tomé e Príncipe (MARTINS *et al.*, 2001) também foram analisadas (Tabela 3).

Tabela 3 – Principais componentes dos óleos voláteis de espécies africanas de *Croton*

Local	Espécie	parte da planta	Composto	%	Referência
Benin	<i>C. zambesicus</i> Müll.Arg.	Folhas	óxido de cariofileno	19,5	Block <i>et al.</i> , 2006
			β -cariofileno	10,8	
			α -copaeno	6,3	
			Linalol	6,1	
			β -pineno	5,2	
Madagascar	<i>C. antanosiensis</i> Leandri	partes aéreas	α -pineno	32,7	Radulovic <i>et al.</i> , 2006
			β -pineno	16,4	
			Limoneno	6	
			trans-nerolidol	5,6	

Tabela 3 – Principais componentes dos óleos voláteis de espécies africanas de *Croton*

Local	Espécie	parte da planta	Composto	%	Referência
Madagascar	<i>C. decanyi</i> Leandri	Folhas	β-cariofileno	26,6	
			α-pineno	21,8	
			α-humuleno	19	
			β-pineno	6,7	
			óxido de cariofileno	5,1	
		Caule	α-pineno	26	
			Borneol	13,2	
			Canfeno	11,4	
			β-cariofileno	8,5	
			β-pineno	7,3	
	<i>C. geayi</i> Leandri	partes aéreas	1,8-cineol	15,7	
			β-cariofileno	14,7	
			α-terpineol	14,1	
			γ-cadineno	7	
	<i>C. sakamaliensis</i> Leandri	Folhas	β-cariofileno	28,2	
			óxido de cariofileno	12,5	
			1,8-cineol	9,4	
			α-pineno	7,7	
			β-pineno	7	
		Caule	1,8-cineol	37,9	
			β-felandreno	14,7	
			α-pineno	12	
			Limoneno	11,6	
			Linalol	8,9	
Gabão	<i>C. oligandrum</i>	Casca do caule	Linalol	53,5	Agnaniet <i>et al.</i> , 2005
	Pierre ex Hutch		1,8-cineol	6,7	
			β-pineno	5,1	

Tabela 3 – Principais componentes dos óleos voláteis de espécies africanas de *Croton*

Local	Espécie	parte da planta	Composto	%	Referência
Camarões	<i>C. zambesicus</i> Müll.Arg.	Folhas	Limoneno	19,2	Boyom <i>et al.</i> , 2002
			β -pineno	18,9	
			α -pineno	15,8	
			β -cariofileno	8,7	
		casca do caule	Linalol	33,8	
			β -cariofileno	13,9	
			Limoneno	10,8	
			β -pineno	7,7	
		casca da raiz	Espatuleno	14	
			Borneol	10,1	
			β cariofileno	9,4	
				15,4-	
São Tomé e Príncipe	<i>C. stellulifer</i> Hutch	Caule	α -felandreno	18,6	Martins <i>et al.</i> , 2000
				14,4-	
			<i>p</i> -cimeno	17,7	
				12,0-	
			Linalol	12,6	
Chade	<i>C. zambesicus</i> Müll.Arg.	Folhas	Linalol	9,9	Menut <i>et al.</i> , 1995*
			β -cariofileno	9,9	

**apud* Boyom *et al.*, 2002

Fenilpropanóides são predominantes apenas em algumas espécies venezuelanas (*C. malambo*, *C. parvifolius*, *C. echinocarpus* e *C. eluteria*) e algumas brasileiras (*C. zehntneri*). Mono e sesquiterpenos parecem ser os mais abundantes no gênero, entre estes α e β -pineno (monoterpenos) e β -cariofileno (um sesquiterpeno). Radulovic *et al.* (2006) sugerem a presença abundante de β -cariofileno e do monoterpene linalol como uma característica recorrente no gênero.

1.3.2.1 Flavonóides

Flavonóides constituem um dos grupos de metabólitos secundários mais numerosos e amplamente distribuídos entre as plantas (HARBORNE & MABRY, 1982). Entre os flavonóides, os mais comuns são as flavonas e os flavonóis, compostos de três anéis: um deles derivado da via do acetato malonato (anel A) e os outros dois derivados da via do ácido chiquímico (anéis B e C) (VICKERY & VICKERY, 1981; figura 1).

Figura 1 – Estrutura básica de flavona e flavonol e principais padrões de substituição.

Robards & Antolovich (1997) apresentam uma excelente revisão sobre os compostos fenólicos (principalmente flavonóides) encontrados em plantas, abrangendo desde a biossíntese, o papel ecológico dessas substâncias, até suas propriedades medicinais. Apesar de essas propriedades serem reconhecidas, pode ser complexo estabelecer de forma geral as atividades biológicas dessas substâncias, uma vez que as respostas metabólicas podem variar de acordo com o tecido da planta, as condições de crescimento ou estímulos do ambiente (ROBARDS & ANTOLOVICH, 1997). Ainda assim, alguns padrões podem ser observados. Flavonóides (flavonas e flavonóis) absorvem comprimentos de onda na faixa entre 250 e 380 nm em geral, o que lhes confere efeito foto protetor. O espectro de absorção de um flavonol ou flavona pode indicar uma

série de características estruturais: cada banda corresponde ao comprimento de onda mais absorvido pelos anéis B (Banda I de 320-380 nm) e A (Banda II de 250-285 nm) (figura 2). Quanto maior o número de grupos hidroxila no anel B maior o comprimento de onda máximo absorvido pela banda I, que em flavonas é cerca de 20-30 nm menor que em flavonóis (devido à hidroxila na posição 3 do anel C). Glicosilações e O-metilações têm efeito hipsocrômico (RICE-EVANS *et al.*, 1996), ou seja, de redução do comprimento de onda absorvido, assim como substituições com ácidos fenólicos e açúcares, como é o caso, por exemplo, do tilirosídeo (figura 3).

Figura 2 – Espectro UV/VIS da isoramnetina (3'-O-Me-quercetina, um flavonol), mostrando a Banda I com pico de absorção em 371 nm e a Banda II com pico de absorção em 255 nm.

Figura 3 – Estrutura e espectro UV/VIS do tilirosídeo (campferol-3-O-(6-*p*-cumaroil)-glicosídeo), um flavonol, mostrando Banda I com pico de absorção reduzido (313 nm).

A reconhecida atividade antioxidante dos flavonóides desperta crescente interesse, uma vez que podem conferir propriedades terapêuticas aos alimentos de origem vegetal nos quais são abundantes (MARÍN *et al.*, 2002). O poder antioxidante de um flavonóide está relacionado com sua estrutura: hidroxilas nas posições *ortho* do anel B assim como na posição 3 do anel C (figura 1) fazem com que flavonóis tenham efeito antioxidante mais potente que flavonas e que a quercetina e a luteolina também tenham maior atividade que seus respectivos correspondentes com uma só hidroxila ligada ao anel B, campferol e apigenina (RICE-EVANS *et al.*, 1996; MARÍN *et al.*, 2002). Atividade anticancerígena de flavonóides também é objeto de diversos estudos (HOLLMAN *et al.*, 1996), assim como uso no tratamento de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (WILLIAMS *et al.*, 2004). Aguirre-Hernández e colaboradores (2010) atribuem às agliconas de quercetina e campferol o efeito ansiolítico que justifica o uso de espécies de *Tilia* sp. (Malvaceae *sensu lato*) do México como calmantes. Os autores ainda sugerem que glicosídeos de flavonóides possam servir como características diagnósticas do gênero, assim como de algumas espécies. Apesar de não ser uma prática comum para categorias taxonômicas mais abrangentes (com exceção dos isoflavonóides de Papillionoideae - Fabaceae, por exemplo), o perfil de flavonóides pode ser uma interessante ferramenta quimiotaxonômica para distinção entre grupos mais próximos, como entre espécies (SEIGLER, 1994; ROBARDS & ANTOLOVICH, 1997).

Em *Croton* ainda não foi possível estabelecer um padrão para os flavonóides. Alguns compostos já foram isolados de extratos de *n*-hexano, etanol e metanol de algumas espécies, porém as investigações em sua maioria não são direcionadas para caracterização do perfil de flavonóides apresentado pela planta. Do extrato hexânico

de folhas de *C. ciliatoglanduliferus* Ort. foram isolados os flavonóis metoxilados retusina (5-hidroxi-3,7,3',4'-tetrametoxiflavona) e paquipodol (5,4'-dihidroxi-3,7,3',4'-tetrametoxiflavona) (GONZÁLEZ-VAZQUEZ *et al.*, 2006). Capasso e colaboradores (2000) isolaram rutina (quercetina-3-*O*-rutinosídeo), campferol-3-*O*-rutinosídeo, quercetina-3-*O*-(2-*O*-D-apiofuranosil)-rutinosídeo, campferol-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaroil)-glicosídeo (tilirosídeo) das partes aéreas de *C. menthodus* Benth. Tilirosídeo também foi encontrado em folhas de *C. sellowii* Baill., juntamente com uma série de flavonóis metoxilados (artemetina e penduletina, encontradas também no caule, além de crisosplenetina e casticina) (PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2006). Praticamente os mesmos flavonóis metoxilados (artemetina, casticina, crisosplenol D e penduletina) foram identificados em *C. brasiliensis* Müll. Arg. (PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2005). Guerrero e colaboradores (2002) testaram a atividade vasorelaxante dos também metoxilados flavonóis quercetina-3,7-metiléter e quercetina-3,3',4',7-metil éter isolados de *C. schiedeana* Schlecht. Atividade antimalárica e citotoxicidade de quercetina e tamarixetina (quercetina-4'-metil éter) obtidas das folhas de *C. steenkampianus* Gerstner foram testadas por Adelekan e colaboradores (2008). Uma flavona 7,4'-dimetoxilada foi isolada das folhas de *C. betulaster* Müll. Arg. (BARBOSA *et al.*, 2004). De *C. cajucara* foram isolados dois derivados metoxilados de campferol (MACIEL *et al.*, 2000). Glicosídeos de campferol, quercetina e miricetina foram encontrados no látex de *C. gossypifolius* Vahl. (QUINTYNE-WALCOTT *et al.*, 2007). Quercitrina (quercetina-3-*O*-ramnosídeo) foi identificada nas folhas de *C. pullei* var. *glabrior* Lanj. (BARBOSA *et al.*, 2007). Das folhas de *C. zambesicus* foram isolados os C-glicosídeos de flavonas vitexina (apigenina-8-*C*-glicosídeo), isovitexina ou saponaretina (apigenina-6-*C*-glicosídeo), vicienina (apigenina-6,8-*C*-diglicosídeo), orientina (luteolina-8-*C*-glicosídeo)

e isoorientina (luteolina-6-C-glicosídeo) (WAGNER *et al.*, 1970). Vitexina foi também isolada de folhas de *C. hovarum* Leandri (KREBS & RAMIARANTSOA, 1997) e miricetrina (miricetina-3-O-ramnosídeo), do látex de *C. draco* Schltdl. (TSACHEVA *et al.*, 2004) e *C. panamensis* (Klotzsch) Müll. Arg. (KOSTOVA *et al.*, 1999), tida como sinonímia de *C. draco* (ver Croton Research Network, 2001). Vitexina, isovitexina (apigenina-6-C-glicosídeo) e tilirosídeo também foram encontrados nas folhas de *C. tonkinensis* Gagnep. (GIANG *et al.*, 2004), assim como nas partes aéreas de *C. lobatus* L. (LAGNIKA *et al.*, 2009), *C. gnaphallii* Baill. (LENCINA *et al.*, 2001) e *C. caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. (ZOU *et al.*, 2010). Desta última espécie, Zou e colaboradores (2010) isolaram também 3,5,6,7,8,3',4'-heptametoxiflavona, tangeretina, nobiletina, 5,6,7,4'-tetrametoxiflavona, sinensetina, campferol, campferol-3-O-rutinosídeo, rutina e o novo flavonóide crotocaudatina.

Com base nos trabalhos até hoje publicados, *Croton* poderia ser caracterizado pela presença de glicosídeos de flavonóis e suas agliconas, como quercetina e campferol, que são comuns em tecidos vegetais, assim como de agliconas altamente metoxiladas, como artemetina ou penduletina. É interessante também a presença de glicosídeos de flavonóides acilados, ou seja, ligados a ácidos fenólicos, como o tilirosídeo. Contudo considerar essas características um padrão pode ser prematuro, uma vez que essas substâncias foram encontradas em extratos feitos com diversos solventes, em trabalhos cujo foco não era necessariamente caracterizar as espécies quanto ao conteúdo de flavonóides. Uma análise mais cuidadosa e padronizada dos flavonóides de espécies de *Croton* pode fornecer ferramentas para compreensão tanto de potenciais aplicações terapêuticas como de eventuais características diagnósticas de subgrupos dentro deste gênero gigante.

1.3.2.3 Triterpenos e esteróides

Já em 1887 Wallach sugeriu que os terpenos tivessem uma origem comum a partir de uma unidade de cinco carbonos (isopreno) derivada da via do acetato-mevalonato. Muitos anos depois, em 1958, Ruzicka retomou essa proposta e a chamada “regra do isopreno” é válida até hoje (TEMPLETON, 1969; BRUNETON, 1995). Dessa forma, os monoterpenos e sesquiterpenos (com dez e quinze carbonos, ver 1.3.2.1) são formados, respectivamente, por duas e três unidades de isopreno. Quatro unidades de isopreno dão origem aos diterpenos (C_{20}). Seguindo a mesma regra, triterpenos e esteróides são derivados de um composto alifático comum de trinta carbonos, o esqualeno, dando origem aos diferentes subgrupos desses compostos, como triterpenos do tipo friedelano, oleanano (β -amirina), ursano (α -amirina), lupano (lupeol) (figura 4) e fitosteróis como estigmasterol e sitosterol (figura 5) (PETTIT & DIAS, 1969; BANTHORPE & CHARLWOOD, 1972).

Figura 4 – Estrutura do esqualeno e alguns exemplos dos principais grupos de triterpenos pentacíclicos comuns em plantas.

Figura 5 – Estruturas dos esteróides estigmasterol e sitosterol.

As atividades biológicas dos triterpenos e esteróides de plantas são inúmeras. Podem ser estruturalmente essenciais como constituintes de membrana e reguladores de crescimento celular. A atividade inseticida de limonóides, como a azadiractina do Neem (*Azadirachta indica* A.Juss., Meliaceae), é muito conhecida (CHAMPAGNE *et al.*, 1992). Sob a perspectiva medicinal, esses compostos despertam muito interesse, pois podem possuir atividades hepatoprotetora, antiinflamatória, antimicrobiana, antiviral, hemolítica, analgésica e devido às semelhanças estruturais, podem interferir no metabolismo hormonal (GUPTA *et al.*, 1969; MAHATO *et al.*, 1988; LIU, 1995).

Triterpenos pentacíclicos e esteróides já foram isolados de *Croton*. Das partes aéreas de *C. draco* já foram isolados esteróides comuns em plantas, como estigmasterol e β -sitosterol e uma nova substância, ergasterol-5 α -8 α -endoperóxido (HERNANDEZ & DELGADO, 1992). Do caule da espécie africana *C. megalocarpus* Hutch. foram extraídos lupeol, betulina, β -sitosterol (ADDAE-MENSAH *et al.*, 1989) e o raro triterpeno ácido acetil-aleurítico (ADDAE-MENSAH *et al.*, 1992). Este último (figura 6) também já foi encontrado em *C. oblongifolius* Roxb. (AYAR & SESHADRI, 1971 *apud* ADDAE-MENSAH *et al.*, 1992), *C. lacciferus* L. (RATNAYAKE-BANDARA *et al.*, 1988 *apud* ADDAE-MENSAH

et al., 1992), *C. cajucara* (MACIEL *et al.*, 1998, 2000) e *C. urucurana* (PERES *et al.*, 1998a, 1998b). Nesta última também foram encontrados β -sitosterol, β -sitosterol-O-glicosídeo, estigmasterol e campesterol.

Figura 6 – Estrutura do ácido acetil aleuritólico

Em folhas e caules de *C. betulaster*, uma espécie da Bahia, foram identificados uma série de triterpenos: lupenona, lupeol, 3-oxo-22-hidroxiopane, 3-oxo-20- β -hidroxitaraxastano, 3-oxo-20-hidroxilupano, ácido 3-oxo-olean-12-en-28-óico, ácido 3-oxo-olean-18-en-28-óico, ácido 3-oxo-cicloart-24E-en-26-óico (BARBOSA *et al.*, 2003). Do caule de *C. hovarum*, uma espécie endêmica de Madagascar, foram isolados friedelina, β -amirina e ácido 3- β -acetoxi-friedoolean-14-en-28-óico (KREBS & RAMIARANTSOA, 1996). Catalán e colaboradores (2003) identificaram nos extratos metanólicos das partes aéreas de *C. hieronymi* alguns derivados acíclicos de esqualeno, juntamente com α -amirina, β -amirina, lupeol, hop-22(29)-en- β -3-ol, colesterol, colest-8(14)-en-3 β -ol, estigmasterol, gramisterol, sitosterol, campesterol, 22-dihydrobrassicasterol, lofenol, isofucosterol, colest-4-en-3-ona, ergosta-4,22-dien-3-ona e sitostenona.

1.3.2.4 Alcalóides

O termo alcalóide (do árabe *alkali*, soda, e do grego *ειδος*, similaridade) foi proposto primeiramente por W. Meissner em 1819, referindo-se a substâncias de origem vegetal que reagem como bases. O termo foi mantido ao longo dos séculos, mas a definição foi se modificando, tornando-se cada vez mais complexa e ainda assim, incompleta. Alcalóides são comumente definidos como substâncias de natureza básica, com nitrogênio heterocíclico, derivadas de aminoácidos e com distribuição limitada entre plantas, fungos e animais (BRUNETON, 1995; HESSE, 2002).

Seigler (1994) salienta a importância dos alcalóides como ferramenta quimiotaxonômica em Euphorbiaceae, citando as revisões dele mesmo (1977) e de Hegnauer, em seu famoso “Chemotaxonomie der Pflanzen”. Alcalóides aparecem em espécies antes pertencentes à subfamília Phyllantoideae (hoje considerada uma família à parte *sensu* APGIII, 2009) e a alguns gêneros como *Alchornea* Sw. No entanto não costumam ser muito comuns em Euphorbiaceae como um todo. Nesse contexto, mais uma vez o gênero *Croton* se destaca por suas características químicas peculiares.

Em *Croton* são típicos os alcalóides benzilisoquinolínicos, derivados de tirosina, encontrados em Magnoliales, Ranunculales e Laurales (SHAMMA, 1972; CORDELL, 1981). A partir de um precursor comum, a norlaudanosolina (figura 7), sucessivas oxidações fenólicas dão origem aos diferentes subgrupos de alcalóides benzilisoquinolínicos: proaporfinas, aporfinas, protoberberinas, morfinandienonas, morfinas, entre outros (figura 6). Em uma pioneira revisão da química de *Croton*, Farnsworth e colaboradores (1969) já indicavam grande diversidade de alcalóides (aporfinas, proaporfinas e morfinandienonas) até então identificados no gênero (21

estruturas de 8 espécies). Raffauf (1970) também menciona uma série de estruturas desses mesmos subgrupos encontradas no gênero.

Figura 7 – Norlaudanosolina e alcalóides de diferentes subgrupos entre os benzilisoquinolínicos encontrados em *Croton* (crotonosina: HAYNES *et al.*, 1966; BALDWIN *et al.*, 1967; taliporfina: MILANOWSKI *et al.*, 2002; hemiargirina: AMARAL & BARNES, 1998; norsinoacutina: TIWARI *et al.*, 1981).

Em uma revisão mais recente, Salatino e colaboradores (2007) relatam a presença de alcalóides desses mesmos grupos nas espécies estudadas até então, além de alguns novos alcalóides. Taspina (figura 8) foi encontrada no látex de *C. draco* (MURILLO *et al.*, 2001; TSACHEVA *et al.*, 2004), *C. palanostigma* (ITOKAWA *et al.*, 1991) e no látex e folhas de *C. lechleri* (VAISBERG *et al.*, 1989; MILANOWSKI *et al.*, 2002; RISCO *et al.*, 2003). Milanowski e colaboradores (2002) sugerem que esse alcalóide de estrutura pouco usual (inclusive representando as ‘incompletudes’ da definição comum de alcalóide, uma vez que o átomo de nitrogênio não está inserido em um anel heterocíclico) seja derivado de magnoflorina.

Figura 8 – Estrutura da taspina

Em *C. moritibensis* Baill. foram encontrados os alcalóides 2-etoxicarboniltetrahydroharmano e 6-hidroxi-2-metiltetrahydroharmano. Alcalóides derivados da glutarimida, como a julocrotina (figura 9), foram isolados de *C. membranaceus* Müll.Arg. (ABOAGYE *et al.*, 2000), *C. cuneatus* (SUÁREZ *et al.*, 2004) e *C. pullei* var. *glabrior* (BARBOSA *et al.*, 2007).

Figura 9 – estrutura da julocrotina

Muscicapinas A, B e C isoladas das raízes de *C. muscicapa* Müll.Arg. formam uma nova classe de alcalóides sesquiterpênicos do tipo guaiano (ARAUJO JUNIOR *et al.*, 2005).

Recentemente, magnoflorina foi isolada pela primeira vez de *C. xalapensis* L. (AREVALO *et al.*, 2009).

Esse grupo de alcalóides possui diversas atividades biológicas. Os alcalóides do ópio são amplamente conhecidos pela potente atividade analgésica (morfina) e antitússica (codeína). Atividades antioxidante (CASSELS *et al.*, 1995), vasorelaxante (CHEN *et al.*, 1996), antimicrobiana, citotóxica e antitumoral (RÍOS *et al.*, 2000; CUI *et al.*, 2006) já foram registradas para esse grupo de alcalóides, aumentando o interesse em potenciais fontes desses compostos.

1.4 Referências Bibliográficas

- ABOAGYE, F.A.; SAM, G.H.; MASSIOT, G.; LAVAUD, C. 2000. Julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton membranaceus*. *Fitoterapia* 71:461-462.
- ADDAE-MENSAH, I.; ACHENBACH, H.; THOITHI, G.N.; WAIBEL, R.; MWANGI, J.W. 1992. Epoxychiromodine and other constituents of *Croton megalocarpus*. *Phytochemistry* 31:2055-2058.
- ADDAE-MENSAH, I.; WAIBEL, R.; ACHENBACH, H.; MURIUKI, G.; SANDERS, K.M. 1989. A clerodane diterpene and other constituents of *Croton megalocarpus*. *Phytochemistry* 28:15-17.
- ADELEKAN, A.M.; PROZESKY, E.A.; HUSSEIN, A.A.; UREÑA, L.D.; VAN ROOYEN, P.H.; LILES, D.C.; MEYER, J.J.M.; RODRÍGUEZ, B. 2008. Bioactive Diterpenes and Other Constituents of *Croton steenkampianus*. *Journal of natural products* 6:1919-1922.
- AGNANIET, H.; AKAGAH, A.; MOUNZEO H. 2005. Aromatic plants of tropical central Africa. XLI. Volatile constituents of *Croton oligandrum* Pierre ex Hutch growing in Gabon. *Journal of Essential Oil Research* 17:201-203.
- AGUIRRE-HERNÁNDEZ, E.; GONZÁLEZ-TRUJANO, M.E.; MARTÍNEZ, A.L.; MORENO, J.; KITE, G.; TERRAZAS, T.; SOTO-HERNÁNDEZ, M. 2010. HPLC/MS analysis and anxiolytic-like effect of quercetin and kaempferol flavonoids from *Tilia americana* var. *mexicana*. *Journal of ethnopharmacology* 127:91-97.

- ALBUQUERQUE, A.A.; SORENSON, A.L.; LEAL-CARDOSO, J.H. 1995. Effects of essential oil of *Croton zehntneri*, and of anethole and estragole on skeletal muscles. *Journal of ethnopharmacology* 49:41-49.
- APG (ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP). 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- ARAÚJO-JUNIOR, V.T.; SILVA, M.S.; CUNHA, E.V.L.; AGRA, M.F.; ATHAYDE-FILHO, P.F.; VIEIRA, I.J.C.; BRAZ-FILHO, R. 2005. Muscicapines, a new class of guaiane-type sesquiterpene alkaloids from *Croton muscicapa*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16:553-557.
- AREVALO, C.; LOTTI, C.; PICCINELLI, A.L.; RUSSO, M.T.; RUIZ, I.; RASTRELLI, L. 2009. Magnoflorine and phenolic derivatives from the leaves of *Croton xalapensis* L. (Euphorbiaceae). *Natural product communications* 4:1697-1700
- BANTHORPE, D.V.; CHARLWOOD, B.V. 1972. Biogenesis of terpenes *In*: NEWMAN, A.A. *Chemistry of terpenes and terpenoids*. London: Academic Press Inc.
- BARBOSA, P.R.; FASCIO, M.; MARTINS, D.; ROQUE, N.F. 2004. Benzoyl-methylpolyols from *Croton* species (Euphorbiaceae). *Arkivoc* 2004:95-102.
- BARBOSA, P.R.; ABREU, A.; BATISTA, E.; GUILHON, G.; MULLER, A.; ARRUDA, M.; SANTOS, L.; ARRUDA, A.; SECCO, R. 2007. Glutarimide alkaloids and terpenoids from *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. *Biochemical Systematics and Ecology* 35:887-890.
- BATATINHA, M.J.; SOUZA-SPINOZA, H.; BERNARDI, M.M. 1995. *Croton zehntneri*: possible central nervous system effects of the essential oil in rodents. *Journal of ethnopharmacology* 45:53-57.
- BERRY, P. E.; HIPPI, A.L.; WURDACK, K.J.; VAN EE, B.; RIINA, R. 2005. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonaeae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and TRNL-TRNF DNA sequence data. *American Journal of Botany* 92:1520-1534.
- BLOCK, S.; FLAMINI, G.; BRKIC, D.; MORELLI, I.; QUENTIN-LECLERCQ, J. 2006. Analysis of the essential oil from leaves of *Croton zambesicus* Muell. Arg. growing in Benin. *Flavour and Fragrance Journal* 21:222-224.
- BOEHRINGER INGELHEIM DO BRASIL LTDA. 2010. <www.buscopan.com.br>
- BOYOM, F.F.; KEUMEDJIO, F.; DONGMO, P.M.J.; NGADJUI, B.T.; ZOLLO, P.H.A.; MENUT, C.; BESSIERE, J.M. 2002. Essential oils from *Croton zambesicus* Muell. Arg. growing in Cameroon. *Flavour and Fragrance Journal* 17:215-217.
- BRACHO, R.; CROWLEY, K.J. 1966. The essential oils of some venezuelan *Croton* species. *Phytochemistry* 5:921-926.

