

FRANCISCO JOSÉ QUEIROZ MONTE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE-
Croton argyrophyloides Muell. Arg.

Trabalho apresentado ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
Fortaleza - Ceará

1980

A meus pais, irmãos e à
minha esposa

O trabalho apresentado nesta dissertação foi realizado sob a orientação do Prof. Carlos Humberto Souza Andrade.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Raimundo Braz Filho pela co-orientação e estímulo durante a realização deste trabalho.

Aos professores Carlos Humberto S. Andrade, Afrânio Aragão Craveiro e José Wilson de Alencar, membros do comitê de Tese.

Aos professores Afranio Gomes Fernandes e Francisco José A. Matos pela coleta e classificação do material em estudo.

Aos colegas e amigos dos laboratórios que contribuíram decisivamente com este trabalho.

A todos os funcionários que aqui prestaram suas valiosas colaborações.

Ao CNPq pelos auxílios recebidos.

ÍNDICE

página

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO

PARTE I

1. Considerações sobre a família Euforbiácea, gênero Croton e
Croton argyrophilloides e seus constituintes.....04

PARTE II

2. Análises espectrométricas dos constituintes fixos.....
2.1. Aa - 7CM.....07
2.2. Aa - ICM.....21

PARTE III

3. Considerações sobre os derivados de Aa-7CM e de Aa-ICM.....
3.1. Hidrogenação de Aa-7CM.....26
3.2. Hidrogenação e posterior metilação de Aa-ICM.....26
3.3. Reação de Aa-ICM com diazometano.....27
3.4. Reação de Aa-7CM com diazometano.....30
3.5. Termólise de Aa-7CMC₂N₂.....31
3.6. Termólise de Aa-ICMC₂N₂.....32

PARTE IV

4. Análises espectrométricas dos constituintes voláteis.....50

PARTE V

5. Parte experimental.....
5.1. Introdução: Aparelhos e materiais utilizados.....56
5.2. Isolamento dos constituintes fixos.....58
5.3. Dados físicos e espectrométricos dos constituintes fixos.....
da planta.....62
5.4. Isolamento dos constituintes voláteis.....64
5.5. Obtenção de derivados.....65
5.6. Dados físicos e espectrométricos dos derivados.....67

PARTE VI

6. Bibliografia.....74

R E S U M O

O estudo químico parcial dos extratos hexânicos e etanólico da casca do caule e do extrato etanólico do lenho do caule forneceu dois novos diterpenos que foram denominados de Aa- 7CM e Aa- 1CM, respectivamente.

Do óleo essencial das folhas foram identificadas as seguintes substâncias: α -pineno, sabineno, 1,8-cineol, γ -elemeno, β -cariofileno, α -humuleno, cadineno e β -elemeno.

As propostas estruturais para os constituintes fixos, inéditos, foram formulados com base, principalmente, na interpretação do seus dados espectrais e de seus derivados obtidos por hidrogenação, metilação e pirólise.

Os constituintes voláteis foram analisados por cromatografia gas-líquido (CGL) e cromatografia gas-líquido acoplada a espectrometria de massa (CGL - EM) e identificados por correlação de seus espectros de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e de massa (EM) com os descritos na literatura.

ABSTRACT

Work-up hexanic and ethanolic extracts from bark and ethanolic extract from wood of Croton argyrophilloides afforded.

Two new diterpenes namely Aa-7CM and Aa-1CM respectively.

Essential oil extracted from leaves showed to be composed of α -pinene, sabinene, 1,8-cineole, γ -elemene, β -cariophyllene, α -humulene, cadinene and β -elemene.

The structures of the two new diterpenes were elucidated mainly by spectroscopic methods and some chemical transformations: hydrogenation, methylation and pyrolysis.

Volatile constituents of the essential oil were analysed by gas liquid chromatography coupled to mass spectrometry and computer.

Identifications were made by library search programs, visual inspection of Mass Spectra, CGL-retention times, other spectroscopic data and authentic samples whenever available.

I N T R O D U Ç Ã O

O objeto maior da Química Orgânica é o estudo dos compostos de carbono, suas reações, suas características mais importantes, inclusive, sua arquitetura tridimensional. A maior fábrica de compostos orgânicos, principalmente, no que diz respeito a variedade de compostos sintetizados é a natureza. O estudo natureza, neste aspecto, constitui uma forma de penetrar nos seus segredos, cujo conhecimento gradativo somente benefícios pode trazer a humanidade.

A flora do Nordeste do Brasil, mui especialmente a flora do Estado do Ceará, apesar da variedade e riqueza, próprias das regiões tropicais, tem sido pouco estudada.

Existem muitas razões de ordem prática que justificam o estudo químico da flora da região, dentre as quais podemos abordar:

- a) Conhecimento da flora da região com vista ao seu aproveitamento em prol da própria região;
- b) o estudo de produtos naturais da região pode ser usado como estratégia para a formação de pessoal qualificado, do qual somos altamente carentes;
- c) o conhecimento da composição química de plantas ainda não investigadas pode servir como fonte para esclarecimento de rotas biossintéticas ou reforço de proposições já feitas.

No caso específico da espécie cujo estudo químico será abordado neste trabalho já foi isolada uma substância com atividade antibiótica (1), fato que pode justificar o aproveitamento da planta, na pior das hipóteses em medicina popular.

Visto por estes aspectos, o trabalho que realizamos está plenamente justificado.

1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A FAMÍLIA DAS EUFORBIACEAS, GÊNERO CROTON, CROTON ARGYROPHYILLOIDES E SEUS CONSTITUINTES.

Formam a família das Euforbiaceas cerca de 290 gêneros e 7.500 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais do mundo, sendo amplamente representada na flora brasileira. O habitat das plantas varia desde ervas, até trepadeiras e árvores de grande porte, geralmente são laticíferas. As flores sempre são de sexo separado. O fruto é seco e em geral se separa em 3 pequenas cocas cada uma contendo uma semente oleaginosa (2).

São exemplos comuns da flora brasileira a Seringueira de origem amazônica (Hovea), produtora de borracha, e no Nordeste, o Avelós (Euforbia cea), a Carrapateira (Ricinus), a Maniçoba e a Mandioca (Manihot), os Marmeleiros e Velames (Croton), o Pinhão (Jatropha), bem como o Cansansão e a Faveleira (Cridosculus) (3).

1. O gênero de maior dispersão no Nordeste é Croton onde se encontram as grandes populações vegetais de Marmeleiros e Velames na vegetação secundária, principalmente da Caatinga.

2. Este gênero compreende cerca de 1.000 espécies, 650 dos quais se encontram na América e 300 no Brasil, sendo muito numerosos os representantes no Nordeste.

3. Apenas uma planta é conhecida como fornecedora de óleo essencial comercial produzido em pequena escala, a Cascarila das Bahamas (Croton e luteria Bennet) que alcança alto preço e é usado apenas em preparações aromáticas sofisticadas, bebidas amargas por exemplo (4).

Verificou-se entretanto que grande número de espécies de Croton são produtoras de óleo essencial (5,6).

As espécies do gênero Croton apresentam, geralmente, folhas com revestimento piloso, inteiras, ou raramente, trilobadas, com estípulas muitas vezes características, principalmente nos ramos jovens e renovos. Apresentam revestimento piloso, algumas vezes com pelos estrelados, outras, com pelos lepidotos ou escamosos. As flores de ambos os sexos são pequenas, esbranquiçadas e dispostas em racemos mais ou menos alongados, dispendo-se as masculinas, geralmente mais numerosas, na parte apical e as femininas na parte basal, em número que varia de 1 até muitas. O fruto é uma cápsula tricoca, de 2 a 6mm de diâmetro e as sementes são geralmente escuras e oleaginosas. Muitas espécies são odoríferas, estando o óleo essencial distribuído em todos os órgãos da planta, principalmente nas folhas e nas cascas do caule.

-O Croton argyrophylloides Muell. Arg. é um arbusto de ramos delgados, cilíndricos, cinerescentes, escabros, sendo, porém, os mais novos com pressos na parte superior.

Folhas com o limbo de 4 a 9 cm de comprimento, peninérveo, linear-lanceolado, de base obtusa, não glandulígera, apresentando a página superior verde fusca, opaca, revestida de pelos estrelados brevíssimos e a inferior com indumento lepidoto, rufo-argênteo, compacto, tenuemente escurecido pela presença de pontos rufo-ferrugineos esparsos.

Pecíolo de 5 a 10mm, aproximadamente (cerca de 6 a 10 vezes mais breve do que o limbo).

Estipulas lanceoladas de margem recurvada, muito caducas.

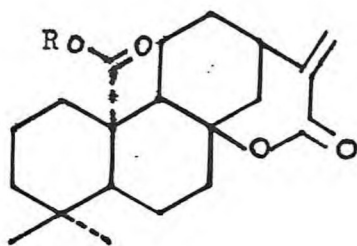
Racemos de comprimento aproximadamente igual ao das folhas ou, às vezes bem maiores, localizados nas partes terminais dos ramos, providos de bracteas lanceolado-lineares.

Flores femininas com ovario lepidoto, encimado por estilete das vezes profundamente fendido, calice obtusamente anguloso, de lacínios ovais.

Flores masculinas de mais ou menos 3 a 3,5mm de envergadura, encerrando pétalas obovais ou elípticas de dorso lepidoto e cerca de 15 estames com os filetes pubescentes em toda a extensão.

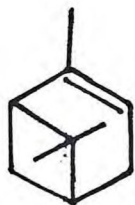
-O fracionamento dos extratos hexânico e alcoólico do lenho do caule e do extrato hexânico da casca do caule levou ao isolamento das substâncias Aa-1CM(I) e Aa-7CM(II), respectivamente, um ácido carboxílico diterpênico e seu éster metílico. O extrato alcoólico da raiz da referida espécie, já fornecera outro constituinte, também inédito, com atividade antibiótica(1).

Do óleo essencial, 1%, isolado das folhas, foram identificadas as seguintes substâncias: α -pineno(III), sabineno(IV), 1,8-cineol(V), γ -elemeno(VI), β -cariofileno(VII), humuleno(VIII), cadineno(IX) e β -elemeno(X). α -pineno é o principal constituinte do óleo essencial (28%).

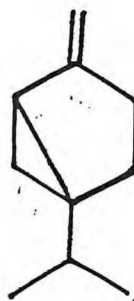


(I) R = H

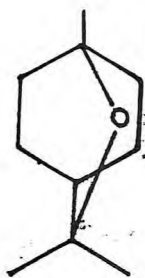
(II) R = CH₃



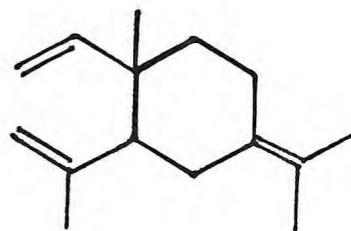
(III)



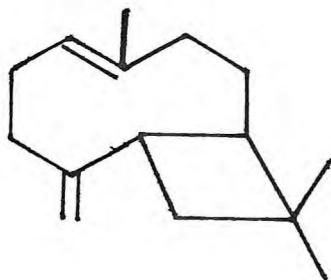
(IV)



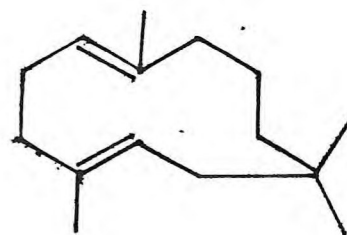
(V)



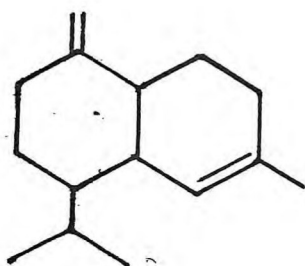
(VI)



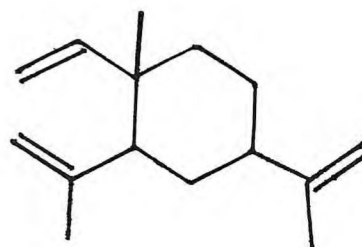
(VII)



(VIII)



(IX)



(X)

2. ANÁLISES ESPECTROMÉTRICAS DOS CONSTITUINTES FIXOS.

2.1. Aa- 7CM

2.1.1. Fórmula Molecular:

A fórmula molecular para Aa- 7CM foi proposta com base nos espectros de RMN^{13}C (fig. 1, pag. 14) e de massa (fig. 3 pag. 17). O primeiro apresenta no espectro totalmente desacoplado 20 linhas espectrais, correspondente logicamente a 20 átomos de carbonos. Este número no entanto, pode ser ampliado para 21 levando em consideração que a absorção em 52,15 δ corresponde a dois átomos de carbonos, de acordo com a intensidade e a comparação dos espectros totalmente desacoplado e com acoplamento residual. O espectro de massa em alta resolução mostra o pico molecular em 346 u.m.a. o que justifica a fórmula molecular, $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$, para o composto.

2.1.2. Fórmula estrutural:

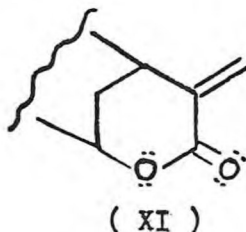
Os dados fornecidos pelos espectros de I.V. (fig. 4, pag. 17), RMN^1H (fig. 5, pag. 18), RMN^{13}C (fig. 1, pag. 14) e de massa (fig. 3, pag. 17) permitiram classificar esta substância como um diterpeno.

O espectro da substância no I.V. mostra absorções compatíveis com os de uma dupla ligação C=C parcialmente substituída (ν C-H 3060cm^{-1} , ν C=C 1635cm^{-1} e ν C-H 815cm^{-1}). O espectro de RMN^1H confirma a existência dos protons olefínicos pelas absorções em 3,56 τ (singlete largo, 1H) e 4,45 τ (singlete largo, 1H).

A presença de um grupo carbometoxi ($\text{CH}_3\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$) em Aa- 7CM é sugerida pelas absorções nos espectros de RMN^1H (6,3 τ , s, 3H, $-\text{OCH}_3$), RMN^{13}C (quarteto no SFORD a 52,15 δ , $-\text{OCH}_3$; singleto no SFORD a 178,78 δ , $-\text{COOMe}$), pelas absorções no I.V. (ν C=O 1720cm^{-1} , ν C-O 1230cm^{-1} , 1200cm^{-1} e 1160cm^{-1}) e confirmada pelos fragmentos M - 31 (perda de OMe) e M - 60 (perda de CH_3COOH) observadas no seu espectro de massa.

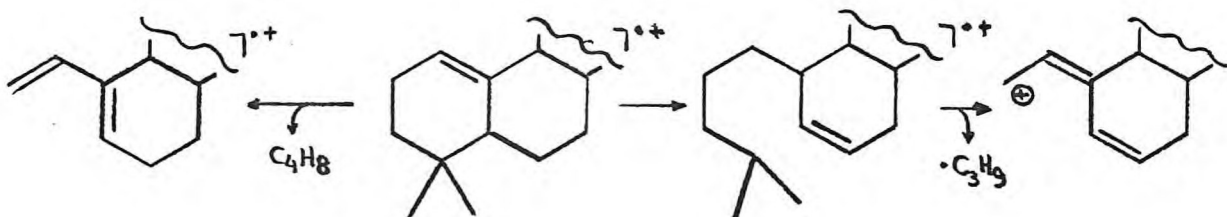
A absorção deslocada para frequência mais baixa, observada no I.V. para o estiramento C=C pode ser justificada admitindo-se que a referida dupla está conjugada a uma carbonila. A presença da carbonila é evidenciada por dados de RMN^{13}C , absorção a 166,07 δ ($\text{C}=\text{O}$) e de I.V. com absorções em 1714cm^{-1} (ν C=O) 1300cm^{-1} e 1180cm^{-1} (ν C-O). Considerando os sinais relativos aos protons olefínicos, onde um deles deve sofrer desproteção anisotrópica da carbonila(7), pode-se construir para a substância um sistema α, β -insaturado com dupla exocíclica (7,8).

O quarto átomo de oxigênio previsto pela fórmula molecular tem sua presença justificada pela absorção em 85,25 δ no espectro de RMN¹³C do átomo de carbono-8 (9). Em face disto é lícito admitir um resíduo δ -lactônico α, β -insaturado (XI) na estrutura de Aa-7CM:



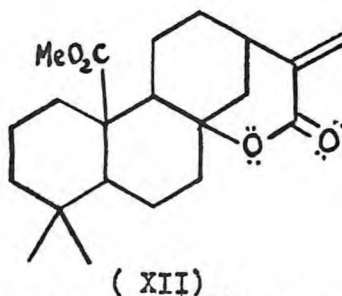
A reação de Aa-7CM com diazometano, bem como a pirólise do produto desta reação confirmam o grupo funcional acima.

O espectro de RMN¹H mostra ainda dois sinais simples (8,84 τ , 3H e 8,93 τ , 3H) que podem ser atribuídos a dois grupos metílicos terciários, I.V. (1390 e 1360 cm^{-1}) e cujas localizações sobre o carbono-4 podem ser justificadas em função de suas absorções 34,58 e 18,00 δ (quartetos) no espectro de RMN¹³C. Uma prova adicional para este fato pode ser encontrada pela análise do espectro de massa de Aa-7CM, onde o aparecimento dos picos em m/e 229 e m/e 230 u.m.a. podem ser justificados mecanisticamente a partir da condição proposta:



Deduzidas as insaturações das duas carbonilas e de uma dupla ligação carbono-carbono podemos considerar para Aa-7CM a estrutura de um sistema tetracíclico. O total de sete insuficiências satisfaz a fórmula molecular proposta. Aplicação correta da teoria do deslocamento químico em ¹³C, especialmente, os efeitos α, β, γ e δ da C=O; a recuperação dos dados de acoplamento pelo uso do SFORD (single-frequence off resonance decoupling), bem como a comparação dos dados de RMN¹³C de Aa-7CM com os dados de RMN¹³C de vários outros diterpenos estruturalmente semelhantes (11, 12) e com estruturas perfeitamente definidas, possibilitaram a composição da Tabela 1, na qual são mostrados o nº de carbono não protonados, monoprotonados, diprotonados e triprotonados.

Todos os argumentos lançados permitem propor para Aa-7CM a estrutura XII, de um novo diterpeno.

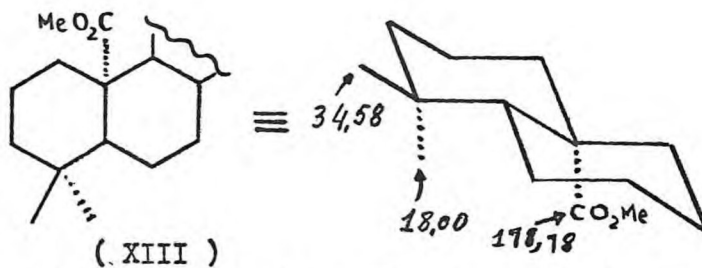


Correlação de dados de RMN¹³C de Aa-7CM com dados da literatura:

a) A conversão do carbono-19 em carbometoxi ou carbonila provoca proteção do CH₃-18 (efeito γ do oxigênio) em torno de 5,2 δ . Esta dedução baseia-se nos valores indicados para este carbono nas substâncias tomadas para as correlações (10 - 16).

Os deslocamentos químicos para os grupos metilas em Aa-7CM são 34,58 δ e 18,00 δ e para o grupo COOMe é de 178,78 δ . Estes valores não se coadunam com a situação de estereoquímica CH₃-18 β , COOMe-19 α e CH₃-20 α conforme observou-se em vários exemplos. Em face disso, pode-se propor para Aa-7CM, CH₃-18, CH₃-19 e COOMe-20.

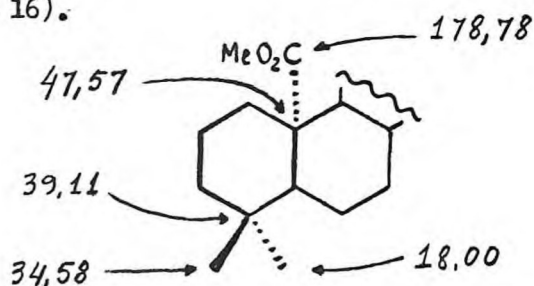
A possibilidade do C-18 corresponder ao grupo COOMe (CH₃-19 α e CH₃-20 α) pode ser eliminada devido a absorção do CH₃ em 34,58 δ . Neste caso, deveríamos ter a absorção do CH₃ em torno de 21,70 δ e ainda, devido ao efeito γ , este valor poderia ser menor que 21,70 δ para o CH₃-19 (10,12). Por outro lado, a estereoquímica com CH₃-20 orientado β , conduz a resultados idênticos, ou seja, a enantiômeros. Diante dos argumentos apresentados resta considerar a configuração indicada em (XIII):



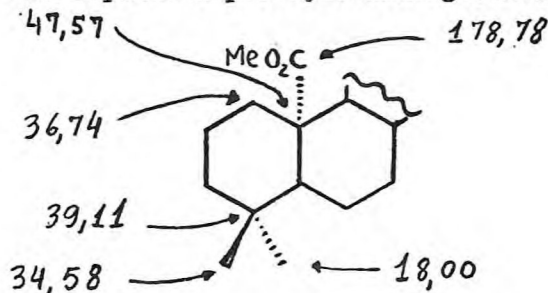
A ausência de absorção em torno de 0,8 δ (CH₃-20) no espectro de RMN¹H (fig. 5, pag. 18) está em acordo com esta dedução; CH₃-20 neste ambiente estrutural absorve nessa região (8).

b) A absorção do carbono-4 passa de 33,3 δ para 43,7 δ quando o CH₃-19 é convertido em COOMe ($\Delta \delta = 43,7 - 33,3 = 10,6 \delta$). Conseqüentemente,

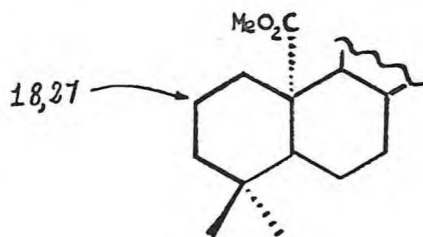
podemos atribuir ao carbono-10 o deslocamento químico de 47,57 δ e o carbono-4, absorve em 39,11 δ (10 - 16).



c) Pelas comparações de dados da literatura com relação ao carbono-3, deduz-se que a conversão de CH_3 -19 em COOMe provoca um deslocamento diamagnético, cujo $\Delta\delta$ médio é de aproximadamente 3,5 δ (10 - 16). Em face disso, pode-se admitir alteração análoga para o carbono-1 de Aa-7CM. Como nos modelos analisados o átomo de carbono-1 absorve em torno de 40,00 δ , pode-se atribuir ao carbono-1 de Aa-7CM o deslocamento químico de 36,74 δ (40,00-36,74= 3,26 δ). O $\Delta\delta = 3,26 \delta$ corresponde a proteção diamagnética acima mencionada.



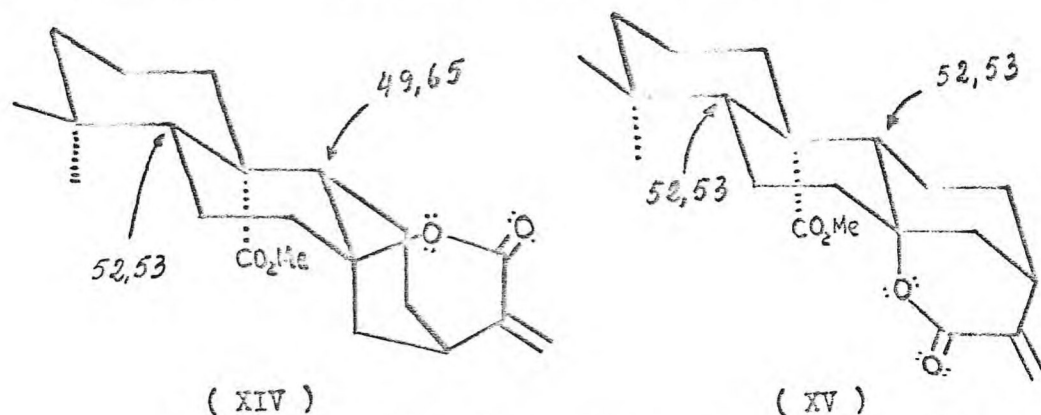
d) Comparação dos valores dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono-2 de substâncias estruturalmente semelhantes relacionadas na literatura (11 - 16) com os de Aa-7CM, permite atribuir para esse carbono a absorção de 18,27 δ .



e) A absorção de OCH_3 em 52,15 δ é óbvia.

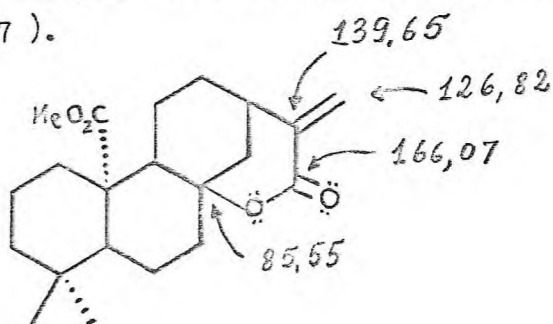
f) A maior constante de acoplamento residual (J^r) da banda em 52,15 δ indica que este átomo de carbono está ligado a hidrogênio que absorve em campo mais baixo no espectro de RMN^1H (fig. 5, pag. 18). O átomo de hidrogênio que aparece nessa situação é o sustentado pelo carbono-13 (7,04 τ , m , H-13). Consequentemente, o C-13 absorve em 52,15 δ (CH).

g) Os dois CH restantes correspondem a C-5 e C-9: 52,53 δ e 49,65 δ , respectivamente. Considerando-se a estereoquímica dos anéis C e D, temos duas possibilidades estruturais a considerar (XIV) e (XV):



Com base no efeito γ adicional do carbono carbonílico da lactona, pode-se admitir maior proteção no carbono-9, sendo este átomo de carbono o responsável pela absorção em 49,65 δ . Esta dedução está em acordo com o que se observa em algumas das substâncias com as quais foram feitas comparações (12). Em todos os casos, observam-se para C-5 absorções entre 50,00 δ e 57,00 δ .

h) As correlações entre os átomos de carbono 8,15,16 e 17, não revelam dificuldades (17).



i) Neste ponto, dispomos, ainda, de cinco absorções de CH_2 correspondentes aos átomos dos carbonos 6,7,11,12 e 14.

CH_2
40,07 δ
34,58 δ
30,91 δ
22,13 δ
16,33 δ

Estes átomos de carbono absorvem nas substâncias descritas em (12) a:

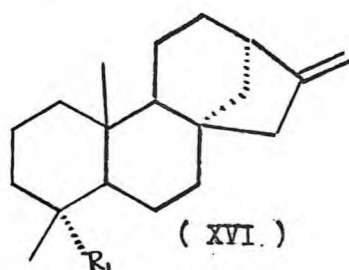
<u>C</u>	<u>A</u>	<u>B</u>	<u>$\Delta\delta$</u>
6	20,00 δ	20,30 δ	
7	36,40 δ	41,30 δ	4,9
11	18,20 δ	18,20 δ	
12	32,10 δ	33,30 δ	
14	33,60 δ	39,90 δ	6,3

Observa-se que a incorporação de um átomo de oxigênio no átomo de carbono-15 (grupo C=O) na substância B para formar a substância A (12) ocasiona modificações significativas nos deslocamentos químicos dos átomos dos carbonos 7 e 14. O átomo de oxigênio carbonílico exerce forte efeito γ de proteção. O mesmo se observa, embora em menor extensão, na δ -lactona em discussão. Assim, para os átomos de carbonos 7, 12 e 14, temos as absorções 40,07, 30,91 e 34,58 δ , respectivamente.

Ao carbono-11 foi atribuído a absorção em 16,33 δ e, ao carbono-6, 22,13 δ , o que está em acôrdo com os dados da referência (12).

As comparações de Aa-7CM com substâncias tomadas como referências, em parte ficam prejudicadas, devido as modificações decorrentes da expansão do anel de cinco membros (substâncias modelos) para seis membros (Aa-7CM). Em face disso, torna-se difícil decidir entre as alternativas (XIV) e (XV).

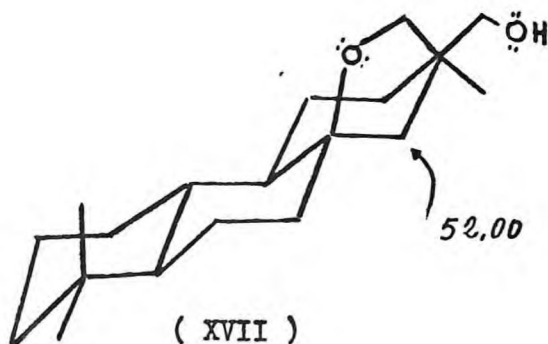
A ação do grupo carbometoxi sobre o carbono-6, efeito δ , protegendo-o, é prevista, já que ocupa posição análoga a um carbometoxi-19 (10, 11, 12; 13, 14 e 16). Desta maneira, verifica-se o deslocamento dos sinais relativos ao carbono-6, para campo mais baixo a medida que C-19 é representado por funções diferentes como em (XVI):



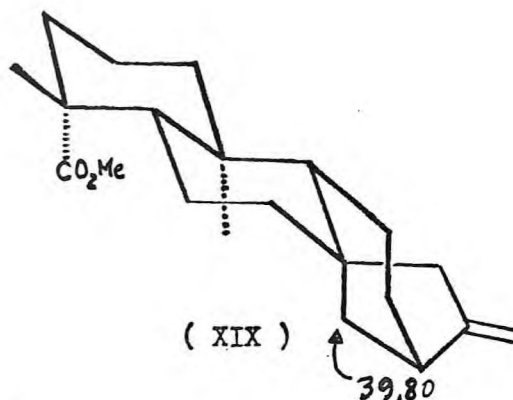
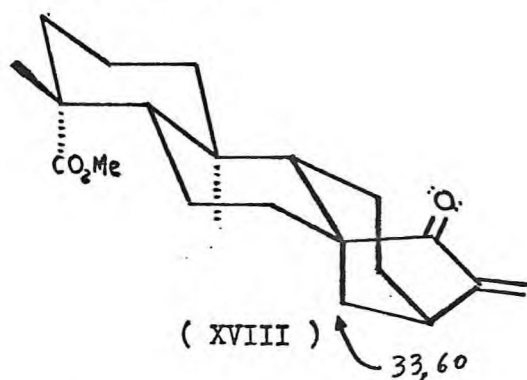
	<u>C-6</u>
$R_1 = \text{Me}$	20,3 δ
$R_1 = \text{COOH}$	22,5 δ
$R_1 = \text{COOMe}$	21,9 δ

Considerando que a orientação análoga do COOMe em Aa-7CM envolveria influência semelhante no carbono-11, a estrutura (XV) deveria sentir este efeito. No entanto, o valor observado demonstra proteção, o que torna a estrutura (XIV) mais provável.

