Diego Amaral de Feliu

**Análise de terpenóides de espécies de *Croton*
sect. *Lamprocroton* (Mull. Arg.) Pax
(Euphorbiaceae).**

*Terpenoid analysis of species of Croton sect.
Lamprocroton (Mull. Arg.) Pax. (Euphorbiaceae).*

São Paulo

2011

Diego Amaral de Feliu

**Análise de terpenóides de espécies de *Croton* sect.
Lamprocroton (Mull. Arg.) Pax (Euphorbiaceae).**

*Terpenoid analysis of species of Croton sect
Lamprocroton* (Mull. Arg.) Pax. (Euphorbiaceae).

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): Profa Dra Deborah Yara Alves
Cursino dos Santos

São Paulo

2011

Feliu, Diego Amaral de
Análise de terpenóides de espécies de
Croton sect. *Lamprocroton* (Mull. Arg.) Pax
(Euphorciaceae).
108 paginas

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

Palavras-chave. 1. *Croton* 2. *Lamprocroton* 3.
Euphorbiaceae 4. Diterpenos 5. Podocarpanos
6. Óleos voláteis I. Universidade de São Paulo.
Instituto de Biociências. Departamento de
Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Deborah Yara Alves Cursino
dos Santos
Orientadora

Dedico a todos que me fizeram sorrir nos
últimos anos.

La diferencia básica entre un hombre común y un guerrero es que un guerrero toma todo como desafío, mientras un hombre común toma todo como bendición o como castigo. La manera más eficaz de vivir es como un guerrero. Un guerrero puede preocuparse y pensar antes de tomar una decisión, pero una vez que la tomó, sigue su camino, libre de preocupaciones y pensamientos; habrá otras mil decisiones aún a su espera. Ésta es la manera de vivir del guerrero.

Todo lo que es necesario es la impecabilidad, energía, y esto se inicia con un acto singular que debe ser deliberado, preciso y constante. Si este acto es repetido por un tiempo suficiente, la persona adquiere un sentido de intención inflexible que puede ser aplicado a cualquier otra cosa. Si eso es realizado, el camino está abierto. Una cosa lleva a la otra hasta que el Guerrero descubra su potencial completo.

La autoconfianza del Guerrero no es la autoconfianza del hombre común. El hombre común busca certeza a los ojos del observador y llama a eso autoconfianza. El guerrero busca impecabilidad a los propios ojos y llama a eso humildad. El hombre común está preso a sus semejantes, mientras el guerrero solo está preso al infinito.

Usted debe cultivar la idea de que un Guerrero no necesita de nada. Dice que necesita de ayuda. ¿Ayuda para qué? Usted tiene todo lo que es necesario para el viaje extravagante que es su vida.

Carlos Castañeda
(cit. do Mestre Don Juan Matus).

Agradecimentos

Inicialmente gostaria de agradecer à Profa Dra Deborah Yara Alves Cursino dos Santos, não apenas pela orientação, mas também pela empolgação e o apoio no início do trabalho e pela paciência e os puxões de orelha no restante.

À Prof. Dra. Letícia Ribes de Lima pela coleta e identificação do material botânico, além da disponibilização de fotos e informações sobre *Croton* seção *Lamprocroton*.

À Profa. Dra. Giuseppina Negri pela identificação e determinação das estruturas de diterpenos, triterpenos e esteróides, e por conseguir traduzir, ensinar e parecer fácil o entendimento e a leitura de espectros de massa

Queria fazer um agradecimento especial à pós-doc Lucimar Motta não apenas pela troca de informações, mas pela simpatia e pela força.

Aos Profs. Drs. Antônio Salatino e Maria Luiza Faria Salatino pela acolhida no laboratório e pelos ensinamentos.

Ao pessoal do laboratório que embora em encontros esporádicos *in loco* (devido aos meus horários) sempre me auxiliaram e me apoiaram. Um abraço especial à Liss, Joyce, Daniela e ao Japs.

Gostaria de agradecer muito aos meus pais e ao meu irmão, que sempre estavam lá para me dar apoio e muitas vezes me empurrar, quando tudo em volta me dizia para parar. À minha avó, que enfim, não vai mais me chamar de “o médico da família”. À minha “abuelita” e ao meu avô que tenho certeza que teriam orgulho de mim agora. Tios, primos (brasileiros e paraguaios) obrigado por todos os momentos.

À Fabiana D'Agostino que além de ser esta pessoa incrível e sempre me fazer feliz (exceto uns três dias por mês) me fez crescer de uma maneira incrível e me mostrou que eu realmente posso trilhar caminhos mais desafiadores.

Aos meus irmãos trilheiros do S&P, Huno, Papete, Sávio, Ciça, Camila, Paulomanos que me mostraram que quanto maior o perrengue, maior a alegria em seguir em frente. Aos amigos que não podemos mais abraçar, em especial a Tati Possato. Aos amigos que fiz em anos de futebol de campo e hand pela biologia e que sempre vão rumar juntos comigo, em especial, Montanha, Sinha, PH, Guliver, Zé, Saci, D2, Coelho, Diogo, Grego e Ceara entre outros tantos. Aos amigos de todas as ocasiões Paulinho, Blanes, Larissa, Lelê, Perrengue, Mineiro, Perere, Renata (prima), Marcio, Pedroca, Dri Mallet, Paulinha, Luquito, Beto...

Enfim agradeço a todos que diretamente e indiretamente estiveram do meu lado e que estiveram comigo nos momentos felizes e que me deram a mão nas horíficeis.

Índice

I. INTRODUÇÃO	01
1. As Euphorbiaceae	02
2. O gênero <i>Croton</i> L	06
3. Metabólitos Secundários	10
3.1. Terpenóides	13
3.1.1. Óleos Voláteis	15
3.1.2. Diterpenos	19
3.1.3. Triterpenos	22
3.1.4. Esteróides	24
3.1.5. Carotenóides	26
II. OBJETIVOS	27
III. MATERIAL E MÉTODOS	27
1. Material Biológico	27
1.1. <i>Croton catamarcensis</i>	27
1.2. <i>Croton ceanothifolius</i>	28
1.3. <i>Croton dusenii</i>	28
1.4. <i>Croton ericoides</i>	29
1.5. <i>Croton eskuchei</i>	29
1.6. <i>Croton linearifolius</i>	29
1.7. <i>Croton muellerianus</i>	30
1.8. <i>Croton pallidulus</i>	30
1.8.1. <i>Croton pallidulus</i> var. <i>glabrus</i>	31
1.8.2. <i>Croton pallidulus</i> var. <i>pallidulus</i>	31
1.9. <i>Croton pseudoadipatus</i>	31
2. Locais de coleta das espécies do estudo	32
3. Análises Químicas	33
3.1. Obtenção de extratos e análises de óleos voláteis	33
3.1.1. Extração do óleo volátil	33
3.1.2. Cromatografia gasosa	33
3.1.3. Índice de Retenção Linear	33
3.1.4. Identificação dos compostos voláteis	34

3.2. Obtenção de extratos e análises de diterpenos, triterpenos. ...	34
3.2.1. Extração	34
3.2.2. Cromatografia gasosa	34
3.2.3. Identificação dos terpenos	34
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
1. Óleos voláteis	35
2. Diterpenos, triterpenos e esteróides	49
2.1. Diterpenos	51
2.2. Triterpenos e esteróides	58
V. CONCLUSÕES	65
VI. RESUMO	67
VII. ABSTRACT	68
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
IX. ANEXOS	78
ANEXO I	79
Estruturas químicas dos compostos identificados nos óleos voláteis de <i>Croton</i> seção <i>Lamprocroton</i> .	
ANEXO II	84
Cromatogramas dos extratos metanólicos de <i>Croton</i> seção <i>Lamprocroton</i> com a sinalização dos compostos identificados.	
ANEXO III	95
Espectros de massa e estrutura química de diterpenos, triterpenos e esteróides identificados nos extratos metanólicos de <i>Croton</i> seção <i>Lamprocroton</i> .	

I. INTRODUÇÃO

O conhecimento e uso de plantas medicinais acompanham a humanidade desde o início da civilização. Com o passar dos séculos, foi sendo acumulada uma grande gama de informações sobre as ações e os princípios ativos de várias espécies vegetais. Atualmente são utilizadas pela medicina popular mais de 20.000 espécies distintas de plantas medicinais (Deepika-Gupta *et al.*, 2008), simbolizando muitas vezes o único recurso terapêutico de várias comunidades e populações. Dados da Organização Mundial de Saúde estimam que cerca de 80% da população de países “em desenvolvimento” fazem uso de plantas ou extratos vegetais no tratamento de doenças (Verpoorte & Alfermann, 2000; Salatino *et al.*, 2007). De uma maneira direta ou indireta, a cultura dos fitoterápicos acaba despertando o interesse de muitos pesquisadores, no momento que engloba diversas áreas do conhecimento como botânica, etnobotânica, fitoquímica, farmacologia e cosmetologia (Maciel *et al.*, 2000).

O Brasil devido a sua extensão continental possui uma grande variedade de ecossistemas e biomas distintos, conferindo grande riqueza tanto de fauna, quanto de flora. Sendo assim, possui vasto potencial florístico para a provisão de recursos naturais para a medicina tradicional e para a indústria farmacológica. Para termos uma idéia, aproximadamente 1200 espécies de plantas são comercializadas no mercado “Ver o Peso” em Belém do Pará. Em estudos realizados em comunidades ribeirinhas perto da Ilha de Marajó (PA) foram catalogadas mais de 260 espécies vegetais entre nativas e cultivadas com algum tipo de aplicação pela população local (Maciel *et al.*, 2000).

Mesmo com o grande número de espécies utilizadas pela medicina tradicional, a utilização de fitoterápicos e princípios ativos vegetais pela indústria farmacológica ainda é bastante deficitária. Um dos fatores que contribuíram para este fato foi o desinteresse de investimento em pesquisa por parte das grandes empresas de fármacos, que em termos econômicos julgavam ser mais interessante a manutenção de patentes de medicamentos com ativos sintéticos. Até 2000, apenas 15% das espécies de plantas tinham sido estudadas quimicamente e apenas 5% tinham suas atividades biológicas elucidadas (Maciel *et al.*, 2000).

A partir da década de 1950, foi observado um crescente interesse na descoberta de produtos naturais objetivando principalmente fármacos com efeitos contra câncer e processos inflamatórios (Pinto *et al.*, 2003). Devido ao grande potencial e à descoberta de novas substâncias, tem sido cada vez mais freqüente o estudo aplicado de fármacos com ativos isolados de plantas (Verpoorte & Alfermann, 2000). A partir dos anos 1990, os estudos foram intensificados. A possibilidade de perda ou extinção de espécies potenciais e detentoras de princípios ativos de alto potencial farmacológico é um dos argumentos mais utilizados atualmente para realçar a importância da preservação de áreas nativas em países tropicais. Entre elas estariam espécies até agora não analisadas por químicos e

farmacólogos e espécies até mesmo desconhecidas pela comunidade científica. Sendo assim, tem sido observada uma corrida contra o tempo no intuito não apenas de levantar e catalogar espécies, mas também de realizar estudos químicos que sirvam de base em futuros desenvolvimentos de fármacos e cosméticos. É observado um grande esforço dos ambientalistas e conservacionistas em obter dados e números que demonstrem a perda líquida (em dólares) que representaria a extinção destas espécies (Edward-Jones *et al.*, 2000), considerando principalmente gastos públicos com hospitais e medicamentos.

Para não dizer a totalidade, a maioria dos ativos sintéticos comercializados pelas grandes indústrias farmacológicas, tem por base compostos naturais. Dentre os exemplos com alto valor comercial temos o ácido acetil-salicílico, princípio ativo da Aspirina[®], composto modificado do ácido salicílico, isolado inicialmente de uma Salicaceae; e a escopolamina, alcalóide isolado de Solanaceae e modificado constituindo o princípio ativo do Buscopan[®], medicamento analgésico recomendado para dores, cólicas e desconforto abdominal.

Com o desenvolvimento das metodologias de análise, alguns compostos tiveram suas atividades biológicas finalmente elucidadas. Descrito pela primeira vez em 1939 pelo pesquisador japonês M. Takaoka, o resveratrol, fitoalexina produzida naturalmente por algumas espécies de planta (p.ex. *Vitis vinifera*) em resposta ao ataque de fungos ou bactérias, ganhou notoriedade apenas depois de 2003, quando um estudo publicado na revista Nature divulgou sua ação antifúngica (Howitz *et al.*, 2003). Em 2006 pesquisadores italianos revelaram sua ação antioxidante e estimuladora do sistema imunológico (Howarth *et al.*, 2006), sendo eficaz no tratamento de alguns tipos de câncer (Baur & Sinclair, 2006, King *et al.*, 2006, Goswami *et al.*, 2009) e de Alzheimer (Vingtdeux *et al.*, 2008). De notório desconhecido, o resveratrol passou a um dos mais procurados suplementos e ativos para complexos vitamínicos e dermocosméticos.

O mesmo desenvolvimento tecnológico culmina muitas vezes na obtenção de novos e promissores compostos. Em 1999 foi isolado o alcalóide morfina “tazopsina” de *Strychnopsis thouarsii* (Menispermaceae nativa de Madagascar). Este alcalóide se mostrou eficaz contra várias espécies de *Plasmodium* durante sua fase hepática de desenvolvimento, reduzindo a praticamente zero a possibilidade de desenvolvimento de resistência por este protozoário (Carraz *et al.*, 2008). Atualmente a descoberta desse alcalóide é uma das principais armas no tratamento de malária.

1. AS EUPHORBIACEAE

As Malpighiales apresentam 15.935 espécies distribuídas em 39 famílias e 716 gêneros, dentre as quais Euphorbiaceae. Segundo o APG III (2009), a ordem pertence à superdivisão Espermatófitas, divisão Magnoliophyta (Angiospermae), super-classe Magnoliopsida, classe Eudicotidonea e clado

Rosidae I (Figura 01). O registro fóssil sugere que o grupo surgiu há aproximadamente 106 milhões de anos (período Cretáceo, era Mesozóica, éon Fanerozóico), tendo sido observado um pico de diversificação há 90 milhões de anos (Davis *et al.* 2005).

Figura01. Posicionamento das Malpighiales segundo hipótese filogenética baseada em caracteres moleculares (modificado de APG III, 2009).

Atualmente apresenta 7,8% de todas as espécies de eudicotiledôneas do planeta. Junto com Ericales, é a ordem com maior relevância em espécies de mata primária e secundária de florestas tropicais. Malpighiales corresponde a 28% do total de espécies e até 38% do total de plantas em florestas latifoliadas úmidas de clima tropical (Davis *et al.*, 2005).

As principais apomorfias da ordem são margem foliar denteada, pedicelo articulado, estômato paracístico, estigma seco, gineceu tricarpelado e a perda do gene *atpF*. Embora a ordem seja fortemente sustentada como monofilética, as relações de parentesco entre as famílias ainda levantam grandes dúvidas.

Euphorbiaceae stricto sensu foi recircunscrita de *Euphorbiaceae lato sensu* com base em dados moleculares ficando restritas as espécies uniovuladas (Wurdack *et al.*, 2005; APG III, 2009). Apresenta aproximadamente 6.300 espécies (Govaerts *et al.*, 2000) agrupadas em 300 gêneros (Simpson *et al.*, 2006). Ainda hoje constitui a sexta maior família entre as Angiospermas, depois de Asteraceae, Poaceae, Fabaceae, Orchidaceae e Rubiaceae (Radcliffe-Smith *et al.*, 2001).

Grupo de distribuição pan-tropical, é conhecido em muitas partes do mundo por seus compostos tóxicos e medicinais. Representantes dos gêneros *Euphorbia* L. e *Croton* L. são encontrados em regiões extra-tropicais como sul dos EUA, Mediterrâneo, Oriente Médio e sul da África (Lima & Pirani, 2008). No Brasil são pouco mais de 1.000 espécies reunidas em 70 gêneros de hábitos variados e presentes em todos os tipos vegetacionais (Souza & Lorenzi, 2008).

O registro fóssil, embora escasso, sugere o Cretáceo, como período de diferenciação e diversificação do grupo. O foco de origem e diversificação da família encontra-se na região Indomalaia, porém algumas áreas tropicais do Novo Mundo são reconhecidas como *hot-spots* de diversidade para esta família (Berry *et al.*, 2005).

As Euphorbiaceae incluem espécies herbáceas, arbustivas e arbóreas, com folhas alternas, opostas ou, mais raramente verticiladas, simples, de margem denteada, lobuladas ou palmato-lobadas, com estípulas livres e freqüentemente com glândulas foliares aparentes. Monóicas ou dióicas possuem inflorescências terminais ou axilares, racemosas ou cimosas. As flores díclinas, actinomorfas (raro zigomorfas) possuem perianto com segmentos livres, tricarpetados e estígmas proeminentes. Os frutos equizocarpáceos ou capsulídeos possuem corumela persistente. Possui uma semente por lóculo (Webster *et al.*, 1994; APG III, 2009).

Segundo APG III, a filogenia das euforbiáceas (Figura 02) possui circunscrição próxima a taxa biovulados como Phyllanthaceae, podendo ser agrupados próximos à Linales. Mesmo assim, o principal problema da família continua sendo a circunscrição de Crotonoideae, que para muitos autores não apresenta evidências suficientes para ser considerado monofilético.

Figura 02. Posicionamento de Euphorbiaceae e Crotonoideae segundo hipótese filogenética baseada em caracteres moleculares (modificado de APG III, 2009).

A química das Euphorbiaceae é uma das mais complexas e interessantes entre as famílias de eudicotiledôneas, podendo ser até mesmo comparada à sua alta diversidade biológica (Siegler *et al.*, 1998). Muitas euforbiáceas são utilizadas com finalidade alimentar, ornamental e como fonte de precursores químicos, resinas, lubrificantes e ativos medicinais.

O caule, às vezes suculento, exsuda látex ou resina bastante ricos em metabólitos secundários. Euphorbiaceae está entre as famílias de maior importância econômica entre as Angiospermas, sendo seus principais produtos a borracha (*Hevea brasiliensis*), resinas (*Croton lecheri*) e óleos fixos (*Ricinus communis*) de grande aplicação. Apesar de ser objeto de vários estudos multidisciplinares envolvendo pesquisas em taxonomia, morfologia, anatomia, fitoquímica, filogenia e botânica econômica, o conhecimento do grupo ainda apresenta lacunas consideráveis (Lima & Pirani, 2008).

Em termos medicinais, as euforbiáceas são constantemente foco de estudo. Em estudo de 2009, Cardoso-Lopes *et al.* concluíram que as altas taxas de cafeína em “tamanqueira” (*Pera glabrata*) conferem a esta espécie atividade antifúngica, além de poder ser utilizada no tratamento visando a redução na perda de memória decorrente do mal de Alzheimer. Já em Forero *et al.* (2008) foram estudadas sete espécies de euforbiáceas, sendo que três (*Phyllanthus niruri*, *Euphorbia pulcherrima* e *Cordiaueum variegatum*) apresentaram atividade antiviral sobre o vírus influenza. A espécie *Phyllanthus emblica*, rica em sesquiterpenos e flavonóides (bisabolol e campferol, respectivamente), apresenta atividade de redução dos níveis de colesterol HDL em ratos, levando a regulação das taxas glicêmicas e podendo ser utilizada em medicamentos para tratamento do diabetes (Krishnaveni *et al.*, 2010). Os óleos voláteis de caule de *Croton urucurana* possuem mais de 83 compostos distintos o que confere atividades anticâncer, anti-inflamatória, antioxidante, antirreumática e antiulcérica (Simionatto *et al.*, 2007). Os óleos voláteis de *C. matourensis* e *C. micans*, popularmente conhecidos por “alecrim-de-vaqueiro” possuem atividade cardioprotetora, calmante e antigripal (Compagnone *et al.*, 2010).

Os diterpenos são considerados o grupo de substâncias mais característico e complexo da família, principalmente os compostos com esqueletos do tipo caurano, clerodano e furano (Salatino *et al.*, 2007). O látex das euforbiáceas é bastante rico em diterpenos do tipo éster de forbol, com atividade citotóxica. Entre estes compostos observamos o casbeno, éster de forbol comum em *Ricinus communis* e com reconhecida atividade antifúngica (Dewick, 2009). O látex de *Synandenum grantii*, conhecido na Índia e no continente africano como “african milkbush”, possui atividades anti-inflamatória, analgésica e antitumoral (Duarte *et al.*, 2010). Os diterpenos do tipo clerodano são os mais comuns em *Croton*, como por exemplo, a cascarilina e os furoclerodanos de *C. eluteria*, que conferem atividade analgésica, antiespasmódica e antitérmica, podendo ser utilizados como substituto de várias espécies de *Chinchona* no tratamento da febre-terça decorrente da malária (Fattorusso *et al.*, 2002). Os esteróides também são bastante relatados em euforbiáceas. Em *Sebastiania macrocarpa*

conhecida popularmente como “purga-de-leite” e utilizada na medicina tradicional como purgante e no tratamento de eczemas, acne e distúrbios menstruais, foram identificados o diterpeno tonantzitlotona e uma mistura de triterpenos e esteróides (lupeol, β -sitosterol e estigmasterol) (Lima *et al.*, 2009a). Alguns compostos são particularmente interessantes, como as lectinas e as hemaglutininas, de ampla ocorrência em Euphorbiaceae e Fabaceae; e compostos cianogênicos que ocorrem em alguns gêneros como por exemplo, *Hevea* e *Manihot* (Seigler *et al.*, 1998).

2. O GÊNERO *CROTON* L.

Croton é o décimo primeiro maior gênero de espermatófitas e o segundo maior e mais diverso gênero de Euphorbiaceae. Pertence à subfamília Crotonoideae que apresenta cerca de 2400 espécies agrupadas em 67 gêneros e 12 tribos (Webster *et al.*, 1994; Frodin *et al.*, 2004). *Croton* conta com um número entre 1200 e 1300 espécies descritas (Govaerts *et al.*, 2000 *apud* Caruso *et al.* 2008; Berry *et al.*, 2005; Lima & Pirani, 2008), sendo seguido por *Jatropha* (± 185 espécies) e *Manihot* (± 100 espécies). Possui distribuição pantropical e apresenta como sinapomorfia a configuração da exina dos grãos de pólen, conhecidas por “padrão *Croton*”. Em termos gerais os grãos de pólen apresentam saliências triangulares ou circulares em seção transversal da exina, suportadas por camada baculóide ou esponjosa. Além disso, a maioria dos táxons da subfamília (inclusive *Croton*) compartilha como sinapomorfia grãos de pólen inaperturados, característica atípica para Angiospermas (Nowicke *et al.*, 1994).

Figura 03. Distribuição do gênero *Croton* L, com o número de espécies de seus principais *hot spots* (fonte: Berry *et al.*, 2005)

Em termos gerais, *Croton* é caracterizado por espécies arbóreas, arbustivas ou herbáceas, distribuídas por zonas de clima tropical e subtropical da América, África, Ásia e Austrália (Figura 03). Registros fósseis datam sua diversificação em aproximadamente 100 milhões de anos. Apresenta mais de 200 espécies paleotropicais (Webster *et al.*, 1994). Mesmo Berry *et al.* (2005) não reconhecendo várias seções, outros autores reúnem as espécies em 40 seções, sendo a maioria de origem americana (Lima & Pirani, 2008). México e Brasil são áreas importantes como centros de diversificação deste gênero. Possui grande importância ecológica, sendo suas espécies importantes elementos de vegetação secundária. Talvez o sucesso do gênero em áreas de mata secundária de regiões tropicais tenha sido um fator chave para sua grande diversificação evolutiva (Lima & Pirani, 2008). No Brasil já foram descritas mais de 356 espécies. Apenas para o estado do Rio de Janeiro são 39, algumas bastante utilizadas na medicina tradicional para diversos males, incluindo ação anticâncer e antitumoral (Pereira *et al.*, 1998; Heluani *et al.*, 2000).

Considerado um gênero problema, *Croton* por muitas vezes é negligenciado por botânicos e ecólogos por ser grande e taxonomicamente complexo. Mesmo sendo considerado por diversos autores como monofilético, Berry *et al.* (2005), em análise filogenética molecular utilizando marcadores ITS e *trnL-trnF*, demonstraram que *Croton* não é monofilético.

Uma dicotomia geral e constante em espécies de *Croton* da América Central, entre espécies de ampla distribuição e espécies endêmicas foi observada por alguns autores (Webster & Huft, 1988; Berry *et al.*, 2005). Esta dualidade é norma para o gênero em diversas áreas tropicais. Em termos de distribuição latitudinal, as espécies podem ser divididas entre espécies com maior representatividade em áreas tropicais (megatérmicas) ou com maior representatividade em regiões subtropicais (mesotérmicas). Das espécies de *Croton* com representatividade no Brasil, as megatérmicas possuem distribuição com limite sul no Trópico de Capricórnio, além de estarem distribuídas nas porções leste, noroeste e norte da América do Sul se estendendo até a América Central. Já as mesotérmicas têm distribuição restrita a áreas da Serra do Mar e Mantiqueira, na região sudeste do Brasil. Um estudo realizado com *Croton* seção *Clerodora* demonstrou que 88% das espécies são essencialmente megatérmicas. Em termos gerais, as espécies de ampla distribuição são megatérmicas e estão associadas a florestas ombrófilas densas ou em áreas de borda de mata. Já as espécies de distribuição restrita são mesotérmicas ou megatérmicas de distribuição disjunta nas regiões Sudeste e Nordeste.

Apesar de muito polimórfico, o gênero é facilmente reconhecido por inflorescências geralmente racemosas com flores pistiladas proximais e estaminadas polistêmones, indumento com tricomas simples, estrelados ou escamiformes, glândulas peciolares e folhas senescentes, tornando-se laranja antes da deiscência (Berry *et al.*, 2005).

Esse gênero é bastante rico em metabólitos secundários, principalmente alcalóides e terpenóides (Berry *et al.*, 2005; Salatino *et al.*, 2007). Os constituintes mais freqüentes são os diterpenóides com esqueletos variados, como clerodanos, traquilobanos, labdanos, cauranos, ésteres de forbol e sarcopetalanos. São comuns espécies com óleos voláteis ricos em monoterpenos (cineol, linalol), sesquiterpenos (cariofileno) e fenilpropanóides (eugenol e anetol).