- BRASIL,D.S.; MULLER, A.H.; GUILHON, G.M.S.P.; ALVEZ, C.N.; SILVA, J.K.R.; MAIA, J.G.S. 2009. Essential oil composition of *Croton palanostigma* from north Brazil. *Journal of the Brazilian chemical society* 20:1188-1192.
- BRUNETON, J. 1995. *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants*. Paris: Lavoisier.
- BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L.; JÁGER, W.; PLANK, C.; DIETRICH, H. 1993. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. *Journal of Pharmaceutical sciences* 82:660-664
- CAI, Y.; EVANS, F.J.; ROBERTS, M.F., PHILLIPSON, J.D.; ZENK, M.H.; GLEBA, Y.Y. 1991. Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*. *Phytochemistry* 30:2033-2040.
- CAMARGO, M.T.L.A. 1998. *Plantas medicinais e de rituais afrobrasileiros II: estudo etnofarmacobotânico*. São Paulo: Ed. Ícone.
- CAMPOS, A.R.; ALBUQUERQUE, F.A.A.; RAO, V.S.N.; MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C. 2002. Investigation on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. *Fitoterapia* 73:116-120.
- CAPASSO, A.; PIACENTE, S.; DE TOMMASI, N.; RAGUCCI, M.; PIZZA, C. 2000. Constituents of *Croton menthodor* and their effects on electrically induced contractions of the guinea-pig isolated ileum. *Phytotherapy research : PTR* 14:156-159.
- CARNEIRO, H. 2002. *Amores e sonhos da flora: afrodisíacos e alucinógenos na botânica e na farmácia*. São Paulo: Xamã.
- CARUZO, M.B.R. 2005. *Estudo taxonômico e biogeográfico do gênero Croton L. (Euphorbiaceae) no Estado de São Paulo, Brasil*. (Dissertação de mestrado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP.
- CASSELS, B.; ASECIO, M.; CONGET, P.; SPEISKY, H.; VIDELA, L.A.; LISSI, E. 1995. Structure-antioxidative activity relationships in benzyloquinoline alkaloids. *Pharmacological Research* 31:103-107.
- CATALÁN, C.A.N.; HELUANI, C.S.; KOTOWICZ, C.; GEDRIS, T.E., HERZ, W. 2003. A linear sesterterpene , two squalene derivatives and two peptide derivatives from *Croton hieronymi*. *Phytochemistry* 64:625-629.
- CHAMPAGNE, D.E.; KOUL, O.; ISMAN, M.B.; SCUDDER, G.G.E.; TOWERS, G.H.N. 1992. Biological activities of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry* 31:377-394.
- CHAVES, F.C.M.; BIZZO, H.R.; ANGELO, P.C.S.; XAVIER, J.J.B.N.; SÁ SOBRINHO, A.F. 2006. Rendimento e composição química do óleo essencial de folhas de dois morfotipos de sacaca (*Croton cajucara* Benth.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 8:117-119.

- CHEN, Z.; CAI, Y.; PHILLIPSON, D. 1994. Studies on the anti-tumor, anti-bacterial and wound-healing properties of dragon's blood. *Planta Medica* 60:541-545.
- CHEN, K.; KO, F.; TENG, C.; WU, Y. 1996. Antiplatelet and Vasorelaxing Actions of Some Benzyloisoquinoline and Phenanthrene Alkaloids. *Journal of natural products* 59:531-534.
- CICCIO, J.F.; SEGNINI, M. 2002. Composition of the essential oil from leaves of *Croton jimenezii* from Costa Rica. *Journal of essential oil research* 14(5):357-360
- COELHO-DE-SOUZA, A.N.; BARATA, E.L.; MAGALHAES, P.J.C.; LIMA, C.C. 1997. Effects of the Essential Oil of *Croton zehntneri*, and its Constituent Estragole on Intestinal Smooth Muscle. *Phytotherapy Research* 11:299-304.
- COELHO-DE-SOUZA, A.N.; CRIDDLE, D.N.; LEAL-CARDOSO, J.H. 1998. Selective modulatory effects of the essential oil of *Croton zehntneri* on isolated smooth muscle preparations of the guinea-pig. *Phytotherapy Research* 12:189–194.
- COMPAGNONE, R.S.; CHAVEZ, K.; MATEU, E.; ORSINI, G.; ARVELO, F.; SUÁREZ, A.I. 2010. Composition and Cytotoxic Activity of Essential Oils from *Croton matourensis* and *Croton micans* from Venezuela. *Records of natural products* 4:101-108.
- CORDELL, G.A. 1981. *Introduction to alkaloids: a biogenetic approach*. New York: Wiley Interscience.
- CORDELL, G.A. 1993. Pharmacognosy – new roots for an old science. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.) *Studies in Natural Products Chemistry*, V.13. Elsevier Science Publishers B.V.
- CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE C.H.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W. 1978. Anise-Like Flavor of *Croton* aff. *zehntneri* Pax et Hoffm. *Journal of Agriculture and Food chemistry* 26:26-27.
- CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE C.H.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; DANTAS, T.N. 1980. Fixed and volatile constituents of *Croton* aff. *nepetifolius*. *Journal of natural products* 43:756-7.
- CRAVEIRO, A.A.; RODRIGUES, A.S.; ANDRADE C.H.; MATOS, F.J.; ALENCAR, J.W.; MACHADO, M.I.L. 1981. Volatile constituents of brazilian Euphorbiaceae genus *Croton*. *Journal of natural products* 44:602-608.
- CROTON RESEARCH NETWORK. 2001. <<http://www.botany.wisc.edu/croton/>>
- CUENDET, M.; PEZZUTO, J.M. 2008. Antitumor alkaloids in clinical use or in clinical trials. In: FATTORUSSO, E.; TAGLIATELLA-SCAFATI, O. (Eds.) *Modern alkaloids: structure, isolation, synthesis and biology*. Weinheim: Wiley-VHC Verlag GmbH & Co.
- CUI, W.; IWASA, K.; TOKUDA, H.; KASHISHARA, A.; MITANI, Y.; HASEGAWA, T.; NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; NISHINO, H.; HANAOKA, M.; MIKAI, C.; TAKEDA, K. 2006. Potential cancer

chemopreventive activity of simple isoquinolines, 1-benzylisoquinolines, and protoberberines. *Phytochemistry* 67:70-79.

- CZYGAN, F.C.1982. Ätherische Öle – kulturhistorisch betrachtet. In: KUBECZKA, K.H. (Ed.) *Ätherische Öle: Analytik, Physiologie, Zusammensetzung*. Stuttgart : G. Thieme.
- DE MARINO, S.; GALA, F.; ZOLLO, F.; VITALLINI, S.; GELSOMINA, F.; VISIOLI, F.; IORIZZI, M. 2008. Identification of minor secondary metabolites from the latex of *Croton lechleri* (Muell.Arg.) and evaluation of their antioxidant activity. *Molecules* 13:1219-1229.
- DESMARCHELIER, C.; SCHAUS, F.W.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. 1997. Effects of Sangre de Drago from *Croton lechleri* Muell.Arg. on the production of active oxygen radicals. *Journal of ethnopharmacology* 58:103-8.
- DEWICK, P.M. 2002. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. (2.Ed.) Baffins Lane, England: John Wiley & Sons Ltd.
- DIAS, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G.; NOGUEIRA, P.C.L. 2006. Volatile Constituents of the Leaves of *Croton sellowii* Baill (Euphorbiaceae). *Journal of Essential Oil Research* 18:360-361.
- DOURADO, R.C.M.; SILVEIRA, E.R. 2005. Preliminary Investigation on the Volatile Constituents of *Croton sonderianus* Muell.Arg. : habitat , plant part and harvest time variation. *Journal of Essential Oil Research* 17:36-40.
- EDWARDS-JONES, G.; DAVIES, B.; HUSSAIN S. 2000. *Ecological economics*. Blackwell, Oxford.
- EL BABILI, F.; FOURASTE, I.; MOULIS, C.; BESSIERE, J.M.; ROQUES, C.; HADDIOUI, L. 2009. Essential Oil of Leaves of *Croton campestris* St . Hilaire, its secretory elements , and its biological activity. *Journal of Essential Oil Research* 21:272-276.
- FALCÃO, H.S.; LIMA, I.O.; SANTOS, V.L.; DANTAS, H.F.; DINIZ, M.F.F.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BATISTA, L. M. 2005. Review of plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 15:381-391.
- FARAG, R.S.; SHALABY, A.S.; EL-BAROTY, G.A.; IBRAHIM, N.A.; ALI, M.A.; HASSAN, E.M. 2004. Chemical and biological evaluation of the essential oils of different *Melaleuca* species. *Phytotherapy research : PTR* 18:30-35.
- FARIAS, R.A.F.; RAO, V.S.N.; VIANA, G.S.B.; MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C. 1997. Hypoglycemic effect of *trans*-dehydrocrotonin, a nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Medica* 63:558-560.
- FARNSWORTH, N.R.; BLOMSTER, R.N.; MESSMER, W.M.; KING, J.C.; PERSINOS, G.J.; WILKES, J.D. 1969 A phytochemical and biological review of the genus *Croton*. *Lloydia* 32:1-28

- FARNSWORTH, N.R.; MORRIS, R.W. 1976. Higher plants – the sleeping giant of drug development. *American Journal of Pharmacy* 148: 46-52.
- FISCHER, N.H. 1991. Plant terpenoids as allelopathic agents. In: HARBORNE, J.B.; TOMAS-BARBERAN, F.A. (Eds.) *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. New York : Oxford University Press.
- FISCHER, N.H. 1994. In search of allelopathy in the Florida scrub: the role of terpenoids. *Journal of chemical ecology* 20:1355-1380.
- GERSHENZON, J. 1994a. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. *Journal of Chemical Ecology* 20:1281-1328.
- GERSHENZON, J. 1994b. The cost of plant chemical defense against herbivory: a biochemical perspective. In: BEMAYS, E.A. (Ed.). *Insect-Plant Interactions*, Vol. V. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- GIANG, P.M.; JUNG, J.L.; PHAN, T.S. 2004. Flavonoid glycosides from the leaves of *Croton tonkinensis* Gagnep., Euphorbiaceae. *Journal of chemistry* 42:125 - 128.
- GONZÁLEZ-VÁZQUEZ, R.; DÍAZ, B.K.; AGUILAR, M.I.; DIEGO, N.; LOTINA-HENNSEN, B. 2006. Pachypodol from *Croton ciliatoglanduliferus* Ort. as water-splitting enzyme inhibitor on thylakoids. *Journal of agricultural and food chemistry* 54:1217-1221.
- GOTTLIEB, O.R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; ROCHA, A.I.; SILVA, M.; L.; WILBERG, V.C. 1981. Óleos essenciais da Amazônia VII. *Acta Amazonica* 11: 143-148.
- GOVAERTS, R.; FRODIN, D.G.; RADCLIFFE-SMITH A. 2000. World checklist of Euphorbiaceae (and Pandaceae) v. 2 Euphorbiaceae: *Croton* to *Excoecariopsis*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- GRACE, M.H. 2002. Chemical Composition and Biological Activity of the Volatiles of *Anthemis melampodina* and *Pluchea dioscoridis*. *Phytotherapy Research* 185:183-185.
- GRASSI-KASSISSE D.M.; WOLF-NUNES V.; MIOTTO, A.M.; FARIAS-SILVA, E.; BRITO, A.R.M.S.; NUNES, D.S.; SPADARI-BRATFISCH, R.C. 2003. Sensitivity to β -adrenoceptor agonists of adipocytes from rats treated with an aqueous extract of *Croton cajucara* Benth. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 55: 253-257.
- GUERRERO, M.F.; PUEBLA, P.; CARRÓN, R.; MARTÍN, M.L.; SAN ROMÁN, L. 2002. Quercetin 3,7-dimethyl ether : a vasorelaxant isolated from *Croton schiedeana* Schlecht. *Pharmacy and Pharmacology* 54:1373-1378.
- GUPTA, D.; BLEAKLEY, B.; GUPTA, R.K. 2008. Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses. *Journal of ethnopharmacology* 115:361-80.

- GUPTA, M.B.; BHALLA, T.N.; GUPTA, G.P.; MITRA, C.R.; BHARGAVA, K.P. 1969. Anti-inflammatory activity of natural products (I) triterpenoids. *European Journal of Pharmacology* 6:67-70.
- HARBORNE, J.B.; MABRY, T.J. (Eds.) 1982. *The Flavonoids: Advances in Research*. London: Chapman & Hall.
- HELUANI, C.S.; CATALÁN, C.A.; HERNÁNDEZ, L.R.; BURGUEÑO-TAPIA, E.; JOSEPH-NATHAN, P. 2000. Three new diterpenoids based on the novel sarcopetalane skeleton from *Croton sarcopetalus*. *Journal of natural products* 63:222-5.
- HELUANI, C.S.; LAMPASONA, M.P.; VEJA, M.I.; CATALAN, C.A.N. 2005. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Leaf and Root Oils from *Croton hieronymi* Griseb . *Journal of Essential Oil Research* 17:351-353.
- HERNANDEZ, J.; DELGADO, G. 1992. Terpenoids from aerial parts of *Croton draco*. *Fitoterapia* 63: 377-378.
- HESSE, M. 2002. *Alkaloids: nature's curse or blessing?*. Zürich: Verlag Helvetica Chimica Acta.
- HIRUMA-LIMA, C.; GRACIOSO, J.S.; RODRÍGUEZ, J.A.; HAUN, M.; NUNES, D.S. ;SOUZA BRITO, A.R.M. 2000. Gastroprotective effect of essential oil from *Croton cajucara* Benth. (Euphorbiaceae). *Journal of ethnopharmacology* 69(3):229-34.
- HOLLMAN, P.C.H.; HERTOOG, M.G.L.; KATANC, M.B. 1996. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry* 57:43-46.
- ITOKAWA, H.; ICHIHARA, Y.; MOCHIZUKI, M.; ENOMORI, T.; MORITA, H.; SHIROTA, O.; INAMATSU, M.; TAKEYA, K. 1991. Cytotoxic substance from Sangre de Grado. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 39:1041-1042.
- JONES, K. 2003. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*)- a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research. *Journal of alternative and complementary medicine* 9:877-896.
- KREBS, H.; RAMIARANTSOA, H. 1997. Clerodane diterpenes of *Croton hovarum*. *Phytochemistry* 45:379-381.
- KOSTOVA, I.; IOSSIFOVA, T.; ROSTAN, J.; KRAUS, W.; VOGLER, B.; NAVAS, H. 1999. Chemical and biological studies on *Croton panamensis* (Dragon's blood). *Pharmaceutical and Pharmacological Letters* 9:34-36.
- LAGNIKA, L.; WENIGER, B.; VONTHRON-SENECHEAU, C.; SANNI, A. 2009. Antiprotozoal activities of compounds isolated from *Croton lobatus* L. *African Journal of Infectious Diseases* 3:1-5.

- LAHLOU, M. 2004. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and Fragrance Journal* 19:159-165.
- LAHLOU, M.; BERRADA, R. 2001. Cercaricidal activity of the Moroccan medicinal plants. *Therapie* 56:441-442
- LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J.H.; MAGALHÃES, R.J.C. 1999 Cardiovascular effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* in rats: Role of the autonomic nervous system. *Planta Medica*, 65: 553-557.
- LANGENHEIM, J.H. 1994. Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles. *Journal of chemical ecology* 20:1223-1280.
- LEGAULT, J.; DAHL, W.; DEBITON, E.; PICHETTE, A.; MALDEMONT, J. 2003. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by alpha-humulene as possible mechanism of action. *Planta medica* 69:402-407.
- LENCINA, C.; PIRES, V.S.; GOSMANN, G.; TAKETA, A.T.C.; SCHENKEL, E.P. 2001. Tilirosideo em *Croton gnaphalii* Baill. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 11:89–93.
- LIMA, L.R. 2001a. *O gênero Croton L. (Euphorbiaceae) na Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brasil.* (Dissertação de mestrado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP.
- LIMA, E.O. 2001b. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. (Orgs.) *Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal*. Chapecó: Argos.
- LIMA, L.R. 2006. *Estudos taxonômicos em Croton seção Lamprocroton (Müll.Arg.) Pax. (Euphorbiaceae).* (Tese de doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP.
- LIU, J. 1995. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology* 49:57-68.
- LOPES, D.; BIZZO, H.R.; SOBRINHO, A.F.S. 2000. Linalool-rich essential oil from leaves of *Croton cajucara* Benth. *Journal of essential oil research* 12:705-708.
- LOPES, D.; BIZZO, H.R.; SOBRINHO, A.F.S.; PEREIRA, M.V.G. 2003. Essential oil from leaves of *Croton sacaquinha* Benth. *Journal of essential oil research* 15:48-49.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; BRABO, S.N.; SILVA, M.N. 1998. Terpenoids from *Croton cajucara*. *Phytochemistry* 49:823-828.

- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; ARRUDA, A.C.; PAMPLONA, S.G.S.R.; VANDERLINDE, F.A.; LAPA, A.J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N.F.; COLUS, I.M.S.; FARIAS, R.A.F.; LUNA COSTA, A.M.; RAO, V.S.N. 2000. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of ethnopharmacology* 70:41-55.
- MACIEL M.A.M; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. 2002. Medicinal plants: The need for multidisciplinary scientific studies. *Química Nova* 25: 429-438.
- MAGALHÃES, P.J.C.; CRIDDLE, D.N.; TAVARES, R.A.; MELO, E.M.; MOTA, T.L.; LEAL-CARDOSO, J.H. 1998. Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and terpineol. *Phytotherapy Research* 12:172-177.
- MAHATO, S.B.; SARKAR, S.K.; PODDAR, G. 1988. Triterpenoid saponins. *Phytochemistry* 27:3037-3067
- MALHEIROS, A.; PERES, M.T.L.P. 2001. Alelopatia: interações químicas entre as espécies. . In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. (Orgs.) *Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal*. Chapecó: Argos.
- MARÍN, F.R.; FRUTOS, M.J.; PÉREZ-ALVAREZ J.A.; MARTINEZ-SÁNCHEZ F.; DEL RÍO, J.A. 2002. Flavonoids as nutraceuticals: structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed.) *Studies in Natural Products Chemistry* V.26. Elsevier Science BV.
- MARTINS, A.P.; SALGUEIRO, L.R.; GONÇALVES, M.J.; VILA, R.; TOMI, F.; ADZET, T.; CUNHA, A.P.; CAÑIGUERAL, S.; CASANOVA, J. 2000. Antimicrobial activity and chemical composition of the bark oil of *Croton stellulifer*, an endemic species from S. Tomé e Príncipe. *Planta medica* 66:647-650.
- MECCIA, G.; ROJAS, L.B.; ROSQUETE, C.; SAN FELICIANO, A. 2000. Essential oil of *Croton ovalifolius* Vahl from Venezuela. *Flavour and Fragrance Journal* 15:144-146.
- MILANOWSKI, D.J.; WINTER, R.E.K.; ELVIN-LEWIS, M.P.F.; LEWIS, W.H. 2002. Geographic distribution of three alkaloid chemotypes of *Croton lechleri*. *Journal of natural products* 65:814-9.
- MORAIS, S.M.; CATUNDA JÚNIOR, F.E.A.; SILVA, A.R.A.; MARTINS NETO, J.S.; RONDINA, D.; LEAL-CARDOSO, J.H. 2006. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. *Química nova* 29:907-910.
- MORENO, P.R.H.; LIMA, M.E.L.; CARUZO, M.B.R.; TORRES, D.S.C.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M.C.M. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Croton heterocalyx* Baill . (Euphorbiaceae s.s.) leaves. *Journal of Essential Oil Research* 21:190-192.

- MORIN E. 1996. *Ciência com consciência*. Rio de Janeiro, RJ : Bertrand Brasil.
- MORTON, A.G. 1981. *History of botanical science: an account of the development of botany from ancient times to present day*. London: Academic Press.
- MURILLO, R.M.; JAKUPOVIC, J.; RIVERA, J.; CASTRO, V.H. 2001. Diterpenes and other constituents from *Croton draco* (Euphorbiaceae). *Revista de Biologia Tropical* 49:259-264
- NARDI, G.M.; FELIPPI, R.; DALBO, S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.M.; ARRUDA, D.C.; MONACHE, F.D.; TIMBOLA, A.K.; PIZZOLATTI, M.G.; CKLESS, K.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M. 2003. Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* bark. *Phytomedicine* 10:176-184.
- NARDI, G.M.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.M.; MONACHE, F.D.; PIZZOLATTI, M.G.; CKLESS, K.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M. Nardi, Nardi, G M. 2007. Antioxidant and anti-inflammatory effects of products from *Croton celtidifolius* Baill. on carrageenan-induced pleurisy in rats. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 14:115-122.
- OROZCO-TOPETE, R.; SIERRA-MADERO, J.; CANO-DOMINGUEZ, C.; KERSHENOVICH, J.; ORTIZ-PEDROZA, G.; VAZQUEZ-VALLS, E.; GARCIA-COSIO, C.; SORIA-CORDOBA, A.; ARMENDARIZ, A.M.; TERAN-TOLEDO, X.; ROMO-GARCIA, J.; FERNANDEZ, H.; ROZHON, E.J. 1997. Safety and efficacy of Virend for topical treatment of genital and anal herpes simplex lesions in patients with AIDS. *Antiviral Research* 35:91-103.
- PALMEIRA JUNIOR, S.F.; CONSERVA, L.M.; SILVEIRA, E.R. 2005. Two clerodane diterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16:1420-1424.
- PALMEIRA JUNIOR, S.F.; ALVES, V.L.; MOURA, F.S.; VIEIRA, L.F.A.; CONSERVA, L.M. LEMOS, R.P. 2006. Constituintes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16:397-402.
- PERES, M.T.P.; MONACHE, F.D.; CRUZ, A.B.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A. 1997. Chemical composition and antimicrobial activity *Croton urucurana* Baill (Euphorbiaceae). *Journal of ethnopharmacology* 56:223-226.
- PERES, M.T. P.; MONACHE, F.D.; PIZZOLATTI, M.G.; SANTOS, A.R.S.; BEIRITH, A.; CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A. 1998a. Analgesic compounds of *Croton urucurana* Baillon. pharmac-chemical criteria used in their isolation. *Phytotherapy Research* 12:209-211.
- PERES, M.T. P.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; MONACHE, F.D. 1998b. Clerodane diterpenes of *Croton urucurana*. *Phytochemistry* 49:171-174.

- PETTIT, R.; DIAS, R. 1969. Conversion of tetracyclic triterpenes to steroids. *Canadian journal of chemistry* 47: 1091-1092
- PIETERS, L.; DE BRUYNE, T.; CLAEYS, M.; VLIETINCK, A.; CALOMME, M.; VAN DER BERGHE, D. 1993. Isolation of a dihydrobenzofuran lignan from South American Dragon's blood (*Croton* spp.) as an inhibitor of cell proliferation. *Journal of Natural Products* 56:899-906.
- PINO, J.A.; MARBOT, R.; PAYO, A.; HERRERA, P. 2006. Volatile leaf oils from cuban euphorbiaceae: *Croton rosmarinoides* Millsp., *Croton litoralis* Urb., *Croton spiralis* Muell. Arg. and *Croton myricifolius* Griseb. *Journal of essential oil* 260:256-260.
- PIO-CORRÊA, M. 1974. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Vol. 5. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional.
- PUEBLA, P.; CORREA, S.X.; GUERRERO, M.; CARRON, R.; SAN FELICIANO, A. 2005. New cis-clerodane diterpenoids from *Croton schiedeana*. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 53:328-329.
- QUINTYNE-WALCOTT, S.; MAXWELL, A.R.; REYNOLDS, W.F. 2007. Crotogossamide, a cyclic nonapeptide from the latex of *Croton gossypifolius*. *Journal of natural products* 70:1374-1376.
- RADULOVIC, N.; MANANJARASOA, E.; HARINANTENAINA, L.; YOSHINORI, A. 2006. Essential oil composition of four *Croton* species from Madagascar and their chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology* 34:648-653.
- RAFFAUF R.F. 1970. *A Handbook of alkaloids and alkaloid containing plants*. New York : Wiley-Interscience.
- REN, Z.; GOULD, M.N. 1998. Modulation of small G protein isoprenylation by anticancer monoterpenes in *in situ* mammary gland epithelial cells. *Carcinogenesis* 19:827-832.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.J.; PANANGA, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20:933-956.
- RÍOS, J.L.; MAÑEZ, S.; GINER, R.M.; RECIO, M.C. 2000 Biological activity of aporphinoid alkaloids. In: CORDELL, G.A. (Ed.) *The alkaloids*. V.53. San Diego: Academic Press.
- RISCO, E.; GHIA, F.; VILA, R.; IGLESIAS, J.; ALVAREZ, E.; CANIGUERAL, S. 2003. Immunomodulatory activity and chemical characterization of sangre de drago (Dragon's blood) from *Croton lechleri*. *Planta Medica* 69:785-794.
- ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. 1997. Analytical Chemistry of fruit bioflavonoids: a review. *Analyst* 122:11R-34R.

