

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS DO NORDESTE

Torresea cearensis Fr. Allem.

CÉLIA REGINA VIEIRA BASTOS

.....  
—————  
DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE  
MESTRE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - 1982

Esta Dissertação foi apresentada como parte dos requisitos necessários a obtenção do Grau de Mestre em Química Orgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

---

Célia Regina Vieira Bastos

TESE APROVADA EM: 08.02.1982

EXAMINADORES

---

Profa. Ma. Iracema L. Machado  
Orientadora

---

Prof. Raimundo Braz Filho  
Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro

---

Prof. José Wilson de Alencar  
Univ. Federal do Ceará

A meus pais, que me incentivaram  
a viver.

A Lina, que me abriu os caminhos.

A meu amigo Paulo Picanço, que me  
fêz sentir gente.

"A experiência é, para mim, a suprema autoridade. A minha própria experiência é a pedra de toque de toda a validade. Nenhuma idéia de qualquer outra pessoa, nem nenhuma das minhas próprias idéias, têm, a autoridade que reveste a minha experiência".

Carl R. Rogers

Este trabalho foi realizado sob a orientação da  
Profa. MARIA IRACEMA LACERDA MACHADO do DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
ORGÂNICA E INORGÂNICA, da Universidade Federal do Ceará.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com a colaboração de várias pessoas, que lamentavelmente não daria para citá-las uma de cada vez.

Sem esquecer as que tiveram influência mais direta, quer seja por estímulo, orientação e colaboração nas etapas que não me sentia tão eficiente e também todas aquelas que me fizeram sentir o trabalho como um desafio, colocando barreiras bem difíceis de transpôr.

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos, a sempre amiga e orientadora, Dra. Maria Iracema Lacerda Machado, reconhecendo que sem sua dedicação, meu trabalho não seria concluído.

Ao Dr. Raimundo Braz Filho, pelas palavras de estímulo e valiosa orientação, como parte de meu comitê de Dissertação de Mestrado.

Meu reconhecimento ao Coordenador de Pesquisa e Pós-Graduação, Dr. Afrânio Aragão Craveiro, pela oportunidade que recebi ao iniciar meus trabalhos de pesquisa.

As colegas de trabalho, Miriam Pinheiro de Sousa, Angela Martha Campos e Assunção de Maria Timbô, que de uma forma amiga auxiliaram-me nas correções e apresentação do texto e estruturas.

Ao professor Silyio Roberto T. Barreira, por ter colaborado nas reações com os organolíticos.

Aos professores Afrânio Gomes Fernandes e Prisco Bezerra, pela descrição botânica da espécie estudada.

A meu tio, Jaime Câmara Vieira, pelo fornecimento do material estudado.

A amiga e datilógrafa, Maria Vilani Alencar Silva, pelo seu esforço para uma boa apresentação gráfica.

A professora Maria Ester Weyne, que sempre estimulou-me a prosseguir.

Ao BNB, CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro.

- O trabalho experimental foi inicialmente orientado pelo professor Francisco José de Abreu Matos.

## RESUMO

Do extrato clorofórmico do lenho de *Torresea cearensis* Fr. Allem foram isoladas as seguintes substâncias: cumarina; 3,4-dimetoxycinamato de metila; ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico (ácido vanílico); 6-4'-dimetoxi-7-hidroxiisoflavona (afroormosina); 7-hidroxi-8,4'-dimetoxiisoflavona(8-O-metilretusina); 24-metilenocicloartanol e  $\beta$ -sitosterol.

Nos extratos hexânicos e em acetato de etila das sementes foram identificadas, cumarina, 6-hidroxycumarina e três ácidos obtidos em forma de ésteres metílicos: ácido palmítico, ácido oleico e ácido esteárico.

A ocorrência de 6-hidroxycumarina, que contraria as regras biossintéticas conhecidas, sugere que *Torresea cearensis* Fr. Allem poderá ter uma posição relevante do ponto de vista quimiosistemático.

A cumarina, abundantemente encontrada nas sementes, foi submetida a várias reações com diferentes organolítios (metilítio, butilítio e fenilítio). Das reações com metilítio e butilítio, foram obtidos como produtos principais 2,2-dimetilcromeno e 2,2-dibutilcromeno. Na reação com fenilítio foi identificada a 1,3-difenil-3-(2-hidroxifenil)-propan-1-ona.

Procedeu-se também a reação da 7-metoxicumarina com metil  
lítio, identificando-se 7-metoxi-2,2-dimetilcromeno (PRECOENO I )  
e 4-(2'-hidroxi-4'-metoxi-fenil)-pentan-2-ona, como produtos princi  
pais.

## ABSTRACT

From the chloroformic extract of wood of *Torresea cearensis* Fr. Allem was isolated the following substances: coumarin; methyl 3,4-dimethoxycinnamate; 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid (vanillic acid); 7-hydroxy-6,4'-dimethoxyisoflavone (afroformosin); 7-hydroxy-8,4'-dimethoxyisoflavone (8-O-methylretusin); 24-methylenecycloartanol and  $\beta$ -sitosterol.

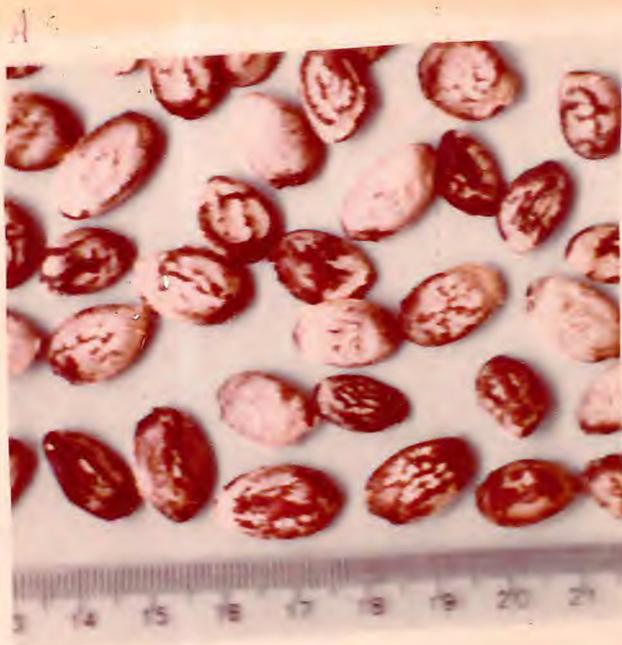
In the seed's hexanic and ethyl acetate extracts it was identified coumarin, 6-hydroxycoumarin and three methyl esters of the acids: palmitic, oleic and stearic.

The presence of 6-hydroxycoumarin is surprise since the presence of hydroxyl group in the position 6 contradict the know biosynthesis rules. This fact suggests that *Torresea cearensis* Fr. Allem can have a very important position under chemosystematic point of view.

The coumarin found in large amount in its seeds, was tested in several reactions with organolithium compounds.

Methylithium and butyllithium reactions, gave as main products, 2,2-dimethylchromen and 2,2-dibuthylchromen. With phenyllithium reaction it was found 1,3-diphenyl-3-(2-hydroxyphenyl)-propan-1-one.

Reaction of 7-methoxycoumarin with methyllithium was tried and as result was identified 7-methoxy-2,2-dimethylchromen (PRECO-CENE I) and 4-(2'-hydroxy-4'-methoxy-phenyl)-pentan-2-one with some minor products.



ESTAMPA 1

A - Sementes

B - Tronco com descamação do súber

C - Ramo florífero

D - Torresea cearensis (Imburana de cheiro)

F.J.A.MATOS

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - Espectro de I.V. de TC-1-OAc	06
FIGURA 2 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-1-OAc	07
FIGURA 3 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de afrormosina-acetato(100MHz, CDCl <sub>3</sub> )	08
FIGURA 4 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de afrormosina-acetato(60MHz, CDCl <sub>3</sub> )	09
FIGURA 5 - Espectro de massa de TC-1-OAc	10
FIGURA 6 - Espectro de I.V. de TC-4	16
FIGURA 7 - Espectro de U.V. de TC-4	17
FIGURA 8 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-4-OAc (60MHz)	18
FIGURA 9 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-4-OAc (100MHz)	19
FIGURA 10- Espectro de massa de TC-4	20
FIGURA 11- Espectro de massa de TC-4-OAc	21
FIGURA 12- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-3	23
FIGURA 13- Espectro de I.V. de TC-2	26
FIGURA 14- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-2	27
FIGURA 15- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-2-hidrolisado	28
FIGURA 16- Espectro de I.V. de TC-5	31
FIGURA 17- Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-5	32
FIGURA 18- Espectro de U.V. de TC-7	35
FIGURA 19- Espectro de U.V. de 7-hidroxicumarina	36
FIGURA 20- Espectro de I.V. de TC-7	37

FIGURA 21 - Espectro de I.V. de 6-hidroxycumarina sintética	38
FIGURA 22 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-7	39
FIGURA 23 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de 6-hidroxycumarina sintética	40
FIGURA 24 - Espectro de massa de TC-7	41
FIGURA 25 - Espectro de I.V. de TC-8	45
FIGURA 26 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-8	46
FIGURA 27 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de TC-8	47
FIGURA 28 - Cromatograma dos ácidos metilados das sementes de <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem	49
FIGURA 29 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de DC-1	59
FIGURA 30 - Espectro de I.V. de DC-2	62
FIGURA 31 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de DC-2	63
FIGURA 32 - Espectro de I.V. de DC-3	67
FIGURA 33 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de DC-3	68
FIGURA 34 - Cromatograma do produto da reação da 7-metoxycumarina com metilítio	72
FIGURA 35 - Espectro de massa de DC-4	73

## LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1 - Dados de RMN <sup>1</sup> H (100MHz, CDCl <sub>3</sub> ) dos derivados acetilados de TC-4 e TC-1	14
TABELA 2 - Referente ao espectro de RMN <sup>1</sup> H de TC-2	25
TABELA 3 - Ponto de fusão de cumarinas monohidroxiladas	33
TABELA 4 - Comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup> C do cicloartanol(3), cicloeucalenol(4) e 24-metileno-cicloartanol(2)	44
TABELA 5 - Flavonóides encontrados em gêneros próximos a <i>Torresea</i>	52
TABELA 6 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de DC-1	58
TABELA 7 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de DC-2	61
TABELA 8 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de DC-3	65

## LISTA DE QUADROS

	Página
QUADRO 1 - Principais caminhos de fragmentação de TC-1 e TC-4 no espectrômetro de massa	15
QUADRO 2 - Fragmentação proposta para TC-8 no espectrômetro de massa	43
QUADRO 3 - Flavonóides citados na tabela 5	53
QUADRO 4 - Prováveis interrelações biossintéticas entre as isoflavonas isoladas de <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem	54
QUADRO 5 - Proposta de fragmentação de DC-3 no espectrômetro de massa	66
QUADRO 6 - Fragmentação de DC-5 no espectrômetro de massa	71

LISTA DE ESQUEMAS

	Página
ESQUEMA 1 - Fracionamento do extrato clorofórmico do lenho de <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem	86
ESQUEMA 2 - Tratamento das sementes de <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem	87

	Página
<u>SUMÁRIO</u>	
<u>AGRADECIMENTOS</u>	v
<u>RESUMO</u>	vii
<u>ABSTRACTS</u>	ix
<u>ESTAMPA</u>	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
LISTA DE QUADROS	xv
LISTA DE ESQUEMAS	xvi
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
1.1. Interesse pela planta	1
1.2. Descrição botânica da espécie	2
2 - DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem	4
2.1. TC-1	4
2.2. TC-4	11
2.3. TC-3	22
2.4. TC-2	24
2.5. TC-5	29
2.6. TC-7	33
2.7. TC-8	42
2.8. TC-9	48
2.9. Ácidos graxos do extrato hexânico das sementes	
3 - DISTRIBUIÇÃO DE FLAVONAS E ISOFLAVONAS EM ESPÉCIES DE LEGUMINOSAS BOTANICAMENTE PRÓXIMAS DE <i>Torresea</i> <i>cearensis</i> Fr. Allem	50

4 - SÍNTESE DE CROMENOS A PARTIR DE CUMARINAS E ORGANO LÍTIOS	55
4.1. Obtenção de cromenos a partir de reações de cumarinas com organolítios	56
4.2. Reação de cumarina com metilítio	56
4.3. Identificação de DC-1	57
4.4. Reação de cumarina com butilítio	60
4.5. Identificação de DC-2	60
4.6. Reação de cumarina com fenilítio	64
4.7. Identificação de DC-3	64
4.8. Reação da 7-metoxicumarina com metilítio	69
4.9. Identificação de DC-4 e DC-5	69
4.10. Proposta para o mecanismo das reações de cumarinas com organolítios	75
5 - PARTE EXPERIMENTAL - ISOLAMENTO DOS CONSTITUENTES FI XOS E VOLÁTEIS DE <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem	78
5.1. Obtenção e elaboração do extrato clorofórmico do le nho	78
5.1.1. Elaboração do eluato benzênico	78
5.1.2. Elaboração do eluato benzeno:acetona 70:30	79
5.1.3. Eluato clorofórmio:metanol 90:30; eluato clorofór mio:metanol 75:25 e eluato metanólico	81
5.1.4. Marcha Química para separação de substâncias	81

	Página
5.2. Obtenção e elaboração dos extratos hexânicos e em acetato de etila das sementes	82
5.2.1. Elaboração do extrato hexânico	82
5.2.2. Elaboração do extrato em acetato de etila	82
5.3. Material e Métodos	84
5.3.1. Espectrometrias	84
5.3.2. Teste para compostos cumarínicos	85
6 - Características físicas e químicas das substâncias isoladas de <i>Torresea cearensis</i> Fr. Allem e seus derivados	88
Referências Bibliográficas	97

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. INTERESSE PELA PLANTA

*Torresea cearensis* Fr. Allem., conhecida vulgarmente sob as denominações de imburana de cheiro, amburana e cumarú, é uma das plantas do Nordeste de importância regional por seu uso em medicina popular no caso da madeira, como excelente material para obras de marcenaria. As sementes são utilizadas como fonte de cumarina e servem para aromatizar o rapê e as roupas, por longo tempo conservando a cheiro característico de cumarina.

Apesar disto, poucos dados foram encontrados na literatura especializada sobre sua composição química e nenhum registro foi achado com referência a seu estudo farmacológico, embora tão difundido o uso popular das cascas e das sementes, às quais se atribuem propriedades peitorais, antiespasmódicas e emenagogas.

Os primeiros trabalhos sobre química de *Torresea cearensis* Fr. Allem., indicaram a ocorrência de cumarina em todas as partes da planta<sup>(1,2,3)</sup>, além de um óleo cuja composição até então não era conhecida.

Por tudo isso passamos a crer que o estudo químico da madeira resultaria em uma importante contribuição para o conhecimento químico desta espécie.

## 1.2. DESCRIÇÃO BOTÂNICA DA ESPÉCIE

*Torresea* A.C. Smith é um gênero neotropical (Brasil, Peru, Bolívia, Paraguai e Noroeste da Argentina), da família das leguminosas papilionoideas. A este gênero pertencem somente duas espécies: *Torresea cearensis* Fr. Allem. e *Torresea acreana*.

*Torresea cearensis* Fr. Allem. é conhecida vulgarmente como imburana de cheiro e cumarú. Esta espécie é encontrada no Nordeste e Centro do Brasil. Cresce na caatinga nordestina, sendo muito comum no Ceará. Sua ocorrência é assinalada também nas selvas de Salta e Jujuy na Argentina, bem como no Paraguai. Sua madeira castanho-claro, leve, porosa e elástica, embora fácil de empenar é estimada para portadas e obras internas especialmente móveis, por ser refratária aos insetos.<sup>(4)</sup>

A árvore pode atingir até cerca de 20 metros de altura. Destaca-se pelas manchas vermelho-pardas, de mistura com outras esverdeadas na casca de que se desprendem lâminas delgadas.

Folhas: compostas de 5 a 14cm de comprimento (incluído o pecíolo), pinadas, de folíolos alternos, quanto a forma geral, estas se apresentam desde quase orbiculares, elásticos ou ovais, até oblongos ou obovais, e quanto ao número variam de 7 a 12.

Racemos: curtos, em regra fasciculados, menores que as folhas, dispendo-se nas extremidades dos ramos.

Flores: pequenas, quase sésseis com o receptáculo tubuloso semelhante a um pedicelo.

Cálice: diminuto, campanulado e quase truncado.

Corola: constituída apenas de estandarte retuso, pubescente na face externa.

Androceu: formado de 10 estames livres, com antenas dorsifixas.

Ovário: biovulado, provido de estipe que adere unilateralmente ao tubo do receptáculo e é encimado por estilete breve e curvo.

Fruto: oblongo, em torno de 7cm de comprimento e pouco mais de 1cm de largura, coriáceo, seco, deiscente a partir do ápice e encerrando uma semente ovóide, cujo tegumento se expande em asa membranacea que lhe permite fácil dispersão pelo vento.

O exemplar em estudo foi coletado na fazenda Boa Sorte na cidade de Quixeramobim no estado do Ceará, em outubro de 1976, tendo sido identificado pelos professores Afrânio Gomes Fernandes e Prisco Bezerra como *Torresea cearensis* Fr. Allem.

Duas exsicata da espécie provenientes do município vizinho de Quixadá, se encontram no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, onde receberam os n<sup>os</sup> 837 e 847.

## 2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES ISOLADOS DE *Torresea cearensis* FR. ALLEM.

### 2.1. TC-1

Por ser bastante insolúvel esta substância resistiu a várias tentativas de recristalização. O problema foi solucionado submetendo-a ao processo de acetilação.

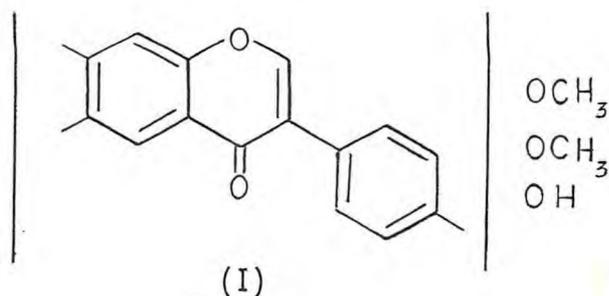
O espectro de absorção na região do infravermelho (fig. 1) indica a natureza aromática da substância pela presença de absorções em  $1.528$ ,  $1.505$  e  $1.479\text{cm}^{-1}$ . Verifica-se também a ocorrência de carbonila conjugada,  $1.623\text{cm}^{-1}$ .

O espectro de RMN<sup>1</sup>H a 60MHz (Fig. 2), apresenta sinais compatíveis com um sistema AA'BB' aromático e mais três sinais simples, perfazendo um total de sete hidrogênios no anel aromático.

Uma informação valiosa neste caso é a já esperada ocorrência de flavonóides na espécie em estudo e abordagem fitoquímica, dando teste positivo para este tipo de substância. É portanto, razoável postular o esqueleto de uma isoflavona para TC-1, como apoio na previsão biossintética e na análise dos espectros no infravermelho e RMN<sup>1</sup>H.

A presença dos sinais de um sistema AA'BB' no espectro de RMN<sup>1</sup>H nos permite colocar uma função oxigenada na posição 4' do anel B. Os sinais simples em  $7,95$ ,  $7,75$  e  $7,28\delta$  podem ser atribuídos aos prótons H-2, H-5 e H-8, respectivamente, significando isto que a posição 6 também é substituída.

O espectro de massa (Fig. 5), apresenta pico molecular 298 dalton, que nos permite colocar duas metoxilas e uma hidróxila como substituintes e propor a estrutura parcial (I) para TC-1.



Os espectros de RMN<sup>1</sup>H a 60MHz (Fig. 4) e a 100MHz (Fig. 3) de uma amostra autêntica da 7-hidroxi-6,4'-dimetoxiisoflavona (afro<sup>r</sup>mosina) acetilada são inteiramente coincidentes com aquele de TC-1 (Fig. 2). Fica portanto estabelecido a estrutura da 7-hidroxi-6,4'-dimetoxiisoflavona para TC-1.

Percebe-se no espectro de RMN<sup>1</sup>H de TC-1 um sinal de pequena intensidade em 4,06δ, a diferença de intensidade dos grupos metoxila e também no espectro de massa (Fig. 5) mais um pico molecular de baixa intensidade em 328 dalton, indica que TC-1 não está pura. A impureza pode provavelmente, ser devida a presença de uma isoflavona contendo mais uma metoxila. O sinal dessa metoxila em 4,06δ sugere que a mesma deve ser colocada na posição 8, de acordo com dados na literatura<sup>(5,6,7)</sup>, e assim, é razoável considerar que TC-1 contém como impureza a 7-hidroxi-4',6,8-trimetoxiisoflavona (TC-6).

Tomando para o cálculo a curva de integração na região das metoxilas concluímos que TC-1 contém 5,2% de TC-6.

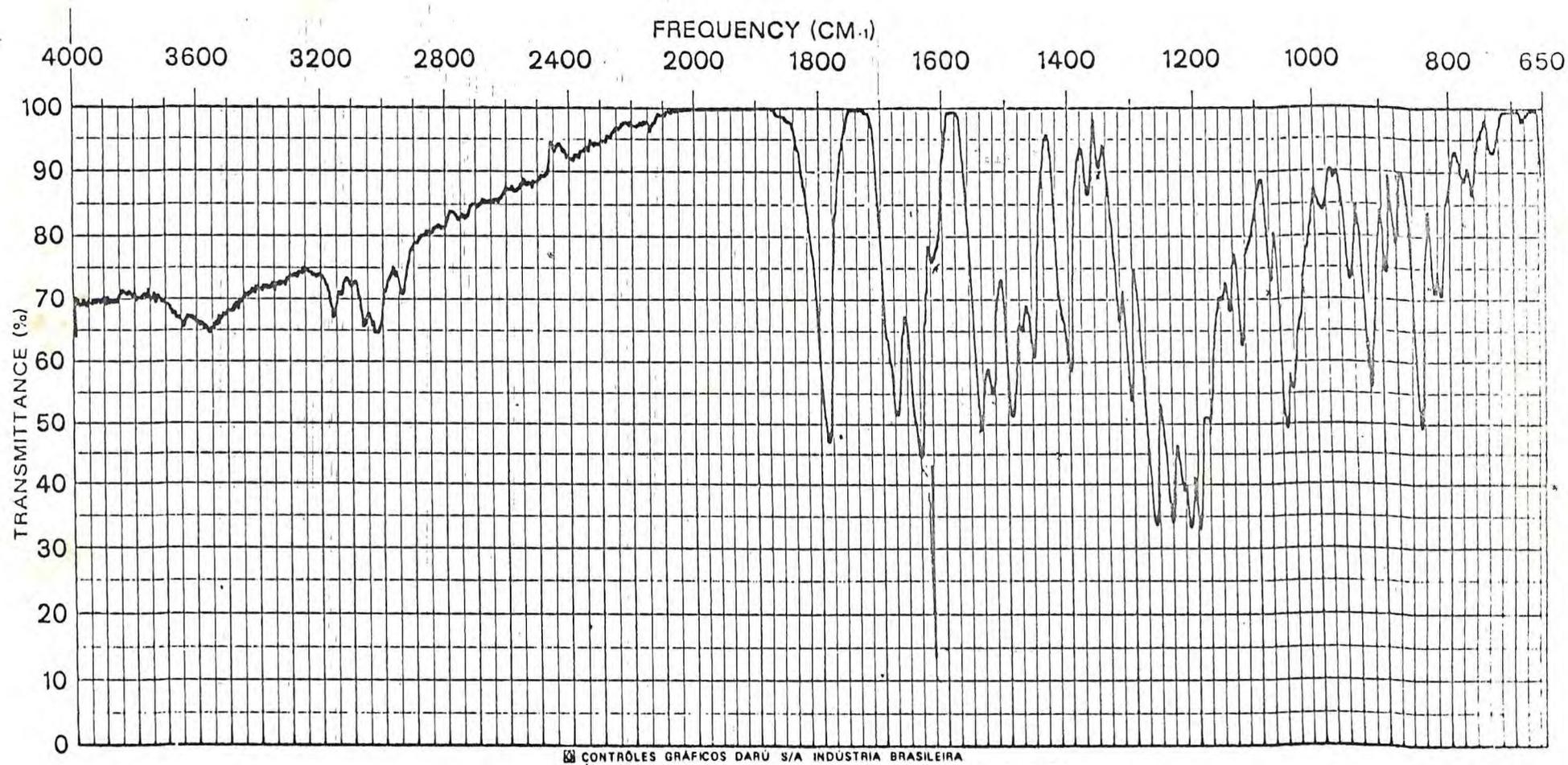


FIGURA 1 - Espectro de I.V. de TC-1-0Ac  
Fase: KBr



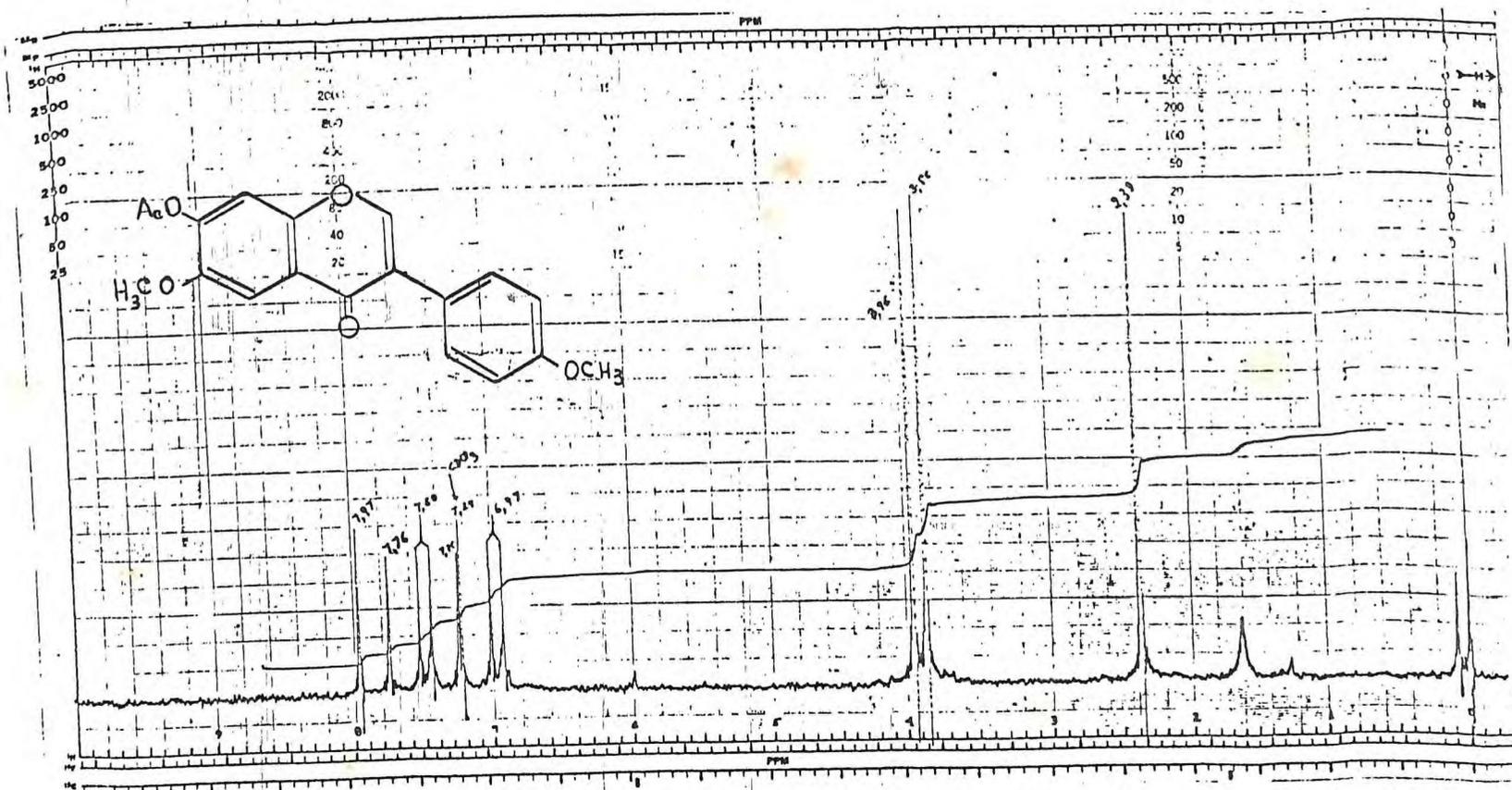


FIGURA 3 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de Afrormosina-acetato  
(100MHz, CDCl<sub>3</sub>)

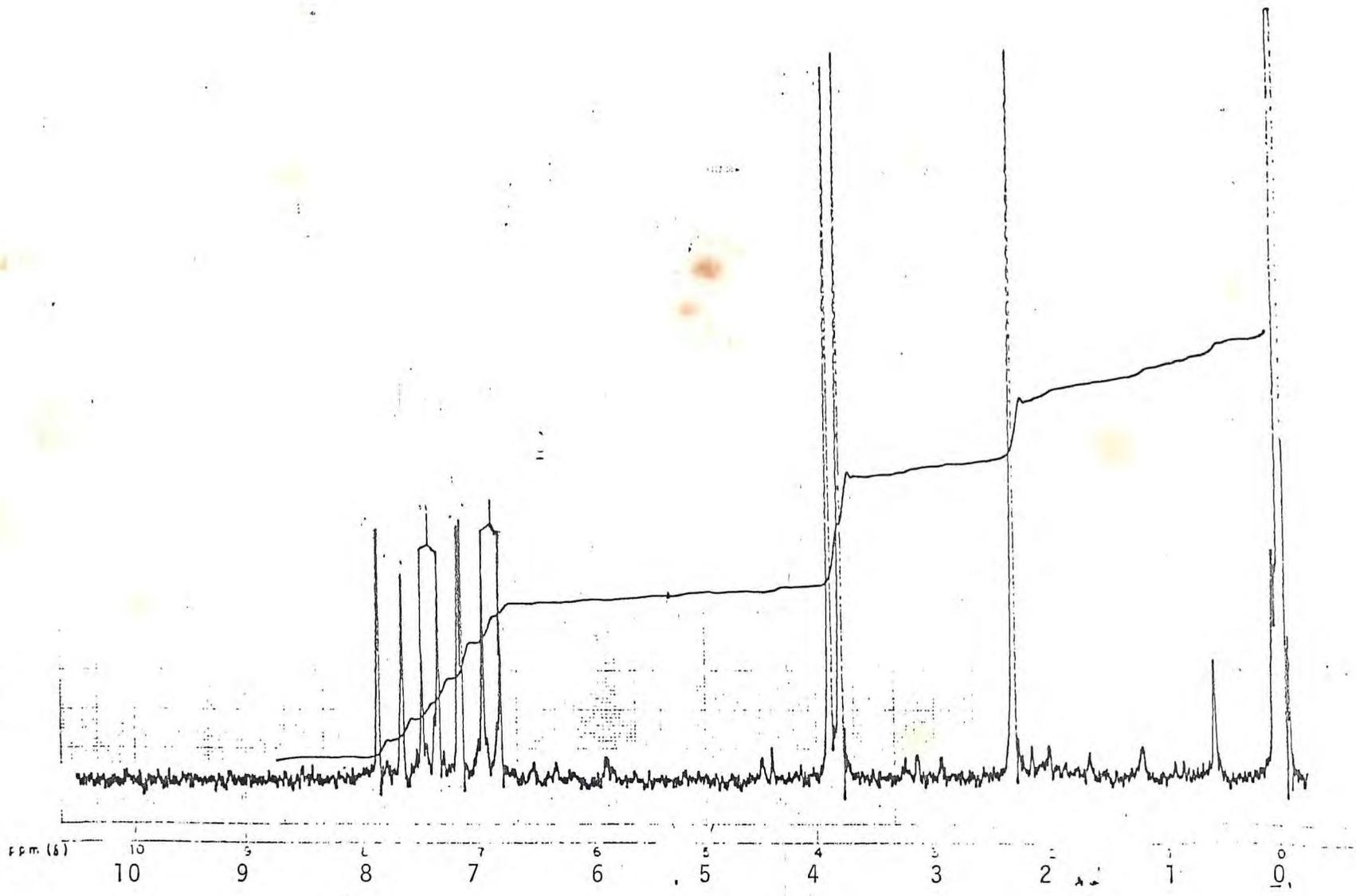


FIGURA 4 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de Afrosmosina-acetato  
(60MHz, CDCl<sub>3</sub>)

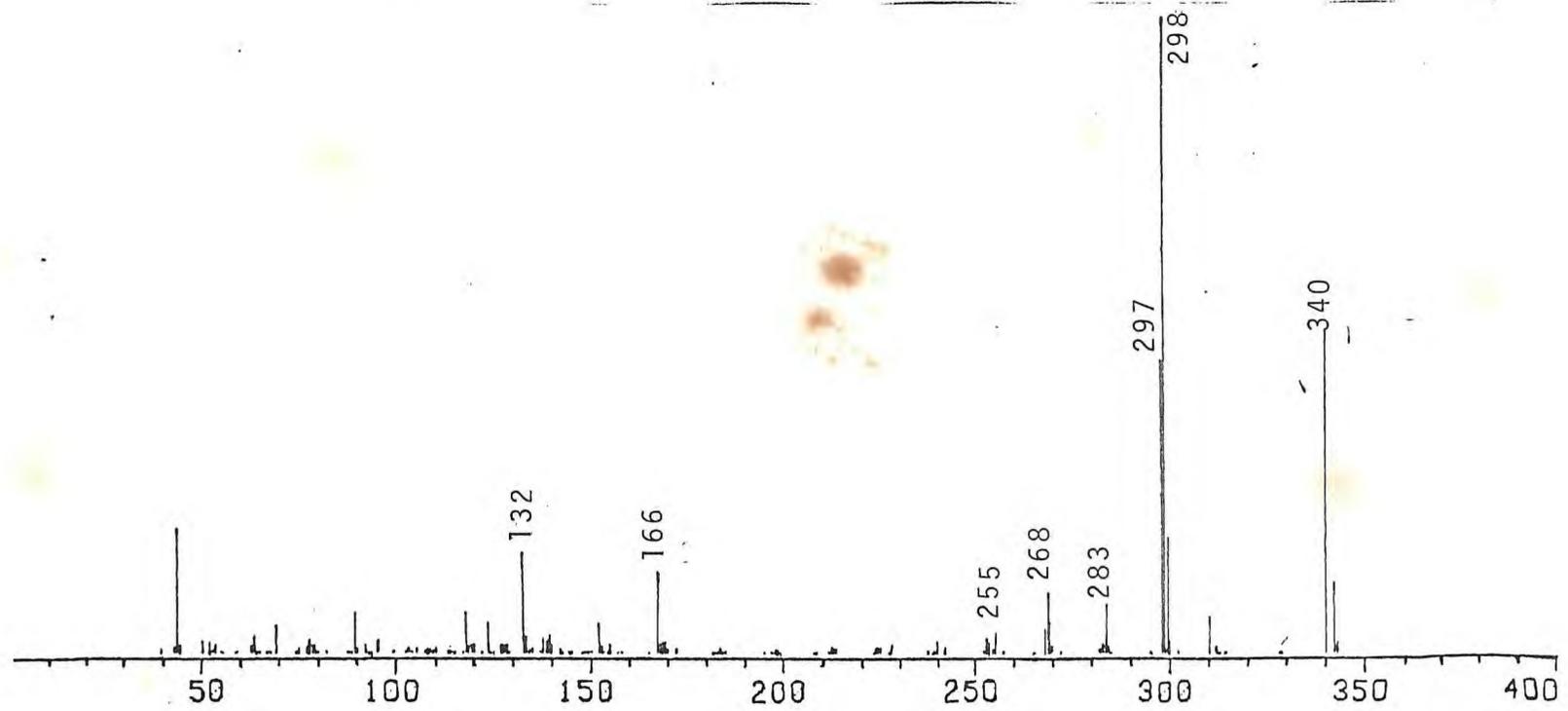


FIGURA 5 - Espectro de massa de TC-1-OAc.

