

ROSÉLIA DE SOUSA LEAL

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO DE PLANTAS  
DO NORDESTE: Plathymenia reticulata Benth  
e Cochlospermum regium Mart.

Dissertação submetida a Coordenação do Curso  
de Pós-Graduação em Química Orgânica para a  
obtenção do Grau de Mestre.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - CEARÁ

1 9 8 9

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

Rosélia de Souza Leal

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 07 / 07 / 1989

Prof. Edilberto Rocha Silveira  
Orientador

Profa. Maria Iracema L. Machado  
Universidade Federal do Ceará

Prof. Francisco José de Abreu Matos  
Universidade Federal do Ceará

Prof. José Maria Barbosa Filho  
Laboratório de Tecnologia Farmacêutica - Universidade Federal da Paraíba.

À minha Mãe, pelo exemplo  
de vida e dedicação.

À Vandick e nossos filhos  
Stella Rosa, Wandick e  
Maristella.

Este trabalho foi realizado sob a orientação dos Profs. EDILBERTO ROCHA SILVEIRA e MARIA IRACEMA L. MACHADO, do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará.



## AGRADECIMENTOS

Aos Professores MARIA IRACEMA L.MACHADO e EDILBERTO ROCHA SILVEIRA, pela valiosa orientação durante a realização deste trabalho.

Aos demais professores do Curso de Pós-Graduação pela contribuição na nossa formação acadêmica.

À Professora TEREZA NEUMA DE CASTRO DANTAS (UFRN), pela amizade e confiança que motivaram a continuação deste trabalho.

Aos Professores FRANCISCO J.A.MATOS (Departamento de Química,UFC) e AFRÂNIO GOMES FERNANDES (Departamento de Biologia, UFC), pela coleta e classificação botânica das espécies estudadas.

Ao Professor RAIMUNDO BRAZ FILHO pela valiosa ajuda na interpretação dos Espectros dos Flavonóides.

Aos pesquisadores EMÍDIO CUNHA (LTF, UFPb) e JOSÉ AUGUSTO DA SILVA CABRAL (Universidade do Mississippi,EUA), pela obtenção de dados espectrométricos, e ao Professor JAMES Mc CHESNEY pela utilização da Central Analítica e obtenção de dados antimicrobianos.

Aos colegas de Pós-Graduação pela amizade demonstrada.

Aos colegas funcionários do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, pela colaboração na parte experimental deste trabalho.

# LISTA DE FIGURAS

|                                                                   | Pág. |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| FIGURA 01 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-1 .....          | 23   |
| FIGURA 02 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (PND) de PRLH-1 ..... | 23   |
| FIGURA 03 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-1/H .....        | 26   |
| FIGURA 04 - Espectro no I.V. de PRLH-1/H .....                    | 26   |
| FIGURA 05 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (PND) de PRLH-1/H ... | 28   |
| FIGURA 06 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (APT) de PRLH-1/H ... | 28   |
| FIGURA 07 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-1/Ha .....       | 32   |
| FIGURA 08 - Espectro de Massa de PRLH-1/Ha .....                  | 32   |
| FIGURA 09 - Espectro no I.V. de PRLH-1/Hb .....                   | 35   |
| FIGURA 10 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-1/Hb .....       | 35   |
| FIGURA 11 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (PND) de PRLH-1/Hb .. | 37   |
| FIGURA 12 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (APT) de PRLH-1/Hb .. | 37   |
| FIGURA 13 - Espectro no I.V. de PRLH-1/Ox .....                   | 39   |
| FIGURA 14 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-1/Ox .....       | 39   |
| FIGURA 15 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (PND) de PRLH-1/Ox .. | 40   |
| FIGURA 16 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (APT) de PRLH-1/Ox .. | 40   |
| FIGURA 17 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-2 .....          | 48   |
| FIGURA 18 - Espectro no I.V. de PRLH-2 .....                      | 48   |
| FIGURA 19 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (PND) de PRLH-2 ..... | 55   |
| FIGURA 20 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-2/Ha .....       | 55   |
| FIGURA 21 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (PND) de PRLH-2/Ha .. | 56   |
| FIGURA 22 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (APT) de PRLH-2/Ha .. | 56   |
| FIGURA 23 - Espectro no I.V. de PRLH-3 .....                      | 61   |
| FIGURA 24 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-3 .....          | 61   |
| FIGURA 25 - Espectro de PMN $^{13}\text{C}$ de PRLH-3 .....       | 63   |