- ROSA, S.S.; MENDONÇA-FILHO, R.; BIZZO, H.R.; RODRIGUES, I.A.R.; SOARES, R.M.A.; SOUTO-PADRÓN, T.; ALVIANO, C.S.; LOPES, A.H.C. 2003. Antileishmanial Activity of a Linalool-Rich Essential Oil from *Croton cajucara*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 47:1895-1901.
- ROSS, J.D.; SOMBRERO, C. 1991. Environmental control of essential oil production in Mediterranean plants. In: HARBORNE, J.B.; TOMAS-BARBERAN, F.A. (Eds.) *Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids*. New York : Oxford University Press.
- ROSSI, D.; BRUNI, R.; BIANCHI, N.; CHIARABELLI, C.; GAMBARI, R.; MEDICI, A.; LISTA, A.; PAGANETTO, G. 2003. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* (Muell.Arg.) latex. *Phytomedicine* 10(2-3):139-144
- SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F.; NEGRI, G. 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian chemical society* 18(1):11-33.
- SCHULTES, R.E. 1972. The future of plants as sources of new biodynamic compounds. In: SWAIN, T. (Ed.) *Plants in the development of modern science*. Cambridge: Harvard University Press.
- SCHULTES, R.E.; HOFMANN, A. 2000. *Plantas de los dioses*. (2.Ed.) Mexico DF: Fondo de cultura económica.
- SEIGLER, D.S. 1994. Phytochemistry and systematics of the Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:380.
- SHAMMA M. 1972. *The isoquinoline alkaloids: chemistry and pharmacology*. London: Academic Press Inc. Ltd.
- SIMIONATTO, E.; BONANI, V.F.L.; MOREL, A.F.; ROPPI, N.R.; RAPOSO JUNIOR, J.L.; STUKER, C.Z.; PERUZZO, G.M.; PERES, M.T.L.P.; HESS, S.C. 2007. Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon. (Euphorbiaceae) stem bark. *Journal of the Brazilian chemical society* 18:879-885.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. 2008. *Botânica sistemática*. (2.Ed.) Nova Odessa: Instituto Plantarum.
- SUAREZ, A.; BLANCO, Z.; MONACHE, F.D.; COMPAGNONE, R.S.; ARVELO, F. 2004. Three new glutarimide alkaloids from *Croton cuneatus*. *Natural Product Research* 18:421-426
- SUÁREZ, A.I.; ALIRICA, I.; VÁSQUEZ, L.J.; MANZANO, M.A.; COMPAGNONE, R.S. 2005. Essential oil composition of *Croton cuneatus* and *Croton malambo* growing in Venezuela. *Flavour and Fragrance Journal* 20:611-614.
- SUMNER, J. 2000. *The natural history of medicinal plants*. Portland: Timber Press.

- SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A.; NAGAU, F.; LEGAULT, J. 2006. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *Journal of ethnopharmacology* 103:99-102.
- TEL, G.; OZTURK, M.; DURU, M.E.; HARMANDAR, M.; TOPÇU, G. 2010. Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and chemical toxicology* 48:3189-3193.
- TEMPLETON, W. 1969. *An introduction to the chemistry of terpenoids and steroids*. London: Butterworths.
- TIEPPO, M.; PORAWSKI, M.; SALVADOR, M.; MOREIRA, A.J.; COLLADO, P.S; GONZÁLEZ-GALLEGU, J.; MARRONI, N.P. 2006. *Croton cajucara* Benth. leaf extract scavenges the stable free radical DPPH and protects against oxidative stress induced by paraquat. *Biological & pharmaceutical bulletin* 29(1):161-5.
- TSACHEVA, I.; ROSTAN, J.; IOSSIFOVA, T.; VOGLER, B.; ODJAKOVA, M.; NAVAS, H.; KOSTOVA, I.; KOJOUHAROVA, M.; KRAUS, W. 2004. Complement Inhibiting Properties of Dragon's Blood from *Croton draco*. *Zeitschrift fuer Naturforschung* 59c:528-532.
- VAISBERG, J.A.; MILLA, M.; PLANAS, M.C.; CORDOVA, J.L.; DE AUGUSTI, E.R.; FERREYRA, R.; MUSTIGA, M.C.; CARLÍN, R.; HAMMOND, G.B. 1989. Taspine is the cicatrizant principle in sangre de drago extracted from *Croton lechleri*. *Planta Medica* 55:140-143.
- VASCONCELLOS, A.G.; BRANQUINHO, F.B.; SÁNCHEZ, C.; LAGE, C.L.S. 2002. Fitofármaco, fitoterápico, plantas medicinais: o reducionismo e a complexidade na produção do conhecimento científico. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 12:103-105.
- VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova* 28(3): 519-528.
- VICKERY, M.L.; VICKERY, B. 1981. *Secondary plant metabolites*. London: The Macmillan Press Ltd.
- WAGNER, H.; HORHAMMER, L.; KIRALY, I.C. 1970. Flavon-C-Glykoside in *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 9:897.
- WEBSTER, G.L. 1993. A Provisional Synopsis of the Sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 42:793-823.
- WILLIAMS, L.; EVANS, P.E.; BOWERS, W.S. 2001. Defensive chemistry of an aposematic bug, *Pachycoris stallii* Uhler and volatile compounds of its host plant *Croton californicus* Muell.Arg. *Journal of Chemical Ecology* 27:203-216.

- WILLIAMS, R.J.; SPENCER, J.P.E.; RICE-EVANS, C. 2004. Flavonoids and Isoflavones (phytoestrogens): absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine* 36:838-849.
- ZHANG, H.Y.; HU, C.X.; LIU, C.P.; LI, H.F.; WANG, J.S.; YUAN, K.L.; TANG, J.W.; XU, G.W. 2007. Screening and analysis of bioactive compounds in traditional Chinese medicines using cell extract and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 43:151-157.
- ZOU, G.; SU, Z.; ZHANG, H.; WANG, Y.; YANG, J.; ZOU, Z. 2010. Flavonoids from the stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. *Molecules* 15:1097-1102.

Capítulo 1 - Principais componentes de óleos voláteis de espécies nativas *Croton* L. (EUPHORBIACEAE)

INTRODUÇÃO

Euphorbiaceae é uma das famílias mais diversas entre as angiospermas. Pode-se dizer que a variabilidade morfológica inerente à família também se reflete em seus aspectos químicos (SEIGLER, 1994). O gênero *Croton*, um dos gigantes entre as Euphorbiaceae, com cerca de 1300 espécies, faz jus às supracitadas características gerais da família. É amplamente distribuído em regiões tropicais e subtropicais do mundo (GOVAERTS *et al.*, 2000; WEBSTER, 1993), ocorrendo nos mais diversos habitats, com hábitos herbáceos, arbustivos, arbóreos e até lianescentes (SECCO, 1994). O gênero também é quimicamente bastante variado, com ocorrência de diterpenos, triterpenos, alcalóides, flavonóides e substâncias voláteis como monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides.

No Brasil há aproximadamente 300 espécies, muitas utilizadas como medicinais por populações locais ou mesmo em larga escala, como é o caso da sacaca (*Croton cajucara* Benth.; MACIEL *et al.*, 2000) e de algumas espécies de látex vermelho (CAI *et al.*, 1991; CHEN *et al.*, 1994; PERES *et al.*, 1998; NARDI *et al.*, 2003; JONES, 2003; SIMIONATTO *et al.*, 2007; GUPTA *et al.*, 2008). No nordeste, muitas espécies são aromáticas (CRAVEIRO *et al.*, 1981; MORENO *et al.*, 2009). Em geral, nas espécies brasileiras, mono e sesquiterpenos são os compostos voláteis mais abundantes, com exceção de *C. zehntneri* Pax et Hoffm., para a qual foram propostas as variedades químicas “eugenol” e “anetol” (CRAVEIRO *et al.*, 1978, 1980, 1981).

O presente trabalho visa à caracterização dos óleos voláteis de sete espécies brasileiras de *Croton* através da identificação dos componentes principais, contribuindo assim para o conhecimento da química do gênero. Esses dados podem indicar eventuais potenciais farmacológicos, assim como padrões para o gênero ou para uma espécie, o que futuramente poderá ser útil no estabelecimento de relações infragenéricas no grupo.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho, foram utilizadas folhas e, quando disponíveis, caules de espécies brasileiras de *Croton*, conforme Tabela 1. As espécies foram identificadas pela Profa Dra Inês Cordeiro, do Instituto de Botânica de São Paulo, e Profa Dra Letícia Ribes de Lima, da Universidade Federal de São Carlos. Vouchers foram depositados no herbário do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Tabela 1 – Descrição do material utilizado

Voucher	Espécime	Seção*	Local de coleta	folha / caule
LRL 258	<i>C. betulaster</i> Müll.Arg.	<i>Barhamia</i>	Rio de Contas – BA	F
LRL 276	<i>C. glutinosus</i> Müll.Arg.	<i>Barhamia</i>	Mucugê – BA	F
LRL 305	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Bagé – RS	F/C
LRL 308	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Guaíba – RS	F/C
LRL 322	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Palmares do Sul – RS	F/C
LRL 311	<i>C. cf montevidensis</i> Spreng.	<i>Codonocalyx</i>	Guaíba – RS	F/C
Cordeiro 3143	<i>C. grandivolum</i> Baill.	<i>Velamea</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C
Cordeiro 3140	<i>C. antisiphiliticus</i> Mart.	<i>Ocalia</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C

Tabela 1 – Descrição do material utilizado (cont.)

Voucher	Espécime	Seção*	Local de coleta	folha / caule
Cordeiro 3229	<i>C. hemiargyreus</i> Müll.Arg.	<i>Cleodora</i>	Caldas – MG	F/C
SE Martins 1280	<i>C. hemiargyreus</i> Müll.Arg.	<i>Cleodora</i>	São José do Barreiro – SP	F/C
Cordeiro 3021	<i>C. antisiphiliticus</i> Mart.	<i>Ocalia</i>	Santana do Riacho / Serra do cipó - MG	F/C
Cordeiro 3140	<i>C. antisiphiliticus</i> Mart.	<i>Ocalia</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C

*sensu WEBSTER, 1993

A extração dos óleos foi feita com 1 g de material seco e pulverizado, por hidrodestilação em extrator Clevenger por 6 horas. O óleo final foi recolhido em 1mL de éter etílico e submetido a cromatografia a gás/ espectrometria de massas (CG/EM). Para as análises em CG/EM, foi utilizado um aparelho Agilent 6850/Agilent 5975C, coluna capilar DB5 HT (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), He como gás de arraste com fluxo de 1 mL min⁻¹. Temperaturas do injetor e do detector em 250 °C. Foi utilizada a seguinte programação de temperaturas da coluna: 1 min, 40 °C; elevação de 6°C min⁻¹ até de 40 a 100°C; elevação de 3,0 °C min⁻¹ até 165 °C; elevação de 10,0 °C min⁻¹ até 210 °C, modo splitless. Para identificação das substâncias, foram utilizados os espectros de massas correspondentes às bandas dos cromatogramas e calculados os índices de retenção com base em padrões de *n*-alcanos. Os espectros de massas foram comparados com os dados da biblioteca NBS/NIST e da literatura, assim como os índices de retenção calculados (Adams, 2009).

Foram considerados nesta análise apenas os picos com porcentagem relativa (PR)>1% e aqueles com PR<1% que puderam ser precisamente identificados.

RESULTADOS

A quantidade de óleo obtida nos extratos foi bastante baixa, devido à pequena quantidade de material utilizada para extração (1g), de forma que não é possível descrever características físicas visíveis do óleo, como coloração, nem o teor de óleos das amostras. Ao manuseio, nenhuma das espécies chamou muito a atenção por seu aroma (apesar de ser notável em grande parte das folhas), exceto *C. cf montevidensis*, com aroma bem marcante tanto nas folhas como no caule.

As folhas de todas as espécies analisadas apresentaram componentes típicos de óleos voláteis, exceto *C. antisiphiliticus* 3140. É notável também a baixa quantidade de substâncias voláteis na outra amostra de *C. antisiphiliticus* (3021, figura 1), em comparação aos materiais das demais espécies. Nos caules, as substâncias voláteis são, de forma geral, mais escassas e em alguns casos (*C. antisiphiliticus* 3140, *C. cf pycnocephalus* 322, *C. grandivelum* 3143) não foram detectados terpenos, fenilpropanóides ou quaisquer outras substâncias voláteis (Tabelas 2 e 3).

Figura 1: Cromatogramas dos óleos voláteis de *Croton antisiphiliticus* (amostra 3021). A: FOLHA: 1) α-pineno; 2) β-pineno; 3) elixeno; 4) espatulenol. B: CAULE: 1) sabineno; 2) β-pineno.

A ausência de fenilpropanóides é compartilhada por todas as espécies analisadas, tanto em caules como em folhas. Monoterpenos, como α -pineno e β -pineno, são comuns e abundantes em alguns casos, como *C. betulaster* (α -pineno 6,96%, figura 2), *C. cf pycnocephalus* 305 (β -pineno 14,99%, figura 3) e *C. cf pycnocephalus* 308 (α -pineno 7,82%, β -pineno 9,46%, figura 3). β -pineno (50,67%) e sabineno (49,33%) são componentes majoritários do óleo do caule de *C. antisiphiliticus* 3021 (figura 1).

Figura 2 - Cromatogramas do óleos voláteis de folhas de *Croton betulaster* (A) e *Croton glutinosus* (B). A: 1) α -pineno; 2) 8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclo-deca-1,5-dieno; 3) β -cariofileno; 4) α -cariofileno; 5) β -selineno; 6) α -selineno; 7) benzoato de benzila; B: 1) Isômero do β -elemeno; 2) β -elemeno; 3) β -cariofileno; 4) γ -muuroleno; 5) germacreno D; 6) α -selineno; 7) δ -cadineno.

Figura 3 - Cromatogramas dos óleos voláteis de *Croton cf pycnocephalus*, amostras 305 (A: folha e C: caule) e 308 (B: folha e D: caule). A: FOLHA (305): 1) sabineno; 2) β -pineno; 3) β -cariofileno; 4) α -cariofileno; 5) elixeno; 6) espatulenol; B: FOLHA (308): 1) α -pineno; 2) β -pineno; 3) β -cariofileno; 4) α -cariofileno; 5) elixeno; 6) espatulenol; C: CAULE (305): 1) β -cariofileno; D: CAULE (308): 1) β -cariofileno.

Os componentes voláteis principais obtidos das folhas de *C. cf pycnocephalus* 322 são sesquiterpenos não identificados (figura 4). A predominância de sesquiterpenos

caracteriza todas as espécies, entre os mais conspícuos β -cariofileno e germacreno D, e o sesquiterpeno oxigenado espatulenol (Tabelas 2 e 3).

Figura 4 - Cromatograma do óleo obtido de folhas de *Croton cf. pycnocephalus* (amostra 322, lembrando que nenhuma substância volátil foi detectada no óleo obtido do caule dessa amostra). Principais bandas: 1) α -pineno; 2) β -pineno; 3) sesquiterpeno não identificado (NI) com espectro de massas (EM) correspondente; 4) γ -muuroleno; 5) sesquiterpeno NI com EM correspondente; 6) elixeno; 7) sesquiterpeno oxigenado NI com EM correspondente; 8) espatulenol; 9) sesquiterpeno oxigenado NI; 10) τ -cadinol (epi- α -cadinol).

Algumas substâncias ainda não relatadas para o gênero foram detectadas. O sesquiterpeno 8-isopropenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno (figura 5) é abundante em *C. betulaster* (nas folhas 21,25%, figura 2) e *C. hemiargyreus* (nas folhas 9,55% e 3,99%; no caule 16,06% em uma das amostras, figura 6).

Figura 5 – Espectro de massas do sesquiterpeno 8-isopropenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno (banda número 2 do cromatograma acima – Figura 1)

Figura 6 - Cromatogramas dos óleos *Croton hemiargureus*, amostras 1280 (A: folhas e C: caule) e 3229 (B: folhas). A: FOLHAS (1280): 1) 8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno; 2) germacreno D; 3) elixeno; 4) sesquiterpeno não identificado (NI); B: FOLHAS (3229): 1) 8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno; 2) trans- α -bergamoteno; 3) germacreno D; 4) γ -cadineno; 5) τ -cadinol; C: CAULE (1280): 1) 8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno; 2) germacreno D; 3) elixeno (lembrando que nenhuma substância volátil foi detectada no óleo obtido do caule da amostra 3229).

Elixeno é o componente majoritário dos óleos de folhas de *C. antisiphiliticus* 3021 (98%, figura 1) e *C. grandivelum* 3143 (em termos de porcentagem relativa = 52,67%, figura 7).

Figura 7 - Cromatograma do óleo obtido de folhas de *Croton grandivelum* (amostra 3143, lembrando que nenhuma substância volátil foi detectada no óleo obtido do caule dessa amostra). Principais bandas: 1) β-cariofileno; 2) elixeno.

Ledol, um sesquiterpeno oxigenado até hoje não detectado em *Croton* (figura 8), é predominante no caule (77,41%) e folhas (18,08%) de *C. cf montevidensis* (figura 9).

Figura 8 — Espectro de massas do sesquiterpeno oxigenado ledol (principal componente dos óleos voláteis obtidos de folhas e caule de *Croton cf montevidensis*, amostra 311, figura 9).

Figura 9 - Cromatogramas dos óleos voláteis obtidos de *Croton cf montevidensis* (amostra 311, A: folhas e B: caule). A: 1) α -pineno; 2) β -pineno; 3) β -cariofileno; 4) aromadendreno; 5) γ -muuroleno; 6) elixeno; 7) δ -cadineno; 8) espatulenol; 9) ledol; 10) τ -cadinol (epi- α -cadinol); B: 1) β -elemeno; 2) δ -cadineno; 3) ledol; 4) τ -cadinol (epi- α -cadinol).

DISCUSSÃO

De forma geral, as folhas apresentam maior quantidade e diversidade de componentes voláteis em relação aos caules ou “cascas”. Com frequência, demonstrou-se que essas substâncias estão associadas a comunicação e mecanismos de defesa nas plantas (McGARVEY & CROTEAU, 1995; HARBORNE, 1982). Admitindo-se a hipótese de que a herbivoria seja uma força seletiva primária agindo sobre a produção de metabólitos secundários (STAMP, 2003) é plausível que folhas tenham maior quantidade de compostos associados à defesa, uma vez que estão mais suscetíveis e aparentes, além de não possuírem mecanismos de defesa estruturais (lignina) tanto quanto os tecidos caulinares.

Em todos os óleos analisados, são predominantes sesquiterpenos não oxigenados, exceto o óleo do caule de *C. antisiphiliticus* 3021, no qual foram mais abundantes os

monoterpenos sabineno e β -pineno. Os sesquiterpenos β -cariofileno, germacreno D, elixeno, δ -cadineno e espatulenol são os mais freqüentes. Não foi detectado linalol em nenhuma das amostras. Tampouco quaisquer fenilpropanóides. Com base nestes dados, somente a presença de β -cariofileno poderia ser considerada característica. Contudo a presença desses mono e sesquiterpenos é comum em angiospermas e corrobora o que até hoje foi observado em *Croton*.

Algumas das substâncias identificadas nas amostras nunca foram relatadas anteriormente para o gênero: ledol encontrado em caule (77,41%) e folhas (18,08%) de *C. cf montevicensis*; elixeno, substância mais abundante nas folhas de *C. antisiphiliticus* 3021 (98%) e *C. grandivelum* 3143 (52,67%), presente também no caule (13,43%) e folhas (3,28%) de *C. hemiargyreus* 1280, folhas de *C. cf pycnocephalus* (305: 8,31%; 308: 20,11%; 322: <1%); 8-isopropenil-1,5-dimetil-ciclo-deca-1,5-dieno, presente em folhas de ambas as amostras de *C. hemiargyreus* (1280: 9,55%, 3229: 3,99%), no caule de uma delas (1280: 9,97%) e nas folhas de *C. betulaster* (21,25%); τ -cadinol no caule (15,56%) e folhas (2,98%) de *C. cf montevicensis* 311, nas folhas de *C. hemiargyreus* 3229 (11,52%) e *C. cf pycnocephalus* 322 (2,41%); e β -chamigreno, componente minoritário das folhas de *C. betulaster* (< 1%), são exemplos.

Entre as espécies, a que apresentou menor quantidade de óleo foi *C. antisiphiliticus*. Em uma das amostras (3140) não foi detectado nenhum componente volátil nas folhas, tampouco no caule, e na outra (3021) as abundâncias são muito baixas quando comparadas com os resultados obtidos para as demais espécies.

Este é um estudo pioneiro acerca dos óleos voláteis dessas espécies, apresentando um perfil geral que pode contribuir para o conhecimento de um gênero tão complexo, amplamente distribuído e relevante na medicina tradicional como *Croton*. No entanto,

sabe-se que fatores como origem, horário do dia ou estação do ano podem influenciar qualitativa e quantitativamente o conteúdo dos óleos voláteis de uma espécie. Portanto para uma melhor compreensão de seus potenciais é necessário que esses fatores sejam considerados em investigações futuras.

Tabela 2 – Porcentagens relativas (%**) dos principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton*

COMPOSTOS	TR (min)	IRL Calc	IRL ref*	m/z (100)	PM	FB	C. bet (258)	C. glut (276)	C. hemi (1280)		C. hemi (3229)	C. anti (3021)	
							Folha	Folha	Folha	Caule	Folha	Folha	Caule
α-pineno	2,73	923	932	93	136	C ₁₀ H ₁₆	6,96%	-	-	-	-	t	-
Sabineno	2,94	938	969	93	136	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	-	-	-	49,33%
β-pineno	3,32	965	974	93	136	C ₁₀ H ₁₆	-	-	-	-	t	t	50,67%
bornil acetato	9,64	1278	1284	95	154	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	-	-	-	-	t	-	-
NI	11,13	1347	-	93(133)	204	-	-	-	-	-	-	-	-
α-ylangeno	11,31	1355	1373	105	204	C ₁₅ H ₂₄	t	t	-	-	-	-	-
Isômero do β-elemeno	11,4	1359	-	81	204	C ₁₅ H ₂₄	-	6,59%	-	-	-	-	-
Isômero do β-elemeno	11,61	1369	-	93	204	C ₁₅ H ₂₄	1,04%	8,08%	-	-	-	-	-
β-elemeno	11,72	1374	1389	93	204	C ₁₅ H ₂₄	-	42,64%	-	-	-	-	-
8-isoproprenil-1,5-dimetil ciclo-deca-1,5-dieno	11,82	1379	-	93	204	C ₁₅ H ₂₄	21,25%	-	9,55%	9,97%	3,99%	-	-
β-cariofileno	12,26	1398	1417	93(133)	204	C ₁₅ H ₂₄	31,44%	2,63%	-	-	t	-	-
Aromadendreno	12,66	1415	1439	91	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-
trans-α-bergamoteno	12,83	1422	1432	93(119)	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	52,33%	-	-
Isômero do α-cariofileno	13,06	1431	-	93	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	t	-	-
α-cariofileno	13,1	1432	1452	93	204	C ₁₅ H ₂₄	5,10%	-	-	-	1,11%	-	-
Alloaromadendreno	13,25	1436	1458	91	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-
(+)-Epi- bicyclosesquifelandreno	13,41	1445	-	161	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-
NI	13,46	1447	-	121	204	-	-	-	-	-	-	-	-
NI	13,54	1450	-	161	204	-	-	2,75%	-	-	-	-	-
β-chamigreno	13,73	1456	1476	189	204	C ₁₅ H ₂₄	T	-	-	-	-	-	-
γ-muuroleno	13,79	1460	1478	161	204	C ₁₅ H ₂₄	1,68%	4,53%	-	-	-	-	-
germacreno D	13,83	1459	1484	161	204	C ₁₅ H ₂₄	-	24,56%	79,85%	76,60%	10,27%	-	-
β-selineno	13,89	1463	1489	105	204	C ₁₅ H ₂₄	8,44%	1,73%	-	-	-	-	-

Tabela 2 – Porcentagens relativas (%**) dos principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton* (Cont.)

COMPOSTOS	TR (min)	IRL calc.	IRL ref*	m/z (100)	PM	FB	C. bet (258)	C. glu (276)	C. hemi (1280)		C. hemi (3229)	C. anti (3021)	
							Folha	Folha	Folha	Caule	Folha	Folha	Caule
α-selineno	14,17	1474	1498	189	204	C ₁₅ H ₂₄	10,00%	5,19%	-	-	-	-	-
Elixeno	14,26	1479	1492*	121	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	3,28%	13,43%	-	98,00%	-
NI	14,4	1484	-	93(68)	204	-	-	-	5,98%	-	3,11%	-	-
α-muuroleno	14,47	1487	1500	105	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-
α-bulneseno	14,55	1490	1509	107	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	1,17%	-	-
γ-cadineno	14,73	1497	1513	161	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	14,12%	-	-
δ-cadineno	15,04	1508	1522	161	204	C ₁₅ H ₂₄	1,66%	1,14%	1,18%	-	t	-	-
NI	15,98	1541	-	91	220	-	-	-	-	-	-	-	-
(-)-espatulenol	16,51	1560	1577	91	220	C ₁₅ H ₂₄ O	-	t	t	-	-	t	-
Ledol	16,77	1569	1602	109	222	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	-	-	-	-	-
Cubenol	17,59	1598	1645	119(161)	222	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	-	-	t	-	-
NI	18,09	1614	-	161	222	-	-	-	-	-	-	-	-
τ-cadinol	18,3	1623	1638	161	222	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	-	-	11,52%	-	-
benzoato de benzila	22,24	1749	1759	105	212	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	9,84%	-	-	-	-	-	-
Total							97,41%	99,84%	99,84%	100,00%	97,63%	98,00%	100,00%

t: traço (abundância < 1%); TR: tempo de retenção; IRL: índice de retenção linear (IRL calc: índice de retenção linear calculado); PM: peso molecular; FB: fórmula bruta

*referências: YU *et al.*, 2007 (demais IRs são de ADAMS, 2009) / ** em negrito as duas principais substâncias voláteis encontradas no óleo de cada amostra

Abreviações: C. bet (*C. betulaster*), C. glu (*C. glutinosus*), C. hemi (*C. hemiargyreus*), C. anti (*C. antisiphiliticus*).