## 2.2. TC-4

Cromatografia em coluna de sílica gel, do extrato clorofórmico do lenho forneceu uma fração, aparentemente pura, cujo acetato apresentou ponto de fusão 118-120°C. Cromatografia em camada delgada também deixou dúvidas quanto à pureza. O espectro de massa (Fig.10) entretanto, mostrou claramente a presença de dois picos moleculares  $M^+$  298 e  $M^+$  328 dalton.

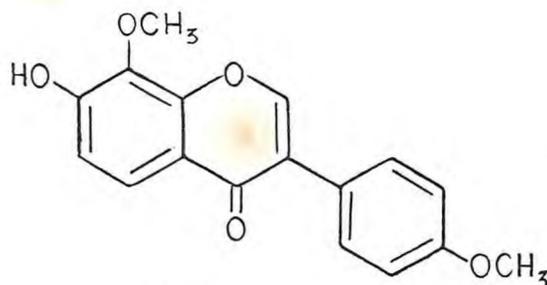
Estas informações juntamente com aquelas fornecidas pelo espectro no infravermelho (Fig. 6) em que a feição e localização da banda da carbonila,  $1.623\text{cm}^{-1}$ , é bem característica de isoflavonas nos permitem propor que se trata de uma mono-hidroxi-dimetoxiisoflavona ( $M^+$  298 dalton) em mistura com outra isoflavona contendo uma hidroxila e três metoxilas ( $M^+$  328 dalton).

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  a 60MHz, do acetato de TC-4 (Fig. 8) é compatível com essa proposição. São evidentes os sinais que podem ser associados aos prótons  $H_2$  e  $H_5$ , superpostos, ou seja, o sinal de H-2 no centro do sinal duplo correspondente a H-5 coincidindo a absorção dos dois em 8,03 $\delta$ . Esta situação de H-2 em relação a H-5 é característica de isoflavonas que contêm função metoxila na posição 8 (8).

São igualmente claros os sinais que formam um sistema AA'BB',

As informações do espectro no ultravioleta (Fig. 7) em presença de acetato de sódio nos permite colocar a hidroxila na posição 7.

Após essa análise e também por razões biogenéticas podemos propor a estrutura de uma 7-hidroxi-8,4'-dimetoxiisoflavona para TC-4 (1)..



(1)

Os dados de RMN<sup>1</sup>H são inteiramente coincidentes com os da 8-O-metilretusina isolada anteriormente de *Dalbergia retusa*<sup>(5)</sup>.

O ponto de fusão do acetato de 8-O-metilretusina é 124-125° (MeOH). Aquela de TC-4 está um pouco abaixo, confirmando a nossa hipótese inicial de que esta substância não está pura.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H a 100MHz expandido (Fig. 9) mostra claramente a presença de TC-1 (afroormosina) na mistura. Identificam-se os sinais de H-2, H-5 e das duas metoxilas ligadas ao anel aromático em 7,97; 7,76; 3,96 e 3,86δ respectivamente, bem como da metoxila do acetato em 2,38δ (compare as Figs. 3 e 9).

Tomando para o cálculo, a curva de integração na região das metoxilas, verifica-se que TC-4 contém 33,3% de afroormosina. Resta justificar a presença do pico molecular no espectro de massa 328 dalton, que provavelmente corresponde a uma terceira isoflavona. Considerando-se a mesma estabilidade para as três substâncias

no espectrômetro de massa pode-se calcular que a mistura contém 93,3% das duas isoflavonas isoméricas (afrormosina e 8-O-metilretusina) e 6,7% de uma terceira.

Os sinais dessa isoflavona no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  não são observados, como também torna-se difícil reconhecer os picos decorrentes da fragmentação retro-Diels-Alder, dificultando assim a sua identificação. Por outro lado, reconhecendo que as informações dos espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  e de massa são semelhantes aquelas relativas a impureza em TC-1, descrita anteriormente, pode-se postular que a terceira isoflavona é a mesma, ou seja, a 7-hidroxi-4',6,8-trimetoxiisoflavona (TC-6).

A análise comparativa dos espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  da mistura (Fig. 9) e da afrormosina (TC-1) permite assinalar as absorções correspondentes as duas isoflavonas isoméricas (Tabela 1).

TABELA 1

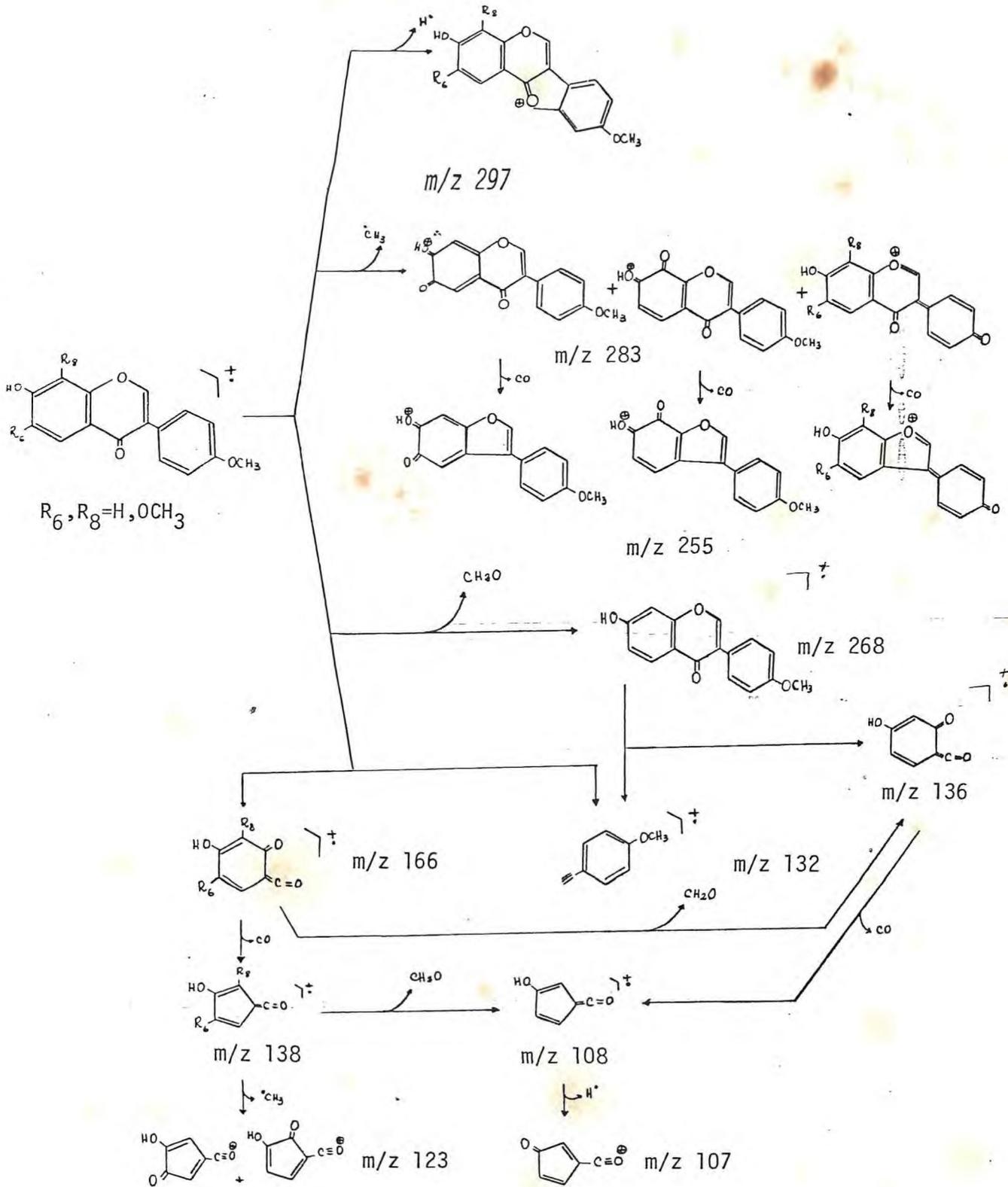
DADOS DE RMN<sup>1</sup>H(100MHz,CDCl<sub>3</sub>,δ)DOS DERIVADOS ACETILADOS DE TC-4 E TC-1

	TC-1	TC-4
H-2	7,97 (s)	8,03 (s)
H-5	7,76 (s)	8,03 (d, J8Hz)
H-6	-	7,12 (d, J8Hz)
H-2' e H-6'	7,48 (d, J8Hz)	7,48 (d, J8Hz)
H-3' e H-5'	6,98 (d, J8Hz)	6,98 (d, J8Hz)
CH <sub>3</sub> O-4'	3,86 (s)	3,86 (s)
CH <sub>3</sub> O-6	3,96 (s)	-
CH <sub>3</sub> O-8	-	4,04

### 3.2.1. PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE TC-1 E TC-4

Racionalização dos caminhos de fragmentação bastante difundidos na literatura permite justificar os principais fragmentos registrados no espectro de massa de TC-4 (Fig.10 e Quadro 1).

QUADRO 1 - PRINCIPAIS CAMINHOS DA FRAGMENTAÇÃO DE TC-1 E TC-4 NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA.



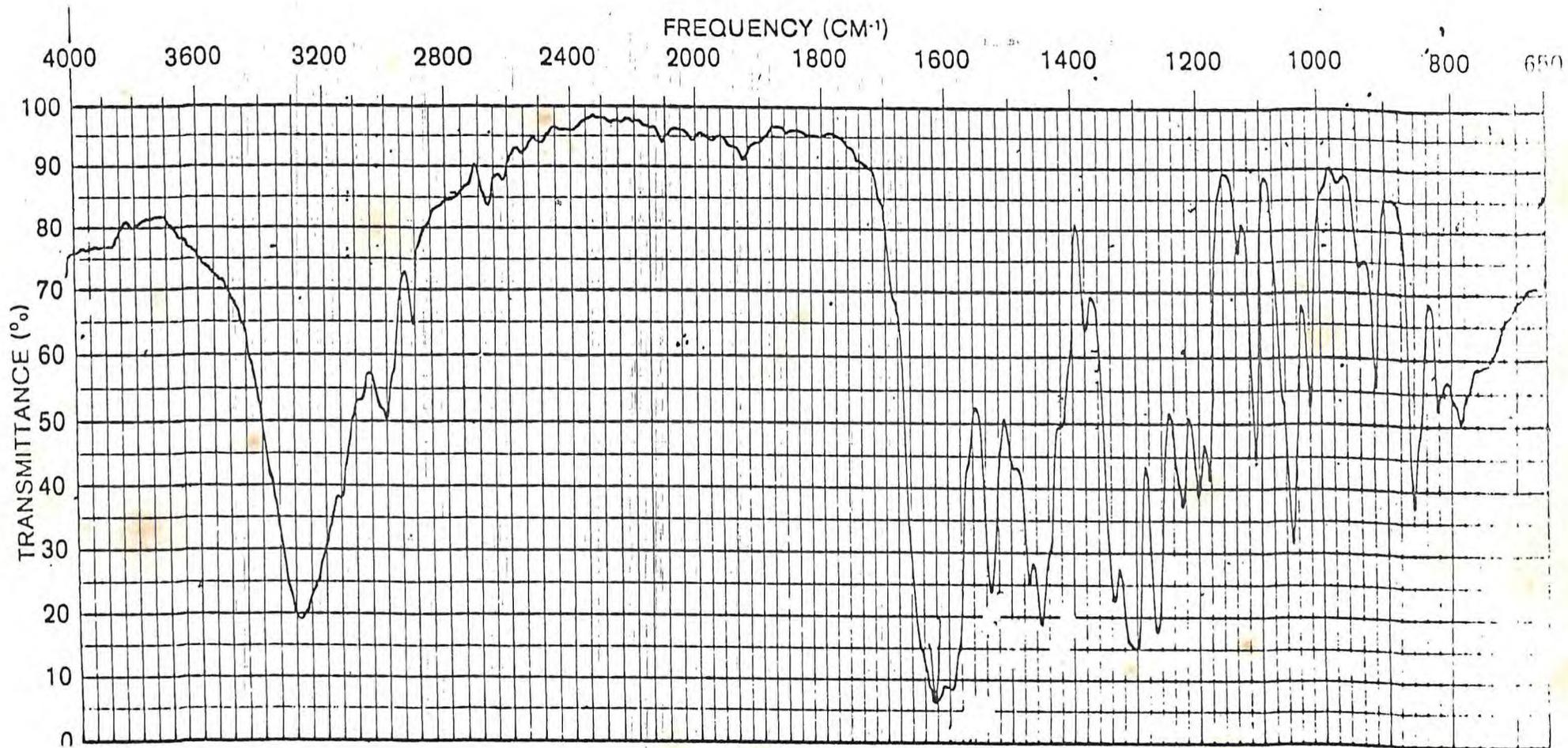


FIGURA 6 - Espectro de I.V. de TC-4.  
Fase: KBr

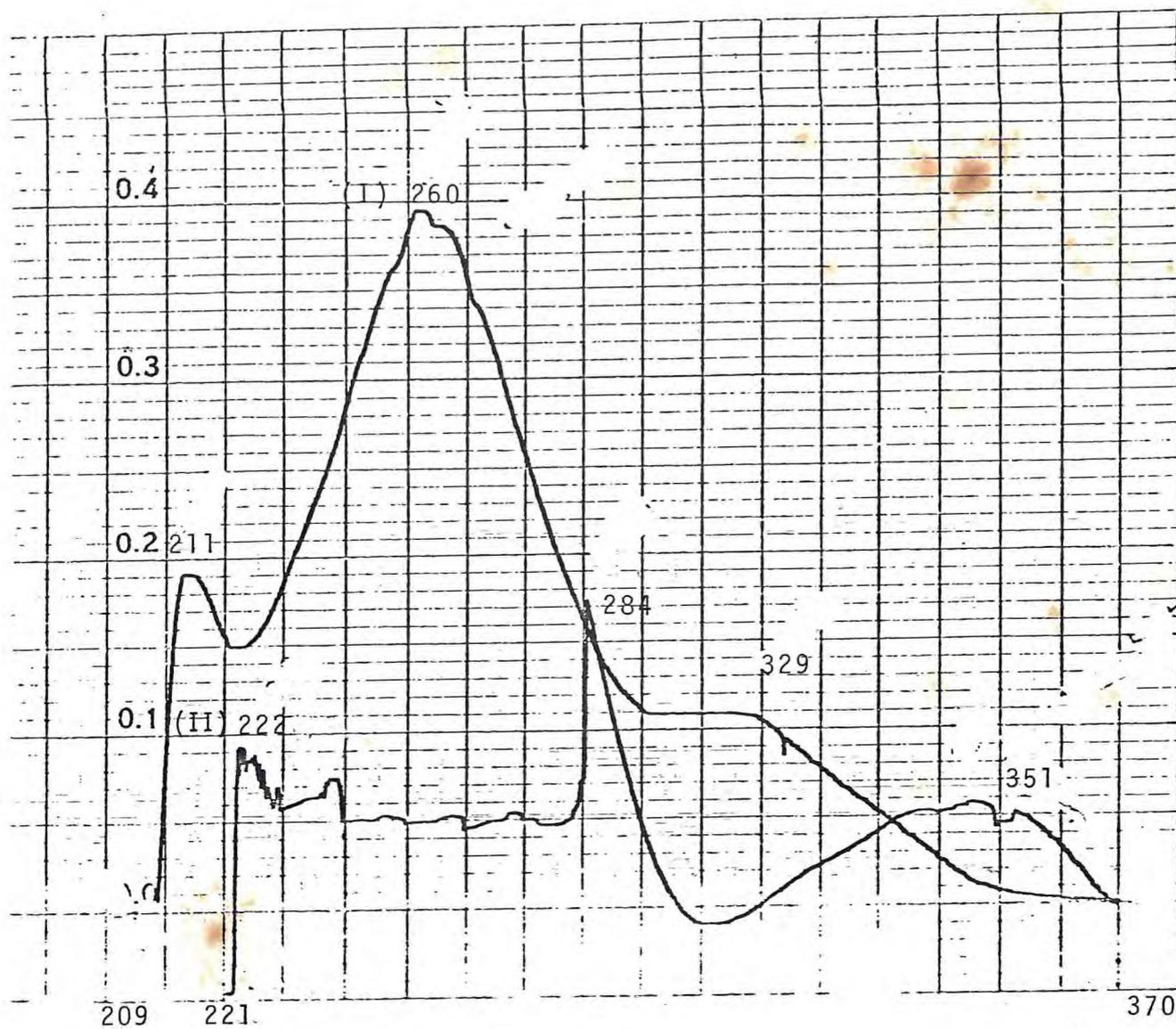


FIGURA 7 - Espectro de U.V. de TC-4( $\lambda$ ,nm)

I - MeOH

II - MeOH + NaOAc

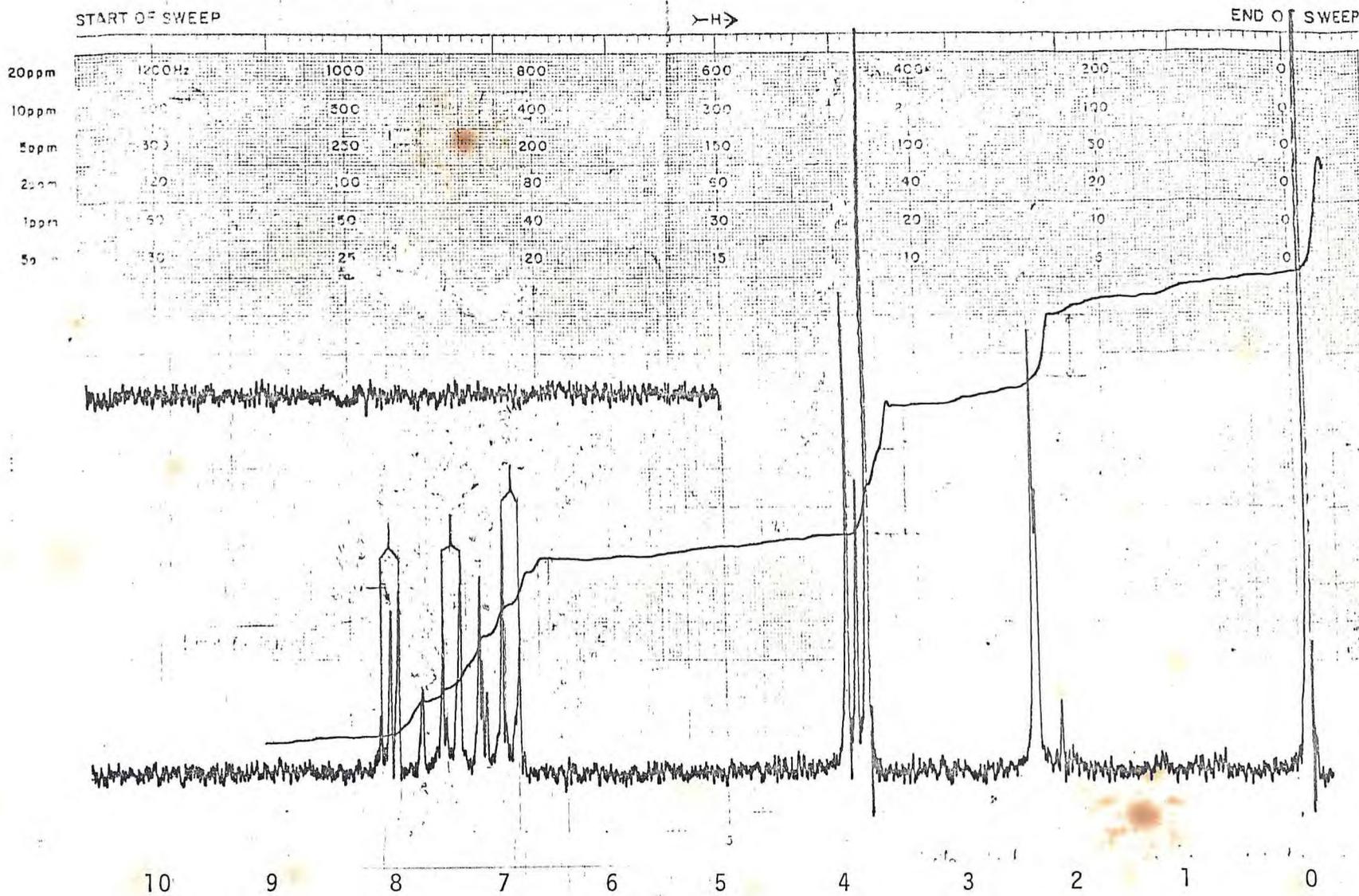


FIGURA 8 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de TC-4-OAc  
(60MHz, CDCl<sub>3</sub>)

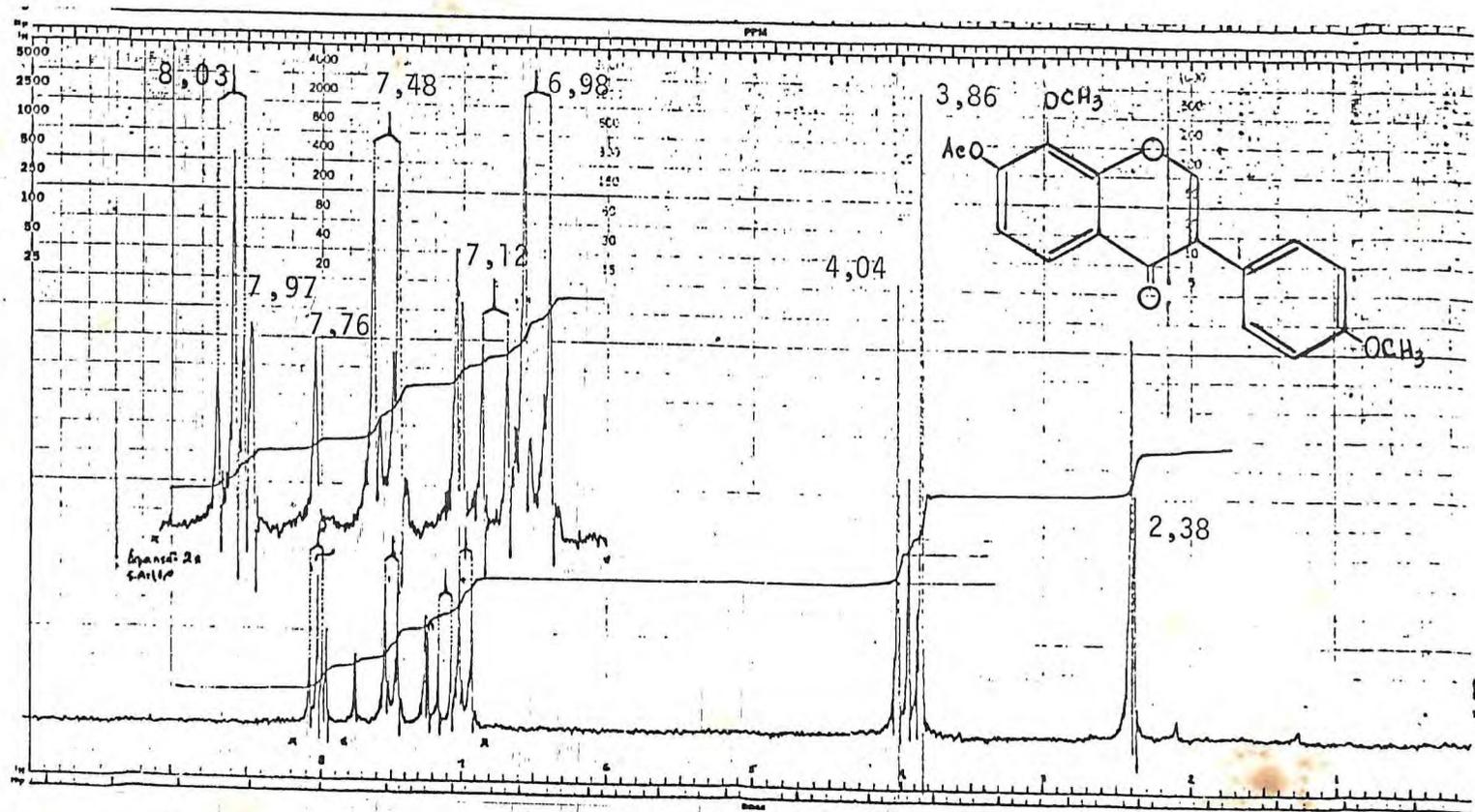


FIGURA 9 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de TC-4-OAc  
 (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

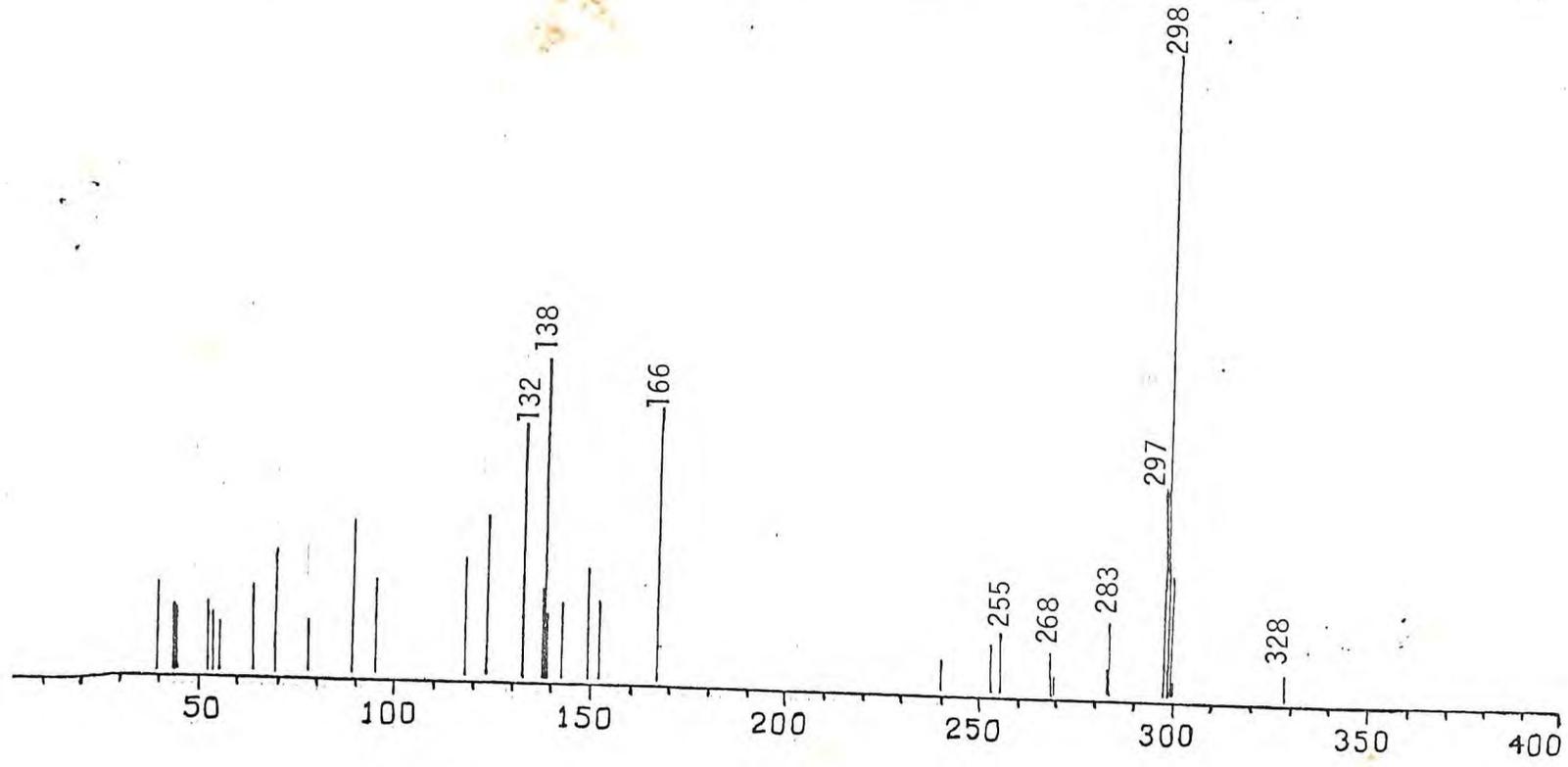


FIGURA 10 -- Espectro de massa de TC-4

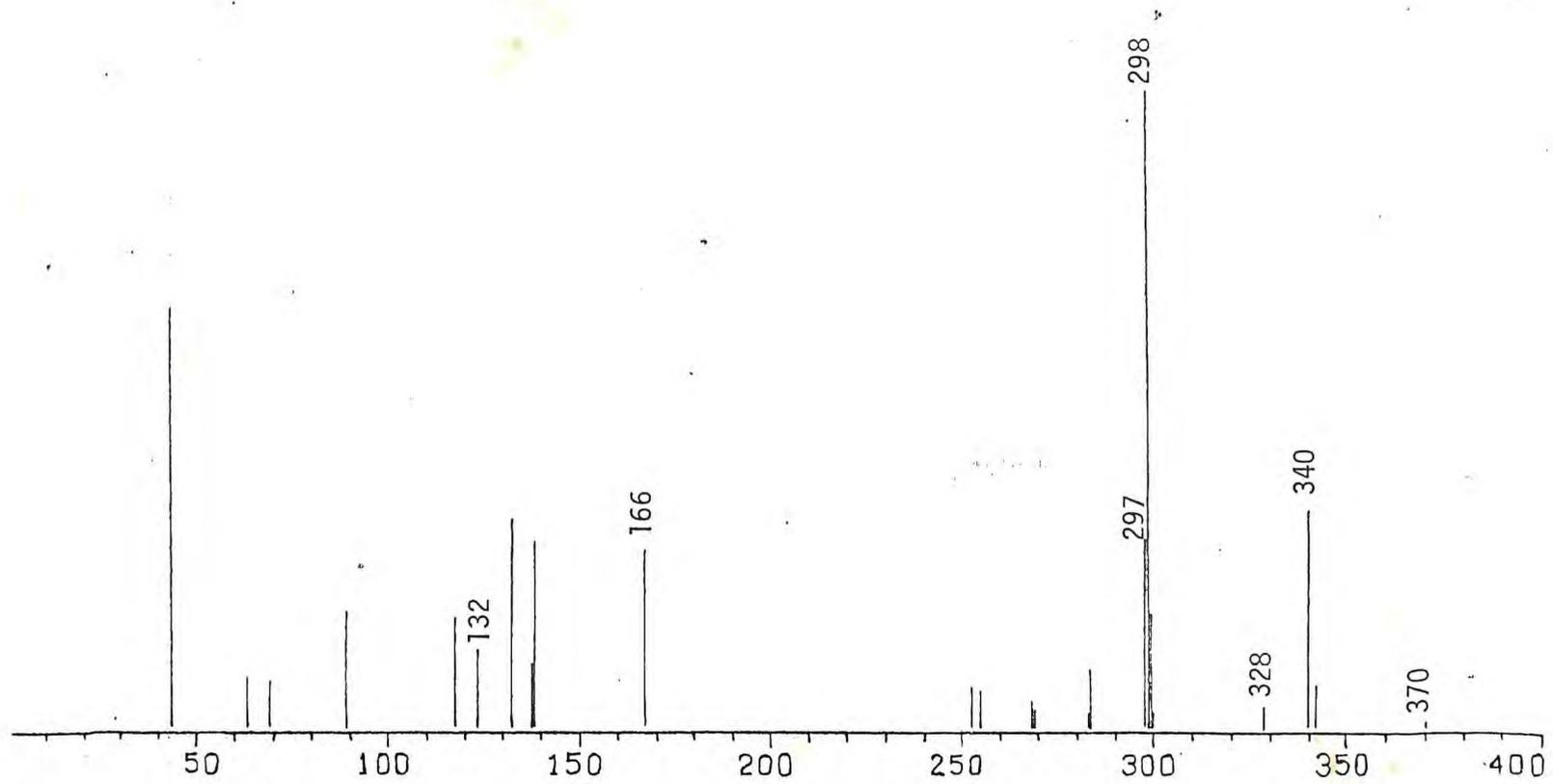


FIGURA 11 - Espectro de massa de TC-4-OAc

## 2.3. TC-3

Este material apresentou ponto de fusão 67-68°C, característico da cumarina, além de teste químico positivo para este tipo de substância<sup>(9)</sup>. A resposta positiva do teste foi concluída pelo aparecimento de fluorescência pela alcalinização do material conforme descreve o item 5.3.2.

No espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig.12) observa-se banda múltipla entre 7,2 e 7,55δ correspondente a quatro prótons aromáticos, além de dois sinais duplos em 6,3 e 7,5δ com constante de acoplamento igual a 9Hz indicando a existência de prótons olefínicos em posição cis.

Considerando-se estudos anteriores<sup>(1,2,3)</sup>, sobre *Torresea cearensis* que registraram a presença de cumarina em todas as partes da planta, admitiu-se a hipótese de tratar-se desta substância.

A não depressão no ponto de fusão com amostra autêntica e a identidade do espectro de infravermelho com o registrado na literatura<sup>(10)</sup> confirma a estrutura proposta.

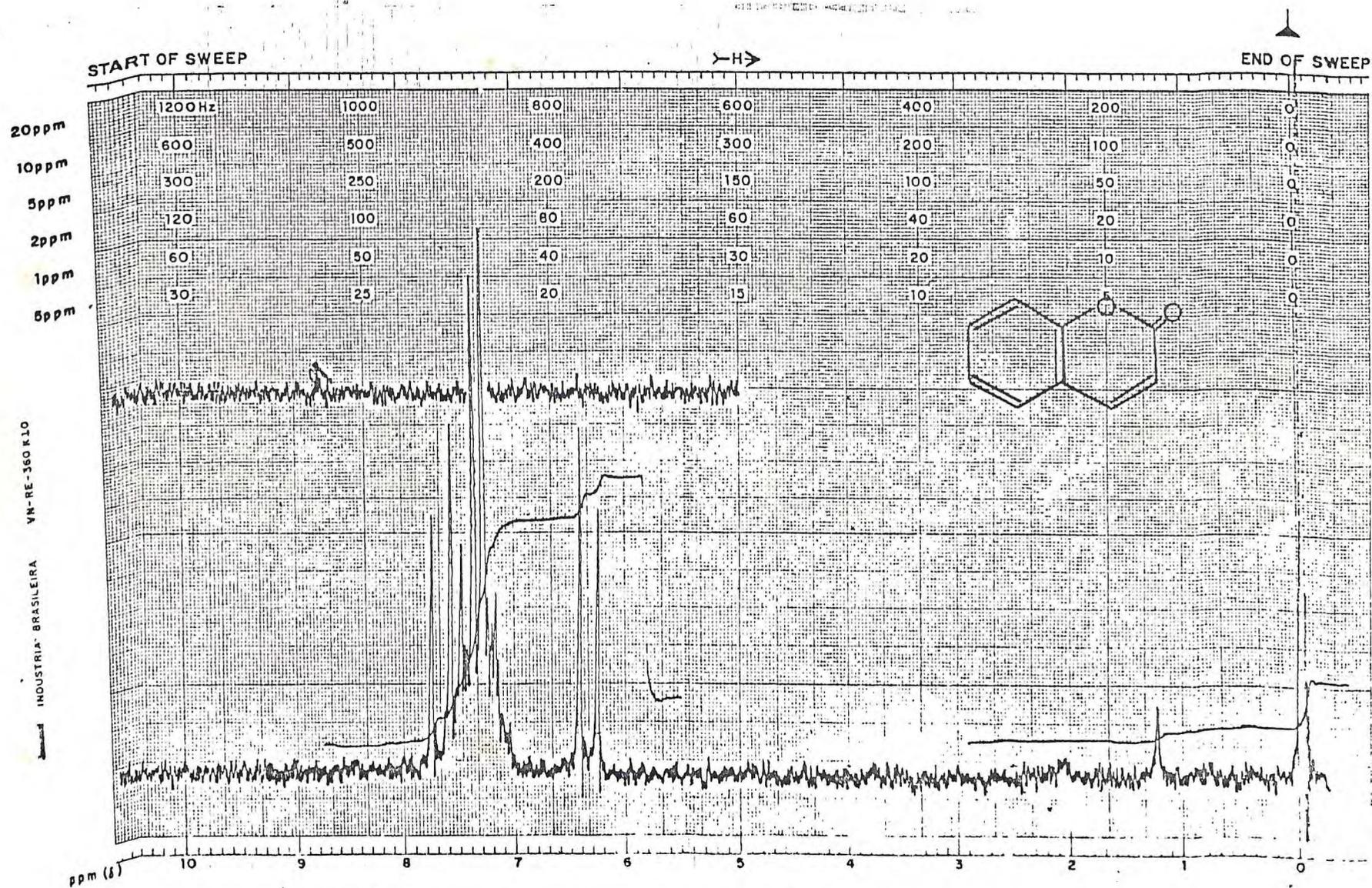


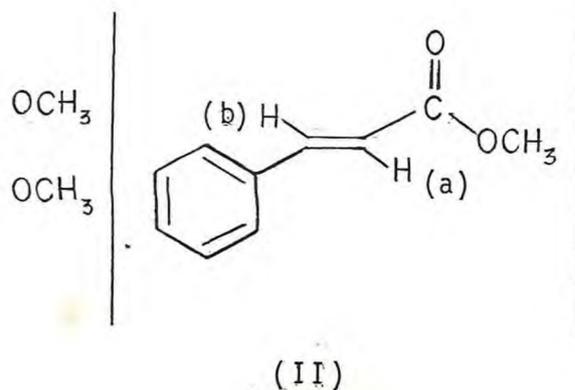
FIGURA 12 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de TC-3  
(60MHz, CDCl<sub>3</sub>)

## 2.4. TC-2

O espectro de absorção na região do infravermelho (Fig.13) indica a natureza aromática da substância pela presença de absorções em  $1.450$ ,  $1.493$  e  $1.623\text{cm}^{-1}$ , sendo a última de pequena intensidade. Uma absorção em  $1.686\text{cm}^{-1}$  sugere a existência de uma carbonila que juntamente com a absorção forte em  $1.250\text{cm}^{-1}$  caracterizam um éster.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig.14) oferece informações mais precisas pela observação de sinais duplos em  $7,60$  e  $6,25\delta$ , com constante de acoplamento igual a  $16\text{Hz}$ . Estes sinais foram atribuídos a prótons olefínicos em posição trans. Verifica-se também a presença de absorções equivalentes a duas metoxilas em anel aromático ( $3,85\delta$ ) e uma metoxila em campo alto ( $\sim 3,75\delta$ ) provavelmente ligada a uma carbonila, o que está em concordância com a proposição de um éster. Uma banda múltipla em aproximadamente  $6,80\delta$  equivalente a três prótons, confirma o caráter aromático.

Com estes dados e a informação do espectro de massa,  $M^+$  222 dalton propôs-se a estrutura de um éster metílico do ácido cinâmico portando duas metoxilas no anel aromático (II).



Foi feita uma hidrólise alcalina de TC-2, o que permitiu obter o ácido correspondente. O ácido obtido apresentou ponto de fusão 181-184°C e PM 208 dalton.

Seu espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig.15) mostrou-se semelhante ao do ácido 3,4-dimetoxicinâmico registrado na literatura<sup>(11)</sup>.

Estes dados aliados ao ponto de fusão de TC-2 (p.f.67-68°C) coincidente ao 3,4-dimetoxicinamato de metila registrado na literatura<sup>(12)</sup> confirmaram a estrutura proposta

TABELA 2

ESPECTRO RMN<sup>1</sup>H DE TC-2Deslocamento químico ( $\delta$ )

TC-2	TC-2-ácido	desdobramento	integração	interpretação
7,60	7,75	sinal duplo (J16Hz)	1	H <sub>b</sub>
6,25	6,25	sinal duplo (J16Hz)	1	H <sub>a</sub>
6,80	6,80	sinal múltiplo	3	protons aromáticos
3,75	-	sinal simples	3	COOCH <sub>3</sub>
3,85	3,85	sinal simples	6	2 OCH <sub>3</sub>

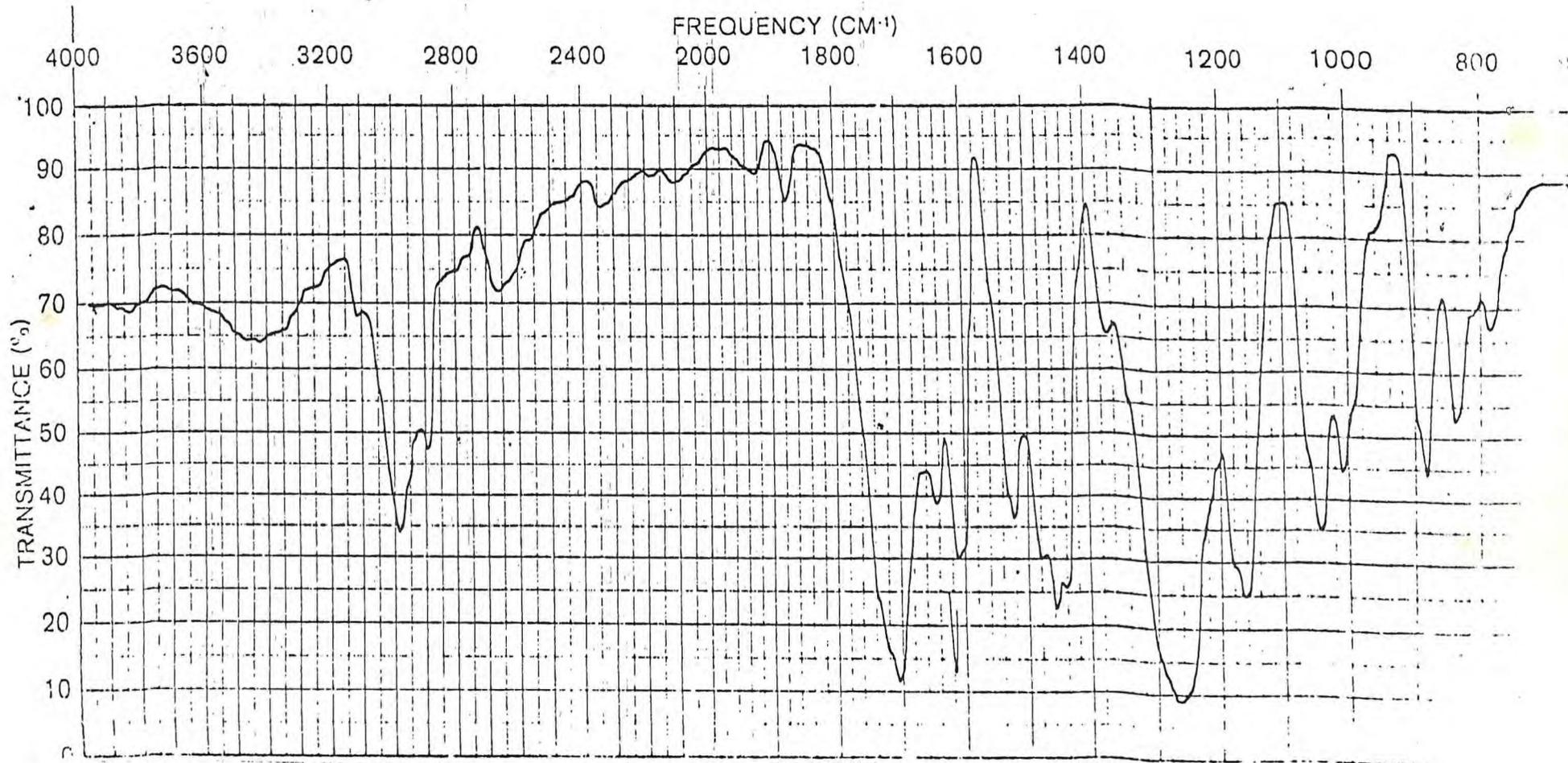


FIGURA 13 - Espectro de I.V. de TC-2  
Fase: KBr

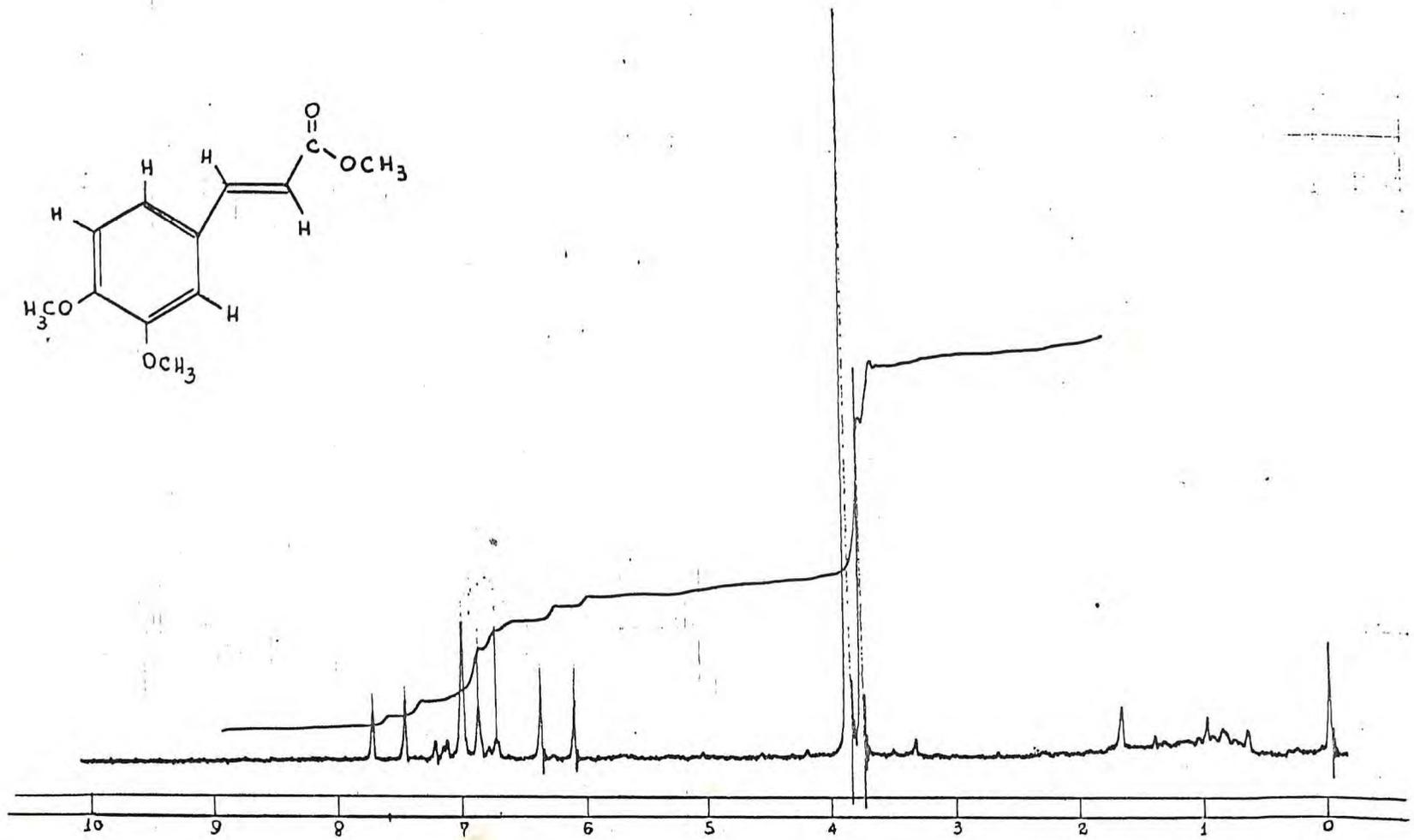


FIGURA 14 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de TC-2  
(60MHz, CDCl<sub>3</sub>)

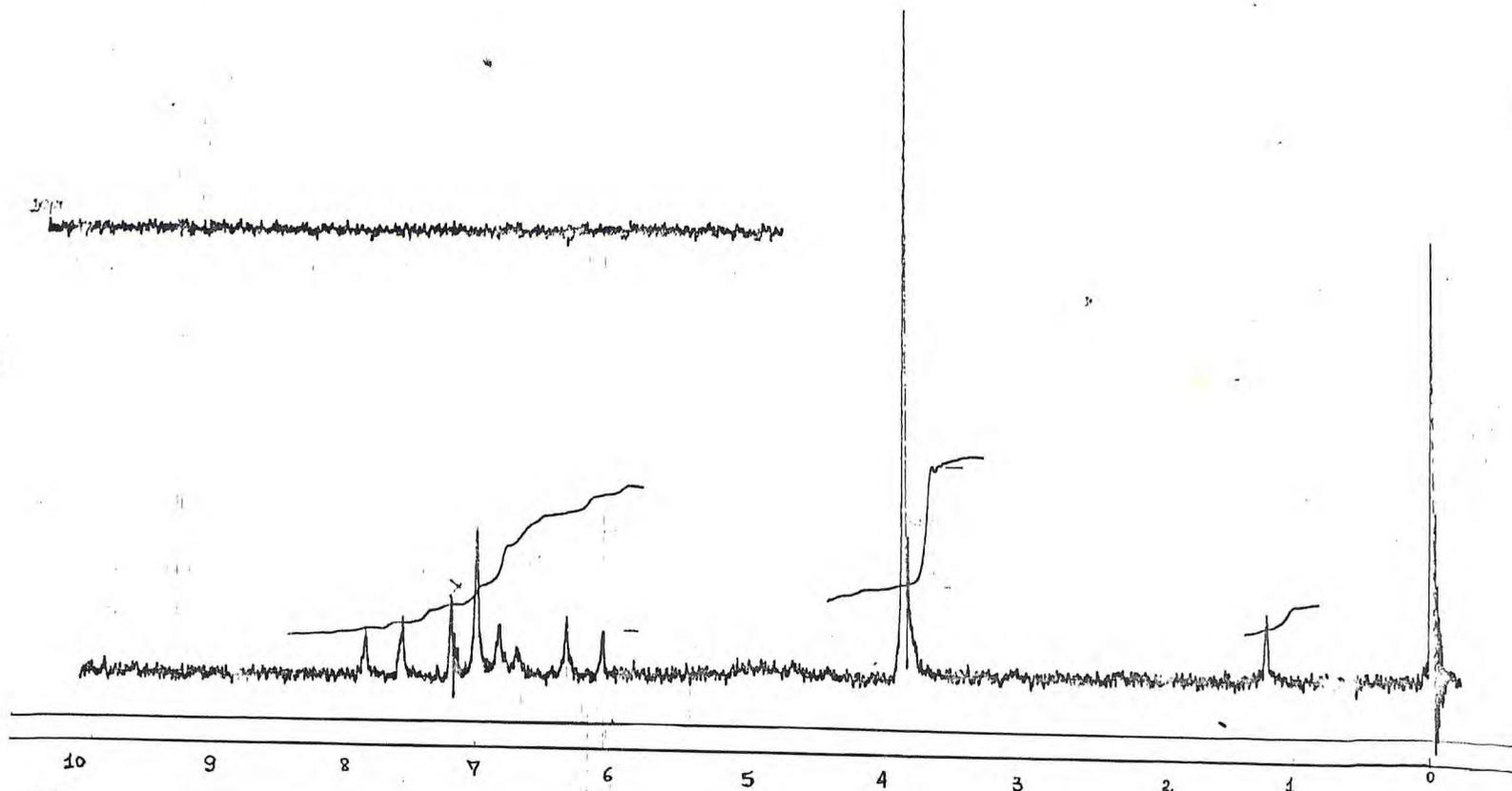


FIGURA 15 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de TC-2-hidroлизованo  
(60MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

## 2.5. TC-5

O caráter aromático e a presença de grupo carbonila em TC-5 foi constatada pela observação no espectro infravermelho (Fig.16) de absorções em 1.602, 1.523, 1.443 e 1.683 $\text{cm}^{-1}$ .

A natureza ácida da substância ficou estabelecida considerando que no processo químico utilizado para a separação dos componentes, TC-5 foi obtida na fração solubilizada através de bicarbonato de sódio.

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig.17) apresenta dois sinais duplos centrados em 7,57 $\delta$  (J8Hz e 2Hz), sinal duplo em 6,85 $\delta$  (J8Hz) e ainda um sinal simples em 7,56 $\delta$ . Observa-se também um sinal simples em 3,85 $\delta$  indicando a presença de metoxila ligada a anel aromático. Absorção em 4,90 $\delta$  que desaparece após adição de água deuterada sugere a presença de hidroxila, que foi confirmada pelo sinal simples em 2,3 $\delta$  no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  do material acetilado.

Estas informações permitem sugerir a estrutura de um ácido benzóico contendo uma hidroxila e uma metoxila colocadas de tal maneira que os hidrogênios do anel aromático formem o sistema AMX indicado pelo espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$ . O espectro de massa confirma esta proposição apresentando pico molecular em 168 dalton. O ponto de fusão 211-212 $^{\circ}\text{C}$  do ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico (ácido vanílico)<sup>(11)</sup>, coincide com aquele de TC-5. Comparação dos espec

tros de RMN<sup>1</sup>H, massa e no infravermelho e também ponto de fusão misto com amostra autêntica do ácido vanílico permite identificar TC-5 como ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico.

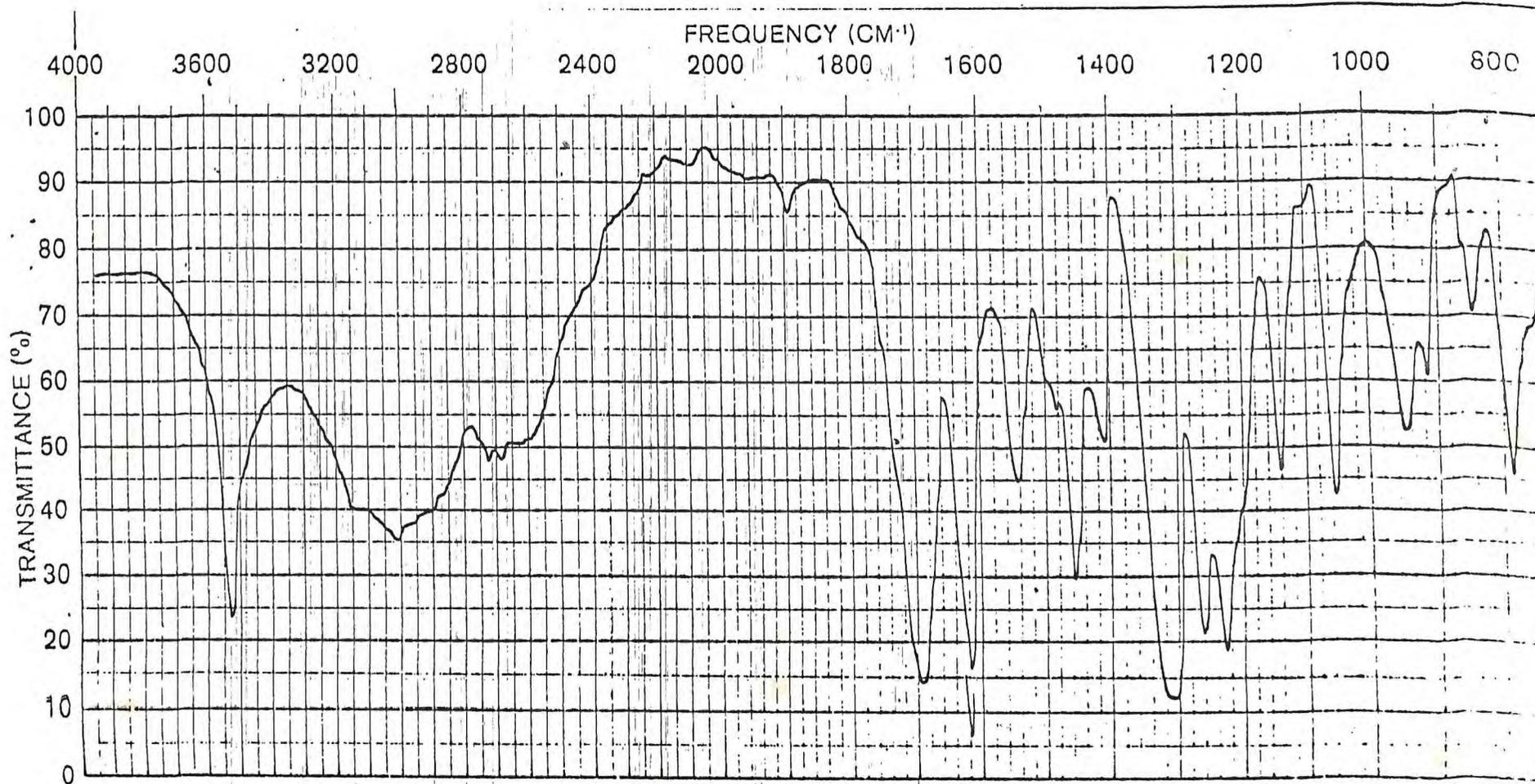


FIGURA 16 - Espectro de I.V. de TC-5  
Fase: KBr



## 2.6. TC-7

O caráter aromático de TC-7 foi detectado por suas absorções no infravermelho (Fig.20) em 1.611, 1.582 e 1.490 $\text{cm}^{-1}$ . Admitiu-se a existência de uma carbonila pela presença de absorção forte em 1.675 $\text{cm}^{-1}$ . Uma banda larga aproximadamente em 3.200 $\text{cm}^{-1}$  foi atribuída a estiramento O-H. TC-7 apresentou ponto de fusão 250-255 $^{\circ}$ .

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig.22) apresenta-se bastante simples. Observa-se a presença de dois sinais duplos em 6,91 $\delta$  e 7,85 $\delta$  (J9Hz) referentes a dois prótons olefínicos em posição cis, em acordo com esqueleto cumarínico. Uma banda múltipla entre 6,03 $\delta$  e 7,17 $\delta$  equivalente a três hidrogênios permite caracterizar um total de cinco hidrogênios ligados a carbono sp<sup>2</sup>.

O espectro de massa (Fig.24) apresentou pico molecular em 162 dalton compatível com a fórmula molecular C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>.

Com estes dados, foi proposta a estrutura de uma cumarina monohidroxilada para TC-7.

TABELA 3

## PONTO DE FUSÃO DE CUMARINAS MONOHIDROXILADOS

Cumarina	p. f.
5-OH	224-225 $^{\circ}$ C (13) 229 $^{\circ}$ C (14)
6-OH	250 $^{\circ}$ C (15)
7-OH	226-228 $^{\circ}$ C (11)
8-OH	160 $^{\circ}$ C (14)

Evidentemente, a posição 7 é a favorecida se considerarmos que TC-7 se forma biossinteticamente pela via chiquimídica. Entretanto os espectros no ultravioleta (Figs. 18 e 19) de TC-7 e de uma amostra autêntica de 7-hidroxycumarina não são coincidentes, nem tampouco o ponto de fusão (Tabela 3). A literatura admite<sup>(16)</sup> cumarinas que se formam pela via biossintética acetato-malonato. Nesse caso as funções oxigenadas no anel aromático estariam em posição relativa meta, ocupando as posições 5 e 7. O ponto de fusão da 5-hidroxycumarina (Tabela 3) não corresponde aquele de TC-7. Dessa maneira restam as posições 6 e 8, biossinteticamente inadequadas. O ponto de fusão da 8-hidroxycumarina (Tabela 3) nos permite descartá-la como provável estrutura para TC-7, restando por exclusão somente a 6-hidroxycumarina.

Síntese da 6-hidroxycumarina por oxidação da cumarina isolada da planta (TC-3) com persulfato de potássio<sup>(17)</sup>, conduziu a uma substância, cujos espectros de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 23) e no infravermelho (Fig. 21) e também de massa são totalmente superponíveis com aqueles de TC-7. Ponto de fusão misto da substância sintética com TC-7 permitiu concluir pela identidade das duas.

Relutamos a princípio por essa proposta, mas fomos vencidos pelas evidências. Este resultado inusitado, que contraria as regras biossintéticas conhecidas sugere que *Torresea cearensis* Fr. Allem. poderá ter uma posição relevante do ponto de vista quimiosistemático.