A possibilidade configuracional (XV) fica ainda afastada devido a ausência de absorção em torno de 52,00 δ para CH_2 , pois neste ambiente estrutural o carbono-14 (CH_2) absorveria nesta região, conforme é mostrado na estrutura (XVII) (9).



Uma prova adicional em favor da configuração (XIV) é mostrada nas estruturas (XVIII) e (XIX) onde os carbonos-14 absorvem em 33,6 e 39,8 δ , respectivamente.



Os dados interpretados do espectro de massa (Quadro 1, pag. 20), são compatíveis com a estrutura (XIV) proposta.

TABELA 1.

DADOS DE RMN¹³C (CDCl₃, τ) de Aa- 7CM.

<u>C</u>	<u>CH</u>	<u>CH₂</u>	<u>CH₃</u>
178,8	52,53	126,82	52,15
166,6	52,15	42,01	34,58
139,65	49,65	40,07	18,00
85,25		36,74	
47,57		34,58	
39,11		30,91	
		22,13	
		18,27	
		16,33	
<u>C₆</u>	<u>C₃H₃</u>	<u>C₉H₁₈</u>	<u>C₃H₉</u> = C ₂₁ H ₃₀

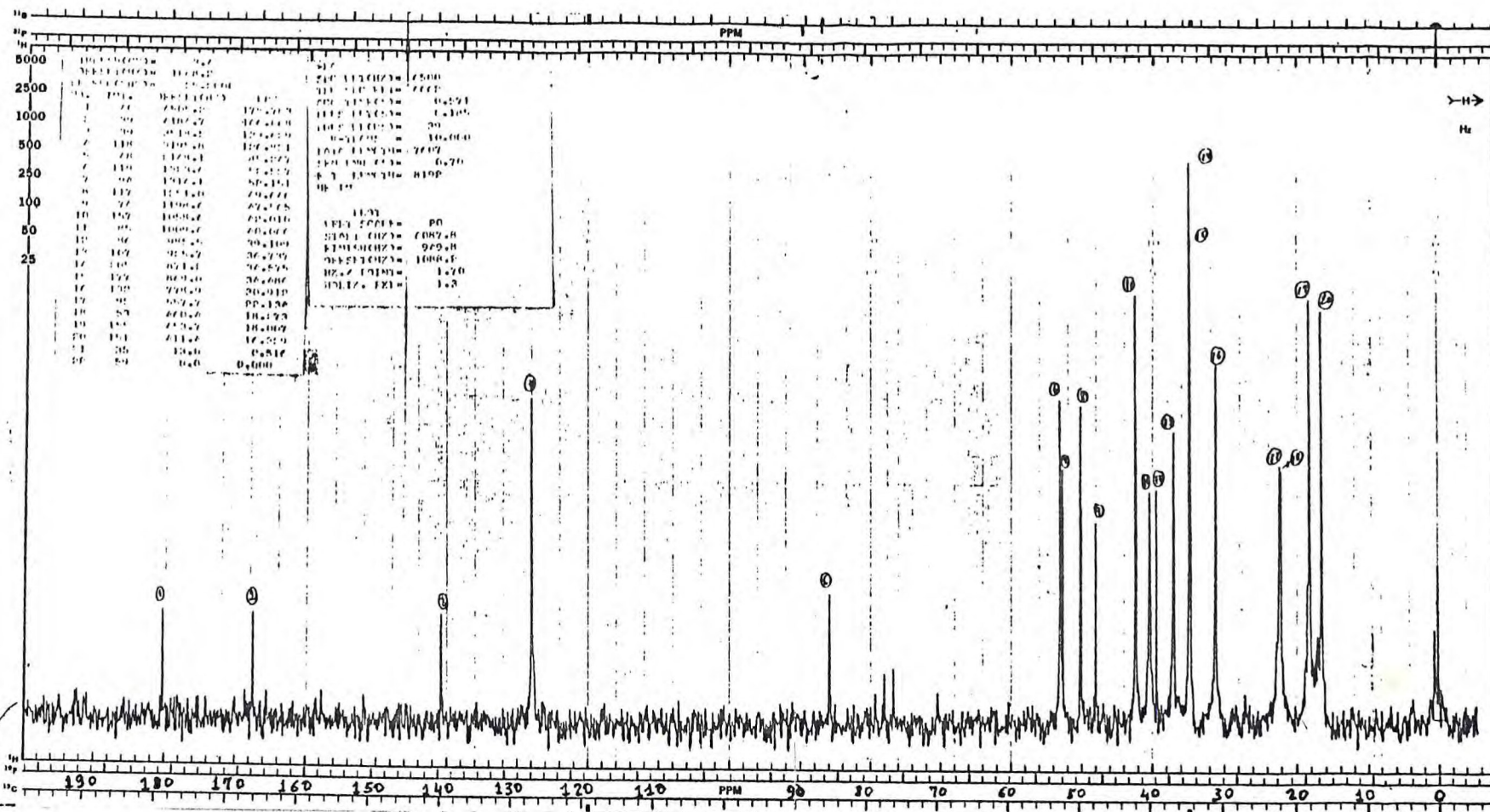


Fig. 1 - Espectro de RMN ¹³C (desacoplado) de Aa-7CM

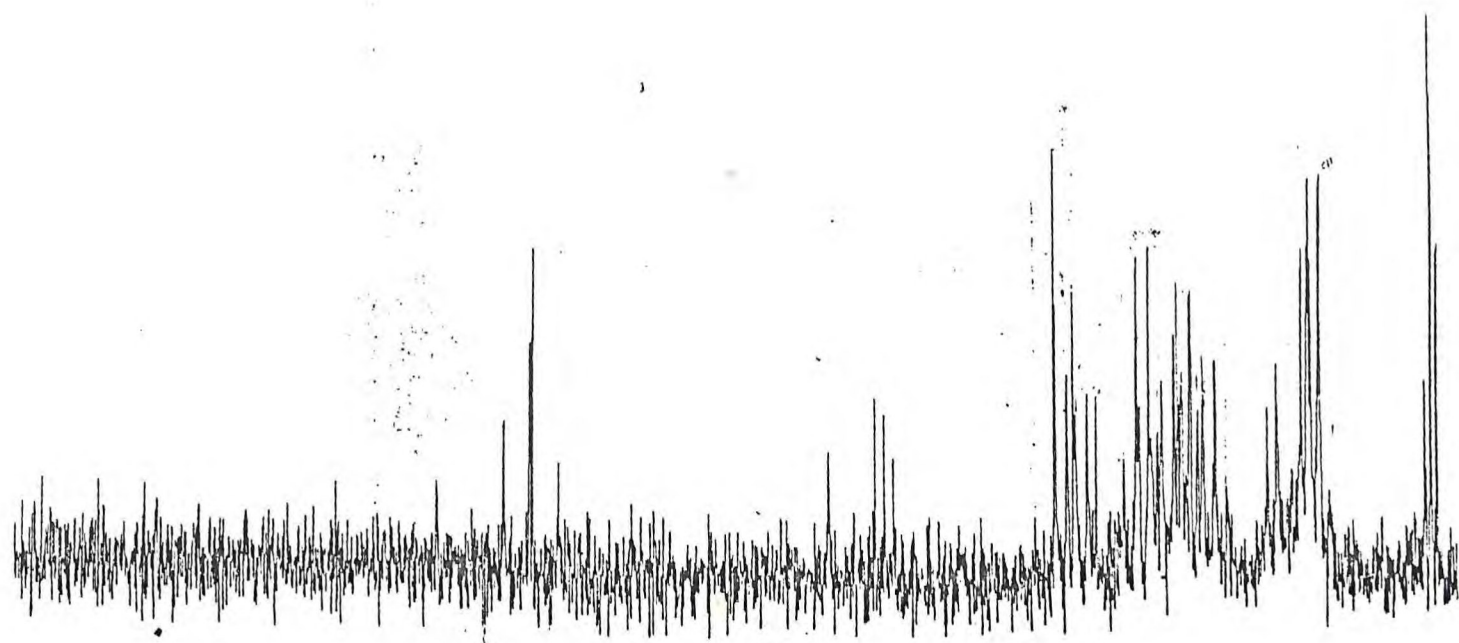


Fig. 2 - Espectro de RMN¹³C (com acoplamento residual) de Aa-7CM

DADOS DE ESPECTROMETRIA DE MASSA DE ALTA RESOLUÇÃO DE Aa- 7CM

<u>Contribuição</u>		<u>Elementar</u>		<u>m/e</u>	<u>%</u>
<u>C</u>	<u>¹³C</u>	<u>H</u>	<u>O</u>		
24	1		6		
20	1	30	4	347,2163	3,28
21	0	30	4	346,2131	12,81
20	0	28	4	332,1944	6,13
19	1	27	4		
20	0	27	4	331,1897	30,84
21	0	28	3	328,2045	4,92
20	0	28	2	300,2075	3,32
18	1	27	2	288,2032	11,21
19	0	27	2	287,1986	58,81
19	0	26	2	286,1917	45,75
19	0	21	2	281,1534	2,31
18	0	24	2	272,1736	5,08
17	1	23	2		
18	0	23	2	271,1694	24,62
19	0	25	1	269,1900	2,75
18	1	24	1		
19	0	24	1	268,1813	4,50
18	0	21	1	253,1570	5,94
18	0	25	0	241,1913	2,07
15	0	19	2	231,1367	4,09
17	0	23	0	227,1787	10,22
14	0	18	2	218,1291	2,85
13	1	17	2		
14	0	17	2	217,1222	7,22
13	0	17	2	205,1219	7,52
12	1	16	2		

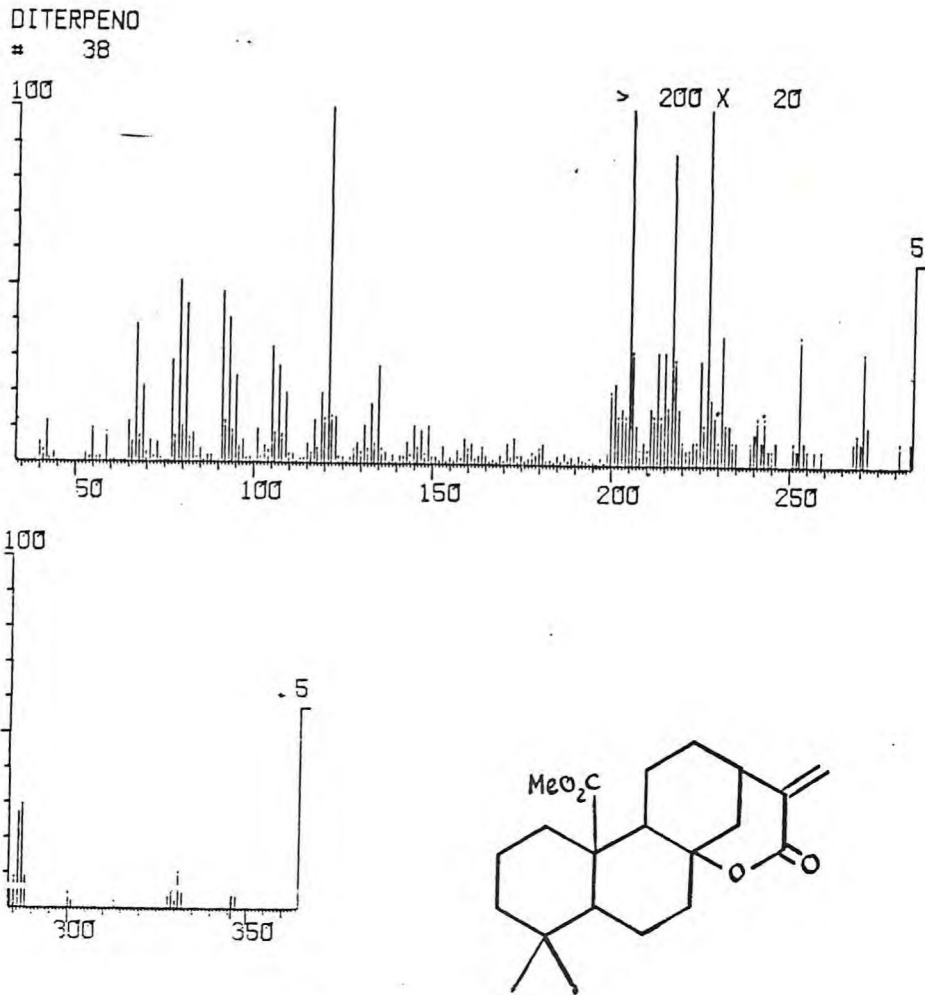


Fig. 3 - Espectro de massa de Aa-7CM

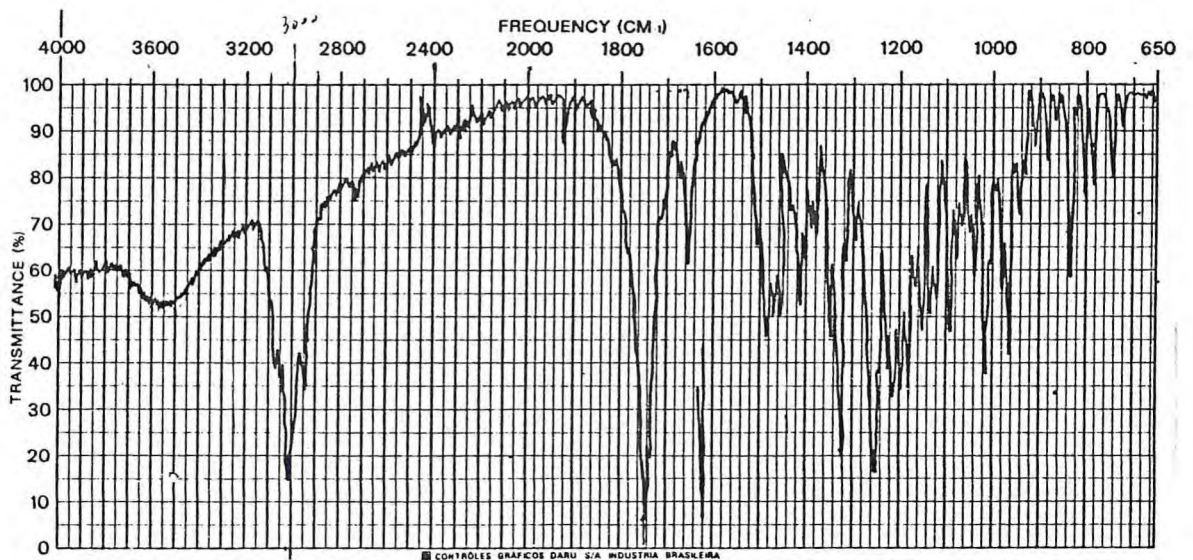
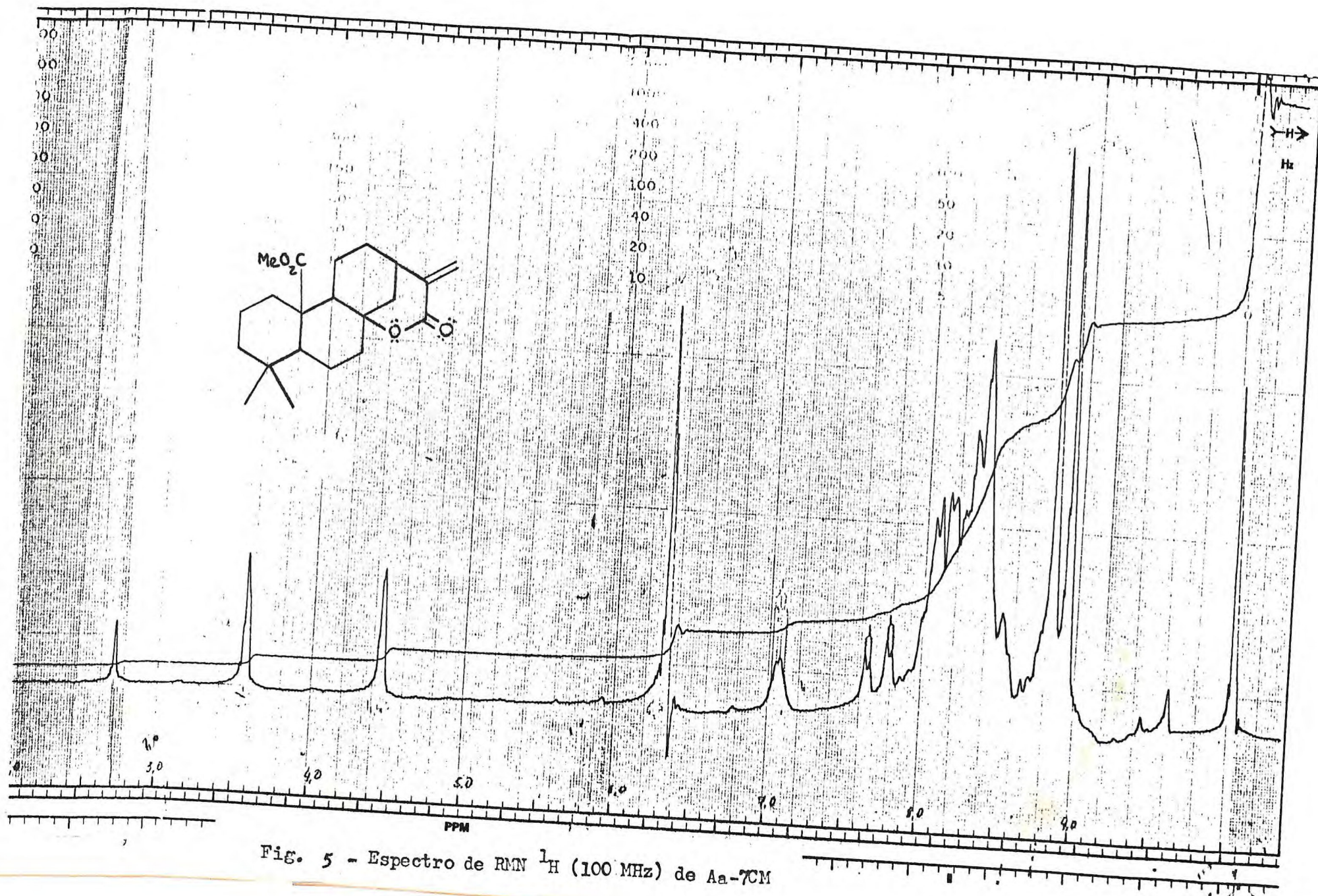


Fig. 4 - Espectro de I.V. de Aa-7CM



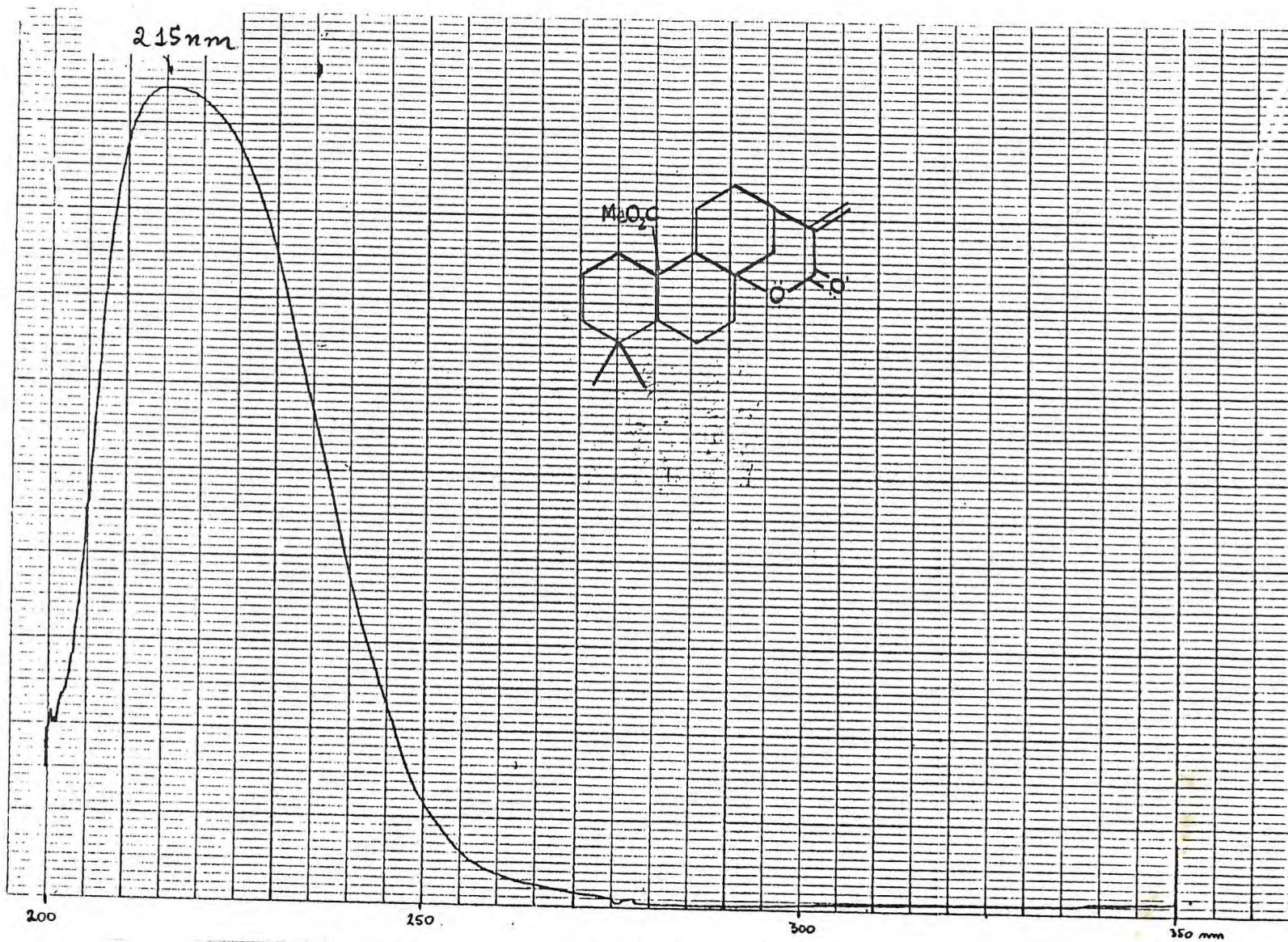
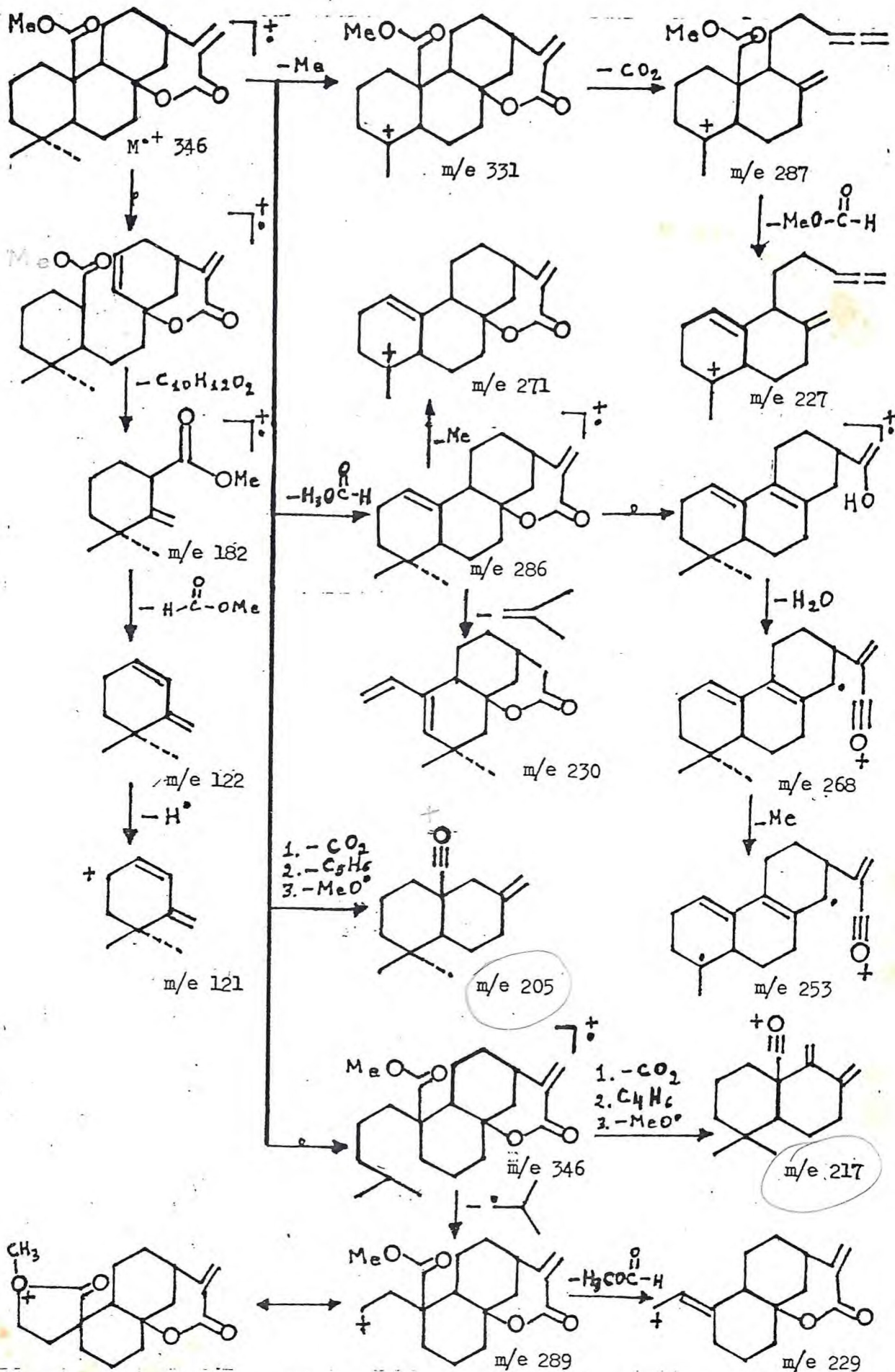


Fig. 6 - Espectro de U.V. de AB-7CM



Quadro 1 - Possíveis caminhos de fragmentação para Aa-7CM no espectrometro de massa.

2.2. Aa- LCM

2.2.1. Fórmula molecular:

A determinação da fórmula molecular deste constituinte, também inédito, foi elaborada com base nos seguintes fatos:

a) O espectro de RMN^1H (fig. 7, pag. 23) de Aa- LCM mostrou como diferença significativa em relação ao de Aa- 7CM (fig. 5, pag. 18), a ausência da banda simples em $6,3 \tau$, atribuída aos protons de uma metoxila.

b) O espectro de massa (fig. 8, pag. 24) de Aa- LCM mostrou o pico molecular a 322 u.m.a., portanto, com uma diferença de 14 u.m.a. em relação ao de Aa- 7CM.

Estes dados em conjunto permitem, então, propor para Aa- LCM a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_4$.

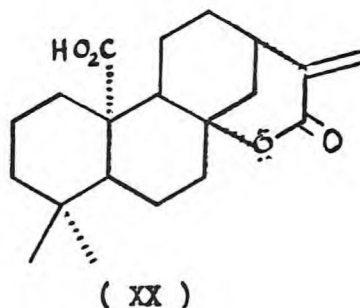
2.2.2. Fórmula estrutural:

O estudo detalhado do espectro de RMN^1H (fig. 7, pag. 23) de Aa- LCM revelou, com exceção do sinal em $6,3 \tau$, ausente, como já descrito, aspecto semelhante ao espectro de RMN^1H de Aa- 7CM. Assim, aparecem no espectro sinais correspondentes aos protons olefínicos: duas bandas largas centradas em $3,52 \tau$ e $4,42 \tau$; uma banda múltipla isolada de $6,96$ a $7,16 \tau$, correspondente ao proton alílico, ligado ao carbono-13; um quarteto ($7,70 \tau$, $J_{\text{gem}} = 14,5\text{Hz}$ e $J_{\text{vic}} = 4,0\text{Hz}$) atribuído ao proton equatorial ligado ao carbono-14, além de dois singletes intensos a $8,76$ e $8,88 \tau$, representando dois grupos metilas terciários.

O espectro no I.V. (fig. 9, pag. 24) de Aa- LCM mostra uma outra característica significativa com relação a Aa- 7CM, que é a presença adicional de uma banda ($3000-2500\text{cm}^{-1}$), cuja localização, aliada a feição arredondada, sugere uma absorção típica de estiramento de OH de ácidos carboxílicos. A absorção no espectro de I.V. de Aa- LCM a 1680cm^{-1} pode ser associada a estiramento C=O do grupo -COOH.

Em face dos argumentos discutidos é lícito admitir que a única diferença estrutural entre as duas substâncias reside no fato de que Aa- 7CM é o éster metílico de Aa- LCM. Assim, a absorção intensa no I.V. a 1710cm^{-1} é justificada, atribuindo-a ao estiramento C=O de δ -lactona que é confirmada pelo estiramento da ligação C-O (1180cm^{-1}).