Muitas espécies utilizadas como medicinal são nativas da América do Sul. *Croton cajucara* conhecida por “sacaca”, nativa da Amazônia brasileira, apresenta folhas e súber com ação anti-inflamatória, antiulcerogênica, antitumoral, anti-mutagênica, anti-estrogênica e hipoglicêmica (Rosa *et al.*, 2003), sendo utilizados no tratamento de diabetes, colesterol alto, distúrbios gastro-intestinais, distúrbios hepáticos e em tratamento de obesidade (Souza *et al.*, 2006). Rica em diterpenos, foi possível isolar o clerodano *trans*-desidrocrotonina (DCTN) (Grynberg *et al.*, 1999), composto majoritário que chega a concentrações de até 1,4% no súber, conferindo atividades anti-inflamatória, antinociceptiva, antiespasmódica, anti-estrogênica, antitumoral e hipoglicemiante. Além disso, possui boas taxas de ácido acetilaleurítico (AAA), com atividade anti-inflamatória e antinociceptiva comprovadas. Foram isolados ainda três esteróides e dois flavonóides com atividades farmacológicas, porém em concentrações minoritárias (Maciel *et al.*, 2000). *C. cajucara* possui óleo volátil rico em linalol, além de já terem sido identificados para a espécie diterpenos e esteróis, o que explica a atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, antifúngica (Souza *et al.*, 2006), anti-leishmaniose (Rosa *et al.*, 2003) e anti-*Trypanossoma cruzi* (Campos *et al.*, 2010).

C. eluteria é uma árvore de médio porte comum na região norte da América do Sul e que se estende pela América Central e sul do México. Apresenta caule de alto valor medicinal e rico em óleos voláteis, diterpenos, alcalóides e taninos, sendo aplicada como balsâmica, digestiva, estomáquica, febrífuga, hipotensora, narcótica e tônica. Bastante utilizada contra febre-terça (decorrente da malária) é considerada substituta para algumas espécies de *Cinchona* L. e *Cascara* L. usualmente utilizadas por sua ação febrífuga (Fatorusso *et al.*, 2002; Salatino *et al.*, 2007). Outra espécie amazônica, *C. pullei* não apresenta citações como medicinal, porém possui óleo volátil e alcalóides (julocrotonina e crotonimida) com propriedades bem interessantes, como anti-inflamatória, antinociceptiva e antiproliferativa (Rocha *et al.*, 2008). *C. micans* é um arbusto de ampla ocorrência na região amazônica, conhecido no Brasil como “alecrim-de-vaqueiro” e reconhecida como sedativa e calmante, sendo utilizada também no tratamento de distúrbios cardíacos e gripes (Compagnone *et al.*, 2010). *C. matourensis* é uma árvore de médio porte encontrada principalmente na região sul da Venezuela, sendo conhecida por “tabaquillo”. Não foram encontrados relatos sobre seu uso medicinal, porém estudos fitoquímicos constataram diterpenos do tipo ácido marúvico. Os óleos voláteis de *C. micans* e de *C. matourensis* são ricos em terpinen-4-ol, D-limoneno, espatulenol, α -cadinol e β -elemeno, compostos de ação anticâncer reconhecida (Compagnone *et al.*, 2010).

Endêmica do nordeste Brasileiro e popularmente conhecida como “marmeleiro cravo” ou “marmeleiro-de-cheiro”, *C. nepetaefolius* apresenta estudos fitoquímicos que revelam a presença de óleos voláteis, diterpenos, acetofenonas e esteróides (Santos *et al.*, 2008). Na medicina popular é empregada como carminativa, estomáquica (Santos *et al.*, 2008), antioxidante (Morais *et al.*, 2006), antinociceptiva, sedativa, antiespasmódica e analgésica (Abdon *et al.*, 2002). *C. sonderianus*, espécie comum no nordeste brasileiro e conhecida por “marmeleiro-preto” possui óleo volátil com atividades anti-inflamatória, antinociceptiva e gastoprotetora comprovadas, corroborando seu uso popular no tratamento de hemorragias uterinas, dores de estômago, processos inflamatórios (Amaral *et al.*, 2004) e como larvicida (Lima *et al.*, 2006). *C. zehntneri* arbusto nativo do nordeste brasileiro e bastante rico em estragol, apresenta um odor característico que lembra uma mistura de canela, cravo e erva-doce (Costa *et al.*, 2008). Conhecida por “canelinha-de-cunhã”, possui óleo volátil com atividade antinociceptiva (Oliveira *et al.*, 2001), antibacteriana (Rodrigues *et al.*, 2009), larvicida (Lima *et al.*, 2006) e depreciaadora do sistema nervoso central (Lazarini *et al.*, 2000). Na medicina tradicional é utilizada no tratamento de desarranjos intestinais, distúrbios cardíacos, distúrbios nervosos e por suas ações analgésica e sedativa.

C. celtidifolius, conhecido por “sangue-de-adave” e comum da Mata Atlântica do sudeste do Brasil, é utilizada em infusões para o tratamento de inflamações, leucemia, úlceras e reumatismo. Popularmente conhecido por “cascarilla”, *C. sarcopetalus* é comum no norte e nordeste da Argentina sendo conhecido por “lecherón”. Possui altos teores de diterpenos, alguns com atividade medicinal como antitumoral ou promotor de inflamação cutânea (Heluani *et al.*, 2000).

Algumas espécies exsudam látex ou resina a partir de cortes do caule. Dentre elas temos *C. lechleri*, *C. draco*, *C. urucurana* e *C. palanostigma* (todas conhecidas popularmente por sangue-de-drago). Estudos realizados com *C. lechleri*, arbusto de pequeno porte bastante comum na região do alto Amazonas, revelou que a espécie possui resina com altos teores de proantocianidinas (catequinas, epicatequinas e galocatequina), alcalóides (taspina) e diterpenóides, o que confere atividade antioxidante, antibacteriana, anti-inflamatória, antiproliferativa, anticâncer, antimutagênica e antiviral (Rossi *et al.*, 2003; Salatino *et al.*, 2007). *C. draco* é a espécie mais utilizada dos “sangue-de-drago” do hemisfério sul, sendo encontrada desde a Amazônia peruana até o norte da América Central. Rica em diterpenos, esteróis, óleos voláteis e alcalóides (taspina) é amplamente utilizada no tratamento de tosse, distúrbios intestinais além de antisséptica e cicatrizante em cortes, queimaduras e herpes (Murillo *et al.*, 2001).

C. urucurana é uma árvore de médio porte, nativa da região platina da América do Sul, sendo encontrada no Paraguai, Uruguai, Brasil e Argentina. No Brasil ocorre desde a Bahia até o Rio Grande do Sul. Em comparação química com as demais espécies do gênero, apresenta óleo volátil mais complexo e uma resina com um grande número de compostos (diterpenos, esteróis, catequinas e

compostos fenólicos) o que acaba conferindo grande número de propriedades medicinais, como: analgésica, anti-inflamatória, antiulcérica, antidiarréica, anticâncer, protetora gástrica e intestinal, antirreumática, antibacteriana e antioxidante (Simionatto *et al.*, 2007). *C. palanostigma* conhecida por “marmeleiro” é uma árvore de médio porte da região amazônica que possui látex rico em óleos voláteis, proantocianidinas, alcalóides e diterpenos (principalmente do tipo clerodano), sendo utilizado na medicina tradicional como anticâncer, antidiabétes, hipercolesterolêmica, antimalária, antiulcérica (Socorro *et al.*, 2007), antifúngica, antihemorrágica, antioxidante, antisséptica e analgésica.

Mesmo com toda relevância medicinal e farmacológica, o estudo do gênero *Croton* ainda se encontra bastante deficitário. Até a década de 1980, *C. cajucara* tinha apenas uma avaliação farmacológica, e até 1992 apenas um trabalho fitoquímico (Maciel *et al.*, 2000).

Desde o início da década de 2000, observa-se um crescente interesse na investigação deste grupo sendo comuns tanto análises químicas quanto estudos sobre o potencial farmacológico.

3. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

O metabolismo secundário teve sua diferenciação junto aos metabólitos primários reconhecida por Julius Sachs, um dos pais da fisiologia vegetal, apenas em 1873. Durante muitos anos essas substâncias foram consideradas minoritárias e sem grande utilidade para as plantas (Hartmann *et al.*, 2007).

Podemos afirmar que o primeiro estudo de compostos secundários foi realizado em 1806 com o isolamento da morfina por Friedrich Wilhelm Sertürner. Pela primeira vez foi isolado o princípio ativo de uma planta medicinal, sendo verificado que a ação era decorrente daquela substância. No entanto, a estrutura química da morfina foi elucidada apenas em 1923 e suas vias de síntese, em 1950. Nestes 150 anos desde a descoberta da morfina foi observada uma corrida para o isolamento e determinação de novos compostos. Isso ocasionou grande acúmulo de informações, influenciando no desenvolvimento da química orgânica, analítica e farmacêutica (Hartmann *et al.*, 2007). Além disso, serviu de alicerce para novos campos de estudos (p.ex. quimiotaxonomia) na medida em que eram compilados os dados químicos e sua distribuição nas espécies, famílias e ordens.

Atualmente, os metabólitos secundários são caracterizados como um grande número de compostos orgânicos de ocorrência restrita a grupos taxonômicos, não sendo obrigatoriamente necessários aos processos básicos de crescimento do organismo, mas com caráter essencial em sua sobrevivência e interação com o ambiente, principalmente em relação à patógenos, herbívoros, polinizadores e dispersores (Veerporte & Alfermann, 2000; Taiz & Zeiger, 2004; Hartmann *et al.*, 2007), podendo não ser produzidos dependendo das condições ambientais ou da fase de vida do organismo (Dewick, 2009).

ligninas e alcalóides, além de ter ação direta na formação de flavonóides. A via do mevalonato tem o ácido mevalônico como composto base e é formado da união de três moléculas de acetil-CoA. Já a via do metil-eritritol, tem o 2C-metil-eritritol-4P como composto inicial, sendo formado da fusão de ácido pirúvico e do gliceraldeído-3-P (ambos intermediários do ciclo de Krebs). Tanto a via do mevalonato, quanto a do metil-eritritol têm como produtos finais os terpenos e os esteróides, sendo considerado o grupo mais complexo e diversificado dos metabólitos secundários (Dewick, 2009).

Durante o período entre as décadas de 1960 e 1980 muitos pesquisadores defendiam a idéia de co-evolução para explicar a alta diversidade de metabólitos secundários nas plantas. Para Cronquist *et al.* (1977), a evolução dos metabólitos secundários teria desencadeado o surgimento e a diversificação das angiospermas. Em outros termos, a maior versatilidade química dos metabólitos secundários agiu como “motor” para a diferenciação de novas espécies no processo co-evolutivo entre angiospermas e seus herbívoros e patógenos (Kubitzky *et al.*, 1990). Coley *et al.* (1985) foram além, propondo que a grande gama de metabólitos secundários com ação antifúngica e anti-herbivórica levou a um ganho adaptativo na medida em que os gastos energéticos relacionados à sua síntese seriam menores que os gastos em recomposição tecidual e/ou estrutural (folhas e caule) exigidos pela herbivoria.

Em termos gerais, o metabolismo secundário acaba englobando todas as interações da planta com os elementos bióticos e abióticos do ambiente. As interações entre plantas, herbívoros e patógenos evoluíram a tal ponto que os envolvidos tornaram-se especialistas e uma ação inicialmente negativa, se tornou não apenas útil, como muitas vezes essencial à adaptação do organismo ao meio ambiente. De um lado observamos que as plantas de certa maneira “domesticaram” insetos herbívoros para polinização e para dispersão de sementes, em contrapartida temos os herbívoros especialistas que utilizam a planta como fonte alimentar e para oviposição, ou que assimilam os metabólitos secundários de defesa produzidos pelas plantas (p.ex. alcalóides pirrolizidínicos) em seu próprio benefício (Hartmann *et al.*, 2007).

Na década de 1980 se postulava que os metabólitos estavam em fluxo dinâmico de produção, degradação e ressíntese. Atualmente, se sabe que estes metabólitos são produzidos e armazenados nos tecidos alvo e em concentrações adequadas para a resposta imediata à injúria. Sendo assim, as plantas apresentam três estratégias principais de defesa: armazenamento do metabólito secundário pronto em tecidos; armazenamento de substâncias pré-formadas; ou produção de metabólitos de defesa por indução, após injúria inicial (p.ex. resveratrol) (Hartmann *et al.*, 2007).

A diversidade química dos metabólitos secundários é decorrente da alta plasticidade e diversidade genética das plantas. Isso acaba aumentando a adaptabilidade da planta não apenas à interação com herbívoros e patógenos, mas também às constantes mudanças ambientais. Cada população possui uma gama específica de metabólitos altamente adaptados às demandas e particularidades do ambiente. Do ponto de vista funcional, o estudo da diversidade e distribuição dos metabólitos

secundários poderá trazer informações não apenas sobre a filogenia, mas também informações sobre a diversidade das interações planta-ambiente e das interações planta-herbívoros e planta-patógenos (Hartmann *et al.*, 2007).

3.1 TERPENÓIDES

Os terpenóides constituem o grupo mais complexo e diversificado de metabólitos secundários e o segundo maior grupo em termos de relevância farmacológica. Até 2000, tinham sido descritos cerca de 33.000 substâncias (Verpoorte & Alfermann, 2000). Hoje já passam dos 35.000 (Dewick, 2009), sendo que outros grupos de compostos podem apresentar elementos terpênicos, como por exemplo, os alcalóides sesquiterpênicos e as furocumarinas.

Derivados de unidades isoprênicas pentacarbonadas, são classificados quanto ao número de unidades de isopreno em sua estrutura, sendo observados monoterpenos (2 unidades, 10C), sesquiterpenos (3 unidades, 15C), diterpenos (4 unidades, 20C), triterpenos (6 unidades, 30C) e carotenóides (8 unidades, 40C). Os esteróides são sintetizados a partir dos triterpenos (Figura 05).

Figura 05. Representação esquemática de formação dos principais grupos de terpenóides (modificado de Dewick, 2009)

Os isoprenos são produtos da decomposição de vários hidrocarbonetos cíclicos. O dimetil-alil-difosfato (DMAPP) e o isopentenil-difosfato (IPP) são considerados isoprenos ativos e participam da formação de terpenos. São sintetizados pela via do ácido mevalônico e pela via do 2C-metil-eritritol-4P (Dewick, 2009) (Figura 05).

Na via do ácido mevalônico (MVA), a síntese dessa substância se dá pela união de três moléculas de acetil-CoA, sendo que duas são unidas inicialmente formando aceto-acetil-CoA e a terceira em adição aldol-estereoespecífica, formando 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Após duas reduções (tio-éster para aldeído e aldeído para álcool) é enfim sintetizado o ácido mevalônico. Este, após descarboxilação e mediante a gasto energético de três ATPs, resulta em IPP, que pode ainda ser isomerizado em DMAPP (Dewick, 2009)

Na via do 2C-metil-eritritol-4P (MEP) ocorre fusão de ácido pirúvico com gliceraldeído-3P, ambos compostos intermediários do ciclo de Krebs. Após a fusão, ocorre a isomerização em 2C-metil-D-eritritol-ciclo-fosfato e depois em 4-hidroxi-3-metil-but-2-enil-PP, composto que origina IPP ou DMAPP (Dewick, 2009).

Todos os organismos são capazes de sintetizar algum tipo de terpenóide, porém apenas as Angiospermas conseguem sintetizar todas as classes. Vertebrados não sintetizam carotenóides. Já os insetos não são capazes de sintetizar carotenóides e esteróides (Vickery & Vickery, 1981).

Animais e fungos possuem apenas a via do MVA, enquanto plantas, algas e algumas bactérias possuem as duas vias (MVA e MEP). Em plantas foi observado que a via do MVA ocorre no citossol da célula e produz sesquiterpenos, triterpenos e esteróis. Já a via do MEP ocorre no cloroplasto e promove a síntese de monoterpenos, diterpenos e carotenóides. Existem casos nos quais as duas vias fornecem diferentes partes para a mesma molécula (Dewick, 2009).

Os terpenóides são a classe de metabólitos secundários dominante em *Croton*. Diterpenos e óleos voláteis são as classes de metabólitos secundários mais estudadas porém os diterpenos se apresentam mais característicos e diversificados no grupo, apresentando uma grande gama de esqueletos, como: clerodanos (*C. lecheri*, *C. oblongifolius*), neoclerodanos (*C. urucurana*, *C. eluteria*, *C. brasiliensis*), cembranóides (*C. oblongifolius*), halimanos (*C. oblongifolius*), cauranos (*C. tonkinensis*), labdanos (*C. oblongifolius*, *C. zambesicus*), traquilobanos (*C. zambesicus*, *C. hovarum*) e sarcopetalanos (*C. sarcopetalus*) (Salatino et al., 2007).

3.1.1. ÓLEOS VOLÁTEIS

Os óleos voláteis são misturas complexas de substâncias voláteis, geralmente odoríferas, lipofílicas e líquidas. Formadas principalmente por terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos) podem apresentar outros compostos como, por exemplo, fenilpropanóides e lactonas. Outros terpenóides também podem ser constituintes minoritários do óleo volátil, como os isoprenóides e o 2-metil-3-butanol, ambos derivados do cátion alílico de DMAPP (Dewick, 2009).

Os compostos voláteis podem apresentar diversas funções químicas como: álcool (p.ex. linalol, mentol e citronelol), aldeído (p.ex. citral, citronelal e aldeído cinâmico), ácido (p.ex. benzoico), fenol (p.ex. eugenol, timol e carvacrol), cetona (p.ex. mentona, carvona e cânfora) ou éster (p.ex. cineol, eucaliptol e safrol) (Dewick, 2009). Mesmo podendo ser encontrados em outros tecidos (como súber e raiz) são comumente produzidos em tricomas glandulares e armazenados em células de parênquimas florais e foliares, conferindo o aroma característico destas estruturas (Almeida *et al.*, 2004).

Possuem grande importância na interação da planta com o ambiente, apresentando propriedades antiherbívora, insetífuga, antifúngica e antibacteriana, além de ter ação direta na atração de polinizadores e dispersores. Pesquisas recentes revelaram que em algumas espécies (p.ex. milho e tabaco) os óleos voláteis são liberados apenas após o inseto ter iniciado a ingestão da planta, repelindo insetos oviposidores e atraindo predadores e parasitas do agressor, minimizando assim, danos adicionais (Taiz & Zeiger, 2004). Em termos industriais, são utilizados em aromatizantes e perfumes (Buchanan *et al.*, 2000). Em termos farmacológicos possuem uma grande gama de propriedades medicinais como antibacteriana (Suarez *et al.*, 2005; Siminionato *et al.*, 2007; Costa *et al.*, 2008), antisséptica, antihelmíntica, anti-inflamatória (Santos *et al.*, 2005), anticâncer (Sylvestre *et al.*, 2006; Compagnone *et al.*, 2010), antinociceptiva (Abdon *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2005), antioxidante (Agnaniet *et al.*, 2005; Morais *et al.*, 2006; Simionatto *et al.*, 2007; Mohamed *et al.*, 2009), carminativa, expectorante, fungicida (Souza *et al.*, 2006), gastoprotetora (Santos *et al.*, 2005), inseticida (Silva *et al.*, 2004), larvicida (Lima *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2008) e vasorrelaxante (Magalhães *et al.*, 2008).

Os monoterpenos são os principais constituintes dos óleos voláteis, compreendendo normalmente 90% do total. Os primeiros compostos isolados e que tiveram suas estruturas moleculares elucidadas foram o borneol (em 1840), o linalol (em 1853), o limoneno (em 1870), o geraniol (em 1871) e o cineol (em 1884). Neste período, já eram comercializados produtos farmacêuticos tendo por base a cânfora e o mentol. Industrialmente, são os terpenos mais importantes. Até 1998 já tinham sido isolados 1946 monoterpenóides (Verpoorte & Alfermann, 2000).

A unidade básica dos monoterpenos é o geranyl-difosfato (GPP), sintetizados a partir da fusão de IPP e DMAP, por união do tipo “cabeça-cauda”. O GPP pode sofrer isomerização em linalil-PP (LPP) ou neril-PP (NPP), formando as três estruturas básicas de diferenciação dos monoterpenos. São

subdivididos quanto sua estrutura em acíclicos (geraniol, linalol e nerol), monocíclicos (cineol, limoneno e mentol) e bicíclicos (α -pineno, tujona e cânfora) (figura 06). A diversidade dos monoterpenos aumenta consideravelmente devido às estruturas monocíclicas e bicíclicas. Os compostos cíclicos necessitam de conformação estereoquímica de dupla ligação específica para sua formação, presente apenas em LPP e NPP. Necessitam, obrigatoriamente, de enzimas ciclases para sua síntese (Dewick, 2009).

Figura 06. Exemplos de monoterpenos com atividade biológica, já detectados em espécies de *Croton*.

Alguns monoterpenos são notavelmente diferenciados. Carvacrol, timol e *p*-cimeno são monoterpenos fenólicos. Estes monoterpenos originados a partir de unidades isoprênicas formam um grupo pequeno, já que a maioria dos compostos aromáticos é derivada de unidades resultantes das vias do acetato-malonato e do chiquimato. Outro grupo de compostos, as piretrinas, são monoterpenos irregulares, incomuns e restritos à Asteraceae, que não seguem a união “cabeça-cauda”. Finalmente temos os iridóides. Derivados do geraniol (monoterpeno) possuem anel ciclopentânico em geral fundido a um anel oxigenado heterocíclico (Dewick, 2009).

Os sesquiterpenos são formados por três unidades isoprênicas. A terminologia vem do latim e significa “um e meio” (Dewick, 2009). São menos voláteis que os monoterpenos. Conhecidos desde o século XIX, até 1998 tinham sido isolados 8650 compostos distintos (Verpoorte & Alfermann, 2000). A unidade básica dos sesquiterpenos é o farnesil-difosfato (FPP) sintetizado a partir da fusão de GPP (NPP ou LPP) e IPP, por união do tipo “cabeça-cauda”. Podem se originar de monoterpenos lineares, cíclicos ou bicíclicos, podendo apresentar configuração tricíclica. Alguns sesquiterpenos atuam diretamente na interação da planta com o ambiente, como o farnesano (inibe ecdise e muda de alguns insetos), a santonina (sesquiterpeno lactônico com ação antihelmíntica e antitumoral) e o ácido abscísico (dormência de gemas e abscisão de folhas e frutos) (Vickery & Vickery, 1981). Existe um grande número de sesquiterpenos com atividade farmacológica, como o α -bisabolol (Figura 07) extraído principalmente da camomila e da candeia (*Matricaria chamomilla* e *Vanillosmopsis*

erythropappus respectivamente) com atividade anti-inflamatória, antiespasmódica, antibacteriana e antifúngica. Outros compostos interessantes são α -santonina (antihelmíntico extraído de várias espécies de *Artemisia*), artemisina (lactona sesquiterpênica de ação eficaz contra febre-terça também extraído de *Artemisia* sp.) e o camazuleno (antioxidante que confere coloração azul ao óleo de *Achillea millefolium*) (Dewick, 2009).

Mesmo com toda importância ecológica e econômica, as funções biológicas de muitos componentes de óleos voláteis ainda não foram totalmente elucidadas. Possui uma grande gama de atividades medicinais. Os óleos de menta (mentol) e o de eucalipto (eucaliptol) possuem eficaz ação antibacteriana, antisséptica e expectorante sendo utilizados no tratamento de distúrbios respiratórios e em produtos de ação desinfetante. O ascaridol, extraído de *Chenopodium ambrosioides* possui alta atividade antihelmíntica. Muitos óleos voláteis possuem atividade anti-inflamatória, carminativa, desodorante e expectorante.

Várias espécies de *Croton* possuem óleos voláteis com atividades fisiológicas, sendo empregadas na medicina tradicional no tratamento de úlceras gástricas, inflamações, dor de cabeça, dores musculares, diabetes, disenteria, reumatismo e em alguns tipos de câncer (Compagnone *et al.*, 2010). Outras indicações observadas são o tratamento de distúrbios menstruais, tosse, malária e convulsões (Mohamed *et al.*, 2009). O óleo volátil de *C. zehntneri* é rico em anetol, eugenol e metil-eugenol (monoterpenos) e apresenta atividade sedativa, aperiente, antinociceptiva e estomáquica (Moraes *et al.*, 2006). O óleo volátil de *C. urucurana* é composto predominantemente por sesquiterpenos (elemona, γ -gurjuneno, α -bisabolol, α -eudesmol e sesquicineol) apresentando atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticâncer, antiulcérica e antirreumática (Simmionatto *et al.*, 2007). O óleo volátil de *C. micans* e *C. matourensis*, ambas conhecidas popularmente como “alecrim-de-vaqueiro” é rico em sesquiterpenos e fenilpropanóides apresentando atividades cardiotônica, calmante e antigripal (Compagnone *et al.*, 2010). Já o óleo volátil de *C. pullei*, possui altas taxas de cariofileno e germacreno-D, apresentando atividade anti-inflamatória e antinociceptiva (Rocha *et al.*, 2008) (Figura 07).

Figura 07. Exemplos de sesquiterpenos com atividade biológica, já detectados em espécies de *Croton*.

Alguns exemplos de literatura recente com estudo de óleos voláteis em *Croton* estão listados abaixo (Tabela 01).

Tabela 01. Exemplos de artigos publicados com análise de óleos voláteis em espécies de *Croton*.