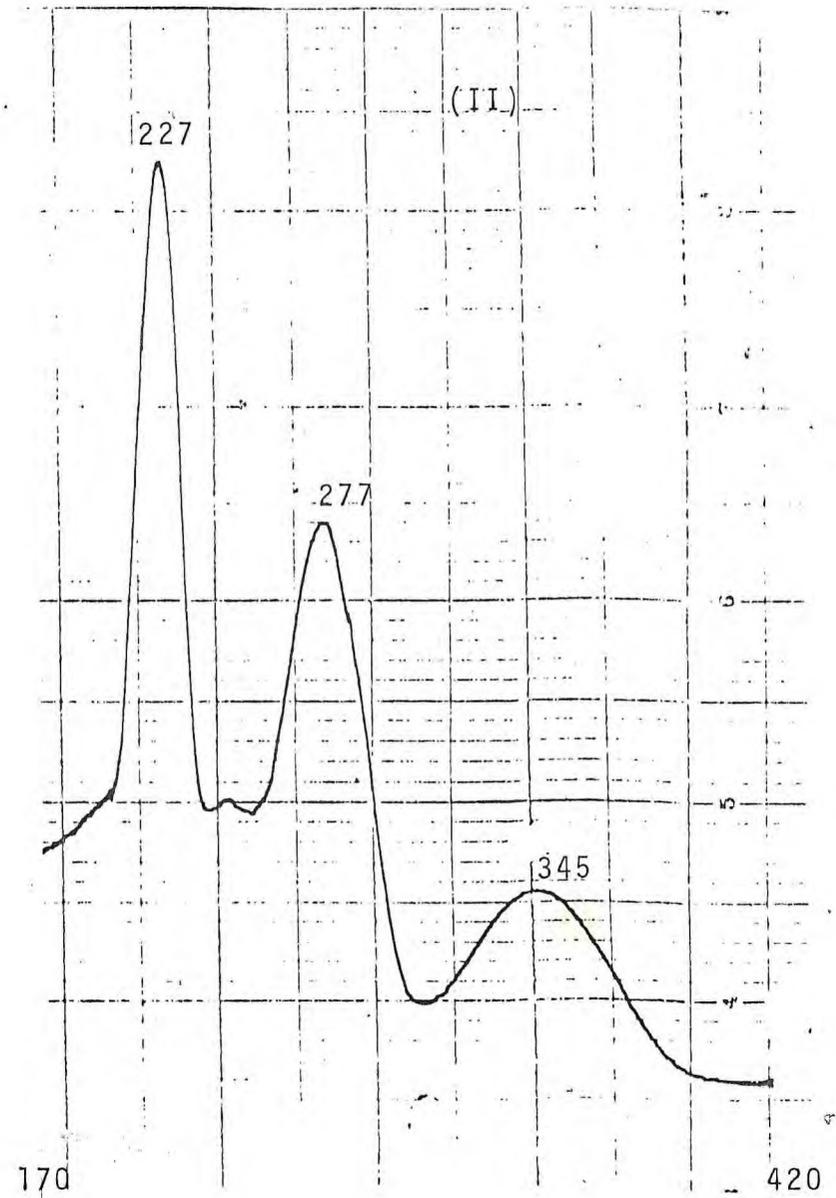
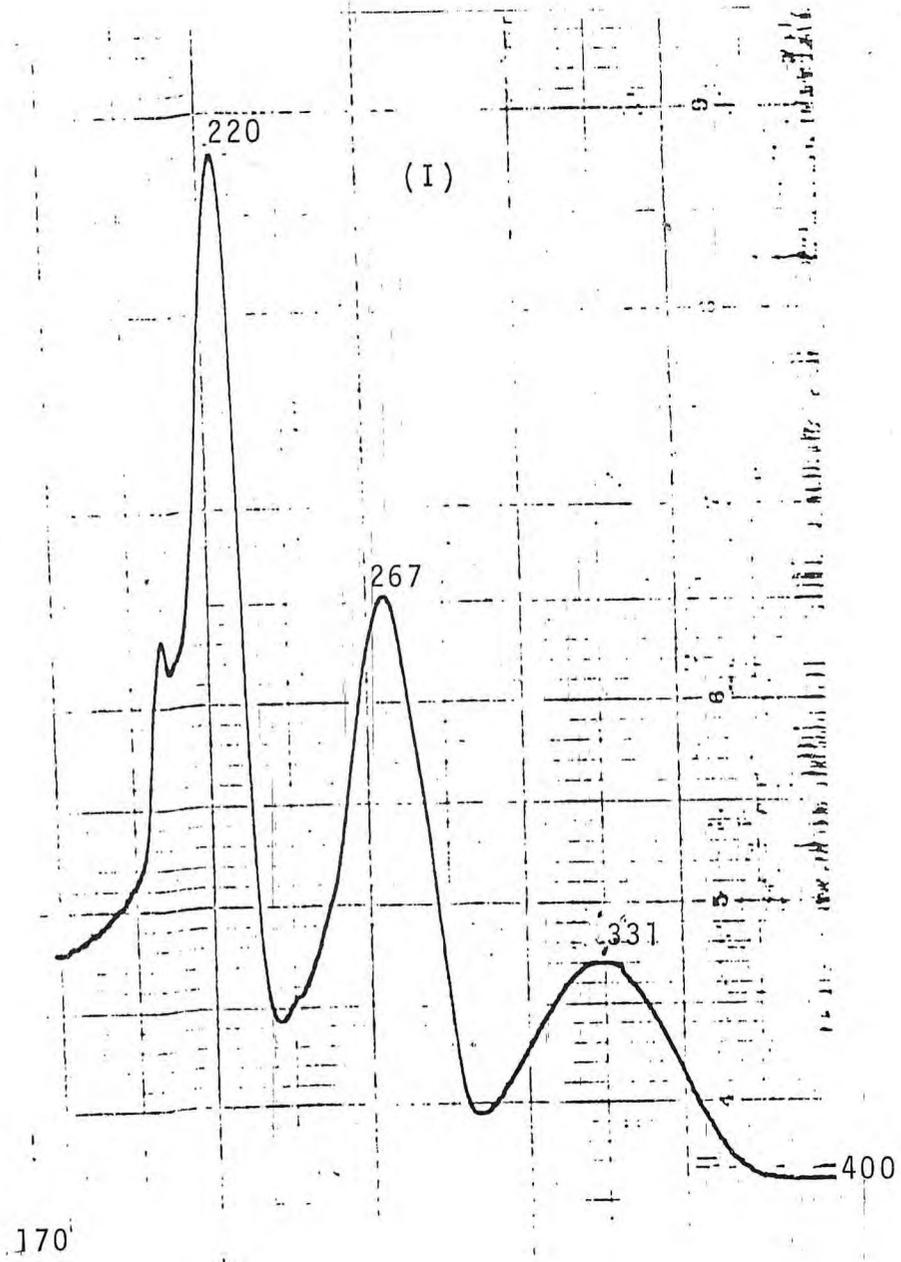


FIGURA 18 - Espectro de U.V. de TC-7 ( $\lambda$ , nm)

I - MeOH

II - MeOH

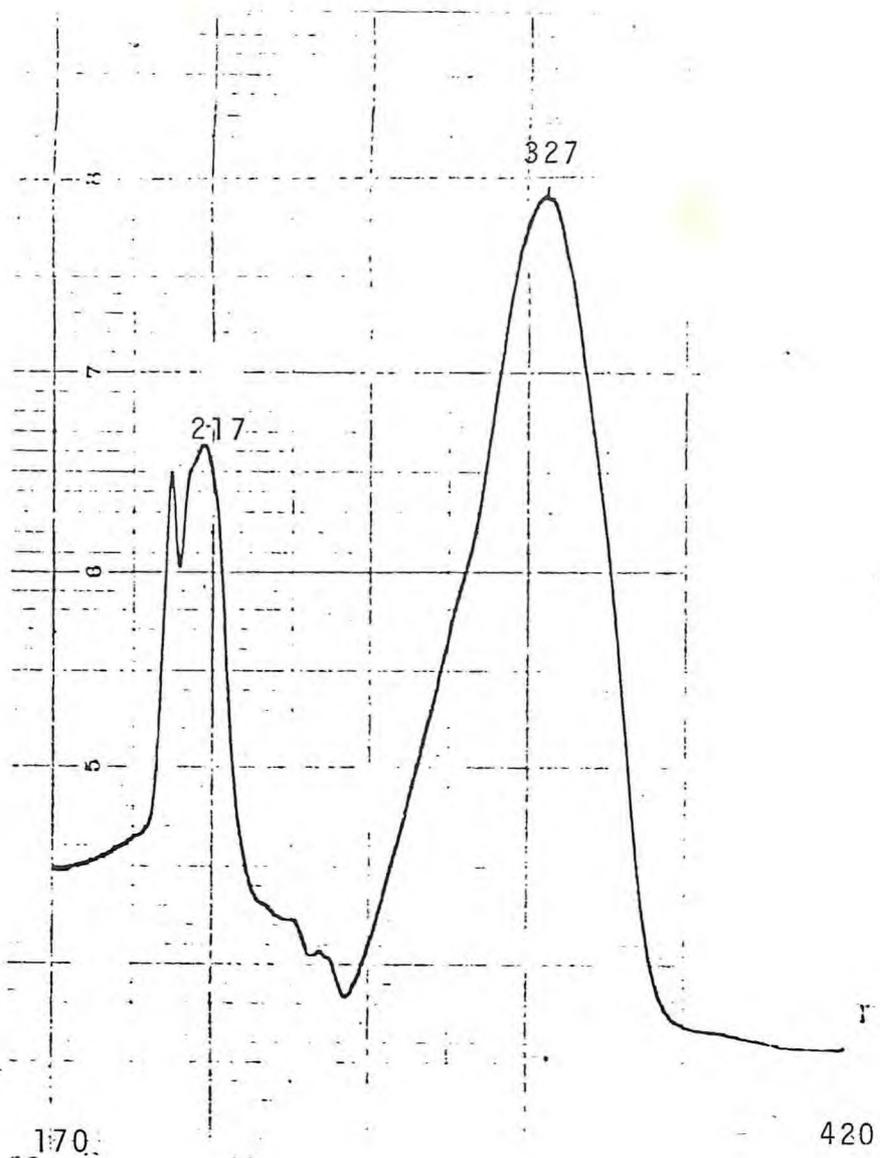


FIGURA 19 - Espectro de U.V. de 7-hidroxicumarina em MeOH ( $\lambda$ ,nm)

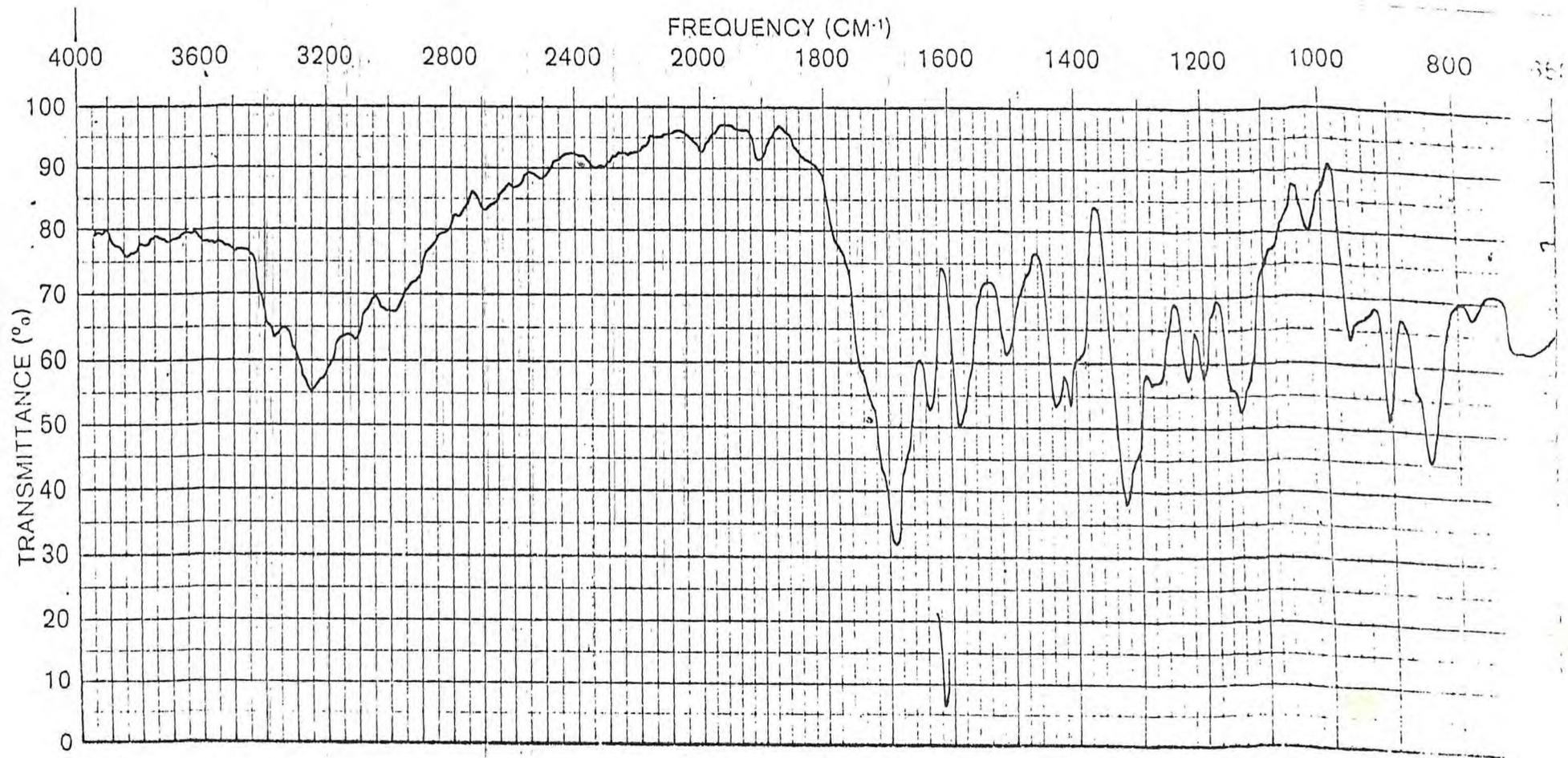


FIGURA 20 - Espectro de I.V. de TC-7  
Fase: KBr

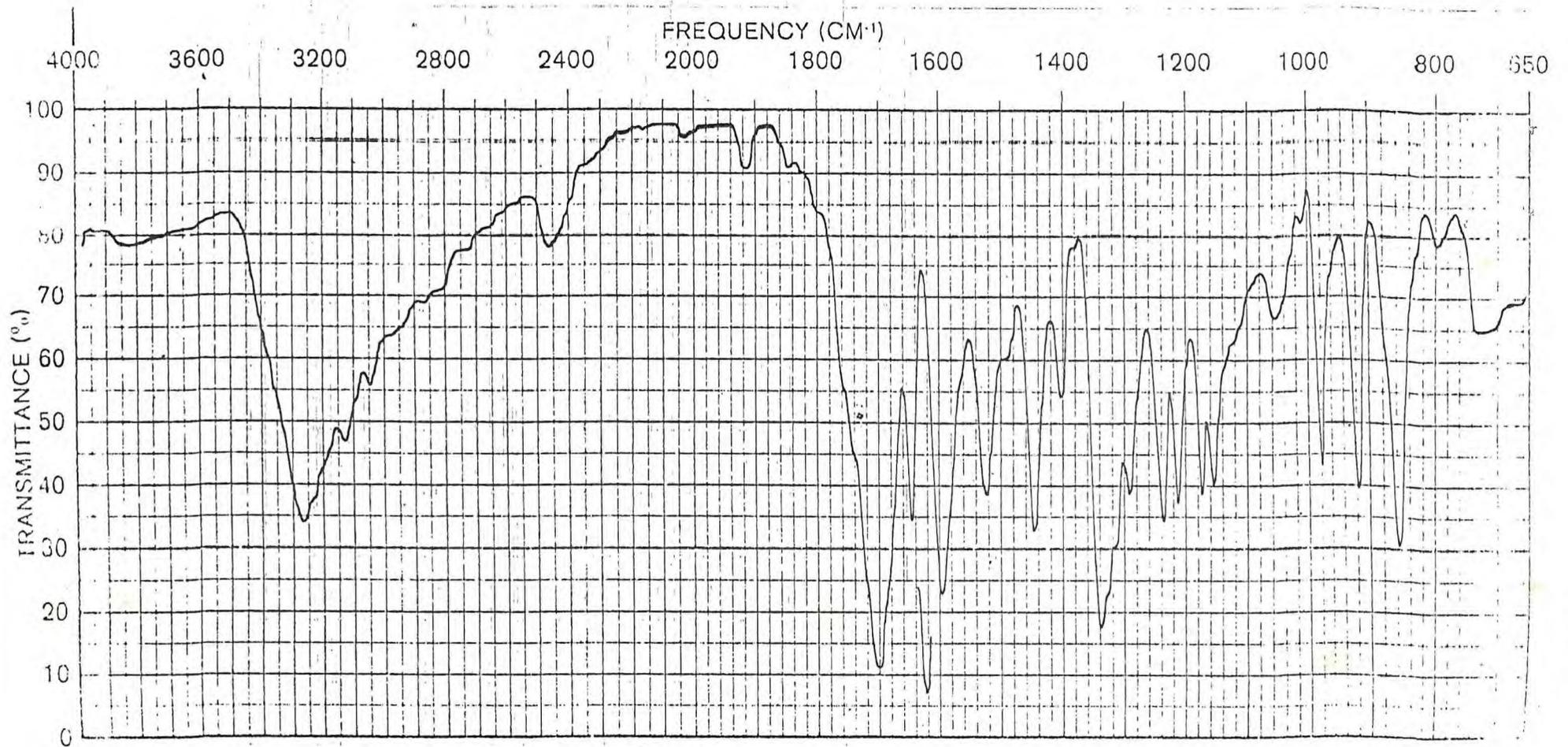


FIGURA 21 - Espectro de I.V. de 6-hidroxicumarina  
sintética  
Fase: KBr

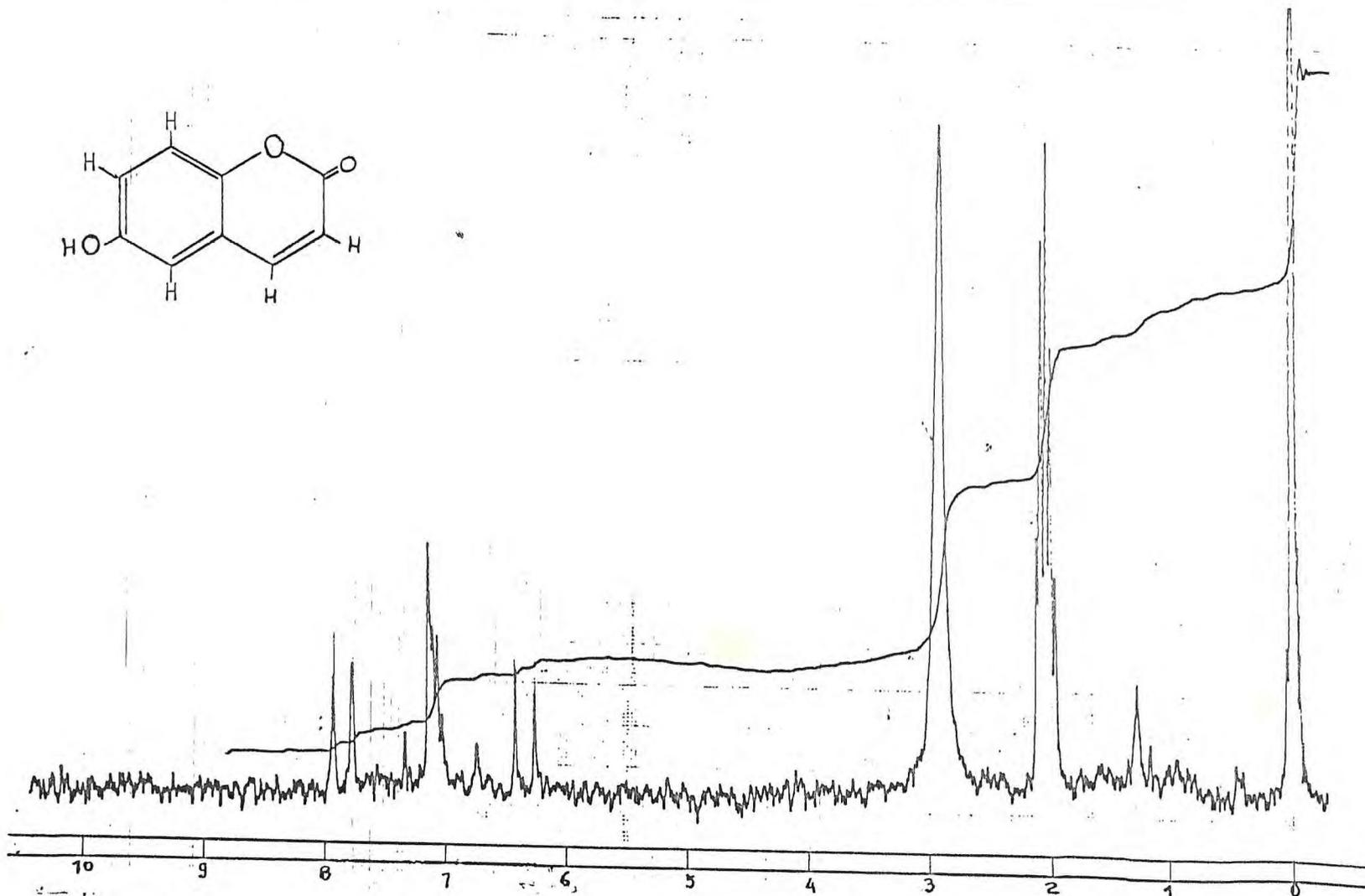


FIGURA 22 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de TC-7  
(60MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO)

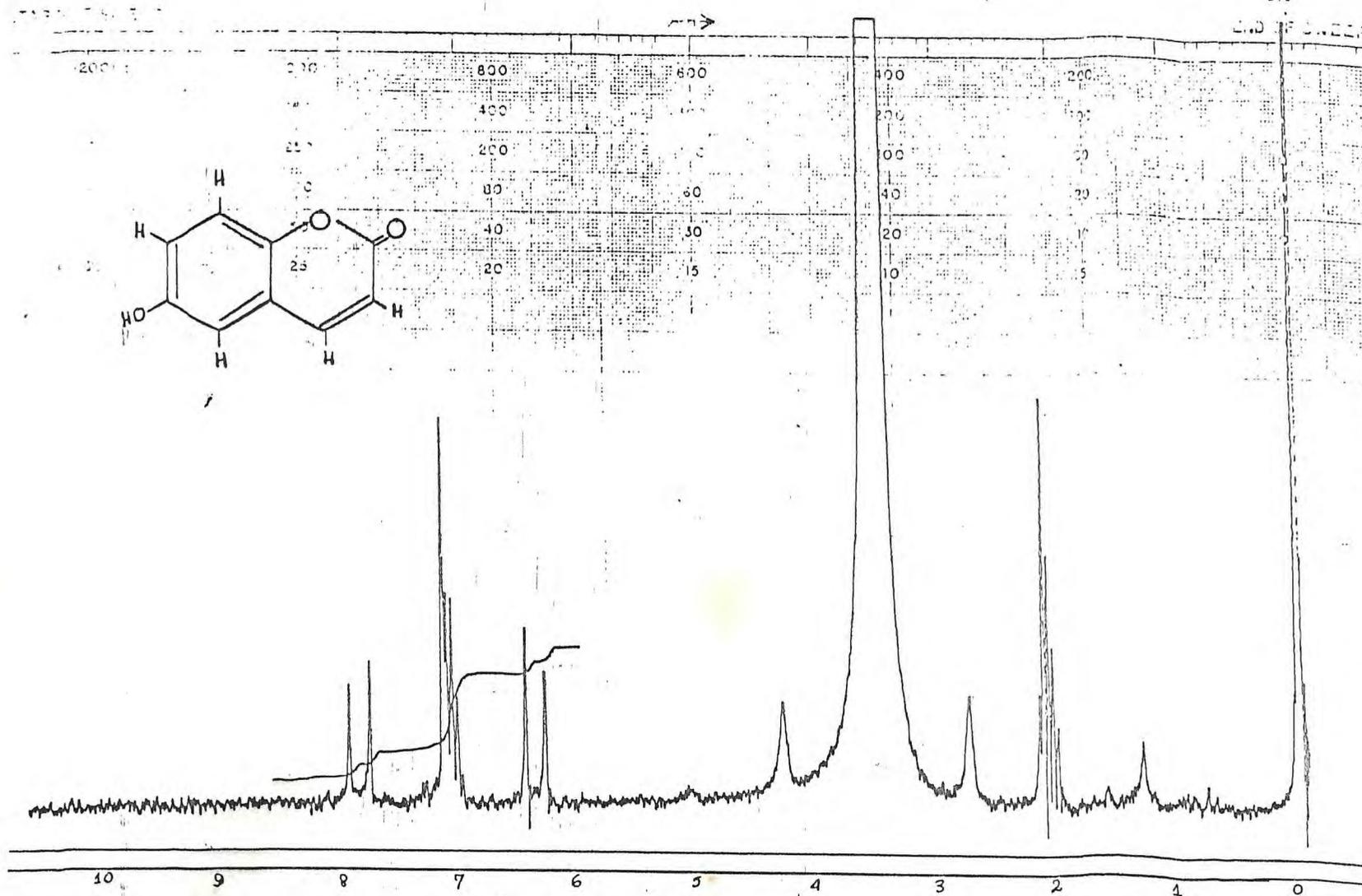


FIGURA 23 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de 6-hidroxicumarina sintética  
(60MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )

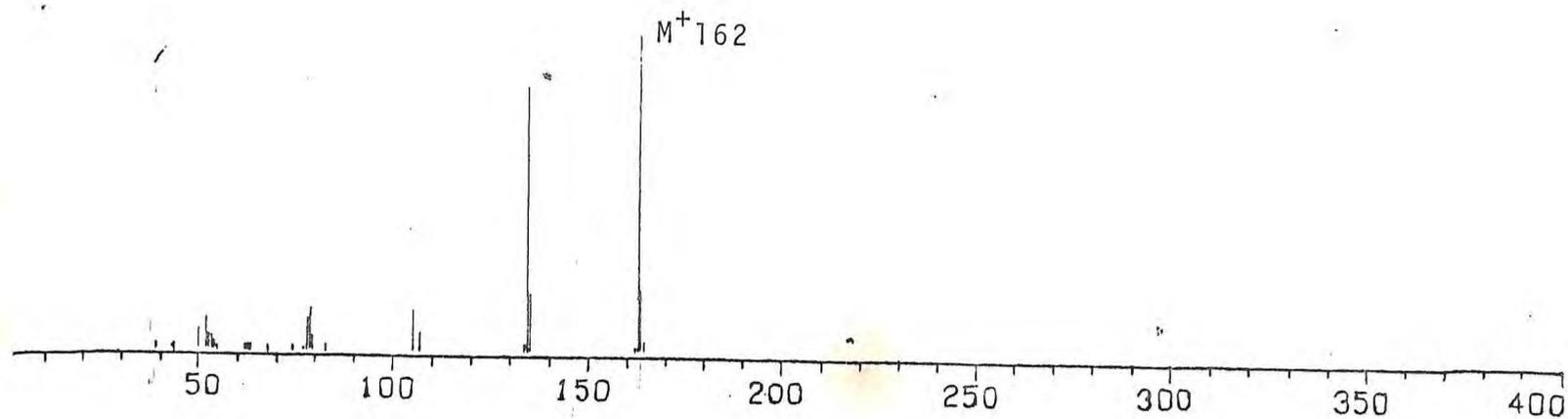


FIGURA 24 - Espectro de massa de TC-7

## 2.7. TC-8

O extrato clorofórmico do lenho forneceu uma substância aparentemente pura com ponto de fusão 110-113°C que foi analisada através de seus espectros no infravermelho, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C e massa.

O espectro na região do infravermelho (fig.25) apresenta absorção em 3.400cm<sup>-1</sup> característica de estiramento O-H. Forte absorção em torno de 3.000cm<sup>-1</sup> de estiramento de ligação C-H sugerindo cadeia alifática pronunciada. Absorção em 1.640cm<sup>-1</sup> representativa de estiramento de ligação C=C e absorção em 890cm<sup>-1</sup> confirmando a presença de ligação dupla terminal.

O sinal duplo em 4,72δ no espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig.26) está de acordo com o espectro no infravermelho quanto à presença da dupla ligação terminal. Um sinal múltiplo em 3,3δ pode ser associado a hidrogênio axial em carbono contendo hidroxila em triterpenóides (18). Com apoio na biossíntese, pode-se sugerir a posição 3 para este hidrogênio.

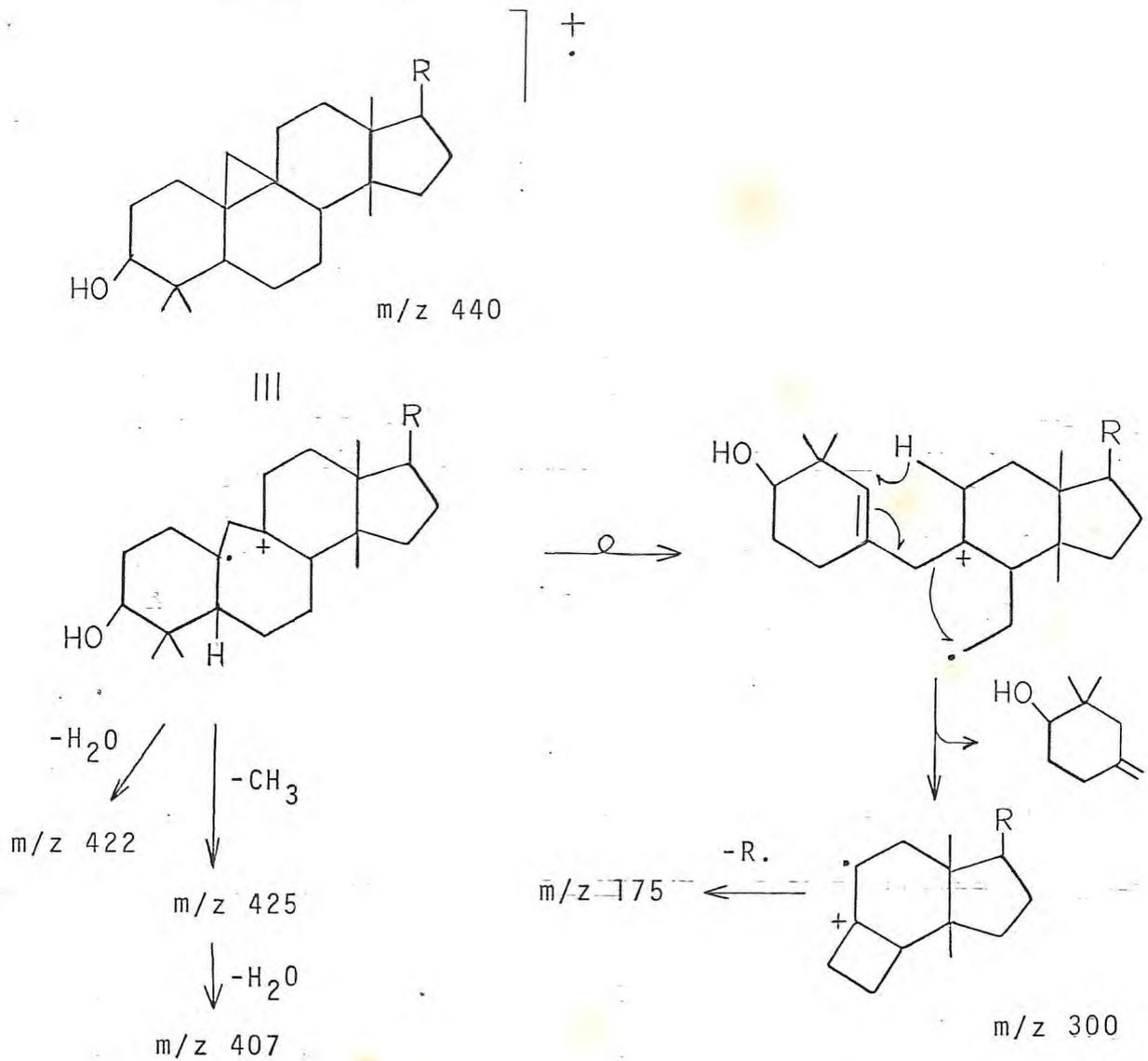
Entre 1,2 e 0,8δ são observados sinais que podem ser atribuídos a cinco grupos metila, levando a proposição de esqueleto triterpênico para a substância. Além disso são vistos dois sinais duplos em 0,55 e 0,30δ correspondentes a um sistema AB indicando a presença de anel ciclopropânico (33).

O espectro de massa mostra o íon molecular 440 dalton além de uma fragmentação típica de triterpenóides com anel ciclopropânico (19), (20), revelada pela perda do anel A, originando o fragmento m/z 300 (Quadro 2).

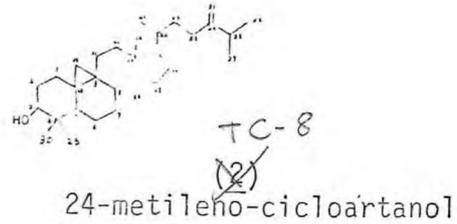
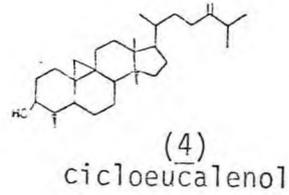
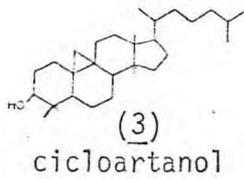
A partir dos dados espectrais discutidos propõe-se a estrutura 24-metileno-cicloartanol(2) p.f.115-117°C<sup>(21)</sup> para TC-8.

A correlação dos sinais de <sup>13</sup>C (Fig.27) foi proposta com o auxílio dos valores de <sup>13</sup>C encontrados na literatura<sup>(22)</sup> para o cicloartanol(3) e cicloeucalenol(4) de modo que fica confirmada a estrutura proposta anteriormente (Tabela 4).

QUADRO 2 - Fragmentação proposta para TC-8 no espectrômetro de massa



COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN  $^{13}\text{C}$  DO CICLOARTANOL(3)  
 CICLOEUCALENOL(4) E 24-METILENO-CICLOARTANOL(2).