Tabela 3 – Porcentagens relativas (%**) dos principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton*

COMPOSTOS	TR (min)	IRL calc.	IRL ref*	m/z (100)	PM	FB	C. cf pyc (305)		C. cf pyc (308)		C. cf pyc (322)	C. gra (3143)	C. cf mon (311)	
							folha	caule	folha	Caule	folha	folha	folha	caule
α -pineno	2,73	923	932	93	136	C ₁₀ H ₁₆	-	-	7,82%	-	t	-	4,47%	-
Sabineno	2,94	938	969	93	136	C ₁₀ H ₁₆	4,50%	-	-	-	-	-	-	-
β -pineno	3,32	965	974	93	136	C ₁₀ H ₁₆	14,99%	-	9,46%	-	t	-	17,87%	-
bornil acetato	9,64	1278	1284	95	154	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-
NI	11,13	1347	-	93(133)	204	-	-	-	-	-	12,99%	-	-	-
α -ylangeno	11,31	1355	1373	105	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
Isômero do β -elemeno	11,4	1359	-	81	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
Isômero do β -elemeno	11,61	1369	-	93	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
β -elemeno	11,72	1374	1389	93	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	2,84%
8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclo-deca-1,5-dieno	11,82	1379	-	93	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
β -cariofileno	12,26	1398	1417	93(133)	204	C ₁₅ H ₂₄	40,04%	100,00%	47,82%	100,00%	t	47,33%	6,52%	-
Aromadendreno	12,66	1415	1439	91	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	6,16%	-
<i>trans</i> - α -bergamoteno	12,83	1422	1432	93(119)	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
Isômero do α -cariofileno	13,06	1431	-	93	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
α -cariofileno	13,1	1432	1452	93	204	C ₁₅ H ₂₄	3,98%	-	2,39%	-	-	-	-	-
Alloaromadendreno	13,25	1436	1458	91	204	C ₁₅ H ₂₄	t	-	T	-	-	-	t	-
(+)-Epi-biciclosesquifelandreno	13,41	1445	-	161	204	C ₁₅ H ₂₄	t	-	T	-	-	-	t	-
NI	13,46	1447	-	121	204	-	-	-	-	-	20,05%	-	-	-
NI	13,54	1450	-	161	204	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -chamigreno	13,73	1456	1476	189	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-
γ -muuroleno	13,79	1460	1478	161	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	1,81%	-	1,83%	-
germacreno D	13,83	1459	1484	161	204	C ₁₅ H ₂₄	t	-	T	-	-	-	-	-
β -selineno	13,89	1463	1489	105	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 3 – Porcentagens relativas (%**) dos principais componentes de óleos voláteis de espécies brasileiras de *Croton* (cont.)

COMPOSTOS	TR (min)	IRL calc.	IRL ref*	m/z (100)	PM	FB	C. cf pyc (305)		C. cf pyc (308)		C. cf pyc (322)		C. gra (3143)		C. cf mon (311)	
							folha	caule	folha	caule	folha	folha	folha	caule		
α-selineno	14,17	1474	1498	189	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Elixeno	14,26	1479	1492*	121	204	C ₁₅ H ₂₄	8,31%	-	20,11%	-	t	52,67%	10,69%	-		
NI (beta elemeno)	14,4	1484	-	93(68)	204	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
α-muuroleno	14,47	1487	1500	105	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	t	-	-	-		
α-bulneseno	14,55	1490	1509	107	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	-	-		
γ-cadineno	14,73	1497	1513	161	204	C ₁₅ H ₂₄	-	-	-	-	-	-	4,19%	-		
δ-cadineno	15,04	1508	1522	161	204	C ₁₅ H ₂₄	t	-	t	-	-	-	13,43%	-		
NI	15,98	1541	-	91	220	-	-	-	-	-	45,62%	-	-	-		
(-)-espatulenol	16,51	1560	1577	91	220	C ₁₅ H ₂₄ O	25,66%	-	11,42%	-	10,31%	t	13,22%	-		
Ledol	16,77	1569	1602	109	222	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	-	-	-	-	18,08%	77,41%		
Cubenol	17,59	1598	1645	119(161)	222	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	-	-	-	-	-	-		
NI	18,09	1614	-	161	222	-	-	-	-	-	3,44%	-	-	-		
τ-cadinol (epi-α-cadinol)	18,3	1623	1638	161	222	C ₁₅ H ₂₆ O	t	-	-	-	2,41%	-	2,98%	15,56%		
benzoato de benzila	22,24	1749	1759	105	212	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	-	-	-	-	-	-	-	-		
Total							97,47%	100,00%	99,02%	100,00%	96,63%	100,00%	99,46%	95,81%		

t: traço (abundância < 1%); TR: tempo de retenção; IRL: índice de retenção linear (IRL calc: índice de retenção linear calculado); PM: peso molecular; FB: fórmula bruta

*referências: YU *et al.*, 2007 (demais IRLs são de ADAMS, 2009) / ** em negrito as duas principais substâncias voláteis encontradas no óleo de cada amostra

Abreviações: C. cf pyc (*C. cf pycnocephalus*), C. gra (*C. grandivelum*), C. mon (*C. cf montevidensis*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. 2009. *Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry*. (4 Ed.). Carol Stream, Illinois: Allured Business Media.
- CAI, Y.; EVANS, F.J.; ROBERTS, M.F.; PHILLIPSON, J.D.; ZENK, M.H.; GLEBA, Y.Y. 1991. Polyphenolic compounds from *Croton lechleri*. *Phytochemistry* 30:2033-2040.
- CHEN, Z.; CAI, Y.; PHILLIPSON, D. 1994. Studies on the anti-tumor, anti-bacterial and wound-healing properties of dragon's blood. *Planta Medica* 60:541-545.
- CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE C.H.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W. 1978. Anise-Like Flavor of *Croton* aff. *zehntneri* Pax et Hoffm. *Journal of Agriculture and Food chemistry* 26:26-27.
- CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE C.H.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; DANTAS, T.N. 1980. Fixed and volatile constituents of *Croton* aff. *nepetifolius*. *Journal of natural products* 43:756-7.
- CRAVEIRO, A.A.; RODRIGUES, A.S.; ANDRADE C.H.; MATOS, F.J.; ALENCAR, J.W.; MACHADO, M.I.L. 1981. Volatile constituents of brazilian Euphorbiaceae genus *Croton*. *Journal of natural products* 44:602-608.
- GOVAERTS, R.; FRODIN, D.G.; RADCLIFFE-SMITH A. 2000. World checklist of Euphorbiaceae (and Pandaceae) v. 2 Euphorbiaceae: *Croton* to *Excoecariopsis*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- GUPTA, D.; BLEAKLEY, B.; GUPTA, R.K. 2008. Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses. *Journal of ethnopharmacology* 115:361-80.
- HARBORNE, J.B. 1982. *Introduction to ecological biochemistry*. (2 Ed.) London: Academic Press
- JONES, K. 2003. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*)- a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research. *Journal of alternative and complementary medicine* 9:877-896.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; ARRUDA, A.C.; PAMPLONA, S.G.S.R.; VANDERLINDE, F.A.; LAPA, A.J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N.F.; COLUS, I.M.S.; FARIAS, R.A.F.; LUNA COSTA, A.M.; RAO, V.S.N. 2000. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of ethnopharmacology* 70:41-55.
- MCGARVEY, D.J.; CROTEAU, R. 1995. Terpenoid metabolism. *The Plant cell* 7:1015-26.
- MORENO, P.R.H.; LIMA, M.E.L.; CARUZO, M.B.R.; TORRES, D.S.C.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M.C.M. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Croton heterocalyx* Baill . (Euphorbiaceae s.s.) leaves. *Journal of Essential Oil Research* 21:190-192.

- NARDI, G.M.; FELIPPI, R.; DALBO, S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.M.; ARRUDA, D.C.; MONACHE, F.D.; TIMBOLA, A.K.; PIZZOLATTI, M.G.; CKLESS, K.; RIBEIRO-DO-VALLE, R.M. 2003. Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Croton celtidifolius* bark. *Phytomedicine* 10:176-184.
- PERES, M.T. P.; MONACHE, F.D.; PIZZOLATTI, M.G.; SANTOS, A.R.S.; BEIRITH, A.; CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A. 1998. Analgesic compounds of *Croton urucurana* Baillon. pharmaco-chemical criteria used in their isolation. *Phytotherapy Research* 12:209-211.
- SECCO, R.S. 1994. Notas sobre lianas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae). *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi* 8:265-281.
- SEIGLER, D.S. 1994. Phytochemistry and systematics of the Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 81:380.
- SIMIONATTO, E.; BONANI, V.F.L.; MOREL, A.F.; ROPPI, N.R.; RAPOSO JUNIOR, J.L.; STUKER, C.Z.; PERUZZO, G.M.; PERES, M.T.L.P.; HESS, S.C. 2007. Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon. (Euphorbiaceae) stem bark. *Journal of the Brazilian chemical society* 18:879-885.
- STAMP, N. 2003. Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly review of biology* 78:23-55.
- WEBSTER, G.L. 1993. A Provisional Synopsis of the Sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 42:793-823.
- YU, J.Q.; LIAO, Z.X.; CAI, X.Q.; LEI, J.C.; ZOU, G.L. 2007 Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. *Environmental toxicology and Pharmacology* 23:162-167.

Capítulo 2 - Flavonóides de espécies nativas de *Croton* L. (Euphorbiaceae)

INTRODUÇÃO

Croton L. é o segundo maior gênero de Euphorbiaceae, com cerca de 1200 espécies amplamente distribuídas nos trópicos e subtropicais (GOVAERTS *et al.*, 2000). No Brasil são cerca de 300 espécies: árvores, arbustos, ervas e até lianas pertencentes ao gênero são comuns em quase todos os ecossistemas (SOUZA & LORENZI, 2008). Espécies de *Croton* são conhecidas pelo amplo uso medicinal, como cicatrizante, no tratamento de afecções do trato gastrointestinal, distúrbios neurológicos, hipertensão, diabetes e no tratamento do câncer (SALATINO *et al.*, 2007). A atividade antitumoral de extratos vegetais pode estar relacionada com o potencial antioxidante de alguns de seus compostos, principalmente compostos fenólicos (RICE-EVANS *et al.*, 1996; KINGHORN *et al.*, 2003; WILLIAMS *et al.*, 2004).

Flavonóides constituem um grande grupo de compostos fenólicos, geralmente associados à proteção contra raios UV e co-pigmentação de flores. Possuem potente atividade antioxidante e podem ser também usados como caracteres quimiotaxonômicos (ROBARDS & ANTOLOVICH, 1997; EMERENCIANO *et al.*, 2001). Em *Croton* os flavonóides até hoje descritos costumam ser agliconas de flavonas e mais freqüentemente de flavonóis altamente metoxiladas (MACIEL *et al.*, 2000; BARBOSA *et al.*, 2004; PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2005, 2006; GONZÁLEZ-VÁZQUEZ *et al.*, 2006) e alguns glicosídeos de agliconas comuns (CAPASSO *et al.*, 2000; GUERRERO *et al.*, 2002; GIANG *et al.*, 2004; QUINTYNE-WALCOTT *et al.*, 2007; LAGNIKA *et al.*, 2009). Salatino e colaboradores (2007) salientam que faltam trabalhos com foco específico

nos flavonóides de *Croton*, utilizando metodologia apropriada, como uso de solventes hidroalcoólicos para extração de agliconas e glicosídeos (MARKHAM, 1982).

O presente trabalho tem como objetivo a caracterização dos flavonóides de sete espécies nativas de *Croton*, utilizando extratos hidroalcoólicos, a fim de contribuir para o conhecimento da química do gênero. A identificação dos principais flavonóides das espécies pode revelar potenciais farmacológicos e quimiotaxonômicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Folhas e caules de espécies nativas de *Croton* L. foram utilizadas para extração e caracterização parcial de flavonóides, conforme tabela 1. As espécies foram identificadas pela Profa Dra Inês Cordeiro, do Instituto de Botânica de São Paulo, e Profa Dra Letícia Ribes de Lima, da Universidade Federal de São Carlos. Vouchers foram depositados no herbário do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo.

Tabela 1 – Espécimes de *Croton* utilizadas no presente trabalho.

Voucher	Abreviação	Espécime	Seção*	Local de coleta	Folha/Caule
LRL 258	C. bet	<i>C. betulaster</i> Müll.Arg.	<i>Barhamia</i>	Rio de Contas – BA	F
LRL 276	C. glu	<i>C. glutinosus</i> Müll.Arg.	<i>Barhamia</i>	Mucugê – BA	F
LRL 305	C. pyc_1	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Bagé – RS	F/C
LRL 308	C. pyc_2	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Guaíba – RS	F/C
LRL 322	C. pyc_3	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Palmares do Sul – RS	F/C
LRL 324	C. pyc_4	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Palmares do Sul – RS	F/C
LRL 311	C. mon	<i>C. cf montevidensis</i> Spreng.	<i>Codonocalyx</i>	Guaíba – RS	F/C
SE Martins 1280	C. hemi_1	<i>C. hemiargyreus</i> Müll.Arg.	<i>Cleodora</i>	São José do Barreiro – SP	F/C

Tabela 1 – Espécimes de *Croton* utilizadas no presente trabalho.

Voucher	Abreviação	Espécime	Seção*	Local de coleta	Folha/Caule
Cordeiro 3229	C. hemi_2	<i>C. hemiargyreus</i> Müll.Arg.	<i>Cleodora</i>	Caldas – MG	F/C
Cordeiro 3021	C. anti_1	<i>C. antisiphiliticus</i> Mart.	<i>Ocalia</i>	Santana do Riacho, Serra do cipó - MG	F/C
Cordeiro 3140	C. anti_2	<i>C. antisiphiliticus</i> Mart.	<i>Ocalia</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C
Cordeiro 3143	C. grã	<i>C. grandivelum</i> Baill.	<i>Velamea</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C

*sensu WEBSTER, 1993

A extração e identificação dos flavonóides seguiram a metodologia adaptada de Furlan (2004) utilizando CLAE, espectrofotometria de UV/vis (MARKHAM, 1982) e, quando disponíveis, espectros de massas obtidos por CLAE/EM e CLAE/EM/EM realizados na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Cerca de 1 g de folhas e cascas secas foram submetidas à extração em MeOH 80% sob refluxo. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida, particionados com tolueno e o resíduo seco ressuspendido em 3 mL de MeOH grau CLAE. Alíquotas de 16 µL das amostras hidro-alcoólicas foram analisadas por CLAE utilizando-se cromatógrafo líquido HP serie II 1090, empregando-se o seguinte gradiente de solução aquosa de ácido acético 0,1% (A) em acetonitrila (B): 0-5min 12% de B em A; 5-8min 12% - 20% de B em A; 8-28min 20% de B em A; 28-38min 20% - 50% de B em A; 38-48min 50%-65% de B em A. O fluxo de solvente foi 0,5 mL/min, a temperatura da coluna constante em 40°C e a detecção através de DAD em $\lambda = 352\text{nm}$. A identificação dos flavonóides foi feita por comparação do tempo de retenção com biblioteca organizada no Laboratório de Fitoquímica (IB-USP), além dos espectros de massas obtidos por CLAE/EM ou CLAE/EM/EM. Literatura especializada também foi consultada (MABRY *et al.*, 1970; CUYCKENS & CLAEYS, 2002, 2004).

RESULTADOS

De forma geral, folhas apresentam maior quantidade e maior variedade de flavonóides que caules. Um pico em 5,4 min é comum a todas as amostras, com pico de absorção em 273 nm. Com base nas informações disponíveis não foi possível identificar essa substância. Com os dados de tempo de retenção (TR), espectros UV/vis (UV) e os espectros de massas (EM e EM/EM) disponíveis foi possível identificar alguns flavonóides, como orientina, vitexina, rutina e tilirosídeo, e parcialmente outros, como derivados de quercetina, luteolina e apigenina (Tabelas 2, 3 e 4). O flavonol tilirosídeo (campferol-3-O-(6-*p*-cumaroil)-glicosídeo) possui como características marcantes o pico de absorção da banda I do espectro UV em baixo comprimento de onda (313 nm, figura 1) e o fragmento característico do íon [*p*-cumaroil-glicose]⁺ em *m/z* 309 (ABAD-GARCÍA *et al.*, 2009; ver figura 1). Tilirosídeo foi encontrado em grande parte das amostras: como componente majoritário em todas as amostras de *C. cf pycnocephalus* (caules e folhas) (figura 1, tabela 4), caules e folhas de *C. grandivelum* (tabela 5), *C. antisiphiliticus* e *C. hemiargyreus* (tabela 6), apesar de não ser tão abundante nesta última espécie como nas demais. O tilirosídeo só não aparece em poucas amostras: folhas de *C. betulaster*, *C. glutinosus* e *C. cf montevidensis* (tabela 5). No entanto, o tilirosídeo também é o flavonóide mais abundante do caule de *C. cf montevidensis* (tabela 5).

Figura 1 – Espectro UV/vis e espectro de massas (obtido por CLAE/EM/EM) do tilirosídeo (campferol-3-O-(6-*p*-cumaroi)-glicosídeo).

Nas espécies analisadas são mais comuns flavonóis, predominantemente glicosídeos. A presença majoritária de flavonas foi detectada apenas em *C. betulaster* e *C. hemiargyreus* (tabela 3).

Tabela 3 – Proporção de flavonas e flavonóis por amostra (% dos picos identificados)

Amostra	Folha/Caule	Flavonas %	Flavonóis %
C.bet	F	100	0
C.glu	F	6,3	93,7
C. pyc_1	F	9,1	90,9
	C	22,5	77,5
C. pyc_2	F	7,7	92,3
	C	4,5	95,5
C. pyc_3	F	14,6	85,4
	C	0	100
C. pyc_4	F	34,5	65,5
	C	37,9	62,1
C. mon	F	13,9	86,1
	C	4,4	95,5
C. anti_1	F	11,4	88,6
	C	0	100

Tabela 3 – Proporção de flavonas e flavonóis por amostra (% dos picos identificados, cont.)

Amostra	Folha/Caule	Flavonas %	Flavonóis %
C. anti_2	F	42,2	57,8
	C	30,5	69,4
C.gra	F	3,3	96,7
	C	0	100
C. hemi_1	F	62,3	37,7
	C	87,1	12,9
C.hemi_2	F	62,7	37,3
	C	62,9	37,1

DISCUSSÃO

O presente trabalho apresenta um novo perfil de flavonóides para *Croton*, mostrando a abundância de glicosídeos de flavonóis e flavonas existentes nas espécies estudadas. Até hoje havia poucas informações a respeito desses glicosídeos nas espécies do gênero, uma vez que os trabalhos não tinham foco específico em flavonóides e muitas agliconas metoxiladas foram isoladas de extratos feitos com solventes mais apolares (SALATINO *et al.*, 2007).

No método utilizado em grande parte das amostras aparecem bandas de flavonóides coelundo na faixa entre 38 e 43 min, na maioria das vezes em baixa abundância em relação ao tilirosídeo (41,2 min), que se destaca entre eles. Os tempos de retenção e espectros de UV/vis desses picos só puderam ser diagnosticados em algumas amostras (por exemplo, C.pyc_1 e C.pyc_2, tabela 4). Nas demais, não foi possível considerá-los em função da dificuldade em determinar TRs e UVs com segurança. Para um perfil detalhado das espécies é necessária a separação mais minuciosa desses flavonóides, através de sucessivas cromatografias em coluna ou papel, por exemplo, para obtê-los

mais puros e assim identificá-los com mais precisão. No entanto, todos os picos mais abundantes, que caracterizam cada uma das espécies, foram considerados.

Tilirosídeo foi o principal componente encontrado nas quatro amostras de *C. cf pycnocephalus* (tabela 4) e em *C. grandivelum* (tabela 5), abundante também em *C. antisiphiliticus* e *C. hemiargyreus* (tabela 6), tanto em caules como em folhas. Em algumas outras espécies de *Croton* o tilirosídeo já foi detectado (CAPASSO *et al.*, 2000; LENCINA *et al.*, 2001; GIANG *et al.*, 2004; PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2006; LAGNIKA *et al.*, 2009; ZOU *et al.*, 2010), assim como nas espécies analisadas pelos colegas do Laboratório de Fitoquímica da USP (dados ainda não publicados). A presença ou ausência desse flavonóide pode ser característica de determinadas espécies ou grupos infragenéricos.

Nas folhas de *C. betulaster* (seção Barhamia) predominam glicosídeos de flavonas, especificamente isoorientina, orientina e vitexina (tabela 5). Os únicos flavonóides até hoje relatados para a espécie, 5,3'-hidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxiflavona (SPOHR *et al.*, 2010) e 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona (BARBOSA *et al.*, 2003,) não foram detectados na amostra. Talvez existam em quantidades relativas muito baixas ou correspondam às substâncias não identificadas em 45 e 49 minutos (também presentes em *C. cf pycnocephalus*, figura 2, tabela 4). Isso é possível uma vez que de acordo com o método (CLAE em fase reversa), as substâncias mais polares eluem primeiro (menores TRs) e as mais apolares depois (maiores TRs). No entanto não é possível confirmar a identidade desses compostos apenas com os espectros UV/vis. Na amostra aparecem bandas de baixa abundância entre 38 e 43 minutos, de forma que não se pode afirmar a completa ausência do tilirosídeo e outros flavonóis (glicosídeos ou não) nas folhas dessa espécie, mas deve-se considerar que eles não são tão abundantes quanto nas

outras espécies, discutidas adiante. O mesmo vale para *C. glutinosus* (seção *Barhamia*), espécie na qual predominam glicosídeos de flavonóis, principalmente rutina. Com base nos dados obtidos, é possível afirmar que o tilirosídeo não é um dos componentes principais das folhas de *C. betulaster* e *C. glutinosus*. Webster (1993) salienta que essas duas espécies se distinguem morfológicamente das demais da mesma seção. Para trabalhos futuros será interessante a análise dos caules dessas espécies e do perfil de folhas e caules de outras espécies da mesma seção *Barhamia*, a fim de traçar um perfil mais completo.

Além das folhas de *C. betulaster* e *C. glutinosus*, o tilirosídeo só não foi detectado nas folhas de *C. cf montevidensis* (tabela 5), todavia é abundante no caule dessa mesma espécie. A seção *Codonocalyx*, à qual pertence *C. cf montevidensis*, está restrita ao sul do Brasil (distante geograficamente das espécies da seção *Barhamia* aqui estudadas, restritas à Bahia) e inclui também *C. gnaphalii* Baill., em cujas partes aéreas Lencina e colaboradores (2001) encontraram tilirosídeo como principal componente do extrato etanólico. Essa distinção entre folhas e caules é uma característica interessante que não pode ser detectada quando são estudadas as partes aéreas como um todo. De forma geral, com base nos dados obtidos no presente trabalho, o tilirosídeo pode ser praticamente o único flavonóide no caule de uma espécie, como ocorre em *C. cf pycnocephalus* (figura 2, tabela 4).

Figura 2 – cromatogramas CLAE/UV de quatro amostras de *C. cf pycnocephalus* (numeração dos picos principais de acordo com tabela 2). **Af**: folhas de *C.pyc_1* (picos 1 – NI; 3 – diglicosídeo de apigenina; 31 – tilirosídeo); **Ac**: caule de *C.pyc_1* (picos 1 – não identificado (NI); 31 – tilirosídeo); **Bf**: folhas de *C.pyc_2* (picos 1 – NI; 3 – diglicosídeo de apigenina; 31 – tilirosídeo); **Bc**: caule de *C.pyc_2* (picos 1 – NI; 31 – tilirosídeo); **Cf**: folhas de *C.pyc_3* (picos 1 – NI; 17 – derivado de quercetina; 31 – tilirosídeo; 32 – NI flavonol; 35 – NI); **Cc**: caule de *C.pyc_3* (picos 1 – NI; 31 – tilirosídeo); **Df**: folhas de *C.pyc_4* (picos 1 – NI; 9 – isoorientina; 11 – orientina; 31 – tilirosídeo; 32 – NI (flavonol); 34 – NI; 35 – NI); **Dc**: caule de *C.pyc_4* (picos 1 – NI; 9 – isoorientina; 11 – orientina; 31 – tilirosídeo; 35 – NI).

É possível notar que as amostras de *C. cf pycnocephalus* apresentam perfis diferentes. As amostras *C. pyc_1* (Bagé-RS) e *C.pyc_2* (Guaíba-RS) apresentam picos em 38, 39 e 40 min (todos flavonóis, como indica o pico de absorção da banda I acima de 350 nm, tabela 2) intensos; por sua vez as amostras *C. pyc_3* e *C. pyc_4* (ambas de Palmares do Sul – RS) têm flavonas (picos 9, 11, 33 e 35), não detectadas nas outras duas amostras. Variações no perfil químico de uma mesma espécie podem ocorrer de acordo com fatores ambientais. A localização geográfica é outro importante fator a ser considerado, freqüentemente associado a polimorfismos genéticos. No entanto o

perfil geral para as quatro amostras de *C. pycnocephalus* é similar (figura 2) e a presença do tilirosídeo é conspícua em todas as amostras dessa espécie (caules e folhas).