Logo, Aa- LCM deve possuir a estrutura (XX).



O fragmento em m/e 275 interpretado a partir do seu espectro de massa, concorda também, com a estrutura contendo os dois grupos metilas na posição 4.

São conhecidos poucos diterpenos contendo grupo carboxi ou carbometoxi no carbono-10 (18, 19) e alguns com função oxigenada no carbono-8 (22, 23,24), tais como os dois diterpenos aqui apresentados.

O Quadro 2, pag. 25', mostra os possíveis caminhos de fragmentação de Aa- ICM no espectrômetro de massa.

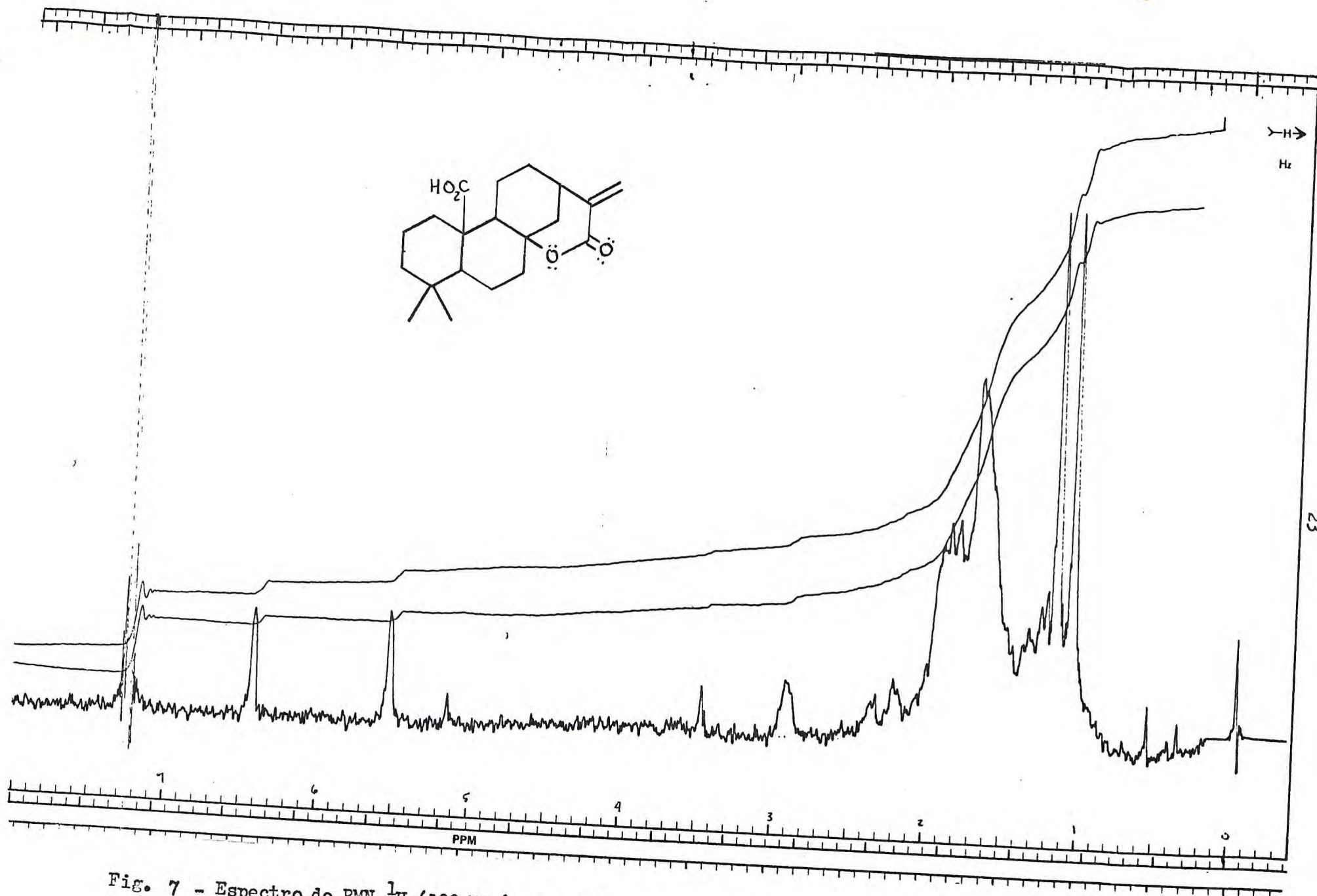


Fig. 7 - Espectro de RMN ^1H (100.MHz) de Aa-ICM

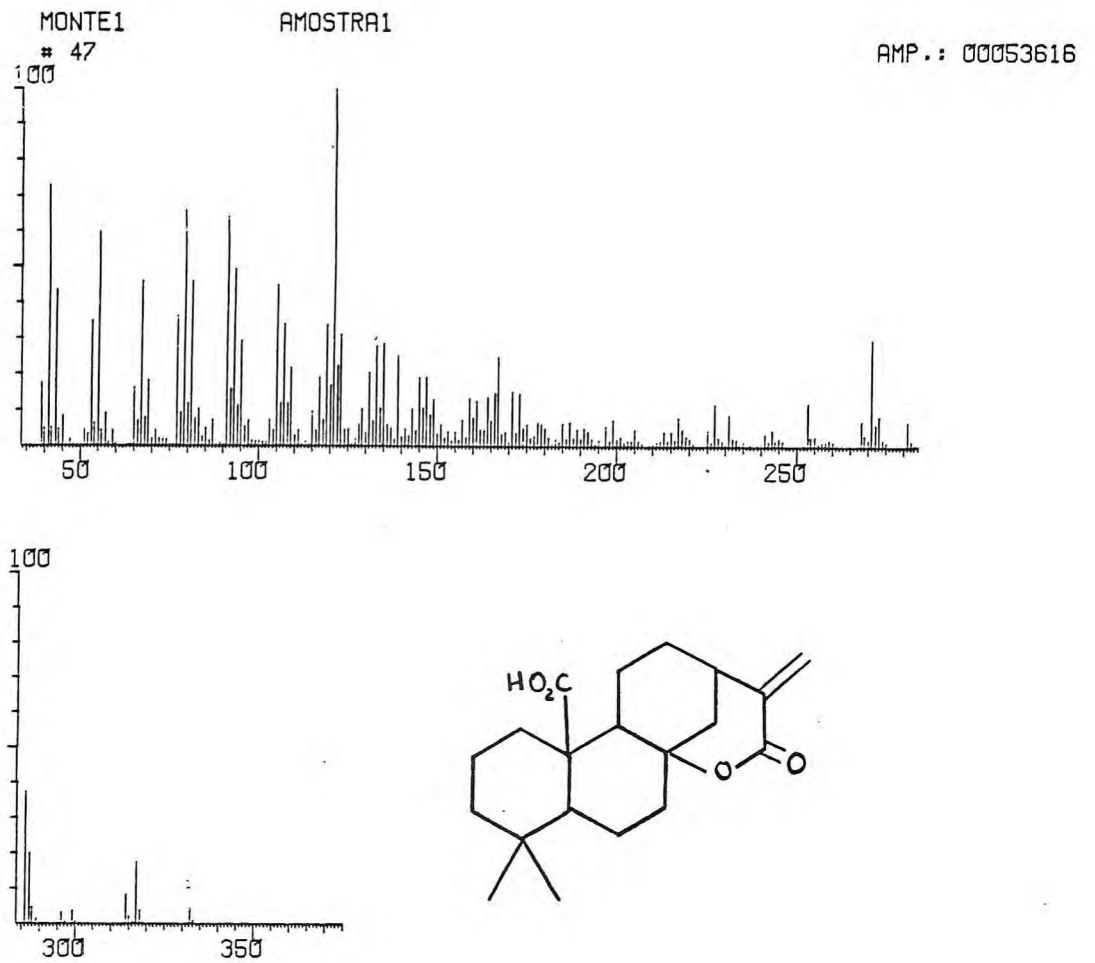


Fig. 8 - Espectro de massa de Aa-ICM

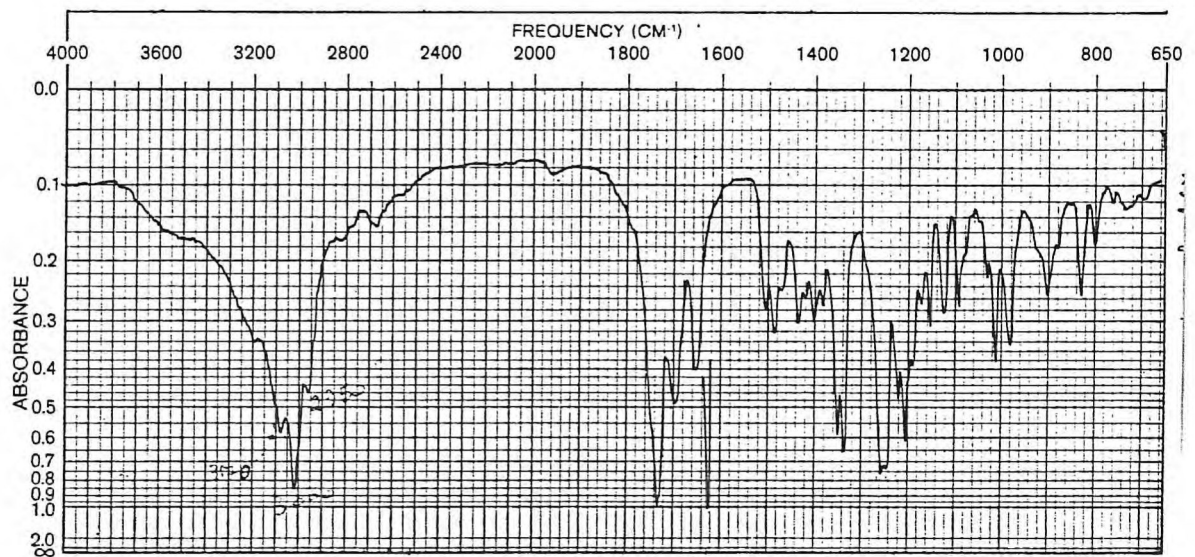
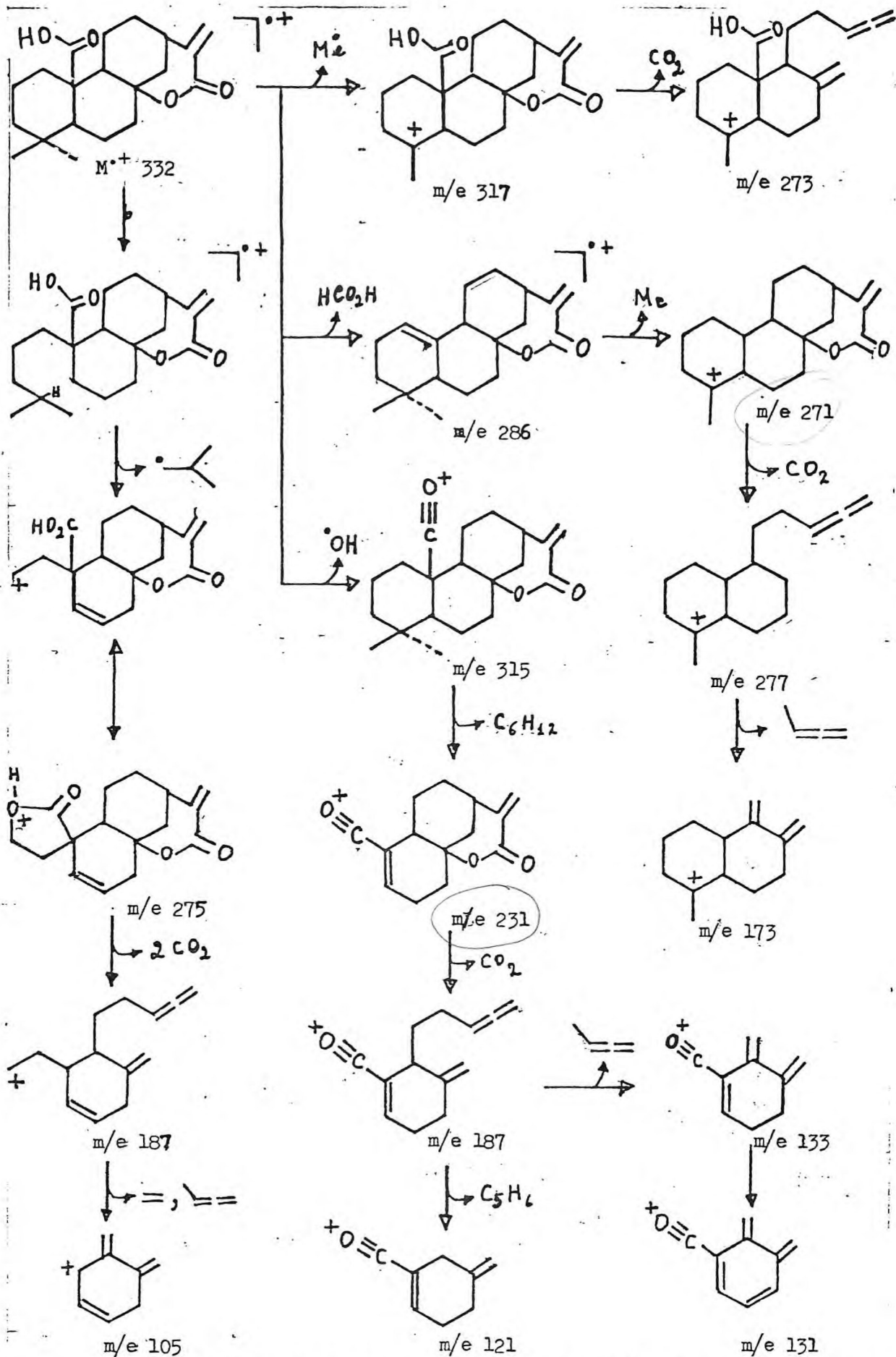


Fig. 9 - Espectro de I.V. de Aa-ICM



Quadro 2 - Possíveis caminhos de fragmentação para Aa_LCM no espectrometro de massa.

3. CONSIDERAÇÕES SOBRE OS DERIVADOS DE Aa-7CM e Aa-1CM

Com objetivo de comprovar determinadas características estruturais evidenciadas em Aa-7CM e Aa-1CM algumas reações químicas foram feitas; Os resultados são descritos a seguir:

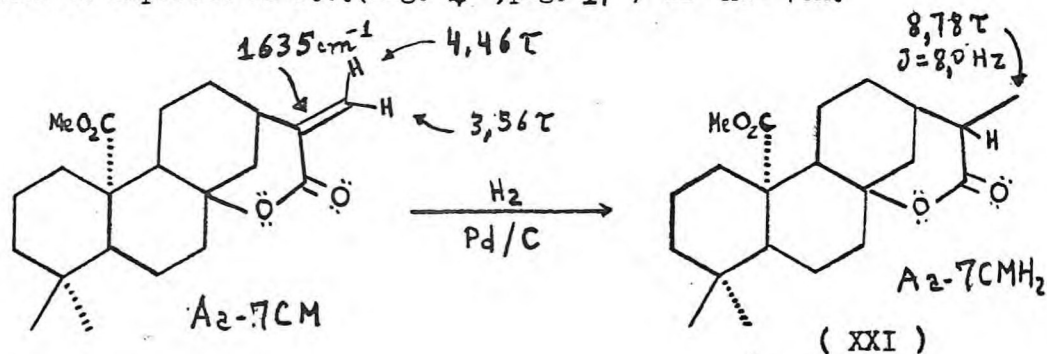
3.1. Hidrogenação de Aa-7CM

A hidrogenação catalítica de Aa-7CM tendo Pd/C como catalisador deu origem a um único produto Aa-7CM H₂ (XXI). A existência da dupla ligação Carbono-Carbono em Aa-7CM ficou comprovada pela análise dos seguintes fatos:

a) desaparecimento dos sinais atribuídos aos prótons olefínicos da substância natural no espectro de RMN¹H (fig. 10, pag. 33) do produto de reação e, o conseqüente, aparecimento no mesmo espectro de um duplete em 8,78 τ, J= 8,0 Hz;

b) o espectro de massa (fig. 11, pag. 34) do produto de reação apresentou o pico molecular a 348 u.m.a. ou seja, com duas unidades de massa a mais do que a substância de partida, mostrando que houve incorporação de dois átomos de hidrogênio;

c) no espectro de I.V. (fig. 12, pag. 34) do produto de reação houve o desaparecimento da banda em 1635cm⁻¹, atribuída ao estiramento C=C, presente no espectro de I.V. (fig. 4, pag. 17) de Aa-7CM.



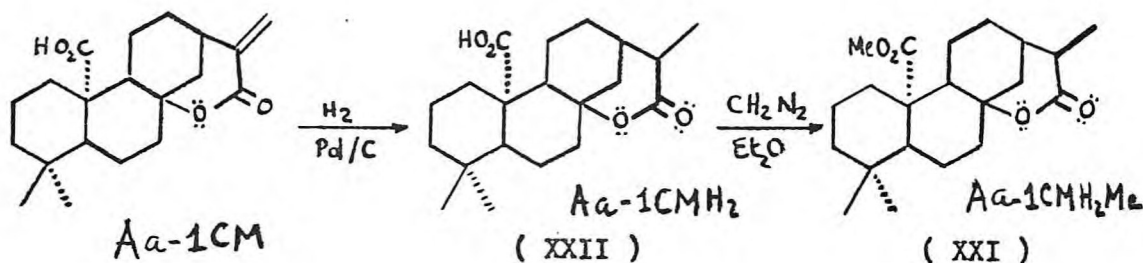
3.2. Hidrogenação e posterior metilação de Aa-1CM

Visando mostrar que Aa-1CM é, de fato, o ácido correspondente ao éster metílico, Aa-7CM, conforme foi discutido (pag. 21), procedemos a hidrogenação catalítica de Aa-1CM, seguido de metilação com diazometano.

Análise dos dados espectrais do produto da primeira reação (Aa-1CMH₂) (XXII) revela que houve hidrogenação da dupla ligação C=C de acordo com as seguintes deduções: O espectro no I.V. (fig. 16, pag. 37) do derivado não exibe a banda de absorção em 1632cm⁻¹ (C=C), mostrada no espec

tro de I.V. (fig. 9 , pag. 24) da substância original; o espectro de massa (fig. 13 , pag. 35) mostra um íon molecular com duas unidades de massa a mais (M^+ 334) do que Aa-1CM, demonstrando com isso a incorporação na molécula de um mol de hidrogênio, e, finalmente, no espectro de RMN^1H (fig. 14 , pag. 36) não aparecem as absorções em 3,63 e 4,52 τ , correspondentes aos protons olefínicos de Aa-1CM.

Aa-1CMH₂, foi então metilado por reação com CH_2N_2/Et_2O . O espectro de RMN^1H (fig. 14 , pag. 36) do derivado exibe um sinal intenso e simples em 6,31 τ que pode ser atribuído aos protons de um grupo $-C^{\delta}OCH_3$. O espectro de massa (fig. 15 , pag. 37) indica para o derivado a massa molecular de 348 u.m.a., o que corresponde a um aumento de 14 u.m.a., ou seja, a transformação do grupo -OH, do ácido no grupo -OCH₃, do éster.



Comparação dos dados espectrais de Aa-7CMH₂ e Aa-1CMH₂Me (pag. 67 e 69), demonstra a identidade de ambas as substâncias, o que confirma que Aa-7CM é realmente o éster metílico do ácido Aa-1CM. A identidade foi observada também por cromatografia em camada fina.

3.3. Reação de Aa-1CM com diazometano

A ação do diazometano sobre Aa-1CM originou um produto, cujo espectro de RMN^1H (fig. 17 , pag. 40) revela um sinal intenso em 6,3 τ , atribuído ao grupo -OCH₃ do éster metílico produzido. Este fato era esperado, pois Aa-1CM, foi descrita anteriormente como sendo um ácido carboxílico. O que surpreendeu, a princípio, na análise desse espectro foi o desaparecimento dos sinais correspondentes aos protons olefínicos que apareciam no espectro de RMN^1H (fig. 7 , pag. 23) de Aa-1CM. Através de consulta a bibliografia especializada, verificou-se, no entanto, que diazometano adiciona-se a ésteres, cetonas, aldeídos, nitrilas, acetais, tioésteres, nitrocompostos, α, β -insaturados, produzindo compostos nitrogenados cíclicos, estáveis, as pirazolin-1 (25-31):

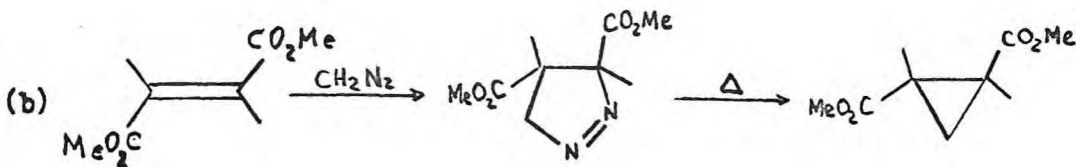
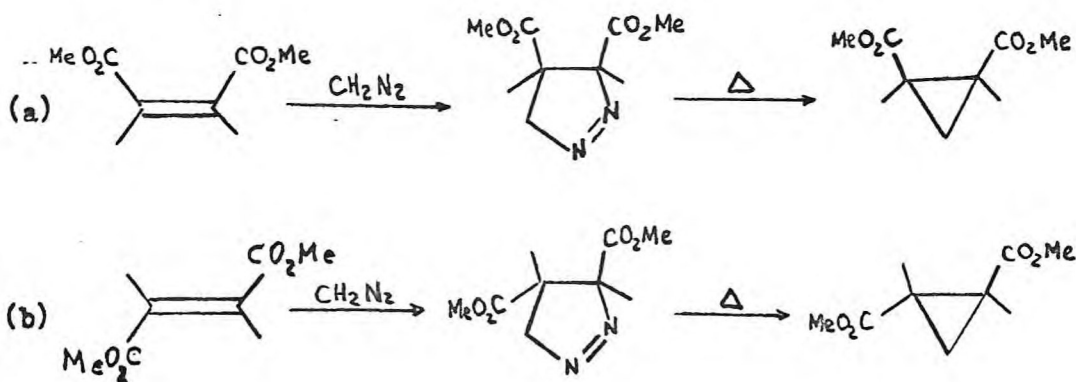


Estas reações são classificadas como "cicloadições 1,3- dipolares" (25), onde o grupo nucleofílico metilênico liga-se ao carbono- β (25,28), ficando o nitrogênio terminal do diazometano ligado ao carbono portador do(s) grupo(s) receptor(s) de eletrons. Isto é demonstrado pelas reações estereoespecíficas a e b abaixo (25 e 28), e pelo acoplamento observado entre os protons sustentados pelos carbonos 4 e 5 do anel pirazolinico (27 e 28).

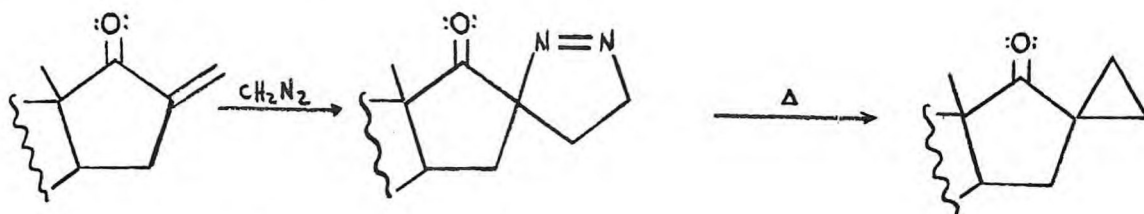
As pirazolinas são caracterizadas espectrometricamente pela banda entre 1540 e 1570cm^{-1} no I.V. (27-32) atribuída a função cis-azo (\checkmark N=N) e pela absorção de baixa intensidade a $325 \pm 5\text{nm}$ no U.V.(27,28,29,31), devido a transição $n \rightarrow \pi^*$, típica de azoalcanos.

Termólise das pirazolinas, resulta na eliminação de nitrogênio e na conseqüente formação de derivados olefínicos, ciclopropânicos ou de ambos. O tipo de produto depende, sobretudo, dos grupos retiradores de eletrons e dos substituintes no átomo de Carbono-4 do anel pirazolinico, bem como, se este carbono é mono ou dissubstituído (25,28,29). Exemplos:

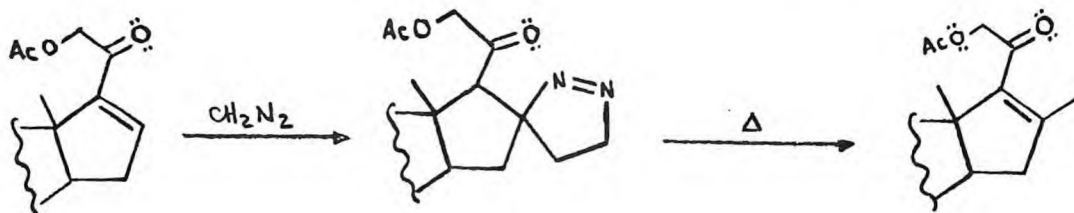
a) Adição estereoespecífica com malonato de dietila e fumarato de dietila (25).



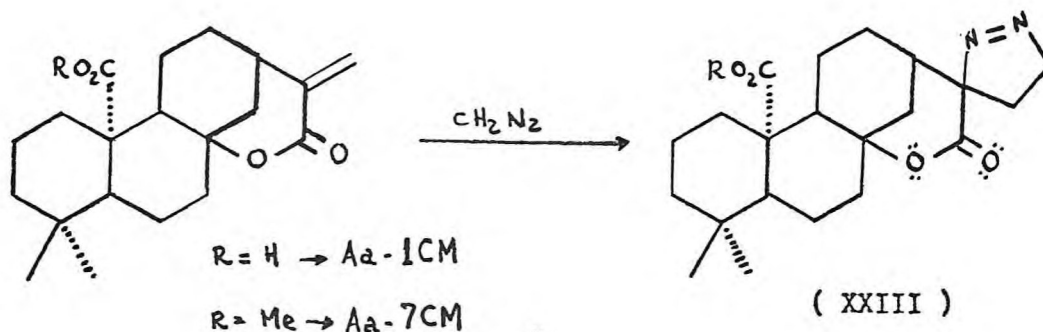
b) Spiro-pirazolinas são produzidas a partir de 16-metileno-17-cetonas. Os únicos produtos formados por pirólise são os 16-spirociclopropil esteroides (25).



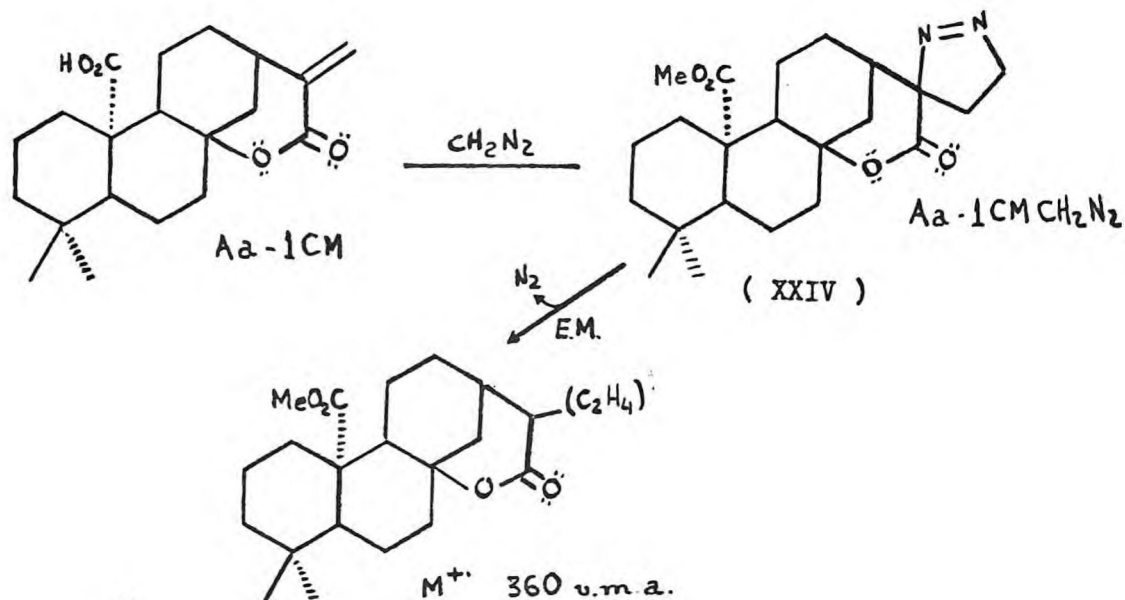
c) A formação e posterior pirólise de pirazolininas são utilizadas nas sínteses (33,34) e modificações de esteroides, como por exemplo, na introdução de grupos metilas na posição-16 dos mesmos (32,35).



Aa-1CM e Aa-7CM, do mesmo modo que os compostos mostrados, fazem parte das chamadas "olefinas ativadas" (grupo retirador de eletrons α,β -insaturado) e, conseqüentemente, podemos explicar a observação feita sobre o desaparecimento dos protons olefínicos, postulando a formação de pirazolininas, a partir de lactonas α,β -insaturadas:



Confirmação adicional da formação do produto pirazolínico a partir da reação de diazometano com Aa-1CM pode ser obtida pela análise do espectro no I.V. (fig. 19, pag. 41) do produto, onde aparece uma absorção em 1565cm^{-1} , causada pelo estiramento $-\text{N}=\text{N}-$. O peso molecular encontrado para o produto de reação, 360 u.m.a., quando o esperado seria de 388 u.m.a., pode ser explicado, levando-se em conta as condições em que o aparelho trabalha, a expulsão de N_2 , através de uma reação térmica é extremamente facilitada.