(3)	(4)	(2)
1) 31,9	30,7	32,1
2) 30,3	34,8	30,4
3) 78,5	76,3	75,0
4) 40,3	44,5	40,6
5) 47,0	43,2	47,3
6) 21,0	24,6	21,2
7) 28,0	28,0	26,1
8) 47,8	46,7	48,0
9) 20,0	23,5	19,4
10) 26,0	24,5	26,1
11) 26,0	25,1	26,3
12) 35,5	35,2	36,2
13) 45,1	45,2	45,5
14) 48,7	48,7	48,9
15) 32,8	32,8	33,1
16) 26,5	26,9	26,7
17) 52,2	52,0	52,4
18) 17,9	17,7	18,4
19) 29,8	26,9	29,9
20) 36,0	36,0	35,2
21) 18,3	18,3	18,6
22) 36,4	35,6	35,7
23) 24,0	31,8	31,5
24) 39,4	156,0	156,9
25) 28,6	33,7	33,9
26) 22,5	21,8	21,9
27) 22,7	21,8	22,0
28) 19,3	19,5	19,4
29) 25,4	14,4	25,5
30) 14,0	-	14,0
31) -	105,6	106,1

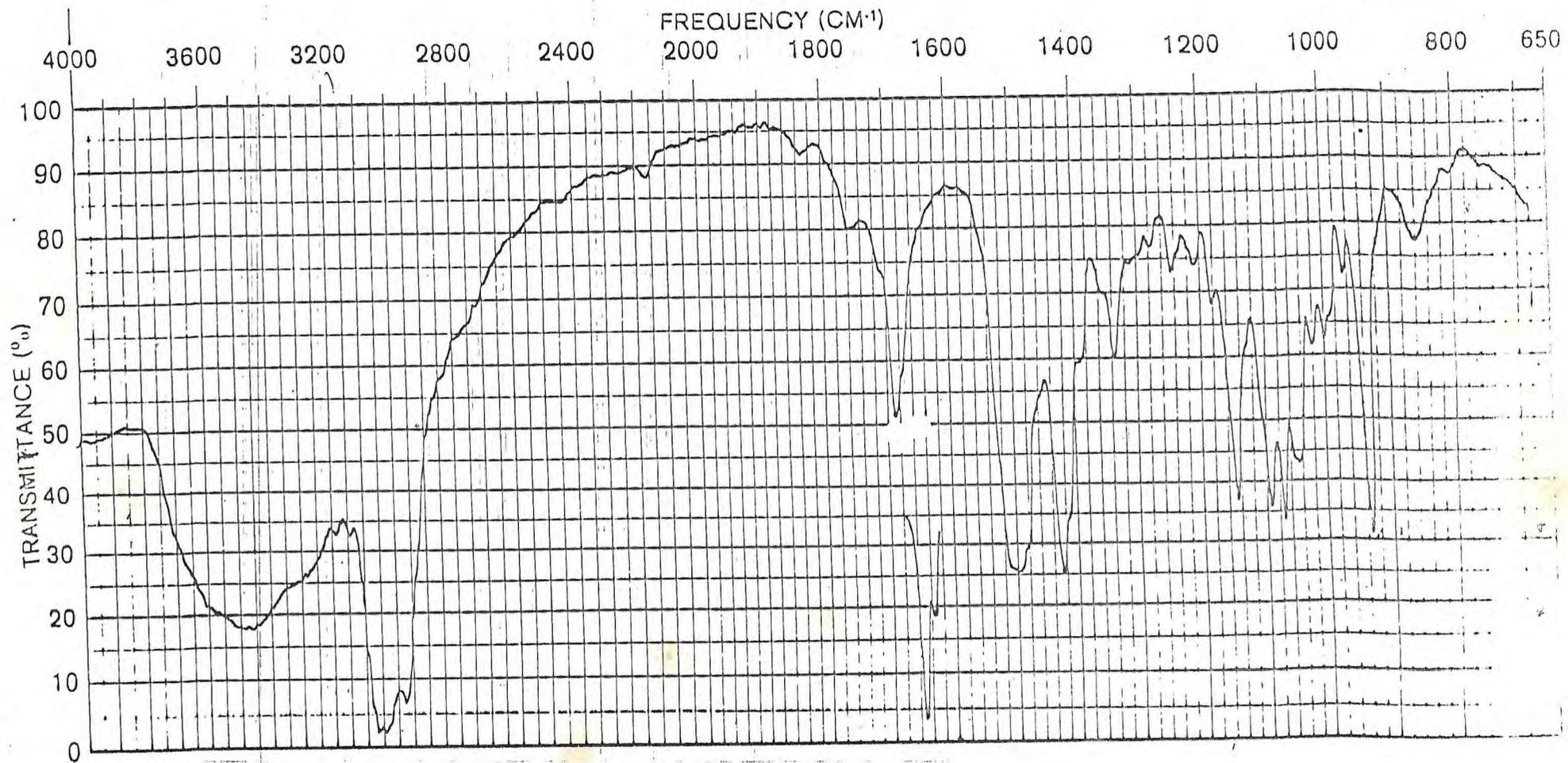


FIGURA 25 - Espectro de I.V. de TC-8  
Fase: KBr

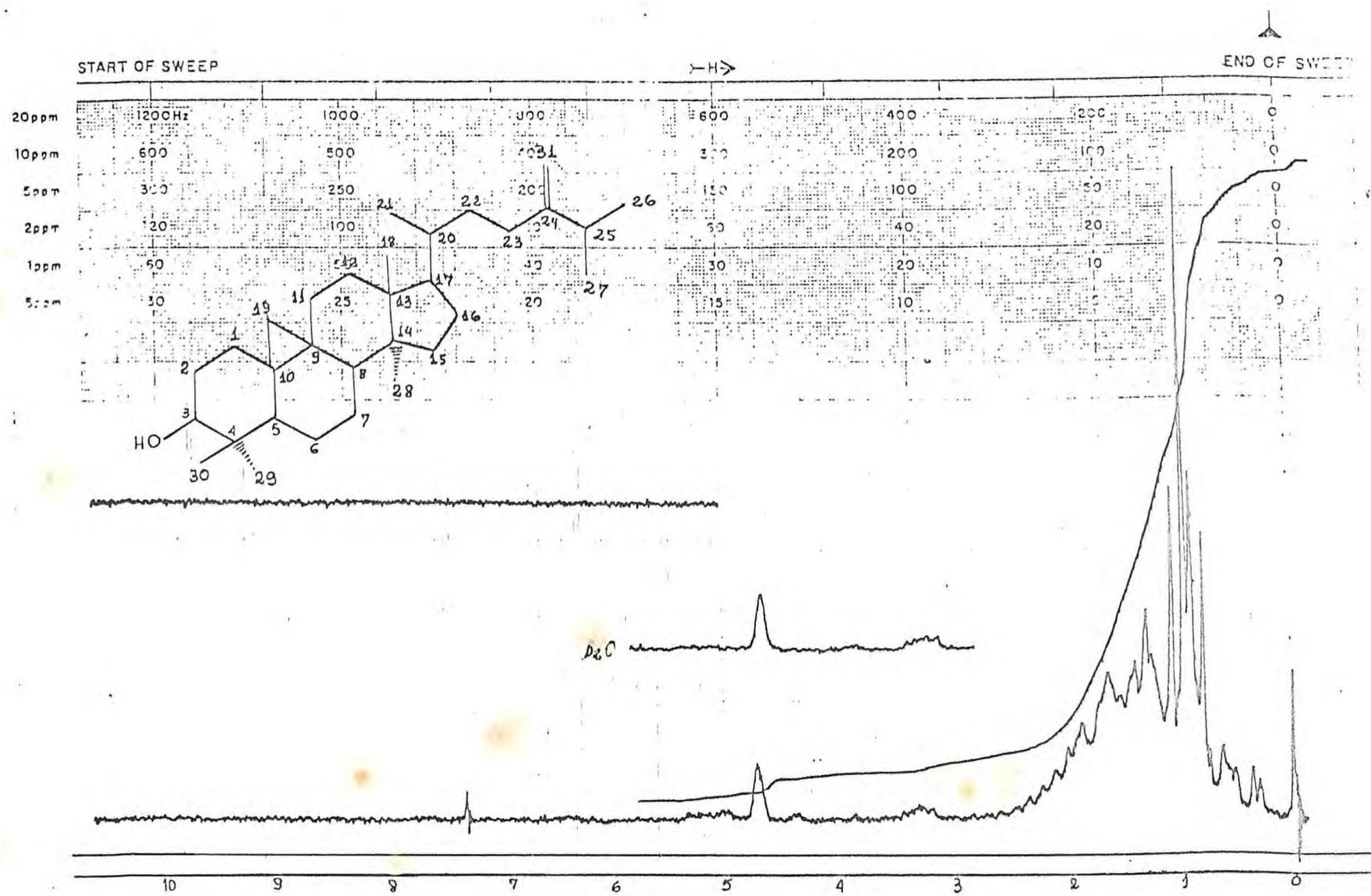


FIGURA 26 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de TC-8  
(60MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

TOTAL		33	
RESOL		0.9765	
NO	FREQ(HZ)	PPM	INTZ
1	2358.33	156.909	2046
2	1595.70	106.167	2033
3	1198.42	79.282	4297
4	1196.52	78.943	3429
5	1158.28	77.053	4412
6	1125.27	74.914	4605
7	789.86	52.499	1820
8	735.32	48.990	2792
9	721.87	48.815	2534
10	710.93	47.388	2587
11	684.57	45.545	2856
12	610.35	40.688	2823
13	544.92	36.255	2839
14	537.10	35.735	2417
15	539.27	35.280	1644
16	510.74	33.981	2482
17	498.04	33.136	2419
18	493.39	32.161	1987
19	473.63	31.513	2474
20	450.98	30.537	2191
21	450.19	29.952	1903
22	423.02	28.198	2234
23	401.36	26.783	2454
24	396.48	26.379	2354
25	392.57	26.119	2424
26	383.70	25.534	2457
27	332.83	22.891	2285
28	330.87	21.968	2007
29	319.33	21.246	2011
30	303.71	20.206	2029
31	291.99	19.427	2687
32	277.34	18.452	2677
33	271.48	18.062	2465
34	210.93	14.833	2044
35	0.00	0.000	9310

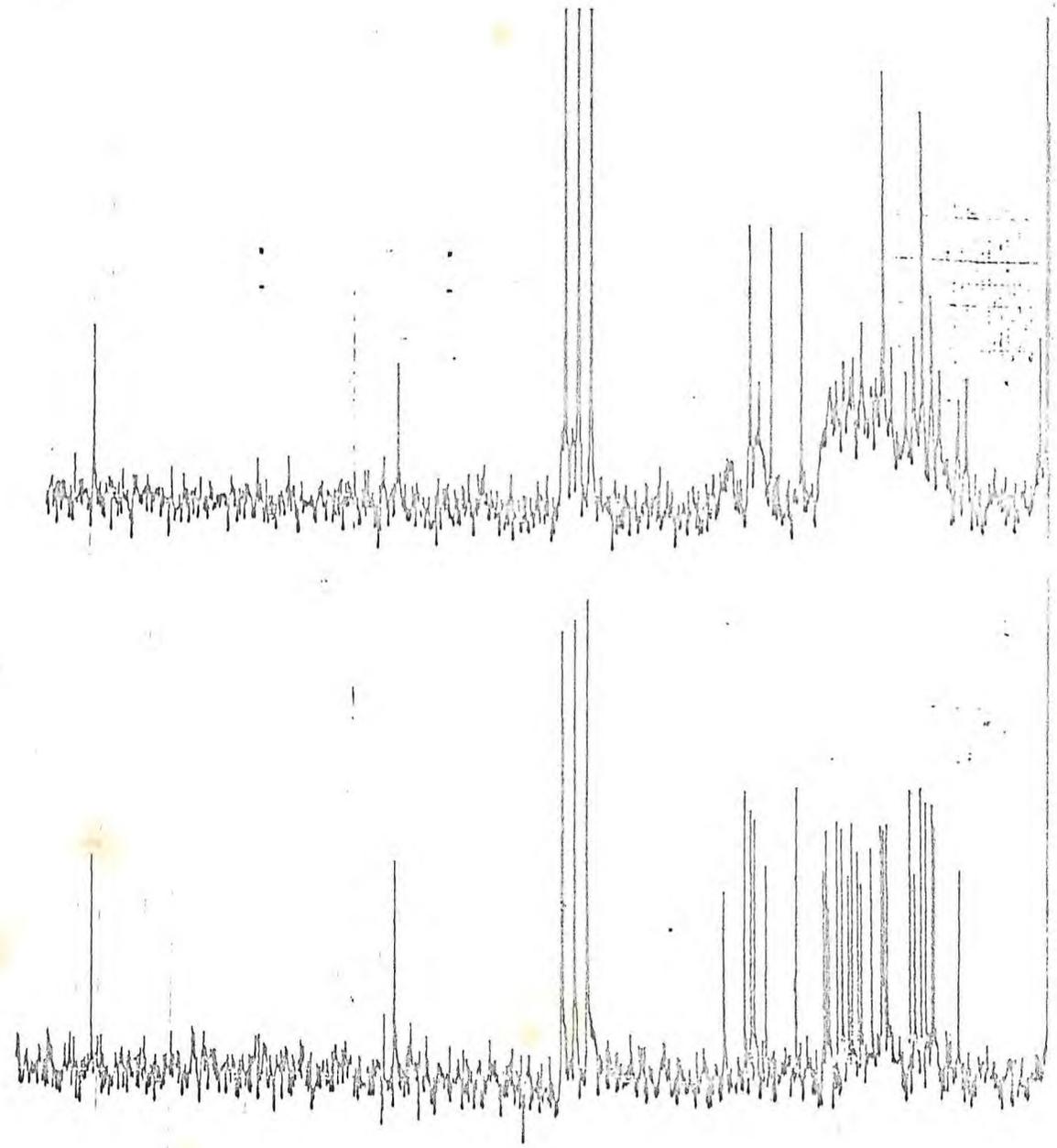


FIGURA 27 - Espectro de RMN <sup>13</sup>C de TC-8  
(CDCl<sub>3</sub>)

## 2.8. TC-9

Esta substância apresentou p.f. 140-144°C. Submetida ao teste de Liebermann-Buchard para esteróides<sup>(9)</sup>, obteve-se resultado positivo. Foi identificada como  $\beta$ -sitosterol por comparação direta com amostra autêntica.

## 2.9. ÁCIDOS GRAXOS DO EXTRATO HEXÂNICO DAS SEMENTES

Do extrato hexânico das sementes, após saponificação foi isolada uma mistura de ácidos graxos. Estes ácidos foram metilados e comparados por CGL com os ésteres metílicos do azeite de oliva. Foi possível assim identificar três ésteres: palmitato de metila, oleato de metila e esterato de metila, com rendimentos 17,88%, 72,16% e 5,6% respectivamente, de um total de seis ésteres evidenciáveis no cromatograma (fig.28).

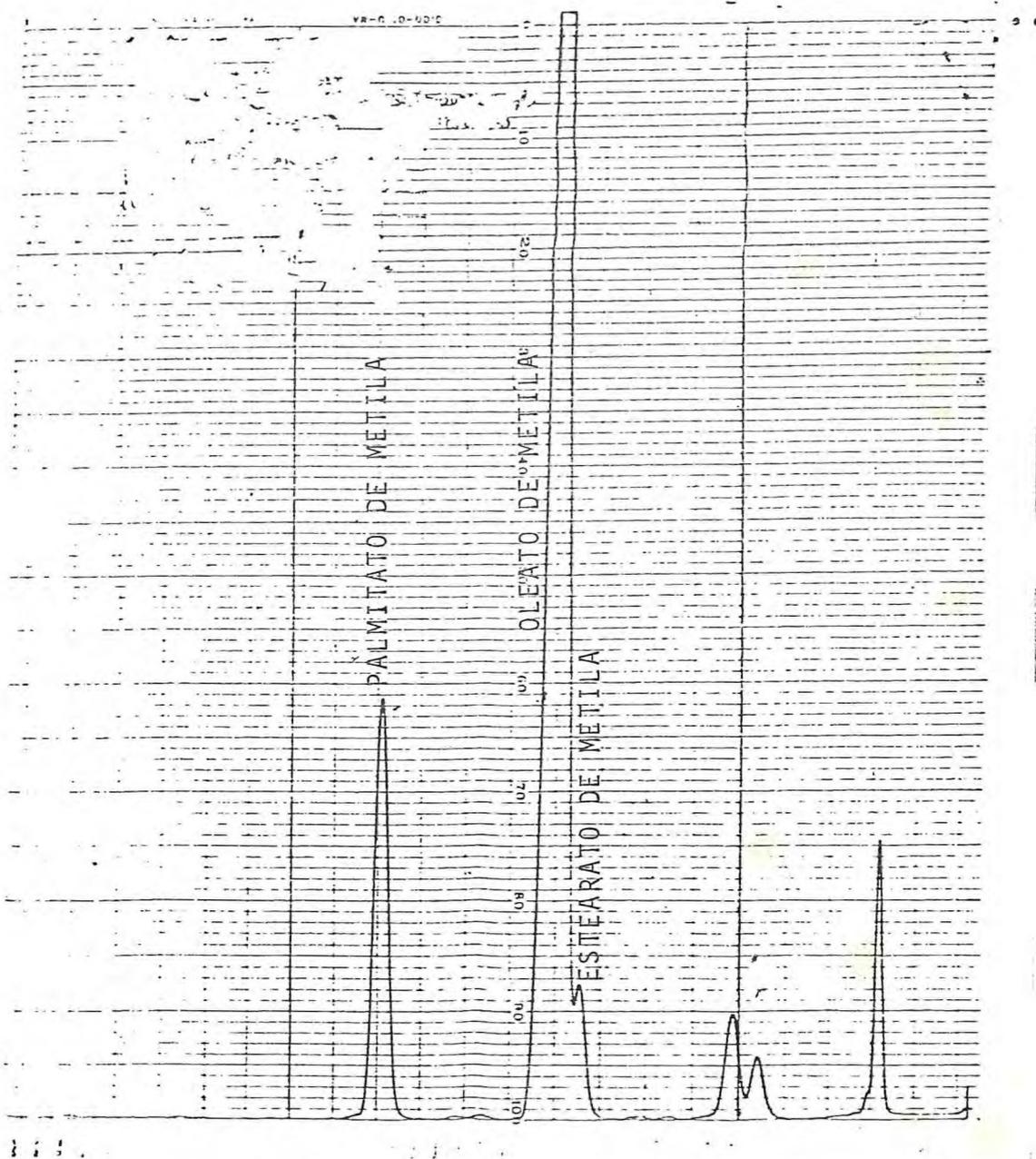


FIGURA 28 - Cromatograma dos ácidos metilados das sementes de *Torresea cearensis* Fr. Allem

### 3. DISTRIBUICAO DE FLAVONAS E ISOFLAVONAS EM ESPECIES DE LEGUMINOSAS BOTANICAMENTE PROXIMAS DE TORRESEA CEARENSIS FR. ALLEM.

O gênero *Torresea cearensis* está incluído na família Leguminosea, subfamília Papilionoideae, tribo Sophoreae, juntamente com os seguintes gêneros: *Ormosia*, *Clathrotopia*, *Bowdichia*, *Sophora*, *Ateleia*, *Acosmium*, *Myroxylon*, *Myrocarpus* e *Sweetia*<sup>(23)</sup>.

Do gênero *Torresea* sã se conhecem duas espécies - *Torresea cearensis* e *Torresea acreana*. São escassos os trabalhos encontrados na literatura sobre o gênero *Torresea*. Neste trabalho relata-se a ocorrência de isoflavonas metoxiladas nas posições 6 e 8, fato que foi observado também em *Myroxylon*. Nos demais gêneros, *Sophora*<sup>(24)</sup> e *Bowdichia*<sup>(25)</sup>, cujos estudos são relatados, estes dois tipos estruturais estão ausentes (Tabela 5).

A biossíntese de isoflavonoides hoje formulada de acordo com observações experimentais envolve oxidação de um precursor chalcônico e concomitante migração 1,2 de um grupo arila, resultando uma isoflavona.

Este protótipo isoflavonoídico sofre apenas processos de oxidação e redução, fornecendo todos os outros representantes da classe.

Experiências mais recentes<sup>(26, 27)</sup> demonstram o envolvimento do grupo metoxila na posição 4' com este processo de migra-

ção do grupo arila na biossíntese de 4'-metoxiisoflavonoides. Admitte-se assim que a posição 4' deverá estar livre no precursor chalconico para que ocorra a oxidação e que a 4'-O-metilação em isoflavonoides está associada com a etapa de migração do grupo arila. Bem mais recentes são as experiências que demonstram que fenilalanina, 4',2',4'-trihidroxichalcona (5), formononetina (6), e 6,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona (texasina) (7) são bons precursores de afrormosina (8). Desse modo, o caminho biossintético que conduz a afrormosina em *Onobrychis vicifolia* é provavelmente via 4,2',4'-trihidroxichalcona e formononetina, envolvendo metilação durante a migração do grupo arila, seguida por 6-hidroilação levando a texasina e, por último, 6-metilação para produzir afrormosina<sup>(28), (29)</sup>. Podemos admitir comportamento idêntico em *Torresea cearensis* e propor as prováveis interrelações biossintéticas entre os constituintes isolados desta espécie (Quadro 5).

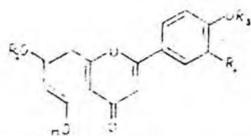
Tomando como modelo as observações feitas por Harborne<sup>(36), 37)</sup>, referentes à distribuição de 6-hidroxi-flavonois e 6-hidroxi-flavonas em várias famílias de angiospermas, somos levados a crer que também em *Torresea cearensis* Er. Além a presença de afrormosina seja um sinal de evolução que tem como objetivo final a proteção da planta.

TABELA 5

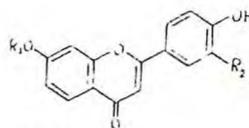
FLAVONOIDES ENCONTRADOS EM GÊNEROS PRÓXIMOS A *Torresea*

FLAVONOIDE	Nº	ESPECIE	REF.
VICENIA-2	(9)	SOPHORA MICROPHYLLA	(30)
7-O-RANOSILGLICOSILBUTEOLINA	(10)		
7-O-RANOSILGLICOSILAPIGENINA	(11)		
LUTEOLINA	(12)		
7,3',4'-TRIHIDROXIFLAVONA-7-O-RANOSILGLICOSIDEO	(13)		
7,3,4'-TRIHIDROXIFLAVONA	(14)		
7,3,4'-TRIHIDROXIFLAVONA-6,8-C-GLICOSIDEO	(15)		
7,4'-DIHIDROXI-7-O-RANOSILGLICOSIDEO	(16)	SOPHORA TETRAPTERA	(30)
7,4'-DIHIDROXIFLAVONA	(17)		
5,7,4'-TRIHIDROXIFLAVONA-4-O-GLICOSIL-7-O-RANOSILGLICOSIDEO	(18)	SOPHORA TETRAPTERA	(30)
5,7,4'-TRIHIDROXIFLAVONA-7-O-GLICOSIDEO	(19)		
5,7,3',4'-TETRAHIDROXIFLAVONA-7-O-GLICOSIDEO	(20)		
7,4'-DIHIDROXIFLAVONA-7-O-GLICOSIDEO	(21)		
7,3',4'-TRIHIDROXIFLAVONA-7-O-GLICOSIDEO	(22)		
LUCENINA-2	(23)	S. MICROPHYLLA	(30)
RANOSILVITEXINA	(24)		
RANOSIESOVITEXINA	(25)		
ISOSOFORANONA	(26)	S. TONENTOSA	(32)
ISOSOFORONOL	(27)		
GENISTEINA	(28)	BOWDICHIA NITIDA	(25)
FORMONONETINA	(6)	B. NITIDA	(33)
		M. BALSAMUM	(31)
3'-HIDROXIFORMONONETINA	(29)	B. NITIDA	(33)
		M. BALSAMUM	(31)
AFRORMOSINA	(8)	M. BALSAMUM	(34)
		T. CEARENENSIS	ESTE TRABALHO
CABREUVINA	(30)	M. BALSAMUM	(35)
7-HIDROXI-8,4'-DIMETOXIISOFLAVONA	(1)	T. CEARENENSIS	ESTE TRABALHO
7-HIDROXI-6,8,4'-TRIMETOXIISOFLAVONA	(31)	T. CEARENENSIS	ESTE TRABALHO
3'-HIDROXI-8-O-NETILRETUSINA	(32)	M. BALSAMUM	(31)

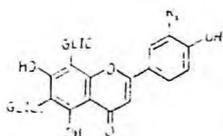
QUADRO 3 - FLAVONÓIDES CITADOS NA TABELA 5



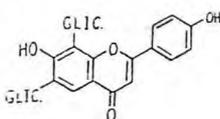
- (10)  $R_3 = n, R_2 = \text{OH}, R_1 = \text{ranosilglicosil}$
- (11)  $R_3 = R_2 = n, R_1 = \text{ranosilglicosil}$
- (12)  $R_3 + R_1 = n, R_2 = \text{OH}$
- (13)  $R_3 + R_2 = \text{OH}, R_1 = \text{ranosilglicosil}$
- (14)  $R_3 = R_1 = n, R_2 = \text{OH}$
- (15)  $R_2 = n, R_3 = \text{glicosil}, R_1 = \text{ranosilglicosil}$
- (16)  $R_2 = R_3 = n, R_1 = \text{glicosil}$
- (17)  $R_2 = \text{OH}, R_3 = n, R_1 = \text{glicosil}$



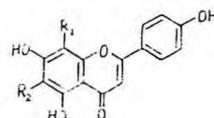
- (16)  $R_2 = n, R_1 = \text{ranosilglicosil}$
- (17)  $R_1 + R_2 = n$
- (21)  $R_1 = \text{glicosil}$



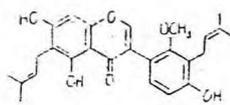
- (22)  $R_1 = n$  (Luciferina-2)
- (23)  $R_1 = \text{OH}$  (Luciferina-2)



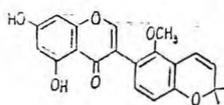
(18)



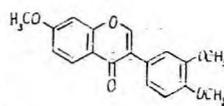
- (24)  $R_2 = n, R_1 = \text{ranosil-g-glicosil}$  (ranosiliteoxina)
- (25)  $R_1 + R_2 = \text{ranosil-g-glicosil}$  (ranosiliteoxina)



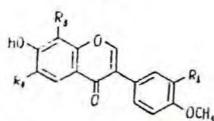
(26)



(27)



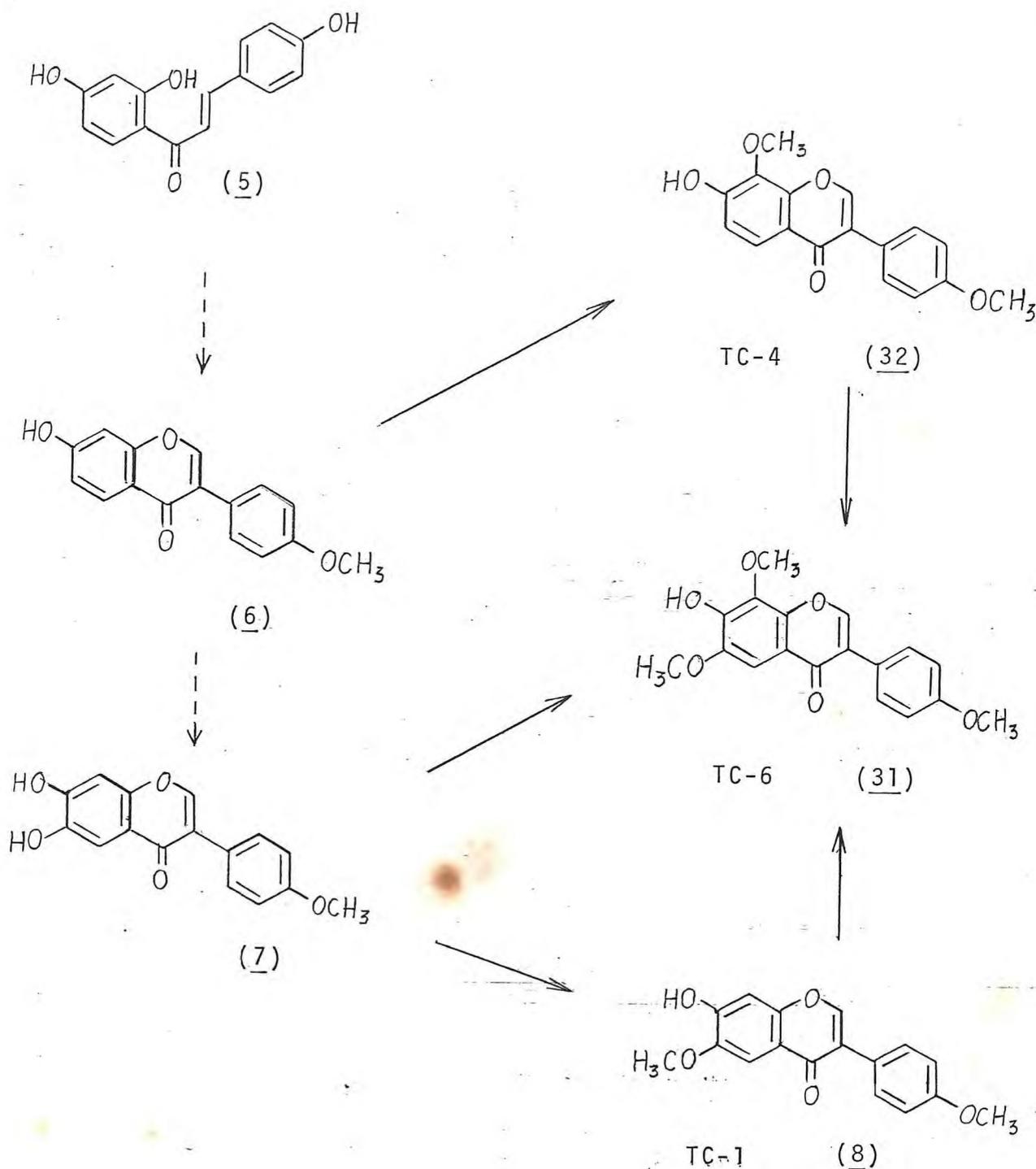
(31)



- (29)  $R_1 = R_2 = R_3 = n$
- (29)  $R_1 = \text{OH}, R_2 = R_3 = n$
- (32)  $R_1 = \text{OH}, R_2 = H, R_3 = \text{OCH}_3$
- (30)  $R_1 = n, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = H$
- (31)  $R_1 = R_2 = H, R_3 = \text{OCH}_3$
- (33)  $R_1 = H, R_2 = R_3 = \text{OCH}_3$

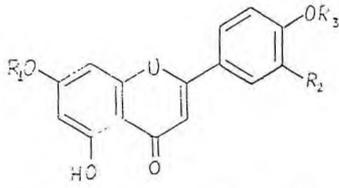
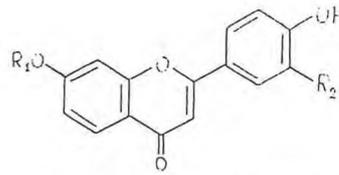
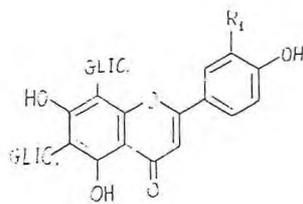
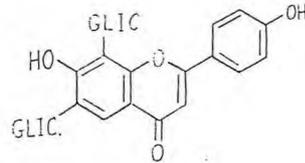
QUADRO 4 - PROVÁVEIS INTERRELAÇÕES BIOSSINTÉTICAS ENTRE AS ISO-  
FLAVONAS ISOLADAS DE *Torresea cearensis* Fr. Allem

Nota: setas traçadas com linhas interrompidas indicam intermediários prováveis mas não isolados.

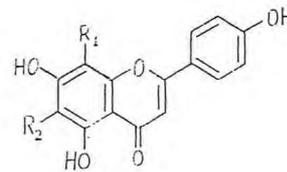
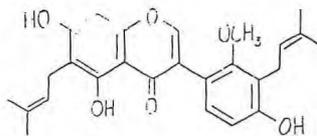


## QUADRO

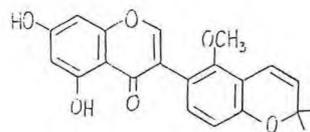
## FLAVONOIDES CITADOS NA TABELA (5)

(10)  $R_3=H$ ;  $R_2=OH$ ;  $R_1=$ ranosilglicosil(11)  $R_3=R_2=H$ ;  $R_1=$ ranosilglicosil(12)  $R_3=R_1=H$ ;  $R_2=OH$ (13)  $R_3=R_2=OH$ ;  $R_1=$ ranosilglicosil(14)  $R_3=R_1=H$ ;  $R_2=OH$ (18)  $R_2=H$ ;  $R_3=$ glicosil;  $R_1=$ ranosilglicosil(19)  $R_2=R_3=H$ ;  $R_1=$ glicosil(20)  $R_2=OH$ ;  $R_3=H$ ;  $R_1=$ glicosil(15)  $R_2=H$ ;  $R_1=$ ranosilglicosil(17)  $R_1=R_2=H$ (21)  $R_1=$ glicosil(9)  $R_1=H$  (Vicenina-2)(23)  $R_1=OH$  (Lucenina-2)

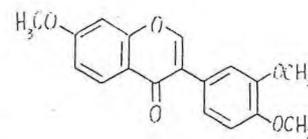
(15)

(24)  $R_2=H$ ;  $R_1=$ ranosil-c-glicosil (ranosilvitexina)(25)  $R_1=H$ ;  $R_2=$ ranosil-c-glicosil (ranosilisovitexina)

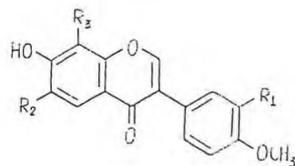
(26)



(27)



(31)

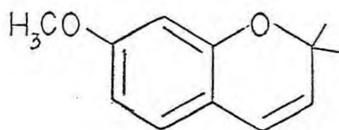
(6)  $R_1=R_2=R_3=H$ (29)  $R_1=OH$ ;  $R_2=R_3=H$ (32)  $R_1=OH$ ;  $R_2=H$ ;  $R_3=OCH_3$

#### 4. SINTESE DE CROMENOS A PARTIR DE CUMARINAS E ORGANOLITIOS

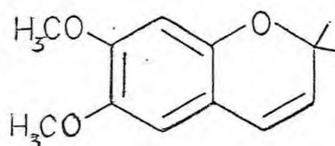
Precocenos são compostos orgânicos derivados de cromenos que se caracterizam por sua potente atividade inseticida, decorrente da atuação destes compostos no processo de metamorfose de hemipteros (38).