|                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 26 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (APT) de PRLH-3 .....      | 63  |
| FIGURA 27 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-3/Ha .....            | 69  |
| FIGURA 28 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-3/Hb .....            | 73  |
| FIGURA 29 - Espectro no I.V. de PRLH-3/Hb .....                        | 73  |
| FIGURA 30 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-3/ $\text{E}_1$ ..... | 75  |
| FIGURA 31 - Espectro no I.V. de PRLH-3/ $\text{E}_1$ .....             | 75  |
| FIGURA 32 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-3/ $\text{E}_2$ ..... | 76  |
| FIGURA 33 - Espectro no I.V. de PRLH-3/ $\text{E}_2$ .....             | 76  |
| FIGURA 34 - Espectro no I.V. de PRLH-5 .....                           | 82  |
| FIGURA 35 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-5 .....               | 82  |
| FIGURA 36 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (ADEPT) de PRLH-5 ...      | 85  |
| FIGURA 37 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (75 MHz) de PRLH-5 ..      | 85  |
| FIGURA 38 - Espectro no I.V. de PRLH-5/R .....                         | 88  |
| FIGURA 39 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-5/R .....             | 88  |
| FIGURA 40 - Espectro de RMN Bidimensional (HETCOR) de<br>PRLH-5 .....  | 92  |
| FIGURA 41 - Espectro de RMN Bidimensional (COSY) de<br>PRLH-5 .....    | 92  |
| FIGURA 42 - Espectro no I.V. de PRLH-6 .....                           | 96  |
| FIGURA 43 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de PRLH-6 .....               | 96  |
| FIGURA 44 - Espectro no I.V. de CR-1 .....                             | 136 |
| FIGURA 45 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de CR-1 .....                 | 136 |
| FIGURA 46 - Espectro no I.V. de CR-3 .....                             | 140 |
| FIGURA 47 - Espectro no U.V. de CR-3 .....                             | 140 |
| FIGURA 48 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de CR-3 .....                 | 142 |
| FIGURA 49 - Espectro de massa de CR-3 .....                            | 142 |
| FIGURA 50 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ de CR-4 .....                 | 144 |
| FIGURA 51 - Espectro no I.V. de CR-4 .....                             | 145 |
| FIGURA 52 - Espectro no I.V. de CR-4-OMe .....                         | 145 |



|                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 53 - Espectro no I.V. de CR-5 .....                    | 148 |
| FIGURA 54 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de CR-5-OAc .....  | 148 |
| FIGURA 55 - Espectro de massa de CR-5 .....                   | 150 |
| FIGURA 56 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de CR-5-OMe .....  | 151 |
| FIGURA 57 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de CR-5-OAc ..... | 151 |
| FIGURA 58 - Espectro no U.V. de CR-6 .....                    | 158 |
| FIGURA 59 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de CR-6 .....      | 158 |
| FIGURA 60 - Espectro no I.V. de CR-6 .....                    | 159 |
| FIGURA 61 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de CR-6-OAc .....  | 159 |
| FIGURA 62 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C de CR-6 .....     | 161 |
| FIGURA 63 - Espectro de massa de CR-6 .....                   | 161 |
| FIGURA 64 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de CR-7-OAc .....  | 169 |
| FIGURA 65 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de CR-8-OAc .....  | 169 |
| FIGURA 66 - Espectro de massa de CR-7-OAc .....               | 170 |
| FIGURA 67 - Espectro de massa de CR-8-OAc .....               | 171 |

# LISTA DE TABELAS

| <u>TABELA</u>                                                                                                  | Pág. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 01 - Ação farmacológica de alcalóides do gênero <u>Erythrophleum</u> .....                                     | 17   |
| 02 - Dados de RMN <sup>1</sup> H de <u>PRLH-1</u> e derivados .....                                            | 29   |
| 03 - Dados de RMN <sup>13</sup> C de <u>PRLH-1</u> e derivados .....                                           | 30   |
| 03a- Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C do derivado do <u>PRLH-1/Ox</u> e modelos da literatura ..... | 43   |
| 04 - Resultado do teste de atividade antibactéria de <u>PRLH-1</u> e derivados .....                           | 45   |
| 05 - Resultado do teste de atividade antifúngica de <u>PRLH-1</u> .....                                        | 46   |
| 06 - Dados de RMN <sup>1</sup> H de <u>PRLH-2</u> e <u>PRLH-2/Ha</u> .....                                     | 51   |
| 07 - Dados de RMN <sup>13</sup> H de <u>PRLH-2</u> e <u>PRLH-2/Ha</u> .....                                    | 52   |
| 08 - Resultados do teste de atividade antibactéria de <u>PRLH-2</u> e <u>PRLH-2/Ha</u> .....                   | 58   |
| 09 - Resultado do teste de atividade antifúngica de <u>PRLH-2</u> e <u>PRLH-2/Ha</u> .....                     | 59   |
| 09a- Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de <u>PRLH-3</u> e modelos da literatura .....                | 65   |
| 10 - Dados de RMN <sup>1</sup> H de <u>PRLH-3</u> e derivados .....                                            | 71   |
| 11 - Resultados do teste de atividade antibactéria de <u>PRLH-3</u> .....                                      | 78   |
| 12 - Resultado do teste de atividade antifúngica de <u>PRLH-3</u> .....                                        | 79   |
| 13 - Comparação dos dados de RMN <sup>1</sup> H de <u>PRLH-5</u> , <u>PRLH-6</u> e produto de redução .....    | 89   |

|                                                                                                                                                               |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 14 - Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de <u>PRLH-1</u> , <u>PRLH-1/R</u><br>e <u>PRLH-5</u> .....                                                  | 90  |
| 15 - Resultado do teste de atividade antibactéria de<br><u>PRLH-3</u> e seu produto de redução .....                                                          | 93  |
| 16 - Resultado do teste de atividade antifúngica de<br><u>PRLH-5</u> e seu produto de redução .....                                                           | 94  |
| 17 - Comparação dos espectros de RMN <sup>13</sup> C da porção cina<br>moíla do derivado <u>CR-5-OAc</u> e o ácido <u>para-hidrox</u><br><u>inâmico</u> ..... | 153 |
| 18 - Comparação dos dados de RMN <sup>1</sup> H de <u>CR-5-OAc</u> e ery-<br>trinasinato acetilado .....                                                      | 154 |
| 19 - Dados de RMN <sup>1</sup> H de <u>CR-6</u> e <u>CR-6-OAc</u> .....                                                                                       | 163 |
| 20 - Comparação dos dados de RMN <sup>13</sup> C de <u>CR-6</u> e naringe-<br>nina .....                                                                      | 164 |