Pequenas diferenças também são encontradas entre as duas amostras de *C. antisiphiliticus*, *C. anti_1* (Serra do Cipó-MG) e *C. anti_2* (Mogi-Guaçu-SP). Uma característica comum bem marcante é a presença de quercitrina, não detectada nas demais espécies, e tilirosídeo tanto nas amostras de folha como de caule.

Nas duas amostras de *C. hemiargyreus*, *C. hemi_1* (São José do Barreiro-SP) e *C. hemi_2* (Caldas-MG) é marcante a presença majoritária de diglicosídeos de apigenina e tilirosídeo, este porém já não tão abundante como nas outras espécies.

Este é um estudo pioneiro com foco no perfil de flavonóides de espécies de *Croton*. O flavonol acilglicosilado tilirosídeo pode ser admitido como majoritário em várias espécies. A presença ou ausência desse flavonóide pode ser utilizada para caracterização infragenérica. Para tanto, é necessário que sejam realizados estudos a fim de elucidar o perfil de flavonóides das demais espécies das mesmas seções. O tilirosídeo possui uma série de atividades biológicas (DEMETZOS *et al.*, 1997; COS *et al.*, 1998; SALA *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2005; BARBOSA *et al.*, 2007; CALZADA & ALANÍS, 2007; COSTA *et al.*, 2007; RAO *et al.*, 2007; HERRERA-RUIZ *et al.*, 2008) que podem estar associadas aos variados usos medicinais das espécies de *Croton* e trazer à tona potenciais ainda não investigados.

Tabela 4 – Flavonóides identificados nas quatro amostras de *C. cf pycnocephalus*.

	TR (min)	EM (%)	UV (nm) (BII, ombros, BI)	Flavonóide	C.pyc_1		C.pyc_2		C.pyc_3		C.pyc_4	
					folha %	caule %	folha %	caule %	folha %	caule %	Folha %	caule %
1	5,4	-	273	NI	1.216	2.859	1.486	2.637	0.7813	1.634	0.5556	3.928
2	15,14	-	259, 269om, 345	Derivado de apigenina	-	-	-	-	-	-	-	-
3	15,4	595 (100)	271, 334	Derivado de apigenina (diglicosídeo hex hex)	6.273	-	5.332	1.080	-	-	-	-
4	15,6	-	257, 267om, 343	NI (flavona)	-	-	-	-	-	-	-	-
5	16,4	565 (100)	269, 341	Derivado de apigenina (diglicosídeo hex pent)	-	-	-	1.203	1.248	-	3.289	-
6	16,4	627(100)	257, 265 om, 295om, 352	Derivado de quercetina (diglicosídeo hex pent)	-	-	-	-	-	-	-	-
7	16,7	-	271,333	Derivado de apigenina	-	-	-	-	-	-	-	-
8	16,7	-	255, 265om, 303om, 357	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
9	16,9	-	257, 269om, 349	Isoorientina	-	4.358	-	-	-	-	14.817	6.026
10	17,78	-	257, 267om, 299om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	3.199	-	-	-
11	17,8	-	257, 267om, 349	Orientina	-	3.223	-	-	-	-	12.264	4.660
12	18,73	-	257, 267om, 285om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
13	18,8	-	255, 265om, 299om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
14	19,2	-	255, 267om, 295om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
15	19,6	611 (100)	257, 265om, 291om, 355	Rutina	1.147	-	-	-	-	-	-	-
16	20,6	433(100)	269, 335	Vitexina	-	4.632	-	-	-	-	-	-
17	20,65	-	263, 301om, 349	Derivado de quercetina	-	-	-	-	12.503	2.815	3.289	-
18	20,9	-	257, 265om, 297om, 329om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
19	21,3	465 (100)	257, 267om, 305om, 355	Derivado de quercetina	2.944	-	-	-	-	-	-	-
20	21,99	-	257, 265om, 297om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
21	22,02	595 (100), 465 (90)	255, 265om, 285om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	2.911	-
22	24,69	-	265, 295om, 347	Derivado de campferol	-	-	-	-	-	-	-	-
23	26,30	-	255, 267om, 305om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
24	29,12	-	257, 265om, 295om, 351	Quercitrina	-	-	-	-	-	-	-	-
25	38,4	-	265, 289om, 341	NI (flavona)	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 4 – Flavonóides identificados nas quatro amostras de *C. cf pycnocephalus* (cont.).

	TR (min)	EM (%)	UV (nm) (BII, ombros, BI)	Flavonóide	C.pyc_1		C.pyc_2		C.pyc_3		C.pyc_4	
					folha %	caule %	folha %	Caule %	folha %	caule %	folha %	Caule %
26	38,67	-	255, 265om, 303om, 353	NI (flavonol)	9.821	-	9.958	-	5.666	-	-	-
27	38,92	449 (100), 434(30), 302 (15), 286 (30), 204 (10), 148 (30)	271, 281 om, 331	NI (flavona)	-	-	-	-	-	-	5.797	-
28	39,04	-	257, 265om, 351	NI (flavonol)	11.132	-	12.786	-	5.486	-	-	-
29	39,95	-	267, 289om, 313, 357om	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-	-	-
30	40,7	-	255, 265om, 301om, 355	NI (flavonol)	7.890	-	13.611	-	-	-	1.544	-
31	41,2	595 (90), 309(100), 287(10), 147(2)	267, 287om, 313, 357om	Tilirosideo	24.167	42.083	23.863	49.006	19.584	32.260	15.708	22.897
32	44,44	-	271, 287om, 313, 357om	NI (flavovol)	5.555	-	3.516	-	8.825	-	3.214	5.604
33	45,7	-	273, 347	NI	-	-	-	-	-	-	-	-
34	45,9	-	259, 271om, 349	NI	-	-	-	-	2.173	-	7.951	4.076
35	46,34	-	257, 271om, 347	NI	-	-	-	-	-	-	-	-
36	49,71	-	257, 271om, 349	NI	-	-	-	-	6.687	-	6.506	2.683

TR: tempo de retenção; EM: espectro de massas; UV: espectro de absorção UV/vis; hex:hexose; pent:pentose

Tabela 5 – Flavonóides identificados em *C. betulaster*, *C. glutinosus*, *C. cf montevidensis* e *C. grandivelum*.

	TR (min)	MS (%)	UV (nm) (BII, ombros, BI)	Flavonóide	C.bet	C. glu	C.mon		C.gra	
					folha %	folha %	folha %	caule %	folha %	Caule %
1	5,4	-	273	NI	2.052	0.9635	0.728	3.061	2.112	1.469
2	15,14	-	259,269om,345	Derivado de apigenina	2.319	-	-	-	-	-
3	15,4	595 (100)	271, 334	Derivado de apigenina (diglicosídeo hex hex)	-	-	-	-	-	-
4	15,6	-	257, 267om, 343	NI (flavona)	4.224	-	-	-	1.499	-
5	16,4	565 (100)	269, 341	Derivado de apigenina (diglicosídeo hex pent)	3.385	-	-	-	-	-
6	16,4	627(100)	257, 265om, 295om, 352	Derivado de quercetina (diglicosídeo hex pent)	-	2.433	-	-	-	-
7	16,7	-	271,333	Derivado de apigenina	-	-	-	-	-	-
8	16,7	-	255, 265om, 303om, 357	Derivado de quercetina	-	7.432	-	2.353	-	-
9	16,9	-	257, 269om, 349	Isoorientina	19.110	-	-	-	-	-
10	17,78	-	257, 267om, 299om, 353	Derivado de quercetina	-	3.485	-	-	-	-
11	17,8	-	257, 267om, 349	Orientina	15.383	-	-	-	-	-
12	18,73	-	257, 267om, 285om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-
13	18,8	-	255, 265om, 299om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	19.087	-
14	19,2	-	255, 267om,295om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-
15	19,6	611 (100)	257, 265om, 291om, 355	Rutina	-	44.991	36.456	18.036	-	-
16	20,6	433(100)	269, 335	Vitexina	12.006	-	-	-	-	-
17	20,65	-	263, 301om, 349	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-
18	20,9	-	257, 265om, 297om, 329om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	11.426	-
19	21,3	465 (100)	257, 267om, 305om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-
20	21,99	-	257, 265om, 297om, 355	Derivado de quercetina	-	5.566	-	-	-	-
21	22,02	595 (100), 465 (90)	255, 265om, 285om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-
22	24,69	-	265,295om,347	Derivado de campferol	-	2.715	-	-	-	-
23	26,30	-	255, 267om, 305om, 355	Derivado de quercetina	-	10.597	3.122	8.987	-	-
24	29,12	-	257,265om, 295om,351	Quercitrina	-	-	-	-	-	-

Tabela 5 – Flavonóides identificados em *C. betulaster*, *C. glutinosus*, *C. cf montevidensis* e *C. grandivelum* (cont.).

	TR (min)	MS (%)	UV (nm) (BlI, ombros, Bl)	Flavonóide	C.bet	C. glu	C.mon		C.gra	
					folha %	Folha %	folha %	caule %	folha %	Caule %
25	38,4	-	265, 289om, 341	NI (flavona)	-	-	-	-	-	-
26	38,67	-	255, 265om, 303om, 353	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-
27	38,92	449 (100), 434(30), 302 (15), 286 (30), 204 (10), 148 (30)	271, 281 om, 331	NI (flavona)	-	-	-	-	-	-
28	39,04	-	257, 265om, 351	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-
29	39,95	-	267, 289om, 313, 357om	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-
30	40,7	-	255, 265om, 301om, 355	NI (flavonol)	-	-	25.720	12.412	-	-
31	41,2	595 (90), 309(100), 287(10), 147 (2)	267, 287om, 313, 357om	Tilirosideo	-	-	-	22.489	13.023	53.317
32	44,44	-	271, 287om, 313, 357om	NI (flavovol)	-	-	-	-	-	-
33	45,7	-	273, 347	NI	-	3.225	-	-	-	-
34	45,9	-	259, 271om, 349	NI	0.805	-	10.086	2.990	-	-
35	46,34	-	257, 271om, 347	NI	2.853	-	-	-	-	-
36	49,71	-	257, 271om, 349	NI	1.835	2.028	-	-	-	-

TR: tempo de retenção; EM: espectro de massas; UV: espectro de absorção UV/vis; hex: hexose; pent: pentose

Tabela 6 - Flavonóides identificados em *C. antisiphiliticus* e *C. hemiargyreus*.

	TR (min)	EM (%)	UV (nm) (BII, ombros, BI)	Flavonóide	C.anti_1		C.anti_2		C.hemi_1		C.hemi_2	
					folha %	caule %	folha %	caule %	folha %	caule %	folha %	Caule %
1	5,4	-	273	NI	1.577	2.502	1.248	4.083	2.462	11.374	1.846	24.656
2	15,14	-	259, 269om, 345	Derivado de apigenina	-	-	1.170	-	-	-	-	-
3	15,4	595 (100)	271, 334	Derivado de apigenina (diglicosídeo hex hex)	2.229	-	4.408	11.884	5.714	14.113	21.130	14.078
4	15,6	-	257, 267om, 343	NI (flavona)	2.896	-	1.404	-	-	-	-	-
5	16,4	565 (100)	269, 341	Derivado de apigenina (diglicosídeo hex pent)	-	-	6.686	-	-	26.265	14.093	4.805
6	16,4	627(100)	257, 265om, 295om, 352	Derivado de quercetina (diglicosídeo hex pent)	-	-	-	-	-	-	-	-
7	16,7	-	271,333	Derivado de apigenina	-	-	-	5.320	22.810	-	-	-
8	16,7	-	255, 265om, 303om, 357	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
9	16,9	-	257, 269om, 349	Isoorientina	-	-	2.742	-	-	-	-	-
10	17,78	-	257, 267om, 299om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
11	17,8	-	257, 267om, 349	Orientina	-	-	1.014	-	-	-	-	-
12	18,73	-	257, 267om, 285om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	3.975	-	-	-	-
13	18,8	-	255, 265om, 299om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
14	19,2	-	255, 267om, 295om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
15	19,6	611 (100)	257, 265om, 291om, 355	Rutina	13.890	22.052	13.129	-	-	-	-	-
16	20,6	433(100)	269, 335	Vitexina	-	-	15.629	-	-	-	1.563	-
17	20,65	-	263, 301om, 349	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
18	20,9	-	257, 265om, 297om, 329om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
19	21,3	465 (100)	257, 267om, 305om, 355	Derivado de quercetina	5.018	-	-	12.288	-	-	1.357	-
20	21,99	-	257, 265om, 297om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
21	22,027	595 (100), 465 (90)	255, 265om, 285om, 353	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-
22	24,695	-	265, 295om, 347	Derivado de campferol	-	-	-	-	-	-	-	-
23	26,306	-	255, 267om, 305om, 355	Derivado de quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 6 - Flavonóides identificados em *C. antisiphiliticus* e *C. hemiargyreus* (cont.).

	TR (min)	EM (%)	UV (nm) (BII, ombros, BI)	Flavonóide	C.anti_1		C.anti_2		C.hemi_1		C.hemi_2	
					folha %	caule %	folha %	caule %	folha %	caule %	folha %	Caule %
24	29,129	-	257,265om, 295om,351	Quercitrina	23.088	13.208	26.628	16.332	-	-	-	-
25	38,4	-	265, 289om, 341	NI (flavona)	-	-	-	-	-	-	-	-
26	38,67	-	255, 265om, 303om, 353	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-	-	-
27	38,925	449 (100), 434(30), 302 (15), 286 (30), 204 (10), 148 (30)	271, 281om, 331	NI (flavona)	3.688	-	2.066	4.928	-	-	5.637	-
28	39,04	-	257, 265om, 351	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-	-	-
29	39,95	-	267, 289om, 313, 357om	NI (flavonol)	2.475	-	-	-	-	-	-	-
30	40,7	-	255, 265om,301om, 355	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-	-	-
31	41,2	595 (90), 309(100), 287(10), 147(2)	267, 287om, 313, 357om	Tilirosideo	23.844	19.907	8.369	17.699	17.252	6.023	23.924	11.099
32	44,44	-	271, 287om, 313, 357om	NI (flavonol)	-	-	-	-	-	-	-	-
33	45,7	-	273, 347	NI	-	-	-	-	-	-	-	-
34	45,9	-	259, 271om, 349	NI	-	-	-	-	-	-	-	-
35	46,344	-	257, 271om, 347	NI	-	-	-	-	-	-	-	-
36	49,71	-	257, 271om, 349	NI	-	-	-	-	-	-	-	-

TR: tempo de retenção; EM: espectro de massas; UV: espectro de absorção UV/vis; hex:hexose; pent: pentose

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD-GARCÍA, B.; BERRUETA, L.A.; GARMÓN-LOBATO, S.; VICENTE, F. 2009. A general analytical strategy for the characterization of phenolic compounds in fruit juices by high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray ionization and triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* 1216:5398-5415.
- BARBOSA, P.R.; FASCIO, F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; ROQUE, N.F. 2003. Triterpenes of *Croton betulaster* (Euphorbiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 31:307-308.
- BARBOSA, P.R.; FASCIO, M.; MARTINS, D.; ROQUE, N.F. 2004. Benzoyl-methylpolyols from *Croton* species (Euphorbiaceae). *Arkivoc* 2004:95-102.
- BARBOSA, E.; CALZADA, F.; CAMPOS, R. 2007. In vivo anti-giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of ethnopharmacology* 109:552-554
- CALZADA, F.; ALANÍS, A.D. 2007. Additional antiprotozoal flavonol glycosides of the aerial parts of *Helianthemum glomeratum*. *Phytotherapy Research* 21:78-80.
- CAPASSO, A.; PIACENTE, S.; DE TOMMASI, N.; RAGUCCI, M.; PIZZA, C. 2000. Constituents of *Croton menthodor* and their effects on electrically induced contractions of the guinea-pig isolated ileum. *Phytotherapy research* 14:156-159.
- COS, P.; YING, L.; CALOMME, M.; HU, J.P.; CIMANGA, K.; VAN POEL, B.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J.; VAN DEN BERGHE, D. 1998. Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of natural products* 61:71-76.
- COSTA, D.A.; SILVA, D.A.; CAVALCANTI, A.C.; MEDEIROS, M.A.A.M.; LIMA, J.T.; CAVALCANTE, J.M.S.; SILVA, B.A.; AGRA, M.F.; SOUZA, M.F.V. 2007. Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O-beta-D-(6"-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. *Química Nova* 30:901-903.
- CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. 2002. Optimization of a liquid chromatography method based on simultaneous electrospray ionization mass spectrometric and ultraviolet photodiode array detection for analysis of flavonoid glycosides. *Rapid communications in mass spectrometry* 16:2341-8.
- CUYCKENS, F.; CLAEYS, M. 2004. Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *Journal of mass spectrometry* 39:1-15.

- DEMETZOS, C.; MAGIATIS, P.; TYPAS, M.A.; DIMAS, K.; SOTIRIADOU, R.; PEREZ, S.; KOKKINOPOULUS, D. 1997. Biotransformation of the flavonoid tiliroside to 7-methylether tiliroside: bioactivity of this metabolite and of its acetylated derivative. *Cellular and molecular life sciences* 53:587-592.
- EMERENCIANO, V.P.; MILITÃO, J.S.L.T.; CAMPOS, C.C.; ROMOFF, P.; KAPLAN, M.A.C.; ZAMBON, M.; BRANT, A.J.C. 2001. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. *Biochemical systematics and ecology* 29:947-957.
- FURLAN, C.M. 2004. *Efeitos de poluentes atmosféricos na composição química de indivíduos jovens de Tibouchina pulchra (Cham.) Cogn. e Psidium guajava L.* (Tese de doutorado). Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP.
- GIANG, P.M.; JUNG, J.L.; PHAN, T.S. 2004. Flavonoid glycosides from the leaves of *Croton tonkinensis* Gagnep., Euphorbiaceae. *Journal of chemistry* 42:125 - 128.
- GONZÁLEZ-VÁZQUEZ, R.; DÍAZ, B.K.; AGUILAR, M.I.; DIEGO, N.; LOTINA-HENNSSEN, B. 2006. Pachypodol from *Croton ciliatoglanduliferus* Ort. as water-splitting enzyme inhibitor on thylakoids. *Journal of agricultural and food chemistry* 54:1217-1221.
- GOVAERTS, R.; FRODIN, D.G.; RADCLIFFE-SMITH A. 2000. *World checklist of Euphorbiaceae (and Pandaceae) v. 2 Euphorbiaceae: Croton to Excoecariopsis*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- GUERRERO, M.F.; PUEBLA, P.; CARRÓN, R.; MARTÍN, M.L.; SAN ROMÁN, L. 2002. Quercetin 3,7-dimethyl ether : a vasorelaxant isolated from *Croton schiedeianus* Schlecht. *Pharmacy and Pharmacology* 54:1373-1378.
- HERRERA-RUIZ, M; ROMAN-RAMOS, R.; ZAMILPA, A.; TORTORIELLO, J.; JIMÉNEZ-FERRER. 2008. Flavonoids from *Tilia americana* with anxiolytic activity in plus-maze test. *Journal of ethnopharmacology* 118: 312-7.
- KINGHORN, A.D.; FARNSWORTH, N.R.; SOEJARTO, D.D.; CORDELL, G.A.; SWANSON, S.M.; PEZZUTO, J.M.; WANI, M.C.; WALL, M.E.; OBERLIES, N.H.; KROLL, D.J.; KRAMER, R.A.; ROSE, W.C.; VITE, G.D.; FAIRCHILD, C.R.; PETERSON, R.W.; WILD, R. 2003. Novel strategies for the discovery of plant-derived anticancer agents. *Pharmaceutical biology* 41:53-67.
- LAGNIKA, L.; WENIGER, B.; VONTHRON-SENECHEAU, C.; SANNI, A. 2009. Antiprotozoal activities of compounds isolated from *Croton lobatus* L. *African Journal of Infectious Diseases* 3:1-5.
- LEE, S.; MIN, B.; KIM, J.; LEE, J.; KIM, T.; KIM, C.; KIM, Y.; LEE, H. 2005. Flavonoids from the leaves of *Litsea japonica* and their anti-complement activity. *Phytotherapy research* 19:273-6.

- LENCINA, C.; PIRES, V.S.; GOSMANN, G.; TAKETA, A.T.C.; SCHENKEL, E.P. 2001. Tiliroside em *Croton gnaphalii* Baill. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 11:89–93.
- MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. 1970. *The systematic identification of flavonoids*. New York: Springer Verlag.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; ARRUDA, A.C.; PAMPLONA, S.G.S.R.; VANDERLINDE, F.A.; LAPA, A.J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N.F.; COLUS, I.M.S.; FARIAS, R.A.F.; LUNA COSTA, A.M.; RAO, V.S.N. 2000. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of ethnopharmacology* 70:41-55.
- MARKHAM, K.R. 1982. *Techniques of flavonoid identification*. London: Academic Press.
- PALMEIRA JUNIOR, S.F.; CONSERVA, L.M.; SILVEIRA, E.R. 2005. Two clerodane diterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16:1420-1424.
- PALMEIRA JUNIOR, S.F.; ALVES, V.L.; MOURA, F.S.; VIEIRA, L.F.A.; CONSERVA, L.M. LEMOS, R.P. 2006. Constituintes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16:397-402.
- QUINTYNE-WALCOTT, S.; MAXWELL, A.R.; REYNOLDS, W.F. 2007. Crotogossamide, a cyclic nonapeptide from the latex of *Croton gossypifolius*. *Journal of natural products* 70:1374-1376.
- RAO, Y.K.; GEETHANGILI, M.; FANG, S.; TZENG, Y. 2007. Antioxidant and cytotoxic activities of naturally occurring phenolic and related compounds: a comparative study. *Food and chemical toxicology* 45:1770-1776.
- RICE-EVANS, C.; MILLER, N.J.; PANANGA, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20:933-956.
- ROBARDS, K.; ANTOLOVICH, M. 1997. Analytical Chemistry of fruit bioflavonoids: a review. *Analyst* 122:11R-34R.
- SALA, A.; RECIO, M. C.; SCHINELLA, G. R.; MAÑEZ, S.; GINER, R.M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. 2003. Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. *European Journal of Pharmacology* 461:53-61.
- SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F.; NEGRI, G. 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian chemical society* 18(1):11-33.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. 2008. *Botânica sistemática*. (2.Ed.) Nova Odessa: Instituto Plantarum.

- SPOHR, T.C.L.S.; STIPURSKY, J.; SASAKI, A.C.; BARBOSA, P.R.; MARTINS, V.; BENJAMIM, C.F.; ROQUE, N.F.; COSTA, S.L.; GOMES, F.C.A. 2010. Effects of the flavonoid casticin from brazilian *Croton betulaster* in cerebral cortical progenitors in vitro: direct and indirect action through astrocytes. *Journal of neuroscience research* 88:530-41.
- WEBSTER, G.L. 1993. A Provisional Synopsis of the Sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 42:793-823.
- WILLIAMS, R.J.; SPENCER, J.P.E.; RICE-EVANS, C. 2004. Flavonoids and Isoflavones (phytoestrogens): absorption, metabolism and bioactivity. *Free Radical Biology and Medicine* 36:838-849.
- ZOU, G.; SU, Z.; ZHANG, H.; WANG, Y.; YANG, J.; ZOU, Z. 2010. Flavonoids from the stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. *Molecules* 15:1097-1102.

Capítulo 3 - Componentes do extrato etanólico de espécies brasileiras de *Croton* L. analisados por CG/EM

INTRODUÇÃO

O gênero *Croton* L. destaca-se entre as Euphorbiaceae por representar um grande número de espécies, cerca de 1200, amplamente distribuídas nos trópicos, muitas utilizadas como medicinais (SALATINO *et al.*, 2007). O potencial farmacológico acompanha a variedade de compostos químicos já encontrados. São freqüentes os relatos de alcalóides, diterpenos, triterpenos, óleos voláteis e flavonóides em espécies de *Croton* (SALATINO *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2007a; ADELEKAN *et al.*, 2008; DE MARINO *et al.*, 2008; BRASIL *et al.*, 2009; EL BABILI *et al.*, 2009; LAGNIKA *et al.*, 2009; MORENO *et al.*, 2009; SPOHR *et al.*, 2010; GUIMARÃES *et al.*, 2010; ZOU *et al.*, 2010).

A caracterização química de espécies de *Croton* é relevante tendo em vista o alto potencial de uso medicinal de suas espécies (OROZCO-TOPETE *et al.*, 1997; JONES, 2003), inclusive para validação de seu uso na medicina popular tradicional (MACIEL *et al.*, 2000; BARBOSA *et al.*, 2007b). Além do aspecto medicinal, a identificação de metabólitos secundários pode ser útil para a provisão de caracteres que poderão estabelecer relacionamentos de afinidades em níveis infra e intergenéricos (HEGNAUER, 1986; SWAIN, 1980; RADULOVIC *et al.*, 2006; REYNOLDS, 2007). Esse aspecto é particularmente importante em *Croton*, dada a reconhecida diversidade química de suas espécies (SALATINO *et al.*, 2007), a complexidade e grandeza do gênero e a necessidade de provisão de sinapomorfias fenotípicas para sustentação de clados que se estão

estabelecendo com as filogenias moleculares que vêm sendo publicadas (RIINA *et al.*, 2010; RIINA *et al.*, 2009; BERRY *et al.*, 2005).