Espécie	Referência	Compostos majoritários	Atividade biológica
<i>C. argyrophyllodes</i>	Lima <i>et al.</i> , 2006		Larvída,
	Morais <i>et al.</i> , 2006		Antioxidante
<i>C. cajucara</i>	Souza <i>et al.</i> , 2006	α -pineno, cipereno e linalol	Fungicida
<i>C. cajucara</i>	Rosa <i>et al.</i> , 2003	Linalol	Anti-Leishmania
<i>C. flavens</i>	Sylvestre <i>et al.</i> , 2006	Viridifloreno e germacreno	Anticâncer
<i>C. grewoides</i>	Silva <i>et al.</i> , 2004	Anetol e eugenol	Inseticida
<i>C. malambo</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2005	Eugenol	Antibacteriana
<i>C. matourensis</i>	Compagnone <i>et al.</i> , 2010	Fenchil acetato (fenilpropanóide) e cariofileno	Anticâncer
<i>C. micans</i>	Compagnone <i>et al.</i> , 2010	Fenchil acetato (fenilpropanóide) e cariofileno	Anticâncer
<i>C. nepetaefolius</i>	Abdon <i>et al.</i> , 2002	1,8-cineol e cariofileno	Antinociceptiva
	Lima, <i>et al.</i> , 2006		Larvída
	Magalhães <i>et al.</i> , 2008	Metileugenol e α -terpineol	Vasorrelaxante da aorta
	Morais <i>et al.</i> , 2006		Antioxidante
<i>C. oligandrum</i>	Agnaniet <i>et al.</i> , 2005	Linalol	Antioxidante
<i>C. palanostigma</i>	Brasil <i>et al.</i> , 2009	Linalol e cariofileno	
<i>C. pulley</i>	Rocha <i>et al.</i> , 2008	β -cariofileno e germacreno-D	
<i>C. regelianus</i>	Torres <i>et al.</i> , 2008	Ascaridol, p-cimeno e cânfora	Larvída e nematocida
<i>C. sarcopetalus</i>	Heluani <i>et al.</i> , 2000,	Isoeugenol	
<i>C. selowii</i>	Dias <i>et al.</i> , 2006	Óxido de cariofileno	
<i>C. sonderianus</i>	Santos <i>et al.</i> , 2005		Anti-inflamatória e antinociceptiva.
	Lima <i>et al.</i> , 2006		Larvída
<i>C. urucurana</i>	Simionatto <i>et al.</i> , 2007	Sesquicineol, α -bisabolol, α -eudesmol e γ -gurjuneno	Antioxidante e antibacteriana
	Simionatto <i>et al.</i> , 2009	Germacreno e biciclogermacreno (folha) e cadineno e sesquicineol (caule)	
<i>C. zambesicus</i>	Usman <i>et al.</i> , 2009	Limoneno e β -terpineno	
	Mohamed <i>et al.</i> , 2009	Lupeol e betlina	Antioxidante
<i>C. zehntneri</i>	Costa <i>et al.</i> , 2008	Estragol	Antibacteriana
	Lima <i>et al.</i> , 2006		Larvída
	Morais <i>et al.</i> , 2006		Antioxidante

3.1.2. DITERPENOS

Os diterpenos são um grupo bastante numeroso com 7834 compostos descritos até 1998 (Verpoorte & Alfermann, 2000). A unidade básica é o geranyl-geranyl-PP, composto resultante da fusão de farnesil-difosfato (FPP) e IPP, por união “cabeça-cauda”. Geralmente não são voláteis. Possuem alto grau de ciclização devido a processos similares aos que ocorrem em monoterpenos e sesquiterpenos. Compostos acíclicos e com cadeias abertas (p.ex.: fitol, cembreno) são bastante raros. Um dos compostos mais simples e importantes, o fitol (Figura 08) é constituinte da clorofila A e confere caráter lipossolúvel à molécula, sendo parcialmente responsável por sua atividade biológica (Streit, 2005). Além disso, o fitol é precursor de tocoferóis (vitamina E) e filoquinonas (vitamina K) (Dewick, 2009).

Fitol

Figura 08. Fitol, diterpeno de cadeia aberta de grande importância biológica.

Vários diterpenos apresentam propriedades medicinais. O taxol é um éster diterpênico, isolado pela primeira vez em 1971. Atualmente, já foram descritos mais de 400 taxanos, sendo utilizados no tratamento de câncer de pulmão, mama e ovário (Dewick, 2009). Alcalóides diterpênicos apresentam nitrogênio fora da cadeia diterpênica e possuem um grande número de propriedades como antibacteriana, anti-herbívora, fungicida e inseticida.

O copalil-PP é precursor de diterpenos do tipo caurano e (ent)caurano e pode apresentar o ácido abiético (composto majoritário de *Pinus* e coníferas, com atividade fungicida e inseticida) como alternativa estereoquímica. A partir do copalil-PP e tendo o levopimaradieno como intermediário, os ginkgolídeos são classificados como trilactonas diterpênicas altamente oxigenadas, possuindo ação cardiotônica e estimulante da circulação periférica (Dewick, 2009).

Os diterpenos são uma das classes de metabólitos secundários mais característica em *Croton*, apresentando ampla ocorrência e alta diversidade estrutural. Os esqueletos estruturais mais comuns são: labdanos, cauranos, seco-cauranos, cembranóides, clerodanos, neoclerodanos, halimanos, isopimaranos, traquilbanos e ésteres de forbol (Salatino *et al.*, 2007) (Figura 09).

Labdano

Clerodano

Caurano

Trans-crotonina

Figura 09. Exemplos de esqueletos de diterpenos comuns para espécies de *Croton* (labdanos, cauranos e clerodanos) e trans-crotonina, clerodano típico de *Croton* bastante estudado devido ao grande número de atividades biológicas e farmacológicas.

Em termos gerais, os clerodanos são a classe de diterpenos mais diversificada em eudicotiledôneas, com mais de 800 compostos isolados. O primeiro diterpeno a ser obtido na forma pura foi o clerodano cascarilina, isolado de *C. eluteria* em 1845 e com fórmula estrutural elucidada em 1966. Em geral, os clerodanos possuem atividade biológica, com ação anti-herbívórica, antibacteriana, antiviral, antitumoral, antiulcérica e psicotrópica (Maciel *et al.*, 1998; Grynberg, 1999; Campos *et al.*, 2010). Outras espécies com clerodanos bioativos são *C. lechleri* - clerodanos com atividade antioxidante (De Marino, 2008), *C. palanostigma* - atividade antitumoral (Campos *et al.*, 2010) e *C. cajucara* da qual foi isolada a trans-desidrocrotonina (DCTN) com atividade antitumoral (Grynberg, 1999).

Estudos em *Croton* registraram atividades biológicas em outras classes de diterpenos, como os furano-clerodanos de *C. membranaceus* com atividade antimicrobiana (Bayer *et al.*, 2009), a crototropona obtida em *C. zehntneri*, com atividade anti-depressiva e antinociceptiva (Bracher *et al.*, 2008), os diterpenos de *C. steenkampianus* com ação antimalária (Adelekan *et al.*, 2008), e os sarcopetalanos obtidos de *C. sarcopetalus*, com atividades antitumoral e promotora de inflamação

(Heluani *et al.*, 2000). Alguns exemplos de literatura recente com estudo de diterpenos em *Croton* estão listados na tabela 02.

Tabela 02. Exemplos de artigos publicados com análise de diterpenos, triterpenos e esteróides em espécies de *Croton*.

<i>Espécie</i>	<i>Referência</i>	<i>Compostos</i>	<i>Atividade biológica</i>
<i>C. cajuca</i>	Maciel <i>et al.</i> , 1998	Diterpenos clerodano e furano-clerodano e triterpeno ácido acetil-aleurítico.	
	Grynberg <i>et al.</i> , 1999	Diterpenos e triterpenos	Antitumoral
	Souza <i>et al.</i> , 2006	Ácidos graxos, ditrepenos e esteróis	
	Morais <i>et al.</i> , 2007	Esteróides	
	Campos <i>et al.</i> , 2010	Diterpenos (DCTN) e triterpenos (AAA)	Anti- <i>Trypanossoma cruzi</i>
<i>C. campestris</i>	Matias <i>et al.</i> , 2010		Antibacteriana
<i>C. caracasana</i>	Suarez <i>et al.</i> , 2009	Diterpenos ent-caurano e triterpenos	
<i>C. draco</i>	Murillo <i>et al.</i> , 2001	Diterpenos caurano, clerodano e ésteres de forbol	
	Deepika-Gupta <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos, triterpenos e esteróis	
<i>C. eluteria</i>	Fattorusso <i>et al.</i> , 2002	Diterpenos clerodano (cascarilinas e eluterinas)	
<i>C. floribundus</i>	Haraguchi <i>et al.</i> , 2011	Diterpenos caurano e esteróis	
<i>C. lechleri</i>	Rossi <i>et al.</i> , 2003	Latex (rico em diterpenos e esteróis)	Antimutagênica e antiproliferativa
	De Marino <i>et al.</i> , 2008	Diterpeno clerodano	Antioxidante
	Deepika-Gupta, <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos, triterpenos e esteróis	
<i>C. membranaceus</i>	Bayor <i>et al.</i> , 2009	Diterpenos clerodano e furano-clerodano e triterpenos	Antimicrobiana
<i>C. nepetaefolius</i>	Santos <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos casbeno e esteróis	
<i>C. oblongifolius</i>	Youngsa <i>et al.</i> , 2007	Diterpenos clerodano	
<i>C. pulley</i>	Abreu <i>et al.</i> , 2001	Diterpenos caurano, triterpenos e esteróis	
<i>C. regelianus</i>	Torres <i>et al.</i> , 2009	Diterpenos podocarpano	
<i>C. sarcopetalus</i>	Heluani <i>et al.</i> , 2000	Diterpenos sarcopetalano	
<i>C. steenkampianus</i>	Adelekan <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos	Anti- <i>Plasmodium</i>
<i>C. stipuliformis</i>	Ramos <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos seco-labdanos, ent-labdanos e triterpenos	
<i>C. tigilium</i>	Mendes <i>et al.</i> , 2004	Triterpenos	Anti-inflamatória
<i>C. urucurana</i>	Deepika-Gupta, <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos, triterpenos e esteróis	
	Oliveira <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos e esteróis	Antibacteriana
<i>C. zambesicus</i>	Mohamed <i>et al.</i> , 2009	Diterpnos ent-cauranos e triterpenos	
<i>C. zehntneri</i>	Bracher <i>et al.</i> , 2008	Diterpenos tropona	

3.1.3. TRITERPENOS

Bastante diversos, os triterpenos perfaziam 5582 compostos descritos até 1998 (Verpoorte & Alfermann, 2000). O esqualeno é considerado o triterpeno mais simples, sendo precursor de outros triterpenos e esteróides. Formado pela união “cauda-cauda” de duas moléculas de FPP necessita de gasto de NADPH para sua síntese. Não voláteis, possuem alto grau de ciclização. A maioria das ciclizações e rearranjos são aparentemente catalizados por uma única enzima ciclase específica, que converte o oxi-esqualeno diretamente no composto final (Dewick, 2009).

Os triterpenos são subdivididos quanto à estrutura da molécula em tetracíclicos (p.ex. lanosterol e eufol) ou pentacíclicos (p.ex. ciclo-artenol, lupeol e α -amirina) (Figura 10). O esqualeno após reação de oxigenação com gasto energético é convertido em oxi-esqualeno. Este sofre isomerização e ativação, formando o cátion protostéril, precursor de ciclo-artenol e lanosterol. O lanosterol é um triterpeno típico de animais e fungos, enquanto ciclo-artenol de plantas. Estes são precursores de todos os triterpenos, além de colesterol e dos outros esteróides. A maior parte dos triterpenos e esteróides naturais apresentam o grupo 3-hidroxila (oxigênio epóxido) original do oxi-esqualeno (Dewick, 2009).

Figura 10. Exemplos de triterpenos já detectados em espécies de *Croton*.

Alguns triterpenos possuem suas atividades fisiológicas bastante estudadas, sendo empregados no tratamento de diversos males. Por exemplo, a α -amirina e β -amirina possuem atividades anti-convulsão, antidepressiva, ansiolítica e sedativa (Araújo *et al.*, 2005). Outro exemplo, o ácido acetilauritólico (AAA) (Figura 11) de *Croton cajucara*, possui atividade antiespasmódica, anti-inflamatória e antinociceptiva (Maciel *et al.*, 2000). Triterpenos são frequentemente relatados em trabalhos de *Croton* (Maciel *et al.*, 1998; Abreu *et al.*, 2001; Rosa *et al.*, 2004; Deepika-Gupta *et al.*, 2008; Ramos *et al.*, 2008; Bayor *et al.*, 2009 e Mohamed *et al.*, 2009).

Acido Acetil-Aleurítico (AAA)

Figura 11. Ácido acetilaleurítico (AAA), triterpeno isolado de *C. cajucara* e com grande número de atividades biológicas e farmacológicas.

Os limonóides são um dos triterpenos de ação anti-herbívora mais conhecidos conferindo sabor amargo às frutas cítricas. A azadiractina é um exemplo de limonóide tóxico e deterrente, letal para alguns insetos mesmo em baixíssimas concentrações (abaixo de 50 ppb). Extraído de *Azadirachta indica*, Meliaceae originária da Índia e comum desde o norte da África até o sul e sudeste asiático, é conhecida por neem. Possui baixa toxicidade para mamíferos, sendo atualmente um dos óleos de atividade insetífuga de maior apelo e potencial comercial (Dewick, 2009).

O lupeol, o α -amirina e o β -amirina podem ser encontrados na forma glicolítica estrutural de saponinas. As saponinas triterpênicas possuem triterpenos (elementos lipofílicos) associados à açúcares (elementos hidrofílicos) em sua molécula, resultando em diminuição da tensão superficial e gerando efeito detergente e emulsificador em solução aquosa, mesmo em baixas concentrações devido às propriedades surfactantes (Taiz & Zeiger, 2004; Dewick, 2009). Raras em monocotiledôneas e abundantes em eudicotiledôneas as saponinas são inertes se consumidas oralmente. Na ingestão ocorre hidrólise dos elementos hidrofílicos e hidrofóbicos sendo estes absorvidos lentamente pelo aparelho digestório. A toxicidade ocorre em contato direto com o sangue, gerando hemólise dos eritrócitos na medida em que aumenta a permeabilidade da membrana plasmática. Existe um grande número de espécies de importância alimentar ricas em saponinas como feijão, soja, lentilha, espinafre e aveia. Algumas espécies possuem saponinas triterpênicas importantes em termos medicinais como o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) com a glicirrizina, composto edulcorante e de atividade corticóide e anti-inflamatória, o *Panax ginseng* com ginkosídeos de ação antioxidante, calmante e afrodisíaco e a *Centella asiatica* com asiaticosídeos de ação eficaz no tratamento da lepra (Dewick, 2009).

3.1.4. ESTERÓIDES

Assim como os triterpenos, os esteróides são derivados da ciclização do esqualeno, apresentando lanosterol e cicloartenol como precursores. Possuem o esqueleto tetracíclico (típico do lanosterol), porém sem os três grupos metílicos do C₄ e C₁₄. O colesterol exemplifica a estrutura básica dos esteróides, porém com modificações especialmente na cadeia anexa, o que contribui para a formação de uma grande gama de compostos com atividade biológica. A atividade biológica é conferida principalmente devido ao esqueleto com núcleo esteroidal. O lanosterol é precursor de esteróides biossintetizados por fungos e animais (Dewick, 2009).

As plantas apresentam como precursor o cicloartenol (esqueleto pentacíclico). Neste caso, é observada uma reabertura do anel ciclopropânico. Posteriormente, pode ser convertido em metil-ene-cicloartenol, precursor dos fitoesteróis, ou em colesterol, tendo o polinastanol como intermediário (Dewick, 2009)

Os fitoesteróis diferem dos esteróides por apresentarem álcoois livres ou por estarem associados a ácidos graxos. Formados basicamente por 28 ou 29 carbonos, possuem um esqueleto básico com 27 carbonos, sendo adicionados radicais etila ou metila (associados ao C₂₄). Atualmente são conhecidos mais de 40 tipos distintos de esqueletos de fitoesteróis, sendo o β -sitosterol, o campesterol e o estigmasterol os mais abundantes (Figura 12). O sitosterol é o fitoesteróide C₂₉ mais comum e abundante (Martins *et al.*, 2004).

Figura 12. Exemplos de esteróides muito comuns em trabalhos de fitoquímica.

As maiores fontes alimentares de fitoesteróis são os óleos vegetais, principalmente óleo de arroz, girassol e canola (Martins *et al.*, 2004). Quimicamente descrito como 3 β -estigmasten-3-ol e biossintetizado por hidrogenação do estigmasterol, o β -sitosterol é um dos fitoesteróis mais importantes em termos medicinais, apresentando atividades hipocolesterolêmica, antioxidante, anticâncer e anti-arteriosclerótico. Possui caráter hidrofóbico mesmo sendo solúvel em álcool. As

principais fontes de β -sitosterol são os óleos de abacate, de semente de abóbora e o extrato oleoso de *Serenoa repens* ("saw palmetto") (Veerporte & Alfermann, 2000).

Bastante similares aos fitoesteróis, os fitoestanóis não apresentam insaturação no C₆. Tanto esteróis quanto estanóis são eficazes na redução da colesterolemia. Eles agem por competição nas micelas, reduzindo a absorção do colesterol no intestino delgado e, conseqüentemente, aumentando o colesterol eliminado pelas fezes (Teixeira *et al.*, 2009). Os estanóis se apresentam mais eficazes que os esteróis. Em estudo realizado em 1993, foi observada que a suplementação por esteróides reduziu a absorção de colesterol pelo organismo. A absorção média de colesterol que gira em torno de 33%, foi reduzida para 4,2% com a suplementação de β -sitosterol, para 4,8% com a suplementação de estigmasterol e para 9,6% com a suplementação de campesterol (Heinemann *et al.*, 1993).

Diferentemente do que ocorre com as saponinas triterpênicas, as saponinas esteroidais são raras em eudicotiledôneas (Solanaceae e Scrophulariaceae) e se encontram amplamente distribuídas em monocotiledôneas (principalmente Liliaceae, Agavaceae e Dioscoreaceae). Possuem as mesmas características das saponinas triterpênicas, porém são tóxicas mesmo se ingeridas (Dewick, 2009).

Os cardenolídeos são classificados como glicosídeos cardiotônicos. Comumente encontrados em Ranunculaceae e Liliaceae, conferem sabor amargo e são extremamente tóxicos a aves e mamíferos. Atuam na superfície de membrana, inibindo a ATPase e alterando o equilíbrio de sódio/potássio. Isso resulta em diminuição no ritmo de batimentos e em aumento na intensidade de contração da musculatura do coração, podendo levar à parada cardíaca (Buchanan *et al.*, 2000; Dewick, 2009).

O estudo de fitoesteróis possui grande interesse para as indústrias farmacológicas, na medida em que são potenciais precursores e intermediários para a produção de hormônios sintéticos (Oliveira, 1996).

Em *Croton*, os esteróides são bastante comuns em estudos de análise química, porém na maioria das vezes são relatados apenas β -sitosterol e estigmasterol (Moraes *et al.*, 2007; Ramos *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2008; Bayor *et al.*, 2009; Haraguchi *et al.*, 2011). Alguns exemplos de literatura recente com estudo de triterpenos e esteróides em *Croton* estão listados na tabela 02.

3.1.5. CAROTENÓIDES

Os carotenóides são sintetizados a partir da união de duas moléculas de geranyl-geraniol-PP (precursor de diterpenos) através de ligação “cabeça-cauda” e apresentam o fitoeno como estrutura básica. Até 1998, 351 compostos eram descritos para o grupo (Verpoorte & Alfermann, 2000). Normalmente, possuem um grande número de isômeros geométricos.

São divididos em dois grupos principais: os carotenos (apenas hidrocarbonetos) e as xantofilas (substâncias oxigenadas). O alto grau de insaturação, confere aumento na resistência a variações de temperatura. São encontrados em plantas, fungos e bactérias (Veerpoorte *et al.*, 1999). É um dos grupos experimentais mais utilizados entre os terpenos e tem como função principal servir de pigmento acessório para a fotossíntese (Buchanan *et al.*, 2000). Como exemplo temos β -caroteno, retinal, luteína, violaxantina, neoxantina, licopeno e capsaicina (Figura 13). Utilizados pela indústria farmacológica e cosmética, possuem alta atividade antioxidante.

Figura 13. Exemplos de carotenóides.

II. OBJETIVOS

Tendo em vista as colocações feitas acima, o presente trabalho apresenta como objetivo geral ampliar o conhecimento químico sobre o gênero *Croton*, tendo sido analisadas 10 amostras do gênero *Croton* seção *Lamprocroton*, todas com descrição química inédita.

Foram realizados ensaios visando extração, identificação e determinação dos componentes de óleos voláteis, diterpenos, triterpenos e esteróides, objetivando não apenas traçar o perfil de terpenos das espécies analisadas, mas obter um padrão para *Croton* seção *Lamprocroton*.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. MATERIAL BIOLÓGICO

Folhas e caules de 10 amostras de *Croton* seção *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae) (Tabela 03), foram submetidas a análises químicas de detecção e identificação de diterpenóides, triterpenóides, esteróides e componentes de óleos voláteis.

A escolha das espécies levou em consideração a ausência de estudos químicos anteriores, bem como o apoio na coleta e na identificação do material biológico recebidos da Profa. Dra. Letícia Ribes Lima – Professora Adjunta do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos. Seguem abaixo breves descrições das espécies analisadas, retiradas de Lima & Pirani (2008). A figura 14 traz um mapa com a localização aproximada dos pontos de coleta do material analisado.

Tabela 03. Espécies de *Croton* analisadas, voucher e dados de coleta.

ESPÉCIE	VOUCHER	LOCAL DE COLETA
<i>C. catamarcensis</i>	VanEe 653	Província de Catamarca, Norte da Argentina
<i>C. ceanothifolius</i>	Lima, LR 352	Reserva Biológica do Tripuí, Ouro Preto, MG – Abr/2004
<i>C. dusenii</i>	Lima, LR 355	Calmon, SC – Abr/2004
<i>C. ericoides</i>	Lima, LR 321	Balneário Dunas Altas, Palmares do Sul, RS – Nov/2003
<i>C. eskucheii</i>	Lima, LR 340	Proximo ao Camping Mirador, Corrientes, Argentina – Fev/2003
<i>C. linearifolius</i>	Lima, LR 353	União da Vitória, PR – Abr/2004
<i>C. muellerianus</i>	Lima, LR 358	Pico Caratuva, Campina Grande do Sul, PR – Abr/2004
<i>C. pallidulus</i> var. <i>glabrus</i>	Lima, LR 319	Parque Estadual de Campos do Jordão, Capivari, SP – Out/2003
<i>C. pallidulus</i> var. <i>pallidulus</i>	Lima, LR 327	Reservatório da Sanepar, São José dos Pinhais, PR – Jan/2004
<i>C. pseudoadipatus</i>	Lima, LR 458	Parque Nacional Serra do Cipó, Santana do Riacho, MG–Nov/2007

1.1. *Croton catamarcensis* Ahumada, 1999

Endêmica da região norte da Argentina, o posicionamento desta espécie na seção é duvidoso devido ao indumento ser distinto das demais espécies (Lima & Pirani, 2008).

Espécie de hábito arbustivo monóica ou dióica. Os tricomas encontrados em praticamente todos os órgãos de *C. catamarcensis* não são considerados lepidotos, possuindo raios laterais completamente

livres ou unidos em menos de 20% de seu comprimento total, sendo classificados como estrelados ou apresso-estrelados.

1.2. *Croton ceanothifolius* Baill 1864.

Endêmica do estado de Minas Gerais apresenta ocorrência preferencial em regiões serranas com altitudes acima dos 1000 m, sendo observada em diversos tipos de fisionomia do cerrado, como campo cerrado, campo sujo e cerrado *sensu strictu*, sempre associada a solos areno-pedregosos (Lima & Pirani, 2008).

Arbustos de 0,6 a 2,0 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricomas lepidoto-típicos, raios laterais parcialmente unidos (90%). Folhas fortemente discolores, inteiras, cartáceas, elípticas a ovais, ápice agudo, margem inteira,

C. ceanothifolius. Foto de Lima, LR

lâmina de 0,4-4,3 cm comprimento, 0,3-1,4 cm de largura, tricomas simples e estrelado-lepidotos, pecíolos de 1,5-9,0 mm de comprimento. Inflorescência em racemos bissexuados, 1,0-3,0 cm de comprimento. Frutos elipsóides com 5,0 a 6,0 mm de diâmetro; sementes 3,5-4,0 mm comprimento, 2,5-3,0 mm largura.

C. ceanothifolius é bastante semelhante à *C. pallidulus*, quanto ao hábito, forma de folhas e nervação. Variam quanto ao tipo de indumento da face adaxial (*C. ceanothifolius* tricomas simples; *C. pallidulus* estrelado) e quanto à distribuição geográfica (*C. ceanothifolius* do estado de Minas Gerais, e *C. pallidulus* da região sul e do estado de São Paulo) (Lima & Pirani, 2008).

1.3. *Croton dusenii* Croizat, 1940

Endêmica do estado de Santa Catarina ocorre em áreas de campos alagados. Espécie heliófila e seletiva higrófila é pouco frequente, sendo encontrada preferencialmente, em banhados dos campos e orla de capões. Podem formar agrupamentos com *C. pallidulus* e *C. tenuissimus* (Lima & Pirani, 2008).

Arbustos e sub-arbustos de 0,2 a 1,0 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricoma lepidoto-típicos, raios laterais parcialmente unidos (80%). Folhas fortemente discolores, inteiras, cartáceas, elípticas, obovais, oblanceladas, ápice agudo, obtuso a arredondado, base aguda, margem inteira, lâmina 0,6-1,5 cm comprimento, 2,0-6,0 mm de largura, tricomas estrelados, pecíolos 1,0-2,5 mm de comprimento; inflorescências em racemos unissexuados com 0,8-2,0 cm de comprimento.

1.4. *Croton ericoides* Baill, 1864

Endêmica do estado de Rio Grande do Sul é encontrada preferencialmente em regiões litorâneas, mata de capoeira e próximas a afloramentos rochosos, sempre associadas a solo arenoso (Lima & Pirani, 2008).