ESQUEMA

|                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 01 - Derivados de PRLH-1 .....                                                                               | 25  |
| 02 - Principais caminhos de fragmentação de<br>PRLH-1/Ha no espectrômetro de massa .....                     | 33  |
| 03 - Derivados de PRLH-2 .....                                                                               | 54  |
| 04 - Principais caminhos de fragmentação de PRLH-3<br>no espectrômetro de massa .....                        | 66  |
| 05 - Derivados de PRLH-3 .....                                                                               | 68  |
| 06 - Principais caminhos de fragmentação de<br>PRLH-3/Ha no espectrômetro de massa .....                     | 70  |
| 07 - Principais caminhos de fragmentação de<br>PRLH-3/E <sub>1</sub> no espectrômetro de massa .....         | 77  |
| 08 - Principais caminhos de fragmentação de<br>PRLH-5 no espectrômetro de massa .....                        | 84  |
| 09 - Derivados de PRLH-5 e PRLH-6 .....                                                                      | 87  |
| 10 - Principais caminhos de fragmentação de PRLH-6<br>no espectrômetro de massa .....                        | 98  |
| 11 - Isolamento dos constituintes químicos do extra<br>to hexânico do lenho de <u>P.reticulata</u> .....     | 105 |
| 12 - Outro isolamento dos constituintes químicos do<br>extrato hexânico do lenho de <u>P.reticulata</u> .... | 115 |
| 13 - Principais caminhos de fragmentação de CR-1 no<br>espectrômetro de massa .....                          | 138 |
| 14 - Principais caminhos de fragmentação de CR-5 no<br>espectrômetro de massa .....                          | 156 |
| 15 - Principais caminhos de fragmentação de CR-5-OMe<br>no espectrômetro de massa .....                      | 157 |

|                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 16 - Principais caminhos de fragmentação de CR-6 no espectômetro de massa .....                                       | 165 |
| 17 - Principais caminhos de fragmentação de CR-7-OAc no espectômetro de massa .....                                   | 173 |
| 18 - Principais caminhos de fragmentação de CR-8-OAc no espectômetro de massa .....                                   | 174 |
| 19 - Isolamento dos constituintes químicos da casca do caule de <u>Cochlospermum regium</u> - Extrato Benzenico ..... | 176 |
| 20 - Isolamento dos constituintes químicos da casca do caule de <u>Cochlospermum regium</u> - Extrato Etanólico ..... | 179 |
| 21 - Saponificação da fração éter de petróleo ( <u>CR-EB-1</u> ).....                                                 | 181 |
| 22 - Material residual da reextração a frio do extrato etanólico da casca do caule <u>Cochlospermum regium</u> .....  | 185 |
| 23 - Biossíntese de Flavonóides .....                                                                                 | 192 |
| 24 - Biossíntese de diterpenos do tipo cassânico ..                                                                   | 194 |
| 25 - Biossíntese de diterpenos do tipo clerodano ..                                                                   | 195 |

## LISTA DE QUADROS

| <u>QUADRO</u>                                                                                                                            | Pág. |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 01 - Substâncias relatadas na literatura obti-<br>das de várias espécies do gênero <u>Cochlos</u><br><u>permum</u> .....                 | 04   |
| 02 - Diterpenos cassânicos relatados na lite-<br>ratura como principais constituintes das<br>espécies do gênero <u>Plathymenia</u> ..... | 13   |
| 03 - Diterpenos cassânicos que apresentam ati-<br>vidade farmacológica.....                                                              | 13   |

## R E S U M O

O trabalho descrito nesta dissertação refere-se ao estudo químico de duas espécies vegetais: Plathymenia reticulata e Cochlospermum regium, popularmente conhecidas como Acende-candeia e Pacotê, respectivamente.

O fracionamento cromatográfico, em sílica gel, do extrato hexânico de P. reticulata resultou no isolamento de substâncias caracterizadas como diterpenos do tipo cassânico: PRLH-1, PRLH-2, PRLH-5 e PRLH-6, além das substâncias PRLH-3 e PRLH-4.

O fracionamento cromatográfico, também em sílica gel, do extrato benzênico de C. regium resultou no isolamento de quatro substâncias: CR-1, CR-2, CR-3 e CR-4. Enquanto que o fracionamento cromatográfico do extrato etanólico forneceu outras quatro substâncias identificadas como: CR-5, CR-6, CR-7-OAc e CR-8-OAc.

Dentre as substâncias isoladas das duas espécies, quatro PRLH-5, PRLH-6, CR-5 e CR-8-OAc, são descritas pela primeira vez na literatura.

As substâncias PRLH-1, PRLH-2, PRLH-3, PRLH-5 e PRLH-6 foram submetidas a testes de atividade antimicrobiana não apresentando nenhuma atividade significativa.