Bowers (38) vem estudando este tipo de antagonismo utilizando extratos de plantas.

Os primeiros trabalhos efetuados com *Ageratum houstonianum* (composta) conduziram a compostos que foram identificados como o 7-metoxi-2,2-dimetilcromeno e o 6,7-dimetoxi-2,2-dimetilcromeno, respectivamente denominados PRECOCENO I (33) e PRECOCENO II (34):



PRECOCENO I (33)



PRECOCENO II (34)

Processos para obtenção de cromenos a partir de cumarinas são pouco difundidos na literatura. Um dos mais antigos envolve a ação do reagente de Grignard (Lee e Ruoff) apresentando entretanto baixíssimo rendimento o que o torna impraticável.

Por outro lado este mesmo processo utilizando dihidrocumarinas forneceram cromanos em bom rendimento (39).

#### 4.1. OBTENÇÃO DE CROMENOS A PARTIR DE REAÇÕES DE CUMARINAS COM ORGANOLÍTIOS

Sendo os organolítios altamente reativos, as experiências foram efetuadas no interior de uma câmara "glove box" em atmosfera de nitrogênio purificado e isento, tanto quanto possível de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$  e umidade. Os compostos cumarínicos foram dissolvidos em éter etílico anidro antes da adição do organolítio. Os organolítios utilizados, metilítio (Merck) e butilítio (Merck), apresentavam-se em solução em éter etílico e hexano respectivamente. O fenilítio foi preparado pela técnica de Gilman<sup>(40)</sup> a partir de bromobenzeno e lítio, sendo o solvente utilizado o éter etílico.

As reações foram feitas sob agitação durante aproximadamente quatro horas, e a mistura reacional neutralizada com ácido clorídrico diluído e extraída com éter etílico.

#### 4.2. REAÇÃO DE CUMARINA COM METILÍLIO

Fêz-se reagir a cumarina com metilítio em quantidades calculadas para obter a proporção 1:2 substrato:reagente.

O produto foi submetido a cromatografia em coluna de sílica gel utilizando-se como eluentes hexano, clorofórmio, acetona e suas misturas binárias, em polaridade crescente.

Em clorofórmio:acetona 5% foi eluída uma fração oleosa que através de cromatografia em camada delgada mostrou tratar-se

de substância pura que foi denominada DC-1(35)

Um melhor rendimento de DC-1 foi conseguido quando as proporções foram modificadas para 1 mol de cumarina e 3 mols de metilítio. Cromatografia gás-líquido acoplado a espectrometria de massa permitiu observar que na mistura reacional o principal produto formado foi DC-1. Mesmo assim o rendimento foi muito pequeno.

#### 4.3. IDENTIFICAÇÃO DE DC-1(35)

DC-1 teve sua estrutura confirmada através de ressonância magnética nuclear do hidrogênio e de massa.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 29) apresentou dois sinais duplos em 5,47δ (J8Hz), 6,22δ (J8Hz) que comparado com o espectro de RMN<sup>1</sup>H da cumarina (Fig. 12.), as absorções dos hidrogênios de DC-1 se encontram em campo mais alto. Com esta observação foi possível concluir pela não existência do grupo carbonila que desprotege os hidrogênios olefínicos da cumarina. Foi observado ainda um sinal simples em 1,45δ concernente a seis hidrogênios metílicos, levando a conclusão de que ao carbono carbonílico da cumarina houve adição de dois grupos metilas. Entre 4,05δ e 6,45δ foi constatada a presença de sinais correspondentes a quatro hidrogênios aromáticos. O espectro de massa apresentou peso molecular 160, compatível com a fórmula molecular C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O.

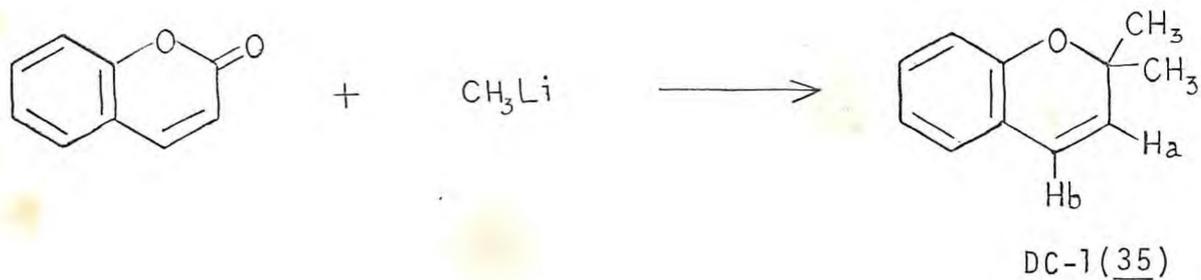


TABELA 6

ESPECTRO DE RMN<sup>1</sup>H DE DC-1 (Fig. 29)

Deslocamento químico (δ)	desdobramento	integração	interpretação
7,05-6,45	banda múltipla	4	prótons aromáticos
6,22	sinal duplo (J8Hz)	1	Hb
5,47	sinal duplo (J8Hz)	1	Ha
1,45	sinal simples	6	2 CH <sub>3</sub>

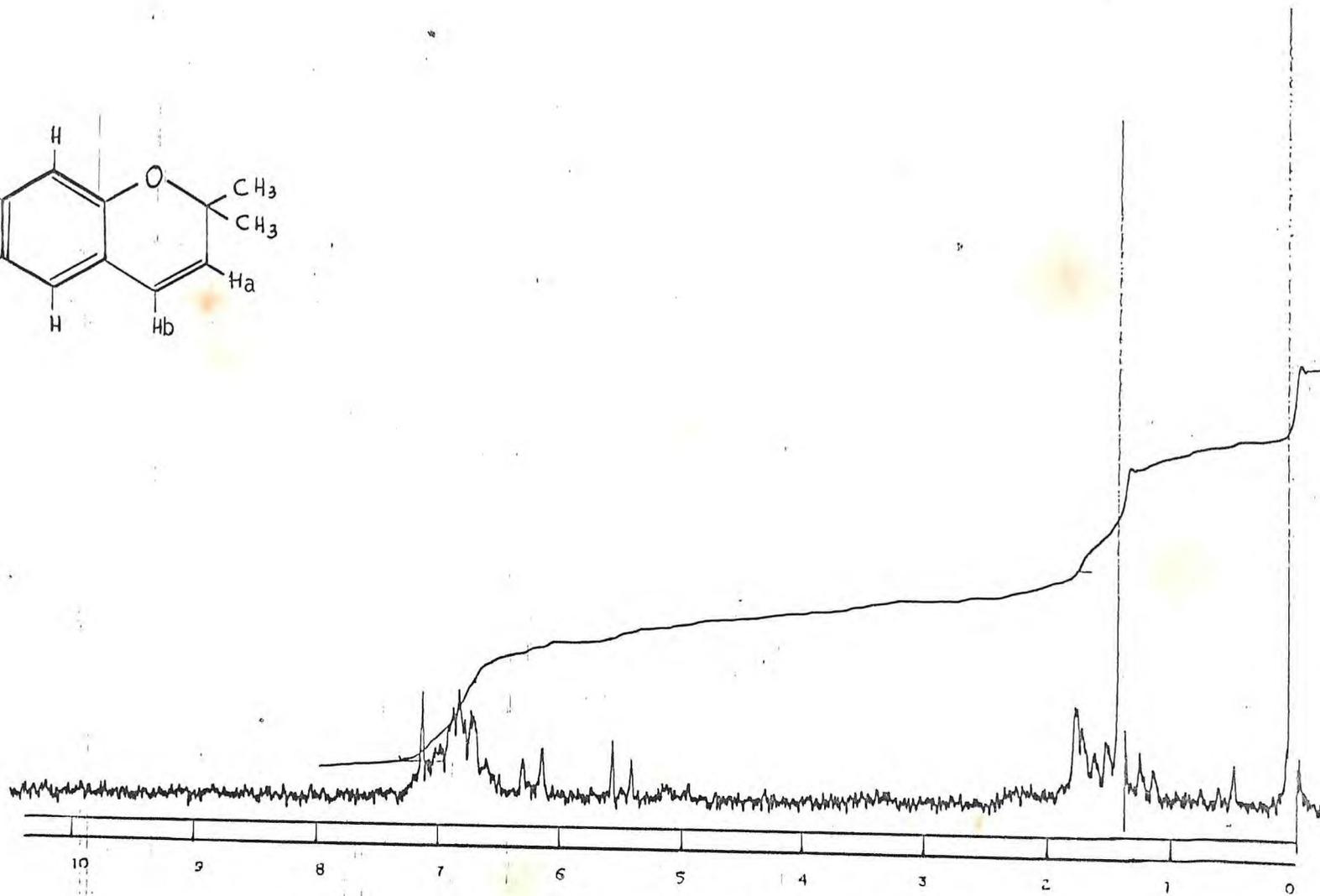
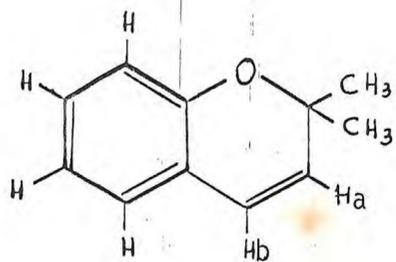


FIGURA 29 - Espectro RMN<sup>1</sup>H de DC-1 (60MHz, CDCl<sub>3</sub>)

#### 4.4. REAÇÃO DE CUMARINA COM BUTILLÍCIO

Submeteu-se a cumarina em éter etílico, a reação com butillítio na proporção de 1 mol de cumarina para 2 moles de butillítio encontrando-se este em solução em hexano.

O produto reacional foi submetido à cromatografia em coluna obtendo-se uma fração de consistência oleosa que através de cromatografia em camada delgada apresentou-se pura. A esta substância foi dada a denominação de DC-2(36)

Ainda neste caso um melhor rendimento do produto foi obtido quando foi levada a reagir com o butillítio na proporção de 1:3. Analisando os resultados em CGL acoplado com espectrômetro de massa, observou-se que DC-2 foi o principal produto formado. Semelhante aos resultados das reações de cumarina com metillítio, nas reações de cumarina com butillítio houve baixo rendimento, conseguindo-se isolar somente quantidade suficiente para ensaios espectroscópicos.

#### 4.5. IDENTIFICAÇÃO DE DC-2(36)

O espectro de infravermelho (Fig.30) desta substância mostrou a ausência de carbonila. Fortes absorções em torno de  $2.900\text{cm}^{-1}$  de estiramento C-H indicou a presença de grupos alquilas.

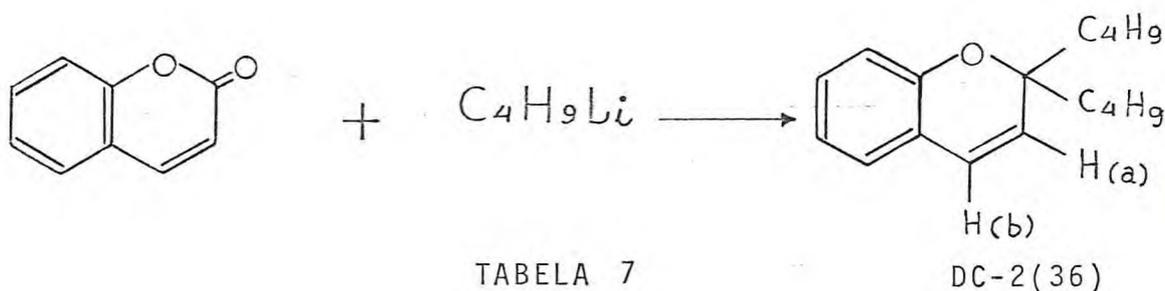
Pelo espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig.31) foi constatada a presença de dois prótons olefínicos em  $6,25\delta$  (Hb-J8Hz) e  $5,35\delta$  (Ha-J8Hz) que co

mo em DC-1 apresentaram-se em campo alto em relação aos prótons olefínicos da cumarina.

Uma banda complexa na região de prótons alifáticos revelou integração compatível com a presença de dois grupos butila, conforme mostra a Tabela 7.

O espectro de massa apresentou  $M^+$ 244 (10%) e  $m/z$  187(100%) que corresponde a perda de cinquenta e sete u.m.a. ( $C_4H_9$ ).

Desta reação de cumarina com butillítio o produto principal obtido foi o resultante da adição de dois grupos butila a carbonila, sendo portanto DC-2 identificado como 2,2-dibutylcromeno! (36).



ESPECTRO DE RMN<sup>1</sup>H DE DC-2 (fig.31)

deslocamento químico ( $\delta$ )	desdobramento	integração	interpretação
7,10 a 6,50	banda múltipla	4	prótons aromáticos
6,25	sinal duplo (J8Hz)	1	Hb
5,35	sinal duplo (J8Hz)	1	Ha
1,7 - 0,5	banda múltipla	18	2 $C_4H_9$

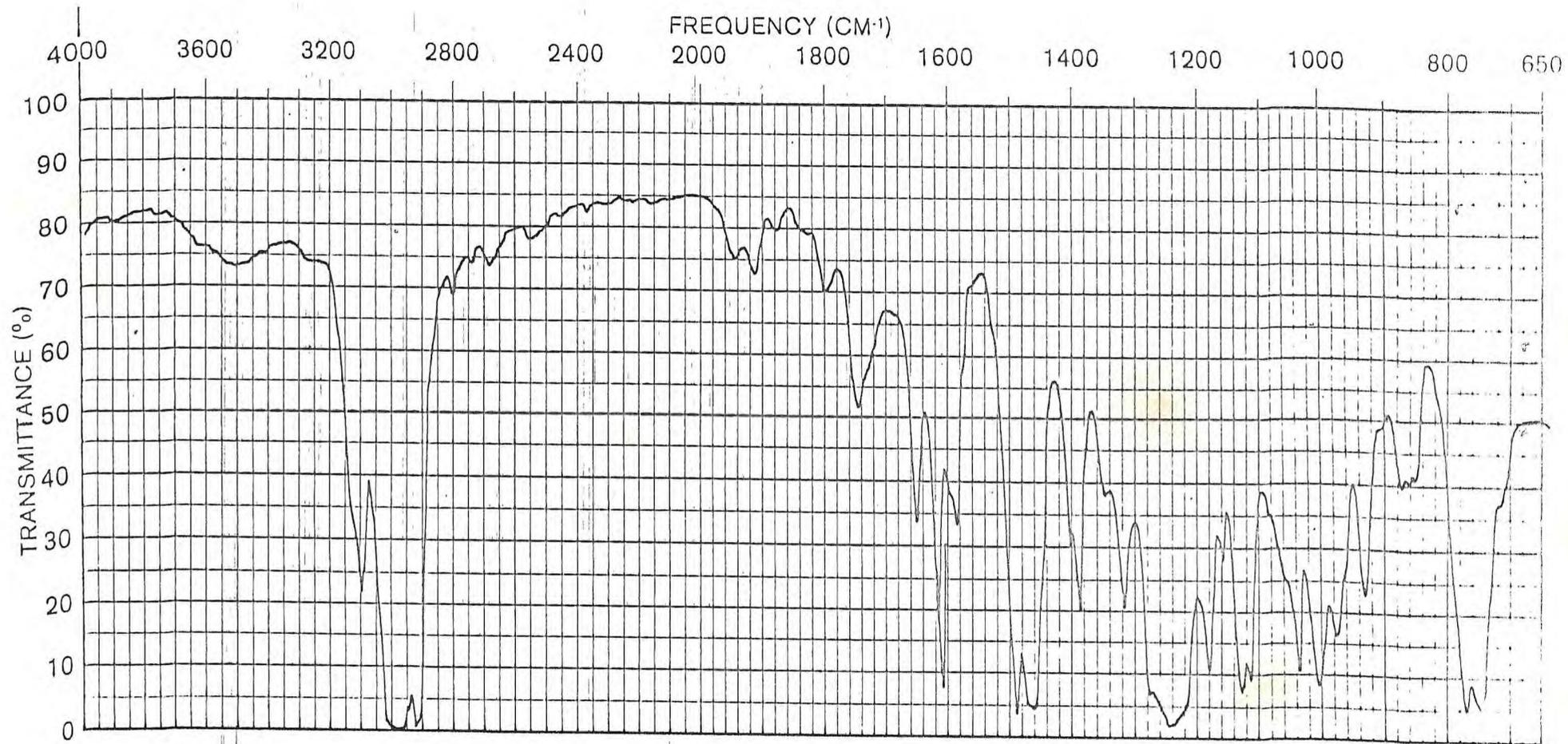


FIGURA 30 - Espectro de I.V. de DC-2

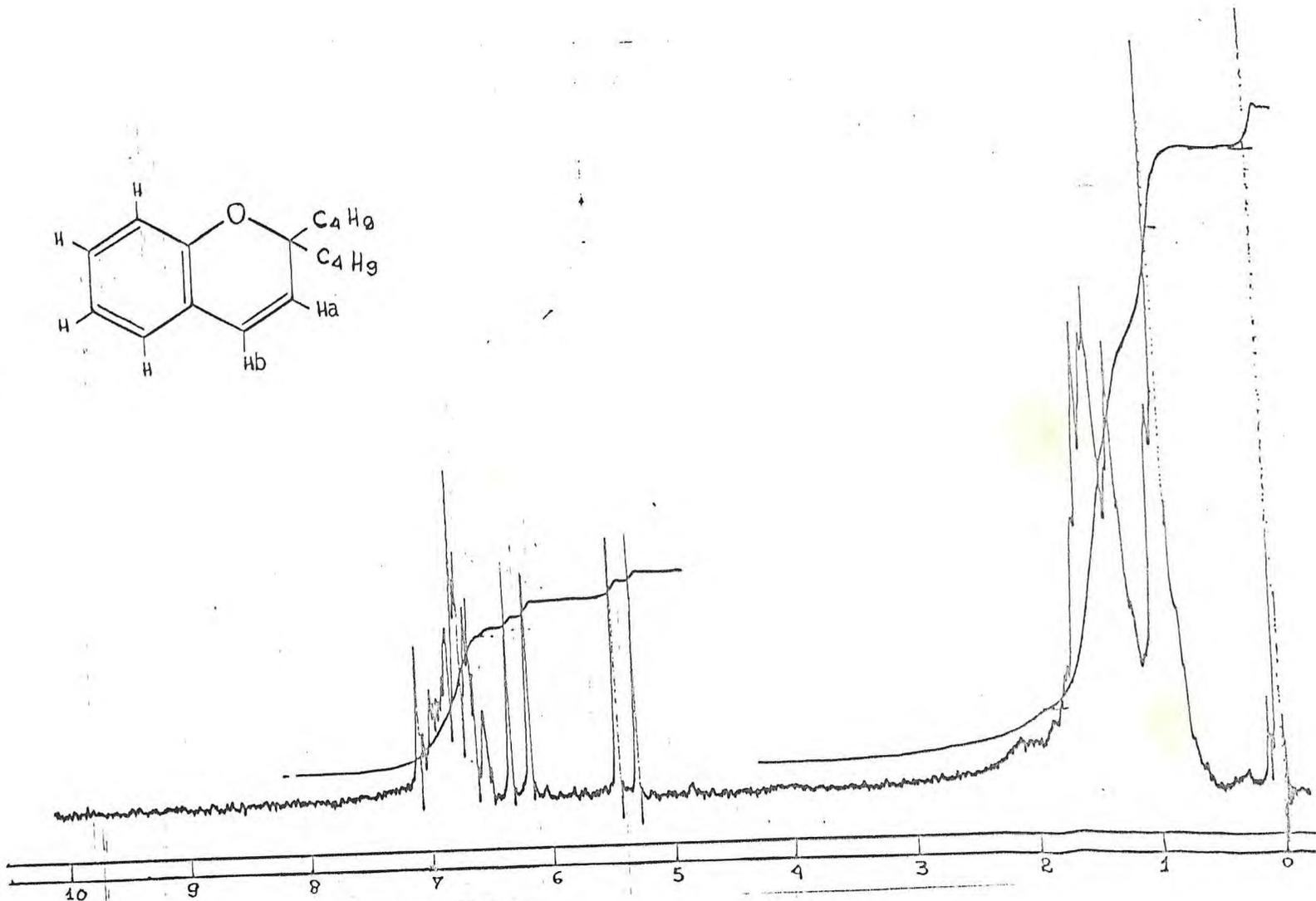
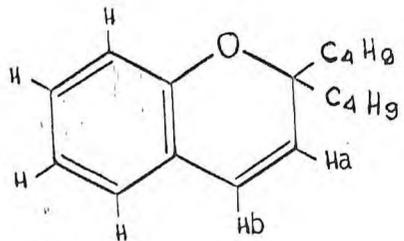


FIGURA 31 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de DC-2  
(60MHz, CDCl<sub>3</sub>)

#### 4.6. REAÇÃO DE CUMARINA COM FENILLÍCIO

Esta reação foi efetuada usando-se cumarina e fenillítio na proporção de 1:3. O produto reacional, um óleo espesso de coloração vermelha sendo mantido em repouso formou um precipitado o qual foi decantado, filtrado e lavado com a mistura de clorofórmio-hexano 50% a frio.

Esta substância foi denominada DC-3 e apresentou um rendimento de 7,60%.

#### 4.7. IDENTIFICAÇÃO DE DC-3(37)

O espectro de infravermelho (Fig.32) desta substância apresentou absorções em  $1.673\text{cm}^{-1}$  e  $3.434\text{cm}^{-1}$  referentes a um grupo carbonila e uma hidroxila respectivamente.

No espectro de RMN<sup>1</sup>H (fig.33) foi observado um sinal duplo em 3,69δ (2HJ6Hz) indicando um acoplamento vicinal com o sinal triplo em 5,05δ (1HJ6Hz). Entre 6,50δ-8,00δ foi constatada a presença de 14 prótons aromáticos.

A partir deste dados foi proposta a adição de dois grupos fenilas ao esqueleto da cumarina com a abertura do anel lactônico.

O espectro de massa apresentou M<sup>+</sup>302 dalton compatível com a fórmula molecular C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> (Quadro 5).

Em função dos dados espectrais citados para DC-3 foi proposta a estrutura de 1,3-difenil-3(2-hidroxi-fenil)-propan-1-ona, anteriormente sintetizada a partir de cumarina e brometo de fenil magnésio(41)

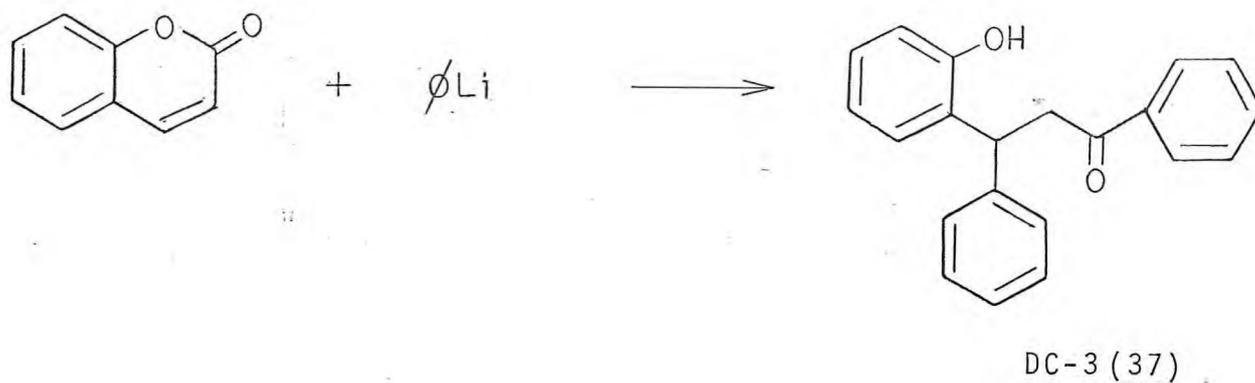
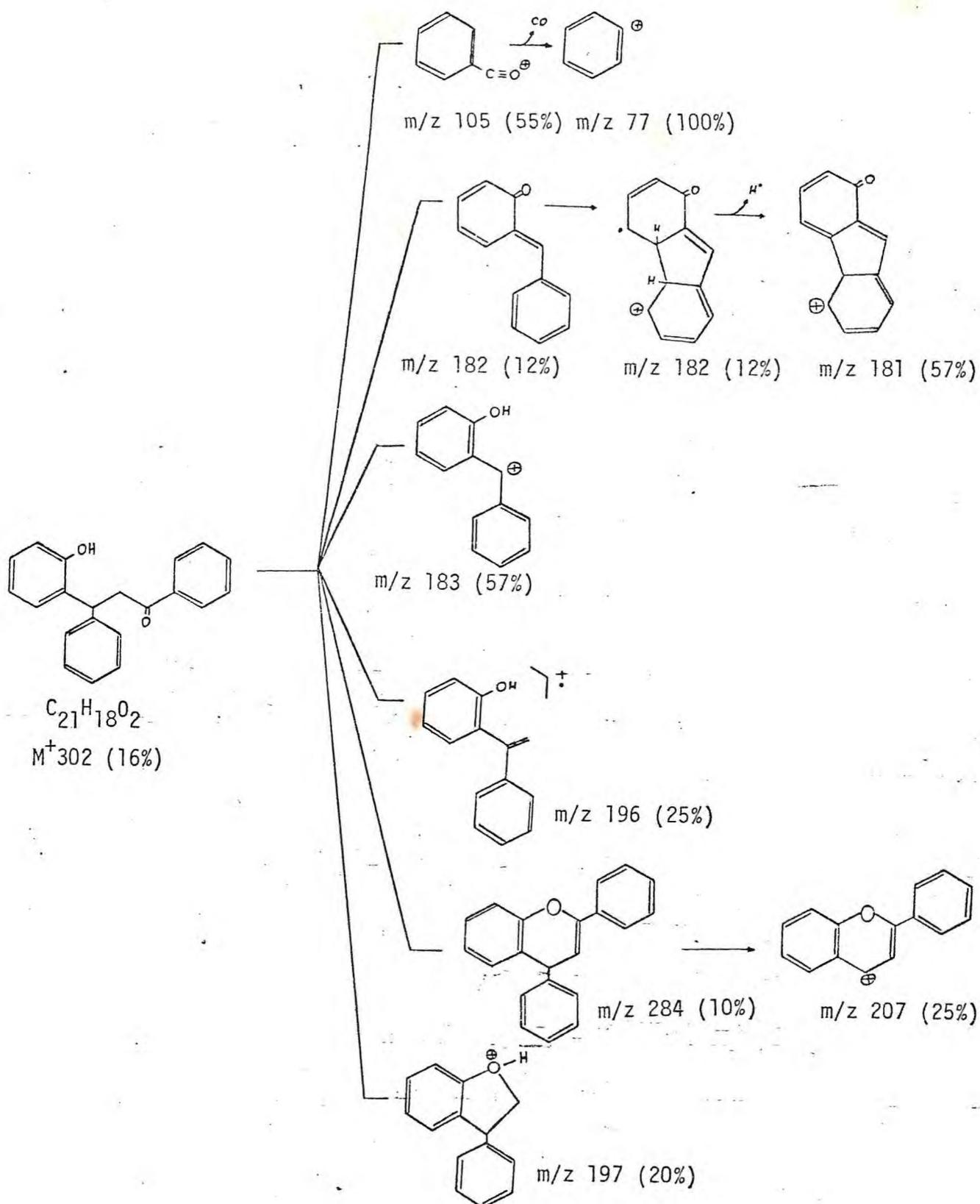


TABELA 8

ESPECTRO DE RMN<sup>1</sup>H DE DC-3 CONFORME Fig.33

Deslocamento químico (δ)	desdobramento	integração	interpretação
6,50-8,00	banda múltipla	14	protons aromáticos
5,05	signal triplo (J6Hz)	1	CH
3,69	signal duplo (J6Hz)	2	CH <sub>2</sub>

QUADRO 5 - PROPOSTA DE FRAGMENTAÇÃO DE DC-3 NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA



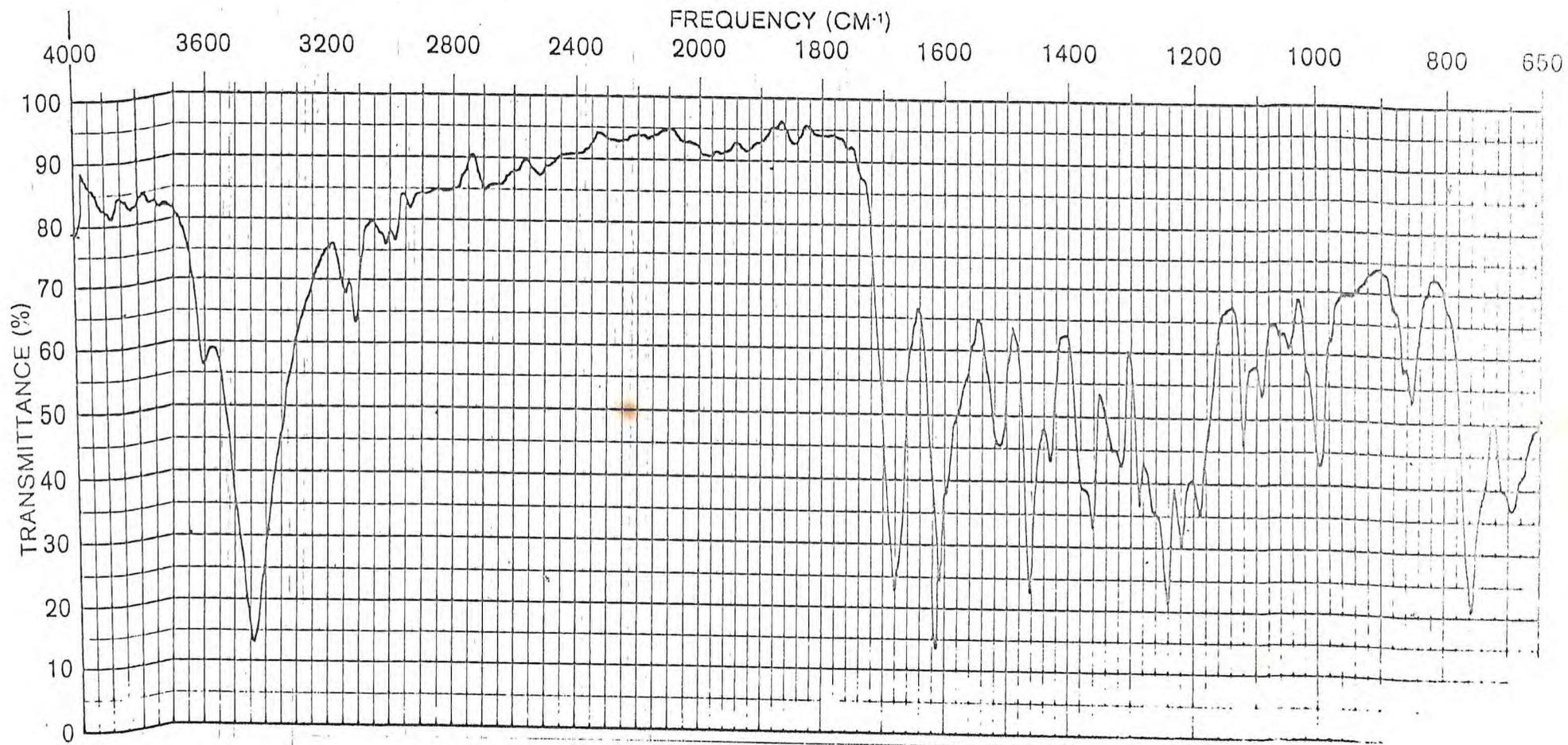


FIGURA 32 - Espectro de I.V. de DC-3  
Fase: KBr

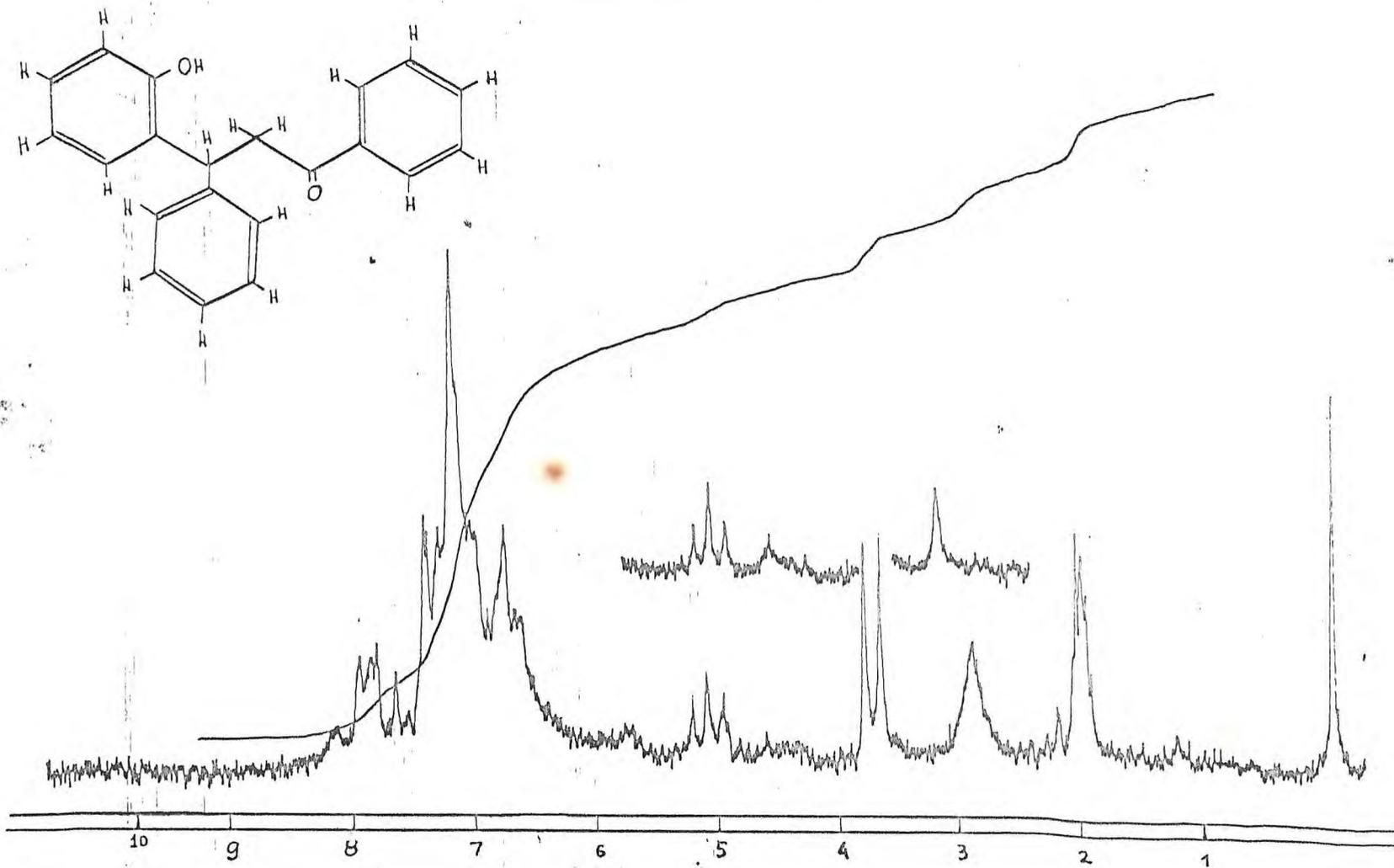


FIGURA 33 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de DC-3  
(60MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )

#### 4.8. REAÇÃO DA 7-METOXICUMARINA COM METILLÍCIO

Com a finalidade de se obter o PRECOCENO I (7-metoxi-2,2-dimetilcromeno), foi feita a reação da 7-metoxicumarina (7-O-metilumbeliferona de origem comercial), com metillítio em quantidade necessária a obter-se a relação substrato:reagente 1:3

O produto total foi submetido a filtração em sílica gel e o material eluído em clorofórmio foi analisado por CGL acoplado ao espectrômetro de massa (Figs.34,35 e 36).