É considerada uma das espécies de *Croton* mais fáceis de serem reconhecidas, mesmo quando em estado vegetativo. Arbustos de 0,3 a 1,0 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricoma lepidotótipos, raios laterais parcialmente unidos (95%). As folhas muito pequenas, com no máximo 1,3 cm de comprimento e 1,5 mm de largura se apresentam levemente discolores, inteiras, subcoriáceas, lanceoladas, estreitamente oblongas ou elípticas, ápice agudo, acuminado ou arredondado, base aguda, margem inteira, tricomas lepidotos; pecíolos de 0,8-1,5 mm de comprimento. Inflorescência em racemos unissexuados, 0,5-1,7 cm de comprimento. Frutos arredondados a elipsóides com 4,5 mm de diâmetro (média); sementes 3,0 mm comprimento, 2,0 mm largura, ovóides a elipsóides, testa castanho alaranjada lisa a levemente rugosa.

1.5. *Croton eskucheii* Ahumada, 1999

Apresenta distribuição restrita a áreas próximas aos rios Paraguai e Paraná, sendo encontrada em grande parte do Paraguai, região norte da Argentina e sul do Brasil, estando sempre associada a solos arenosos (Lima & Pirani, 2008).

Sub-arbustos e arbustos de 0,3 a 0,5 m de altura, dióicos, caule lepidoto, tricoma dentado-lepidotos, raios laterais parcialmente unidos (80%). Folhas levemente discolores, inteiras, cartáceas, estreitamente elípticas a oblongas, ápice agudo a arredondado, base aguda, margem inteira, lâmina 1,0-3,0 cm comprimento, 2,0-4,0 mm de largura, tricomas estrelado; pecíolos de 0,8-2,0 mm de comprimento. Inflorescência em racemos unissexuados, 1,5-3,5 cm de comprimento. Frutos elipsóides com 5,0 mm de comprimento, 3,0 mm de largura; sementes 3,0 mm de comprimento, 2,0 mm largura; testa castanha e lisa.

1.6. *Croton linearifolius* Mull, 1873

Embora a coleção-tipo tenha sido coletada no estado da Bahia, a maioria das amostras da espécie é originária da região sul do Brasil, mais precisamente dos estados do Paraná e Santa Catarina. Nestas regiões ocorrem em áreas de baixa drenagem, como áreas próximas a brejos e em bordas de matas em altitudes médias de 750 metros em relação ao nível do mar (Lima & Pirani, 2008).

C. linearifolius. Foto de Lima, LR

Arbustos de 0,5 a 2,0 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricoma lepidoto-típicos, raios laterais parcialmente unidos (80%). Folhas fortemente discolores, inteiras, cartáceas, lanceoladas, ápice agudo, base aguda, margem inteira, lâmina 1,0-6,0 cm comprimento, 2,0-6,0 mm de largura, tricomas lepidoto-típicos; pecíolos de 1,0-5,0 mm de comprimento. Inflorescência em racemos bissexuados, 1,0-5,5 cm de comprimento. Frutos elipsóides com 4,5 mm de comprimento, 4,0 mm de largura; sementes 4,0 mm comprimento, 2,5 mm largura; testa castanho-alaranjada levemente rugosa.

1.7. *Croton muellerianus* L.R. Lima & Pirani, 2008.

C. muellerianus. Foto de Lima, LR

Endêmica do estado do Paraná ocorre nos municípios de Campina Grande do Sul e Morretes, em áreas de mata de borda, nas encostas de morro e em campos de altitude. Locais com solo areno-pedregoso junto a afloramentos rochosos. Associada a altas altitudes é frequentemente encontrada em altitudes superiores a 1.000 m. Normalmente encontrada em áreas abertas de vegetação baixa e com alta exposição solar (Lima & Pirani, 2008).

Sub-arbustos e arbustos de 0,3 a 3,0 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricoma lepidoto-típicos, raios laterais totalmente unidos. Folhas fortemente discolores, inteiras, coriáceas, elípticas, ovais ou obovais, ápice arredondado a obtuso, base obtusa, margem inteira, lâmina 1,2-3,6 cm comprimento, 0,9-2,3 cm de largura, tricomas lepidotos-típicos; pecíolos de 0,3-1,7 mm de comprimento. Inflorescênciaa em racemos bissexuados, 1,0-2,6 cm de comprimento. Frutos elipsóides com 5,0 mm de comprimento, 4,0 mm de largura; sementes 3,0 mm comprimento, 2,0 mm largura; testa castanho-alaranjada a vinácea, lisa.

1.8. *Croton pallidulus* Baill, 1864

Sub-arbustos e arbustos de 0,3 a 2,5 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricoma estrelado-lepidoto a dentado-lepidoto, raios laterais parcialmente unidos (50 a 70%). Folhas fortemente discolores, inteiras, cartáceas, elípticas a ovais, ápice agudo, base aguda a arredondada, margem inteira, lâmina 1,2-4,5 cm comprimento, 0,5-1,5 cm de largura, tricomas pseudo-lepidotos; pecíolos de 1,5-8,0 mm de comprimento. Inflorescências em racemos bissexuados, 1,5-5,5 cm de comprimento. Frutos elipsóides com 5,0 mm de comprimento, 6,0 mm de largura; sementes 3,0 mm comprimento, 2,0 mm largura; testa castanho-clara a castanho-alaranjada, lisa a levemente rugosa.

1.8.1 *Croton pallidulus* var. *glabrus* L.R. Lima, 2004

O reconhecimento de variedades de *Croton pallidulus* não é recente (Lima & Pirani, 2008). Smith *et al.* (1988) propuseram duas variedades para *C. pallidulus* baseadas principalmente no formato das folhas e no indumento da face adaxial desse órgão. *C. pallidulus* var. *glabrus* caracteriza-se por possuir folhas elípticas a oblongo-ovais, com a face adaxial glabra ou levemente coberta por tricomas estrelados e sésseis (em concentrações bem inferiores quando comparado

C. pallidulus var. *glabrus*. Foto de Lima, LR

a *C. pallidulus* var. *pallidulus*), e com pétalas das flores estaminadas estreitamente elípticas.

Encontrada nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina, prefere áreas de solo arenoso com baixa drenagem como brejos e margens de rio (Lima & Pirani, 2008)

1.8.2. *Croton pallidulus* Baill var. *pallidulus* Smith, 1959

C. pallidulus var. *pallidulus*. Foto de Lima, LR

Conhecido popularmente como “velame-do-campo”, ocorre principalmente nos estados da região sul do Brasil, sendo bastante frequente para o estado do Paraná e com ocorrências para alguns municípios de São Paulo e Minas Gerais. Variedade típica da espécie apresenta face adaxial das folhas tomentosa, tricomas estrelados sésseis a curto-estipitados, e pétalas estaminadas estreitamente oblongas. Pode ser encontrada em diversos habitats como afloramentos rochosos, campo arenoso, cerrado pedregoso, campo sujo,

e em matas de galeria. Importante elemento de mata secundária é considerada espécie invasora sendo pioneira de áreas degradadas. Ocorre preferencialmente em altitudes entre 700 e 2000 m.

1.9. *Croton pseudoalpinus* Croizat, 1944

Endêmica da porção mineira da Serra do Espinhaço ocorre em pequenas populações em solo arenoso e junto a gramíneas associadas à borda de matas ciliares. Pode ser encontrada em campos rupestres, sendo que na maioria das vezes ocorre em altitudes superiores a 1.000 m (Lima & Pirani, 2008).

Sub-arbustos e arbustos de 0,5 a 1,7 m de altura, monóicos, caule lepidoto, tricomas estrelados-lepidoto, raios laterais parcialmente unidos (40-50%). Folhas discolores, inteiras, cartáceas, elípticas a ovais, ápice agudo a arredondado, base obtusa a reta, margem inteira, lâmina 0,8-3,7 cm comprimento, 0,6-2,5 cm de largura, tricomas estrelados-lepidotos; pecíolos de 2,5-10,0 mm de comprimento. Inflorescências em racemos bissexuados, 1,5-4,5 cm de comprimento.

C. pseudoadipatus. Foto de Lima, LR

Frutos elipsóides com 6,0-8,0 mm de comprimento, 6,0-10,0 mm de largura; sementes 3,0-4,5 mm de comprimento, 2,0 mm largura; testa castanho-alaranjada, lisa a levemente rugosa. Pode ser distinguida das demais espécies de *Croton* seção *Lamprocroton* por apresentar os ramos com indumento cuja coloração varia de dourado a ferrugínea.

2. LOCAIS DE COLETA DAS ESPÉCIES DO ESTUDO.

Figura 14. Locais de coleta das espécies de *Croton* seção *Lamprocroton* utilizados no estudo. Cct: *C. catamarcensis*, Cce: *C. ceanothifolius*, Cer: *C. ericoides*, Ces: *C. eskucheii*, Cdu: *C. dusennii*, Cli: *C. linearifolius*, Cmu: *C. muellerianus*, Cpg: *C. pallidulus* var. *glabrus*, Cpp: *pallidulus* var. *pallidulus*, Cps: *C. pseudoadipatus*.

3. ANÁLISES QUÍMICAS

3.1. OBTENÇÃO DE EXTRATOS E ANÁLISE DE ÓLEOS VOLÁTEIS

3.1.1. Extração do Óleo Volátil

Os óleos voláteis foram obtidos a partir de 2 g de material seco (folhas ou caule) pulverizados com auxílio de nitrogênio líquido. O pó resultante foi colocado em balão de extração de 125 mL e acrescido de 50 mL de água destilada. O sistema foi colocado para destilação em extrator de Clevenger a uma temperatura de aproximadamente 250°C por 4 horas. O óleo obtido foi recolhido com 1 mL de éter etílico, acondicionado em tubos eppendorff e armazenados em freezer a -20°C.

3.1.2. Cromatografia Gasosa

Para a análise cromatográfica foi utilizado o cromatógrafo Agilent 6850 acoplado a espectrômetro de massas Agilent 5975C. Foi utilizada a coluna capilar HP-5MS (Agilent 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), empregando-se hélio como gás de arraste em um fluxo de 1 mL.min⁻¹. A temperatura inicial da coluna foi de 80°C e obedeceu a seguinte programação: 1 minuto constante em 80°C; elevação de 6°C.min⁻¹ até 100°C, elevação de 3°C.min⁻¹ até 200°C; elevação de 15°C.min⁻¹ até 250°C; 1 minuto constante à 250°C. O tempo total de corrida foi de 42 min. A razão de split foi 50:1 e o volume injetado de 1 µL. A temperatura da fonte foi de 230°C e do quadrupólo de 150°C, voltagem da eletromultiplicadora eV=70.

3.1.3. Índice de Retenção Linear

Com a análise cromatográfica foram obtidos os tempos de retenção (TR) para cada componente de óleo volátil nas amostras de folha e caule. Outra análise cromatográfica foi realizada em uma mistura de alcanos C₉ a C₂₁ (diluída em éter), tendo por objetivo a obtenção dos TR para estes alcanos. Com estes dados foram calculados os Índices de Retenção Linear (IRL) para cada composto obtido. O IRL de um composto é obtido por interpolação, relacionando o tempo de retenção do composto com o tempo de retenção de dois padrões (geralmente hidrocarbonetos) eluídos antes e após o pico do composto de interesse (Viegas, 2007). O valor do IRL do composto foi calculado conforme a seguinte equação:

$$IRL_A = (TR_A - TR_N) \times 100 / (TR_{N+1} - TR_N) + N$$

Onde IRL_A é o índice de retenção linear do composto A; TR_A, o tempo de retenção do composto A; TR_N, tempo de retenção do alcano anterior; TR_{N+1}, tempo de retenção do alcano posterior; e N, o número de carbonos do hidrocarboneto anterior.

3.1.4. Identificação dos compostos voláteis

A identificação dos componentes foi feita por comparação dos espectros de massas das amostras com o banco de dados disponíveis na biblioteca NIST 2.0 e aos Índices de Retenção Linear, tanto os calculados como os disponíveis em Adams (2007).

3.2. OBTENÇÃO DE EXTRATOS E ANÁLISE DE DITERPENOS, TRITERPENOS E ESTERÓIDES

3.2.1. Extração.

O extrato foi obtido a partir de 2 g de material seco (folhas ou caule) pulverizados com auxílio de nitrogênio líquido. O pó resultante foi colocado em balão de extração de 125 mL, acrescido de 50 mL de metanol a 80%. O sistema foi colocado em refluxo por 1 hora, a uma temperatura aproximada de 180°C, em uma chapa de aquecimento. Depois deste período o sobrenadante foi filtrado para um novo recipiente e o resíduo submetido ao mesmo processo de extração por mais duas vezes totalizando 150 mL. Foi realizada a redução do solvente com auxílio de rotaevaporador sob pressão reduzida. O extrato resultante, foi acondicionado em vidros de 30 mL e armazenados em geladeira 5°C.

3.2.2. Cromatografia Gasosa

Para a análise cromatográfica foi utilizado o cromatógrafo Agilent 6850 acoplado a espectômetro de massas Agilent 5975C. Foi utilizada a coluna capilar HP-5MS (Agilent 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), empregando-se hélio como gás de arraste em um fluxo de 1 mL.min⁻¹. A temperatura inicial da coluna foi de 100°C e obedeceu a seguinte programação: 1 minuto constante em 100 °C ; elevação de 6°C.min⁻¹ até 320°C; 2 minutos constantes à 320°C. O tempo total de corrida foi de 39,67 min. A razão de split foi 10:1 e o volume injetado de 1µL.

3.2.3. Identificação dos terpenos

A identificação dos componentes foi feita por comparação dos espectros de massas das amostras com o banco de dados disponíveis na biblioteca NIST 2.0. Além disso, a análise dos espectros de massas, contou com a colaboração da Profa. Dra. Giuseppina Negri CEBRID/EPM/SP/UNIFESP.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. ÓLEOS VOLÁTEIS

Na análise dos óleos voláteis foram obtidos 45 compostos distintos. Destes, apenas o composto com IRL=1728 não teve sua identidade química elucidada. Relatado como NI, foi detectado em 70% das espécies analisadas. Dos 44 compostos identificados, nove são monoterpenos não oxigenados, cinco, monoterpenos oxigenados, 16 são sesquiterpenos não oxigenados e 14 sesquiterpenos oxigenados. Não foram detectados fenilpropanóides (Tabela 04).

Foi observada uma clara correlação entre o tempo de retenção e o IRL. Isso já era esperado, devido ao aumento da massa molecular, aumento da complexidade estrutural dos compostos e do aumento da polaridade devido à oxigenação. Monoterpenos não oxigenados ficaram restritos ao intervalo entre 2,04 e 3,25 minutos, com o IRL calculado entre 925 (α -tujeno) e 1087 (terpinoleno). Os monoterpenos oxigenados ocuparam a faixa entre 2,70 e 4,58 minutos, com IRL entre 1027 (1,8-cineol) e 1193 (mirtenal). Sesquiterpenos não oxigenados foram observados na faixa entre 8,14 a 14,08 minutos, sendo os IRL calculados entre a faixa de 1344 (copaeno) a 1575 (isômero de viridifloreno). Finalmente os sesquiterpenos oxigenados ocuparam a faixa entre 11,86 a 17,24 minutos, com IRL calculado entre 1505 (isômero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol) e 1674 (α -bisabolol) (Figuras 15 e 16).

A alta variedade de compostos identificados (44 no total), pode ser explicada pela grande diversidade química de *Croton* (Salatino *et al.*, 2007), associada a variações da composição química significativas decorrentes da variação ambiental e das diferenças genéticas das espécies e das populações (Compagnone *et al.*, 2010). A espécie que apresentou a maior variedade foi *C. pallidulus* var *glabrus*, com 19 compostos distintos identificados. *C. dusenii* com 18 e *C. muellerianus* com 17 compostos identificados também apresentaram alta diversidade (Figura 17). Apenas dois compostos apresentaram ocorrência restrita para óleo volátil de caule, sendo α -gurjuneno para *C. eskucheii* e o isômero de viridifloreno detectado para *C. dusenii*. Outras espécies de *Croton* também foram descritas com alta diversidade de compostos identificados no óleo volátil foliar, como: *C. cuneatus* com 43 compostos distintos identificados, *C. malambo* com 36 (Suarez *et al.*, 2004), *C. oligandrum* com 63 (Agnaniet *et al.*, 2005), *C. sellowii* com 42 (Dias *et al.*, 2006), *C. flavens* com 47 (Sylvestre *et al.*, 2006), *C. urucurana* com 82 (Simionatto *et al.*, 2007), *C. palanostigma* com 33 (Brasil *et al.*, 2009), *C. micans*, com 56 e *C. matourensis* com 46 compostos (Compagnone *et al.*, 2010).

Tabela 04. Monoterpenos e sesquiterpenos identificados no óleo volátil das espécies de *Croton* (Euphorbiaceae) analisadas

	Substância	IRL	TR (min)	Ocorrência em	
				Folha	Caule
Monoterpenos não oxigenados					
1	α -Tujeno	925	2,03	X	
2	α -Pineno	934	2,08	X	X
3	β -Pineno	979	2,32	X	X
4	Mirceno	988	2,37	X	X
5	α -Terpineno	1016	2,58	X	
6	o-Cimeno	1022	2,64	X	X
7	γ -Terpineno	1055	2,94	X	
8	β -Ocimeno	1063	3,01	X	X
9	Terpinoleno	1087	3,23	X	
Monoterpenos oxigenados					
10	1,8-cineol	1027	2,69	X	X
11	Linalol	1098	3,33	X	X
12	Terpinen-4-ol	1173	4,32	X	X
13	α -Terpineol	1188	4,51	X	X
14	Mirtenal	1193	4,58	X	X
Sesquiterpenos não oxigenados					
15	Copaeno	1369	8,14	X	X
16	β -Bourboneno	1377	8,34	X	
17	β -Elemeno	1389	8,56	X	X
18	α -Gurjuneno	1409	8,68		X
19	Cariofileno (Z)	1411	9,17	X	X
20	β -Gurjuneno	1422	9,59	X	
21	α -Cariofileno	1442	10,09	X	
22	γ -Muuroleno	1467	10,82	X	X
23	Germacreno D	1470	10,89	X	X
24	γ -Gurjuneno	1484	11,29	X	X
25	Ledeno	1485	11,32	X	
26	Elixeno	1492	11,54	X	X
27	Germacreno A	1508	11,99	X	
28	δ -Cadineno	1515	12,19	X	X
29	α -Cadineno	1530	12,67	X	
30	β -Calacoreno	1568	13,96	X	
31	NI	1728	17,06	X	X
Sesquiterpenos oxigenados					
32	Isomero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol	1505	11,90	X	X
33	Elemol	1542	13,04	X	
34	Isomero de δ -Guaieno	1547	13,21	X	
35	Espatuleno	1562	13,67	X	X
36	Trans-nerolidol	1566	13,78	X	X
37	Cariofileno oxido	1566	13,80	X	
38	Ledol	1575	13,86	X	
39	Tau-Cadinol	1607	15,08	X	
40	Cadin-4-en-7-ol	1627	15,71	X	X
41	Allo-Aromadendreno epoxi	1636	16,01	X	
42	Tau-Muurolol	1639	16,11	X	
43	α -Cadinol	1652	16,13	X	
44	Valeranona	1668	17,06	X	X
45	α -Bisabolol	1674	17,18	X	X

Figura 15. Cromatograma do óleo volátil foliar de *C. pallidulus* var. *glabrus* com destaque para os intervalos de tempo de retenção para a ocorrência de monoterpenos não oxigenados, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados.

Figura 16. Cromatograma do óleo volátil de caule de *C. ceanothifolius* com destaque para os intervalos de tempo de retenção para a ocorrência de monoterpenos não oxigenados, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos oxigenados.

Todas as espécies apresentaram maior diversidade de substâncias no óleo volátil foliar quando comparada a composição do óleo volátil obtido do caule. A única exceção foi *C. pallidulus* var. *pallidulus* onde o número de compostos do óleo volátil foliar foi igual ao do óleo volátil de caule (Figura 17).

Figura 17. Número de compostos detectados nos óleos voláteis foliares e de caule das espécies analisadas agrupados como monoterpenos não oxigenados (Mono), monoterpenos oxigenados (Mono Ox), sesquiterpenos não oxigenados (Sesqui) e sesquiterpenos oxigenados (Sesqui Ox). F para folha, C para caule. Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cdu (*C. dusenii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*), Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Cps (*C. pseudoadipatus*).

Com a análise do número de compostos por espécie, podemos sugerir a presença de dois grupos bastante distintos (Figura 17). Um primeiro grupo apresenta predomínio de sesquiterpenos e é constituído por *C. ceanothifolius*, *C. eskucheii*, *C. pallidulus* var. *pallidulus*, *C. pallidulus* var. *pallidulus*, *C. pseudoadipatus* e *C. catamarcensis*. Entre essas espécies, *C. ceanothifolius* e *C. catamarcensis* apresentaram apenas sesquiterpenos nos óleos voláteis foliares. Já o segundo grupo possui predomínio de monoterpenos e é constituído por *C. dusenii*, *C. ericoides*, *C. linearifolius* e *C. muellerianus* (Figura 17). Em *C. dusenii* e *C. muellerianus* foi observada a ausência de sesquiterpenos não oxigenados, característica ímpar em relação às espécies analisadas.

Podemos sugerir alguma correlação entre as regiões de coleta e a composição dos óleos voláteis. As espécies com predomínio de monoterpenos tiveram ocorrência restrita à região sul do Brasil,

enquanto as espécies com predomínio de sesquiterpenos ocorreram para a região Norte da Argentina e para a região Sudeste do Brasil, nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

A análise de distribuição dos componentes dos óleos voláteis nas espécies demonstrou uma alta taxa de compostos restritos e exclusivos para as espécies em estudo. Estas denominações foram utilizadas apenas para a análise neste estudo, sendo compostos restritos aqueles com ocorrência em até duas espécies e compostos exclusivos, aqueles com ocorrência em apenas uma. No óleo volátil foliar, dos 44 compostos identificados, 23 (51,1% do total identificado) foram considerados restritos e destes, 13 (28,9% do total) foram exclusivos. As duas espécies com o maior número de compostos identificados, *C. pallidulus* var. *glabrus* e *C. dusenii* apresentaram apenas dois compostos exclusivos (Tabela 05).

A análise do óleo volátil foliar de *C. catamarcensis* (Tabela 05) constatou o maior índice de compostos exclusivos, sendo que dos 13 compostos identificados, cinco foram exclusivos (38,5%) (γ -gurguneno (**24**), germacreno-A e o isômero de σ -guaieno, trans-nerolidol e valeranona). Além disso, apresentou as maiores taxas de compostos oxigenados com 65,1% do total identificado, sendo que 43,3% são correspondentes ao espatulenol (**35**). Outro composto majoritário foi o sesquiterpeno não oxigenado germacreno-D, com 15,7%. Não foram detectados monoterpenos nesta espécie.

24 – γ -Gurjuneno

35 – Espatulenol

C. ceanothifolius, apresentou 10 compostos sendo um de ocorrência exclusiva, o α -bisabolol. Nessa espécie foram detectados somente sesquiterpenos, sendo que 49,95% do total ao α -bisabolol (**45**), composto amplamente empregado pela indústria farmacológica e cosmética, com atividades antibacteriana, anti-micótica, anti-alérgica e anti-inflamatória (Gomes-Carneiro *et al.*, 2005), 10,15% de cariofileno (**19**) e 8,5% de germacreno-D (**23**).

19 - Cariofileno

23 – Germacreno-D

45 – α -Bisabolol

Tabela 05. Abundância relativa de monoterpenos e sesquiterpenos identificados no óleo volátil foliar das espécies de *Croton* analisadas: Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cdu (*C. dusenii*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*), Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Cps (*C. pseudoadipatus*).

Substância*	Espécies									
	Cct	Cce	Cdu	Cer	Ces	Cli	Cmu	Cpg	Cpp	Cps
Monoterpenos não-oxigenados										
1 α -Tujeno				2,73						
2 α -Pino			2,84	15,0		28,1	3,19	4,24	11,61	1,56
3 β -Pino				41,8	2,63		6,29	1,00	4,16	3,43
4 Mirceno									5,69	4,49
5 α -Terpineno			1,12	3,12						
6 o-Cimeno			3,11			15,7	11,5			2,72
7 γ -Terpineno			2,21	4,10			7,95			
8 β -Ocimeno			1,36							
9 Terpinoleno			1,54				3,59			
Monoterpenos oxigenados										
10 1,8-cineol			16,4	24,1		26,9	23,9			
11 Linalol			18,2							
12 Terpinen-4-ol			3,16				1,30			
13 α -Terpineol			4,19	6,47			1,27			
14 Mirtanal			1,28				1,89			
Sesquiterpenos não-oxigenados										
15 Copaeno		1,49						3,83		
16 β -Bourboneno		2,83						1,93		
17 β -Elemeno	1,42	3,07	3,07		2,05		2,10		12,01	1,29
19 Cariofileno (Z)	2,35	10,1	1,20		23,1		10,5	2,96	9,21	3,80
20 β -Gurjuneno					11,2					
21 α -Cariofileno		1,15			2,97		1,56	1,14		1,30
22 γ -Muuroleno					1,21			5,97		
23 Germacreno D	15,7	8,52			5,73		12,8	14,8	11,33	21,4
24 γ -Gurjuneno	5,21									
25 Ledeno										14,5
26 Elixeno		7,08	15,9		14,6		4,0	7,45	18,41	
27 Germacreno A	5,42									
28 δ -Cadineno					2,16			7,05		2,39
29 α -Cadineno								2,70		
30 β -Calacoreno	1,14				2,90			1,13		
31 NI		1,26	1,2		1,95			4,87		
Sesquiterpenos oxigenados										
32 Isomero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol				1,2	1,84	25,2		3,41	23,6	3,0
33 Elemol	2,77							1,67		5,52
34 Isomero de δ -Guaieno	4,31									
35 Espatuleno	43,3	3,16	6,90		8,57		1,58	3,96		7,48
36 Trans-nerolidol	1,78									
37 Cariofileno oxido					5,80		1,17			
38 Ledol			4,47		1,52					4,76
39 Tau-Cadinol					3,96			3,65		1,46
40 Cadin-4-en-7-ol	4,03	2,79								8,98
41 Allo-Aromadendreno epoxi	4,64							1,40		
42 Tau-Muurolol					3,81					1,19
43 α -Cadinol								1,62		
44 Valeranona	4,25									
45 α -Bisabolol		49,9								

* Os números das substâncias correspondem àqueles da Tabela 04.