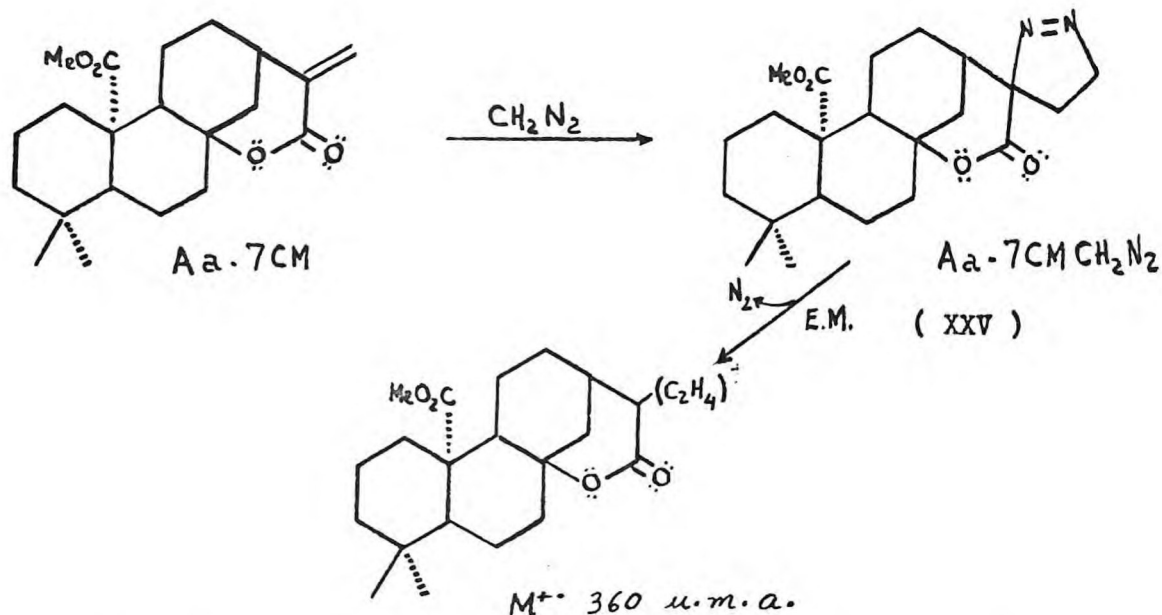
A possibilidade acima sugerida, não é novidade, levando-se em conta as termólises de pirazolinias discutidas na pag.27.

A observação no espectro de RMN¹H (fig. 17 , pag. 40) do derivado, de uma banda múltipla entre 5,05 - 5,5 τ , característica de um grupo metilênico adjacente a - N = N - (25,26,27), reforça ainda mais a possibilidade da formação da pirazolina a partir de Aa- 1CM.

3.4.Reação de Aa- 7CM com diazometano

Também, neste caso, ocorreu adição do reagente a Aa- 7CM, já que seu espectro no I.V. (fig. 21 , pag. 42) exibe uma banda de absorção em 1565cm⁻¹ que pode ser correlacionada ao ν N = N e o seu espectro de U.V. (fig. 22 , pag. 43), além do máximo em 220nm, observado no espectro de U.V. (fig. 6 , pag. 19), de Aa- 7CM, mostra uma outra absorção em 330nm "proporcionada" pelo cromóforo azo (N = N).

Como outros dados, observa-se no espectro de RMN¹H (fig. 23 , pag. 44) do derivado a banda múltipla compreendida entre 4,45 a 5,0 τ (- CH₂- N = N -), bem como, todos os outros sinais esperados. O espectro de massa (fig. 20 , pag. 42) revelou-se compatível com o já esperado pico molecular a 360 u. m.a., perda de 28 u.m.a. (N₂) no espectrometro de massa.



A identidade entre as pirazolininas (XXIV) e (XXV) se verificada, seria uma prova a mais em favor das estruturas propostas para Aa-1CM e Aa-7CM. Esta identidade, é facilmente detectada em função dos seguintes dados:

a) Os espectros de I.V. (figs. 19 e 21, pags. 41 e 42) das duas substâncias são "semelhantes", destacando-se a absorção em 1565cm^{-1} , correspondente a $\nu - \text{N} = \text{N} -$.

b) Os espectros de RMN^1H (figs. 17 e 23, pags. 40 e 44) são iguais, inclusive, o aparecimento de bandas múltiplas na região de 5,0 a 5,5 τ , atribuídas as absorções dos grupos metilênicos vizinhos a $-\text{N}=\text{N}-$ ($-\text{CH}_2-\text{N}=\text{N}-$);

c) Os espectros de massa (figs. 18 e 20, pags. 41 e 42), mostram os mesmos íons moleculares ($\text{M}^+ 360$ u.m.a.), os mesmos picos bases ($m/e 121$ u.m.a.), além dos demais picos em comum;

d) Os pontos de fusão de ambas ocorreram entre $137 - 141^\circ\text{C}$;

e) Cromatografia em camada fina, mostrou para as substâncias o mesmo R_f em três sistemas de solventes.

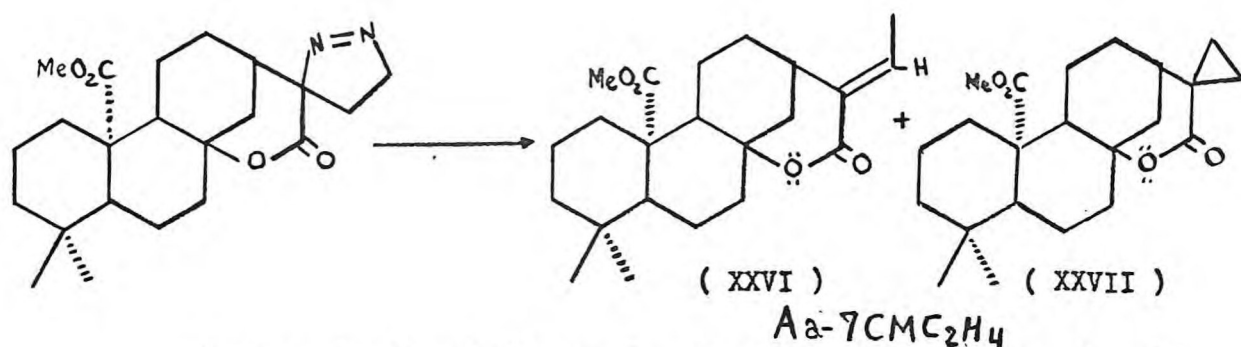
3.5. Termólise de Aa-7CMCH₂N₂

Voltados para as possibilidades discutidas anteriormente com relação a possível obtenção de produtos olefínicos e/ou ciclopropânicos a partir de termólises das pirazolininas obtidas, verificamos que, os dados espectrais sugerem a formação daqueles dois produtos. Assim, o quarteto centrado em 3,72 τ , $J = 7,4$ Hz, o dubleto em 7,8 τ , $J = 7,4$ Hz, bem como, a banda múltipla compreendida entre 8,65 e 9,36 τ , visto no espectro de RMN^1H (fig. 24, pag. 46), estão em acôrdo com a presença simultânea da olefina e do spiro-ciclopropano.

Dupla irradiação da banda correlacionada ao proton olefínico (quarteto, 3,72 τ) e sobre a absorção devida ao grupo metila (dubleto, 7,8 τ),

transforma-os em sinais simples, comprova o acoplamento entre eles e, em consequência, a existência do derivado olefínico (Fig. 25, pag. 47).

Por outro lado, o multiplete observado em campo alto (8,65 a 9,35 τ), destacando-se os sinais acima de 9,0 τ , são característicos de protons, fazendo parte de um anel ciclopropânico (36,37). A ausência de tais absorções no espectro de RMN¹H (fig. 23, pag. 44) da substância não pirolisada, reforça a tese de formação do derivado ciclopropânico (XXVII) no meio reacional.



O peso molecular de 360 u.m.a., concorda com a presença da mistura.

3.6. Termólise de $Aa-1CMCH_2N_2$

Reação de $Aa-1CMCH_2N_2$, nas mesmas condições da reação acima, forneceu a mistura dos produtos (XXVI) e (XXVII) ($Aa-1CMC_2H_4$). A identidade das misturas foi confirmada por espectrometria de massa (Figs. 26, 27, pags. 48, 49) e cromatografia em camada fina.

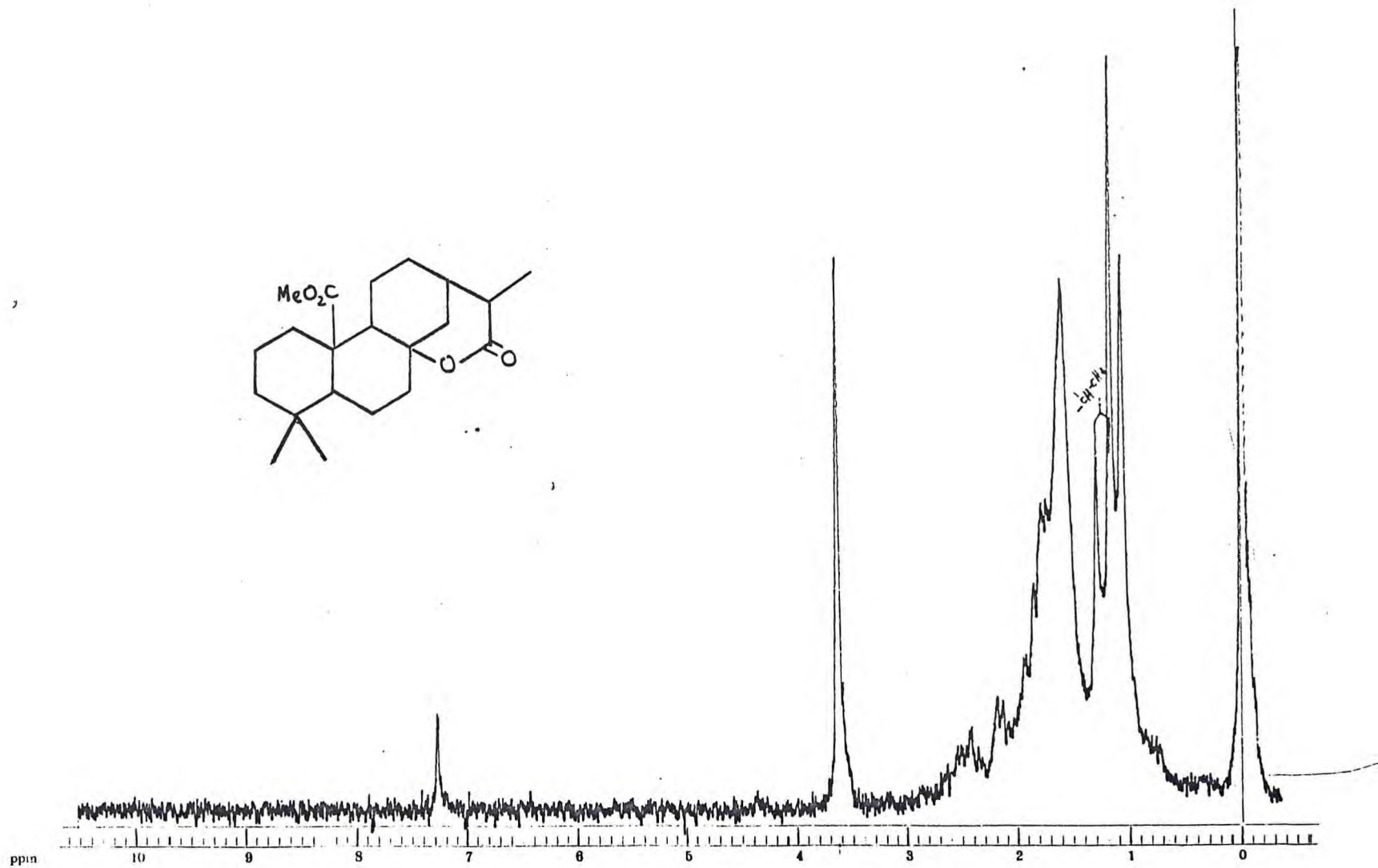


Fig. 10 - Espectro de RMN^1H (60 MHz) de Aa-7CMH_2

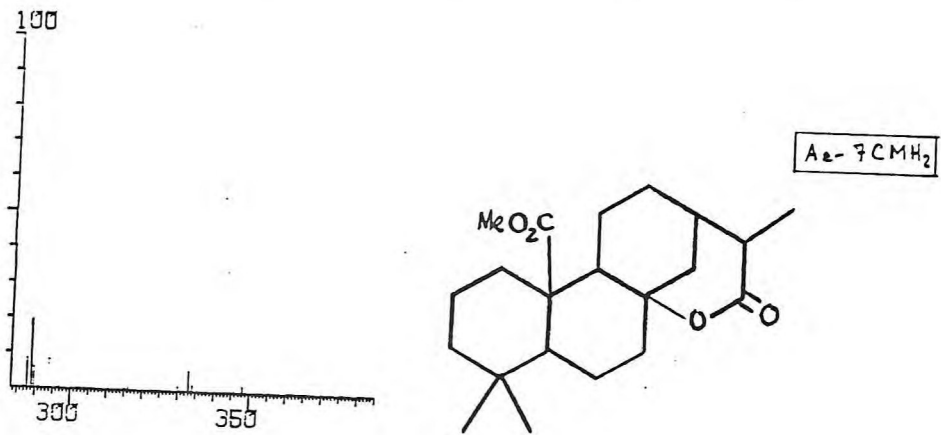
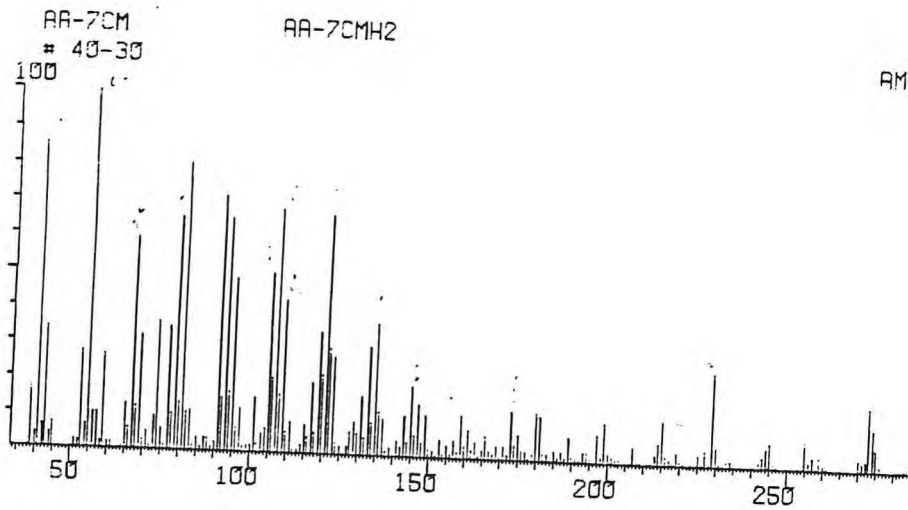


Fig. 11 - Espectro de massa Aa-7CMH₂

11

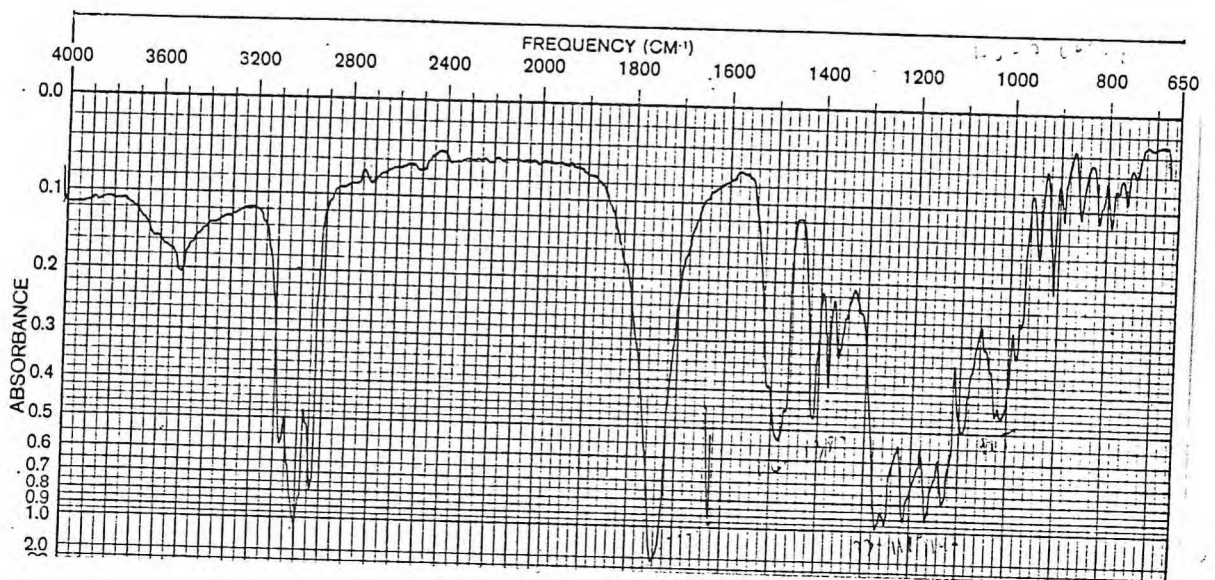
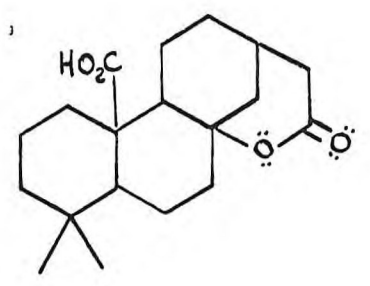
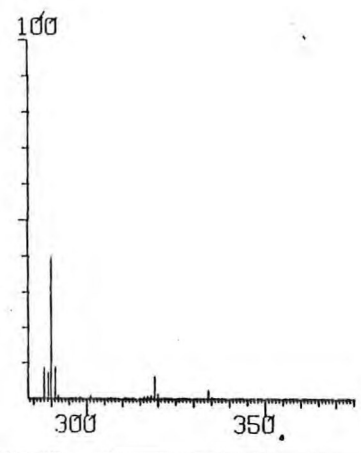
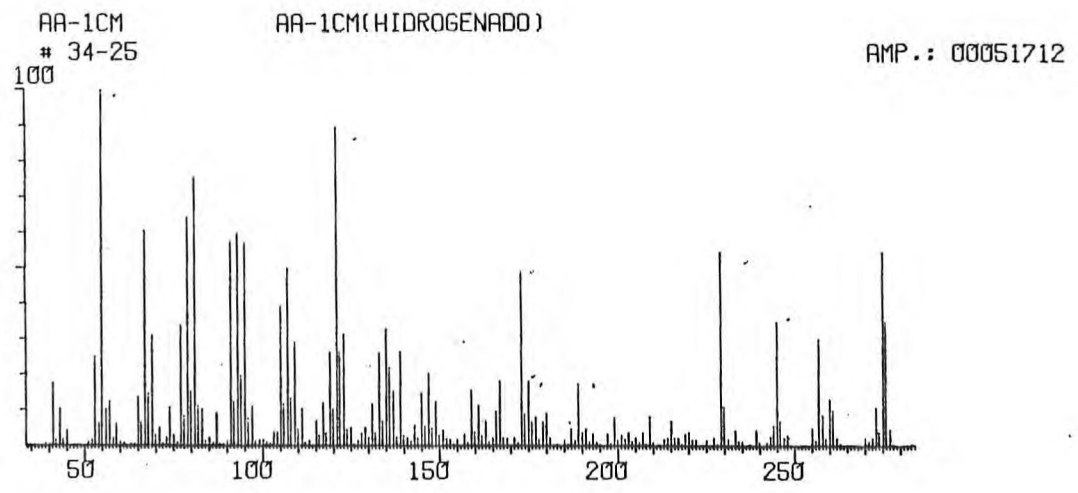


Fig. 12 - Espectro de I.V. de Aa-7CMH₂



AA-1CMH₂

Fig. 13 - Espectro de massa de AA-1CMH₂

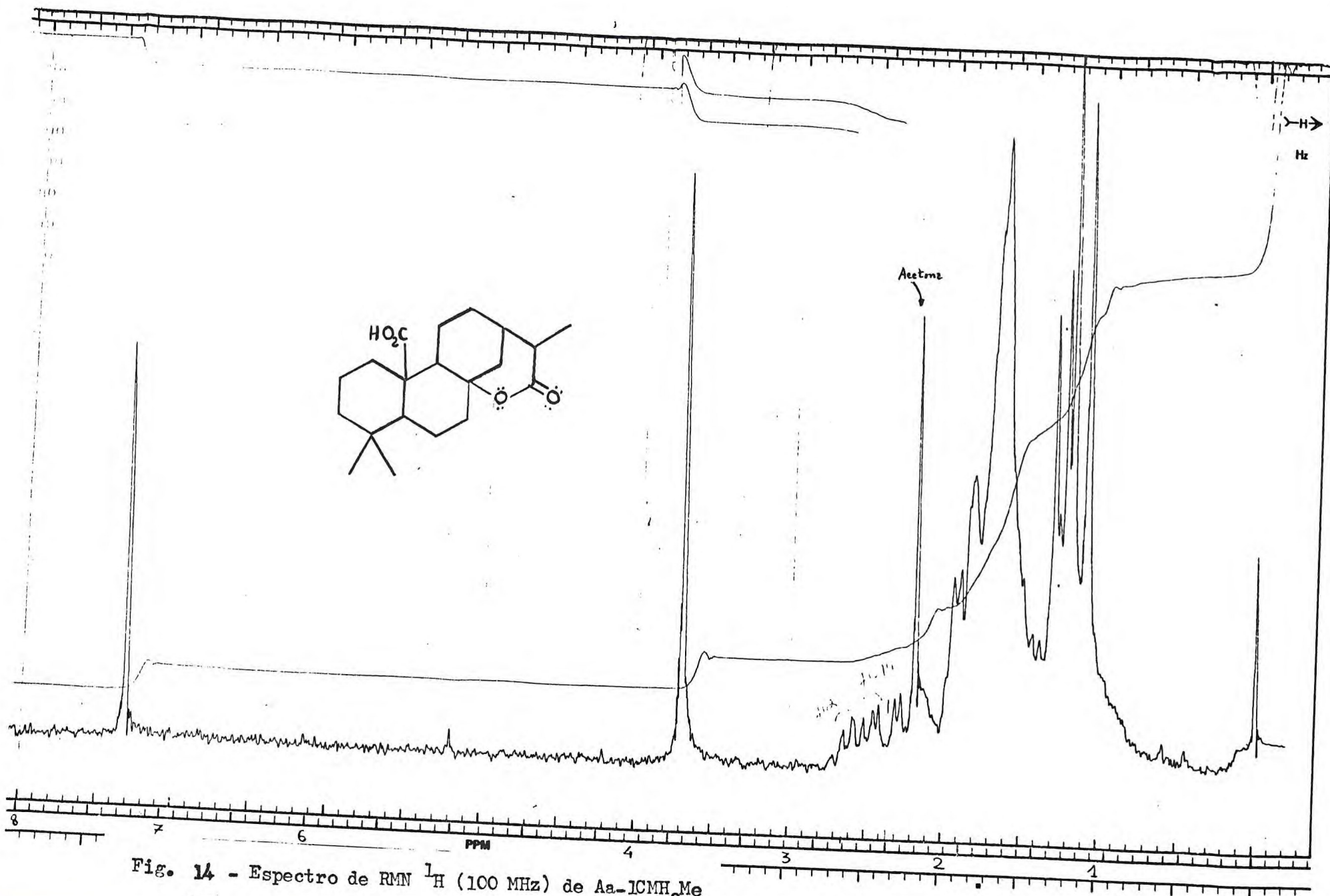


Fig. 14 - Espectro de RMN ^1H (100 MHz) de Aa-ICMH₂Me

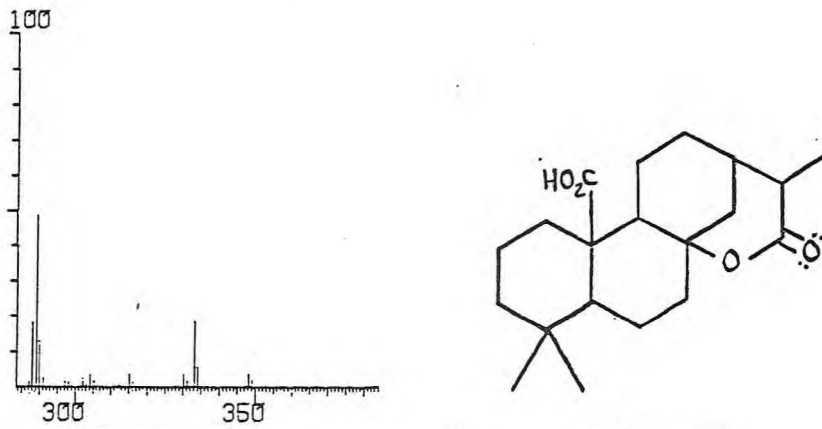
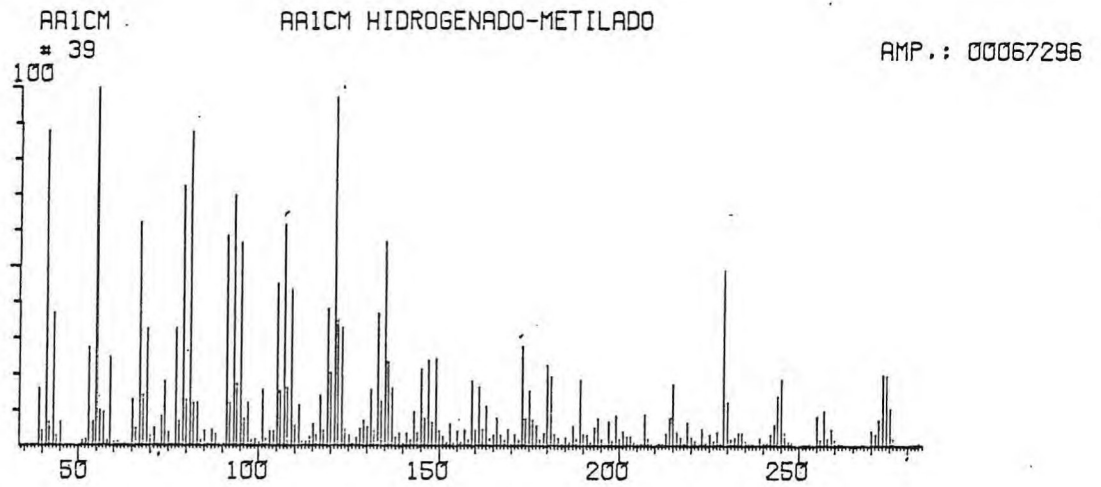