Nas determinações estruturais foram utilizados métodos espectrométricos (U.V., I.V., RMN<sup>13</sup>C, RMN<sup>1</sup>H e massa), na análise dos produtos naturais e seus derivados químicos reacionais, comparação das propriedades físicas com dados da literatura e, quando possível, comparação direta com amostras autênticas por cocromatografia e ponto de fusão misto.



## ABSTRACT

This work describes the phytochemical study of Plathymenia reticulata (leguminosae) and Cochlospermum regium popularly known as "acende candeia" and "pacotê", respectively.

Chromatographic analysis on silica-gel of hexane extractives from the heartwood of P. reticulata yielded four cassane diterpenes: PRLH-1, PRLH-2, PRLH-5 and PRLH-6 characterized as methyl vinhaticoate, vinhaticyl acetate, 16, 18 - diacetoxycass-13 (15) ene, and 16-hydroxy-18-acetoxycass - 13 (15) ene, respectively .

Silica-gel fractionation of the benzene extract from the heartwood of C. regium allowed the isolation of four substances: CR-1, CR-2, CR-3 and CR-4, characterized as  $\beta$  -sitosterone,  $\beta$  -sitosterol, 3,5,4'-trihydroxy-7,3'-dimethoxy flavone and galic acid, respectively, while the ethanol extract yielded CR-5, CR-6, CR-7-OAc and CR-8-OAc characterized as triacontanyl p-hydroxy-cinnamate, 5,7,4'-trihydroxyflavone , narigenin 7-O-glucoside and naringenin 4'-O-glucoside respectively.

Four out of those substances PRLH-5, PRLH-6, CR-5 and CR-8, are described for the first time in the literature.

Qualitative antimicrobial assay was accomplished for all terpenes from P. reticulata but no significant activity have been observed.

Structure determination was accomplished by chemical methods and by spectroscopic analysis (UV,IR, mass,  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR) of the natural substances and their chemical derivatives.

# S U M Á R I O

|                                                                                       | Pág. |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------|
| AGRADECIMENTOS .....                                                                  | iv   |
| LISTA DE FIGURAS .....                                                                | v    |
| LISTA DE TABELAS .....                                                                | viii |
| LISTA DE ESQUEMAS .....                                                               | x    |
| LISTA DE QUADROS .....                                                                | xii  |
| RESUMO .....                                                                          | xiii |
| ABSTRACT .....                                                                        | xiv  |
| INTRODUÇÃO .....                                                                      | 1    |
| REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - AÇÃO FARMACOLÓGICA DE DITER-<br>PENOS CASSÂNICOS .....        | 6    |
| RELAÇÃO ESTRUTURA X ATIVIDADE DOS ALCALÓIDES DO GÊNE-<br>RO <u>Erythropheum</u> ..... | 18   |
| CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS .....                                                         | 20   |

## PARTE I

### ESTUDO QUÍMICO DE PLATHYMENIA RETICULATA

#### CAPÍTULO I

##### DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES FIXOS

##### DA PLANTA

|                                                      |    |
|------------------------------------------------------|----|
| 1.1 - Determinação estrutural de <u>PRLH-1</u> ..... | 22 |
| 1.2 - Determinação estrutural de <u>PRLH-2</u> ..... | 47 |
| 1.3 - Determinação estrutural de <u>PRLH-3</u> ..... | 60 |
| 1.4 - Determinação estrutural de <u>PRLH-4</u> ..... | 80 |
| 1.5 - Determinação estrutural de <u>PRLH-5</u> ..... | 81 |
| 1.6 - Determinação estrutural de <u>PRLH-6</u> ..... | 95 |

## CAPÍTULO II

### PARTE EXPERIMENTAL

|                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| MATERIAL .....                                                                         | 99  |
| METODOLOGIA .....                                                                      | 99  |
| PROCEDIMENTO DOS TESTES BIOLÓGICOS .....                                               | 101 |
| ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <u>Plathymenia</u><br><u>reticulata</u> ..... | 103 |

### PARTE II

#### ESTUDO QUÍMICO DE COCHLOSPERMUM REGIUM

### CAPÍTULO III

#### DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES FIXOS DA PLANTA

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.1 - Determinação estrutural de <u>CR-1</u> .....                       | 135 |
| 3.2 - Determinação estrutural de <u>CR-2</u> .....                       | 139 |
| 3.3 - Determinação estrutural de <u>CR-3</u> .....                       | 140 |
| 3.4 - Determinação estrutural de <u>CR-4</u> .....                       | 144 |
| 3.5 - Determinação estrutural de <u>CR-5</u> .....                       | 148 |
| 3.6 - Determinação estrutural de <u>CR-6</u> .....                       | 158 |
| 3.7 - Determinação estrutural de <u>CR-7-OAc</u> e <u>CR-8-OAc</u> ..... | 166 |

### CAPÍTULO IV

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| PARTE EXPERIMENTAL ..... | 175 |
|--------------------------|-----|

### PARTE III

|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| CONSIDERAÇÕES BIOSINTÉTICAS ..... | 193 |
| CONCLUSÃO .....                   | 199 |
| BIBLIOGRAFIA .....                | 201 |



## 1 - INTRODUÇÃO

O estudo fitoquímico de espécies vegetais que compõem a flora do Nordeste do Brasil vem sendo desenvolvido nas últimas décadas, principalmente na própria região Nordeste. Várias destas espécies, apresentando atividade biológica comprovada ou uso medicinal popular, foram estudadas possibilitando o isolamento e identificação de novos princípios ativos, visando aumentar a disponibilidade de substâncias naturais para uso experimental como agente terapêutico.