Considerando esses fatores, o presente trabalho tem como objetivo a identificação dos principais componentes dos extratos etanólicos brutos de seis espécies de *Croton*, a fim de contribuir para o conhecimento da química do gênero.

MATERIAS E MÉTODOS

Extratos etanólicos (maceração, 3 dias) foram obtidos de folhas e caules (2-3g) de 6 espécies nativas de *Croton* (Tabela 1).

Tabela 1 – Espécies de *Croton* utilizadas para os extratos etanólicos brutos

Voucher	Espécie	Seção	Local de coleta	folha / caule
LRL 258	<i>C. betulaster</i> Müll.Arg.	<i>Barhamia</i>	Rio de Contas – BA	F
LRL 311	<i>C. cf montevidensis</i> Spreng.	<i>Codonocalyx</i>	Guaíba – RS	F/C
LRL 324	<i>C. cf pycnocephalus</i> Baill.	<i>Pilinophytum</i>	Palmares do Sul – RS	F/C
Cordeiro 3143	<i>C. grandivelum</i> Baill.	<i>Velamea</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C
Cordeiro 3229	<i>C. hemiargyreus</i> Müll.Arg.	<i>Cleodora</i>	Caldas – MG	F/C
Cordeiro 3140	<i>C. antisiphiliticus</i> Mart.	<i>Ocalia</i>	Mogi Guaçu – SP	F/C

Os extratos foram analisados por cromatografia a gás/ espectrometria de massas (CG/EM). Para as análises em CG/EM, foi utilizado um aparelho Agilent 6850/Agilent 5975C, coluna capilar DB5 HT (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), He como gás de arraste com fluxo de 1 mL min⁻¹. Temperaturas do injetor e do detector em 250 °C. Foi utilizada a seguinte

programação de temperaturas da coluna: 150 °C durante 3 min; elevação de 10°C min⁻¹ até de 300°C; manutenção em 300 °C por 20 min, modo splitless. Para identificação das substâncias, foram utilizados os espectros de massas correspondentes às bandas dos cromatogramas, comparados com os dados da biblioteca NBS/NIST e da literatura (WHEELER *et al.*, 1967; OHASHI *et al.*, 1973; GUINAUDEAU *et al.*, 1979). Amostras autênticas de ésteres de ácidos graxos foram utilizadas para auxiliar na identificação de componentes dos extratos analisados.

RESULTADOS

As substâncias detectadas (28 no total, Tabela 2) no extrato bruto etanólico das espécies de *Croton* analisadas foram identificadas pelos espectros de massas e tempos de retenção. Foram encontrados principalmente sesquiterpenos oxigenados, ésteres metílicos de ácidos graxos, alcalóides e triterpenos esteroidais (Tabela 2). Várias substâncias presentes nos extratos não puderam ser identificadas principalmente em função da baixa abundância relativa dos picos, que acabam fornecendo espectros de massas de qualidade inferior.

Os principais componentes do extrato etanólico de folhas de *C. betulaster* são os ésteres benzoato de benzila (TR: 4,85min), cinamato de benzila (TR: 6,73min) e benzoína (TR: 11,13min) (Figura 1, Tabela 2). Entre os triterpenos, lupeol é o mais abundante nessa amostra (TR: 17,63 min).

Figura 1 – Cromatograma do extrato etanólico obtido de folhas de *C. betulaster*, mostrando o principal componente.

C. cf pycnocephalus apresentou um perfil rico em sesquiterpenos oxigenados que não puderam ser identificados com segurança. No extrato de folhas, a substância mais abundante é um tetrametoxiflavonol (Figura 2). Os dados de CG/EM não são suficientes para precisar os sítios de metoxilação. Os triterpenos sitosterol e Lup-20(29)-en-3-ona também são muito abundantes, sendo o primeiro a substância majoritária dos extratos de caule dessa espécie (Figura 2).

Figura 2 – Cromatogramas dos extratos etanólicos obtidos de folhas e caule de *C. cf pycnocephalus*, mostrando os principais componentes, respectivamente um tetrametoxiflavonol (folhas) e sitosterol (caule).

Entre os sesquiterpenos oxigenados característicos dos extratos de *C. cf montevidensis*, ledol é o mais abundante e o principal componente do extrato de folhas. Sitosterol é o componente mais abundante no caule (Figura 3). Nesta amostra também foi encontrado um flavonóide dimetoxilado em 16,48min (Tabela 2).

Figura 3 – Cromatogramas dos extratos etanólicos obtidos de folhas e caule de *C. cf montevidensis*, mostrando os principais componentes, respectivamente ledol (folhas) e sitosterol (caule).

Sitosterol é também o componente mais abundante nos extratos obtidos de folhas e caule de *C. antisiphiliticus* (Figura 4). O éster metílico do ácido *n*-hexadecanóico aparece em 6,9 minutos. O éster etílico do ácido octadecanóico (TR: 8,9 min) é muito abundante nas folhas dessa amostra. Outras substâncias presentes na faixa de 8 min, cujos espectros de massas indicam possíveis ésteres de ácidos graxos, não puderam ser identificadas com segurança (Figura 4), uma vez que os TRs não foram compatíveis com aqueles obtidos para os padrões utilizados para comparação.

Figura 4 – Cromatogramas dos extratos etanólicos obtidos de folhas e caule de *C. antisiphiliticus*, mostrando sitosterol, o principal componente do extrato etanólico bruto de folhas e caules.

N-metil-crotonosina é o principal componente do extrato etanólico de caule de *C. grandivelum*, seguido de sitosterol, um dos componentes majoritários nas folhas (Figura 5). Essa espécie parece ter uma diversidade relativamente alta de alcalóides como constituintes minoritários (Figura 5, Tabela 2). Neste caso são detectados também na faixa de 8 minutos picos abundantes que provavelmente correspondem a ésteres de ácidos graxos, cuja identificação não foi possível.

Figura 5 – Cromatogramas dos extratos etanólicos obtidos de folhas e caule de *C. grandivelum*, mostrando o alcalóide *N*-metil-crotonosina, o principal componente do extrato etanólico bruto de caule, também abundante nas folhas.

Sitosterol também é a substância mais abundante nos extratos etanólicos das folhas de *C. hemiargyreus*, seguida do éster metílico do ácido *n*-hexadecanóico, substância majoritária no extrato de caule (Figura 6). Entre os alcalóides já relatados para essa espécie (AMARAL & BARNES, 1998; PEREIRA *et al.*, 1999) foram identificados glaucina e reticulina (Tabela 2). Provavelmente outros alcalóides também estão presentes, uma vez que há uma série de picos na mesma faixa de tempos de retenção dos alcalóides identificados (Figura 6).

Todavia as abundâncias relativas desses picos são muito baixas, ou seja, sem espectros de massas conclusivos.

Figura 6 – Cromatogramas dos extratos etanólicos obtidos de folhas e caule de *C. hemiargyreus*, mostrando sitosterol, o principal componente do extrato etanólico bruto de folhas e éster metílico do ácido *n*-hexadecanóico, principal componente do caule. “A” indica a faixa de tempos de retenção nas quais podem estar os alcalóides.

Tabela 2 – Componentes identificados em extratos etanólicos brutos de seis espécies de *Croton*

TR (min)		M ⁺ (FB)	m/z (%)	Substância	Classe	Espécies											
						C. bet		C. pycno		C. mon		C. anti		C. gra		C. hemi	
						F		f	c	f	c	f	c	f	c	F	c
1	3,15	220 (C ₁₅ H ₂₄ O)	79(100), 91(87), 93(86), 69(73), 55(63), 105(61), 107(60), 95(58), 67(57), 77(56)	óxido de cariofileno	sesquiterpeno oxigenado			x		x	x					x	
2	3,22	222 (C ₁₅ H ₂₆ O)	109(100), 69(92), 93(92), 161(88), 81(80), 91(79), 79(70), 67(69), 119(52), 133(42), 189(41), 204(39), 175(10), 222(2)	Ledol	sesquiterpeno oxigenado					x	x						
3	3,62	222 (C ₁₅ H ₂₆ O)	161(100), 105(38), 204(35), 81(28), 95(26), 119(23), 79(22), 91(21), 121(20), 93(20), 134(20), 189(15), 222(5)	τ-cadinol	sesquiterpeno oxigenado			x	x	x	x						x
4	3,75	222 (C ₁₅ H ₂₆ O)	95(100), 121(75), 161(62), 105(58), 81(48), 79(46), 91(43), 93(41), 204(35), 109(35), 137(15), 164(15), 189(10), 222(5)	α-cadinol	sesquiterpeno oxigenado			x		x	x						
5	4,85	212 (C ₁₄ H ₁₂ O ₂)	105(100), 91(43), 77(23), 212(21), 51(10), 106(86), 65(79), 90(71), 107(68), 194(62), 167(50), 152(20)	benzoato de benzila	éster benzênico	X											
6	6,73	238 (C ₁₆ H ₁₄ O ₂)	91(100), 131(52), 77(37), 192(35), 103(30), 193(23), 65(16), 51(16), 147(15), 220(5), 238(5)	cinamato de benzila	éster benzênico	X											
7	6,92	256 (C ₁₆ H ₃₂ O ₂)	74(100), 60(86), 57(71), 55(69), 69(42), 71(38), 129(36), 83(28), 97(25), 213(13), 256(12), 157(10), 185(9)	éster metílico do ácido <i>n</i> -hexadecanóico	éster de ácido graxo			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
8	7,5	290 (C ₂₀ H ₃₄ O)	69(100), 81(43), 93(39), 55(23), 107(23), 67(23), 95(19), 79(18), 91(15), 71(14)	Geranilgeraniol	diterpeno					x							

Tabela 2 – Componentes identificados em extratos etanólicos brutos de seis espécies de *Croton* (cont.)

	TR (min)	M ⁺ (FB)	m/z(%)	Substância	Classe	Espécies											
						C. bet		C. pycno		C.mon		C. anti		C. gra		C. hemi	
						f		F	c	f	c	f	c	F	c	f	c
9	8,41	296 (C ₂₀ OH ₄₀)	71(100), 43(48), 41(41), 81(40), 69(39), 55(38), 57(37), 123(37), 95(31),68(30)	Fitol	diterpeno alcoólico							x	x	x	x		
10	8,93	374 (C ₂₂ H ₄₄ O ₄)	43(100), 41(69), 60(66), 55(64), 73(61), 57(59), 284(39), 69(31), 71(28), 129(23)	Éster etílico do ácido octadecanóico	Éster etílico de ácido graxo			X	x	X	x	x	x	x	x	x	
11	11,13	212 (C ₁₄ H ₁₂ O ₂)	105(100), 107(67), 77(44), 120(14), 163(13), 51(11), 78(6), 212(2)	Benzoína	éster benzênico												
12	12,65	311 (C ₁₉ H ₂₁ NO ₃)	311(100), 282(66), 310(52), 268(49), 152(23), 165(22), 225(22), 312(20), 253(19), 153(16), 77(20), 55(18)	Pronuciferina	alcalóide									x	x		
13	13,15	299 (C ₁₈ H ₂₁ NO ₃)	234(100), 322(50), 165(31), 189(28), 235(28), 191(24), 178(20), 165(19), 152(15)	Linearisina	alcalóide									x	x		
14	13,42	355 (C ₂₁ H ₂₅ NO ₄)	354(100), 279(52), 251(35), 165(34), 223(33), 207(33), 195(28), 115(28), 209(27), 355(27), 322(26), 265(26), 294(23), 340(5)	Glaucina	alcalóide											X x	
15	13,48	297 (C ₁₈ H ₁₉ NO ₃)	297(100), 268(57), 296(50), 254(36), 298(18), 165(18), 211(16), 252(15), 269(11), 152(10), 115(10)	N-metil-crotonosina	alcalóide									x	x		
16	13,79	343 (C ₂₀ H ₂₅ NO ₄)	192(100), 177(18), 193(13), 148(60), 137(32), 149(28), 178(28), 55(27), 77(27), 190(27)	Reticulina	alcalóide				x					x	x	X x	
17	14,15	410 (C ₃₀ H ₅₀)	69(100), 81(55), 95(55), 68(12), 121(11), 67(11), 137(11), 93(11), 136(10), 123(9)	Esqualeno	diterpeno	x											

Tabela 2 – Componentes identificados em extratos etanólicos brutos de seis espécies de *Croton* (cont.)

Nº	TR (min)	M ⁺ (FB)	m/z (%)	Substância	Classe	Espécies											
						C. bet		C. pycno		C. mon		C. anti		C. gra		C. hemi	
						f		F	c	f	c	f	c	f	c	F	c
18	16,1	430 (C ₁₉ H ₅₀ O ₂)	165(100), 121(75), 69(70), 164(31), 43(23), 57(13), 169(12), 55(10), 205(10)	α-tocoferol	tocoferol	x				x							
19	16,48	330 (C ₁₇ H ₁₄ O ₇)	330(100), 315(35), 135(27), 331(19), 149(17), 69(14), 207(13), 259(13), 287(11), 55(10), 301(5)	flavonóide dimetoxilado	flavonóide					x							
20	16,61	400 (C ₂₈ OH ₄₈)	43(100), 105(61), 55(59), 45(58), 81(56), 107(54), 91(53), 95(50), 382(47), 367 (25), 315 (27), 289 (29), 273 (14), 255(26), 231(13), 145 (58), 133 (35)	campesterol	esteróide							x	x	x	x	x	
21	16,84	412 (C ₂₉ OH ₄₈)	255(43), 133(41), 105(46), 91(46), 83(73), 81(70), 79(42), 69(60),55(100), 43(43),	stigmasterol	esteróide	x			x			x	x		x	x	
22	17,18	414 (C ₂₉ OH ₅₀)	55(100), 83(73), 81(70), 69(60), 91(46), 105(46), 43(43), 255(43), 79(42), 133(41)	sitosterol	esteróide			X	x	x	x	x		x	x	x x	
23	17,34	426 (C ₃₀ OH ₅₀)	43(100), 145(64), 105(64), 81(63), 55(62), 107(59), 95(56), 91(55), 57(55), 396(52), 381 (26), 329 (29), 303 (30), 255 (32), 213 (39)	α-amirina	triterpeno	x		X		x	x	x		x			
24	17,49	424 (C ₃₀ H ₄₈ O)	218(100), 95(34), 81(31), 189(31), 55(30), 135(29), 93(29), 107(29), 69(29), 109(27), 203 (27), 207 (21), 365 (2)	lup-20(29)-en-3-ona	triterpeno	x			x								

Tabela 2 – Componentes identificados em extratos etanólicos brutos de seis espécies de *Croton* (cont.)

TR (min)		M ⁺ (FB)	m/z (%)	Substância	Classe	Espécies											
						C. bet		C. pycno		C. mon		C. anti		C. gra		C. hemi	
						f		f	c	f	c	f	c	f	c	F	c
25	17,6	426 (C ₃₀ H ₅₀ O)	218(100), 203(23), 207 (13), 55(23), 95(22), 189(22), 135(21), 69(20), 81(20), 207 (13), 119(19), 365 (2)	β-amirina	Triterpeno					x	x			x	x		
26	17,63	426 (C ₃₀ H ₅₀ O)	43(100), 68(98), 55(87),93(79), 67(78), 93(77), 81(76), 95(74), 109(63), 107(60), 121(54), 135(53), 208(53), 189(50),79(47), 218(39), 426(18)	lupeol	Triterpeno	x											
27	17,66	374 (C ₁₉ H ₁₈ O ₈)	374(100), 359(54), 373(52), 355(29), 69(28), 151(23), 37(20), 164(20), 142(18), 173(18), 301(5), 331(5)	tetrametoxiflavonol	Flavonóide			x	x								
28	17,96	412 (C ₂₉ H ₄₈ O)	124(100), 43(48), 55(41), 229(36), 95(31), 81(30), 91(29), 57(29), 69(26), 147(29), 207(15), 289(18), 327(5), 370(12), 412(25)	estigmast-4-en-3-ona	Triterpeno			x	x		x	x	x			x	x
f:folha, c:caule																	

f:folha, c:caule

DISCUSSÃO

O método e a análise por CG/EM tornam possível e rápida detecção e identificação dos componentes principais de extratos etanólicos brutos obtidos a partir de pequenas quantidades de material. Em contrapartida, na maioria dos casos, somente os componentes principais dos extratos apresentam bandas e espectros de massas claros o suficiente para permitir a identificação com segurança. Fracionamentos com outros solventes, utilizando colunas e gradiente de polaridade de solventes, devem ser realizados caso haja interesse em identificar substâncias menos abundantes nesses extratos. Diterpenos, como clerodanos e labdanos por exemplo, uma classe de substâncias extensivamente investigada no gênero (ADDAE-MENSAH *et al.*, 1989; MACIEL *et al.*, 1998; PERES *et al.*, 1998; HIRUMA-LIMA *et al.*, 2002; BLOCK *et al.*, 2004; PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2005; SALATINO *et al.*, 2007), não foram detectados nas amostras analisadas. Uma vez que esse grupo de substâncias é relatado com frequência em diversas espécies de *Croton* (SALATINO *et al.*, 2007), é possível que a metodologia utilizada não seja adequada para detecção desses compostos.

Sesquiterpenos oxigenados foram detectados logo no início do método, a partir de 3 minutos. Óxido de cariofileno, τ -cadinol e α -cadinol e principalmente ledol são componentes abundantes nos extratos (caule e folha) de *C. cf montevicensis* (Tabela 2, Figura 3). Esses sesquiterpenos, exceto ledol, foram também encontrados nas folhas de *C. cf pycnocephalus*, cujo perfil apresenta uma série de bandas de baixa abundância na faixa entre 3 e 5 minutos (Tabela 2, Figura 2). Uma análise mais detalhada, a partir de uma amostra mais abundante e fracionamento por cromatografia em coluna,

provavelmente fornecerá promissora diversidade de constituintes de *C. cf pycnocephalus*.

Triterpenos, esteróides e ésteres metílicos de ácidos graxos são componentes abundantes nos extratos etanólicos brutos das espécies analisadas. Sitosterol aparece como o esteróide mais comum nas espécies analisadas, seguido de α -amirina, β -amirina e campesterol (Tabela 2). Sitosterol e outros esteróides já foram relatados para *C. urucurana* Baill. (PERES *et al.*, 1998), *C. sellowii* Baill (PALMEIRA JUNIOR *et al.*, 2006), *C. cajucara* Benth. (MACIEL *et al.*, 2000), *C. pullei* var. *glabrior* Lanj. (BARBOSA *et al.*, 2007), *C. rhamnifolius* H.B.K. e *C. rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (RANDAU *et al.*, 2004), entre outros (SALATINO *et al.*, 2007). Lupeol e lupenona já foram isolados do extrato hexânico de *C. betulaster* (BARBOSA *et al.*, 2003).

Alcalóides benzilisoquinolínicos também são comuns no gênero. O presente trabalho constitui o primeiro relato dos alcalóides *N*-metil-crotonosina, pronuciferina e linearisina em caules e folhas de *C. grandivelum* (Tabela 2, Figura 5). É interessante que nessa espécie os alcalóides, principalmente *N*-metil-crotonosina (Figura 7), são relativamente abundantes, mais do que em *C. hemiargyreus*, espécie para a qual alcalóides foram extensivamente estudados (AMARAL & BARNES, 1998; PEREIRA *et al.*, 1999). Traços de alcalóides também foram encontrados em *C. cf pycnocephalus*, indicando potencial para investigações mais minuciosas do perfil de alcalóides, assim como para *C. grandivelum*. Esses alcalóides possuem vasta atividade biológica (RÍOS *et al.*, 2000; STÉVIGNY *et al.*, 2005; CUI *et al.*, 2006).

Figura 7 – Estrutura e espectro de massas do alcalóide *N*-metil-crotonosina.

Flavonóis metoxilados foram encontrados em *C. cf montevidensis* e *C. cf pycnocephalus*, como um dos componentes majoritários dos extratos desta última. Na literatura é comum o registro de agliconas altamente metoxiladas para o gênero. Dimetoxiflavonol e tetrametoxiflavonol de *C. schiedeana* Schlecht foram testados quanto à atividade vasorelaxante (GUERRERO *et al.*, 2002). Adelekan e colaboradores (2008) testaram atividade antimalárica de uma quercetina-4'-metil éter de *C. steenkampianus*. Efeitos neuroprotetores da casticina encontrada em *C. betulaster* foram testados por Spohr e colaboradores (2010). No presente trabalho, essa substância não foi detectada no extrato bruto etanólico dessa espécie.

Os extratos etanólicos brutos podem fornecer rapidamente informações valiosas sobre o perfil químico das espécies. Praticamente todas as classes de compostos relatados para *Croton*, exceto diterpenos, puderam ser encontradas nesses extratos. Ainda que não seja possível identificar precisamente os picos menos abundantes, estes indicam potenciais para investigações mais minuciosas, como no caso dos sesquiterpenos oxigenados e alcalóides. Com exceção dos alcalóides de *C. hemiargyreus*, todas as substâncias identificadas no presente trabalho são registradas para as espécies pela primeira vez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDAE-MENSAH, I.; WAIBEL, R.; ACHENBACH, H.; MURIUKI, G.; SANDERS, K.M. 1989. A clerodane diterpene and other constituents of *Croton megalocarpus*. *Phytochemistry* 28:15-17.
- ADELEKAN, A.M.; PROZESKY, E.A.; HUSSEIN, A.A.; UREÑA, L.D.; VAN ROOYEN, P.H.; LILES, D.C.; MEYER, J.J.M.; RODRÍGUEZ, B. 2008. Bioactive Diterpenes and Other Constituents of *Croton steenkampianus*. *Journal of natural products* 6:1919-1922.
- AMARAL, A.C.F.; BARNES, R.A. 1998. A tetrahydroprotoberberine alkaloid from *Croton hemiargyreus*. *Phytochemistry* 47:1445-1447.
- BARBOSA, P.R.; FASCIO, F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; ROQUE, N.F. 2003. Triterpenes of *Croton betulaster* (Euphorbiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 31:307-308.
- BARBOSA, P.R.; ABREU, A.; BATISTA, E.; GUILHON, G.; MULLER, A.; ARRUDA, M.; SANTOS, L.; ARRUDA, A.; SECCO, R. 2007a. Glutarimide alkaloids and terpenoids from *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. *Biochemical Systematics and Ecology* 35:887-890.
- BARBOSA, E.; CALZADA, F.; CAMPOS, R. 2007b. In vivo anti-giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of ethnopharmacology* 109:552-554
- BERRY, P. E.; HIPPE, A.L.; WURDACK, K.J.; VAN EE, B.; RIINA, R. 2005. Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotonaeae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and TRNL-TRNF DNA sequence data. *American Journal of Botany* 92:1520-1534.
- BLOCK, S.; BACCELLI, C.; TINANT, B.; VAN MEERVELT, L.; ROZENBERG, R.; JIWAN, J.H.; LLABRÈS, G.; DE PAUW-GILLET, M.; QUENTIN-LECLERCQ, J. 2004. Diterpenes from the leaves of *Croton zambesicus*. *Phytochemistry* 65:1165-71.
- BRASIL, D.S.; MULLER, A.H.; GUILHON, G.M.S.P.; ALVEZ, C.N.; SILVA, J.K.R.; MAIA, J.G.S. 2009. Essential oil composition of *Croton palanostigma* from north Brazil. *Journal of the Brazilian chemical society* 20:1188-1192.
- CUI, W.; IWASA, K.; TOKUDA, H.; KASHISHARA, A.; MITANI, Y.; HASEGAWA, T.; NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; NISHINO, H.; HANAOKA, M.; MIKAI, C.; TAKEDA, K. 2006. Potential cancer chemopreventive activity of simple isoquinolines, 1-benzylisoquinolines, and protoberberines. *Phytochemistry* 67:70-79.
- DE MARINO, S.; GALA, F.; ZOLLO, F.; VITALLINI, S.; GELSOMINA, F.; VISIOLI, F.; IORIZZI, M. 2008. Identification of minor secondary metabolites from the latex of *Croton lechleri* (Muell.Arg.) and evaluation of their antioxidant activity. *Molecules* 13:1219-1229.

- EL BABILI, F.; FOURASTE, I.; MOULIS, C.; BESSIERE, J.M.; ROQUES, C.; HADDIOUI, L. 2009. Essential oil of leaves of *Croton campestris* St . Hilaire, its secretory elements, and its biological activity. *Journal of Essential Oil Research* 21:272-276.
- GUERRERO, M.F.; PUEBLA, P.; CARRÓN, R.; MARTÍN, M.L.; SAN ROMÁN, L. 2002. Quercetin 3,7-dimethyl ether: a vasorelaxant isolated from *Croton schiedeana* Schlecht. *Pharmacy and Pharmacology* 54:1373-1378.
- GUIMARÃES, L.R.C.; RODRIGUES, A.P.D.; MARINHO, P.S.B.; MULLER, A.H.; GUILLHON, G.M.S.; SANTOS, L.S.; NASCIMENTO, J.L.M.; SILVA, E.O. 2010. Activity of julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton pullei* var. *glabrior* on *Leishmania amazonensis*. *Parasitology Research* 107:1075-1081.
- GUINAUDEAU, H.B.; LEBOEUF, H.M.; CAVÉ, A. 1979. Aporphine alkaloids II. *Journal of natural products* 42:325-359.
- HEGNAUER, R. 1986. Phytochemistry and plant taxonomy — an essay on the chemotaxonomy of higher plants. *Phytochemistry* 25:1519-1535.
- HIRUMA-LIMA, C.A.; TOMA, W.; GRACIOSO, J.S.; ALMEIDA, A.B.A.; BATISTA, L.M.; MAGRI, L.; DE PAULA, A.C.B.; SOARES, F.R.; NUNES, D.S.; BRITO, A.R.M.S. 2002. Natural *trans*-crotonin: the antiulcerogenic effect of another diterpene isolated from the bark of *Croton cajucara* Benth. *Biological & pharmaceutical bulletin* 25:452-6.
- JONES, K. 2003. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*)- a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: traditional uses to clinical research. *Journal of alternative and complementary medicine* 9:877-896.
- LAGNIKA, L.; WENIGER, B.; VONTHRON-SENECHEAU, C.; SANNI, A. 2009. Antiprotozoal activities of compounds isolated from *Croton lobatus* L. *African Journal of Infectious Diseases* 3:1-5.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; BRABO, S.N.; SILVA, M.N. 1998. Terpenoids from *Croton cajucara*. *Phytochemistry* 49:823-828.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; ARRUDA, A.C.; PAMPLONA, S.G.S.R.; VANDERLINDE, F.A.; LAPA, A.J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N.F.; COLUS, I.M.S.; FARIAS, R.A.F.; LUNA COSTA, A.M.; RAO, V.S.N. 2000. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of ethnopharmacology* 70:41-55.
- MORENO, P.R.H.; LIMA, M.E.L.; CARUZO, M.B.R.; TORRES, D.S.C.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M.C.M. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Croton heterocalyx* Baill . (Euphorbiaceae s.s.) leaves. *Journal of Essential Oil Research* 21:190-192.