C. pallidulus é a espécie taxonomicamente mais próxima à *C. ceanothifolius* (Lima & Pirani, 2008). A espécie também apresentou predominância de sesquiterpenos, porém diferentemente do que foi observado em *C. ceanothifolius*, as variedades de *C. pallidulus* apresentaram concentrações de sesquiterpenos oxigenados inferiores às de sesquiterpenos não oxigenados.

Espécie de maior diversidade de compostos, o óleo volátil foliar de *Croton pallidulus* var. *glabrus*, apresentou 19 compostos distintos, sendo seis com ocorrência restrita e dois exclusivos (α -cadineno e α -cadinol). Com alta predominância de sesquiterpenos (91,3% dos compostos identificados), é especialmente rico em germacreno-D (14,85%), composto de atividade antibacteriana e insetífuga (Deuschle *et al.*, 2007; Francescato *et al.*, 2007).

C. pallidulus var. *pallidulus* apresentou óleo volátil foliar com apenas oito compostos identificados. Mesmo com predominância de sesquiterpenos (78,4%), apresentou o monoterpene não oxigenado α -pineno (**2**) como composto majoritário com 11,6% do total identificado (Tabela 05).

Embora tenham apresentado dominância de sesquiterpenos, não podemos traçar um padrão para a espécie, principalmente devido a discrepância em relação ao número de compostos obtidos: 19 para *C. pallidulus* var. *glabrus* e apenas oito para *C. pallidulus* var. *pallidulus*. Podemos apenas apontar similaridade quanto à concentração de sesquiterpenos não oxigenados (cerca de 54% do total identificado) e de sesquiterpenos oxigenados (aproximadamente 24%).

A análise do óleo volátil foliar de *C. pseudoadipatus* apresentou 16 compostos distintos, sendo quatro monoterpenos não oxigenados, seis sesquiterpenos não oxigenados e seis sesquiterpenos oxigenados. Predomínio de sesquiterpenos com 77,1% dos compostos identificados, sendo 32,4% correspondentes a sesquiterpenos oxigenados. Os compostos majoritários foram germacreno-D (21,4%), ledeno (**25**) (14,5%), cadin-4-en-7-ol (**40**) (9,0%) e espatulenol (7,5%). Foram observados nove monoterpenos (todos não oxigenados), correspondendo a 12,2% do total identificado, sendo que mirceno (4,5%) e β -pineno (3,4%) foram os mais abundantes.

25 - Ledeno

40 -Cadin-4-en-7-ol

Das espécies que apresentaram óleo volátil foliar com monoterpenos majoritários, a análise do óleo volátil foliar de *C. ericoides* mostrou nove compostos que tiveram suas identidades elucidadas. Os compostos majoritários foram β -pineno (**3**) (41,76%), 1,8-cineol (**10**) (24,15%) e α -pineno (**2**) (15,07%), compostos com atividades biológicas e farmacológicas reconhecidas.

C. dusenii apresentou o maior equilíbrio entre as concentrações dos compostos, com ligeiro predomínio de monoterpenos com 55,3% do total identificado, sendo 43,2% do total correspondentes à monoterpenos oxigenados. Junto com *C. catamarcensis* foram as únicas espécies a apresentar concentração de compostos oxigenados maior que a concentração de compostos não oxigenados. Um ponto importante para futuras análises foram as altas taxas de linalol (**11**) (18,8%), 1,8-cineol (**10**) (16,9%), e espatulenol (7,1%).

Tabela 06. Abundância relativa de monoterpenos e sesquiterpenos identificados no óleo volátil de caule das espécies de *Croton* (Euphorbiaceae) analisadas: Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cdu (*C. dusenii*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*), Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*).

Substância*	Espécies							
	Cct	Cce	Cdu	Cer	Ces	Cmu	Cpg	Cpp
Monoterpenos não-oxigenados								
2 α-Pineno				38,62			13,77	13,61
3 β-Pineno				10,08	2,35		4,29	4,36
4 Mirceno								7,54
6 o-Cimeno			2,23				7,16	
8 β-Ocimeno			1,77					
Monoterpenos oxigenados								
10 1,8-Cineol			17,11	17,52				
11 Linalol			24,37					
12 Terpinen-4-ol			5,00			12,27		
13 α-Terpineol	23,94		2,86	5,00		29,87		
14 Mirtenal			1,49					
Sesquiterpenos não-oxigenados								
15 Copaeno							3,47	
17 β-Elemeno								9,28
18 α-Gurjuneno					5,79			
19 Cariofileno		1,79			14,06			7,83
22 γ-Muroleno					3,33		4,33	
23 Germacreno D					12,63		17,77	8,06
24 γ-Gurjuneno					2,17			
25 Elixeno		1,4	3,24				10,52	16,92
28 δ-Cadineno					2,25		7,31	
31 NI	68,18	61,00	11,67		11,82		20,53	
Sesquiterpenos oxigenados								
32 Isomero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol	2,32	2,44		27,77	3,61	57,86	4,86	32,00
35 Espatuleno	2,50	4,52	14,86		5,28			
36 Trans-nerolidol		1,67						
40 Cadin-4-en-7-ol			2,56		3,73			
44 Valeranona	2,50							
45 α-Bisabolol		22,65						

* Os números das substâncias correspondem àqueles da Tabela 04.

Foram detectados 26 compostos nos óleos voláteis de caule das espécies de *Croton* analisadas (Tabela 06). Destes, apenas o composto de IRL=1728 (mesmo da amostragem foliar) não teve sua identidade química elucidada. Dos 25 compostos identificados, cinco foram classificados como monoterpenos não oxigenados, cinco como monoterpenos oxigenados, nove sesquiterpenos não oxigenados e seis sesquiterpenos oxigenados (Tabela 06).

Todas as espécies analisadas apresentaram óleo volátil de caule mais pobre em número de compostos que o óleo volátil foliar, exceto *C. pallidulus* var. *pallidulus* que apresentou oito compostos detectados em ambos os extratos. Em relação ao número de compostos, a redução foi em média de 45,5%. Alguns óleos voláteis foram especialmente pobres, como *C. ericoides* com cinco compostos, *C. catamarcensis* com quatro e *C. muellerianus* com três (Figura 17, Tabela 06).

No óleo volátil de caule, foi observada uma taxa ainda maior de compostos restritos. Dos 25 compostos identificados 18 (69,2%) foram restritos, sendo que 12 (46,1%) foram exclusivos. A espécie com maior número de compostos identificados para óleo volátil de caule, *C. dusenii* apresentou quatro compostos exclusivos (33,3% do total identificado para a espécie). As demais espécies que apresentaram compostos exclusivos foram: *C. ceanothifolius*, *C. eskucheii* e *C. pallidulus* var. *pallidulus* (com dois compostos cada) e *C. catamarcensis*, *C. pallidulus* var. *glabrus* (com um composto cada) (Tabela 06).

Os compostos obtidos com importância devido à distribuição e às altas concentrações foram: α -pineno, β -pineno e o isômero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol (**32**) (Tabela 06). O último por sinal foi o único sesquiterpeno oxigenado identificado para a metade das espécies. Em relação à relevância biológica e farmacológica, foram observados os mesmos compostos oxigenados obtidos na amostragem foliar (α -pineno 1,8-cineol, linalol e o α -bisabolol) (Tabela 06).

32 - 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol

A ocorrência e as concentrações dos compostos observados se apresentaram bastante variáveis (Tabelas 05 e 06) tendo ocorrido em alguns casos, em concentrações superiores a 40% (p.ex. α -bisabolol em *C. ceanothifolius* com 49,9%; e espatulenol em *C. catamarcensis* com 43,3%).

Em *C. muellerianus* e *C. catamarcensis* a amostragem do óleo volátil de caule se apresentou extremamente pobre em número de compostos, quando comparado com o óleo volátil foliar. Em *C.*

muellerianus o número de compostos caiu de 17 compostos da amostragem foliar para três de caule, enquanto que *C. catamarcensis* caiu de 13 em folha para quatro em caule (Tabela 06).

Em *C. ceanothifolius*, a análise do óleo volátil de caule, apresentou doze compostos (Tabela 06). Novamente o α -bisabolol (**45**) ganha posto de destaque, por sua importância biológica e farmacológica e por sua predominância, correspondendo a 22,6% do total do óleo volátil (60% do total identificado).

As variedades de *C. pallidulus* (*C. pallidulus* var. *glabrus* e *C. pallidulus* var. *pallidulus*) apresentaram óleo volátil de caule com grande similaridade principalmente devido às concentrações de α -pineno (**2**) (13,77% e 13,61% do total, respectivamente) e β -pineno (**3**) (4,29% e 4,36% do total). As duas variedades ainda apresentaram boas taxas de germacreno-D (17,7% e 8,1% do total).

O óleo volátil do caule de *C. eskucheii*, se mostrou especialmente rico em cariofileno (25,5% do total detectado) e germacreno-D (22,9%) (Tabela 06), compostos com atividades biológicas bastante estudadas e elucidadas.

Figura 18. Comparação entre a porcentagem relativa das classes de compostos presentes nos óleos voláteis de folhas e caules nas espécies de *Croton* analisadas. Mono: monoterpenos não oxigenados, Mono Ox: monoterpenos oxigenados, Sesqui: sesquiterpenos não oxigenados e Sesqui Ox: sesquiterpenos oxigenados (Sesqui Ox). F: Folha, C: Caule. Cct: *C. catamarcensis*, Cce: *C. ceanothifolius*, Cer: *C. ericoides*, Ces: *C. eskucheii*, Cdu: *C. dusenii*, Cli: *C. linearifolius*, Cmu: *C. muellerianus*, Cpg: *C. pallidulus* var. *glabrus*, Cpp: *C. pallidulus* var. *pallidulus* e Cps: *C. pseudoalpinus*.

Em relação às espécies com monoterpenos predominantes, duas espécies se apresentaram especialmente ricas em compostos com alta atividade biológica. *C. ericoides* com altas taxas de α -

pineno **(2)** (38,6% do total identificado), 1,8-cineol **(10)** (17,5%) e β -pineno **(3)** (10,1%) em *C. dusenii*, com linalol **(11)** (24,4%), 1,8-cineol (17,1%) e espatulenol **(35)** (14,9%) (Tabela 06).

De maneira geral, as espécies que tiveram predomínio de uma classe de compostos em relação a outra com relação a diversidade de substâncias, ou seja, predomínio de sesquiterpenos em relação aos monoterpenos ou vice-versa, apresentaram a mesma razão quando analisadas em termos de porcentagem relativa (Figuras 17 e 18).

A caracterização química tanto de composição como de concentração de compostos voláteis podem variar bastante dependendo do tecido analisado (Tininis *et al.*, 2006; Socorro *et al.*, 2007). Em termos gerais o óleo volátil foliar apresentou maiores concentrações e diversidade de compostos. Este fato pode ser explicado devido à maior exposição à luz solar pelo tecido foliar e sua maior taxa de biossíntese oxidativa (Tininis *et al.*, 2006). O caule possui proteção física conferida pela presença de súber, não sendo tão essencial a alocação de recursos de atividade antioxidante e de defesa anti-herbivoria para este tecido. Isso acaba explicando tanto as baixas concentrações de óleo volátil no tecido caulinar, como a queda na diversidade de compostos. Nas espécies analisadas, 50% apresentaram apenas um sesquiterpeno oxidado, o isômero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-2H-naftalen-4-ol **(32)**, composto majoritário no óleo volátil de *C. urucurana* e que não apresenta atividade antioxidante (Simionatto *et al.*, 2007).

O gênero *Croton* se apresenta bastante heterogêneo em relação aos óleos voláteis. Em revisão bibliográfica Salatino *et al.* (2007) subdividiram as espécies em dois grupos: as que apresentam fenilpropanóides e terpenóides e as que possuem unicamente terpenóides. Nenhuma das espécies analisadas neste trabalho apresentou fenilpropanóides. Sendo assim, seriam incluídas no segundo grupo. A presença de óleos voláteis compostos majoritariamente por sesquiterpenos e a ausência de fenilpropanóides, foram observados em outras espécies de *Croton*: *C. oligandrum* (Agnaniet *et al.*, 2005), *C. selowii* (Dias *et al.*, 2006), *C. cajucara* (Souza *et al.*, 2006) e *C. urucurana* (Simionatto *et al.*, 2007).

As espécies analisadas se apresentaram ricas em compostos com atividades biológicas e farmacológicas comprovadas, podendo ser utilizadas em trabalhos futuros de desenvolvimentos de insumos e ativos para fármacos e cosméticos. Compostos oxigenados são particularmente interessantes do ponto de vista da atividade biológica e farmacológica. Nas espécies analisadas foram obtidos cinco monoterpenos oxigenados e 18 sesquiterpenos oxigenados (Tabela 05).

O 1,8-cineol **(10)** e o linalol **(11)** são compostos freqüentes em *Croton* (Salatino *et al.* 2007). Também conhecido por eucaliptol, o cineol apresenta atividade anti-inflamatória, antinociceptiva (Amaral *et al.*, 2004) e dilatadora dos brônquios, sendo utilizado no tratamento de asma, bronquite, sinusite e rinite. Esta substância já foi descrita em *C. sonderianus* (Amaral *et al.*, 2004), *C. oligandrum* (Agnaniet *et al.*, 2006), *C. zehntneri*, *C. nepetaefolius*, *C. argyrophyloides* (Lima *et al.*, 2006; Moraes,

2006), *C. urucurana* (Simionatto *et al.*, 2007), *C. palanostigma* (Brasil *et al.*, 2009) e *C. zambesicus* (Usman *et al.*, 2009) sendo componente majoritário para *C. oligandrum* e *C. sonderianus*. Nas espécies estudadas o cineol foi detectado em altas concentrações em folhas de *C. ericoides* (24,15% do total identificado), *C. dusenii* (16,4%), *C. linearifolius* (26,87%) e *C. muellerianus* (23,87%) (Tabela 05).

O linalol (**11**), bastante utilizado na indústria cosmética e de perfumes como fixador de fragrâncias possui atividades larvícida (Sylvestre *et al.*, 2006), anti-leishmania (Rosa *et al.*, 2003), anticonvulsiva (Elizabetzki *et al.*, 1995), sedativa (Elizabetzki *et al.*, 1995; Linck *et al.*, 2009) e antinociceptiva (Blank *et al.*, 2007). Em *C. palanostigma* representa 25,4% do óleo volátil foliar (Socorro *et al.*, 2007) e em *C. oligandrum* 53,3% do óleo foliar (Agnaniet *et al.*, 2006). Também já foi detectado em *C. urucurana* (Simionatto *et al.*, 2007) e *C. cajucara* (Rosa *et al.*, 2003). Para as espécies estudadas o óleo volátil das folhas de *C. dusenii* se apresentou especialmente rico em linalol com 18,2% do total identificado (Tabela 05).

O isômero de 1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol (**32**) foi detectado em todas as espécies analisadas, tanto em folha (Tabela 05) como em caule (Tabela 06). É um dos principais constituintes do óleo volátil de *C. urucurana*, planta conhecida por suas atividades anticâncer, antiulcerogênica, antidiarréica, anti-inflamatória e antirreumática (Simionatto *et al.*, 2007). Nas espécies analisadas, as maiores concentrações foram encontradas no óleo volátil foliar de *C. linearifolius* (29,24% do total identificado) e *C. pallidulus* var. *pallidulus* (27,58%).

O espatulenol (**35**) é um sesquiterpeno oxigenado bastante abundante entre as Angiospermas, sendo majoritário em outras famílias como Myrtaceae (Apel *et al.*, 2006), Lamiaceae (Martins *et al.*, 2006; Karaman *et al.*, 2007; Ziaei *et al.*, 2010), Poaceae (Hess *et al.*, 2007) e Asteraceae (Mendes *et al.* 2010). Possui atividades biológicas e farmacológicas, como imunomoduladora (Ziaei *et al.*, 2010) e antibacteriana (Limberger *et al.*, 2004; Alcantara *et al.*, 2010). Em *Croton* já foi detectado em *C. matourensis* (Compagnone *et al.*, 2010), *C. zambesicus* (Usman *et al.*, 2009), *C. palanostigma* (Brasil *et al.*, 2009), *C. urucurana* (Simionatto *et al.*, 2007) *C. argyrophylloides* (Lima *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2006), *C. sonderianus* (Lima *et al.*, 2006) e *C. oligandrum* (Agnaniet *et al.*, 2006). O espatulenol foi detectado no óleo volátil foliar de 70% das espécies estudadas, com destaque para *C. catamarcensis*, com 43,3% do total identificado (Tabela 05). Já em óleo volátil do caule, ocorreu em quatro espécies, com destaque para *C. dusenii*, com 14,9% do total identificado (Tabela 06).

O α -bisabolol (**45**) (levomenol) é um sesquiterpeno alcoólico monocíclico, insaturado e opticamente ativo. As principais fontes naturais são os óleos voláteis de cabreúva (*Myrocarpus fastigiatus*), camomila (*Matricaria recutita*) e a candeia (*Vanillosmopsis erythropappa*). Amplamente empregado pela indústria farmacológica e cosmética é utilizado principalmente em sabonetes, xampus e cremes corporais, apresentando atividade antibacteriana, anti-micótica, anti-alérgica e anti-inflamatória (Vila *et*

al., 2010). Em *Croton*, o α -bisabolol foi encontrado em altas concentrações no óleo volátil de caule em *C. urucurana* (Simionatto *et al.*, 2007) e de *C. eluteria* (Hagedorn & Brown, 1991). Nas espécies em estudo, ocorreu exclusivamente e de forma majoritária em *C. ceanothifolius* com 49,95% do total identificado no óleo volátil foliar (Tabela 05) e 22,65% do identificado em óleo volátil de caule (Tabela 06).

Em relação aos compostos não oxigenados, alguns possuem atividades biológicas bem elucidadas, como o pineno, de ação larvicida e inseticida (Lima *et al.*, 2006) e o o-cimeno (**6**) de ação repelente e inseticida (Tavares, 2009). Em *Croton* já foram observados em *C. oligandrum* (Agnaniet *et al.*, 2006), *C. argyrophyloides*, *C. nepetaefolius*, *C. zehntneri* (Lima *et al.*, 2006; Morais *et al.*, 2006), *C. palanostigma* (Socorro *et al.*, 2007) e *C. zambesicus* (Usman *et al.*, 2009). Em *C. palanostigma*, o pineno é majoritário, correspondendo a 41,6% do óleo volátil de caule. O o-cimeno ocorre também em *C. flavens* (Sylvestre *et al.*, 2006) e *C. regelianus* (Torres *et al.*, 2008). Nas espécies em estudo foram os compostos majoritários no óleo volátil foliar *C. ericoides* (15,0% de α -pineno (**2**) e 41,7% de β -pineno (**3**) do total de compostos identificados), *C. linearifolius* (28,1% de α -pineno), *C. pseudoadipatus* (11,61% de α -pineno) e *C. muellerianus* (6,3% de β -pineno) (Tabela 05). No óleo volátil do caule, as porcentagens de α -pineno e β -pineno foram especialmente altas em *C. ericoides* (38,6% e 10,0% do total identificado, respectivamente), *C. pallidulus* var. *glabrus* (13,8% e 4,3% respectivamente) e *C. pallidulus* var. *pallidulus* (13,6% e 4,4%). Foram observadas altas taxas de o-cimeno em óleo volátil foliar de *C. linearifolius* (15,7% do total identificado) e *C. muellerianus* (11,5%) (Tabela 06).

O cariofileno (**19**) foi majoritário no óleo volátil foliar de quatro espécies do estudo (*C. ceanothifolius*, *C. eskucheii*, *C. muellerianus* e *C. pseudoadipatus*) com destaque para *C. eskucheii* na qual apresentou 23,1% do total identificado. Já o germacreno-D (**23**) foi majoritário no óleo volátil foliar de 60% das espécies em estudo (*C. catamarcensis*, *C. ceanothifolius*, *C. eskucheii*, *C. pallidulus* var. *glabrus*, *C. pallidulus* var. *pallidulus* e *C. pseudoadipatus*) com destaque para *C. pseudoadipatus* com 21,4% do total identificado (Tabela 05). O cariofileno possui atividades antioxidante e anticarcinogênica (Souza *et al.*, 2006), enquanto o germacreno-D possui atividade antibacteriana e insetífuga (Deuschle *et al.*, 2007; Cunha *et al.*, 2008). No gênero já foram observados em *C. oligandrum* (Agnaniet *et al.*, 2006), *C. sellowii* (Dias *et al.*, 2006), *C. argyrophyloides*, *C. nepetaefolius*, *C. zehntneri* (Lima *et al.*, 2006), *C. flavens* (Sylvestre *et al.*, 2006), *C. palanostigma* (Socorro *et al.*, 2007), *C. pullei* (Peixoto *et al.*, 2008), *C. zambesicus* (Usman *et al.*, 2009) e *C. micans* (Compagnone *et al.*, 2010).

Vale ressaltar que as concentrações dos compostos voláteis podem ser bastante variáveis com o decorrer do dia (Morais *et al.*, 2006; Tininis *et al.*, 2006). Maior teor de oxigênio e de radiação solar no ambiente em horários de pico de sol (próximos ao meio-dia) contribuem para aumento dos produtos

oxigenados. As variações de concentração dos compostos podem ser da ordem de até 50% (Morais *et al.*, 2006). O horário de coleta das amostras analisadas nesse trabalho não foi controlado. Nossos resultados, portanto, devem ser vistos como a apresentação de um perfil geral da composição dos óleos voláteis das folhas e caules dessas espécies. Uma investigação futura relacionada a verificação de possíveis atividades biológicas deve ter a preocupação com horário de coleta, entre outros fatores ambientais que podem interferir na composição desses metabólitos.

2. DITERPENOS, TRITERPENOS E ESTERÓIDES

Foram identificados a partir dos extratos metanólicos de folha e caule, 15 diterpenos, nove triterpenos, α -tocoferol e 13 esteróides (Tabela 07). Nos extratos foliares foram identificados 14 diterpenos, sendo três de cadeia aberta, quatro diterpenos com esqueleto do tipo labdano, três com esqueleto tipo podocarpano, dois com esqueleto tipo clerodano, um com esqueleto caurano, além do retinol (diterpeno alcoólico), nove triterpenos, α -tocoferol e oito esteróides. Já nos extratos de caule, foram identificados quatro diterpenos (sendo dois podocarpanos), seis triterpenos e doze esteróides (Tabela 07).

Tabela 07. Diterpenos, triterpenos e esteróides identificados no extrato metanólico foliar e de caule das espécies de *Croton* (Euphorbiaceae) analisadas. MM - massa molecular.

Fórmula	MM	Tipo de Esqueleto	Substância	Folha	Caule
Diterpenos					
1 C ₂₀ H ₃₄ O	290	Labdano	Labden-14-eno 8,13 epoxi	X	
2 C ₂₀ H ₃₄ O	290	Cadeia aberta	Hexadecatetraenol-tetrametil	X	
3 C ₂₀ H ₄₀ O	296	Cadeia aberta	Fitol	X	
4 C ₂₀ H ₃₂ O	288	Labdano	Labd-14-en-3-ona,8,13-epoxi	X	
5 C ₂₀ H ₃₀ O	286	Podocarpano	Podocarp-7-en-3-ona 13 β -metil-13-vinil	X	X
6 C ₁₉ H ₂₆ O ₂	286	Podocarpano	Podocarp-7,8-dien-3-ona-13-acetoxi	X	
7 C ₂₁ H ₃₆ O	304	Labdano	Labda-8(20),13dieno-15,19 diol	X	X
8 C ₂₁ H ₄₀ O ₂	348	Cadeia aberta - Furanona	1,5-Metil-trimetiltridecil- dihidro-furanona	X	X
9 C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316	Podocarpano	Ácido Podocarpa-7,13-dien-15-óico		X
10 C ₂₀ H ₂₄ O ₆	360	Clerodano	Derivado de Trans –crotonina	X	
11 C ₂₁ H ₃₀ O ₄	346	Caurano	Cauren-18-ol-5,7,10-trimetil-17-acetoxi	X	
12 C ₂₀ H ₂₄ O ₄	328	Clerodano	Derivado deTrans-crotonina	X	
13 C ₂₂ H ₃₄ O ₆	394	Labdano	Acido ent-12,15-epoxi-labdadien-3-oico-5-acetoxi-8-hidroxi	X	
14 C ₂₂ H ₃₂ O ₂	328	Diterpeno alcoólico	Retinol	X	
15 C ₂₂ H ₃₂ O ₅	376	Podocarpano	Metil 13(2-metoxi-2-oxoetildeno)-14-metil-7-oxopodocarpan-15-oato	X	
Triterpenos					
16 C ₃₀ H ₅₀	410		Esqualeno	X	
17 C ₃₀ H ₅₀ O	410		Oleaneno	X	X
18 C ₃₀ H ₄₈ O	424		Octametil-octahidro-picenona	X	
19 C ₃₁ H ₄₈ O	420		Ac. Ursenóico	X	X
20 C ₃₀ H ₅₀ O	410		Lup-20(29)-en-3-ona	X	X
21 C ₃₀ H ₅₀ O	410		α -Amirina	X	X
22 C ₃₀ H ₅₀ O	410		Lupeol	X	X
23 C ₃₀ H ₅₂ O	412		Friedelanol	X	
24 C ₃₀ H ₅₂ O	412		Friedelanona	X	X
Esteróides					
25 C ₂₇ H ₄₄ O	388		Colestan-4,6-dien-3-ol		X
26 C ₂₉ H ₄₈ O	412		Estigmasterol	X	X
27 C ₂₈ H ₄₄ O	396		Ergosterol		X
28 C ₂₈ H ₄₈ O	400		Ergost-5-en-3-ol	X	X
29 C ₂₉ H ₅₀ O	410		β -Sitosterol	X	X
30 C ₂₉ H ₅₀ O	410		γ -Sitosterol	X	X
31 C ₂₉ H ₄₆ O	410		4,22-estigmastadien-3-ona		X
32 C ₂₉ H ₄₆ O	410		Estigmasta-3,5-dien-7-ona		X
33 C ₂₁ H ₃₄ O ₂	318		Androstan-3-ona 17hidroxi-1,17-dimetil	X	
34 C ₂₈ H ₄₈ O	400		Estigmast-4-en-3-ona	X	X
35 C ₂₇ H ₄₃ O	387		Colestan-4,6-dien-3-ona		X
36 C ₂₁ H ₃₆ O	304		Pregnan-18-ol	X	X
37 C ₂₉ H ₄₈ O	412		Estigmastane-3,6-diona	X	X

Diferentemente do que foi observado em óleos voláteis, os diterpenos, triterpenos e esteróides não ocorreram em intervalos definidos. Diterpenos ocorreram desde os 12 aos 28 minutos. Já triterpenos e esteróides foram observados na mesma faixa, desde os 23 aos 31 minutos (Figuras 19 e 20).