Estes aspectos motivaram a escolha de duas plantas do Nordeste, Cochlospermum regium e Plathymenia reticulata, com a finalidade de serem submetidas a estudo químico.

Cochlospermum regium é conhecida vulgarmente como Pa cotê, pertencente a família Cochlospermaceae, gênero Cochlospermum. Levantamento bibliográfico no Chemical Abstract não revelou qualquer estudo químico sobre a referida espécie.

Entre as plantas do mesmo gênero já estudadas sob o aspecto químico figuram C. angolense Well., que da casca do caule foi obtido o ácido oleanólico <sup>1</sup> e verificada a presença de quinonas e flavonóides através de reações características destas classes de substâncias<sup>1</sup>. Do estudo químico de C. planchani<sup>2</sup> foram obtidos Cochlosperminas 2 a 5. Da espécie C. tinctorium<sup>1</sup> não foi relatado o isolamento de substâncias mas, descrito a presença de grandes quantidades de amido. Foi verificada também em C. gossipium a presença de amido cuja hidrólise parcial originou mistura de oligossacarídeos ácidos<sup>3</sup>. O estudo químico do extrato etanólico da casca do caule



de C. gillivraei resultou no isolamento de apigenina 6, naringenina 7, (+)-afzelechina 8 e os glicosídeos prunina (naringenina-7-O-glicosídeo) 9 e cosmisiina (apigenina-7-O-glicosídeo) 10. Através dos fracionamentos cromatográficos do extrato etanólico das folhas de C. religiosum<sup>4</sup> foram isolados os flavonóides muricetina 11, quercetina 12 e cianidina 13 (Quadro 1).

Plathymenia reticulata pertence a família Leguminosae, subfamília Mimosoideae, tribo Mimoseae. O gênero Plathymenia foi descrito inicialmente por Benthham como constituído por duas espécies: P. reticulata e P. foliolosa<sup>5</sup>. Já Duque propôs o gênero Plathymenia como monotípico apresentando P. reticulata como única espécie<sup>6</sup>.

A primeira publicação encontrada sobre o estudo químico de P. reticulata<sup>7</sup> descreve o isolamento de cristais (p. f. 106°C) cuja estrutura foi determinada como sendo o vinhaticoato de metila 14.

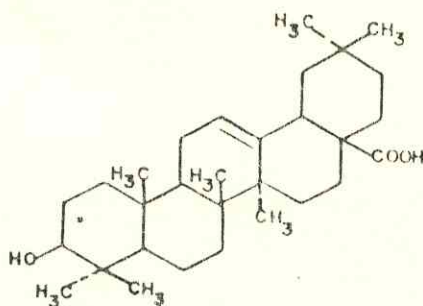
Com a finalidade de comprovar a existência de duas espécies neste gênero, Matos e Colaboradores<sup>5</sup> procederam o estudo das espécies P. reticulata e P. foliolosa, a partir de amostras identificadas pelo Laboratório de Anatomia de Madeira do Jardim Botânico do Rio de Janeiro<sup>8</sup> e, verificaram que P. reticulata apresentava como principal constituinte o acetato de vinhaticila 15 e P. foliolosa o vinhaticoato de metila 14 (Quadro 2). Com este resultado ficou comprovado que este gênero é constituído por duas espécies e que P. foliolosa e P. reticulata foi a espécie vegetal estudada por King e Colaboradores<sup>7</sup>.

O presente trabalho, que descreve o estudo químico das espécies vegetais Cochlospermum regium e Plathymenia reti-

culata acha-se dividido em quatro partes. A primeira composta por esta introdução, levantamento bibliográfico e considerações botânicas das espécies estudadas. A segunda refere-se ao estudo químico da espécie Plathymenia reticulata que compreende a determinação estrutural de seus constituintes através de métodos espectrométricos e a parte experimental. A terceira parte corresponde ao estudo químico da espécie Cochlospermum regium, também composta por determinação estrutural e parte experimental e, uma quarta parte constituída por considerações biogenéticas, referências bibliográficas, resumo e anexos.

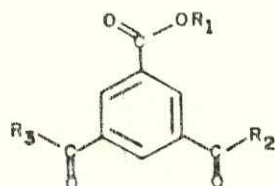
QUADRO 1. Substâncias relatadas na literatura, obtidas de várias espécies do gênero Cochlospermum.