Fig. 15 - Espectro de massa de Aa-1CMH₂Me

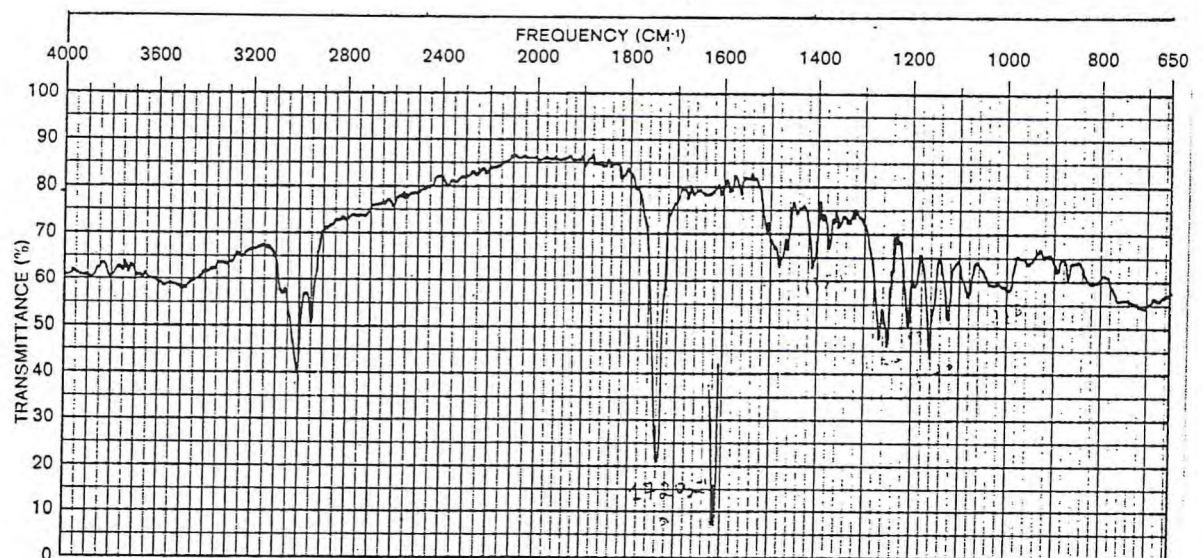
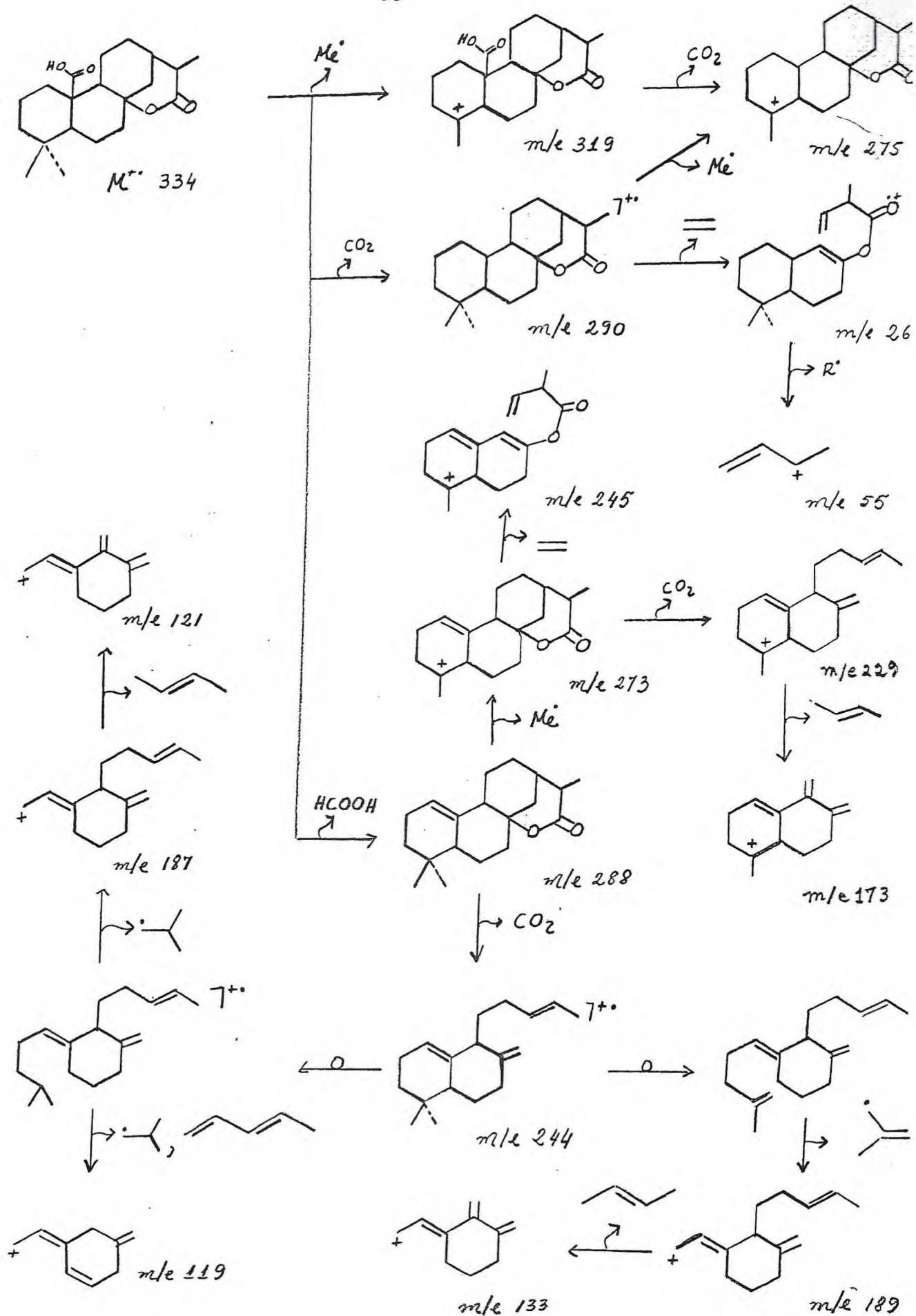
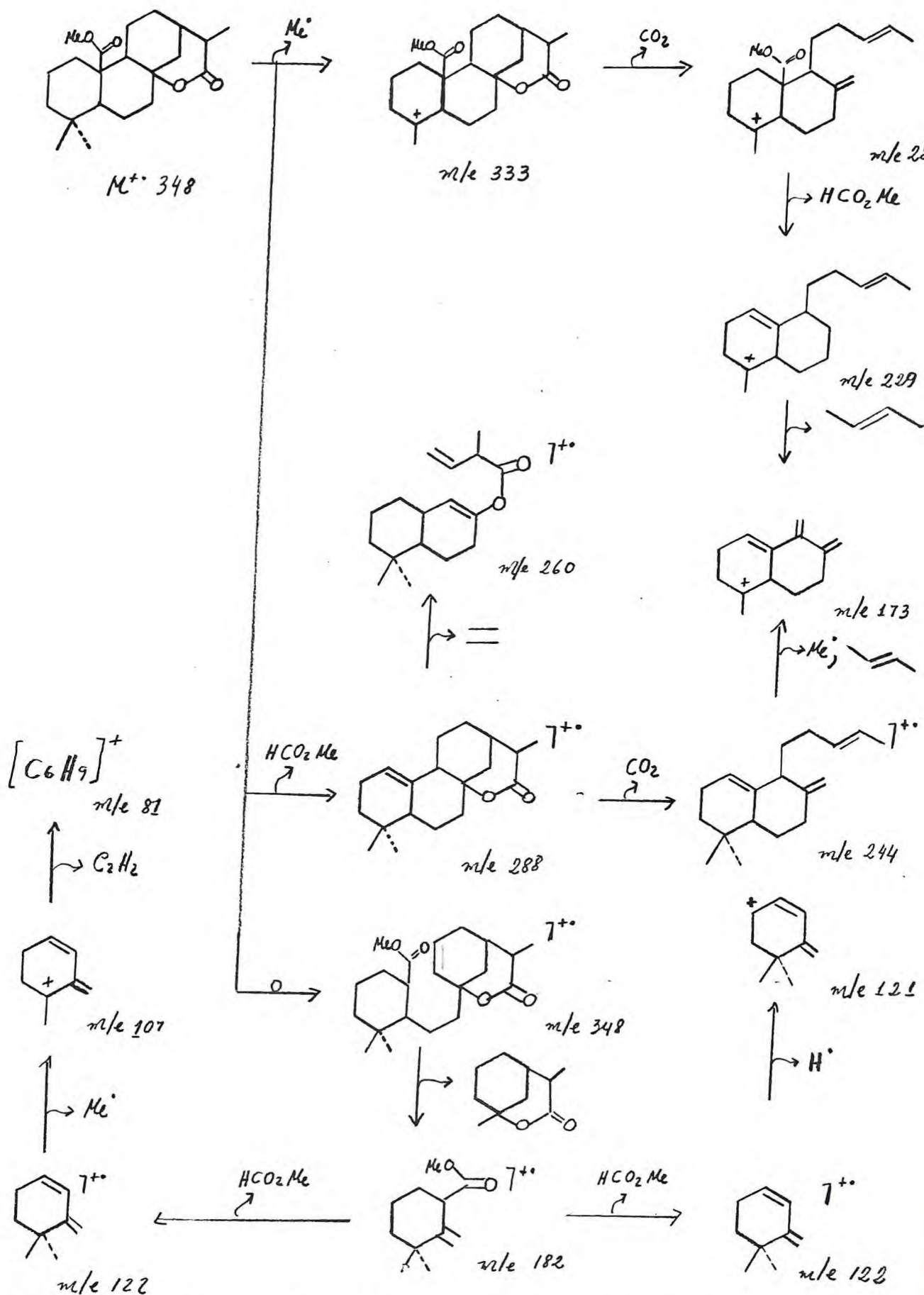


Fig. 16 - Espectro de I.V. de Aa-1CMH₂Me



Quadro 3 - Possíveis caminhos de fragmentação para Aa-1CMH₂ no espectrometro massa.



Quadro 4 - Possíveis caminhos de fragmentação para Aa-1CMH₂Me no espectro-metro de massa.

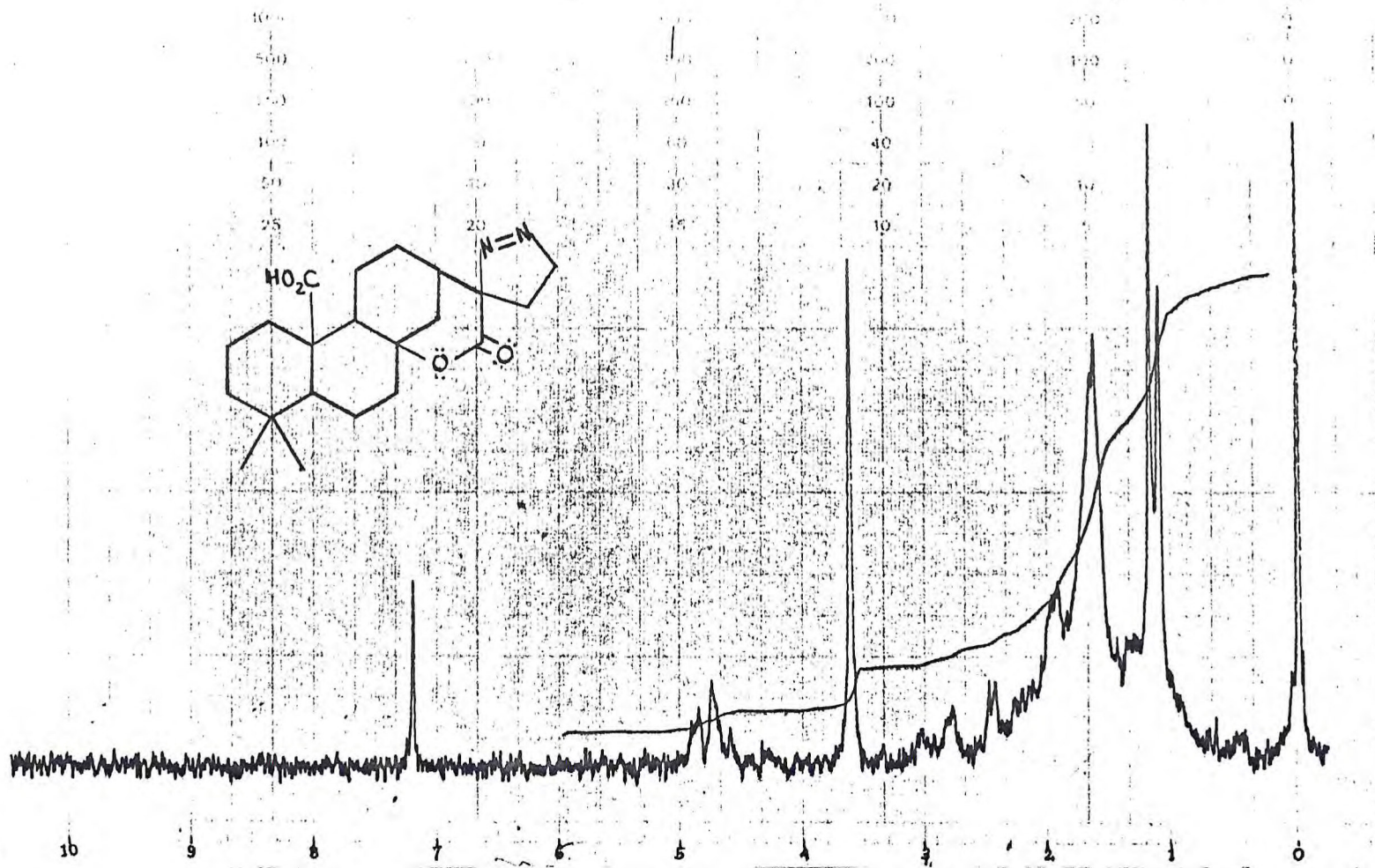


Fig. 17 - Espectro de RMN ¹H (60) de Aa-1CMCH₂N₂

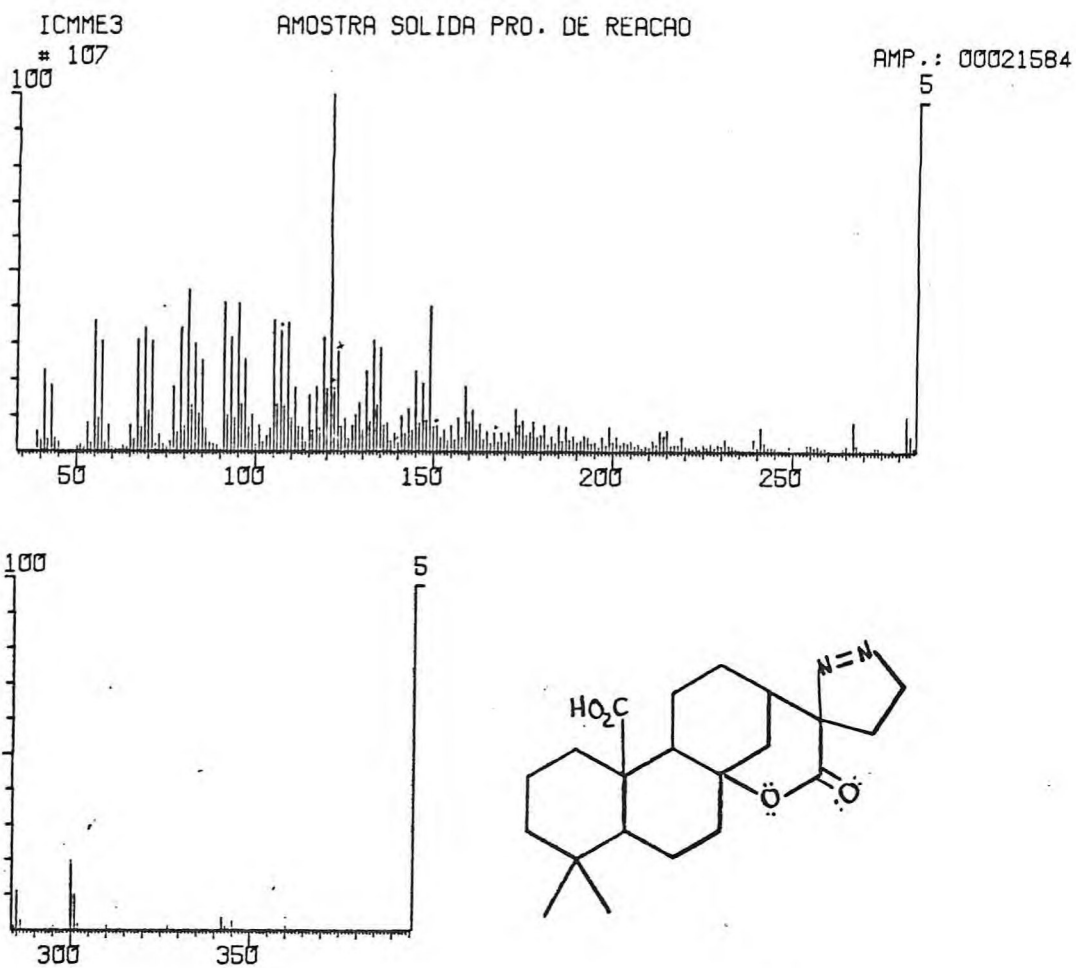


Fig. 18 - Espectro de massa de Aa-1CMCH₂N₂

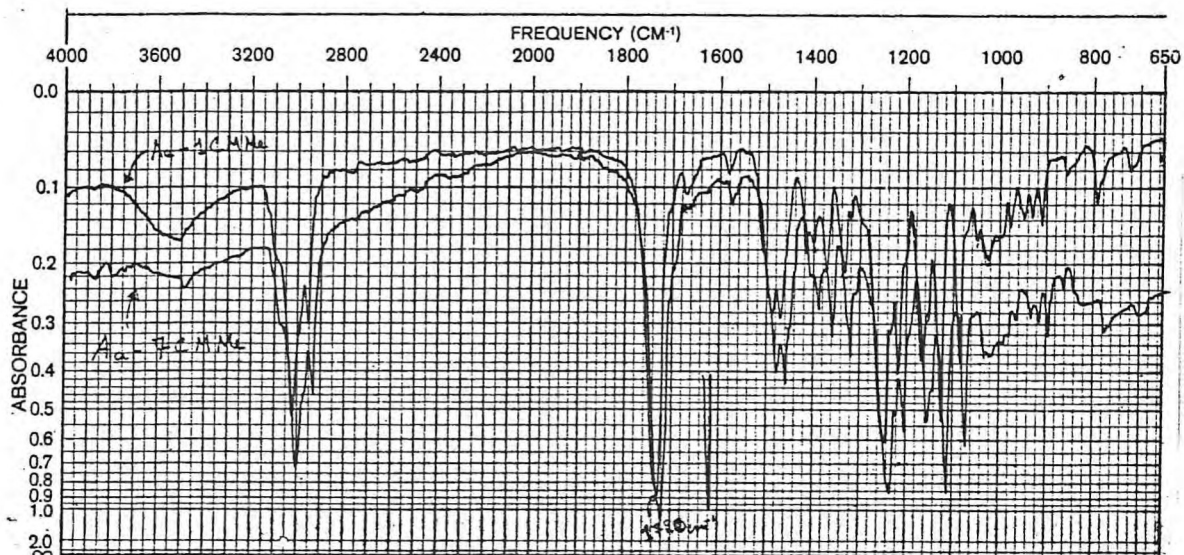


Fig. 19 - Espectro de I.V. de Aa-1CMCH₂N₂ e de Aa-7CMCH₂N₂

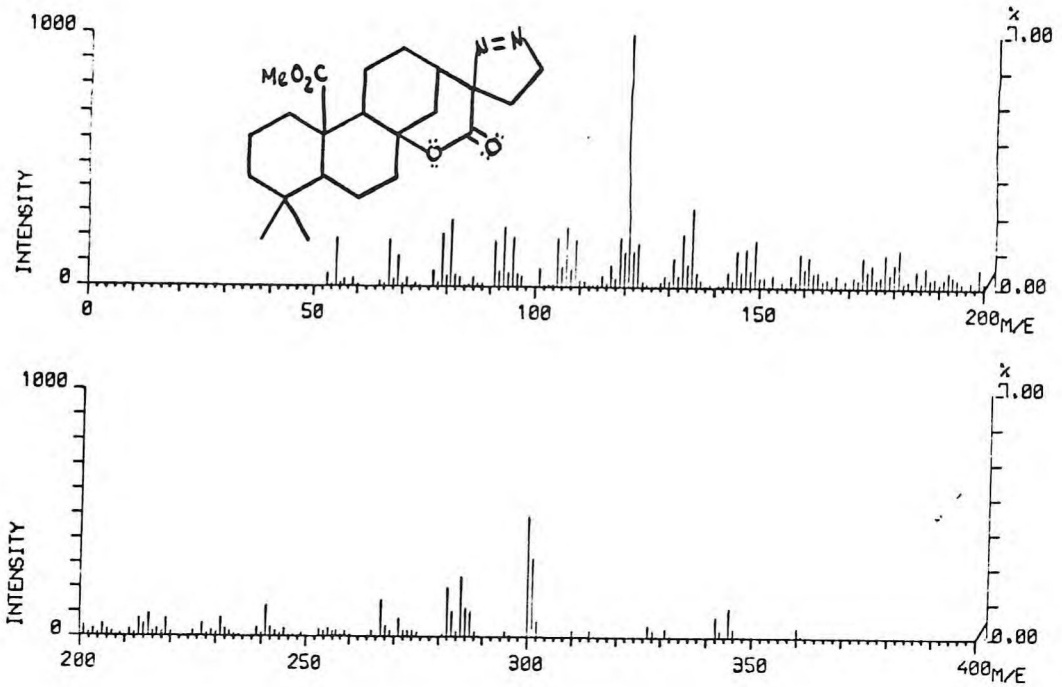


Fig. 20 - Espectro de massa de Aa-7CMCH₂N₂

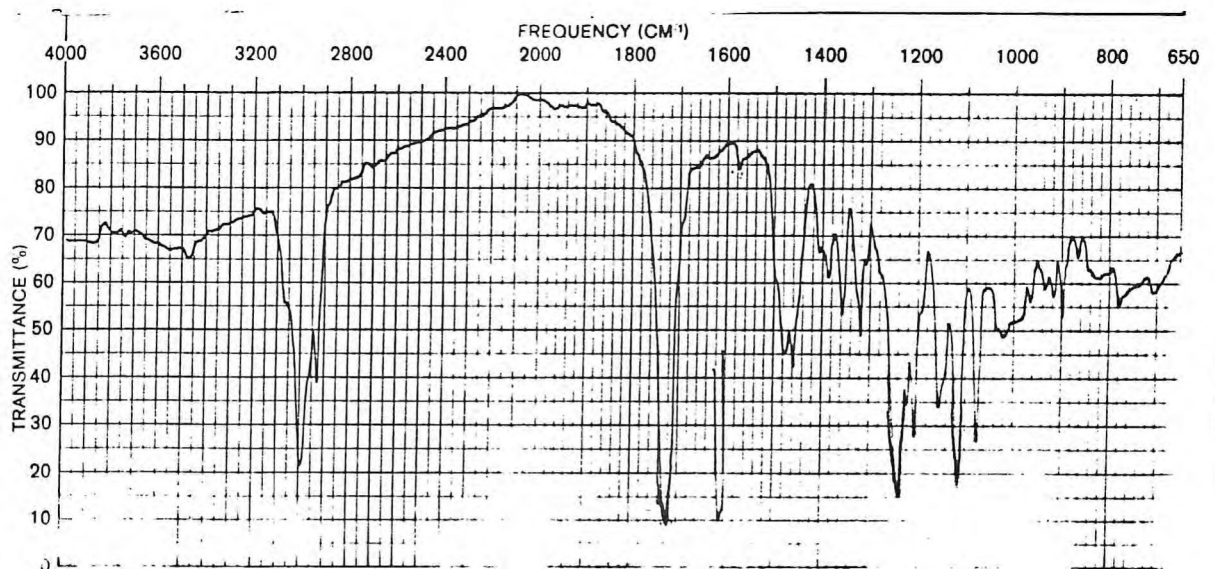


Fig. 21 - Espectro de I.V. de Aa-7CMCH₂N₂

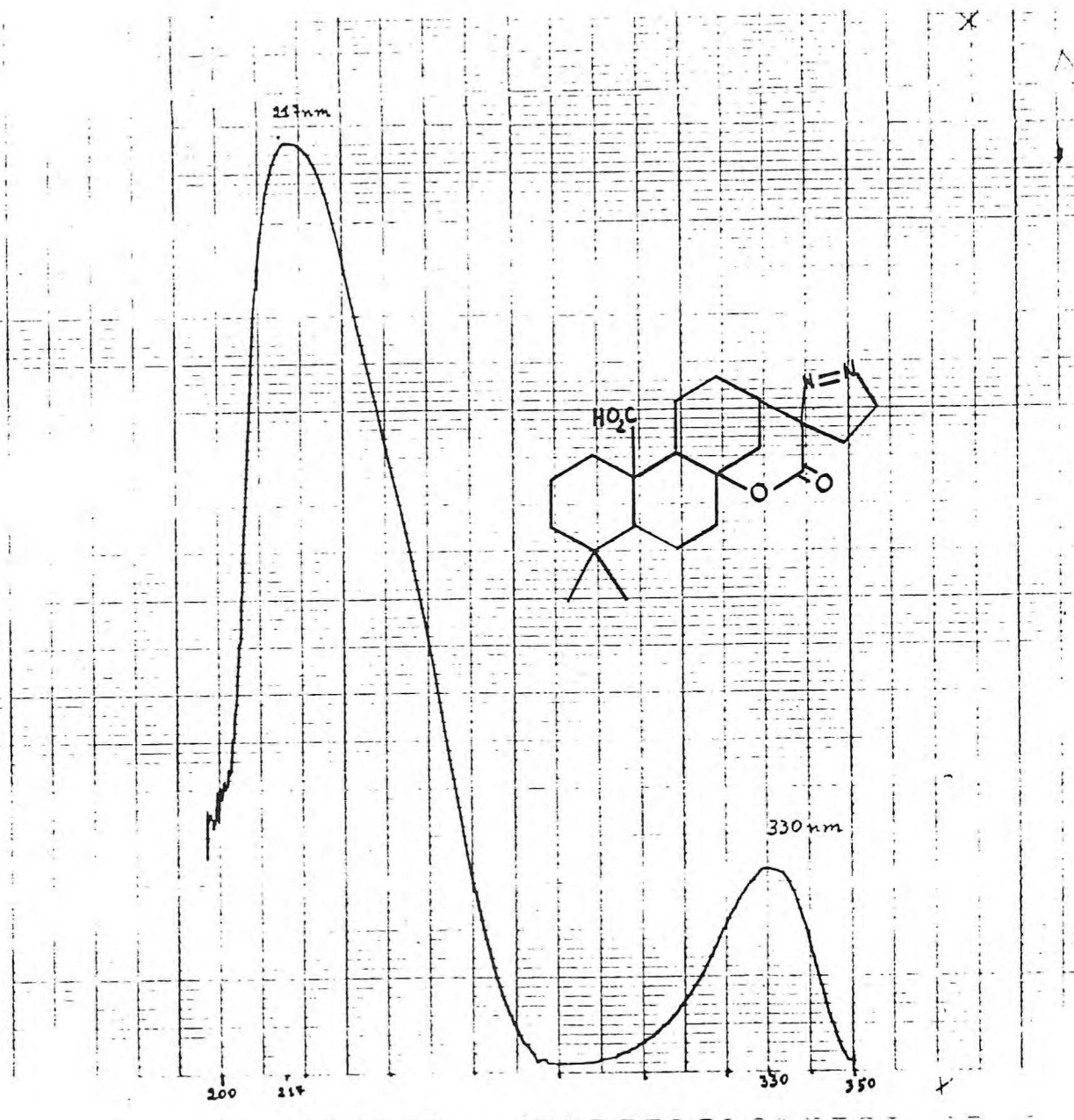
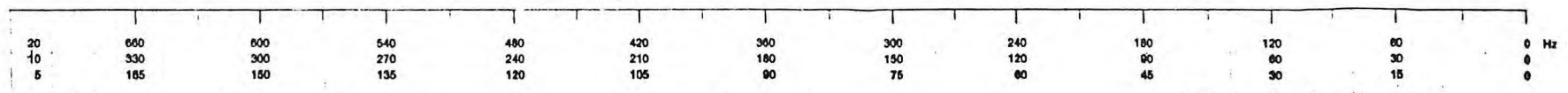


Fig. 22 - Espectro de U.V. As-7CMCH₂N₂



Aa-7CMCH₂N₂

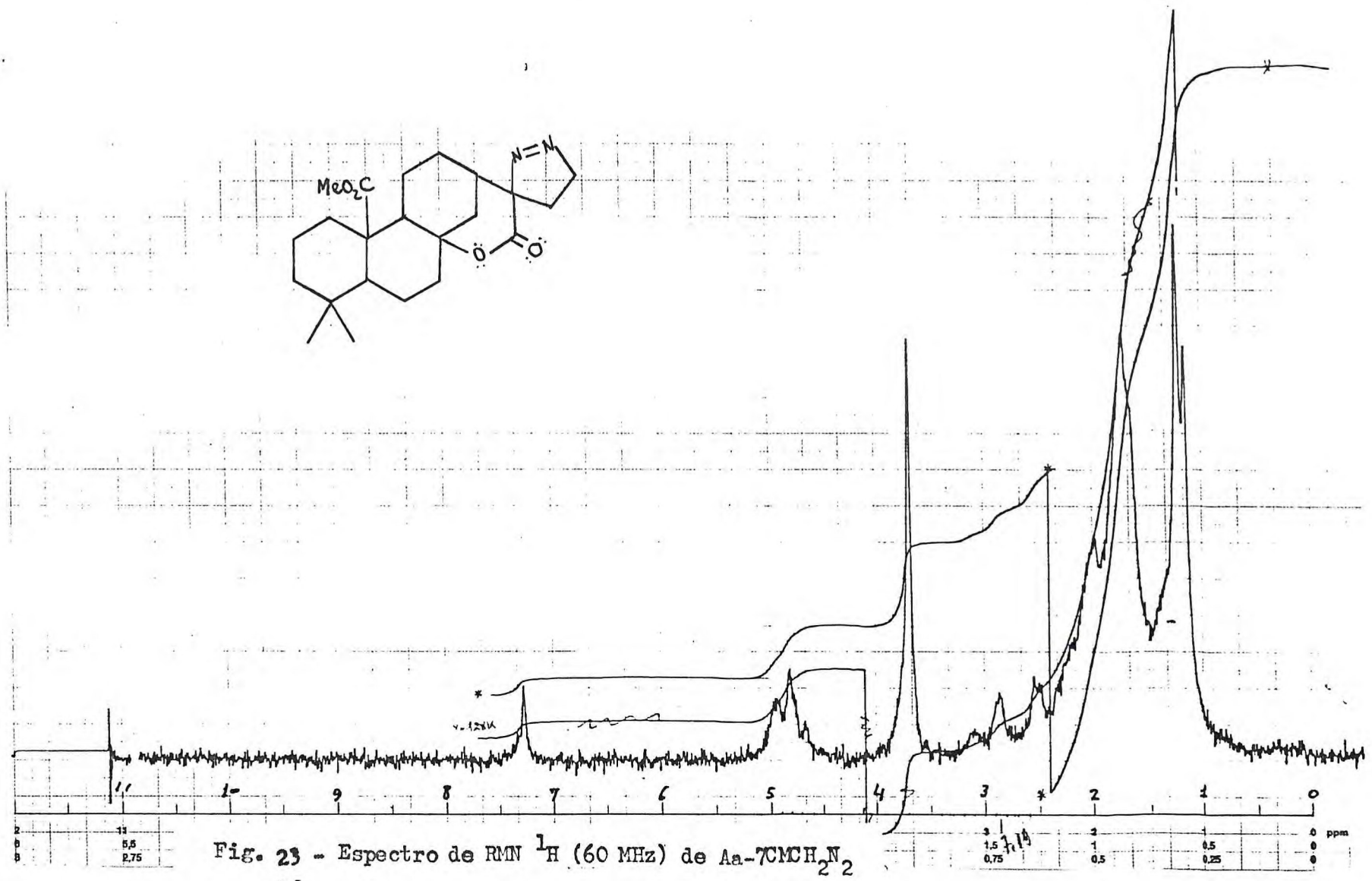
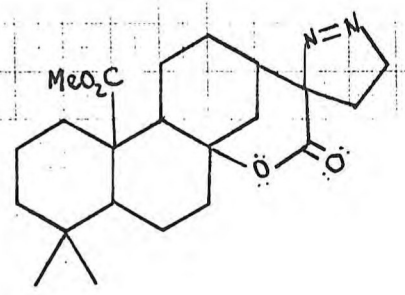
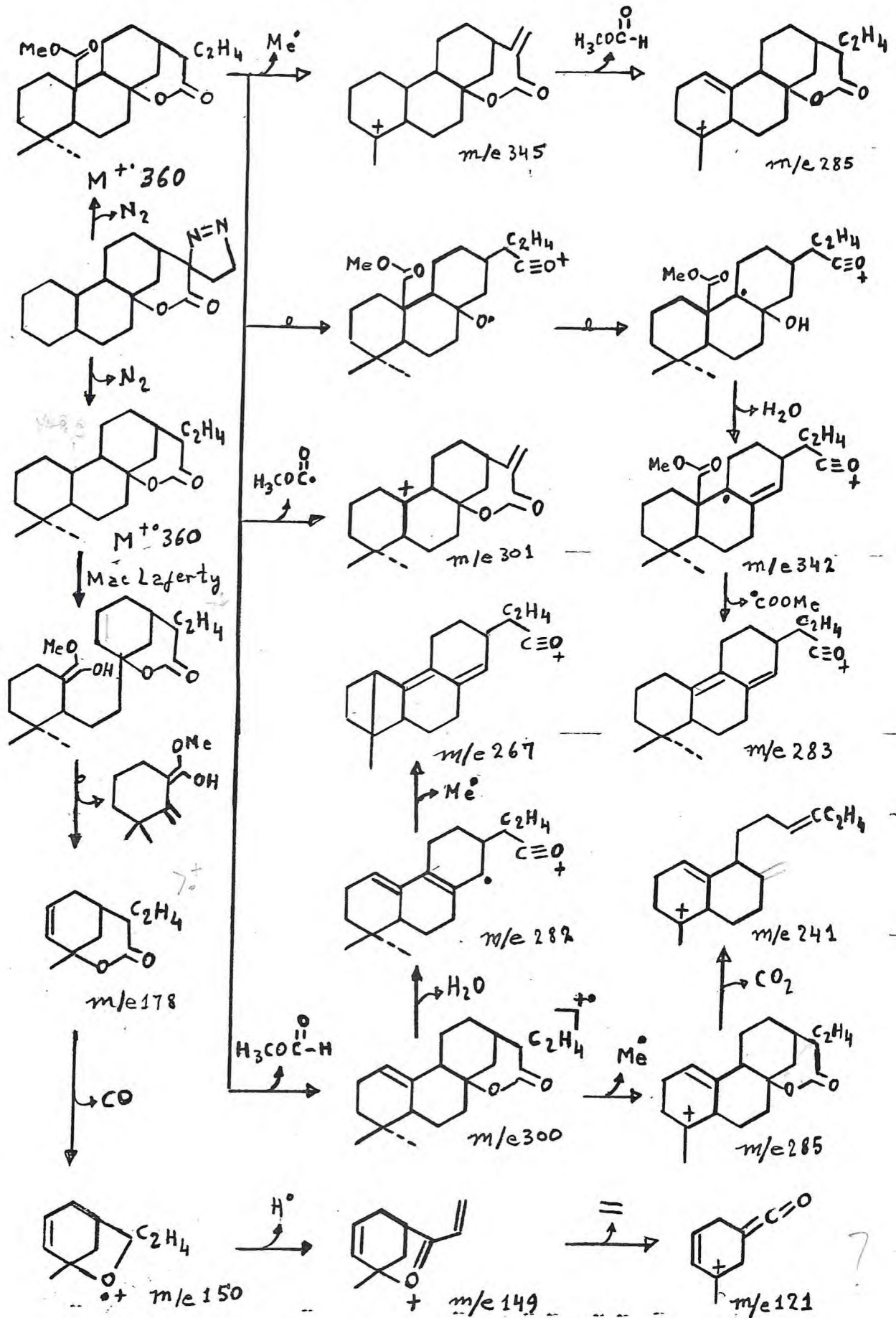


Fig. 23 - Espectro de RMN ¹H (60 MHz) de Aa-7CMCH₂N₂



Quadro 5 - Possíveis caminhos de fragmentação para Aa-7CMCH₂N₂ no espectrometro de massa.