- OHASHI, M.; WILSON, J.M.; BUDZIKIEWICZ, H.; SHAMMA, M.; SLUSARCHYK, W.A.; DJERASSI, C. 1963. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems. XXXI. Aporphines and Related Alkaloids. *Journal of the American Chemical Society* 85:2807-2810.
- OROZCO-TOPETE, R.; SIERRA-MADERO, J.; CANO-DOMINGUEZ, C.; KERSHENOVICH, J.; ORTIZ-PEDROZA, G.; VAZQUEZ-VALLS, E.; GARCIA-COSIO, C.; SORIA-CORDOBA, A.; ARMENDARIZ, A.M.; TERAN-TOLEDO, X.; ROMO-GARCIA, J.; FERNANDEZ, H.; ROZHON, E.J. 1997. Safety and efficacy of Virend for topical treatment of genital and anal herpes simplex lesions in patients with AIDS. *Antiviral Research* 35:91-103.
- PALMEIRA JUNIOR, S.F.; CONSERVA, L.M.; SILVEIRA, E.R. 2005. Two clerodane diterpenes and flavonoids from *Croton brasiliensis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 16:1420-1424.
- PALMEIRA JUNIOR, S.F.; ALVES, V.L.; MOURA, F.S.; VIEIRA, L.F.A.; CONSERVA, L.M. LEMOS, R.P. 2006. Constituintes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16:397-402.
- PEREIRA, A.S.; AMARAL, A.C.F.; BARNES, R.A.; CARDOSO, J.N.; AQUINO NETO, F.R. 1999. Identification of Isoquinoline alkaloids in crude extracts by high temperature gas chromatography-mass spectrometry. *Phytochemical Analysis* 10:254-258.
- PERES, M.T. P.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; MONACHE, F.D. 1998. Clerodane diterpenes of *Croton ururucana*. *Phytochemistry* 49:171-174.
- RADULOVIC, N.; MANANJARASOA, E.; HARINANTENAINA, L.; YOSHINORI, A. 2006. Essential oil composition of four *Croton* species from Madagascar and their chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology* 34:648-653.
- RANDAU, K. P.; FLORÊNCIO, D. C.; FERREIRA, C.P.; XAVIER, H.S. 2004. Estudo farmacognóstico de *Croton rhamnifolius* H.B.K. e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 14:89-96.
- REYNOLDS, T. 2007. The evolution of chemosystematics. *Phytochemistry* 68:2887-2895.
- RIINA, R.; BERRY, P.E.; VAN EE, B.W. 2009. Molecular phylogenetics of the dragon's blood section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae): a polyphyletic assemblage unraveled. *Systematic botany* 34:360-374
- RIINA, R.; VAN EE, B.W.; WIEDENHOEFT, A.C.; CARDOZO, A.; BERRY, P.E. 2010. Sectional rearrangement of arborescent clades of *Croton* (Euphorbiaceae) in South Africa: evolution of arillate seeds and a new species, *Croton domatifer*. *Taxon* 59:1147-1160
- RÍOS, J.L.; MAÑEZ, S.; GINER, R.M.; RECIO, M.C. 2000 Biological activity of aporphinoid alkaloids. In: CORDELL, G.A. (Ed.) *The alkaloids*. V.53. San Diego: Academic Press.

- SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F.; NEGRI, G. 2007. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). *Journal of the Brazilian chemical society* 18(1):11-33.
- SPOHR, T.C.L.S.; STIPURSKY, J.; SASAKI, A.C.; BARBOSA, P.R.; MARTINS, V.; BENJAMIM, C.F.; ROQUE, N.F.; COSTA, S.L.; GOMES, F.C.A. 2010. Effects of the flavonoid casticin from brazilian *Croton betulaster* in cerebral cortical progenitors in vitro: direct and indirect action through astrocytes. *Journal of neuroscience research* 88:530-41.
- STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUENTIN-LECLERQ, J. 2005. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. *Current Medicinal Chemistry – Anti-cancer Agents* 5:173-182
- SWAIN, T. 1980. Flavonoids as chemotaxonomic markers in plants. In: CZYGAN, F.C. (Ed.) *Pigments in Plants*. Stuttgart: Gustav Fischer.
- WEBSTER, G.L. 1993. A Provisional Synopsis of the Sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 42:793-823.
- WHEELER, D. M.; KINSTLE, T.H.; RINEHART, K.L. 1967. Mass spectral studies of alkaloids related to morphine. *Journal of the American Chemical Society* 89:4494-501.
- ZOU, G.; SU, Z.; ZHANG, H.; WANG, Y.; YANG, J.; ZOU, Z. 2010. Flavonoids from the stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. *Molecules* 15:1097-1102.

5. DISCUSSÃO GERAL

A presente discussão trata de aspectos ligados à identificação de substâncias relacionadas aos capítulos anteriores e tece comentários sobre a distribuição das substâncias por espécie e para o conjunto das espécies estudadas, sugerindo a existência de padrões gerais, além de potenciais focos para estudos futuros.

5.1 *Croton betulaster* Müll.Arg.

Folhas de *C. betulaster* foram analisadas no presente trabalho quanto ao perfil de substâncias voláteis (capítulo 1), flavonóides (capítulo 2) e componentes do extrato etanólico bruto (capítulo 3). Os resultados obtidos nas três diferentes abordagens de caracterização química das folhas dessa espécie foram complementares.

Entre os principais componentes voláteis obtidos de folhas dessa espécie estão β -cariofileno, já relatado em *Croton* e comum em angiospermas, 8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclo-deca-1,5-dieno, não relatado até então para o gênero, α -selineno, β -selineno, α -cariofileno e α -pineno. Benzoato de benzila (figura 1), a substância mais abundante no extrato etanólico (capítulo 3), também foi detectada no final da análise cromatográfica de óleos voláteis, em 22,24 min (capítulo 1). Este é o primeiro relato da presença dessa substância nessa espécie. Benzoato de benzila tem reconhecida ação acaricida (HAYDEN *et al.*, 1992; KALPAKIOGLU *et al.*, 1996; RAYNAUD *et al.*, 2000; LEE *et al.*, 2009). Silva e colaboradores (2009) relatam atividade anti-leishmaniose de óleo rico em benzoato de benzila. Essa substância também possui atividade estrogênica (CHARLES & DARBRE, 2009).

Figura 1 – Estrutura do benzoato de benzila.

Com relação aos flavonóides, esta espécie se distingue das demais pela predominância de flavonas monoglicosiladas: isoorientina, orientina e vitexina. Entre as espécies analisadas, esta é a única com grande predominância de flavonas (em *C. hemiargyreus* são abundantes diglicosídeos de apigenina, ver item 5.5). As substâncias correspondentes às bandas dos cromatogramas em 45,9 e 49,71 min não puderam ser identificadas com base nos dados disponíveis no capítulo 2 (UV e TR). De acordo com o gradiente de polaridade das substâncias ao longo da corrida, de acordo com o método utilizado, poder-se-ia inferir que essas substâncias são mais apolares, provavelmente flavonóides metoxilados. Espectros de massas obtidos nas análises dos extratos etanólicos de outras duas espécies nas quais esses flavonóides são relativamente mais abundantes (flavonóide em 45,9 min – *C. cf montevidensis*; flavonóide em 49,71 min – *C. cf pycnocephalus* - Voucher: LRL 324) fornecem fortes evidências de que se tratam de flavonóis metoxilados (discutidos adiante nos itens 5.3 e 5.7). Nesse caso a proporção entre flavonas e flavonóis sugerida para a espécie no capítulo 2 passa de 100% de flavonas para 91,13% de flavonas e 4,26% de flavonóis. Há registro de flavonóides de *C. betulaster* na literatura. Barbosa e colaboradores (2003) relatam a presença de 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavona em extratos hexânicos de folhas e caule dessa espécie, cujos picos de máxima absorção UV são 268 e 327nm (ÇITOGLU *et al.*,

2004). Não foi encontrada entre os flavonóides de *C. betulaster* uma substância com espectro UV similar a esse. O flavonóide correspondente ao pico em 46,34 min (λ (nm): 257, 271nm, 347) permanece incerto. A atividade neuroprotetora da casticina isolada de *C. betulaster* é constatada através de mecanismos diretos e indiretos, numa interessante abordagem conduzida por Spohr e colaboradores (2010). Os detalhes da identificação da casticina como o flavonóide que ocorre em 49,71 min (capítulo 2) serão discutidos adiante (item 5.3). O tilirosídeo, flavonóide muito abundante em outras espécies, não foi identificado em *C. betulaster*, fato comum também para as folhas de *C. glutinosus* (ver item 5.2) e *C. cf. montevidensis* (ver item 5.7). *C. glutinosus* pertence à mesma seção *Barhamia* (WEBSTER, 1993). Em *C. cf. montevidensis*, pertencente à seção *Codonocalyx* (WEBSTER, 1993), o tilirosídeo não ocorre nas folhas, porém no caule. Diante desses resultados, as análises de amostras de caule de *C. betulaster* e *C. glutinosus*, assim como de caules e folhas de outras espécies da seção *Barhamia*, podem oferecer informações interessantes para caracterização química das espécies em questão e talvez para a seção *Barhamia*.

Em extratos de diclorometano de folhas dessa espécie, Barbosa e colaboradores (2004) encontraram éteres benzil-metílicos de polióis. Os autores sugerem que essas substâncias sejam derivadas da degradação de precursores diterpênicos, em função da ausência destes nos extratos, uma vez que são abundantes os relatos de diterpenos em Euphorbiaceae e em *Croton*. É importante lembrar que no presente trabalho tampouco foram detectados diterpenos (capítulo 3).

BARBOSA *et al.* (2003) isolaram do extrato hexânico de folhas de *C. betulaster* os seguintes triterpenos: lupenona, lupeol, 3-oxo-22-hidroxi-hopano, 3-oxo-20- β -hidroxitaraxastano, 3-oxo-20-hidroxilupano, ácido 3-oxo-olean-12-en-28-óico, ácido 3-

oxo-olean-18-en-28-óico e ácido 3-oxo-cicloart-24E-en-26-óico. No presente trabalho, lupenona e lupeol foram detectados nos extratos etanólicos de folhas dessa espécie (capítulo 3), que são também os triterpenos mais abundantes entre os encontrados por Barbosa e colaboradores (2003).

5.2 *Croton glutinosus* Müll.Arg.

Perfis de óleos voláteis (capítulo 1) e flavonóides (capítulo 2) foram obtidos para as folhas dessa espécie. Extratos etanólicos não foram realizados. Esta é uma análise pioneira acerca do perfil químico dessa espécie.

Os sesquiterpenos β -elemeno (e isômeros) e germacreno D são os componentes majoritários do óleo volátil obtido de *C. glutinosus*. A atividade antitumoral do β -elemeno é conhecida (ADIO, 2009) e vem sendo foco de estudos recentes (SHAN *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2010).

Flavonóis são característicos no perfil químico dessa espécie, sendo rutina o mais abundante, seguido de derivados de quercetina e canferol. O pico em 49,71 min (identificado como casticina, ver item 5.3) também aparece nessa espécie. Tilirosídeo não foi detectado, conforme discutido anteriormente (item 5.1).

Estudos futuros com foco na atividade antitumoral do óleo volátil e atividade antioxidante de extratos alcoólicos ou hidroalcoólicos dessa espécie podem ser interessantes.

5.3 *Croton cf pycnocephalus* (*C. pycnocephalus* Baill.)

Diferentes amostras de *C. cf pycnocephalus* foram analisadas no presente trabalho, conforme Tabela 1. Não há relatos de quaisquer substâncias estudadas em *C. pycnocephalus* Baill. Uma melhor definição dos resultados obtidos e as relações entre as diferentes amostras poderão ser elucidadas quando a espécie for confirmada.

Tabela 1 – Locais de coleta e análises realizadas com diferentes amostras (F: folhas; C: caules) de *C. cf pycnocephalus*

	Amostra (Voucher)			
	LRL 305	LRL 308	LRL 322	LRL 324
Local de coleta	Bagé-RS	Guaíba-RS	Palmares do Sul-RS	Palmares do Sul-RS
Óleos voláteis (capítulo 1)	F/C	F/C	F/C	-
Flavonóides (capítulo 2)	F/C	F/C	F/C	F/C
Extratos etanólicos (capítulo 3)	-	-	-	F/C

Os principais compostos voláteis obtidos de *C. cf pycnocephalus* coletados em Bagé (LRL 305) e Guaíba (LRL 308) foram β -cariofileno (mais de 40% nas folhas e 100% nos caules), β -pineno, elixeno (não relatado anteriormente para *Croton*) e espatulenol, havendo a predominância de sesquiterpenos. Quanto aos monoterpenos, além do β -pineno, foi detectado α -pineno no óleo volátil obtido de folhas de *C. cf pycnocephalus* LRL 308, enquanto na amostra LRL 305 foi detectado sabineno. Essas duas amostras apresentam similaridade qualitativa e quantitativa, ainda que sob uma análise mais ‘grosseira’, sem uso de ferramentas estatísticas apropriadas, principalmente quando comparadas à amostra *C. cf pycnocephalus* LRL 322. O óleo volátil obtido das folhas dessa amostra apresentou-se extremamente complexo, com inúmeros picos com abundância abaixo de 1%, e mesmo os picos mais abundantes não puderam ser identificados com segurança. No entanto é possível inferir, por TR e EM, que o componente majoritário (em 15,98 min) seja um sesquiterpeno oxigenado, enquanto os seguintes (em 13,46 e 11,13 min) sejam sesquiterpenos não oxigenados. Essa

amostra apresentou também maior quantidade de sesquiterpenos oxigenados no final do cromatograma, como τ -cadinol (18,3 min). Através da metodologia empregada no capítulo 1, não foram identificados componentes voláteis no óleo obtido de caule de *C. cf pycnocephalus* LRL 322.

Com relação aos flavonóides, à primeira vista, há maior similaridade entre *C. cf pycnocephalus* LRL 305 e *C. cf pycnocephalus* LRL 308, assim como entre as amostras coletadas em Palmares do Sul (*C. cf pycnocephalus* LRL 322 e LRL 324) (capítulo 1, figura 2, tabela 4). Nas duas primeiras, são abundantes um diglicosídeo de apigenina nas folhas e a banda em 38 min nas folhas e caules. As bandas na faixa a partir de 44 min são mais abundantes em *C. cf pycnocephalus* LRL 322 e LRL 324. Inclusive por isso foi possível identificar o mais abundante deles no extrato etanólico da amostra LRL 324, conforme discutido adiante. A amostra LRL 324 apresentou abundância de isoorientina e orientina, detectadas em menor abundância relativa somente no caule da amostra LRL 305. No entanto um perfil comum é perceptível (capítulo 1, figura 2) e o tilirosídeo é o componente majoritário de todas as amostras (capítulo 1, tabela 4).

Os extratos etanólicos obtidos de folhas e caule de *C. cf pycnocephalus* LRL 324 forneceram informações interessantes e aparentemente valiosas. Primeiramente, alguns sesquiterpenos oxigenados foram identificados (óxido de cariofileno, τ -cadinol, α -cadinol), com base nos espectros de massas e nos tempos de retenção relativos. Esses resultados parecem plausíveis quando comparados àqueles obtidos para *C. cf pycnocephalus* LRL 322 no capítulo 1, sugerindo que possa haver semelhanças entre essas duas amostras quanto à abundância de sesquiterpenos oxigenados, diferentemente de *C. cf pycnocephalus* LRL 305 e LRL 308.

A substância majoritária no extrato etanólico obtido de folhas de *C. cf pycnocephalus* LRL 324 é um tetrametoxiflavonol. Combinando os dados obtidos no capítulo 2 (flavonóides: TR e UV) e no capítulo 3 (extratos EtOH: CG/EM), além de dados de MESAİK *et al.* (2009) propõe-se que a substância em questão seja a casticina (Figura 2).

Figura 2 – A: estrutura da casticina (3',5-hidroxi-4',3,6,7-tetrametoxiflavona); B: cromatograma do extrato hidroalcoólico de folhas de *C. cf pycnocephalus* LRL 324 (capítulo 2), mostrando a banda no TR: 49,71 min; C: espectro UV do flavonóide; D: cromatograma do extrato etanólico bruto de folhas de *C. cf pycnocephalus* LRL 324 (capítulo 3), mostrando banda mais abundante (TR: 17,66 min); E: espectro de massas do flavonóide (casticina).

Mesaik e colaboradores (2009) ressaltam os efeitos imunomodulatório e citotóxico da casticina. Atividade neuroprotetora desse flavonóide é relatada por Spohr e colaboradores (2010). Os resultados aqui apresentados sugerem que as folhas de *C. cf pycnocephalus* de Palmares do Sul podem ser uma fonte mais interessante para obtenção de casticina que folhas de *C. betulaster*, uma vez que a abundância relativa da casticina naquelas amostras é maior.

O esteróide sitosterol, comum em plantas, é o componente mais abundante dos extratos etanólicos de caule de *C. cf pycnocephalus* LRL 324. Nessa amostra também foi encontrado um alcalóide, a reticulina, que apesar de baixa abundância relativa no extrato pôde ser identificado com base no TR e no característico pico base em m/z 192. Diante disto, seria interessante fazer extração com maior quantidade de amostra, empregando metodologia voltada à análise de alcalóides, o que provavelmente levará à detecção de outros alcalóides nesta amostra e nas demais da mesma espécie.

As diferenças observadas em óleos voláteis e flavonóides das diferentes amostras de *C. cf pycnocephalus* podem estar ligadas a fatores ambientais, ainda que os locais de coleta sejam próximos, a sazonalidade (PEREIRA *et al.*, 2001; DOURADO *et al.*, 2005) ou fatores genéticos (ADAMS, 2001; VIEIRA *et al.*, 2001; GRASS *et al.*, 2006). Essas diferenças são relevantes se considerarmos, por exemplo, a presença da casticina ou de flavonas, como isoorientina e orientina, assim como de uma variedade de sesquiterpenos oxigenados. A confirmação da identificação das amostras, além da análise química complementar (óleos voláteis de *C. cf pycnocephalus* LRL 324 e extratos etanólicos brutos de *C. cf pycnocephalus* LRL 305, 308 e 322), fornecerão dados suficientes para uma análise estatística de similaridade entre essas populações e permitirá um melhor entendimento da química da espécie, proporcionando uma base mais sólida para trabalhos futuros.

5.4 *Croton antisyphiliticus* Mart.

A espécie que se apresentou menos “aromática”, ou seja, que de forma geral apresentou menor quantidade e diversidade de componentes dos óleos voláteis extraídos de suas folhas e caules, foi *C. antisyphiliticus*. Essa espécie, conhecida como

“pé-de-perdiz” ou “curraleira” é encontrada nos cerrados brasileiros e amplamente utilizada por comunidades tradicionais, principalmente no tratamento de sífilis (como sugere o epíteto específico), de inflamações uterinas e úlceras (HIRSCHMANN & ARIAS, 1990; RODRIGUES & CARVALHO, 2001; BOTREL *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2007; MOREIRA & GUARIM-NETO, 2009). PIO-CORREA (1974) relata, além dessas aplicações, o uso da espécie como estimulante, sudorífica, antirreumática, diurética, cicatrizante e para o tratamento contra picadas de cobras. Todos os usos medicinais relatados para *C. antisiphiliticus* não devem estar relacionados com componentes voláteis. Fenner e colaboradores (2006) sugerem potencial atividade antifúngica para *C. antisiphiliticus*. Slomp e colaboradores (2009) testaram, com resultados positivos, o efeito nematocida do extrato etanólico da espécie, no qual encontraram flavonóis e taninos. Alcalóides e cumarinas não foram detectados. No extrato etanólico bruto analisado no presente trabalho, observou-se grande diversidade de esteróides e triterpenos (campesterol, estigmasterol, sitosterol, α -amirina, β -amirina, estigmast-4-en-3-ona), principalmente nas folhas, e ésteres metílicos de ácidos graxos. Flavonóis e outras substâncias podem estar presentes no extrato, no entanto as abundâncias relativas com relação aos componentes identificados no capítulo 3 (supracitados) devem ser muito baixas. Contudo não é possível correlacionar, direta e simplesmente, as atividades biológicas desse tipo de extrato com seus componentes mais abundantes detectados por CG/EM. A técnica permite a detecção apenas de substâncias com certo grau de volatilidade. É importante sempre considerar também que muitas substâncias são ativas em baixas concentrações ou atuam em sinergismo com outras substâncias. Para saber com segurança a relação entre atividade biológica e composição química de uma planta é necessário o isolamento das substâncias e testes específicos para uma determinada

atividade, assim como ensaios que considerem a atividade conjunta de duas ou mais substâncias.

No entanto, a caracterização química geral permite sugerir alguns potenciais. No caso dos flavonóides (capítulo 2), por exemplo, *C. antisiphiliticus* apresenta uma distinção com relação às demais espécies analisadas: a presença abundante de quercitrina em caules e folhas. Quercitrina, um glicosídeo do flavonol quercetina, tem atividades antioxidante (UPPUNGUNDLA *et al.*, 2009; BABUJANARTHANAM *et al.*, 2010), antiinflamatória (CAMUESCO *et al.*, 2004), anti-leishmaniose (MUZITANO *et al.*, 2006) e anti-diarréica (GALVEZ *et al.*, 1993).

Em função da ampla distribuição dessa espécie nos cerrados brasileiros, principalmente em Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e São Paulo, e o reconhecimento do uso medicinal por populações tradicionais, um estudo mais detalhado em busca do isolamento de substâncias farmacologicamente ativas poderá se revelar gratificante.

5.5 *Croton hemiargyreus* Müll. Arg.

Conhecida como “marmeleiro-preto”, essa espécie é utilizada na medicina popular contra hemorragias uterinas e tem propriedades herpéticas (PIO-CORREA, 1974).

Os óleos voláteis das duas amostras (*C. hemiargyreus*, Vouchers: SE Martins 1280 e Cordeiro 3229) apresentaram composição bem diversa. Em uma das amostras de caule (Cordeiro 3229) não foram encontradas substâncias voláteis. Entre os componentes comuns às três amostras (caule e folhas de *C. hemiargyreus* SE Martins 1280 e folhas de *C. hemiargyreus* Cordeiro 3229) estão o sesquiterpeno 8-isoproprenil-1,5-dimetilciclodeca-1,5-dieno e germacreno D, componente majoritário de *C.*

hemiargyreus SE Martins 1280 (folhas e caule). Nessa amostra, também é abundante o sesquiterpeno elixeno, em caule e folhas. A substância majoritária no óleo volátil obtido de folhas da outra amostra (*C. hemiargyreus* Cordeiro 3229) é *trans*- α -bergamoteno. Nesta última, também é abundante τ -cadinol (encontrado também no extrato etanólico bruto das folhas), não detectado em *C. hemiargyreus* SE Martins 1280.

O conteúdo de óleos voláteis obtidos de uma mesma espécie pode variar ao longo do dia, ao longo das estações do ano ou entre populações. Isso pode explicar as diferenças encontradas para as amostras de *C. hemiargyreus*. Para a caracterização de componentes voláteis de uma espécie é importante considerar esses fatores, mas nem sempre é possível que as coletas sejam realizadas de forma sistemática, nos mesmos horários, dias ou meses. Pereira e colaboradores (2001) verificaram a variação sazonal de uma série de compostos em *C. hemiargyreus*, incluindo terpenos (β -cariofileno, que no presente trabalho foi encontrado apenas na amostra Cordeiro 3229 com abundância relativa menor que 1%), esteróis, α -tocoferol e o alcalóide glaucina, cuja maior abundância foi detectada entre junho e outubro. No presente trabalho, esse alcalóide foi detectado nos extratos etanólicos brutos apresentados no capítulo 3, juntamente com reticulina. Outros alcalóides já relatados para o gênero (PEREIRA *et al.*, 1999, 2002; AMARAL & BARNES, 1998), como a hemiargirina, não foram detectados. Apesar de serem os componentes mais extensivamente estudados na espécie, os alcalóides não se mostraram abundantes nos extratos etanólicos brutos analisados. Os componentes mais abundantes desses extratos foram sitosterol (folhas) e éster metílico do ácido *n*-hexadecanóico (caule) (capítulo 3, figura 6, tabela 2).

Entre os flavonóides foram encontrados principalmente derivados de apigenina e tilirosídeo, em caules e folhas de ambas as amostras. Flavonóides metoxilados não foram detectados (capítulo 2, tabela 6).