1. Cochlospermum angolense Well<sup>1</sup>.



1

2. Cochlospermum planchanii<sup>2</sup>



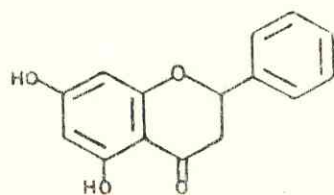
2.  $R_1 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10}$  ,  $R_2 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10}$  ,  $R_3 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10}$

3.  $R_1 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12}$  ,  $R_2 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10}$  ,  $R_3 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10}$

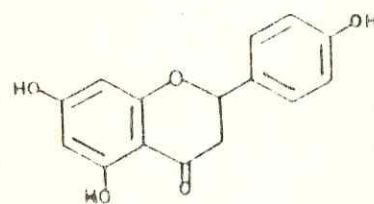
4.  $R_1 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12}$  ,  $R_2 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12}$  ,  $R_3 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10}$

5.  $R_1 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12}$  ,  $R_2 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12}$  ,  $R_3 = \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{12}$

3. Cochlospermum gillivraei<sup>4</sup>.

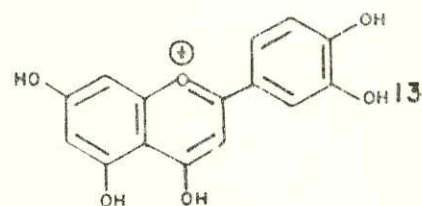
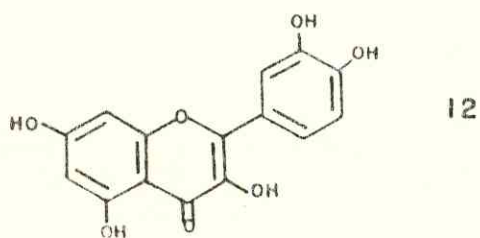
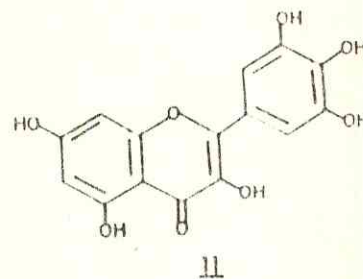
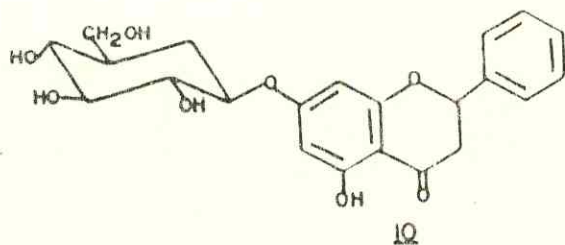
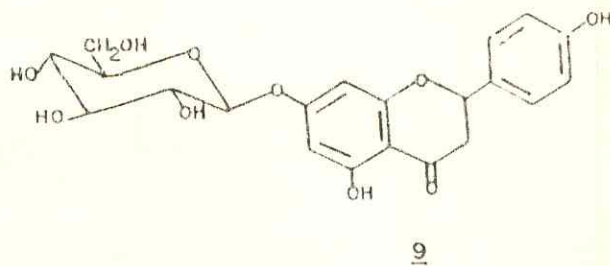
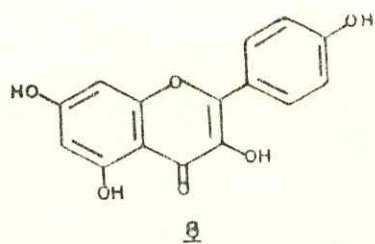


6



7

## QUADRO 1 (Continuação)





REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - AÇÃO FARMACOLÓGICA DE DITERPENOS CAS-  
SÂNICOS.

A presença de diterpenos cassânicos com anel furâni-  
co na família Leguminosae foi verificada nos gêneros Caesal-  
pinia, Dipteryx, Plathymenia, Pterodon e Vouacapoa através  
de recente levantamento bibliográfico<sup>9</sup>. Foi observado, também,  
na família Leguminosae, a presença de diterpenos cassânicos  
alcaloídicos no gênero Erythrophleum<sup>10</sup>.

Como resultado de uma revisão bibliográfica serão re-  
latadas a seguir as diversas atividades biológicas encontradas  
para os diterpenos cassânicos furânicos e não furânicos, obti-  
dos através do estudo químico das várias espécies dos gêneros  
acima mencionados.

1. GÊNERO CAESALPINIA

As amêndoas das sementes de Caesalpinia bonducella  
são usadas na medicina popular da Índia em várias circunstân-  
cias, particularmente no tratamento de asma e febres intermi-  
tentes, inclusive a malária. O estudo químico das sementes le-  
vou ao isolamento de um grupo de diterpenos furânicos denomina-  
dos  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  e F caesalpina (estruturas 16 a 20)<sup>11,12</sup>. (Qua-  
dro 3).

## 2. GÊNERO DIPTERYX

A casca dos frutos da espécie Dipteryx lacunífera Ducke foi submetida a ensaios farmacológicos e os resultados sugeriram que esta espécie apresentava constituintes químicos responsáveis pelo bloqueio intenso das contrações provocadas pela acetilcolina no reto abdominal de rato e útero de rata.

Através do fracionamento cromatográfico do extrato da casca das sementes de Dipteryx lacunífera foram isolados três diterpenos furânicos dissustituídos caracterizados como 6 $\alpha$ -acetoxivoucapano 21, 3 $\beta$ -6 $\alpha$ -diacetoxivoucapano 22 e ácido vinhaticólico 23<sup>9</sup>. (Quadro 3).

## 3. GÊNERO PTERODON

O gênero Pterodon é composto por 5 espécies todas nativas do Brasil.

O óleo dos frutos de P. pubescens, P. emarginatus e P. poligalaeiflorus mostraram ação protetora contrapenetração por cercária de Schistosoma mansoni<sup>13</sup>.