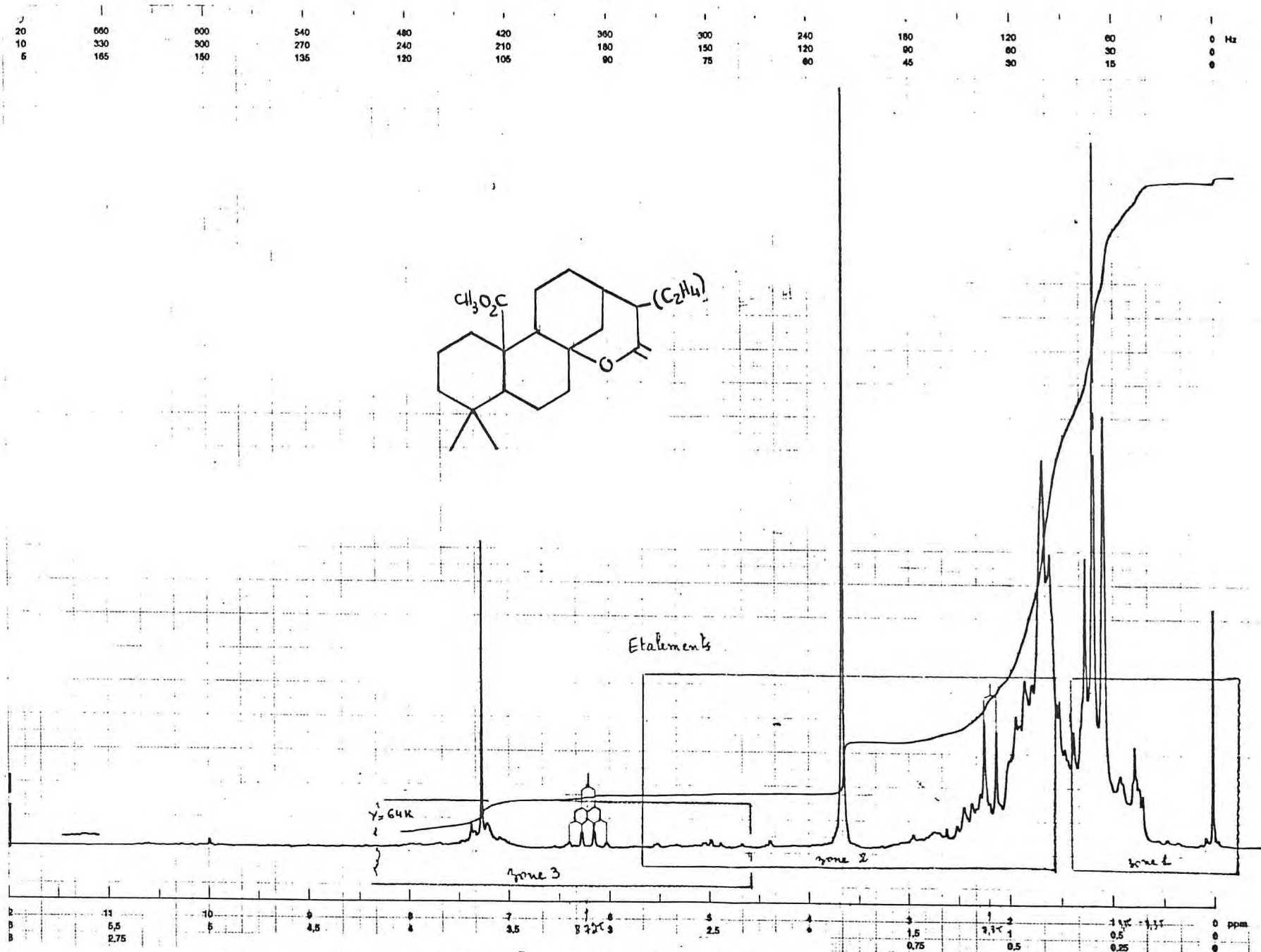
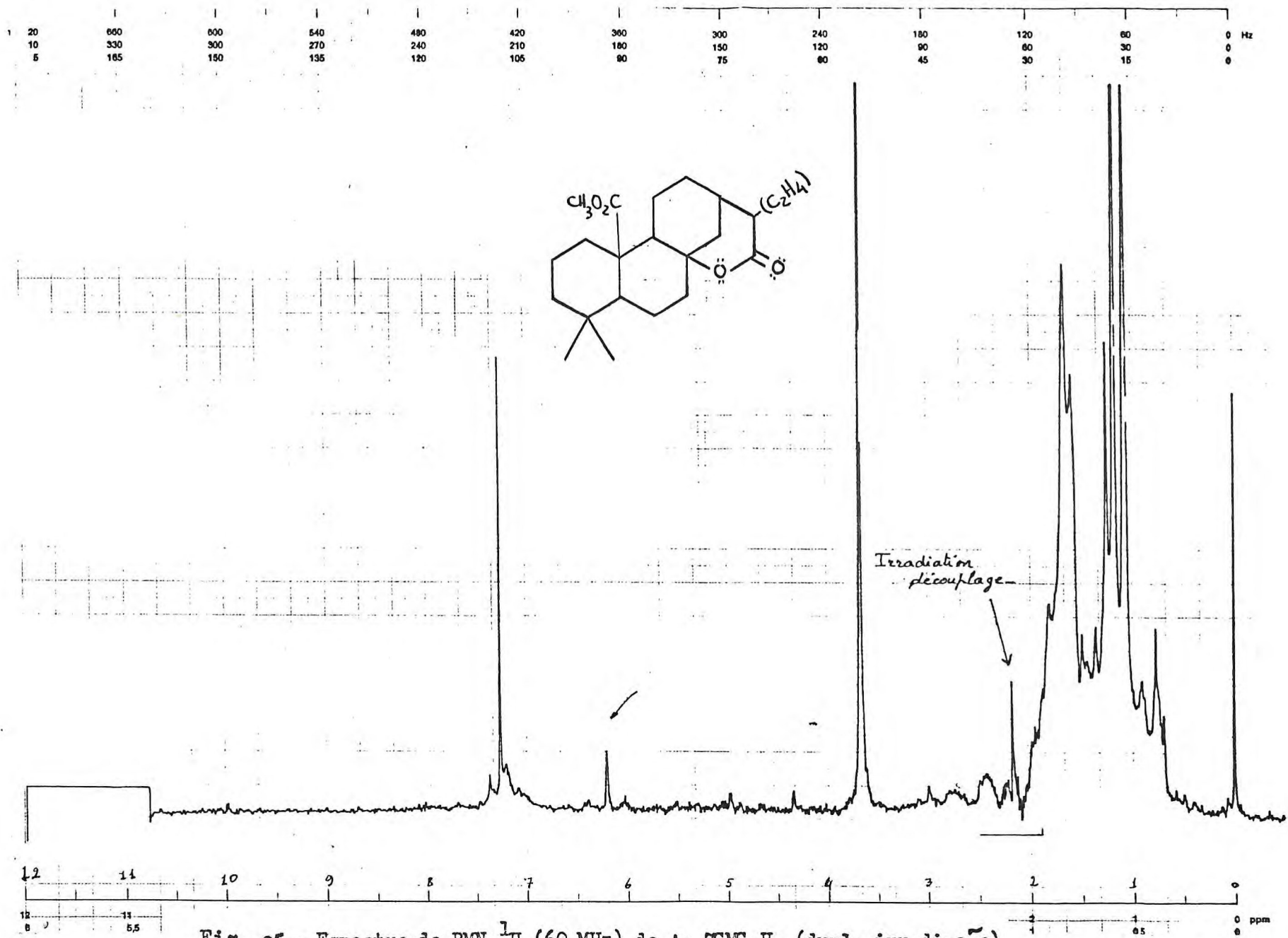


Fig. 24 - Espectro de RMN ^1H (60 MHz) de An-7CMC H_4



67

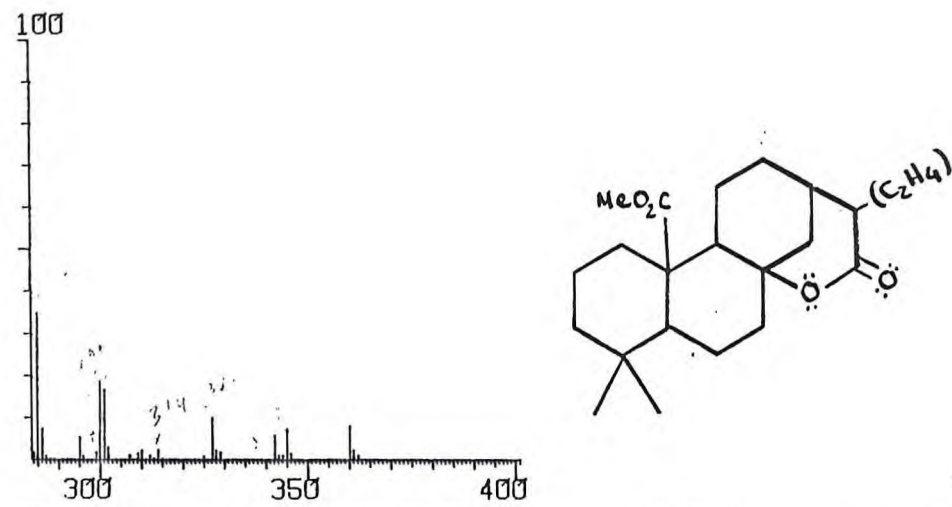
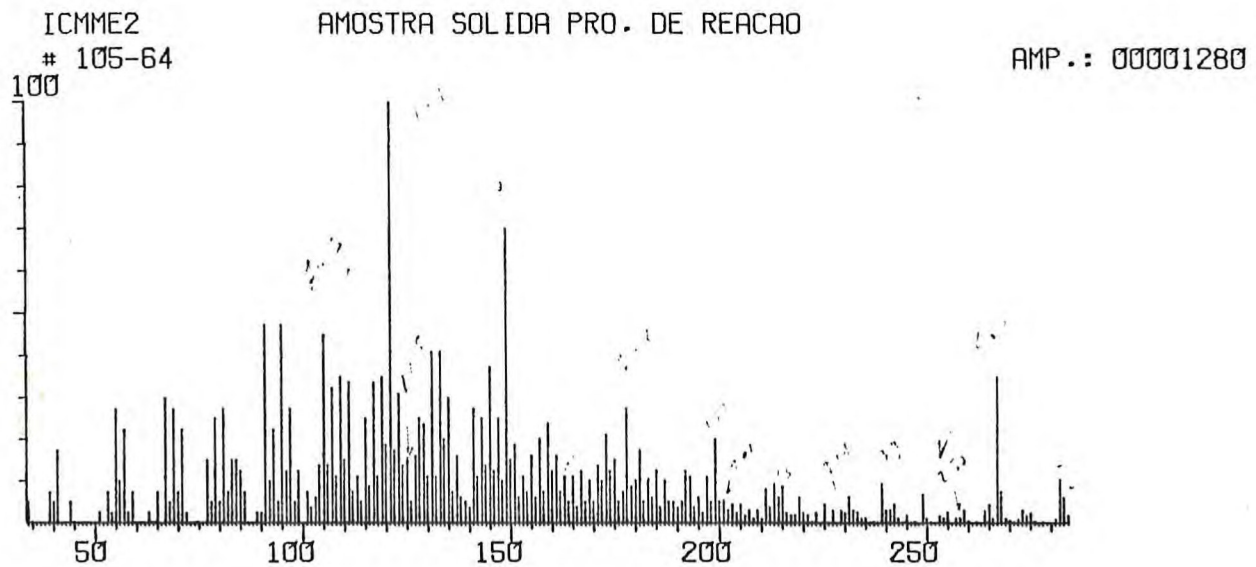


Fig. 26 - Espectro de massa de Aa-7CNC₂H₄

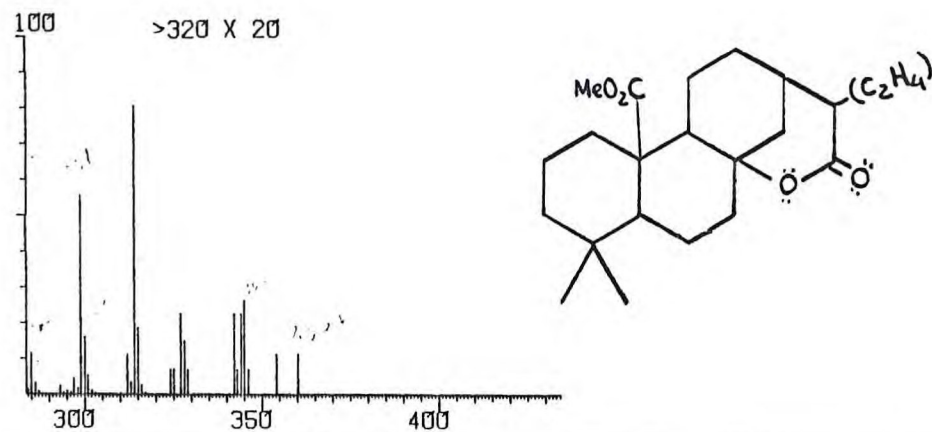
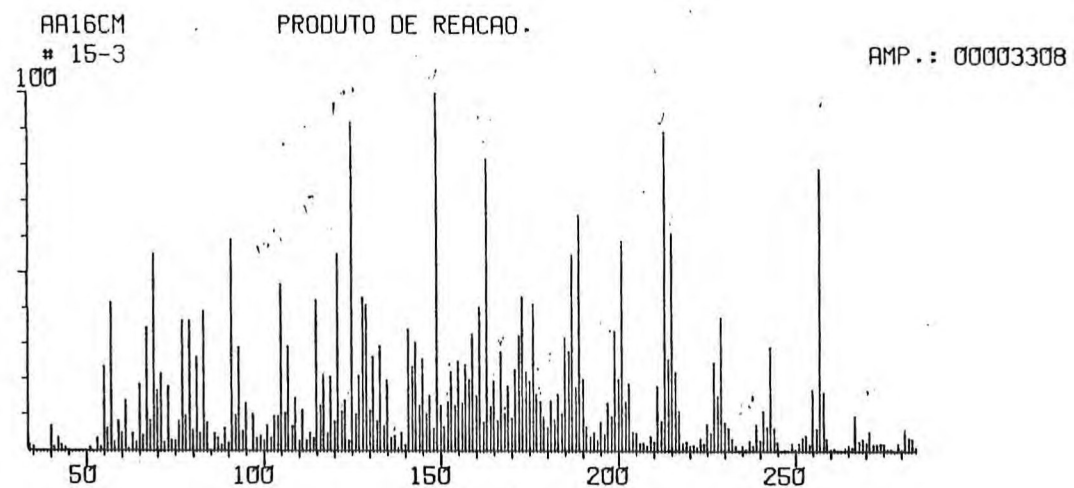


Fig. 27 - Espectro de massa de Aa-1CMC₂H₄

4: ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS DE Croton argyrophylloides Muell. Arg.

O óleo essencial, obtido por arraste com vapor d'água, das fo_lhas de Croton argyrophylloides Muell. Arg., quando submetido a análise por cromatografia gás-líquido acoplado a espectrometria de massa mostra o cromatograma (fig. 28 , pag. 51) cujos constituintes foram correlacionados com as estruturas apresentadas na Tabela 2 abaixo e cujos espectros de massa são mostrados nas figs.29 a 36 , pags. 52 a 55 .

As identificações foram realizadas em sistemas de processamento de dados usando o PROGRAM-SEARCH e a BIBLIOTECA- FINNIGAN, sendo posteriormente comprovados por comparação visual dos espectros de massa obtidos com os espectros de substâncias autênticas descritas na literatura (38-41).

Cromatografia gás-líquido em escala preparativa, permitiu o isolamento de sabineno, 1,8-cineol, α -humuleno e γ -elemeno, cujos dados espectrais de I.V., RMN¹H e de massa, concordam com os correspondentes descritos na literatura para esses compostos (37-40).

α -Pineno foi isolado por bidestilação do óleo essencial bruto:

TABELA 2

PICO	P. MOLECULAR	ESPECTRO FIGURA	CORRELAÇÃO ESTRUTURAL	REF. 39
A	136		α -pineno	277
B	136		sabineno	277
C	154		1,8-cineol	426
D	204		β -elemeno	1024
E	204		β -cariofileno	1025
F	204		α -humuleno	1224
G	204		cardineno	1027
H	204		γ -elemeno	1024