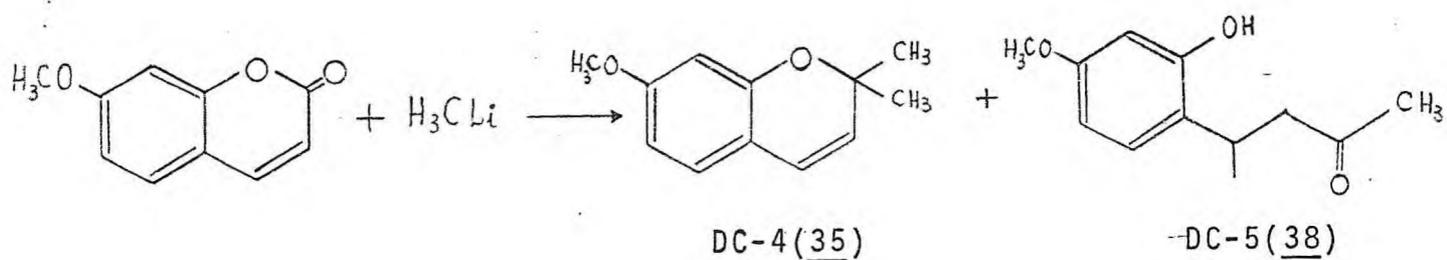
Foi observado como principal constituinte desta fração, uma substância denominada DC-4. Uma outra substância foi detectada recebendo a sigla DC-5.

A 7-metoxicumarina foi preparada a partir da 7-hidroxicumarina (Merck) usando-se sulfato de metila como agente de metilação (42).

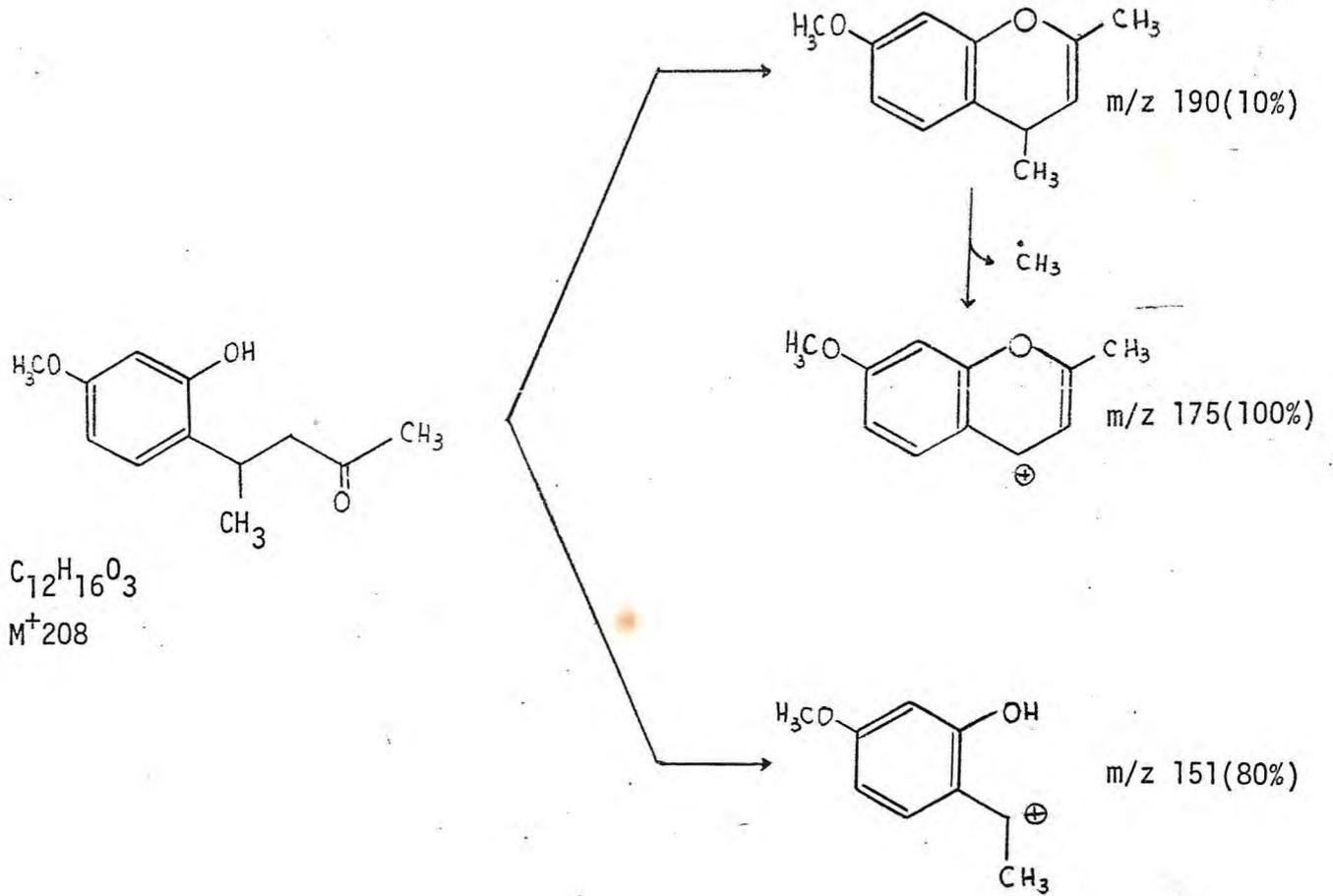
#### 4.9. IDENTIFICAÇÃO DE DC-4(33) E DC-5(38)

Estas substâncias tiveram suas estruturas propostas pela análise de seus espectros de massa. DC-4 apresentou  $M^+$  190 dalton (20%) e um fragmento  $m/z$  175 (100%) resultante da eliminação de quinze unidades de massa referente a um grupo metila o que está em perfeita concordância com a estrutura proposta para o 7-metoxi-2,2-dimetilcromeno (PRECOCENO I)(33).

DC-5 apresentou  $M^+$ 208 dalton, admitindo-se que houve nêste caso abertura do anel lactônico. Um grupo metila foi adicionado a carbonila e o outro a dupla ligação conjugada. O espectro de massa é compatível com a estrutura proposta conforme demonstra o quadro 6.



## QUADRO 6- FRAGMENTAÇÃO DE DC-5 NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA



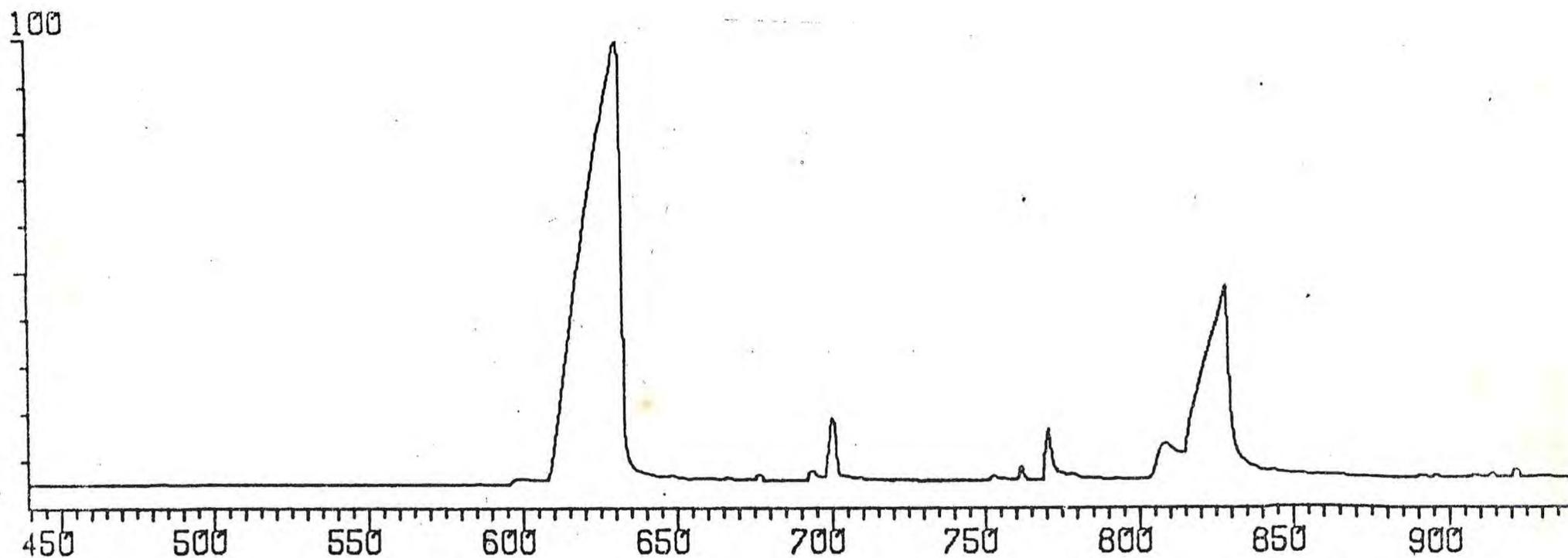


FIGURA 34 - Cromatograma do produto de reação de 7-metoxicumarina com metilítio, após filtração em sílica gel.

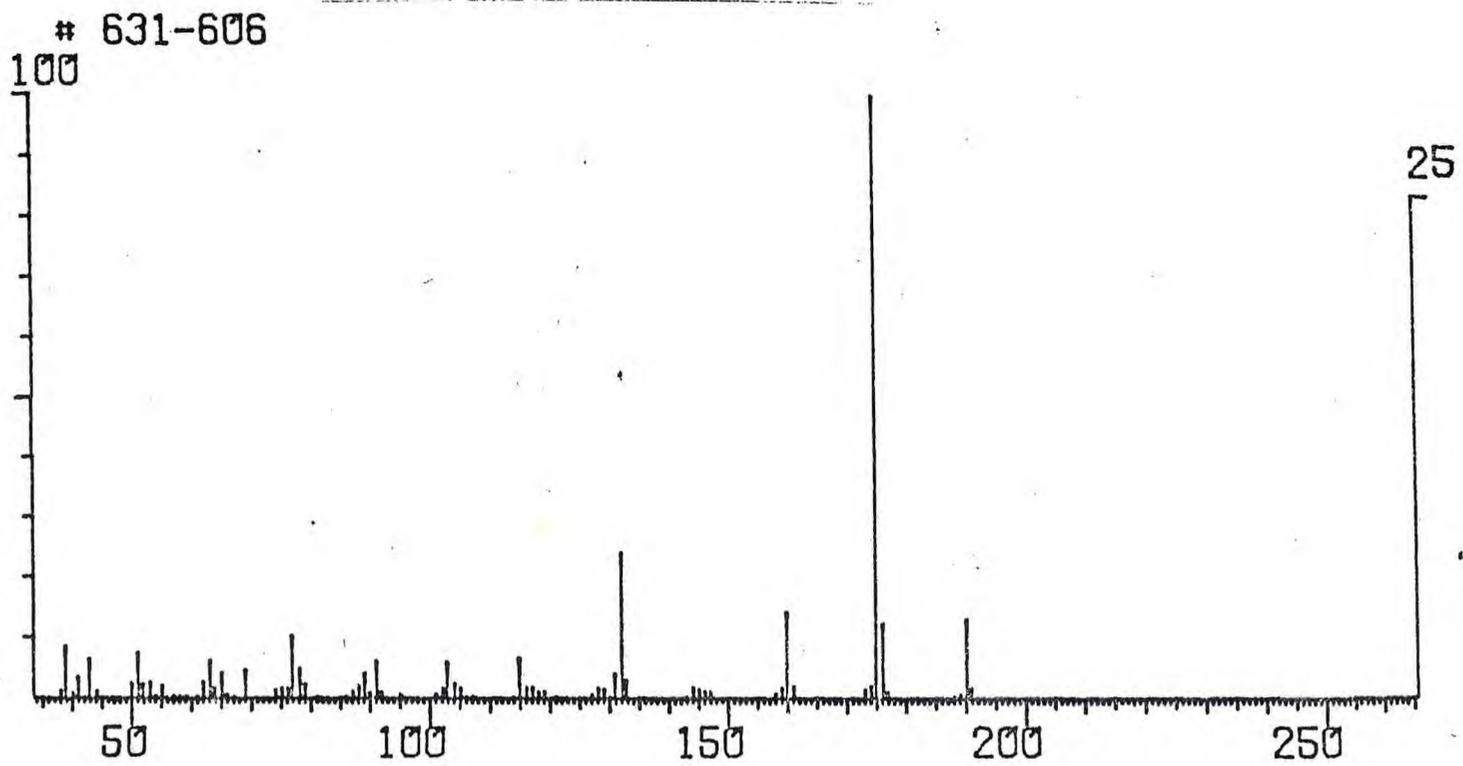


FIGURA 35 - Espectro de massa de DC-4.

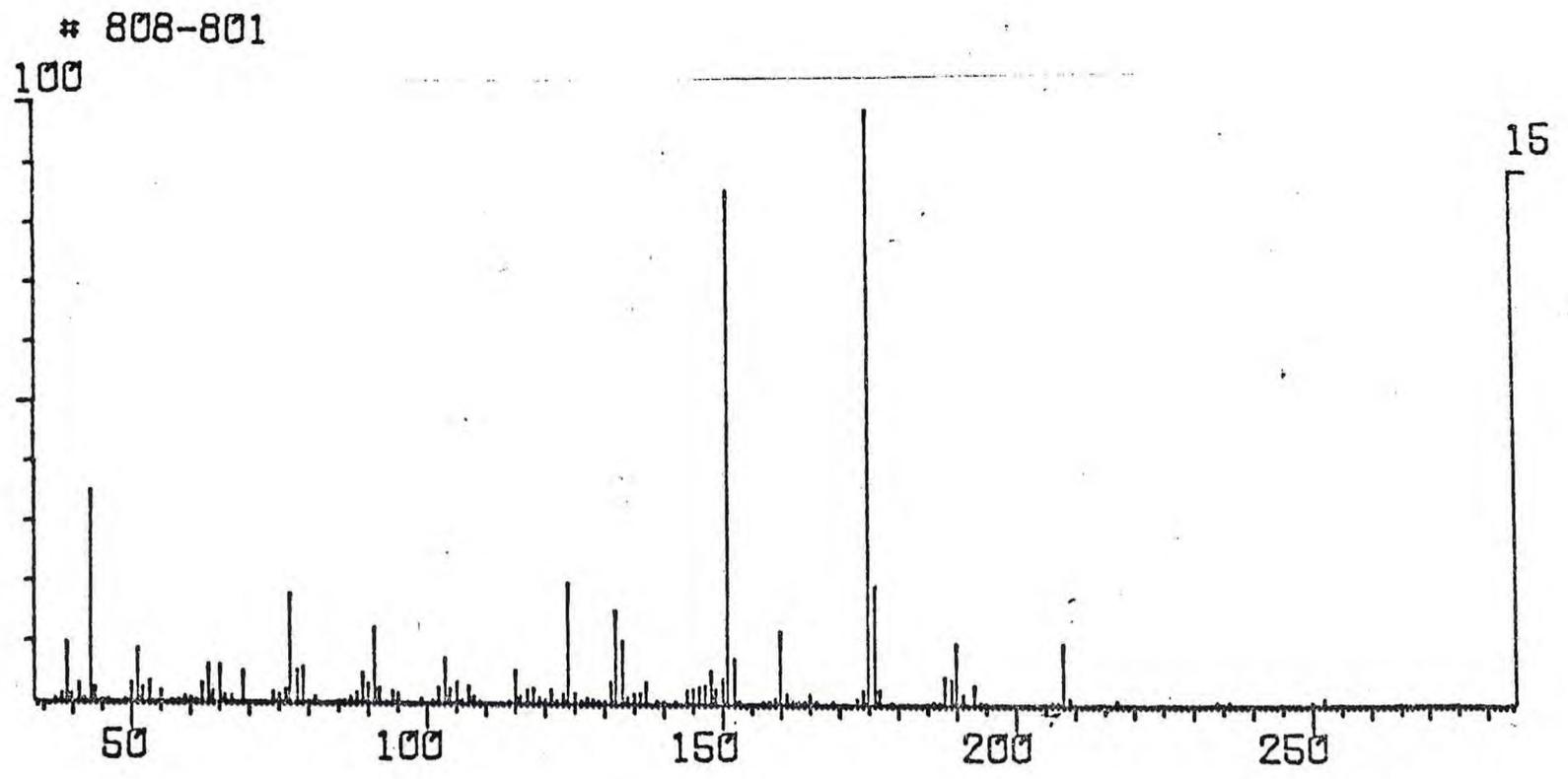
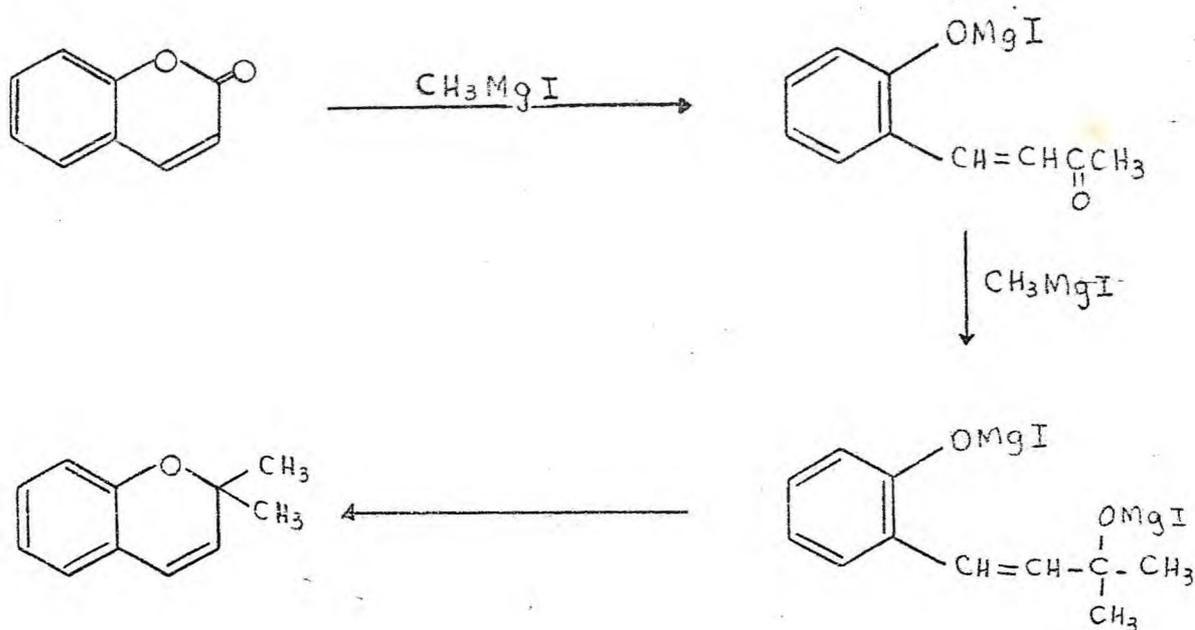


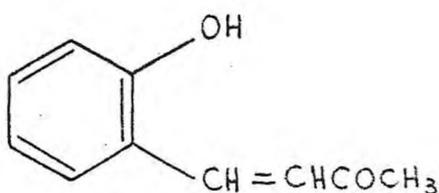
FIGURA 36 - Espectro de massa de DC-5.

#### 4.10. PROPOSTA PARA O MECANISMO DE REAÇÕES DE CUMARINAS COM ORGANO LÍTIOS

Houben<sup>(43)</sup> usando reagente de Grignard para adicionar grupos metilas à cumarina, admitiu que a adição se dá com abertura inicial da lactona e, em seguida, forma-se o cromeno por ciclização.

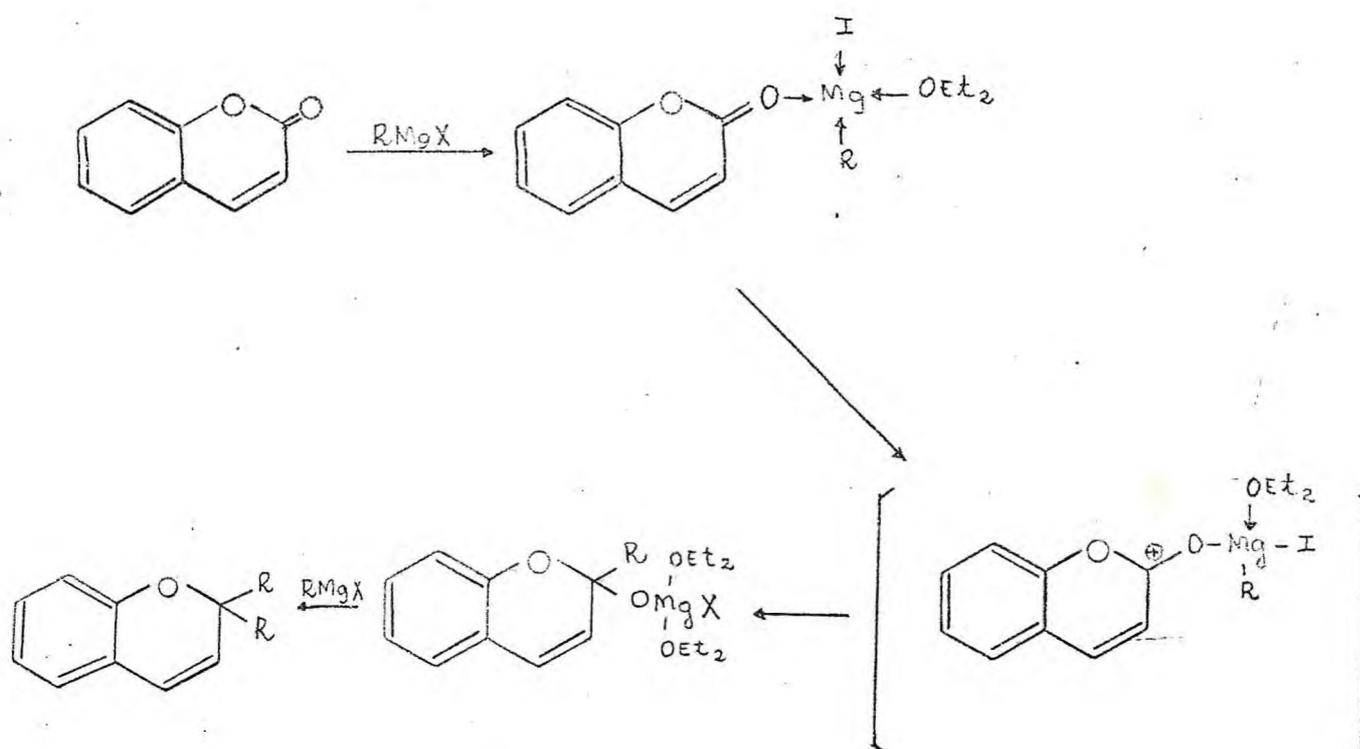


Contrariando o mecanismo proposto, Shriner e Sharp<sup>(43)</sup> mostraram que não há abertura do anel lactônico, visto que, partindo-se de o-hidroxibenzalacetona (39) não se obtém o mesmo produto da reação de cumarina com reagente de Grignard como seria de esperar caso o mecanismo proposto fosse correto.



o-hidroxibenzalacetona (39)

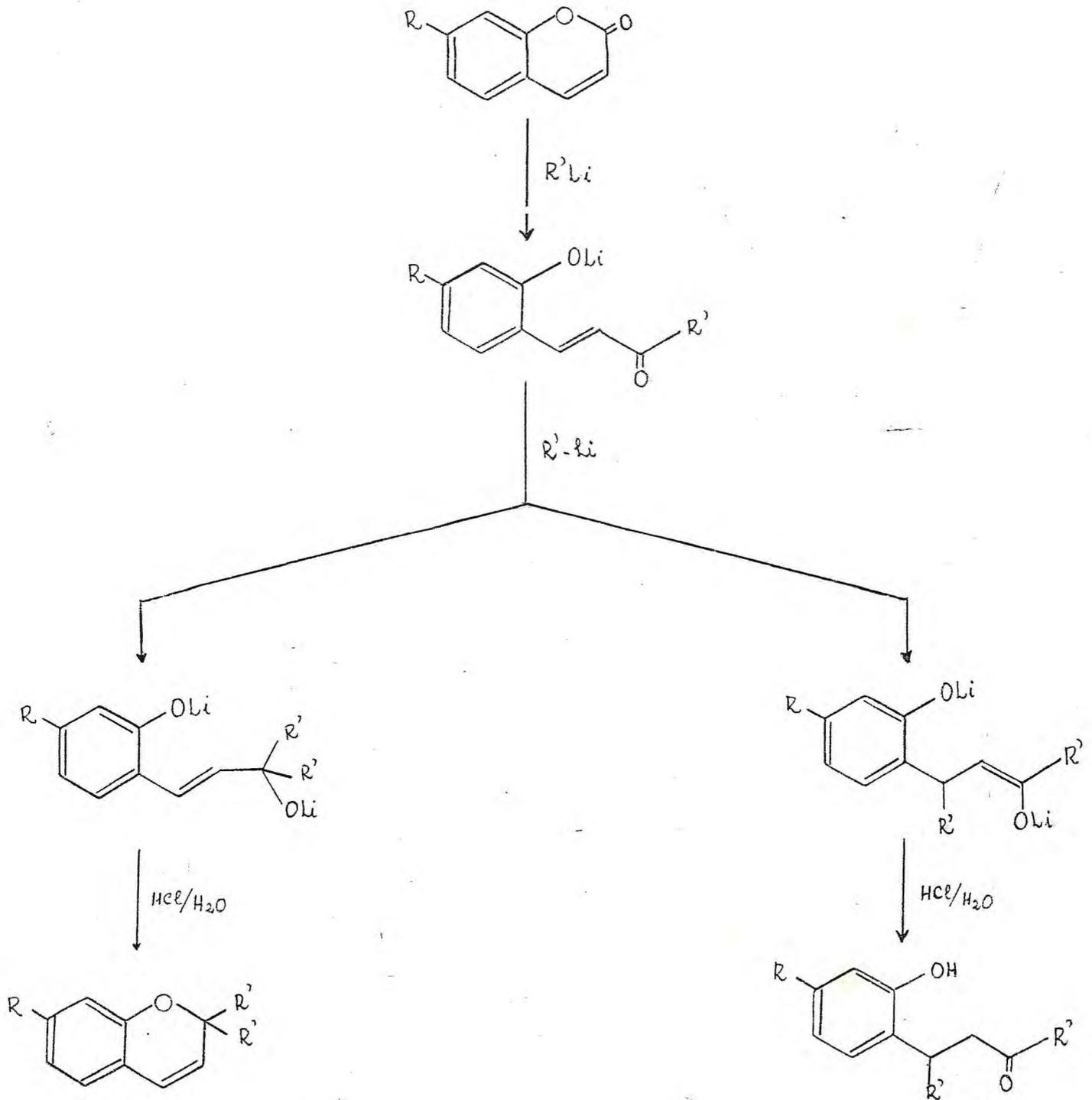
Os mesmos autores sugeriram o mecanismo mostrado abaixo:



Embora nas reações de cumarina com metilítio e butilítio não tenham sido detectados produtos resultantes da abertura do anel lactônico, a reação da cumarina com fenilítio e da 7-metoxicumarina com metilítio houve indicação destes produtos.

Sua formação poderia ser explicada admitindo o ataque inicial de um grupo (alquila ou fenila) à carbonila como já foi visto anteriormente seguindo-se a adição de outro a dupla ligação conjugada. Este produto foi realmente isolado (DC-3) apoiando-

do a proposta de mecanismo de reação que propõe a abertura do anel seguida do fechamento.



## 5. PARTE EXPERIMENTAL - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES FIXOS E VOLÁTEIS DE *Torresea cearensis* FR. ALLEM.

Em abordagem fitoquímica preliminar<sup>(6)</sup> tanto as cascas, como o lenho do tronco de *Torresea cearensis* Fr. Allem mostraram a presença de substâncias tais como cumarinas, saponinas, taninos, compostos alifáticos do tipo esteroidal e triterpenóides. A abordagem do lenho, apresentou resultados mais promissores motivando o estudo imediato desta parte do vegetal. Oito substâncias foram obtidas, cujo isolamento passamos a descrever.

### 5.1. OBTENÇÃO E ELABORAÇÃO DO EXTRATO CLOROFÓRMICO DO LENHO (ESQUEMA 01, PÁG.86).

A partir do lenho triturado e sêco, foi obtido o extrato clorofórmico por maceração e percolação a frio. O solvente foi eliminado em evaporador rotativo a vácuo, obtendo-se óleo espesso em rendimento de 2,5%.

O óleo obtido (90g) foi fracionado através de sílica gel (0,05-0,20mm Merck), colocada em funil de separação (coluna filtrante), na proporção de uma parte do extrato para aproximadamente duas a três partes de sílica. Eluiu-se inicialmente com benzeno e em seguida com misturas dos seguintes solventes: benzeno:cetona 70:30; clorofórmio:metanol 90:10; clorofórmio:metanol 75:25 e finalmente metanol puro.

#### 5.1.1. ELABORAÇÃO DO ELUATO BENZÊNICO

Do eluato benzênico, após evaporação do solvente, obteve-se

56g de um óleo amarelo. Observou-se que o eluato benzênico era constituído em sua maior parte por substâncias esteroidais detectadas através do teste de Liebermann-Buchard.