A espécie primeiramente estudada, P. pubescens, "supira branca", forneceu 14,15-epóxido geranil-geraniol 24 que foi considerado o principal componente ativo do óleo. Entretanto, a atividade protetora desta substância, embora superior a do óleo bruto do fruto, mostrou-se insuficiente para explicar a atividade do óleo. O próprio geranil-geraniol 25 presente no óleo mostrou-se inativo.

O estudo cuidadoso dos componentes P. pubescens re

velou a existência de dois diterpenos furânicos dissubstituídos 26 e 27 também inativos na proteção em infestação por cercária de S. mansoni<sup>14</sup>.

Da espécie P. emarginatus, além de diterpenos lineares foram isolados oito diterpenos furânicos representados pelas estruturas de 28 a 35. Da espécie P. Polygalaeflorus foram obtidos os diterpenos furânicos representados pelas estruturas 30 a 32 e 35, enquanto no estudo químico da espécie P. apparacioi foram isolados os diterpenos furânicos 31, 32 e 36.

As lactonas do tipo 36, por exemplo, preparadas a partir dos diterpenos furânicos correspondentes 27 por tratamento com perácido, reagente de Jones ou ainda como artefato de isolamento, mostraram alta atividade biológica contra cercária de S. mansoni e inibição de Cristhidia fasciculata em culturas, a uma concentração de 8 µg/ml. Esta atividade não foi verificada nos correspondentes diterpenos furânicos<sup>15</sup>. (Quadro 3).

#### 4. GÊNERO VOUACAPOA

Das espécies Vouacapoa americana e V. macropetala foram isolados os diterpenos furânicos dissubstituídos vouacapenato de metila 37, acetato de vouacapenila 38 e ácido vouacapânico 39<sup>16</sup>. Não foi relatado nenhum tipo de atividade farmacológica nos diterpenos furânicos dissubstituídos isolados destas espécies. (Quadro 3).



5. GÊNERO PLATHYMENIA

O acetato de vinhaticila 15 principal constituinte de P. reticulata foi submetido a ensaio farmacológico em órgãos isolados tendo mostrado atividade espasmolítica sobre duodeno de rato e inativo nas seguintes preparações: aurícula de rato, reto abdominal de sapo, coração de sapo e útero de rato<sup>17</sup>.

6. GÊNERO ERYTROPHLEUM

Os alcalóides do gênero Erythrophleum são ésteres de dimetil ou metilaminoetanol dos ácidos tricíclicos de prováveis diterpenos naturais<sup>18</sup>. São descritos na literatura 7 espécies do gênero Erythrophleum: E. guineense, E. couminga, E. for-  
dii, E. combodianum, E. densiflorum, E. chlorostachys, E. evo-  
rense<sup>19</sup>.

O estudo químico destas espécies forneceu os diterpenos alcaloídicos representados pelas estruturas 40 a 47. O interesse despertado pelas espécies deveu-se principalmente a existência de alcalóides possuindo uma extraordinária ação sobre o coração. Das espécies estudadas E. guineense é a mais comum. Esta árvore é conhecida por uma variedade de nomes (inclusive cassa, nome nativo da planta). É extensamente distribuída nas regiões Centro e Oeste da África onde a casca era usada por tribos nativas como fonte de veneno para as flechas. A primeira investigação científica da casca de E. guineense foi feita em 1875 quando foi isolada um sólido amorfo, alcalóide



altamente venenoso, Erythrophleina 40 com uma ação semelhante aos glicosídeos digitálicos sobre o coração<sup>20</sup>.

Os alcalóides naturais cassaina 41, norcassaina 42, homophleina 43, coumingina 44, norcassaidina 45, coumingaina 46 e cassaidina 47 isolados das espécies E. guineense e E. couminga apresentaram um aumento da amplitude das contrações cardíacas em coração de coelho e de rã. Em doses elevadas todos os alcalóides levaram a arritmia. A coumingina 44, mais ativa, apresentou atividade em concentração de 1:5 milhões<sup>21</sup>. (Tabela 1). (Quadro 3).

Além da ação sobre o coração, estes alcalóides livres ou na forma de sais, apresentam outras atividades farmacológicas interessantes descritas a seguir.

Os alcalóides do gênero Erythrophleum 40 a 47 e o derivado acetilcassaina 48 apresentaram ação emética testada em gatos e coelhos<sup>22</sup>. A ação emética da cassaidina 47 é similar a da ouabaina 51<sup>23</sup>. (Tabela 1).

Os alcalóides norcassaina 42, cassaina 41, homophleina 43, coumingina 44, coumingaina 46, norcassaidina 45 mostraram ação anestésica local em córnea de coelho. Estes alcalóides são amargos quando provados e produzem torpor e paralisia na língua por aplicação local<sup>22</sup>. (Tabela 1).

Os alcalóides norcassaidina 45, cassaina 41, erythrophleina 40 e coumingina 44 em solução 0,1% apresentaram ação vasoconstritora<sup>24</sup>. Estes alcalóides aumentaram também a pressão arterial do sangue em experimentos com coelhos quando injetados rapidamente ou em altas doses. Foi verificada também, na utilização destes mesmos alcalóides, um aumento dos

espasmos tônicos e dos movimentos peristálticos em úteros de coelhos<sup>25</sup>.