F001

OE DE MARMELEIRO PRATEADO 28/11/79

AMP.: 00273216

RGC

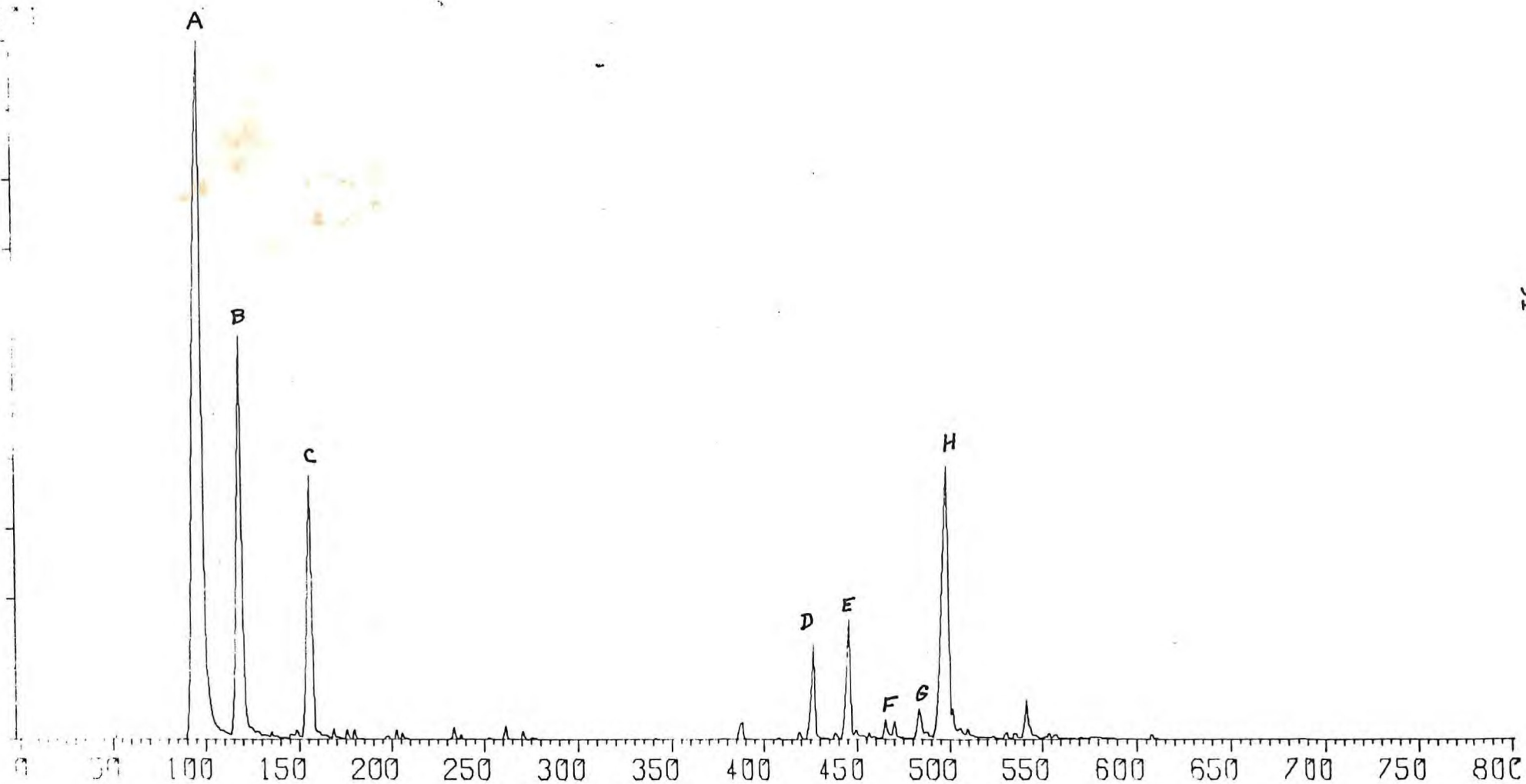


Fig. 28 - Cromatograma do oleo essencial das folhas de Croton argyrophilloides

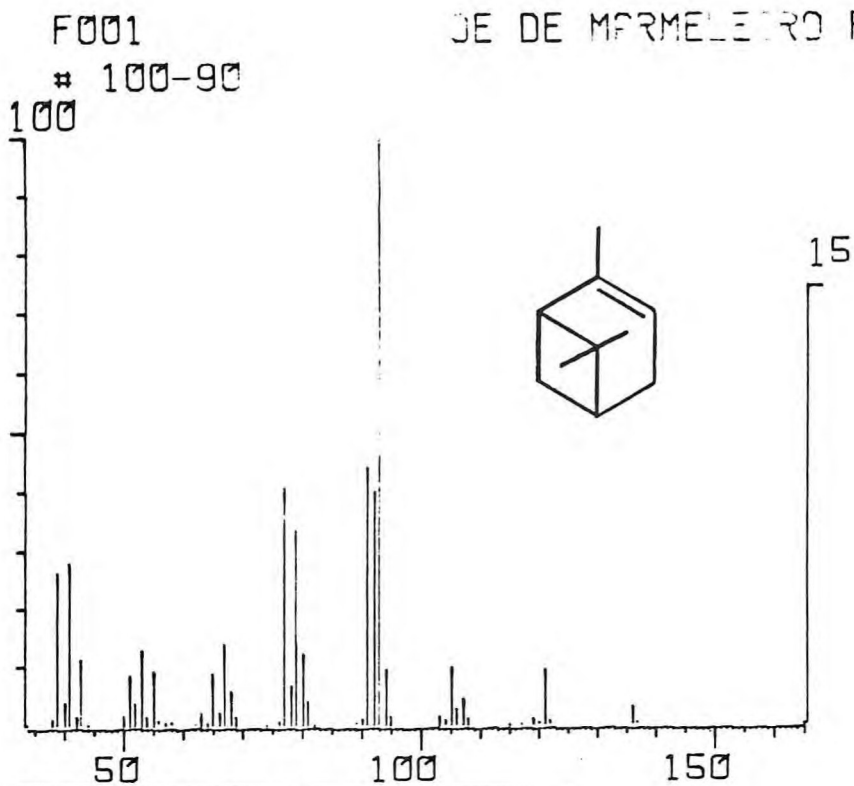


Fig. 29 - Espectro de massa (pico A) de α -pineno

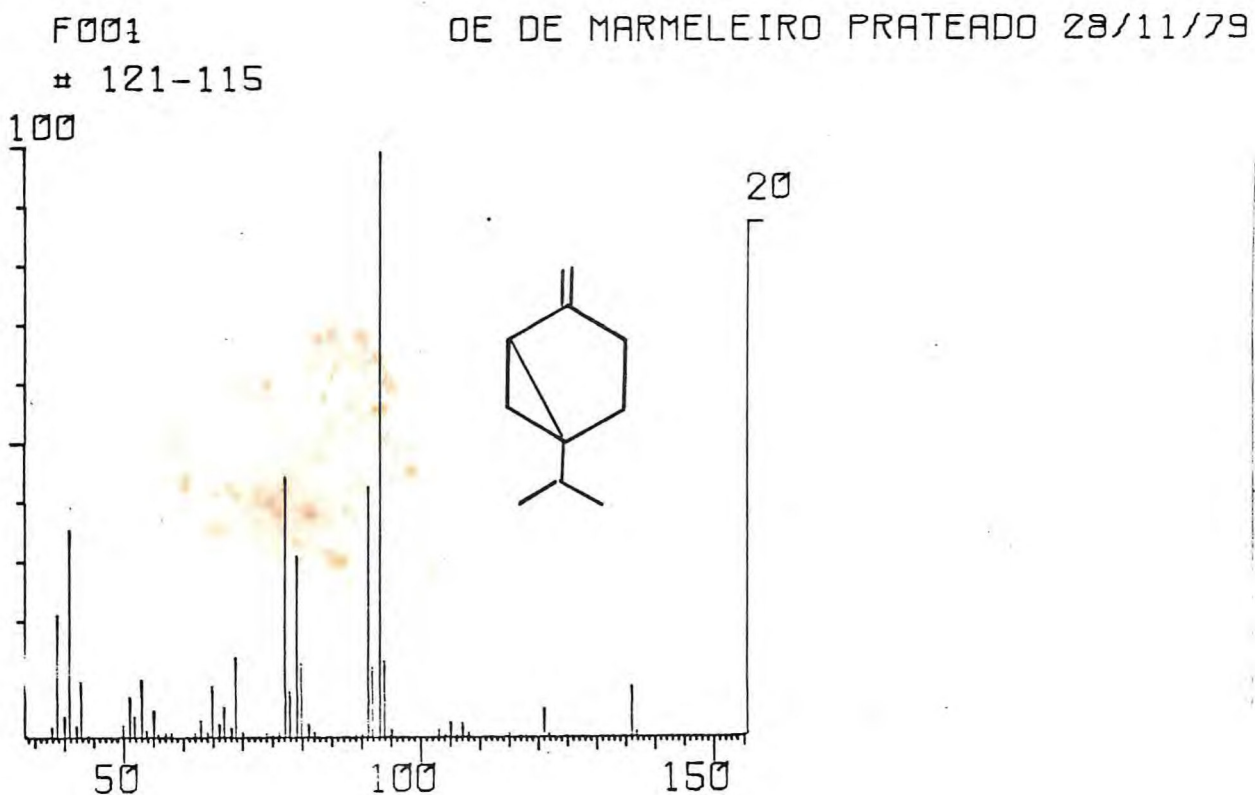


Fig. 30 - Espectro de massa (pico B) de sabineno

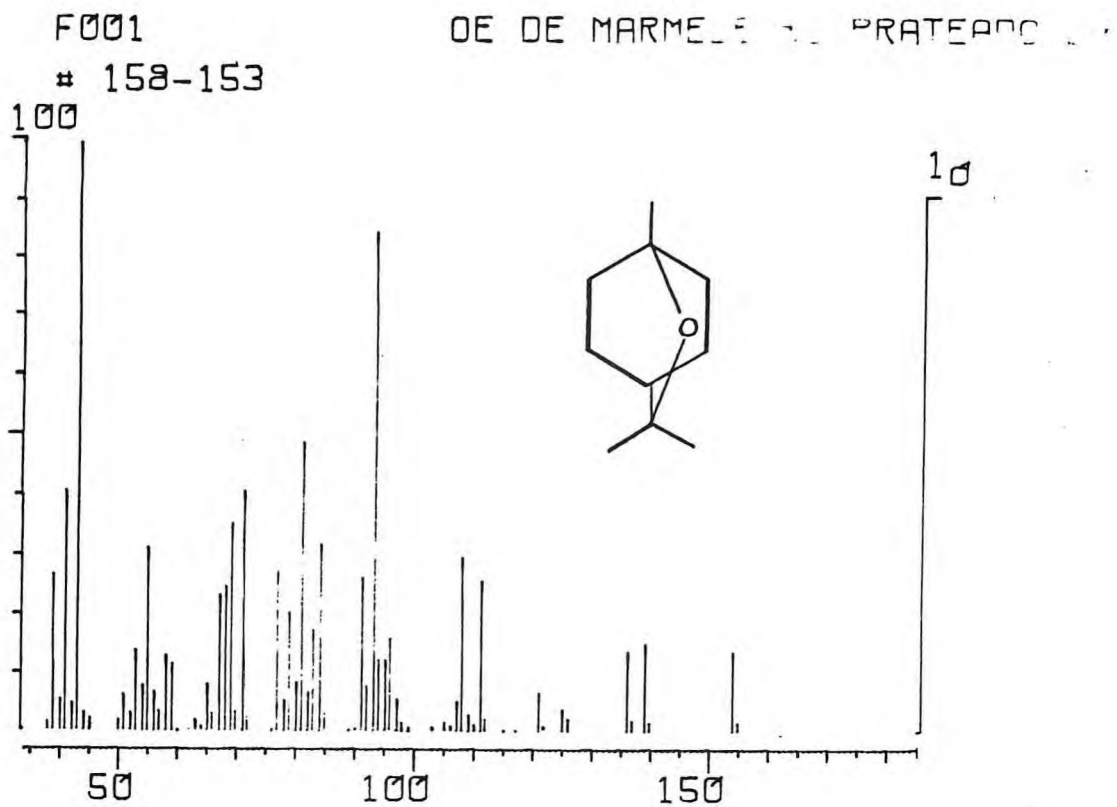


Fig. 31 - Espectro de massa (pico C) de 1,8-cineol

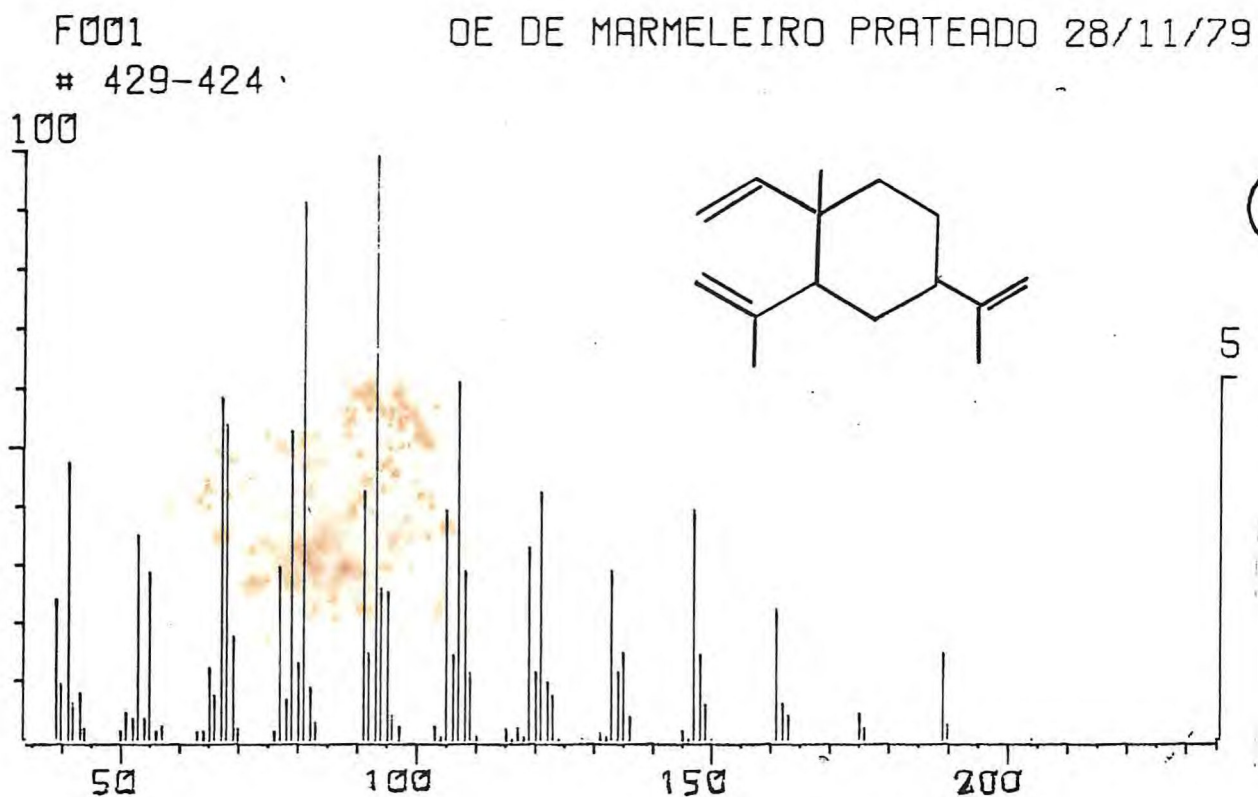


Fig. 32 - Espectro de massa (pico D) de β -elemeno

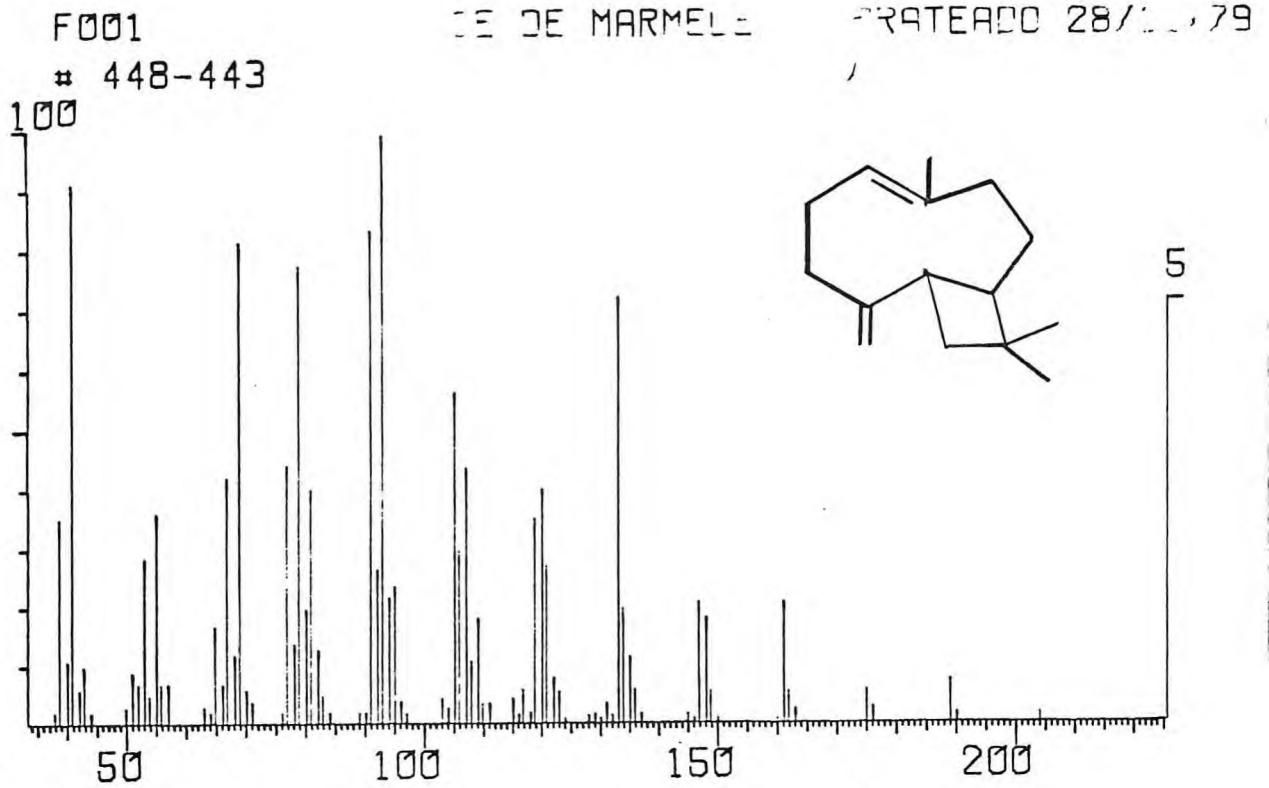


Fig. 33 - Espectro de massa (pico E) de β -cariofileno

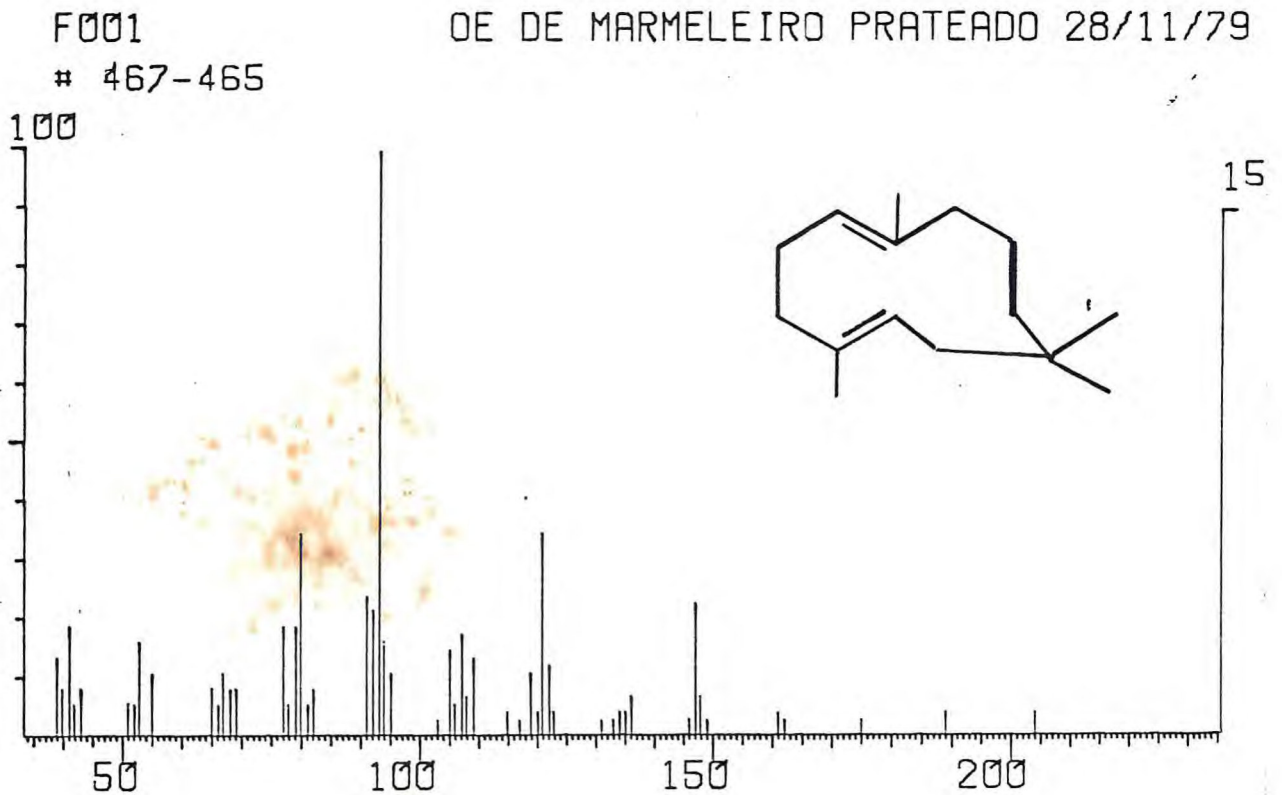


Fig. 34 - Espectro de massa (pico F) de humuleno

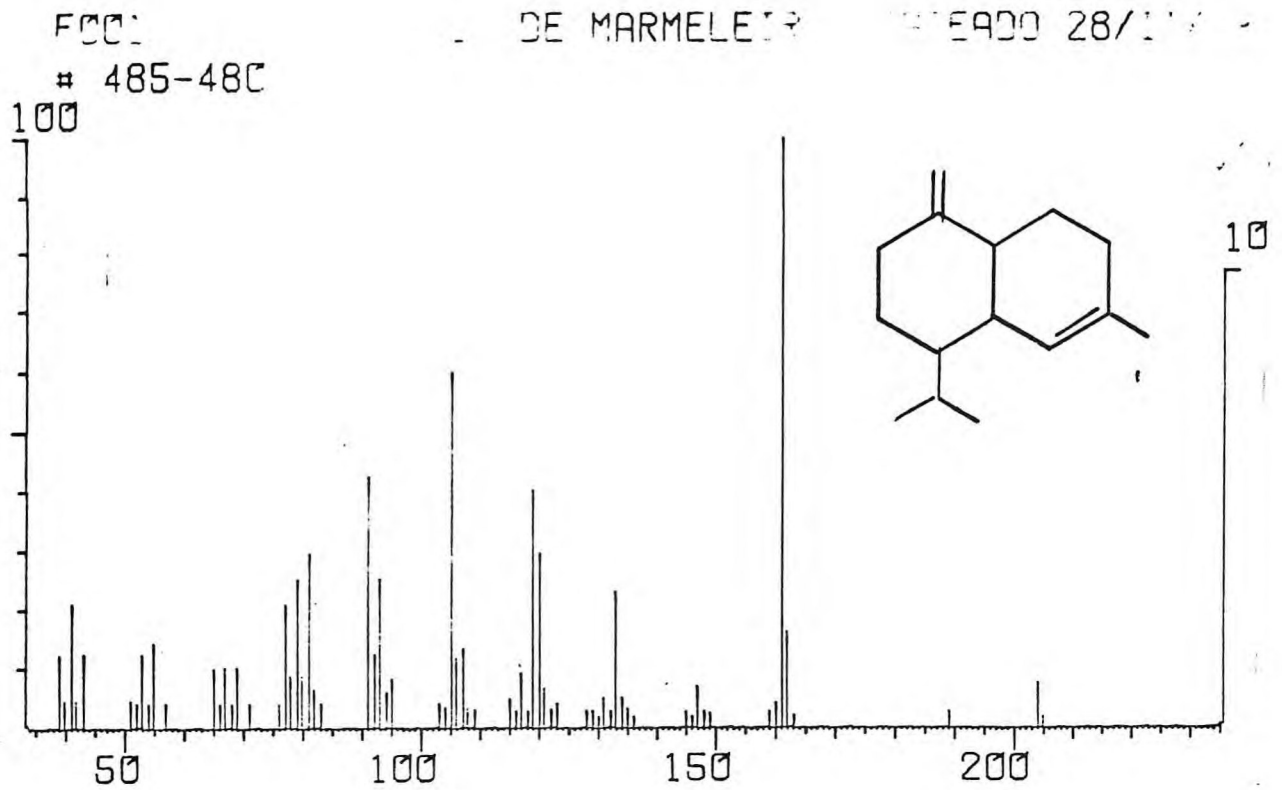


Fig. 35 - Espectro de massa (pico G) de cadineno

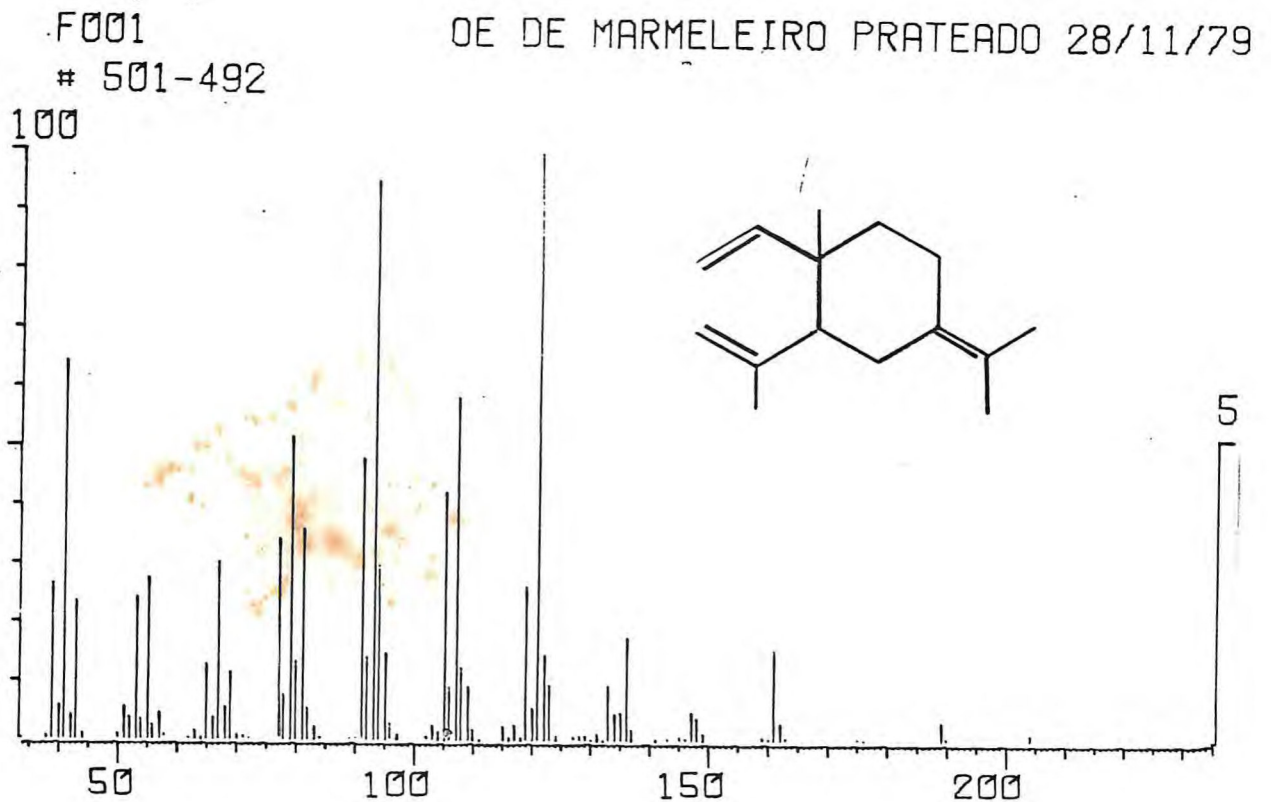


Fig. 36 - Espectro de massa (pico H) de γ -elemeno

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Introdução: Aparelhos e materiais utilizados.

5.1.1. As absorções no infravermelho (IV) foram medidas no espectrometro Modelo 720, da Perkin Elmer, utilizando pastilhas de KBr.

5.1.2. Os espectros na região do ultravioleta (U.V.) foram registrados em instrumentos da SERIE 134 da VARIAN, usando como solvente MeOH.

5.1.3. Os espectros de ressonância magnética protônica (RMN¹H) a 60MHz foram registrados em espectrometro da VARIAN, Modelo EM-360 e a 100MHz e Carbono-13 (RMN¹³C) no espectrometro da VARIAN, Modelo XL-100. Os deslocamentos químicos (τ) para protons e (δ) para Carbono-13 são relatados em ppm em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizando como referência interna.

Foram utilizadas as seguintes siglas: s (singlete); d (duplete); dd (duplo duplete); t (tripleto); m (multiplete).

Todos os espectros foram registrados, usando-se CDCl₃ como solvente.

5.1.4. Os espectros de massa de baixa resolução e análises por cromatografia gás-liquido acoplada à espectrometria de massa (CGL-EM) foram obtidos em instrumentos FINNIGAN, Modelo 3300 F, com poder de resolução de 1000 u.m.a. acoplado a cromatógrafo de gás, Modelo 9500 e a sistema de processamento de dados FINNIGAN, Modelo 6115.

As separações foram feitas usando-se coluna capilar SP-2100 (metil-silicona), (30m X 0,25 mm), temperatura programada de 50 - 250°C, 4°/min tendo o Hélio como gas de arraste. As fragmentações das substâncias foram obtidas a 70eV.

5.1.5. As reações de hidrogenação catalítica foram realizadas a pressão e temperatura ambiente utilizando-se gerador de hidrogênio da VARIAN Aerograph, Mod. 9225.

5.1.6. As reações de metilação foram realizadas usando o gerador de diazometano da Aldrich, Diazald Kit, N° Catalogo 410025-0.

5.1.7. Os pontos de fusão (p.f.) foram determinados em bloco Kofler e não foram corrigidos.

5.1.8. As cromatografias em camada fina foram realizadas utilizando-se sílica-gel G e cromatofolius DC- Alufolien Kiesegel, 60F 254, da Merck.

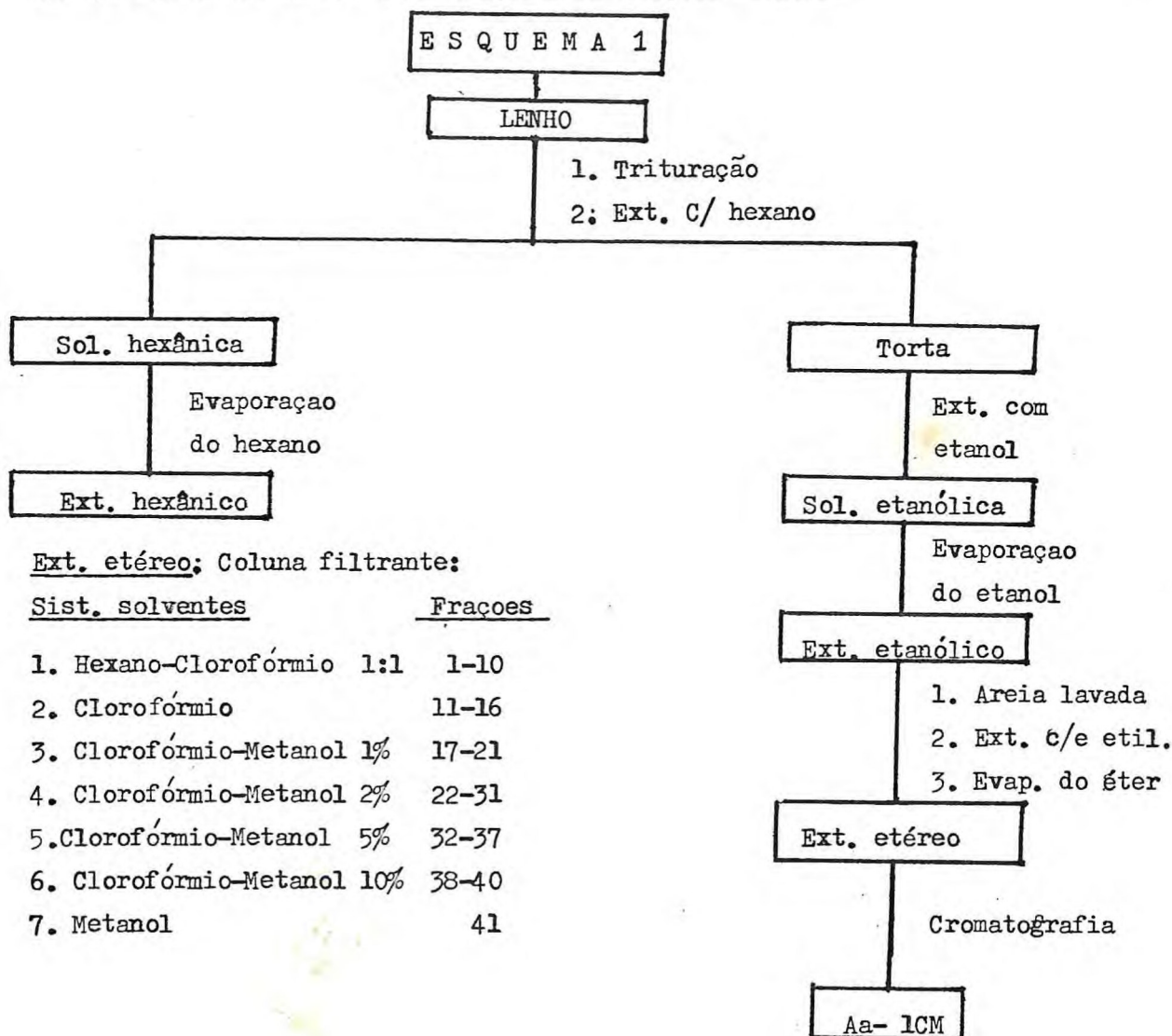
5.1.9. Cromatografia de absorção em coluna foram efetuadas utilizando-se sílica-gel 60 (70-230 mesh ASTM) da Merck.

5.1.10. Os reagentes e solventes utilizados foram produtos analíticamente puros das marcas: Merck, Aldrich, Carlo Erba e Riedel.

5.2. Isolamento dos constituintes fixos

5.2.1. Lenho do caule.

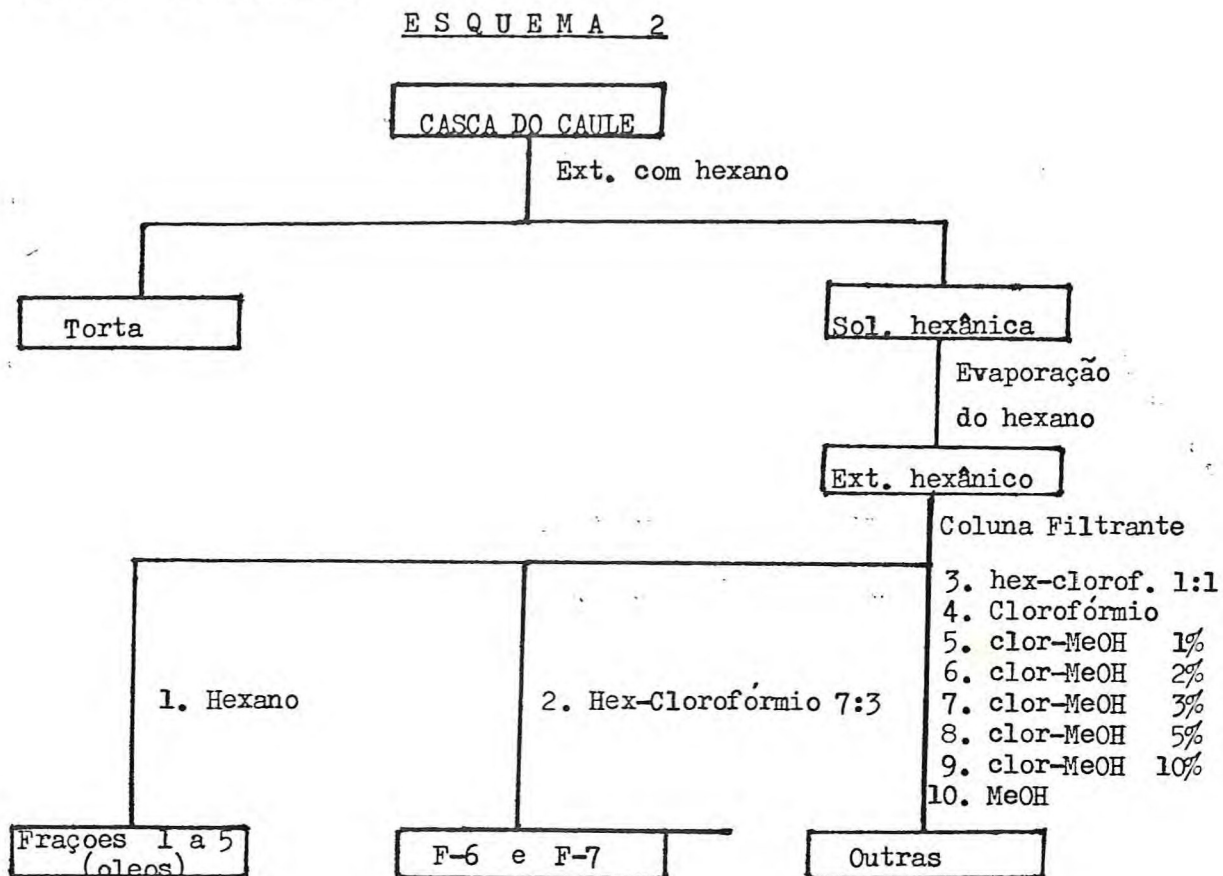
O lenho do caule moído (1,2kg), foi percolado exaustivamente em hexano e a torta resultante sofreu o mesmo processo em etanol durante 36 horas. Ao extrato etanólico pastoso obtido (3,6g), após evaporação do solvente a pressão reduzida, foi adicionada areia lavada e procedida a extração em éter etílico, utilizando-se aparelho tipo Soxhlet. A parte solúvel no éter foi adsorvida em sílica e cromatografada em coluna filtrante. O Esquema 1, mostra os sistemas de solventes usados e as respectivas frações eluídas:



As frações eluídas em cloroformio-metanol 1%, reunidas, constituíram um material cristalino impuro (45mg). Lavagens com éter etílico e recristalizações em hexano-éter-etílico forneceu a substância denominada Aa- LCM, ponto de fusão -212 - 215°C.