Figura 19. Cromatograma do extrato foliar de *C. ericoides* com destaque para os intervalos de tempo de retenção para a ocorrência de diterpenos, triterpenos e esteróides

Figura 20. Cromatograma do extrato de caule de *C. pallidulus* var. *glabrus* com destaque para os intervalos de tempo de retenção para a ocorrência de diterpenos, triterpenos e esteróides

2.1 DITERPENOS

Diterpenos é a classe de metabólitos secundários mais característica em *Croton* (Salatino *et al.*, 2007). Foram detectados em todas as espécies analisadas, tendo sido identificados com maior facilidade em extratos foliares. No total foram identificados 15 compostos com esqueletos variados (Figura 21).

Figura 21. Distribuição dos diterpenos segundo o tipo de esqueleto estrutural

Alguns compostos apresentaram ampla distribuição, como o fitol **(3)** ($C_{20}H_{40}O$, $m/z=296$), identificado em 70% das espécies; o 1,5-metil-trimetildecil-dihidro-furanona **(8)** ($C_{21}H_{40}O_2$, $m/z=348$) e o retinol **(14)** ($C_{22}H_{32}O_2$, $m/z=328$) de ocorrência em 80% das espécies; e o ácido ent-12,15-epoxi-labdadien-3-óico -5-acetoxi-8-hidroxi **(13)** ($C_{22}H_{34}O_6$, $m/z=394$), em 90% (Tabela 08).

Os diterpenos foram detectados quase sempre em concentrações abaixo de 2,0% do total dos compostos dos extratos metanólicos. As exceções foram labden-14-eno 8,13-epoxi (**1**) ($C_{20}H_{34}O$, $m/z=290$); labda-8(20),13-dieno-15,19-diol (**7**) ($C_{20}H_{34}O_2$, $m/z=306$) e um derivado de trans-crotonina (**10**) ($C_{20}H_{24}O_4$, $m/z=328$), detectados em *C. ericoides* com concentrações superiores à 3,5%, e o fitol, identificado em *C. muellerianus* com concentração igual à 4,5% (Tabela 08).

1 - labden-14-eno 8,13-epoxi

7 - labda-8(20),13-dieno-15,19-diol

10 – Derivado de Trans-crotonina

13 - ácido ent-12,15-epoxi-labdadien-3-oico -5-acetoxi-8-hidroxi

Nos extratos de caule foram identificados apenas quatro compostos com ocorrência restrita à: *C. ericoides*: labda-8(20)-13-dieno-15,19-diol (**7**) ($C_{21}H_{36}O$, $m/z=304$); *C. eskuchei*: 1,5-metil-trimetildecil-dihidro-furanona (**8**) ($C_{21}H_{40}O_2$, $m/z=324$); e *C. pallidulus* var. *glabrus*: podocarp-7-en-3-ona-13 β -metil-13vinil (**5**) ($C_{20}H_{32}O$, $m/z=288$) e ácido podocarpa-7,13-dien-15-óico (**15**) ($C_{21}H_{32}O_2$, $m/z=316$) (Tabela 09).

5 – podocarp-7-em-3-ona-13 β -metil-13--vinil

9 - ácido podocarpa-7,13-dien-15-óico

Tabela 08. Abundância relativa dos diterpenos identificados no extrato metanólico foliar das espécies de *Croton* (Euphorbiaceae) analisadas: Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cdu (*C. dusenii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*), Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Cps (*C. pseudoadipatus*).

TR (Min)	Substância	Cct	Cce	Cdu	Cer	Ces	Cli	Cmu	Cpg	Cpp	Cps
12.59	Labden-14-eno 8,13 epoxi				4,1			0,1			
13.17	Hexadecatetraenol-tetrametil								1,4	1,7	
14.51	Fitol	0,5	1,4	0,1	0,1		1,5	4,5			0,7
15.56	Labd-14-en-3-ona,8,13-epoxi				1,3						
16.10	Podocarp-7-en-3-ona 13β-metil-13-vinil									0,1	
16.29	Podocarp-7,8-dien-3-ona-13-acetoxi									0,3	
16.95	Labda-8(20),13dieno-15,19 diol				4,7						
17.74	1,5-Metil-trimetiltridecil- dihidro-furanona	0,1	0,4	0,1	0,7	0,9	0,6	0,5			0,1
22.21	Derivado de Trans –crotonina			0,1	3,6						
24.02	Cauren-18-ol-5,7,10-trimetil-17-acetoxi								1,2		
25.28	Derivado de Trans-crotonina			1,4					0,3		1,3
25.68	Acido ent-12,15-epoxi-labdadien-3-oico-5-acetoxi-8-hidroxi	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,5		0,3	0,5	0,1
27.66	Retinol		0,3	0,1		0,1	1,2	0,7	0,6	0,5	0,1
27.81	Metil 13(2-metoxi-2-oxoetildeno)-14-metil-7-oxopodocarpan-15-oato		0,5	0,7							1,1

Tabela 09. Abundância relativa dos diterpenos identificados no extrato metanólico de caule das espécies de *Croton* analisadas: Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. ericoides*), Cdu (*C. dusenii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*) e Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*)

TR (min)	Substância	Cct	Cce	Cdu	Cer	Ces	Cli	Cmu	Cpg	Cpp
16.03	Podocarp-7-en-3-ona 13β-metil-13-vinil								0,1	
16.93	Labda-8(20)-13-dieno-15,19-diol				1,7					
17.72	1,5-Metil-trimetiltridecil-dihidro-furanona					0,1				
19.27	Acido Podocarpa-7,13-dien-15-óico								0,1	

A presença de diterpenos com o esqueleto tipo podocarpano foi observada em cinco espécies: *C. ceanothifolius*, *C. dusenii*, *C. pallidulus* var. *glabrus*, *C. pallidulus* var. *pallidulus* e *C. pseudoadipatus*. Com exceção de *C. dusenii*, todas as espécies com este tipo de diterpeno apresentou óleos voláteis com sesquiterpenos como majoritários.

Dentre as espécies analisadas no estudo, as variedades de *Croton pallidulus* foram as únicas amostras que apresentaram o diterpeno de cadeia aberta hexadecatetraenol-tetrametil (**2**) (C₂₀H₃₄O, m/z=290), além de terem sido detectados o 1,5-metil-trimetiltridecil-dihidro-furanona (ocorrência de 80% nas espécies do estudo) e o fitol (com ocorrência de 70%). Além disso, apresentaram o ácido ent-

12,15-epoxi-labdadien-3-óico-5-acetoxi-8-hidroxi ($C_{22}H_{34}O_6$, $m/z=394$), de ocorrência em 90% das espécies e o retinol ($C_{22}H_{32}O_2$, $m/z=328$), em 70% das espécies analisadas.

Nas espécies analisadas foram identificados quatro diterpenos com esqueleto tipo podocarpano. No extrato foliar foram identificados três podocarpanos, sendo o metil-13(2-metoxi-2-oxoetildeno)-14-metil-7-oxopodocarpan-15-oato (**15**) ($C_{22}H_{32}O_5$, $m/z=376$), detectado em *C. ceanothifolius* e *C. dusenii*; o podocarp-7-en-3-ona 13 β -metil-13-vinil (**5**) ($C_{20}H_{30}O$, $m/z=286$) e podocarp-7,8-dien-3-ona-13-acetoxi (**6**) ($C_{19}H_{26}O_2$, $m/z=286$), detectados em *C. pallidulus* var. *pallidulus* (Tabela 08). No extrato de caule foram detectados dois podocarpanos: o podocarp-7-en-3-ona-13 β -metil-13-vinil (**5**) ($C_{20}H_{32}O$, $m/z=288$) e o ácido podocarpa-7,13-dien-15-óico (**9**) ($C_{21}H_{32}O_2$, $m/z=316$) presentes apenas para *C. pallidulus* var. *glabrus* (Tabela 09).

6 - podocarp-7,8-dien-3-ona-13-acetoxi

15 - Metil-13(2-metoxi-2-oxoetildeno)-14-metil-7-oxopodocarpan-15-oato

Diferentemente dos esqueletos bicíclicos de cauranos, clerodanos e labdanos, os podocarpanos apresentam esqueleto tricíclico (Figura 22). Esses diterpenos foram isolados pela primeira vez em 1873 em espécies do gênero *Podocarpus* (Pinales, Podocarpaceae), onde foi observada uma redução de um grupo isopropila a partir do ácido abiético (Marcano & Hasegawa, 2002). A conformação espacial tricíclica dos esqueletos de podocarpanos propicia um padrão de fragmentação não usual à análise em espectrometria de massas, porém estes compostos podem ser facilmente identificados por apresentar um conjunto de fragmentos e rearranjos característicos e estreitamente relacionados (Silva *et al.*, 2001).

Figura 22. Esqueletos de diterpenos detectados nas espécies do estudo, sendo bicíclicos (caurano, clerodano e labdano) e tricíclicos (podocarpano).

Algumas espécies ricas em podocarpanos apresentaram atividade farmacológica. Entre elas temos *C. regelianus* com atividade anticâncer (Bezerra *et al.*, 2009) e *Securinega suffruticosa* (Euphorbiaceae), típica do cerrado brasileiro, com atividade antitumoral (Yuan *et al.*, 2005; Mesquita, 2010). Este grupo não é muito comum a *Croton*, tendo sido detectada em *C. salutaris*, com 12-hidroxi-13-metilpodocarpa-9,11,13-trien-ona (Itokawa, 1991) e em *C. regelianus*, (5 β ,8 α ,10 α)-8-hidroxi-13-metilpodocarpa-9(11),13-diene-3,12-diona (Torres *et al.*, 2010).

Os diterpenos com esqueleto do tipo clerodano (Figura 22) são um grupo bastante diverso com mais de 800 compostos descritos até 2007 (Salatino *et al.*, 2007). Compostos considerados bioativos apresentam atividade insetífuga, antimicrobiana, antiviral, antiúlcera, gastroprotetora e antitumoral (Maciel *et al.*, 1998; Fattorusso *et al.*, 2002; Campos *et al.*, 2010). Relatos sobre ocorrência de clerodanos em *Croton* (principalmente furano-clerodanos) são bastante comuns tendo registro em *C. cajucara* (Maciel *et al.*, 1998; Grynberg *et al.*, 1999; Souza *et al.*, 2006; Campos *et al.*, 2010), *C. draco* (Murillo *et al.*, 2001; Deepika-Gupta *et al.*, 2008), *C. eluteria* (Fattorusso *et al.*, 2002), *C. lechleri* (De Marino *et al.*, 2008), *C. membranaceous* (Bayer *et al.*, 2009), *C. oblongifolius* (Youngsa *et al.*, 2007), *C. palanostigma* (Socorro *et al.*, 2004; Brasil *et al.*, 2009) e *C. polyandrus* (Araújo-Junior *et al.*, 2005). Nos trabalhos realizados com *C. cajucara*, um dos diterpenos mais característico é a trans-crotonina, um furano-clerodano bioativo com atividades fungicida (Souza *et al.*, 2006), anti-úlcera (Campos *et al.*, 2010), antitumoral e anti-inflamatória (Grynberg *et al.*, 1999).

Nas espécies analisadas, foram detectados em *C. ericoides*, *C. dusenii*, *C. pallidulus* var. *glabrus* e *C. pseudoadipatus*, dois compostos com esqueletos clerodanos similares à trans-crotonina (TR=22,21 (10) e 25,28 (12)) (Tabela 08). No entanto a análise dos demais fragmentos dos espectros de massas não foi suficiente para a identificação exata destes compostos.

Labdanos não são tão comuns à *Croton* como os clerodanos, mesmo assim já foram identificados em *C. membranaceous* (Bayer *et al.*, 2009), *C. palanostigma* (Araújo-Junior *et al.*, 2005) e *C. stipuliformis* (Ramos, 2008). Diterpenos com esqueleto labdano apresentam alto potencial

farmacológico, como o labdano 302, isolado de *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae, Magnoliales) que confere atividade antiespasmódica, hipotensora e vasorrelaxante arterial (Ribeiro *et al.*, 2007). Em outro estudo, extratos hexânicos de *Cistus creticus* (Cistaceae, Malvales), com altas taxas de labdanos, apresentaram atividade antimicrobiana (Anastasaki *et al.*, 1999).

No extrato foliar das espécies analisadas foram identificados três labdanos: labden-14-eno 8,13 epoxi (**1**) (C₂₀H₃₄O, m/z=290), de ocorrência em *C.ericoides* e *C. muellerianus*; labda-8(20),13dieno-15,19 diol (**7**) (C₂₁H₃₆O, m/z=324), exclusiva à *C. ericoides*; e ácido ent-12,15-epoxi-labdadien-3-oico-5-acetoxi-8-hidroxi (**13**) (C₂₂H₃₄O₆, m/z=394) ocorrendo em todas as espécies, exceto *C. muellerianus*. Já o extrato de caule apresentou apenas labda-8(20),13dieno-15,19 diol (C₂₁H₃₆O, m/z=324), também exclusivo à *C. ericoides*.

Cauranos (Figura 22) formam outro grupo de diterpenos constantemente relatado para o gênero. Algumas espécies que apresentam cauranos são *C. caracasana* (Suarez *et al.*, 2009), *C. draco* (Murillo *et al.*, 2001; Deepika-Gupta *et al.*, 2008), *C. floribundus* (Haraguchi *et al.* 2011), *C. hirtus* (Fuentes *et al.*, 2004), *C. matourensis* (Compagnone *et al.*, 2010), *C. pulley* (Abreu *et al.*, 2001) e *C. zambesicus* (Mohamed *et al.*, 2009). Detectado em boas concentrações nos extratos foliares de *C. zambesicus* (Mohamed *et al.*, 2009), provavelmente é o ativo responsável pela atividade anticâncer descrita para a espécie (Block *et al.*, 2002).

Nas espécies analisadas, somente um diterpeno com esqueleto tipo caurano foi detectado no extrato foliar de *C. pallidulus* var. *pallidulus* em concentração de 1,2% do total (cauren-18-ol-5,7,10-trimetil-17-acetoxi (**11**) (C₂₁H₃₀O₄, m/z=346)).

11 - Cauren-18-ol-5,7,10-trimetil-17-acetoxi

No extrato de *C. muellerianus* foram identificados quatro diterpenos, sendo fitol, retinol, o labden-14-eno 8,13-epoxi (**1**) e o 1,5-metil-trimetiltridecil-dihidro-furanona (**8**). Este extrato apresentou as maiores concentrações de fitol, com 4,5% do total dos compostos identificados.

Hexadecatetraenol tetrametil é um diterpeno de cadeia aberta bastante similar ao fitol, porém com as unidades isoprênicas melhor caracterizadas. O espectro de ocorrência foi restrito a *C. pallidulus*

ocorrendo tanto em *C. pallidulus* var. *glabrus* como em *C. pallidulus* var. *pallidulus*. Na bibliografia consultada, foi identificado apenas um diterpeno similar em *C. salutaris*, o hexadecatetradiona tetrametil (Itokawa *et al.*, 1991).

Nas espécies do estudo, foi obtido apenas um diterpeno com esqueleto aberto tipo furanona identificado como 1,5-metil-trimetiltridecil-dihidro-furanona (**8**) ($C_{21}H_{40}O_2$, $m/z=324$). Este composto foi identificado no extrato foliar de 80% das espécies (exceto *C. pallidulus* var. *glabrus* e *C. pallidulus* var. *pallidulus*) e no extrato de caule de *C. eskuchei*.

Com exceção ao podocarpano, os esqueletos de diterpenos identificados para as espécies estudadas apresentam distribuição global, tendo sido detectados em espécies de *Croton* que ocorrem na África, Ásia e América. Diterpenos com esqueleto do tipo furano-clerodano (p.ex. trans-crotonina) foram descritos em espécies da Ásia (*C. oblongifolius* - Yougsa *et al.*, 2007), África (*C. membranaceus* - Bayor *et al.*, 2009) e na América do Sul, principalmente na região amazônica (*C. cajucara* - Maciel *et al.*, 1998; Grynberg *et al.*, 1999; *C. draco* - Murillo *et al.*, 2001; *C. eluteria* - Fattorusso *et al.*, 2002; *C. palanostigma* - Socorro *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2010; *C. polyandrus* - Araújo-Junior *et al.*, 2005). A ampla distribuição também é observada em diterpenos de esqueleto tipo labdano, sendo observados em espécies na Ásia (*C. oblongifolius* - Yougsa *et al.*, 2007), África (*C. membranaceus* - Bayor *et al.*, 2009) e em outras regiões da América do Sul (*C. polyandrus* - Araújo-Junior *et al.*, 2005; *C. stipuliformis* - Ramos *et al.*, 2008). Diterpenos com esqueletos do tipo caurano, foram detectados em espécies na Ásia (*C. tonkinensis* - Minh *et al.*, 2003), África (*C. zambesicus* - Mohamed *et al.*, 2009) e em algumas regiões da América do Sul, como Amazônia (*C. draco* - Deepika-Gupta *et al.*, 2008) e na região sudeste (Haraguchi *et al.*, 2011).

Os podocarpanos apresentam até o momento, distribuição restrita, tendo sido detectado apenas no Brasil em espécies coletadas nos estados do Ceará (*C. regelianus* - Bezerra *et al.*, 2009) e São Paulo (*C. salutaris* - Itokawa *et al.*, 1991). Com os dados deste estudo, diterpenos com este tipo de esqueleto foram identificados para mais cinco espécies de *Croton* coletadas nos estados de Minas Gerais (*C. ceanothifolius* e *C. pseudoadipatus*), São Paulo (*C. pallidulus* var. *glabrus*), Paraná (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Santa Catarina (*C. dusenii*).

Analisando a ocorrência desses podocarpanos em *Croton*, até o momento temos relatos somente em espécies das seções *Lamprocroton* e *Cleodora*. Uma investigação mais detalhada de espécies dessas seções pode trazer, ou não, algum tipo de informação com relação a proximidade desses grupos.

2.2 TRITERPENOS E ESTERÓIDES

Triterpenos e esteróides são compostos bastante comuns em Euphorbiaceae (Martinez-Vasquez *et al.*, 1999; Wansi *et al.*, 2006; Rubalcava *et al.*, 2007). Estes compostos foram identificados em todas as espécies analisadas, ocorrendo de forma significativa tanto nos extratos metanólicos foliares quanto em extratos de caule.

No extrato foliar, foram identificados nove triterpenos, oito esteróides e o α -tocoferol. Alguns compostos apresentaram distribuição bastante abrangente como os triterpenos octametil-octahidropicenona (**18**) ($C_{30}H_{48}O$, $m/z=424$), o ácido ursenóico (**19**) ($C_{31}H_{48}O$, $m/z=410$) e os esteróides ergost-5-en-3-ol (**28**) ($C_{28}H_{48}O$, $m/z=400$) e γ -sitosterol (**30**) ($C_{29}H_{50}O$, $m/z=420$) detectados em todas as espécies, o estigmast-4-en-3-ona (**34**) ($C_{28}H_{48}O$, $m/z=400$) em 90% das espécies e o pregnan-18-ol (**36**) ($C_{21}H_{36}O$, $m/z=340$), em 80%. (Tabela 10).

18-4,4,6a,6b,8a,11,11,14b-Octametil-1,4,5,6,6a,6b,7,8,9,10,11,12,14,14a,14b-Octahidro-2H-picen-3-ona

19 - ácido ursenóico

28 - ergost-5-en-3-ol

30 - γ - Sitosterol.

25 - Coletan-4,6-dien-3-ol

36 - Pregnan-18-ol

Tabela 10. Abundância relativa dos triterpenos e esteróides identificados em extratos metanólicos foliares das espécies de *Croton* (Euphorbiaceae) analisadas. Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cdu (*C. duseii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*), Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Cps (*C. pseudoadipatus*).

TR (min)	Identificação Proposta	Cct	Cce	Cdu	Cer	Ces	Cli	Cmu	Cpg	Cpp	Cps
Triterpenos											
23.42	Esqualeno		0,8					0,4			0,4
27.91	Oleaneno		1,0		0,8	1,4			1,3	1,4	1,2
28.02	Octametil-octahidro-picenona	4,7	10,7	7,3	3,6	4,8	14,4	0,4	8,2	6,3	4,4
28.44	Ac. Ursenóico		2,1	0,2	6,6	0,2	2,6	1,2	9,9	9,8	8,8
28.54	Lup-20(29)-en-3-ona			9,2	10,2	4,0			7,1	26,3	8,8
28.65	α -Amirina	21,9	13,4				20,0	10,3	7,7		
28.70	Lupeol	2,8		23,4	9,7	5,7			0,9	4,0	
29.66	Friedelanol		0,5			1,4	0,4		4,2	6,2	
29.90	Friedelanona	0,9		0,2		0,4			5,7	6,1	0,3
Esteróides											
26.65	Estigmasterol	0,7	1,2			0,7	0,9				0,7
27.29	Ergost-5-en-3-ol	1,0	1,1	0,2	1,2	2,3	1,1	0,8	0,7	0,2	1,1
28.20	β -Sitosterol		4,9			10,5	7,6			3,1	
28.23	γ -Sitosterol	13,5	8,4	15,9	14,1	10,2	11,3	16,0	2,7	3,5	8,7
29.08	Androstan-3-ona-17hidroxi-1,17-dimetil				0,2	1,2	0,7	0,2	0,9	1,1	0,5
29.44	Estigmast-4-en-3-ona	1,4	2,1	0,2	5,7	8,6	2,6		1,8	2,0	2,2
30.67	Pregnan-18-ol	0,5	0,4	0,7	0,2	1,0			1,0	0,4	0,7
31.05	Estigmastane-3,6-diona		1,2			1,8			0,4	0,7	0,5

Tabela 11. Abundância relativa dos triterpenos e esteróides identificados em extratos metanólicos de caule das espécies de *Croton* analisadas. Cct (*C. catamarcensis*), Cce (*C. ceanothifolius*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cdu (*C. duseii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*) e Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*).

TR (min)	Identificação proposta	Cct	Cce	Cdu	Cer	Ces	Cli	Cmu	Cpg	Cpp
Triterpenos										
27.95	Oleaneno		3,6			3,1				
28.44	Ac. Ursenóico	5,2	9,5		1,5	5,5		4,0	2,9	3,1
28.54	Lup-20(29)-en-3-ona			11,4	12,6					36,4
28.65	α -Amirina	8,2	0,3					14,0	1,0	
28.70	Lupeol			13,6	13,5	4,1			0,8	8,4
29.90	Friedelanona					4,2				1,4
Esteróides										
25.70	Colestan-4,6-dien-3-ol		0,8		0,9	0,5			0,8	
27.14	Ergosterol				1,1				0,8	
27.32	Ergost-5-en-3-ol		0,2			2,1				
27.63	Estigmasterol					1,4			0,8	
28.20	β -Sitosterol			8,9		8,7			2,3	
28.23	γ -Sitosterol	17,8	14,3	13,9	22,3	14,5		26,6	16,1	15,0
28.93	4,22-estigmastadien-3-ona					1,5				
29.08	Estigmasta-3,5-dien-7-ona		0,2		0,2	4,5				1,5
29.43	Estigmast-4-en-3-ona	3,7	14,0	2,6	0,3	10,0		1,6	5,0	7,7
29.80	Colesta-4,6-dien-3-ona					1,5				
30.67	Pregnan-18-ol								3,4	
31.04	Estigmastane-3,6-diona			1,2		2,5		1,0	2,3	

Não foram detectados triterpenóides nos extratos de caule de *C. pseudoadipatus* e *C. linearifolius*. Nas demais espécies foram identificados seis triterpenos e 12 esteróides, sendo quatro esteróides

derivados de estigmasterol **(26)** (Tabela 11). Os compostos com maior abrangência foram os triterpenos ácido ursenóico **(19)** ($C_{31}H_{48}O$, $m/z=410$) e lupeol **(22)** ($C_{30}H_{50}O$, $m/z=410$), identificados em 89% das espécies analisadas e os esteróides estigmast-4-en-3-ona **(34)** ($C_{28}H_{48}O$, $m/z=400$), em 89% e γ -sitosterol **(30)** ($C_{29}H_{50}O$, $m/z=420$) (Tabela 11).

No total foram obtidos nove triterpenos e oito esteróides nos extratos foliares e seis triterpenos e 12 esteróides para caule (Tabelas 10 e 11). Algumas espécies se apresentaram especialmente ricas em triterpenos e esteróides, como *C. eskuchei*, com 15 compostos, *C. pallidulus* var. *glabrus* e *C. pallidulus* var. *pallidulus* com 14 e *C. ceanothifolius* e *C. pseudoadipatus* com 13 (Figura 23). No geral foi observado que o número de esteróides foi maior que o de triterpenos, tanto para tecido foliar quanto para caule, exceto para os extratos foliares de *C. dusenii* e *C. pallidulus* var. *glabrus*. Em média foram detectados 6,2 esteróides por espécie em folha e 6,5 em caule. A média de triterpenos detectados foi de 5,6 compostos por espécie em folha, ficando reduzido a apenas 3 em extrato de caule.