A análise dos extratos etanólicos da amostra *C. hemiargyreus* SE Martins 1280 pode fornecer elementos para aprofundar a discussão a respeito de variações dos componentes na espécie. Outras amostras de *C. hemiargyreus*, assim como de outras espécies da seção *Cleodora*, podem ser ainda mais úteis, possibilitando uma avaliação mais abrangente de compostos de relevância quimiotaxonômica e potenciais farmacológicos.

5.6 *Croton gradivelum* Baill.

A literatura a respeito desta espécie é escassa. Há poucos registros de sua presença em levantamentos florísticos (SASAKI & MELLO-SILVA, 2008). Nenhum artigo foi encontrado a respeito da química dessa espécie, assim como registros de usos por comunidades tradicionais. No entanto existe a possibilidade de que trabalhos tenham sido publicados com o nome de *C. campestris* St.Hill. (Profa. Dra Inês Cordeiro, comm. pess.), conhecido como “velame do campo”. As raízes dessa planta são utilizadas como purgativo, no tratamento de sífilis e problemas nos dutos biliares (PENNA *apud* MATIAS *et al.*, 2010). Dos extratos butanólicos das raízes de *C. campestris* foram isolados diterpenos furanos com atividade moluscicida (EL BABILI *et al.*, 1998, 2000). Os flavonóides 3-*O*- β -D-apiofuranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-galactopiranosil quercetina, 3-*O*- β -D-galactopiranosil quercetina (hiperina), 3-*O*- α -L-arabinopiranosil quercetina (guaijaverina) e quercitrina foram isolados do extrato metanólico bruto das partes aéreas de *C. campestris* por Santos e colaboradores (2005). Matias e colaboradores

(2010) testaram a atividade antimicrobiana de extratos hexânicos e metanólicos de folhas de *C. campestris*. Os autores relataram a presença de taninos flobabênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, flavonononas e terpenos em ambos os extratos, a presença de catequinas no extrato hexânico e de alcalóides no extrato metanólico. Há ainda uma publicação específica de alcalóides de *C. campestris* (RIBEIRO PRATA *et al.*, 1993) à qual infelizmente não foi possível o acesso, sequer a um resumo, até este momento.

No presente trabalho, as substâncias voláteis encontradas em maior abundância nas folhas de *C. grandivelum* foram β -cariofileno e elixeno. Em relação às demais espécies, esta apresentou baixa abundância de óleo volátil (apenas *C. antisiphiliticus* apresenta abundância ainda menor). No caule de *C. grandivelum* não foi detectado nenhum componente volátil.

Entre os flavonóides são majoritários derivados de quercetina e tilirosídeo. Esses dados poderão ser comparados com os obtidos por Santos e colaboradores (2005) com a obtenção dos espectros de massas das substâncias.

Nos extratos etanólicos brutos são encontrados ésteres metílicos de ácidos graxos, triterpenos e esteróides (campesterol, estigmasterol, sitosterol, α -amirina e β -amirina) e a maior variedade de alcalóides entre as espécies. Foram detectadas pronuciferina, linearisina, reticulina e principalmente *N*-metil-crotonosina, componente majoritário dos extratos de caule. Em função da variedade de atividades biológicas que esses alcalóides podem apresentar (RÍOS *et al.*, 2000; STÉVIGNY *et al.*, 2005; CUI *et al.*, 2006), uma investigação minuciosa dos alcalóides dessa espécie pode prover informações interessantes. Espectros de massas (e se possível RMN) devem ser

realizados para confirmar a identidade dos flavonóides e compará-los com os resultados presentes na literatura.

5.7 *Croton cf montevidensis* (*C. montevidensis* Spreng.)

A amostra analisada é perceptivelmente aromática ao manuseio. A variedade de componentes voláteis dos óleos tanto de folhas quanto de caules, em comparação com as demais espécies (exceto a amostra de *C. cf pycnocephalus* LRL 322, conforme já discutido anteriormente, item 5.3), mostrou-se coerente com essa constatação empírica. Entre as substâncias voláteis mais abundantes encontradas figuram β -pineno, δ -cadineno, elixeno (nas folhas) e ledol (nas folhas e caule) (capítulo 1, figura 9, tabela 2). Essa substância também foi encontrada nos extratos etanólicos brutos das amostras de folha (no qual é a mais abundante) e caule, no qual foi majoritário o esteróide sitosterol.

Um flavonóide dimetoxilado foi encontrado no extrato etanólico de folhas de *C. cf montevidensis* (TR: 16,48 min). Comparando com o cromatograma obtido do extrato hidroalcoólico dessa amostra (capítulo 2), utilizado para a detecção de flavonóides, inferiu-se que esse flavonóide corresponde à banda em 45,9 min, localizada na faixa de TRs na qual são esperados flavonóides metoxilados. Com base no espectro de massas obtido (figura 3), comparação com a literatura (MA *et al.*, 1999; SILVA *et al.* 2009) e o espectro UV obtido ($\lambda(\text{max})$: 259, 271, 349 nm), é possível sugerir que seja uma flavona com duas metoxilas (provavelmente na posição 7, no anel A, e 3' no anel B) e três hidroxilas (nas posições 4' no anel A, 5 no anel B e uma terceira em 6 ou 8, anel A, ou 5', anel B).

Figura 3 – A: Corrida CLAE indicando o flavonóide que se supõe ser uma quercetina dimetoxilada; B: espectro UV obtido do flavonóide em 45,9 min; C: espectro de massas do flavonóide encontrado no extrato etanólico de *C. cf montevidensis* (TR: 16,48 min).

Talvez a melhor alternativa para elucidar as posições das metilações nesse flavonóide seja o isolamento através de cromatografia em papel ou CLAE preparativa. Com o flavonóide isolado pode-se recorrer a técnicas que permitem a identificação segura da substância, como RMN ou o tratamento com reagentes de deslocamento.

Para *C. cf montevidensis* pode ser interessante a análise das atividades do óleo volátil, rico em ledol, e a condução dos experimentos necessários para a precisa identificação dos flavonóides, assim como avaliação de sua atividade antioxidante, uma vez que são em grande parte derivados de quercetina (capítulo 2, tabela 5). O tilirosídeo não é detectado em folhas, mas no caule dessa amostra. A análise de outras espécies da mesma seção *Codonocalyx* pode ser interessante para avaliar a coerência da ausência de tilirosídeo nas folhas como uma característica da seção, assim como na seção *Barhamia* (itens 5.1 e 5.2).

5.8 Considerações finais

Entre as substâncias comumente relatadas para o gênero *Croton* foram encontradas nas amostras analisadas triterpenos, alcalóides, flavonóides, monoterpenos e sesquiterpenos. Diterpenos, tampouco fenilpropanóides, foram detectados. A confirmação da identificação de algumas amostras (*C. cf pycnocephalus* e *C. cf montevidensis*) ainda é necessária para aprofundar a discussão com mais segurança. *C. grandivelum* pode ser uma espécie interessante para estudos futuros com foco nas atividades biológicas, biossíntese e variabilidade de alcalóides. A identificação completa de flavonóides correspondentes a várias bandas nos cromatogramas obtidos requer a obtenção de espectros de massas e eventual isolamento das substâncias e análise através de RMN ou reagentes de deslocamento. A presença ou ausência de tilirosídeo nas folhas e caules de diversas espécies pode ser quizá uma interessante ferramenta quimiotaxonômica para grupos infragenéricos. Muitas das substâncias encontradas possuem atividade farmacológica relatada na literatura e estudos mais direcionados, como atividade acaricida do óleo volátil de *C. betulaster*, podem fornecer resultados interessantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. 2001. Geographic variation in leaf essential oils and RAPDs of *Juniperus polycarpus* K. Koch in central Asia. *Biochemical Systematics and Ecology* 29:609-619.
- ADIO, A.M. 2009. (-)-trans-beta-elemene and related compounds: occurrence, synthesis and anticancer activity. *Tetrahedron* 65:5145-5159
- AMARAL, A.C.F.; BARNES, R.A. 1998. A tetrahydroprotoberberine alkaloid from *Croton hemiargyreus*. *Phytochemistry* 47:1445-1447.
- BARBOSA, P.R.; FASCIO, F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; ROQUE, N.F. 2003. Triterpenes of *Croton betulaster* (Euphorbiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 31:307-308.
- BARBOSA, P.R.; FASCIO, M.; MARTINS, D.; ROQUE, N.F. 2004. Benzoyl-methylpolyols from *Croton* species (Euphorbiaceae). *Arkivoc* 2004:95-102.
- BARBUJANARTHANAM, R.; KAVITHA, P.; PANDIAN, M.R. 2010. Quercitrin, a bioflavonoid improves glucose homeostasis in streptozotocin-induced diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 24:357-364.
- BOTREL, R.T.; RODRIGUES, L.A.; GOMES, L.J.; CARVALHO, D.A.; FONTES, M.A.L. 2006. Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. *Acta botanica brasílica* 20: 143-156.
- CAMUESCO, D.; COMALADA, M.; RODRÍGUEZ-CABEZAS, M.E.; NIETO, A.; LORENTE, M.D.; CONCHA, A.; ZARZUELO, A. GÁLVEZ, J. 2004. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an inhibition in iNOS expression. *British journal of pharmacology* 143:908-18.
- CHARLES, A.K.; DARBRE, P.D. 2009. Oestrogenic activity of benzyl salicylate, benzyl benzoate and butylphenylmethylpropional (Lilial) in MCF7 human breast cancer cells in vitro. *Journal of applied toxicology* 29:422-434
- ÇITOGLU, G.S.; SEVER, B.; ANTUS, S.; BAITZ-GÁCS, E.; ALTANLAR, N. 2004. Antifungal diterpenoids and flavonoids from *Ballota inaequidens*. *Pharmaceutical Biology* 42:659-663
- CUI, W.; IWASA, K.; TOKUDA, H.; KASHISHARA, A.; MITANI, Y.; HASEGAWA, T.; NISHIYAMA, Y.; MORIYASU, M.; NISHINO, H.; HANAOKA, M.; MIKAI, C.; TAKEDA, K. 2006. Potential cancer chemopreventive activity of simple isoquinolines, 1-benzylisoquinolines, and protoberberines. *Phytochemistry* 67:70-79.

- DOURADO, R.C.M.; SILVEIRA, E.R. 2005. Preliminary Investigation on the Volatile Constituents of *Croton sonderianus* Muell.Arg.: habitat, plant part and harvest time variation. *Journal of Essential Oil Research* 17:36-40.
- EL BABILI, F.; MOULIS, C.; BON, M.; RESPAUD, M.J.; FOURASTE, I. 1998. Three furano-diterpenes from the bark of *Croton campestris*. *Phytochemistry* 48:165-169
- EL BABILI, F.; FABRE, N.; MOULIS, C.; FOURASTE, I. 2006. Molluscicidal activity against *Bullinus truncatus* of *Croton campestris*. *Fitoterapia* 77:384-387.
- FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; MARIS, S.; RATES, K. 2006. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 42: 369-394.
- GALVEZ, J.; ZARZUELO, A.; CRESPO, M.E.; LORENTE, M.D.; JIMENEZ, J. 1993. Antidiarrheic activity of *Euphorbia hirta* extract and isolation of an active flavonoid constituent. *Planta Medica* 59:333-336
- GRASS, S.; ZIDORN, C.; BLATTNER, F.R.; STUPPNER, H. 2006. Comparative molecular and phytochemical investigation of *Leontodon autumnalis* (Asteraceae, Lactuceae) populations from Central Europe. *Phytochemistry* 67:122-31.
- HAYDEN, M.L.; ROSE, G.; DIDUCH, K.B.; DOMSON, P.; CHAPMAN, M.D.; HEYMANN, P.W.; PLATTS-MILLS, T.A.E. 1992. Benzyl benzoate moist powder: investigation of acaricidal activity in cultures and reduction of dust mite allergens in carpets. *Journal of allergy and clinical immunology* 89:536-545
- HIRSCHMANN, G.S.; ARIAS, A.R. 1990. A survey of medicinal plants of Minas Gerais, Brazil. *Journal of ethnopharmacology* 29:159-172
- KALPAKLIOGLU, A.F.; FERLIZI, A.G.; MISIRLIGIL, Z.; DEMIREL Y.S.; GURBUZ, L. 1996. The effectiveness of benzyl benzoate and different chemicals as acaricides. *Allergy* 51:164-170.
- LEE, C.; KIM, H.; LEE, H. 2009. Acaricidal properties of piperazine and its derivatives against house-dust and stored-food mites. *Pest management science* 65:704-710
- LI, Q.Q.; WANG, G.D.; HUANG, F.R.; BANDA, M.; REED, E. 2010. Antineoplastic effect of beta-elemene on prostate cancer cells and other types of solid tumor cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 62:1018-1027
- MA, Y.L.; HEUVEL, H.V.; CLAEYS, M. 1999. Characterization of 3-methoxyflavones using fast-atom bombardment and collision-induced dissociation tandem mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry* 13:1932-42.

- MATIAS, E.F.F.; SANTOS, K.K.A.; ALMEIDA, T.S.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. 2010. Atividade antibacteriana *in vitro* de *Croton campestris* St.Hill., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. *Revista Brasileira de Biociências* 8:294-298.
- MESAIK, M.A.; MURAD, S.; KHAN, K.M.; BAKHSH, T.; AQEEL, A.; CHOUDHARY, M.I. 2009. Isolation and immunomodulatory properties of a flavonoid, casticin from *Vitex agnus-castus*. *Phytotherapy Research* 23:1516-1520.
- MOREIRA, D.L.; GUARIM-NETO, G. 2009. Usos múltiplos de plantas do cerrado: um estudo etnobotânico na comunidade sítio Pindura, Rosário Oeste, Mato Grosso, Brasil. *Polibotânica* 27:159-190.
- MUZITANO, M.F.; CRUZ, E.A.; ALMEIDA, A.P.; DA SILVA, S.A.G.; KAISER, C.R.; GUETTE, C.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S.S. 2006. Quercitrin: an antileishmanial flavonoid glycoside from *Kalanchoe pinnata*. *Planta medica* 72:81-3.
- PEREIRA, A.S.; AMARAL, A.C.F.; SILVA, M.A.; AQUINO NETO, F.R. 2001. Seasonal variation of the chemical constituents from *Croton* species. *Zeitschrift für Naturforschung* 56c: 357-362.
- PEREIRA, Z.V.; GOMES, C.F.; LOBTCHENKO, G.; GOMES, M.E.S.; SIMÕES, P.D.A.; SARUWATARI, R.P.S.; RIGO, V.F.; CORDEIRO, W.P. 2007. Levantamento das Plantas Medicinais do Cerrado *sensu stricto* da Fazenda Paraíso – Dourados, MS. *Revista Brasileira de Biociências* 5:249-251.
- PIO-CORREIA, M. 1974. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Vol. 5. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional.
- RAYNAUD, S.; FOURNEAU, C.; LAURENS, A.; HOCQUEMILLER, R.; LOISEAU, P.; BORIES, C. 2000. Squamocin and benzyl benzoate, acaricidal components of *Uvaria pauci-ovulata* bark extracts. *Planta medica* 66:173-175.
- RIBEIRO-PRATA, E.M.; PAULO, M.Q.; SOUZA-BRITO, A.R.M. 1993. Isolamento do princípio ativo de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmácia*, 2:36-41.
- RÍOS, J.L.; MAÑEZ, S.; GINER, R.M.; RECIO, M.C. 2000. Biological activity of aporphinoid alkaloids. In: CORDELL, G.A. (Ed.) *The alkaloids*. V.53. San Diego: Academic Press.
- RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia* 25:102-123.
- SANTOS, P.M.L.; SCHRIPSEMA, J.; KUSTER, R.M. 2005. Flavonóides O-glicosilados de *Croton campestris* St. Hill. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 15:321-325.

- SASAKI, D.; MELLO-SILVA, R. 2008. Levantamento florístico no cerrado de Pedregulho, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 22:187-202.
- SHAN, Z.Y.; SHI, X.G.; GAO, Y.; TENG, W.P. 2010. Anti-cancer ability of beta-elemene on IHH-4 and ASH-3 thyroid cancer cells in vitro and in vivo. *Endocrine Journal* 57:S458
- SILVA, T.M.S.; CARVALHO, M.G.; BRAZ-FILHO, R. 2009. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* e *Solanum paludosum*. *Química nova* 32:1119-1128.
- SLOMP, L.; PEREIRA, P.S.; FRANÇA, S.C.; ZINGARETTI, S.; BELEBONI, R.O. 2009. In vitro nematocidal effects of medicinal plants from São Paulo state, Brazil. *Pharmaceutical Biology* 47:230-235.
- SPOHR, T.C.L.S.; STIPURSKY, J.; SASAKI, A.C.; BARBOSA, P.R.; MARTINS, V.; BENJAMIM, C.F.; ROQUE, N.F.; COSTA, S.L.; GOMES, F.C.A. 2010. Effects of the flavonoid casticin from brazilian *Croton betulaster* in cerebral cortical progenitors in vitro: direct and indirect action through astrocytes. *Journal of neuroscience research* 88:530-41.
- STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUENTIN-LECLERQ, J. 2005. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. *Current Medicinal Chemistry – Anti-cancer Agents* 5:173-182
- UPPUNGUNDLA, N.; ENGELBERTH, A.; RAVINDRANATH, S.V.; CLAUSEN, E.C.; LAY, J.O.; GIDDEN, J.; CARRIER, D.J. 2009. "Switchgrass water extracts: extraction, separation and biological activity of rutin and quercitrin." *Journal of agricultural and food chemistry* 57:7763-70.
- VIEIRA, R.F.; GRAYER, R.J.; PANTON, A.; SIMON, J.E. 2001. Genetic diversity of *Ocimum gratissimum* L. based on volatile oil constituents, flavonoids and RAPD markers. *Biochemical systematics and ecology* 29:287-304.
- WEBSTER, G.L. 1993. A Provisional Synopsis of the Sections of the genus *Croton* (Euphorbiaceae). *Taxon* 42:793-823.

RESUMO

Croton é um dos maiores gêneros de Euphorbiaceae, amplamente distribuído nas regiões tropicais do mundo. No Brasil existem cerca de 300 espécies, muitas utilizadas como medicinais no tratamento de diversos males, tais como úlceras, inflamações, malária, diabetes, sífilis e câncer. A variedade de usos medicinais reflete a diversidade química inerente ao gênero, cuja taxonomia também é bastante complexa. O objetivo deste trabalho é a caracterização química de sete espécies nativas de *Croton*, a fim de contribuir para a ampliação do conhecimento de potenciais farmacológicos e quiçá fornecer ferramentas quimiotaxonômicas que auxiliem na compreensão das relações entre grupos infragenéricos. Foram analisados óleos voláteis, flavonóides e componentes de extratos etanólicos brutos das espécies. Óleos voláteis de folhas de *C. betulaster* e *C. glutinosus*, e folhas e caules de *C. hemiargyreus*, *C. antisyphiliticus*, *C. grandivelum*, *C. cf pycnocephalus* e *C. cf montevidensis* foram extraídos por hidrodestilação em Clevenger e analisados por CG/EM. Todas as amostras apresentaram componentes voláteis, exceto uma amostra (folhas e caule) de *C. antisyphiliticus*, a espécie com folhas e caules menos aromáticos, e caules de *C. grandivelum*, de uma amostra de *C. cf pycnocephalus* e uma de *C. hemiargyreus*. Monoterpenos e sesquiterpenos são os componentes mais abundantes e não foram detectados fenilpropanóides. Caules apresentam em geral menos componentes voláteis que folhas. Os sesquiterpenos β -cariofileno, germacreno D e espatulenol são os mais comuns, enquanto 8-isoproprenil-1,5-dimetil-ciclo-deca-1,5-dieno (*C. betulaster* e *C. hemiargyreus*), elixeno (em todas as espécies exceto *C. betulaster* e *C. glutinosus*) e o sesquiterpeno ledol (abundante em *C. cf pycnocephalus*) nunca foram antes relatados para *Croton*. Extratos hidroalcoólicos das amostras foram analisados por CLAE e quando possível CLAE/EM e CLAE/EM/EM para detecção de flavonóides. Apenas em *C. betulaster* e *C. hemiargyreus* houve predominância de flavonas, tais como isoorientina, orientina, vitexina e diglicosídeos de apigenina. Nas demais espécies são abundantes glicosídeos de quercetina, como rutina e quercitrina, assim como tilirosídeo (glicosídeo acilado de campferol), que só não foi detectado em folhas de *C. betulaster*, *C. glutinosus* e *C. cf montevidensis*. A análise de outras espécies das mesmas seções (*Barhamia* e *Codonocalyx*, respectivamente) pode confirmar a coerência da ausência do tilirosídeo nas folhas como característica. Flavonóides

metoxilados, como a casticina (em amostras de *C. cf pycnocephalus*, *C. betulaster* e *C. glutinosus*), também foram encontrados. Os extratos etanólicos brutos de todas as espécies exceto *C. glutinosus* foram analisados por CG/EM. Triterpenos, esteróides, alcalóides e ésteres de ácidos graxos são os componentes mais abundantes. Diterpenos não foram detectados. Benzoato de benzila é o componente majoritário dos extratos etanólicos brutos de *C. betulaster*, no qual também foram detectados cinamato de benzila, lupeol e lupenona. Esteróides como sitosterol, campesterol e estigmasterol ocorrem em diversas espécies. A casticina é o componente majoritário dos extratos obtidos de folhas de *C. cf pycnocephalus*. Muitos alcalóides foram detectados em *C. grandivelum*, principalmente *N*-metil-crotonosina. Somente glaucina foi detectada em *C. hemiargyreus*. Os diferentes componentes dos extratos etanólicos das espécies estudadas possuem diversas atividades biológicas. As variações encontradas entre amostras de diferentes populações das mesmas espécies podem ser influenciadas por fatores ambientais ou genéticos. Com base nos dados obtidos, o isolamento e caracterização de flavonóides por EM e RNM, ensaios farmacológicos de acordo com as propriedades de cada grupo de substâncias e a caracterização de demais espécies das mesmas seções podem ser um interessante enfoque para estudos futuros e contribuir ainda mais para a compreensão da química e da taxonomia de *Croton*.

ABSTRACT

Croton is one of the largest genera of Euphorbiaceae, widely distributed in tropical regions of the world. There are around 300 species in Brazil, many used in traditional medicine to treat gastric ulcers, inflammations, malaria, diabetes, syphilis and cancer. The variety of medicinal applications reflects the diversity of biologically active compounds and the complexity of taxonomic relationships within the genus. The present work focuses on the chemical screening of seven Brazilian species of *Croton*, contributing to increase the knowledge about pharmacological potentials and hopefully provide chemotaxonomic tools to help understanding relationships at the infrageneric level. Essential oils, flavonoids and compounds of crude ethanolic extracts were analysed. Essential oils of leaves of *C. betulaster* and *C. glutinosus*, leaves and stems of *C. hemiargyreus*, *C. antisyphiliticus*, *C. grandivelum*, *C. cf pycnocephalus* and *C. cf montevidensis* were extracted by hydrodistillation in Clevenger and analysed by GC/MS. Volatile compounds were found in all samples, except one sample (leaves and stems) of *C. antisyphiliticus* (the less aromatic among the species), and in stems of *C. grandivelum*, *C. cf pycnocephalus* and *C. hemiargyreus*. Monoterpenes and sesquiterpenes are major compounds and no phenylpropanoids were found. In general, leaves are richer in volatile compounds than stems. Sesquiterpenes such as β -caryophyllene, germacrene D and spathulenol are common, while 8-isoproprenyl-1,5-dimethyl-cyclodeca-1,5-diene (*C. betulaster* and *C. hemiargyreus*), elixene (in all species except *C. betulaster* and *C. glutinosus*) and the oxygenated sesquiterpene ledol (in *C. cf pycnocephalus*) are reported for *Croton* for the first time. Hydroalcoholic extracts were analysed by HPLC and whenever possible also by HPLC/MS and HPLC/MS/MS to detect flavonoids. Flavones, such as isoorientin, orientin, vitexin and apigenin diglycosides were predominant only *C. betulaster* and *C. hemiargyreus*. Other species showed a profile richer in flavonols, such as quercetin glycosides (rutin, quercitrin and others) and tiliroside (kaempferol acylglycoside), which was not detected only in leaves of *C. betulaster*, *C. glutinosus* and *C. cf montevidensis*. Analyses of other species from the same sections (*Barhamia* e *Codonocalyx*, respectively) might confirm the coherence of the absence of tiliroside in leaves as a taxonomic character. Methoxylated flavonoids, such as casticin (found in samples of *C. cf pycnocephalus*, *C. betulaster* and *C. glutinosus*), were found. Crude ethanolic extracts of all species

except *C. glutinosus* were analysed by GC/MS. Triterpenes, steroids, alkaloids and fatty acid esters were the predominant compounds of those extracts. Diterpenes were not detected. Benzyl benzoate predominates in crude ethanolic extracts from leaves of *C. betulaster*, along with benzyl cinnamate, lupeol e lupenone. Steroids such as sitosterol, campesterol and stigmasterol were found in several species. The flavonoid casticin is the major compound in extracts obtained from leaves of *C. cf pycnocephalus*. Several alkaloids were detected in *C. grandivelum* extracts, mainly *N*-methyl-crotonosine. Glaucine was the only alkaloid identified in *C. hemiargyreus*. Several biological activities are known for the different compounds found in the crude ethanolic extracts. The differences between populations of the same species may be accounted for environmental or genetic influences. The data obtained suggest isolation and total structural determination of flavonoids by MS and NMR, pharmacological assays according to the properties of each group of compounds and chemical screening of remaining species of the same sections as interesting focuses for future studies, with the expectation to enhance the contribution to the chemistry and pharmacology of *Croton* and provide chemical synapomorphies for infrageneric groups within the genus.