5.2.2. Casca do caule

1,42kg da casca do caule, depois de percolada em hexano, forneceu, após evaporação do solvente a pressão reduzida, 15,5g de um material constituído de uma parte sólida e uma outra oleosa escura. O extrato foi adsorvido em sílica para coluna cromatográfica e acondicionado em funil de decantação. As frações obtidas são mostradas no Esquema 2.



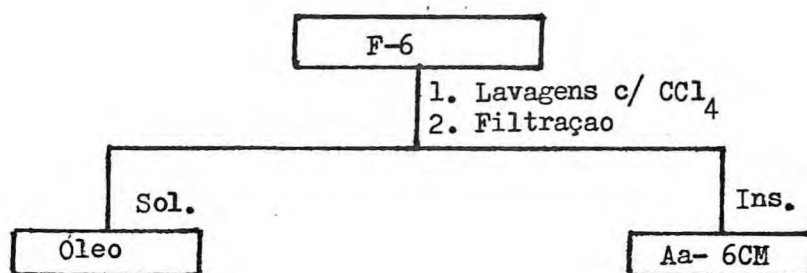
A fração 6, semi-sólida de cor escura foi lavada repetidas vezes com CCl_4 , resultando em uma substância cristalina branca, ponto de fusão $296-298^\circ\text{C}$, denominada Aa-6CM. A pequena quantidade obtida desta fração, não permitiu a obtenção de todos os espectros e a realização de reações necessárias a sua elucidação estrutural.

A fração 7, tal como a F-6, foi lavada com CCl_4 , observando-se sua dissolução parcial e formação de cristais em forma de bastões após evaporação lenta do solvente, mas, ainda impregnados com certa quantidade de óleo verde escuro. O óleo foi eliminado através de sucessivas lavagens com éter de petróleo.

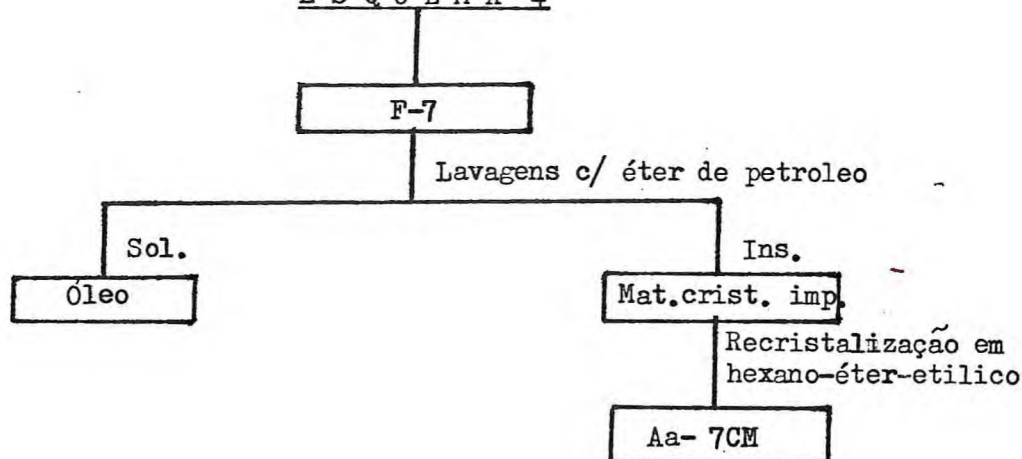
Cromatografia em camada fina mostrou que F-7 apresentava ainda uma impureza e, que, por comparação direta, mostrou tratar-se de Aa- 6CM. Recristalização em hexano-éter etílico levou-nos a substância cognominada Aa- 7CM, ponto de fusão 182 - 184°C.

Os Esquemas 3 e 4 resumem os caminhos seguidos na purificação das frações 6 e 7.

ESQUEMA 3



ESQUEMA 4

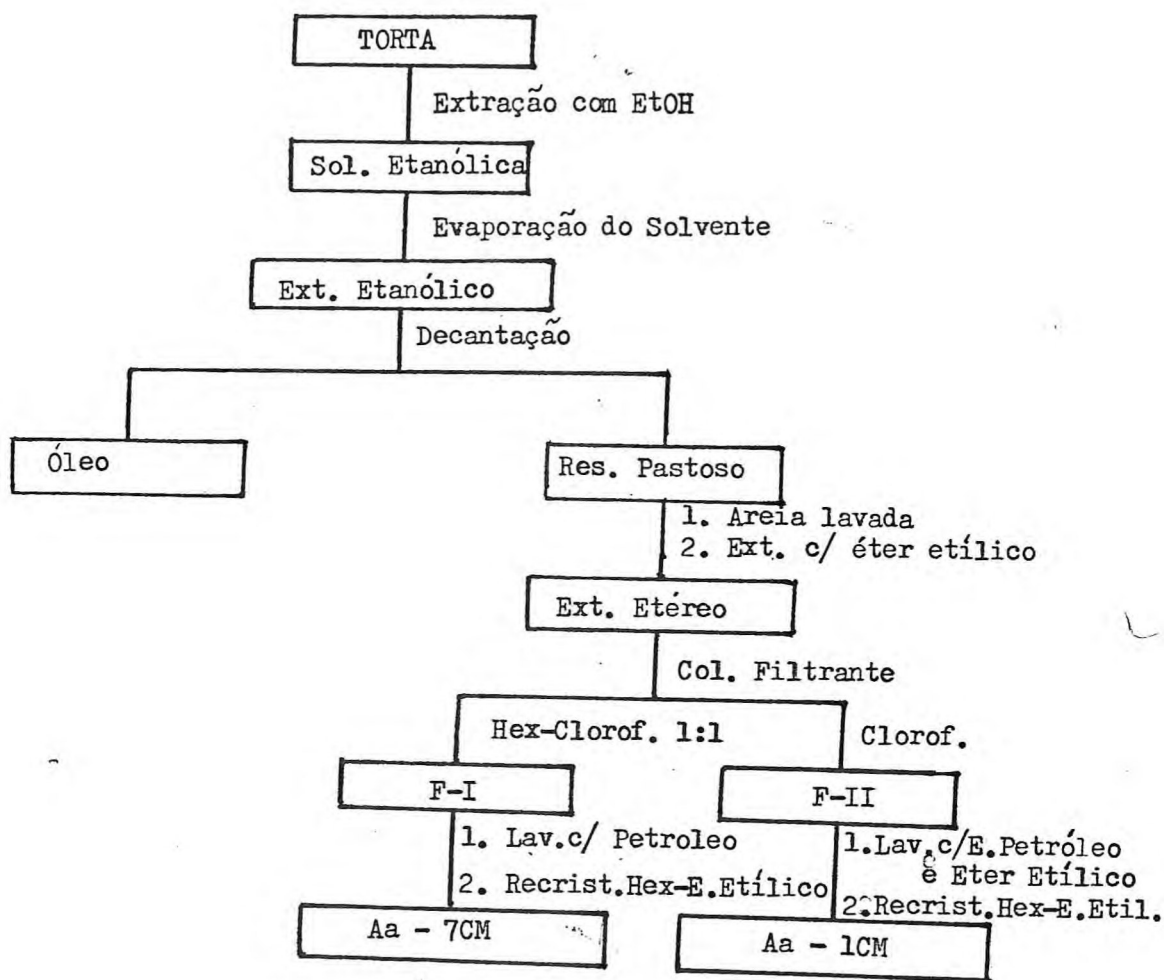


A torta originada após percolação em hexano foi submetida a extração exaustiva em etanol, fornecendo um resíduo, impregnado de certa quantidade de um óleo escuro. O óleo foi separado por decantação e ao resíduo pastoso adicionou-se areia lavada. A extração em éter-etílico, em Soxhlet, proporcionou um material semi-sólido de coloração escura. Este, por cromatografia em coluna filtrante, originou duas frações, F-I e F-II, eluídas, respectivamente, com hexano-clorofórmio 1:1 e clorofórmio. Concentração dos solventes e lavagem com éter de petróleo com a finalidade de remover a parte oleosa, levou-nos a materiais sólidos cristalinos, quase brancos. Recristalizações em hexano-éter etí

lico de F-I indicaram tratar-se de Aa-7CM, identidade revelada por cromatografia em camada fina, ponto de fusão, IV e RMN.

F-II foi purificada por recristalizações em hexano-éter etílico, após lavagens com éter etílico, visando a retirada do óleo. Cromatografia em camada fina, ponto de fusão e RMN, evidenciaram que estávamos diante de Aa-1CM.

ESQUEMA 5



Verificamos assim, a presença do ácido (Aa-1CM) nos extratos etanólicos do lenho e da casca do caule e a ocorrência do éster metílico (Aa-7CM) nos extratos hexânico e etanólico da casca, observando-se deste modo, a ausência do mencionado éster no lenho do caule.(Esquema 5).

5.3. DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DOS CONSTITUINTES FIXOS DA PLANTA.

Aa- 7CM

P. de Fusão: 182-184°C

Espectro I.V., KBr_{max} (cm^{-1}):

3.070, 2.970, 2.940, 1.722, 1.714, 1.635, 1.465, 1.390, ' 1.300, 1.230, 1.195, 1.160, 1.020, 940, 815.

Espectro de massa, m/e (%):

 M^+ 346(4), 331(10,5), 300(4), 287(29), 286(27,5), 271(32), 253(37), 231(37), 229(14), 227(100), 217(87), 205(100), ' 189(2), 173(7,5), 121(100),Espectro R.M.N. ^1H , (CDCl_3 , τ):3,56(singleto largo, 1H, H-17), 4,45(singleto largo, 1H, H-17), 6,3(s, 3H, $\text{H}_2\text{C}-0-$), 7,05(m, 1H, H-13), 7,7(dd, J=14,5 Hz e J=4,0 Hz; 1H, Heq-14), 7,95-8,58(m), 8,81(s, 3H, $\text{H}_2\text{C}-18$), 8,91(s, 3H, $\text{H}_3\text{C}-19$).Espectro R.M.N. ^{13}C , (25,2 MHz, CDCl_3):

36,74(t , C-1), 18,27(t , C-2), 42,01(t , C-3), 39,11 (s, C-4), 52,55(d, C-5), 22,13(t , C-6), 40,07(t , C-7), 85,25(s, C-8), 49,65(d, C-9), 47,57(s, C-10), 16,33(t , C-11), 30,91(t , C-12), 52,55(d, C-13), 34,58(t , C-14), 166,07(s, C-15), 139,65(s, C-16), 126,82(t , C-17), 18,0 (q, C-18), 34,58(q, C-19), 178,78(s, C-20), 52,15(q, C-21).

Aa- 1CM

P. de Fusão: 212-215°C.

Espectro I.V., KBr (cm^{-1}):
max

3.200, 3.070, 3.000, 2.970, 1.710, 1.680, 1.632, 1.460, 1.380 ,
1.360, 1.416, 1.320, 1.225, 1.180, 1.100, 980, 880, 805.

Espectro de Massa, m/e (%):

M^+ 332(4,6%), 317(17,5), 228(5,9), 286(37,5), 275(1,5), 273(9,2),
271(30), 243(4,6), 231(9,2), 229(1,3), 227(11,9), 187(2,6), 185
(6,6), 173(7,9), 149(12,9), 133(27,5), 131(20), 121(100), 105(44,5);

Espectro de R.M.N., (CDCl_3 , τ):

3,63(singleteo largo, 1H, H-17), 4,52(singleteo largo, 1H, H-17) ,
7,06(m, 1H, H-13), 7,70(dd, $J=14,5$ Hz; $J=4$, 0Hz, 1H, H-14), 8,0
-8,45(banda larga); 8,76 (s, 3H, CH_2 -18), 8,88(s, 3H, CH_2 -19).

5.4. ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES VOLÁTEIS

5.4.1. Extração;

1.452 g das folhas finamente divididas foram submetidas a arraste com vapor d'água, fornecendo 15ml de um óleo amarelado, rico em monoterpenos e sesquiterpenos. α -pineno é o constituinte mais abundante (28,2%).

Obteve-se uma fração de α -pineno puro por destilação a pressão reduzida.

5.4.2. Análise

O óleo obtido por arraste com vapor das folhas, foi submetido a cromatografia gás-líquido em escala preparativa seguido de análises por correlações com espectros conhecidos, permitindo a identificação de alguns componentes tais como, sabineno, γ -elemeno, 1,8-cineol e α -humuleno.

A cromatografia gás-líquido acoplada a espectrometria de massa, possibilitou a comprovação de uns (sabineno, γ -elemeno, 1,8-cineol, α -humuleno) e a identificação de outros (α -pineno, β -elemeno, β -cariofileno) e ainda outros sesquiterpenos.

5.5. OBTENÇÃO DOS DERIVADOS

5.5.1. Hidrogenação catalítica de Aa- 7CM

18 mg de Aa- 7CM, dissolvidas em 3,5 ml de metanol, foram submetidas a um fluxo de hidrogênio sob condições catalíticas, Pd/C 10% (12mg), a pressão e temperatura ambientes. Cromatografia em camada fina, revelou, por comparação com a substância original, a formação do derivado. O catalizador foi eliminado por filtração em uma pequena coluna de sílica. Após destilação do solvente, sob pressão reduzida, resultou um produto cristalino branco (15 mg) de ponto de fusão, 155-160°C.

5.5.2. Hidrogenação catalítica de Aa- 1CM

Seguindo o método descrito para a reação anterior, Aa- 1CM(10 mg) foi adicionada a uma suspensão de Pd/C 10%(6,5mg) em metanol (2,5ml). A diferença de concentração entre o material original e o derivado foi acompanhada por cromatografia em camada fina. Após 50 minutos de reação, verificou-se a conversão total de Aa- 1CM em Aa- 1CMH₂. Filtração e evaporação do solvente, permitiram o isolamento de 8,0 mg de um material cristalino branco, cujas características espectroscópicas estão relacionadas na pag.

5.5.3. Metilação de Aa- 1CMH₂

A uma solução de 8,0 mg de Aa- 1CMH₂ em 0,8 ml de éter etílico sêco foram adicionadas 32 mg de "DIAZALD" (suficientes para liberar 4,48 mg de diazometano) dissolvidos em 0,25 ml de éter etílico, através de um funil de separação colocado sobre um balão de destilação contendo uma solução de 8,0 mg de KOH em 0,1 ml de H₂O juntamente com 0,5 ml de éter e 0,05 ml de etileno glicol. A adição de DIAZALD começou a ser feita após o início da destilação do éter para um balão mantido a temperatura de 0°C, contendo a substância a ser metilada, em agitação constante. Após os 12 minutos gastos nessa operação, adicionou-se ao meio reacional algumas gotas de ácido acético para eliminar o excesso de diazometano. A extração do derivado foi efetuada, empregando-se cloroformio(3X10ml). Após evaporação do solvente em evaporador rotativo, foram isoladas 7,0 mg de uma substância, cujos dados espectroscópicos encontram-se descritos na pag.

5.5.4. Reação de Aa- 1CM com diazometano

Um excesso de diazometano (16,8 mg), liberados a partir de 120mg de DIAZALD, segundo o método descrito na reação anterior, foi adicionado a Aa- 1CM (30mg). Para liberação do diazometano usou-se uma solução aquosa de KOH(30 mg, 0,05 de H₂O). O tempo gasto na adição do agente de metilação foi de 28 minutos.

O derivado metilado foi extraído com clorofórmio. Destilação do clorofórmio sob vácuo, forneceu 20 mg de um derivado cristalino, Aa-1CMMe, que funde a 137-141°C, com decomposição. Os dados espectroscópicos do derivado estão relacionados na pag. .

5.5.5. Reação de Aa-7CM com diazometano

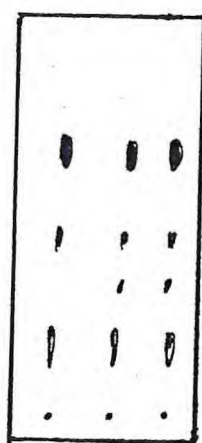
Aa-7CM (30mg) reagiu, nas mesmas condições e da maneira já descrita para Aa-1CM. Foram obtidos 22mg de uma substância cristalina, ponto de fusão 137-141°C. Os dados espectroscópicos do derivado são vistos na pag. .

5.5.6. Termólise de Aa-7CMCH₂N₂

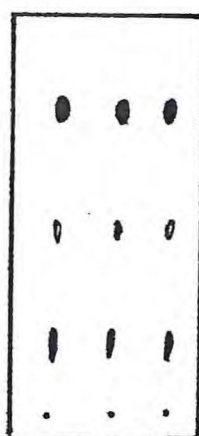
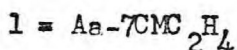
12,0 mg de Aa-7CMCH₂N₂ em 2,0 ml de xileno foram aquecidas em banho de óleo, sob agitação, a 140°C (temperatura de ebulição do xileno) durante 1 h e 30 min., tempo suficiente para não ser mais observado a saída de nitrogênio por borbulhamento em nujol. O solvente, foi então destilado sob vácuo, permanecendo no balão um material semi-sólido, que após seco, apresentou-se como uma substância amorfa. Recristalização em hexano-metanol forneceu 11,0mg de um material, cujos dados espectroscópicos encontram-se descritos na pag. .

5.5.7. Termólise de Aa-1CMCH₂N₂

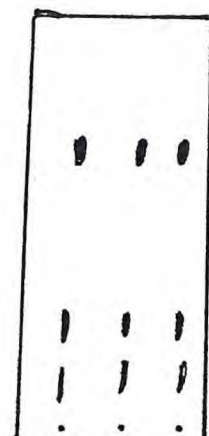
Em condições idênticas à aquelas usadas na reação anterior, Aa-1CMCH₂N₂ (1 mg) foi submetida a mesma experiência. O produto foi caracterizado por espectrometria de massa (pag;) e por cromatografia em camada fina.



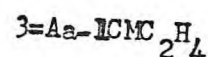
1 2 3
Clorof-Acetona
9:1



1 2 3
Clorof-Metanol
9:1



1 2 3
Clorof-Metanol
8:2



5.6. DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DOS DERIVADOSAa- 7CMH₂

P. de Fusão: 155-160°C

Espectro I.V., KBr (cm^{-1})
max

2.960, 2.940, 1.718(banda larga), 1.460, 1.380, 1.355, 1.225, 1.140, 1.110, 1.010, 980,880, 790, 760.

Espectro de massa, m/e(%):

M⁺ 348(2), 333(5,5), 289 (19), 273 (16), 245(6,5),
229(26), 159 (12), 173(10), 145(20), 135(36,5),
121(64), 109(43), 107(68), 105(50), 93(65), 91
(71), 81(80), 79(65,5), 67(59), 55(100), 41(85).Espectro de RMN¹H, (CDCl₃, τ):6,38 (s, 3H, H₃C-0), 7,66 (dd, 1H, J=14,5 e J=4,0Hz, Heq-14), 8,1-8,58 (banda larga), 8,78 (d, J=8 Hz, 3H H₃C-17), 8,86 (s, 3H, H₃C-18), 8,96 (s, 3H, H₃C-19).

Observação: Desaparece o multiplete correspondente ao H-13:

Aa- 1CMH₂

Espectro de massa: m/e (%):

M⁺ 334 (2,5), 319 (6,5), 290 (39), 289 (8), 288 (9), 275
(55), 273 (10,5) 262 (2), 261 (10), 245 (35), 244 (5), 229
(54,5), 189 (18), 187 (5), 175 (12), 173 (49), 133 (20) 121
(89), 55 (100).

Aa- 1CMH₂Me

P. de Fusão: 155-160°C

Espectro I.V., KBr (cm⁻¹):
max

2.980, 2.950, 1.720, 1.460, 1.380, 1.360, 1.240, 1.185, 1.140,
1.110, 1.070, 990.

Espectro de massa, m/e (%):

M⁺ 348 (3,6), 333 (18), 289 (48), 229 (48), 215 (17), 173 (27,
6), 135 (56), 121 (97), 107 (55), 81 (88), 55 (100).

Espectro de RMN (CDCl₃, τ):

6,35 (s, 3H, H₂C-O-), 7,41 (m, 1H, HC-CO-), 7,65 (dd, 1H, J=
14,5Hz e J=4,0Hz, H_{eq}-14), 8,0-8,5 (banda larga), 8,7 (d, J=8
Hz, 3H, H₂C-17), 8,7 (s, 3H, H₂C-18), 8,86 (s, 3H, H₂C-19).

Observação: Desaparece o multiplete correspondente ao H-13 e surge um singlete devido ao grupo metoxila.

Aa- 1CMCH₂N₂

P₂ de Fusão: 137 - 141°C

Espectro I.V., $\frac{\text{KBr}}{\text{max}}$ (cm⁻¹):

2.985, 2.960, 1.719, 1.712, 1.564, 1.462, 1.360, 1.300, 1.220 ,
1.095, 1.055, 885.

Espectro de massa, m/e (%):

M⁺ 360 (1,3), 345 (2,6), 342 (3,7), 300 (19,7), 182 (2,3), 178
(8,5), 167 (5), 151 (7); 149 (40), 140 (2,5), 123 (27,6), 122
(17), 121 (100), 107 (36).

Espectro de R.M.N., (CDCl₃, τ):

5,25 (m, 2H, H₂C-N=N-), 6,37 (s, 3H, H₂CO-), 7,14 (m, 2H, H₂C -
CH₂-N=N-), 7,67 (dd, J=14,5 e J=4,0 Hz, H_{eq}-14), 7,98-8,52 (ban
da larga), 8,85 (s, 3H, H₂C-18), 8,92 (s, 3H, H₂C-19).

Aa- 7CMCH₂N₂

P. de Fusão: 137-141°C

Espectro I.V., λ_{max} (cm⁻¹):

2.980, 2.945, 1.720, 1.710, 1.560, 1.460; 1.360, 1.305, 1.223,
1.105, 1.065, 890.

Observação: A pequena diferença observada entre as absorções
de Aa- 1CMMe e Aa- 7CMCH₂N₂ deve-se provavelmente a amostras
não igualmente secas.

Espectro RMN¹H, (CDCl₃, τ):

5,28(m, 2H, H₂C-N=N-), 6,38(s, 3H, H₂C-O), 7,14(m, 2H, H₂C-
CH₂-N=N-), 7,68(dd, J=14,5 Hz e J=4,0 Hz, H_{eq}-14), 7,94-8,55
(banda larga), 8,85(s, 3H, H₂C-18), 8,94(s, 3H, H₂C-19).

Espectro de massa, m/e (%):

M⁺ 360(3,5), 345(10,5), 342(8), 301(32), 300(49), 285
(25), 283(21), 282(20), 267(18), 241(16), 178(8,5),
173(27), 150(15), 149(35), 121(100).

Espectro no U.V., λ_{max} MeOH (nm)

217, 330.

Aa- 7CMC₂H₄

Espectro de RMN¹H, (60 MHz, CDCl₃, $\tilde{\nu}$):

3,72 (q, J=7,4 Hz, 1H, $\begin{array}{c} \text{H}^3\text{C} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$), 6,3 (s, 3H, H₂CO-), 7,0-7,7 (banda múltipla), 7,8 (d, J=7,4 Hz, 3H, $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$), 7,95-8,65 (banda múltipla), 8,8 (s, 3H, H₂C-18), 8,91 (s, 3H H₂C-19), 8,65-9,35 (m, $\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{H} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$).

Espectro de RMN¹H, (Dupla irradiação sobre as absorções em 3,72(q) e 7,8(d))

3,78 (s, 1H), 6,35 (s, 3H, H₂CO), 7,0-7,67 (banda múltipla) 7,78 (s, 3H), 7,98-8,6 (banda múltipla), 8,85 (s, 3H, H₂C-18), 8,95 (s, 3H, H₂C-19), 8,65-9,35 (m, $\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{H} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$).

Espectro de massa, m/e (%):

M⁺ 360 (8), 345 (7), 327 (8,5), 301 (16,5), 300 (19), 295 (5), 285 (35), 267 (35), 257 (2,5), 239 (9), 229 (2,5), 213 (9), 201 (5), 199 (20), 178 (20), 149 (64), 125 (15), 121 (100), 105 (44), 93 (47), 91 (48).

Aa- 1CMC₂H₄

Espectro de massa, m/e (%):

M⁺ 360 (11), 345 (13), 342 (22), 327 (22), 314 (80), 300 (15)
299 (55), 285 (11), 267 (10), 257 (79), 243 (29), 239 (8) ',
229 (4), 213 (89), 207 (59), 199 (34), 189 (65), 178 (8), 163
(81), 149 (100), 125 (92), 121 (55), 107 (30), 105 (47), 93
(29), 91 (59).

5.7. BIBLIOGRAFIA

1. Albuquerque, M.M., Lira, F.O.A., Mello, J.F., Lima, O.G., Monache, F.D., Diu, M.B.S. e Moreira, L.C., Rev. Inst. Ant. Rec. 14,83 (1974).
2. Jolly, A.B. - Botânica- Introdução a Taxonomia a Vegetal. Ed. Nacional , Sao Paulo (1966).
3. Braga, R.A. - Plantas do Norte, Especialmente do Ceará, 2º Ed. Imprensa Universitária, do Ceará (1960).
4. Guenther, E., Ed., The Essential Oils. Vol.I a VI, R; Krieger Publ. New York (USA), 1972-1974.
5. Craveiro, A.A., Alencar, J.W., Matos, F.J.A., Andrade, C.H.S., Machado, M.I.L., Ciênc. Cult., 30 (7), Suplemento, São Paulo (1978).
6. Silveira, E.R.- Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste- Croton sonderianus Muell. Arg., Dissertação de Mestrado, Fortaleza (1978).
7. Bohlmann, F. and Zdero, C.- Phytochemistry, 17, 1595(1978).
8. Pinar, M. e col., Phytochemistry, 17; 1637 (1978).
- 9; Wenkert, E., e col., J. Org. Chem., 44, 146 (1979).
- 10.Wenkert, E. e col., -J. Am. Chem. Soc., 94, 4367 (1972).
- 11;Yamasaki, K. e col., Chem. Pharm. Bull., 25, 2895 (1977).
- 12;Yamasaiki, K. e col., Tetrahedron Letteps, 13, 1005 (1976).
- 13.Matsuo, A., Ulto, S., Nakayama, M. and Hayashi, S.,-Tetrahedron Letters, 28, 2451 (1976).
- 14.Imamura, P.M., Marsaioli, A.J., Barata, L.E.S. and Ruveda, E.A., Phytochemistry, 16, 1842 (1977).
15. Valverde, S. and Rodrigues, B., -Phytochemistry, 16;11841 (1977).
- 16.Wahlberg, I., Almquist, S., Nishida, T. and Enzell, C.R., Acta Chem. Scand. B, 29, 1047 (1975).
- 17.Levy, G.C. and Nelson, G.L.- "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance for Organic Chemists." Wiley-Interscience, pags. 35 e 207, NY, USA(1972).
- 18.Yatagai, M., Shirato, T., Hayashi, V., Fukuhara, N. and Takahashi, T. , Mokuzaï Gakkaishi, 24, 267 (1978).
- 19.Narayanan, C.R., Tetrahedron Letters, 41, 3647 (1965).

20. Linde, H., *Helv. Chim. Acta*, 47, 1234 (1964).
21. Tabacik, C., Posson, C., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 9, 3264 (1969).
22. Ahmad, S., Seligmann, O., Wagner H. and Hussain, G., *Phytochemistry*, 16, 1844 (1977).
23. Hirata, Y., "Toxic Substances of Euforbiaceal", Nagoya University, Japan.
24. Johnston, J.P. and Overton, K.H., *J. Chem. Soc., Perkin I*, , 853 (1973).
25. Fried, J. and Edwards, J.E., - *Organic Reactions in Steroid Chemistry II*, 100 (1972).
26. Hopps, H., Research Division, Aldrich Chemical Company, Inc., *Preparation and Reactions of Diazomethane*,
27. Crawford, R.J., Mishra, A. and Dummel, R.J., *J. Amer. Chem. Soc.*, 88:17, 3959 (1966).
28. Danion -Bengot, R. et Carrie, R., *Bull. Soc. Chem. Fr.*, 9, 3511 (1972).
29. Danion- Bongot, R. et Carrie, R., *Bull. Soc. Chem. Fr.*, 9; 3521 (1972).
30. Stewart; O.M., Carlisle, C., Kem, and Lez, G., *J. Org. Chem.*, 35, 2040 (1970).
31. Freeman, J.P., *J. Org. Chem.*, 14, 1379 (1964).
32. Bernstein, S. and Joseph, J.P., *J. Org. Chem.*, 25, 1676 (1960).
33. Taub, D., Hoffsommer, R.D. and Wendler, N. L., *J. Org. Chem.* 29, 3486 (1964).
34. Atten Burrow, J., Connet, J.E., Oughton, J.F., Ritchie, A.C. and Wilken son, P.A., *J. Chem. Soc.*, , 4547 (1961).
35. Burn, D., Ducker, J.W., Ellis, B., Hiscock, A. K., Leftwick, A.P., Pea ch, C.M., Petrow, V., Williason, D.M., , 4242 (1963).
36. Becker, E.D.- "Higt Resolution NMR", Academic Press, New York, 1969.
37. *Natural Products Chemistry*, 1; 90 (1974).
38. Craveiro, A.A., Monte, F.J.Q., Matos, F.J.A. and Alencar, J.W., *Rev. La tino Amer. Quim.*, 9; 98 (1978).
39. Stenhagen, E., Abrahamson, S. and McLafferty, F.W., Eds. "Registry of ' Mass Spectral Date", Wiley, NY (1974).
40. Ponchert, C.J., (Ed); "The Aldrich Library of Infrared Spectra", Aldrich Chemical Co. Inc. and, ed. Wisc. (1975).
41. Ponchert, C.J. and Cambell (Eds); "The Aldrich Library of NMR Spectra", Aldrich Chemical Co., Inc. Wisc. (1974).