Figura 23. Número de triterpenos e esteróides detectados em extratos metanólicos de folha e caule das espécies de *Croton* analisadas. F: folha e C: caule. Cce (*C. ceanothifolius*), Cct (*C. catamarcensis*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskuchei*), Cdu (*C. dusenii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*) e Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Cps (*C. pseudoadipatus*).

Em relação às porcentagens de triterpenos e esteróides detectados nos extratos brutos foliares e de caule foi observado que na maioria das espécies a concentração total de triterpenos foi superior à de esteróides, exceto em *C. eskuchei* e *C. muellerianus* (Figura 24). Nestas duas espécies foi verificado altas taxas de sitosterol (acima de 15% do total) o que contribui para a dominância de esteróides. As espécies mais ricas em triterpenos e esteróides foram *C. pallidulus* var. *pallidulus*, *C. eskuchei* (extrato de caule) e *C. linearifolius* (extrato foliar) com concentrações superiores a 60% do

total identificado. Em extrato foliar foi observada média de 32,7% de componentes triterpênicos por espécie e 19,7% de esteróides.

Já no extrato de caule foi observada uma inversão da relação de dominância, com média 21,4% de componentes triterpênicos e 29,2% de esteróides detectados no total de compostos identificados para os extratos metanólicos. Os fatores que contribuíram para a inversão de dominância foram o aumento no número de compostos derivados de estigmasterol (4,22-estigmastandien-3-ona **(31)**; estigmasta-3,5-dien-7-ona **(32)**, estigmast-4-en-3-ona **(34)** e estigmastane-3,6-diona **(37)**) e um aumento de quase 100% na concentração de γ -sitosterol detectado no caule, passando de uma média de 9,7% por espécie em extrato foliar, para 17,6% por espécie em caule. Das espécies estudadas, apenas *C. pallidulus* var. *pallidulus* manteve a dominância de compostos triterpênicos praticamente inalterada, fato decorrente das altas concentrações de lup-20(29)-en-3-ona **(20)** (36,4%) e lupeol **(22)** (8,4%) detectadas do caule (Tabela 11).

Figura 24. Somatória das porcentagens relativas de triterpenos e esteróides detectados em extratos metanólicos de folha e caule das espécies de *Croton* analisadas. F: folha e C: caule. Cce (*C. ceanothifolius*), Cct (*C. catamarcensis*), Cer (*C. ericoides*), Ces (*C. eskucheii*), Cdu (*C. dusenii*), Cli (*C. linearifolius*), Cmu (*C. muellerianus*), Cpg (*C. pallidulus* var. *glabrus*) e Cpp (*C. pallidulus* var. *pallidulus*) e Cps (*C. pseudoadipatus*).

22 – Lupeol.

20 – Lupenona

Assim como ocorreu com óleos voláteis e diterpenos, as variedades de *C. pallidulus* mostraram similaridades bastante evidentes com triterpenos e esteróides. Ambas apresentaram elevados valores de relação entre as concentrações triterpenos/esteróides, com taxas bastante próximas: 85,7% (*C. pallidulus* var. *glabrus*) e 84,5% (*C. pallidulus* var. *pallidulus*). Na análise química do extrato foliar, apresentaram praticamente os mesmos compostos majoritários, com octametil-octahidro-picenona (**18**) (8,2%), ácido ursenóico (**19**) (9,9%), α -amirina (**21**) (7,7%) e lup-20(29)-en-3-ona (**20**) (7,1%) em *C. pallidulus* var. *glabrus* e ácido ursenóico (9,8%) e lup-20(29)-en-3-ona (26,3%) em *C. pallidulus* var. *pallidulus* (Tabela 10). Além disso, foram as únicas amostras a apresentar concentrações de friedelanol (**23**) e friedelanona (**24**) acima de 1,0% (Tabela 10) com 4,2% e 5,7% respectivamente em *C. pallidulus* var. *glabrus* e de 6,1% e 6,2% em *C. pallidulus* var. *pallidulus*.

21 – α -Amirina

23 – Friedoleanan-3-ol

24 – Friedelan-3-ona

Nos extratos de caule foi observada a inversão em *C. pallidulus* var. *glabrus* que teve apenas três triterpenos detectados totalizando 4,7% do total identificado, contra sete esteróides que totalizaram 30,7%. Em *C. pallidulus* var. *pallidulus* foi observada a manutenção da relação de dominância observada no extrato foliar, fato decorrente principalmente pelas altas taxas lup-20(29)-en-3-ona (**20**) (36,4%) e lupeol (**22**) (8,4%) (Tabela 11).

16 - Esqualeno

33 – Androstan-3-ona -17-hidroxi-1,17-dimetil

26 - Estigmasterol

34 – Estigmast-4-en-3-ona

31 - 4,22-Estigmastandien-3-ona

32 - Estigmasta-3,5-dien-7-ona

37 - Estigmastane-3,6-diona

Alguns compostos obtidos são notáveis por suas atividades biológicas. Entre os triterpenos temos principalmente o lupeol (**22**) e a α -amirina (**21**). O lupeol e seus ésteres apresentam atividade anti-inflamatória (Agarwal *et al.*, 2003; Mendes *et al.*, 2004; Magalhães *et al.*, 2008) anti-leishmania (Cardoso-Lopes *et al.*, 2009) e anti-artrite (Magalhães *et al.*, 2008). Em *Croton* são descritos para um grande número de espécies, como *C. zambesicus* (Mohamed *et al.*, 2009), *C. tigilium* (Mendes *et al.*, 2004), *C. betulaster* (Barbosa *et al.*, 2003), *C. eluteria* (Fattorusso *et al.*, 2002) e *C. pulley* (Abreu *et al.*, 2001). Nas espécies analisadas foram detectadas em altas concentrações nos extratos metanólicos de folha de *C. ericoides* (13,5% do total de compostos identificados), *C. dusenii* (13,6%) e *C. pallidulus* var. *pallidulus* (8,4%). Entre os extratos metanólicos de caule, foi especialmente rica *C. dusenii* (23,4%), ocorrendo em altas concentrações também em *C. ericoides* (9,7%) e *C. eskucheii* (5,7%). A α -amirina é um composto de atividade sedativa, antioxidante, antibacteriana e antifúngica bastante conhecida (Araújo, 2005). Essa substância não é muito relatada em espécies de *Croton*, tendo sido descrita apenas em *C. hieronymi* (Catalan *et al.*, 2003). Nas espécies analisadas foi detectada em altas taxas nos extratos foliares de *C. ceanothifolius* (13,4%), *C. linearifolius* (20,0%), *C. muellerianus* (10,3%) e *C. catamarcensis* (21,9%). Desta forma as espécies de *Croton* analisadas ricas em lupeol e

α -amirina, podem ser sugeridas para ensaios biológicos e farmacológicos de atividade anti-inflamatória e antioxidante, podendo servir de base para o desenvolvimento de medicamentos e/ou cosméticos.

Em relação à detecção de esteróides, observamos na literatura três principais compostos sitosterol (**29** e **30**), estigmasterol (**26**) e campesterol (Dewick, 2009). Na literatura de *Croton* consultada, foi observado apenas um relato de detecção de campesterol (Peres *et al.*, 1997 com *C. urucurana*). Foram identificados, sitosterol e estigmasterol (e seus derivados) em todas as espécies analisadas. Estas substâncias já foram descritas em outras espécies de *Croton* como *C. cajucara* (Morais *et al.*, 2007), *C. caracasana* (Suarez *et al.*, 2009), *C. estipuliformis* (Ramos *et al.*, 2008), *C. floribundus* (Haraguchi *et al.*, 2011), *C. lechleri* (Torres *et al.*, 2009), *C. nepetaefolius* (Santos *et al.*, 2008), *C. pulley* (Abreu *et al.*, 2001), *C. regelianus* (Torres *et al.*, 2009) e *C. urucurana* (Deepika-Gupta *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2008). As espécies mais ricas em sitosterol foram *C. ericoides* (14,1% do total de compostos identificados), *C. dusenii* (15,9%), *C. muellerianus* (16,0%) e *C. catamarcensis* (13,5%). Tendo em vista a eficácia do sitosterol na redução da colesterolemia (Heinemann *et al.*, 1993; Martins *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2009), estas espécies poderiam ser testadas visando o desenvolvimento de extrato para controle do colesterol sanguíneo.

Já os extratos de caule de *C. ceanothifolius* (14,0% do total de compostos identificados), *C. eskucheii* (10,0%) e *C. pseudoadipatus* (7,7%) apresentaram altas taxas de estigmast-4-en-3-ona (**34**), composto derivado do estigmasterol (**26**). O estigmasterol possui alta eficácia na redução da colesterolemia (Martins *et al.*, 2004; Teixeira *et al.*, 2009) além de apresentar atividades anticâncer (Gosh *et al.*, 2011) e anti-artrite (Gabay *et al.*, 2010). Estas espécies podem ser sugeridas para ensaios biológicos e farmacológicos de atividade anticâncer e antioxidante, podendo servir de base para o desenvolvimento de medicamentos e/ou cosméticos.

V. CONCLUSÕES

O estudo químico de terpenóides das espécies de *Croton* seção *Lamprocroton* realizado nesta dissertação, permitiu a coleta de dados importantes, o que possibilitará um melhor direcionamento sobre ensaios biológicos e farmacológicos a serem sugeridos, por exemplo para o desenvolvimento de medicamentos e/ou cosméticos. A tabela 12 traz um resumo dos principais componentes identificados e possíveis sugestões de aplicação para a indústria.

Tabela 12. Listagem dos compostos principais detectados para as espécies de *Croton* analisadas, suas atividades e sugestões de direcionamento para futuros testes farmacológicos.

Espécie	Setor	Ativo principal	Ação	Outros ativos	Ação
C. ceanothifolius	Cosmético	α -bisabolol (49,95%)	anti-alérgica antibacteriana anti-inflamatória	cariofileno (10,1%) α -amirina (13,4%)	antioxidante antibacteriana sedativa.
C. catamarcensis	Fármaco	espatulenol (43,3%)	antibacteriana	germacreno-D (15,7%) α -amirina (21,9%)	antioxidante sedativa.
C. dusenii	Cosmético	linalol (18,2%)	fixador fragrâncias sedativa	cinol (16,4%) podocarpano trans-crotonina (1,4%) lupeol (23,4%)	anti-inflamatória anticâncer antitumoral fungicida
C. ericoides	Fármaco	β -pineno (41,8%) lábdanos	insetífuga anti-microbiana antiespasmódica hipotensora	cinol (24,1%) α -pineno (15,0%) trans-crotonina (3,6%)	anti-inflamatória anticâncer antitumoral fungicida
C. eskucheii	Fármaco	estigmasterol	anticâncer antioxidante hipocolesterolêmico	cariofileno (23,1%)	anticâncer antioxidante
C. linearifolius	Fármaco	cinol (26,9%)	anti-inflamatória antinociceptiva	α -pineno (25,1%) α -amirina (20,0%)	Insetífuga antioxidante antibacteriana sedativa
C. muellerianus	Fármaco	cinol (26,9%)	anti-inflamatória antinociceptiva		
C. pallidulus var. glabrus	Fármaco	germacreno-D (14,8%)	antioxidante sedativa.		
C. pallidulus var. pallidulus	Fármaco	1-isopropil-7-metil-4-metileno-hexahidro-naftalen-4-ol (27,6%),	anticâncer anti-inflamatória	lup-20(29)-en-3-ona (26%)	anti-inflamatória
C. pseudoadipatus	Fármaco	germacreno-D (21,4%)	Antibacteriana insetífuga	podocarpano (1,1%)	Anticâncer antitumoral

Além dos aspectos potencialmente aplicados, a análise dos terpenóides nessas espécies de *Croton* possibilitou algumas observações interessantes:

1. Podemos sugerir uma diferenciação geográfica no predomínio de monoterpenos e sesquiterpenos nos óleos voláteis entre as espécies coletadas na região Sul e Sudeste do Brasil;
2. A ocorrência de derivados podocarpanos em *Croton* talvez seja comum em espécies brasileiras, diferente daquelas de outras localidades;
3. A ocorrência de podocarpanos esteve concentrada em espécies coletadas nas Serras do Mar e Mantiqueira (Estados de São Paulo e Minas Gerais).
4. Comparativamente, extratos foliares apresentaram maior número de compostos para óleos voláteis, diterpenos e triterpenos, enquanto extratos de caule apresentaram maior número de esteróides.
5. Triterpenos e esteróides apresentaram alta diversidade de compostos e ampla distribuição, não possibilitando sugestões de diferenciação geográfica entre as espécies do estudo e as localidades de coleta.
6. As variedades de *C. pallidulus* apresentaram grandes similaridades em relação à constituição e à compostos identificados em óleo voláteis, diterpenos, triterpenos e esteróides

VI. RESUMO

Croton é um gênero gigante de Euphorbiaceae com cerca de 1.300 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da América, África, Ásia e Austrália. O Brasil é um importante centro de diversificação da espécie, com mais de 350 espécies descritas, sendo muitas endêmicas. Muitas espécies são utilizadas como plantas medicinais pelas populações locais, para o tratamento de diversos males, como câncer, diabetes, febre, hipercolesterolemia, hipertensão, entre outros. Mesmo assim, a maioria das espécies não apresenta estudo fitoquímico para determinação de atividades biológicas. Na bibliografia consultada terpenóides se apresentaram como compostos predominantes em *Croton*. O presente estudo foi realizado com a análise de óleos voláteis e de extratos metanólicos de folhas e caules de 10 amostras de *Croton* seção *Lamprocroton*. Todas as espécies do estudo têm descrição química inédita. Foram identificados 44 compostos de óleos voláteis por CG/EM, sendo 14 monoterpenos e 30 sesquiterpenos. Alguns compostos oxigenados, importantes do ponto de vista de atividade biológica, ocorreram em altas concentrações, como 1,8-cineol (*C. ericoides*: 24,1%; *C. linearifolius*: 26,9%; *C. muellerianus*: 23,9%), linalol (*C. dusenii*: 18,2%), bisabolol (*C. ceanothifolius*: 49,9%), 1-isopropil-7-metil-4-metileno-1,3,4,6,8-hexa-hidro-2H-naftalen-4-ol (*C. linearifolius*: 25,2%; *C. pallidulus* var. *pallidulus*: 23,6%). Já no extrato metanólico foram identificados por CG/EM 15 diterpenos, 9 triterpenos e 13 esteróides. Grupo de metabólito secundário mais característico de *Croton*, foram detectados 3 diterpenos de cadeia aberta (fitol, hexadecatetraenol e furanona), um diterpeno alcoólico (retinol), além de diterpenos com esqueleto tipo labdano, caurano, clerodano e podocarpano. Os dois clerodanos foram identificados com estrutura similar à trans-desidrocrotonina, composto com alto potencial farmacológico. Os podocarpanos até então registrados em apenas duas espécies de *Croton* foram comuns à *Croton* seção *Lamprocroton*, sendo identificados podocarp-7-en-3-ona 13 β -metil-13-vinil, podocarp-7,8-diien-3-ona-13-acetoxi, ácido podocarpa-7,13-dien-15-óico e metil-13(2-metoxi-2-oxoetildeno)-14-metil-7-oxopodocarpan-15-oato, distribuídos em 5 espécies. Os triterpenos e esteróides apresentaram alta diversidade e foram detectados para todas as espécies do estudo, com especial atenção para os triterpenos α -amirina, lupeol e lupenona; e os esteróides β e γ -sitosterol, pelas altas concentrações e pelo potencial farmacológico. Os dados obtidos possibilitaram listagem de compostos e atividades com sugestões de direcionamento para futuros testes e desenvolvimentos farmacológicos.

VII. ABSTRACT

Croton is a large genus of Euphorbiaceae comprising around 1.300 species, widespread in tropical and subtropical regions of America, Africa, Asia and Australia. Brazil is one of the main hot spot in the world, with more than 350 species described, many of them endemic. Although several species are used in traditional medicine for the treatment of diseases like cancer, diabetes, fever, high cholesterol and high blood pressure. Most species have no phytochemical studies concerning their biological activities. Literature shows terpenoids as predominant secondary metabolite constituents in *Croton*.

The present study was carried out with the analysis of essential oils and crude methanolic extracts obtained from leaves and bark of 10 samples of *Croton* sect. *Lamprocroton*. All species used on this study were submitted to their first chemical description. Forty four compounds were identified on essential oil by GC/MS, 14 monoterpenes and 30 sesquiterpenes. Some oxygenated compounds with important biological activity were detected in high concentrations: 1,8-cineol (*C. ericoides*: 24.1%; *C. linearifolius*: 26.9%; *C. muellerianus*: 23.9%), linalol (*C. dusenii*: 18.2%), bisabolol (*C. ceanothifolius*: 49.9%), 1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,3,4,6,8-hexahydro-2H-naftalen-4-ol (*C. linearifolius*: 25.2%; *C. pallidulus* var. *pallidulus*: 23.6%). The methanolic extract analysis revealed by GC/MS 15 diterpenes, 9 triterpenes and 13 steroids. Diterpenes are described as the main secondary metabolite in *Croton*. Besides diterpenes with labdan, cauran, clerodan and podocarpan skeletal types, three opened ring diterpenes (fisol, hexadecatetraenol and furanona) and one alcoholic diterpene (retinol) were detected. Two clerodans were identified with trans-desidrocrotonin structure-like, a compound with high pharmacological use. Podocarpanes that have only been registered for two *Croton* species, were commonly found on *Croton* sect. *Lamprocroton* (podocarp-7-en-3-one 13 β -methyl-13-vinyl; podocarp-7,8-dien-3-one-13-acetoxi; podocarpa-7,13-dien-15-oic acid; and methyl-13(2-methoxy-2-oxoethylidene)-14-methyl-7-oxopodocarpan-15-oate). Triterpenes and steroids shown high diversity and were detected at all studied species, with a highlight for compounds with high pharmacological potential like triterpenes α -amirine, lupeol and lupenone; and the steroids beta and gamma-sitosterol. The results obtained led to a list of compounds and suggestions for future pharmacological tests and developments.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdon, A. P. V., Leal-Cardoso, J. H., Coelho de Souza, A. N., Morais, S. M., Santos, C. F. (2002). Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on mice. *Brazilian journal of medical and biological research* 35(10), 1215-1219.
- Abreu, A. S., Barbosa, P. S., Muller, A. H., Guillon, G. M. S. P. (2001). Constituintes químicos do caule e das cascas do caule de *Croton pulley* var. *glabrior* (Euphorbiaceae). *Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA*, 1(2), 1-9.
- Adams, R. (2007). *Identification of Essential Oil by GC/MS*. Allwed Publishing Corporation. IL-USA.
- Adelekan, A. M., Prozesky, E. A., Hussein, A. A., Ureña, L. D., Van Rooyen, P. H., Liles, D. C. (2008). Bioactive diterpenes and other constituents of *Croton steenkampianus*. *Journal of Natural Products*, 6, 1919-1922.
- Agarwal, R. B., Rangari, V. D. (2003). Antiinflammatory and antiarthritic activities of lupeol and 19 α -H lupeol isolated from *Strobilanthes callosus* and *Strobilanthes ixiocephala* roots. *Drugs*, (165206), 384-387.
- 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.
- Ahumada, L. (1999). Novedades sistematicas en el genera *Croton* (Euphorbiaceae). *Darwiniana*, 37(1-2), 167-184.
- Alcântara, J. M., Kazumy, K., Yamaguchi, D. L., Rocha, J., Silva, D. A. (2010). Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae). Composition and biology activity of essential oils from leaves and stems of *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán (Lauraceae). *Acta Amazonica*, 40(3) pp. 567-571.
- Amaral, J. F., Santos, F. A., Sousa, F. C. F., Almeida, F. (2004). Atividade antiinflamatória, antinociceptiva, e gastroprotetora do óleo essencial de *Croton sonderianus* Muell. Arg. *Dissertação (Mestrado em Farmacologia) da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza*.
- Anastasaki, T., Demetzos, C., Perdetzoglou, D., Gazouli, M., Loukis, A., Harvala, C. (1999). Analysis of labdane-type diterpenes from *Cistus creticus* (subsp. *creticus* and subsp. *eriocephalus*), by GC and GC-MS. *Planta Medica*, 65(8), 735-739.
- Apel, M. A., Sobral, M., Henriques, A. T. (2006). Composição química do óleo volátil de *Myrciathes* nativas da região sul do Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(3), 402-407.
- Araújo-Júnior, V. T. D., Silva, M. S. D., Da-Cunha, E. V. L., Agra, M. D. F., Athayde-Filho, P. F. D., Vieira, I. J. C. (2005). Muscicapines, a new class of guaiane-type sesquiterpene alkaloids from *Croton muscicapa*. *Journal Of The Brazilian Chemical Society*, 16(3), 553-557.
- Barbosa, P. (2003). Triterpenes of *Croton betulaster* (Euphorbiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(3), 307-308.
- Baur, J. A., Sinclair, D. A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(6), 493-506.
- Bayor, M. T., Gbedema, S. Y., Annan, K. (2009). The antimicrobial activity of *Croton membranaceus*, a species used in formulations for measles in Ghana. *J Pharm Phyt*, 1(4), 47-51.

- Berry, P. E., Hipp, A. L., Wurdack, K. J., Van Ee, B. Riina, R. (2005). Molecular phylogenetics of the giant genus *Croton* and tribe Crotoneae (Euphorbiaceae sensu stricto) using ITS and TRNL-TRNF DNA sequence data. *American Journal of Botany*, 92(9), 1520-1534.
- Bezerra, D. P., Marinho Filho, J. D. B., Alves, A. P. N. N., Pessoa, C., De Moraes, M. O., Pessoa, O. D. L. (2009). Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole. *Chemistry biodiversity*, 6(8), 1224-1231.
- Blank, A. F., Souza, E. M. D. Arrigoni-Blank, M. D. F. (2007). Novas Cultivares Maria Bonita: cultivar de manjerição tipo linalol. *Sciences-New York*, (1), 1811-1813.
- Block, S., Stévigny, C., De Pauw-Gillet, M. C., De Hoffmann, E., Llabrès, G., Adjakidjé, V. (2002). Ent-trachyloban-3 β -ol, a new cytotoxic diterpene from *Croton zambesicus*. *Planta Medica* 68(7), 647-649.
- Bracher, F., Randau, K. P. Lerche, H. (2008). Crototropone, a new tropone derivative from *Croton zehntneri*. *Fitoterapia*, 79(3), 236-237.
- Brasil, D. S., Muller, A. H., Guilhon, G. M. S. P., Alves, C. N., Silva, J. K. R., Maia, S. (2009). Essential oil composition of *Croton palanostigma* from north Brazil. *Journal of The Brazilian Chemical Society*, 20(6), 1188-1192.
- Brasil, D. S., Müller, A. H., Guilhon, G. M. S. P., Alves, C. N., Peris, G., Llusar, R. (2010). Isolation, X-ray crystal structure and theoretical calculations of the new compound 8-epicordatin and identification of others terpenes and steroids from the bark and leaves of *Croton palanostigma* Klotzsch. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(4), 731-739.
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones, R. L. (2000). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists Rockville MD
- Campos, M. C. O., Salomão, K., Castro-Pinto, D. B., Leon, L. L., Barbosa, H. S., Maciel, M. A. M. (2010). *Croton cajucara* crude extract and isolated terpenes: activity on *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology Research*, 107(5), 1193-1204.
- Cardoso-Lopes, E. M., Paula, D. M. B. D., Barbo, F. E., Souza, A. D., Blatt, C. T. T., Torres, L. M. B. (2009). Chemical composition, acetylcholinesterase inhibitory and antifungal activities of *Pera glabrata* (Schott) Baill. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 32(4), 819-825.
- Carraz, M., Jossang, A., Rasoanaivo, P., Mazier, D., Frappier, F. (2008). Isolation and antimalarial activity of new morphinan alkaloids on *Plasmodium yoelii* liver stage. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(11), 6186-6192.
- Caruzo, M. B. R., Riina, R., Cordeiro, I., Berry, P. E. (2008). *Croton campanulatus* (Euphorbiaceae), a new species from the Brazilian Atlantic rain forest. *Brittonia*, 60(3), 261-264.
- Catalán, C. A. N., De 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(2), 625-629.
- Center, T. N. M. S. D. (2005). *NIST Standard Reference Database 1A NIST / EPA / NIH Mass Spectral Library (NIST 05) and NIST Mass Spectral Search Program (Version 2 . 0d) The NIST Mass Spectrometry Data Center. Library* (p. 43).
- Coley, P. D., Bryant, J. P. Chapin, F. S. (1985). Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 230(4728), 895-899.
- 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. *Methods*, 2, 101-108.