Saponificação deste óleo, conduziu a 35g de insaponificável e 21g de ácidos graxos. O insaponificável foi submetido a cromatografia em coluna de sílica gel, usando como eluentes éter de petróleo, benzeno, acetato de etila, acetona intercalados por suas misturas binárias.

As frações eluídas com benzeno:acetato de etila 95:5 forneceram 15g de material sólido, de natureza alifática. Duas destas frações, por apresentarem em camada delgada um razoável grau de pureza, foram posteriormente estudadas fornecendo duas substâncias puras que receberam as siglas TC-8 (p.f. 109,9-113,6°C) e TC-9 (p.f. 140-144°C).

#### 5.1.2. ELABORAÇÃO DO ELUATO BENZENO:ACETONA 70:30

Deste eluato, por recuperação do solvente, obteve-se um óleo espesso (18g) que depositou precipitado amarelado (1g). O precipitado foi decantado mecanicamente com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Várias tentativas de purificação desse precipitado por recristalização em etanol, metanol e dicloroetileno, foram inúteis. Por esse motivo, o material foi acetilado e o produto purificado em coluna cromatográfica em sílica gel. Algumas frações que apresentaram mais puras foram reunidas e recristalizadas

em hexano, fornecendo o acetato da substância que recebeu a sigla TC-1. O sobrenadante, forneceu novo precipitado (2g), que foi separado por filtração a vácuo e recristalizada em hexano. Comparação com TC-9 por cromatografia em camada delgada, mostrou a identidade das mesmas.

#### COLUNA CROMATOGRÁFICA DO SOBRENADANTE DO ELUATO BENZENO:ACETONA 70:30

Uma alíquota deste material foi cromatografada em coluna empacotada com sílica gel, usando-se como eluente inicial benzeno, seguido de acetona em gradiente de polaridade.

As frações menos polares foram reunidas (30mg) fornecendo uma substância cujo ponto de fusão 67-69°C indicou tratar-se de substância pura que recebeu a sigla TC-3.

Outras frações retiradas também com benzeno, foram reunidas (127mg) e recristalizadas em hexano conduzindo a uma substância que foi denominada TC-2, Os espectros de RMN<sup>1</sup>H e no infravermelho, mostraram tratar-se de um éster metílico. A substância foi então submetida a hidrólise alcalina obtendo-se o ácido correspondente, que foi denominado TC-2 ácido.

As frações eluídas com benzeno:acetona 90:30 foram reunidas (343mg). Análise por cromatografia em camada delgada, mostrou a existência de uma mistura de três substâncias. Uma delas, apresentando Rf semelhante a TC-1. Foram feitas várias tentativas de

purificação por recristalização, que não conduziram a pureza desejada. O material foi então acetilado e a mistura dos três acetatos, analisadas por RMN<sup>1</sup>H e espectrometria de massa, comprovando-se a presença de TC-1 e TC-4 (93,3%) substâncias isoméricas e TC-6 (6,7%).

Uma fração mais polar (101mg) foi recristalizada em clorofórmio e denominada TC-5.

5.1.3. ELUATO CLOROFÓRMIO:METANOL 90:10(3g); ELUATO CLOROFÓRMIO : METANOL 75:25 (1,8g) E ELUATO METANÓLICO (1g).

Nestes eluatos foram feitas várias tentativas de fracionamento, não se conseguindo nenhuma substância com grau de pureza satisfatório. O material foi reservado para futuros estudos.

5.1.4. MARCHA QUÍMICA PARA SEPARAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS

Como processo opcional de fracionamento, o extrato clorofórmico do lenho (12g) foi submetido a técnica "MARCHA QUÍMICA".

Das extrações com bicarbonato de sódio a 10% foi isolada uma substância sólida (10mg) idêntica a TC-5.

Das extrações com ácido clorídrico a 5%, foi separada uma fração que embora submetida a várias tentativas de purificação, não forneceu qualquer substância em grau de pureza satisfatório.

## 5.2. OBTENÇÃO E ELABORAÇÃO DOS EXTRATOS HEXÂNICO E EM ACETATO DE ETILA DAS SEMENTES(ESQUEMA 02, PÁG.87).

Das sementes, após serem trituradas foi feito o extrato hexânico em soxhlet e após evaporação do solvente, obteve-se um óleo amarelo cujo rendimento foi 25%. A torta foi extraída com acetato de etila, obtendo-se material semi-sólido em rendimento de 2,8%.

### 5.2.1. ELABORAÇÃO DO EXTRATO HEXÂNICO

Após evaporação do solvente obteve-se um óleo no qual houve cristalização de uma substância cujo rendimento foi 4%. Esta substância mostrou-se idêntica a TC-3.

O óleo (2g) foi preliminarmente submetido a arraste com vapor d'água para verificação da presença de constituintes voláteis. A parte fixa foi saponificada obtendo-se 45mg de insaponificável e 2g de ácidos graxos que foram identificados por comparação com os ésteres metílicos do azeite de oliva, através de CGL.

### 5.2.2. ELABORAÇÃO DO EXTRATO EM ACETATO DE ETILA

O extrato em acetato de etila (27g) foi separado em frações mais simples, através de uma coluna filtrante. Foram obtidos os seguintes eluatos: eluato clorofórmico(15g); eluato clorofór -

mio:metanol 5%(1g); eluato clorofórmio:metanol 20%(5g) e eluato metanólico(2g).

O eluato clorofórmico cristalizou em sua totalidade, for necendo TC-3 associada a algumas impurezas.

O eluato clorofórmio:metanol 5% foi submetido a cromato grafia em coluna de sílica gel. A coluna foi inicialmente eluída com clorofórmio aumentando-se progressivamente a polaridade com metanol até metanol puro. As frações retiradas com clorofórmio:metanol 0,5% foram reunidas e purificadas por cromatografia preparativa.

Foram separadas quatro faixas visíveis à luz ultra-violeta. Foi denominada F1 a substância menos polar e F2, F3 e F4, as subsequentes mais polares. Apenas F2 forneceu material puro. A es sa substância foi dada a denominação TC-7.

### 5.3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 5.3.1. ESPECTROMETRIAS

##### INFRAVERMELHO

Espectrômetro Zeiss-Jenna modelo UR20 dotado de registrador auxiliar, registrando-se entre  $700\text{cm}^{-1}$  e  $1.900\text{cm}^{-1}$  na velocidade de  $50\text{cm}^{-1}$  por minuto e entre  $1.900\text{cm}^{-1}$  e  $4.000\text{cm}^{-1}$  na velocidade de  $400\text{cm}^{-1}$  por minuto. Para substâncias sólidas foram utilizadas pastilhas de 150mg de KBr e 7mm de diâmetro com 1,5mg da substância problema. No caso das substâncias líquidas foi empregada a técnica de filme entre pastilhas de KBr de 25mm de diâmetro.

##### RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PROTÔNICA ( $\text{RMN}^1\text{H}$ )

Os espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  foram registrados em espectrômetro de 60MHz marca VARIAN, modelo EM-360 e aqueles em 100MHz em modelo XL-100 da VARIAN. Os deslocamentos químicos foram anotados em unidades  $\delta$  e as constantes de acoplamento em Hertz(Hz).

Foram utilizadas as seguintes abreviaturas: s= sinal simples; d= sinal suplo; dd= duplo sinal duplo; t= sinal triplo; bm= banda múltipla.

##### ESPECTROMETRIA DE MASSA ACOPLADA A CROMATOGRAFIA GÁS-LÍQUIDO

Espectrômetro de marca FINNIGAN 3.300 com dispositivo para amostras sólidas, acoplado a cromatógrafo de gás modelo 9500. Equipado com coluna capilar (30x0,25mm), usando-se injetor capilar  $t_i$

po GROB, com temperatura programada de 50 a 250°C/4°C por minuto.

### RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DO $^{13}\text{C}$

Os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  foram obtidos por cortezia do Departamento de Farmacognosia da Universidade do Mississippi, Estados Unidos.

### PONTO DE FUSÃO

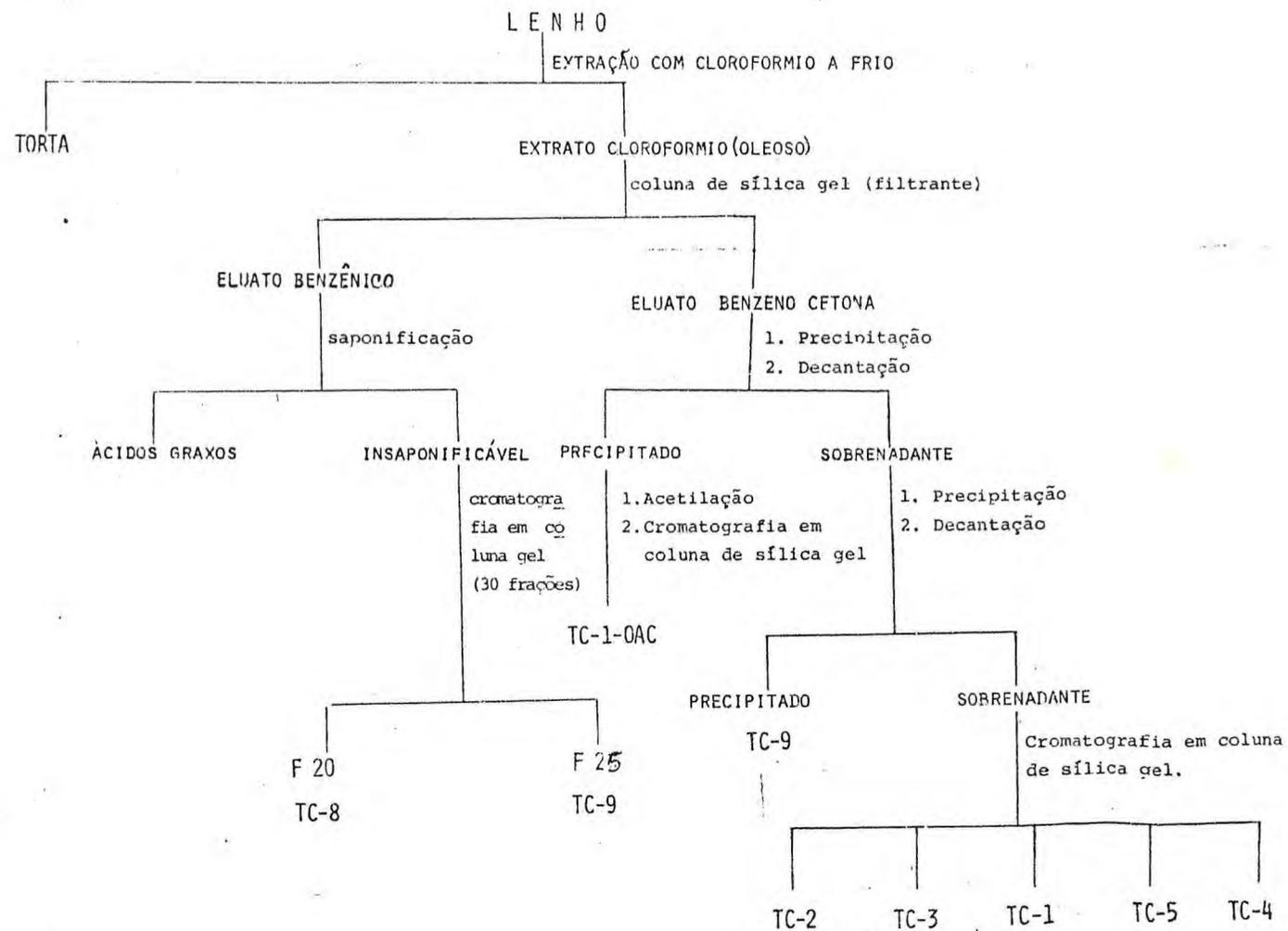
Os pontos de fusão foram determinados no aparelho de microdeterminação tipo KOFLER.

### 5.3.2. TESTE PARA COMPOSTOS CUMARÍNICOS<sup>(9)</sup>

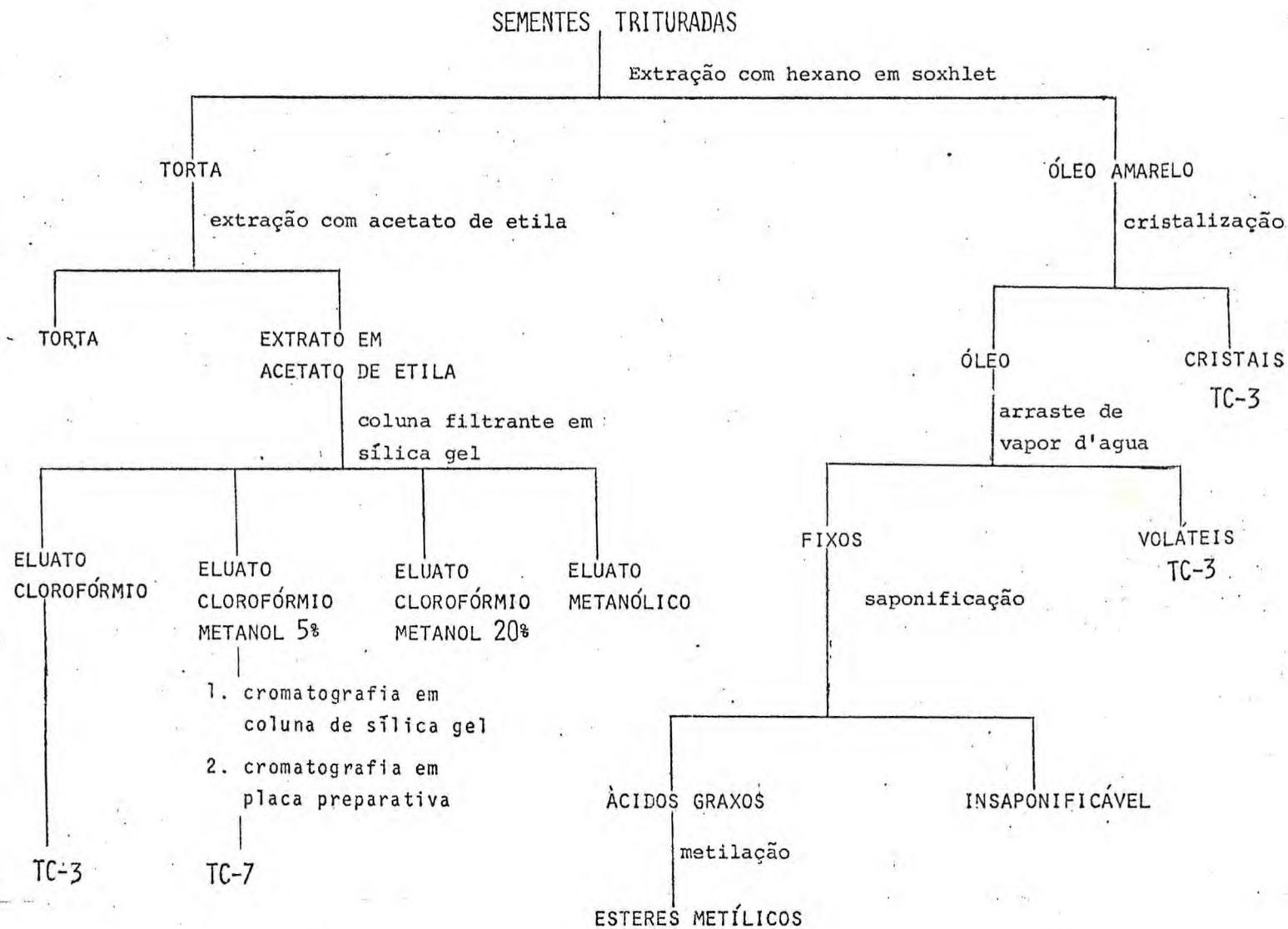
Sobre papel absorvente são colocadas duas gotas de solução em éter etílico, do material em exame. Sobre uma das manchas adiciona-se uma gota de solução de hidróxido de sódio a 5%. A metade das manchas foram cobertas com papel não transparente a luz e o conjunto submetido a luz ultravioleta. O aparecimento de fluorescência azul apenas na parte descoberta da mancha que contém NaOH, indica a presença de composto cumarínico.

A abertura do anel lactônico pela adição de NaOH permite isomerização da dupla ligação de cis para trans cumarato pela exposição a radiação ultravioleta.

ESQUEMA 01 - Fracionamento do extrato clorofórmico do lenho de *Torresea cearensis* Fr. Allem



ESQUEMA 02 - Tratamento das sementes de *Torresea cearensis*  
Fr. Allem.



6. CARACTERISTICAS FISICAS E QUIMICAS DAS SUBSTANCIAS ISOLADAS DE  
TORRESEA CEARENSIS FR. ALLEM E SEUS DERIVADOS.

6.1. TC-1 - OAC

(4',6-dimetoxi-7-acetoxiisoflavona)

Cristais brancos

P.f. 165-173°C (hexano)

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr cm}^{-1}}$

1777, 1665, 1623, 1528, 1505, 1479, 1442, 1382, 1353, 1304,  
 1288, 1252, 1223, 1193, 1173, 1108, 1063, 1033, 1023, 930,  
 870, 863, 828, 808, 793.

RMN<sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 60MHz)

7,95 (s, H-2), 7,75 (s, H-5), 7,28 (s, H-8), 6,95 (d, J9Hz ,  
 H-3' e H-5'), 7,47 (d, J9Hz, H-2' e H-6'), 3,88 (s, -OCH<sub>3</sub> ),  
 3,95 (s, -OCH<sub>3</sub>), 2,41 (s, CH<sub>3</sub>C=O).

MASSA

M<sup>+</sup>340 dalton

m/z (%) 298 (100), 166 (33,3), 132 (69,4)

## 6.2. TC-2

(3,4-dimetoxicinamato de metila)

Cristais brancos

P.f. 68-69°C (hexano)

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 

3381, 2956, 1686, 1623, 1588, 1493, 1450, 1246, 1136.

RMN<sup>1</sup>H ( $\delta$ , CDCl<sub>3</sub>, 60MHz)7,60 (d, J16Hz, Hb), 6,25 (d, J16Hz, Ha), 6,80 (b.m., He, Hd e He), 3,75 (s, OCH<sub>3</sub>), 3,85 (s, 2OCH<sub>3</sub>).

MASSA

M<sup>+</sup> 222 dalton

m/z (%) 208 (14,2), 191 (24,8)

## 6.3. TC-2-hidrolisado

(ácido trans 3,4-dimetoxicinâmico)

Cristais brancos

P.f. 181-184°C

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 2970, 2870, 2500 a 2700, 1690, 1640, 1610, 1530, 1479, 1445 ,  
1820, 1150, 1040.

TC-2-hidrolisado

RMN<sup>1</sup>H (s, CDCl<sub>3</sub>, 60MHz)

6,35 (d, J16Hz, Ha), 7,65 (d, J16Hz, Hb), 7,50-7,25 (b.m. protons aromáticos), 3,85 (s, 20CH<sub>3</sub>)

#### 6.4. TC-3

(cumarina)

Cristais brancos

P.f. 67-68°C (hexano)

I.V. coincidente com os dados da literatura<sup>(10)</sup>

RMN<sup>1</sup>H coincidente com os dados da literatura<sup>(11)</sup>

Oxidação da cumarina (TC-3) com persulfato de potássio<sup>(17)</sup>

A uma solução de 1g de cumarina em 80ml de acetona' e 50ml de água, juntou-se 6ml de uma solução aquosa de KOH 2N. So<sub>l</sub>ução aquosa saturada de persulfato foi gotejada sobre a mistura vagarosamente e com agitação, de modo que o tempo necessário pa-  
ra adicionar o volume adequado<sup>(17)</sup> foi de 8 horas.

A solução foi reduzida ao volume de 50ml, por desti<sub>l</sub>ação do solvente em evaporador rotativo, acidificada e extraída com éter sulfúrico. Evaporando o solvente, obteve-se um resíduo que mostrou a presença da 6-hidroxycumarina, por comparação pelo processo de cromatografia em camada delgada, com amostra do pro-  
duto natural, isolado da planta.

## 6.5. TC-4

7-hidroxi-8,4'-dimetoxiisoflavona (8-O-metilretusina)  
Cristais brancos, P.f. 118-120°C (acetato)

U.V.  $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$  (nm): 211, 260, 329

$\lambda_{\max}^{\text{MeOH} + \text{NaOAc}}$  (nm) : 222, 284, 351

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3375, 3000, 2910, 1623, 1530, 1465, 1450, 1339,  
1300, 1264, 1225, 1200, 1195, 1110, 1050, 1020,  
919, 860.

RMN  $^1\text{H}$  (100MHz)  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  (acetato)

8,03 (s, H-2), 8,03 (d, J8Hz, H-5), 7,12 (d, J8Hz, H-6), 7,48 (J8Hz,  
H-2' e H-6'), 6,98 (d, J8Hz, H-3' e H-5), 3,86 (s,  $\text{CH}_3$ -O-4'), 4,04  
(s,  $\text{CH}_3$ -O-8'), 2,42 (s,  $\text{CH}_3$ - $\overset{\text{O}}{\text{C}}$ -)

Sinais referentes a TC-1 na mistura:

7,97 s, 7,76s; 3,96s; 2,38s.

MASSA

$M^+$  298 (100%) e  $M^+$  328 (4,3%)

m/z (%): 297 (32,2), 283 (11,8); 268 (6,7); 255 (9,7); 166  
(42,7); 138 (49,3), 123 (25,1)

## 6.6. TC-5

Ácido vanílico (ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico)

Cristais brancos

P.f. 211-212°C (benzeno:metanol)

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$

3508, 3183a, 2483, 1683, 1602, 1523, 1293, 1243, 1204, 1123,  
1042.

TC-5

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>)<sub>2</sub> CO(δ)

7,57 (dd, J8Hz e 2Hz), 6,85 (d, J8Hz), 7,56 (s.), 3,85 (s),  
4,90 (s).

MASSA

M<sup>+</sup> 168 (100%)

m/z (%): 153 (80), 151 (20), 125 (40), 123 (10), 97 (60).

## 6.7. TC-7

6-hidrocurmarina

P.f. 250-255°C

U.V. λ<sub>max</sub><sup>MeOH</sup> nm:

220, 267, 231

U.V. λ<sub>max</sub><sup>MeOH+NaOAc</sup> nm

227, 277, 345

I.V. ν<sub>max</sub><sup>KBr</sup> cm<sup>-1</sup>

3238, 3032, 1683, 1625, 1578, 1425, 1383, 1323.

RMN<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub> CO(δ)

7,85 (d, J9Hz), 6,91 (d, J9Hz), 7,03 a 7,17 (b.m. 3H aromáticos)

TC-7

MASSA

 $M^+$  162 (19,8%)

m/z (%): 161 (100), 134 (17,6), 133 (82,6), 105 (12,6), 78 (13).

6.8. TC-8

24-metilenocicloartanol

sólido branco

P.f. 110-113°C

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$ 

3400, 3000, 1640, 1500, 1420, 1339, 1145, 1095, 1070, 1042, 930.

RMN<sup>1</sup>H (60MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ )4,7 (m, C=C), 3,3 (m, 1H), 1,1 a 0,8 (7, CH<sub>3</sub>), 0,34 (d, 1H), 0,56 (d, 1H)RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ )

32,1 (C-1), 30,4 (C-2), 79,0 (C-3), 40,6 (C-4), 47,3 (C-5), 21,2 (C-6), 28,1 (C-7), 48,0 (C-8), 19,4 (C-9), 26,1 (C-10), 26,3 (C-11), 36,2 (C-12), 45,5 (C-13), 48,9 (C-14), 33,1 (C-15), 26,7 (C-16), 52,4 (C-17), 18,4 (C-18), 29,9 (C-19), 35,2 (C-20), 18,0 (C-21), 35,7 (C-22), 31,5 (C-23), 156,9 (C-24), 33,9 (C-25), 21,9 (C-26), 22,0 (C-27), 19,4 (C-28), 25,5 (C-29), 14 (C-30), 106 (C-31)

TC-8

## MASSA

 $M^+$  440 (9,2%)

m/z (%): 425 (6,5), 422 (12,8), 407 (8,4), 379 (7,1), 300 (18),  
 259 (6,9), 229 (8,4), 220 (7,1), 219 (8,8), 218 (10), 217 (17,6)  
 216 (28,9), 215 (11,1), 205 (9,6), 204 (13,4), 203 (27), 202  
 (13,2), 201 (25,8), 191 (7,5), 190 (6,9), 189 (19,3), 188 (9,8)  
 187 (22,4), 185 (19,1), 177 (19,1), 176 (10,9), 175 (40,1) ,  
 174 (14,9), 173 (41,3), 171 (7,7), 163 (28,7), 162 (13,6), 161  
 (43,4), 160 (15,8), 159 (34), 157 (9,2), 151 (7,7), 150 (10,9),  
 149 (37,6), 148 (27,3), 147 (60,7), 145 (32,1), 137 (23,1) ,  
 135 (68,2), 134 (41,5), 133 (60,7), 132 (17,2), 131 (27,5), 123  
 (53,9), 121 (77,9), 120 (27,7), 119 (68,2), 117 (19,7), 111 (15,5)  
 110 (13,4), 109 (93,4), 108 (34,2), 107 (100).

## 6.9. DC-1

(2,2-dimetilcromeno) substância líquida incolor

RMN<sup>1</sup>H (CDC<sub>3</sub>,  $\delta$ )

7,12 a 6,48 (b.m. 4 protons aromáticos), 6,25 (d, J8Hz), 5,49  
 (d, J8Hz), 1,45 (s, 2CH<sub>3</sub>).

## MASSA

 $M^+$  160 (16%)

m/z (%): 145 (100), 155 (33).

## 6.10. DC-2

(2,2-dibutilcromeno) líquido de coloração amarelada.

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$

3100, 2975, 2925, 1645, 1604, 1581, 1485, 1460, 1381, 1310,  
1240, 1180, 1122, 1039, 1003, 925.

RMN<sup>1</sup>H (60MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ )

7,1 a 6,6 (b.m. 4 protons aromáticos), 6,25 (d, J8Hz), 5,35  
(d, J8Hz), 1,8 a 0,7 (b.m. 2C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>).

MASSA

M<sup>+</sup> 244 (10%)

m/z (%): 188 (40), 187 (100), 157 (29), 145 (60), 144 (70),  
131 (45), 120 (55), 107 (18), 91 (20), 77 (20).

## 6.11. DC-3

1,3-difenil-3-(2-hidroxifenil)-propan-1-ona

sólido branco

P.f. 172-175°C

I.V.  $\nu_{\max}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$

3434, 3123, 1673, 1602, 1501, 1454, 1413, 1354, 1226, 1084,  
746.

DC-3

RMN<sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub> CO + CDCl<sub>3</sub>, δ)

8,00 a 6,50 (b.m. 14 protons aromáticos), 5,10 (t, J6Hz, CH) ,  
 3,69 (d, J6Hz, CH<sub>2</sub>), 2,9 (s, O-H), ..

MASSA

M<sup>+</sup> t02 (15%)

m/z (%): 197 (16), 196 (23), 183 (52), 182 (12), 181 (52) ,  
 165 (30), 153 (15), 152 (22), 105 (55), 77 (100).

6.12. DC-4

(7-metoxi-2,2-dimetilcromeno)

PRECOCENO I

Identificado por CGL acoplado a espectrometria de massa.

MASSA

M<sup>+</sup> 190 (15%)

m/z (%): 176 (14), 175 (100), 160 (16), 132 (27).

6.13. DC-5

4 (2'-hidroxi-4'-metoxifenil)-pentan-2-ona

Identificado por CGL acoplado a espectrometria de massa.

MASSA

M<sup>+</sup> 208 (12%)

m/z (%): 190 (10), 175 (100), 151 (85), 43 (37).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. LIBERALI, C.H. & LIMA, L. Rev. Chim. Ind., 86: 275 (1939)
02. BERGER, F. Schientia Pharm., 11: 122 (1938).
03. FREISE, F.W. Perfumery Essent. Oil. Rec., 25:39 (1934).
04. BRAGA, R. Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará, Mossorô, Escola de Agricultura de Mossorô (1976).
05. JURD, L., STEVENS, K., MANNERS, G. Phytochemistry, 11: 2535 (1972).
06. GALINA, E. & GOTTLIEB, O.R. Phytochemistry, 13:2593 (1974).
07. HAYASHI, T. & THOMSON, R.H. Phytochemistry, 13:1934 (1974).
08. MADRUGA, M.I.L. M. Estudo Químico de Myroxylon balsamum (L) Harms, Belo Horizonte, UFMG, 1974 (Tese de Doutorado).
09. COSTA, A.F. Farmacognosia (Farmacognosia Experimental) Lisboa, Fundação Calouste/Gulbenkian, vol.3 (1970).
10. POUCHERT, C.J. The Aldrich Infrared Spectra, 2ed. (1975).
11. POUCHERT, C.J. & CAMPBELL, J.R. The Aldrich Library of NMR Spectra (1974).
12. KLOSTERMAN, H.J. & MUGGLI, R.Z. J. American Chem. Soc., 81: 2188 (1959).
13. DAS GRUPTA, A. K. & CHATTERGE, R.M. Tetrahedron Lett., 4463 (1968).
14. BOHME, H. Ber. 72B: 2130 (1939). In C.A. 34:3252<sup>7</sup>
15. CRAMER, F.D. & WINDEL, H. Ber., 89: 354 (1956). In C.A. 50: 13.895c.
16. SILVA, L.G.F. e. Estudo Químico do Platymiscium praecox Mart. Belo Horizonte, UFMG, 1973 (Tese de Doutorado).

17. FIESER & FIESER, Reagents for Organic Synthesis. London, John Wiley and Sons, Inc. 1967.
18. SOUSA, M.P. de., Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste. *Guettarda angelica* Mart. Fortaleza, UFC, 1981 (Dissertação de Mestrado).
19. APLIN, R. T. & HORNBY, G.M. J. Chem. Soc.(B), 1078 (1976).
20. AUDIER, H.E., BEUGELMANS, R., DAS, B.C. Tetrahedron Letters, 4341 (1966).
21. EKONG, D.E.U., OLAGBEMI, E.O., SPIFF, Mrs. A.I. Chem. and Ind. 51:1808 (1968).
22. CHANG, C.W. et alii FLAMENT, I., MATSON, J.A., NISHITA, T., OHIOSS, G., WEHRLI, S.W., WEINHEIMER, A.J. Progress in Chemistry of Organic Compounds, N. York (1979), vol.36.
23. BEZERRA, P. Informação pessoal.
24. GREGER, H. & ERNET D. Phytochemistry, 12(5):1693 (1973).
25. BROWN, M.P., THOMPSON, R. H., HOUSEN, B.M., SIMATUPIANG, M. H. Ann. Chem., 8:1295 (1974). In C.A. 82:14027u.
26. DEWICK, P.M. Phytochemistry, 14: 379 (1975).
27. DEWICK, P.M. & MARTIN, M. Phytochemistry, 18:597 (1979).
28. OLIVEIRA, A.B. de., MADRUGA, M.I.L.M., GOTTLIEB, O.R. Phytochemistry, 17(2):593 (1978).
29. AL-ANI, H.A. M. & DEWICK, P.M. Phytochemistry, 19(11): 2337 (1980).
30. MARKHAM, K.R. Phytochemistry, 12(5):1081 (1973).
31. OLIVEIRA, A.B. de., MADRUGA, M.I.L.M., GOTTLIEB, O.R. Phytochemistry, 17(3): 593 (1978).

32. GIULIANO, D.M., FRANCO, D.M., MARINE-BERTOLO, G.B. Gazz. Chim. Ital., 107, 189 (1977).
33. FLEMING, I. & WILLIAMS, D.M., Metodos Espectroscópicos en Química Orgânica, Ed. URMO S.A., Espartero, Bilbao, p.131 (1974).
34. HARBORNE, J.B., GOTTLIEB, O.R., MAGALHÃES, M.T. J. Org. Chem. 28(3): 881 (1963).
35. GOTTLIEB, O.R. & MAGALHÃES, M.T. Anais da Associação Brasil. Quim. 18: 89 (1959).
36. HARBORNE, J.B. & WILLIAMS, C.A. Phytochemistry, 10(2), 367 , (1971).
37. BENDZ, G. & SANTESSON, J. Medicine and Natural Sciences Chemistry in Botanical, Academic Press, p.1013 (1973).
38. MARINE-BERTÓLO, G.B. Natural Products of Plants. Elsevier, p. 129 (1970).
39. SMITH, L.I. & RUOFF, P.M., J. Am. Chem. Soc., 62:145 (1940).
40. GILMAN, H., ZOELLNER, E.A., SELBY, W. M., J. Amer. Chem. Soc. 55:1252 (1933).
41. BARNES, C.S. & STRONG, M.I. Tetrahedron, 19:839 (1963).
42. VOGEL, A.I. Química Orgânica (Análise Orgânica Qualitativa), Rio de Janeiro, Ed. Ao Livro Técnico S.A. 1978, v.1.
43. SHRINER, R.L. & SHARP, A.G. J. Org. Chem. 4:575 (1932).