- Davis, C. C., Webb, C. O., Wurdack, Kenneth J, Jaramillo, C. A., Donoghue, M. J. (2005). Explosive radiation of Malpighiales supports a mid-cretaceous origin of modern tropical rain forests. *The American naturalist*, 165(3), E36-65.
- De 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(2), 222-225.
- De Marciano, D. H. M. (2002). Fitoquímica Orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- De Marino, S., Gala, F., Zollo, F., Vitalini, S., Fico, G., Visioli, F. (2008). Identification of minor secondary metabolites from the latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and evaluation of their antioxidant activity. *Molecules*, 13(6), 1219-1229.
- Deuschle, R. A. N., Camargo, T. D., Alves, S. H., Mallmann, C. A. Heizmann, B. M. (2007). Fracionamento do extrato diclorometânico de *Senecio desiderabilis* Vellozo e avaliação da atividade antimicrobiana. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(2), 220-223.
- Dewick, P. M. (2009). Medicinal Natural Product - A biosynthetic approach. 3rd edition. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester (546 pp).
- Dias, I. J. M., Camara, A. G., Medeiros, M. D. (2006). Volatile constituents of the leaves of *Croton sellowii* Baill (Euphorbiaceae). *Journal of Essential Oil Research*, 18(May 2004), 360-361.
- Duarte, M., Jurgensen, I. (2010). African milkbush (*Synadenium grantii* Hook.): ethnopharmacological, chemical and morpho-anatomical aspects. *Drug Plants* (27) Jan, 109-117.
- Duarte-Almeida, J. M., Negri, G., Salatino, A. (2004). Volatile oils in leaves of *Bauhinia* (Fabaceae Caesalpinioideae). *Biochemical, Systematics and Ecology*, 32(8), 747-753.
- Edwards-Jones, G., Davies, B., Hussain, S. B. S. (2000). Ecological economics - an introduction. *Ecological Economics* (Vol. 40, p. 266).
- Elisabetsky, E, Marschner, J., Souza, D. O. (1995). Effects of linalool on glutamatergic system in the rat cerebral cortex. *Neurochemical Research*, 20(4), 461-465.
- Fattorusso, E., Tagliatela-Scafati, O., Campagnuolo, C., Santelia, F. U. Appendino, G., Spagliardi, P. (2002). Diterpenoids from Cascarilla (*Croton eluteria* Bennet). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5131-5138.
- Forero, J. E., Avila, L., Taborda, N., Tabares, P., López, A., Torres, F.(2008). In vitro anti-influenza screening of several Euphorbiaceae species: structure of a bioactive Cyanoglucoside from *Codiaeum variegatum*. *Phytochemistry*, 69(16), 2815-2819.
- Francescato, L. N., Deuschle, R., Mallmann, C. A., Alves, S., Heinzmann, B. M. (2007). Atividade antimicrobiana de *Senecio heterotrichus* DC. (Asteraceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43(2), 239-245.
- Frodin, D. G. (2004). History and concepts of big plant genera. *Taxon*, 53(3), 753-776.
- Fuentes, J. C., Castro, V., Jakupovic, J., Murillo, R. (2004). Diterpenes and other components of *Croton hirtus* (Euphorbiaceae). *Revista de Biología Tropical*, 52(1), 269-285.
- Gabay, O., Sanchez, C., Salvat, C., Chevy, F., Breton, M., Nourissat, G. (2010). Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18(1), 106-116.
- Ghosh, T., Maity, T. K., Singh, J. (2011). Evaluation of antitumor activity of stigmasterol, a constituent isolated from *Bacopa monnieri* Linn aerial parts against Ehrlich Ascites Carcinoma in mice. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* (11) 41-49.

- Goswami, S. K., Das, D. K. (2009). Resveratrol and chemoprevention. *Cancer Letters*, 284(1), 1-6.
- Govaerts, R., Frodin, R. D., Radcliffe-Smith, A. (2000). World checklist and bibliography of Euphorbiaceae (and Pandaceae). *Royal Botanical Gardens, Kew*.
- Grynberg, N. F., Echevarria, A., Lima, J. E., Pamplona, S. S., Pinto, A C, Maciel, M. A. (1999). Anti-tumour activity of two 19-nor-clerodane diterpenes, trans-dehydrocrotonin and trans-crotonin, from *Croton cajucara*. *Planta Medica*, 65(8), 687-689.
- Gupta, D., Bleakley, B., Gupta, R. K. (2008). Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(3), 361-380.
- Hagedorn, M., Brown, S. (1991). The constituents of cascarilla oil (*Croton eluteria* bennett). *Flavour and Fragrance Journal*, 6(3), 193-204.
- Haraguchi, S. K., Silva, A. A., Vidotti, G. J., Santos, P. V. dos, Garcia, F. P., Pedroso, R. B. (2011). Antitrypanosomal activity of novel benzaldehyde-thiosemicarbazone derivatives from kaurenoic acid. *Molecules*, 16(2), 1166-80.
- Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2831-46.
- Heinemann, T., Axtmann, G., Von Bergmann, K. (1993). Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *European Journal of Clinical Investigation*, 23(12), 827-831.
- Hess, S. C., Peres, Marize T. L. P., Batista, A. L., Rodrigues, J. P., Tiviroli, S. C., Oliveira, L. G. L. (2007). Evaluation of seasonal changes in chemical composition and antibacterial activity of *Elyonurus muticus* (sprengel) O. Kuntze (Gramineae). *Química Nova*, 30(2), 370-373.
- Horvath, Z., Saiko, P., Illmer, C., Madlener, S., Hoechtl, T., Bauer, W. (2006). Resveratrol, an ingredient of wine, acts synergistically with Ara-C and tiazofurin in HL-60 human promyelocytic leukemia cells. *Nucleosides nucleotides nucleic acids*, 25(9-11), 1019-1024.
- Howitz, K. T., Bittermann, K. J., Cohen, H. Y., Lamming, D. W., Layu, S., Wood, J. D., Zipkin, R. E., Chung, P., Kisielewski, A., Zhang, L. L., Scherer, B., Sinclair, D. (2003). Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425(6954), 191-196.
- Itokawa, H., Ichihara, Y., Takeya, K., Morita, H., Motidome, M. (1991). Diterpenes from *Croton salutaris*. *Phytochemistry*, 30(12), 4071-4073.
- Jun, N. (2008). The Compositae Revisited Arthur Cronquist. *Most*, 29(2), 137-153.
- Karaman, S. (2007). Composition of the essential oil of *Salvia aramiensis* Rech and *Salvia cyanescens*. *Pak. Journal Botany*, 39(1), 169-172.
- King, R. E., Bomser, J. A., Min, D. B. (2006). Bioactivity of Resveratrol. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 5(3), 65-70.
- Krishnaveni, M., Mirunalini, S. (2010). Therapeutic potential of *Phyllanthus emblica* (amla): the ayurvedic wonder. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 21(1), 93-105.
- Kubitzky, K. (1990). Themes of diversification in neotropical forest. *Química Nova*, 13(4), 240-242.
- Lazarini, C. A., Uema, A. H., Brandão, G. M., Guimarães, A. P., Bernardi, M. M. (2000). *Croton zehntneri* essential oil: effects on behavioral models related to depression and anxiety. *Phytomedicine international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 7(6), 477-481.
- Lima, L. R., Pirani, J.R. (2008). Revisão taxonômica de *Croton* sect . *Lamprocroton* (Müll . Arg.) Pax (Euphorbiaceae s .s.) *Biota Neotropical*, 8(2).

- Lima, M. G. A., Maia, I., Sousa, Moraes, L., Freitas, S. (2006). Effect of stalk and leaf extracts from Euphorbiaceae species on *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) larvae. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 48(4), 211-4.
- Lima, M. A. A., Lima, J., Arriaga, A., Andrade-Neto, M. (2009a). Constituintes químicos de *Sebastiania macrocarpa* Muell. Arg. (Euphorbiaceae). *Química Nova*, 32(2), 348-353.
- Lima, S. G., Neto, J., Cito, A., Costa, J.; Reis, F. (2009b). Monoterpenes, sesquiterpenes and fatty acids from *Julocroton triqueter* (Euphorbiaceae) from Ceara - Brazil. *Journal of Chilean Chemical Society*, 54(1), 55-57.
- Limberger, R. P., Sobral, M., Henriques, A. T., Menut, C., Bessière, J. M. (2004). Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. *Química Nova*, 27(6), 916-9.
- Linck, V. M., Da Silva, A. L., Figueiró, M., Piato, A. L., Herrmann, A. P., Dupont Birck, F. (2009). Inhaled linalool-induced sedation in mice. *Phytomedicine international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 16(4), 303-307.
- Maciel, M. A., Pinto, A. C., Arruda, C., Pamplona, S. G., Vanderlinde, F. A., Lapa, A. J., (2000). Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(1), 41-55.
- Maciel, M., Pinto, A., Brabo, S., Silva, M. D. (1998). Terpenoids from *Croton cajucara*. *Phytochemistry*, 49(3), 823-828.
- Macías-Rubalcava, M. L., Hernández-Bautista, B. E., Jiménez-Estrada, M., Cruz-Ortega, R., Anaya, A. L. (2007). Pentacyclic triterpenes with selective bioactivity from *Sebastiania adenophora* leaves, Euphorbiaceae. *Journal of Chemical Ecology*, 33(1), 147-156.
- Magalhães, P. J. C., Lahlou, S., Jucá, D. M., Coelho-De-Souza, L. N., Da Frota, P. T. T., Da Costa, A. M. G. (2008). Vasorelaxation induced by the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents in rat aorta are partially mediated by the endothelium. *Fundamental Clinical Pharmacology*, 22(2), 169-177.
- Martins, M. B. G., Pastori, A. (2004). Anatomia foliar com ênfase nos tricomas secretores e análise cromatográfica do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Rev. Bras. Plantas Med.*, 6(2), 77-82.
- Martins, S. L. C., Silva, H. F., Novaes, M. R. C. G., Ito, M. K. (2004). Efeitos terapêuticos dos fitosteróis e fitostanóis na colesterolemia. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(3).
- Martínez, M. V., Ramírez, T. O. A., Lazcano, M. E., Bye, R. (1999). Anti-inflammatory active compounds from the n-hexane extract of *Euphorbia hirta*. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 43(3-4), 103-105.
- Matias, E. F. F., Santos, K. K. A., Costa, José Galberto M, Coutinho, H. D. M. (2010). Screening for in vitro phototoxic activity of methanol extracts of *Croton campestris* A., *Ocimum gravissimum* L. and *Cordia verbenaceae* DC. *The Indian journal of medical research*, 132(5), 520-522.
- Mendes, A., Leonardo, C. (2004). Triterpenóides e a sua actividade antiinflamatória. *Fac. Ciência Tecnol. Univer. Nova de Lisboa*, 1-8.
- Mendes, S., Nunes, D. S., Marques, M. B., Tardivo, R. C., Filho, V. C., Simionatto, E. L., Wisniewski Junior, A. (2008). Essential oil of *Baccharis semiserata* a source of spathulenol. *UEPG*, 14(3), 241-245.
- Mesquita, M. L. D. (2009). Potencial antitumoral de substâncias isoladas de plantas do Cerrado brasileiro: estudos preliminares do mecanismo de ação da atividade citotóxica. *Tese de Doutorado - UnB*.

- Mohamed, I. E., Bushra, E., Nur, E. E., Choudhary, Muhammad I, Khan, S. N. (2009). Bioactive natural products from two sudanese medicinal plants *Diospyros mespiliformis* and *Croton zambesicus*. *Rec. Nat. Prod*, 3(4), 198-203.
- Morais, S. M., Cavalcanti, E. S. B., Bertini, L. M., Oliveira, C. L. L., Rodrigues, J. R. B., Cardoso, J. H. L. (2006). Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *J Am Mosq Control Assoc*, 22(1), 161–164.
- Morais, E., Anjos, C., Maciel, M. A. M. (2007). Esteróides Isolados de Folhas de *Croton cajucara* Benth. 47a CBQ 2007-2007.
- Moreno, P. R. H., Leite, 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(2009), 190-192.
- Murillo, R. M., Jakupovic, J., Rivera, J., Castro, V. H. (2001). Diterpenes and other constituents from *Croton draco* (Euphorbiaceae). *Revista de Biología Tropical*, 49(1), 259-264.
- Nowicke, J. W. (1994). A palynological study of Crotonoideae (Euphorbiaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 81(2), 245-269.
- Okokon, J. E., Nwafor, P. A. (2009). Antiulcer and anticonvulsant activity of *Croton zambesicus*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(4), 384-390.
- Oliveira, B. H., (1996). Biotransformação de esteróis. *Química Nova* 19(3) 233-2136p.
- Oliveira, A. C., Leal-Cardoso, J. H., Santos, C. F., Morais, S M, Coelho-De-Souza, A. N. (2001). Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. *Brazilian journal of medical and biological research Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas* 34(11), 1471-1474.
- Oliveira, I. S., Lima, J. C. S., Silva, R. M., Martins, D. T. O. (2008). Artigo Triagem da atividade antibacteriana in vitro do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. *Revista Brasileira de Farmacognosia. October*, 18(1), 587-593.
- Peres, M. T. L. P., Monache, F., Cruz, A. B., Pizzolatti, M G, Yunes, R A. (1997). Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 56(3), 223-226.
- Peres, M. T. L. P., Monache, F. D., Pizzolatti, Moacir G, Santos, A. R. S., Beirith, A., Calixto, J. B. (1998). Analgesic compounds of *Croton urucurana* Baillon. Pharmaco-chemical criteria used in their isolation. *Phytotherapy Research*, 12(3), 209-211.
- Pinto, A. C, Garcez, F. R., Epifanio, R. D. A. (2003). Um olhar holístico sobre a química de produtos naturais brasileira. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(6), 966-971.
- Radcliffe-Smith, A. (2001). *Genera Euphorbiacearum*. Royal Botanic Gardens, Kiew.
- Ramos, F., Takaishi, Y., Kashiwada, Y., Osorio, C., Duque, C., Acuña, R. (2008). Ent-3,4-seco-labdane and ent-labdane diterpenoids from *Croton stipuliformis* (Euphorbiaceae). *Phytochemistry*, 69(12), 2406-2410.
- Ribeiro, L. A. A., Tavares, J. F., Andrade, N. C., Silva, M. S., Silva, B. (2007). O Ácido (8)17,12E,14-labdatrieno-18-óico (labdano302), diterpeno tipo labdano isolado de *Xylopia langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae) relaxa a traquéia isolada de cobaia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(2), 197-203.
- Rocha, F. F., Neves, E. M. N., Costa, E. A., Müller A. H., Guilhon, G. M. S. P., Cortes, W. S., Vanderlinde, F. A. (2008). Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory effect of *Croton pullei* var. *glabrior* Lanj. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(3), 344-349.

- Rodrigues, F. F. G., Costa, J. G. M. Coutinho, H. D. M. (2009). Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. *Phytomedicine international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 16(11), 1052-1055.
- Rodríguez, J. A., Hiruma-Lima, C. A., Souza Brito, A. R. M. (2004). Antiulcer activity and subacute toxicity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. *Human experimental toxicology*, 23(9), 455-461.
- Rosa, M. D. S. S., Mendonça-Filho, R. R., Bizzo, H. R., Rodrigues, I. D. A., Soares, R. M. A., Souto-Pradón, T. (2003). Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(6), 1895-1901.
- Rossi, D., Bruni, R., Bianchi, N., Chiarabelli, C., Gambari, R., Medici, A. (2003). Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) latex. *Phytomedicine international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 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.
- Santos, F. A., Jeferson, F. A., Santos, C. C., Silveira, E. R., Rao, V. S. N. (2005). Antinociceptive effect of leaf essential oil from *Croton sonderianus* in mice. *Life Sciences*, 77(23), 2953-2963.
- Santos, H.S., Mesquita, F.M.R., Lemos, T.L.G., Monte, F.J.Q., Braz-Filho, R. (2008). Diterpenos casbanos e acetofenonas de *Croton nepetaefolius* (Euphorbiaceae). *Quimica. Nova*, 31(3), 601-604.
- Seigler, D. S. (1998). *Plant Secondary Metabolism*. (M. J. Crawley, Ed.) *Methods In Molecular Biology Clifton Nj* (Vol. 643, p. 759). John Wiley & Sons, Ltd.
- Silva, R. M., Santos, F. A., Rao, V. S., Maciel, M. A., Pinto, A. C. (2001). The lipid-lowering effect of trans-dehydrocrotonin, a clerodane diterpene from *Croton cajucara* Benth. in mice fed on high-fat diet. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 53(4), 535-539.
- Silva, C. G. V., Zago, H. B., Junior, H.J.G.S., Oliveira, J. C. S. (2004). Atividade inseticida do óleo essencial de *Croton grewioides* Baill. sobre a praga de grãos armazenados *Zabrotes subfasciatus* Boheman. 29a. Reunião da SBQ, (Ic), 2004-2004.
- Simionatto, E., Bonani, V. F. L., Morel, A. F., Roppi, N. R., Raposo Júnior, J. L., Stuker, C. Z. (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(5), 879-885.
- Simionatto, E., Candido, A. C. S. ; Poppi, N. R. ; Peres, M. T. L. P. ; Oguma P. M. ; Santos, E.C.; Matos, M. F. C. ; Hess, S. C.; Bonani, V. F. L. ; Carvalho, J. E. ; Diraimo, D. L. (2009). Bioactivity and chemical composition of the essential oils of *Croton urucurana* (Baillon) (Euphorbiaceae). *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, v. 12, p. 250-261,
- Simpson, M. G. (2006). *Plant Systematics*. Academic Press. e-book (p. 590).
- Souza, E. O. D., Caldas, G. F. R., Silva, M. R., Santos, N. K. A., Mota, M. L., Santos, P. F. (2008). Artigo e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 583-586.
- Souza, M. A. A., Souza, S. R., Veiga Jr, V. F., Cortez, J. K. P. C., Leal, R. D. S., Dantas, T. N. C. (2006). Artigo Composição química do óleo fixo de *Croton cajucara* e determinação das suas propriedades fungicidas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(Supl.), 599-610.
- Souza, V. C., Lorenzi, H. (2008). Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II (p. 704). Plantarum.
- Stevens, P. F. (2008). Angiosperm Phylogeny Website. 06.14.2010.

- Streit, L., De Santa, M., Liana, N., Pedrolo, C., Weber, M., Hychecki, H., Santa, M. (2005). As Clorofilas. The Chlorophylls. *Ciência Rural*, 35(3), 748-755.
- Suárez, A. 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(6), 611-614.
- Suárez, A. I., Chavez, K., Mateu, E., Compagnone, R. S., Muñoz, A., Sojo, F. (2009). Cytotoxic activity of seco-entkaurenes from *Croton caracasana* on human cancer cell lines. *Natural product communications*, 4(11), 1547-1550.
- 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(1), 99-102.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2004). *Fisiologia Vegetal. 3a edição*, Porto Alegre. Editora Artmed, 2004. 719p.
- Tavares, M. A. G. C. (2009). Bioatividade de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L. no controle de *Toxoptera citricida* (Hemiptera: Aphididae) em citrus. *II Congresso Latino Americano de Agroecologia, 2009*
- Teixeira, M., Hugo, V. (2009). Esteróis vegetais e o metabolismo lipídico. *Revista Fatores de Risco* (12) Jan-Mar , 2009 72-73p.
- Tininis, A. G., Assonuma, M. M., Telascree, M., Perez, C. C., Sila, M., Favoreto, R., Cavaleiro, A. J. (2006). Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* SW. *Planta Medica*, 8(4), 132-136.
- Torres, M. C. M., Braz-Filho, R., Silveira, L. R., Diniz, J. C., Viana, F., Pessoa, O. (2010). Terpenoids from *Croton regelianus*. *Helvetica Chimica Acta*, 93(2), 375-381.
- Torres, M. C. M., Assunção, J. C., Santiago, G. M. P., Andrade-Neto, M., Silveira, Edilberto R, Costa-Lotufo, L. V. (2008). Larvicidal and nematocidal activities of the leaf essential oil of *Croton regelianus*. *Chemistry biodiversity*, 5(12), 2724-2728.
- Usman, L.A., Olawore, N., Oladosu, A.A., Elaigwu, S. E. (2009). Constituent of leaf oil of *Croton zambesicus* Muell.Arg. growing in North Central Nigeria. *Middle East Journal Scientific research*, 4(4), 242-244
- Verpoorte, R., Heijden, R. V. D., Hoopen, H. J. G., Memelink, J. (1999). Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnology Letters*, 21(4), 467-479.
- Verpoorte, R., & Alfermann, A. W. (2000). *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Kluwer Academic Publishers.
- Vickery, M.L., Vickery, B. (1981). *Secondary Plant Metabolism*. The MacMillian Press, London (335p).
- Viegas, M. C. (2007). Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis em café solúvel utilizando GC-MS e coluna HP-Innowax. *Química Nova*, 30(8), 2031-2034.
- Vila, R., Santana, A. I., Pérez-Rosés, R., Valderrama, A., Castelli, M. V., Mendonca, S. (2010). Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampaensis*, a new source of alpha-bisabolol. *Bioresource Technology*, 101(7), 2510-2514.
- Vingtdeux, V., Dreses-Werringloer, U., Zhao, H., Davies, P., Marambaud, P. (2008). Therapeutic potential of resveratrol in Alzheimer's disease. *BMC Neuroscience*, 9(Suppl 2), S6. BioMed Central.

- Wansi, J. D., Wandji, J., Kamdem, W. A. F., Ndom, J. C., Ngeufa, H. E., Chiozem, D. D. (2006). Triterpenoids from *Drypetes chevalieri* Beille (Euphorbiaceae). *Natural Product Research*, 20(6), 586-592.
- Watson, P. R., Hove, M. A. V., Hermann, K. (2008). *NIST/EPA/NIH (NIST 08) Mass Spectral Library*. (M. Frenkel, Ed.). National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD.
- Webster, G. L., Huft, M. J. (1988). Revised synopsis of panamanian Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75(3), 1087-1144.
- Webster, G. L. A. (1994). Classification of the Euphorbiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 81(1), 3-32 ST
- Wurdack, K., Hoffmann, P., Chase, M. (2005). Molecular phylogenetic analysis of uniovulate Euphorbiaceae (Euphorbiaceae sensu stricto) using plastid RBCL and TRNL-F DNA sequences¹. *American Journal of Botany*, 92, 1397-1420.
- Youngsa-Ad, W., Ngamrojanavanich, N., Mahidol, C., Ruchirawat, S., Prawat, H., Kittakoop, P. (2007). Diterpenoids from the roots of *Croton oblongifolius*. *Planta Medica*, 73(14), 1491-1494.
- Yuan, W., Lu, Z., Liu, Y., Meng, C., Cheng, K.-D., Zhu, P. (2005). Three new podocarpane-type diterpenoids from callus of *Securinega suffruticosa*. *Chemical pharmaceutical bulletin*, 53(12), 1610-1612.
- Ziaei, A., Ramezani, M., Wright, L., Paetz, C., Schneider, B., Irghofram, Z. (2010). Identification of spathulenol in *Salvia mirzayanii* and the immunomodulatory effects. *Phytotherapy Research*, 25(4), 557-562.

ANEXOS

ANEXO I

Estruturas químicas dos compostos identificados nos óleos voláteis de *Croton* seção
Lamprocroton
(segundo numeração da página 38).

1. α-tujeno

2. α-pineno

3. β-pineno

4. Mirceno

5. α-terpineno

6. o-cimeno

7. γ-terpineno

8. β-ocimeno

9. Terpinoleno

10. 1,8-cineol

11. Linalol

12. Terpinen-4-ol

13. α-terpineol

14. Mirtenal

15. Copaeno

16. β -bourboreno

17. β -elemeno

18. α -gurjuneno

19. Cariofileno

20. β -gurjuneno

21. α -cariofileno

22. γ -muuroleno

23. Germacreno-D

24. γ -gurjuneno

25. Ledeno

26. Elixeno

27. Germacrene-A

28. δ-cadinene

29. α-cadinene

30. β-calacorene

32. Isopropyl-7-methyl-4-methylene-6,6-dimethyl-3,4-dihydronaphthalen-4-ol

33. Elemol

34. δ-Guaiene

35. Espatulenol

36. Trans-nerolidol

37. Caryophyllene oxide

38. Ledol

39. Tau-cadinol

40. Cadin-4-en-7-ol

41. Allo-aromadendreno

42. Tau-muurolol

43. α-cadinol

44. Valeranona

45. α-bisabolol

ANEXO II

Cromatogramas dos extratos metanólicos de *Croton* seção *Lamprocroton* com a sinalização dos compostos identificados (segundo numeração da página 46).

Croton catamarcensis. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton catamarcensis. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton ceanothifolius. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton ceanothifolius. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton dusenii. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton dusenii. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton ericoides. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton ericoides. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton eskucheii. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton eskucheii. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton linearifolius. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton muellerianus. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton muellerianus. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton pallidulus var. *glabrus*. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton pallidulus var. *glabrus*. Cromatografia do extrato metanólico de caule, com a identificação dos compostos obtidos.

Croton pseudoadipatus. Cromatografia do extrato metanólico de folha, com a identificação dos compostos obtidos.

ANEXO III

Espectros de massa e estrutura química de diterpenos, triterpenos e esteróides identificados nos extratos metanólicos de *Croton* seção *Lamprocroton* (segundo numeração da página 46).

1- Labd-14-eno-8,13-epoxi

2- 1,6,10,14Hexadecatetraen-3-ol, 3,7,11,15-tetrametil

3- Fitol

4 – Labd-14-en-3-ona-epoxi

5 – Podocarp-7-en-3-ona, 13 β -metil-13-vinil

6 – Podocarp-7,8-dien-3-ona, 13-acetoxi

7- Labda-8(20),13-dieno, 15,19-diol

8-1,5-Metil-5,(4,8,12-trimetil-tridecil-dihidro-2(3H)-furanona

9 – Ácido Podocapa-8(14),12-dien-13-óico, 13-isopropil

10- Derivado de Trans-Crotonina (TR 22,21)

11 – Cauren-18-ol-5,7,10-trimetil-17-acetil-oxi

12 - Derivado de Trans-Crotonina (TR 25,28)

13 – Acido ent-12,15-epoxi-labdadien-3-óico-5-acetoxi-8-hidroxi

14 – Retinol

15 – Metil-13-(2-metoxi-2-oxoetildeno)-14-metil-7-oxopodocarpan-15-oato

16- Esqualeno

17- Oleaneno

18 – 4,4a,6a,6b,8a,11,11a,14b-Octametil-2,4,4a,5,6,6a,6b,7,8,8a,9,10,11,12a,14,14a, 14b-octahidro-2H-picen-3-ona

19- Ácido Urs-12-en-24-óico,3-oxo-metil ester

20 – Lup-20(29)-en-3-ona

21 – α-Amirina

22 – Lupeol

23 – Friedelan-3-ol

24- Friedelan-3-ona

25- Colestan-4,6-dien-3-ol

26 – Estigmasterol

27- Ergosterol

28 – Ergost-5-en-3-ol

29 – β -Sitosterol

30 – γ -Sitosterol

31 – 4,22-Estigmastandien-3-ona

32 – Estigmasta-3,5-dien-7-ona

33 – Androstan-3-ona, 17-hidroxi-1,17-dimetil

34 – Estigmast-4-en-3-ona

35 – Colestan-4,6-dien-3-ona

36 – Pregnan-18-ol

37 – Estigmastane-3,6-diona