A ação convulsivante em alcalóides do gênero Erythrophleum foi observada somente em cassaiña que provoca convulsões em rãs, gatos e cães<sup>22, 23</sup>.

Foi observada uma ação analgésica em membrana muco-  
sa através da utilização dos alcalóides cassaiña 41, norcassaiña 42 e coumingina 44. Esta ação é inicialmente fraca e aumenta com o passar do tempo. É mais forte que a cocaína e similar a percaína<sup>26</sup>.

A cassaiña inibe o transporte de  $\text{Na}^+$  e em menor grau, o transporte de glicose em tubos renais. O transporte de  $\text{Na}^+$  é um importante parâmetro ligando o  $\text{Na}^+$  ao transporte de glicose e PAH (para-aminohipurato)<sup>27</sup>.

A atividade da enzima adenosinatrifosfatase Na-K-ativada como intimamente ligada ao transporte ativo de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  foi determinada tanto em eritrócitos humanos como em outras preparações com animais<sup>28</sup>. Os alcalóides erythrophleina 40 e cassaiña 41 mostraram-se inibidores potentes, em semelhança aos heterosídeos digitálicos, de adenosinatrifosfatase Na-K ativada (APTase-Na-K) em cérebro e rim de coelho e outras preparações com animais. Uma concentração  $10^{-6}$  M de erythrophleina inibe completamente a atividade de APTase Na-K em todos os tecidos, enquanto que a cassaiña na mesma concentração inibe a atividade de APTase Na-K em 86%<sup>29</sup>.

Os alcalóides do gênero Erythrophleum, erythrophleina 40, cassaiña 41, coumingina 44, cassaidina 47 e o derivado acetilcassaidina 48 mostraram atividade em músculos. Do mesmo

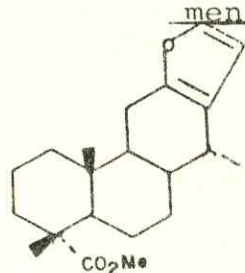
modo que os glicosídeos cardíacos, a potência dos alcalóides em antagonizar o efeito de uma dada concentração de veratridina em musculatura esquelética ocorre paralelamente com a sua potência inotópica positiva em coração de vertebrados. Este paralelismo estende-se também aos produtos de hidrólise dos alcalóides ácido cassainico 49 e ácido cassaidínico 50<sup>30</sup>.

Além das atividades descritas foi verificada a toxicidade dos alcalóides norcassaidina 45, cassaina 41, homophleina 43 e erythrophleina 40 através de testes em rãs por injeção na cavidade ventral e em ratos brancos por injeção subcutânea, havendo um aumento na seguinte ordem: 45 < 41 < 43 < 40. Como sintomatologia geral para 45, 43 e 40 prevalece o fenômeno depressivo, enquanto que 41 produz um intenso fenômeno de excitação podendo, deste modo, ser facilmente diferenciado dos outros alcalóides<sup>31</sup>. A planta é dez vezes mais tóxica do que os alcalóides nela contidos<sup>32</sup>.

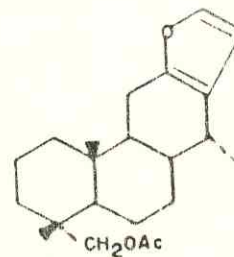
Todas as atividades descritas para estes alcalóides foram resumidas na Tabela 01.



QUADRO 2. Diterpenos cassânicos relatados na literatura<sup>5</sup>  
 como principais constituintes do gênero Plathy  
menia.<sup>17</sup>



14



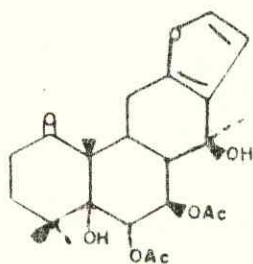
15

Principal constituinte quí  
 mico de Plathymenia foliolosa.

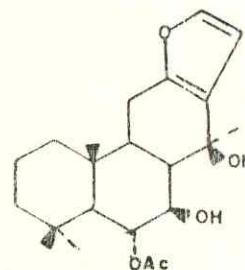
Principal constituinte quí  
 mico de Plathymenia reticu  
ta.

QUADRO 3. Diterpenos cassânicos que apresentam atividade  
 farmacológica.

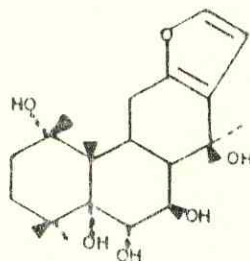
1. Gênero Caesalpinia<sup>11,12</sup>



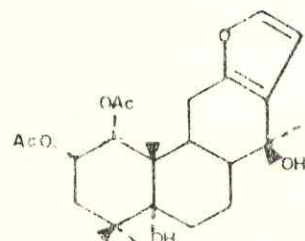
16



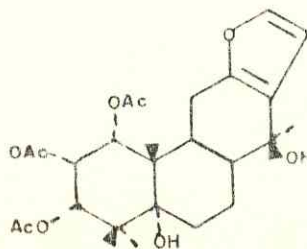
17



18



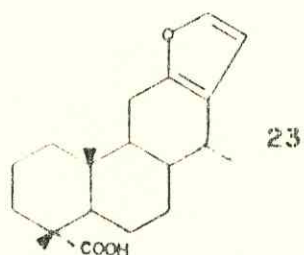
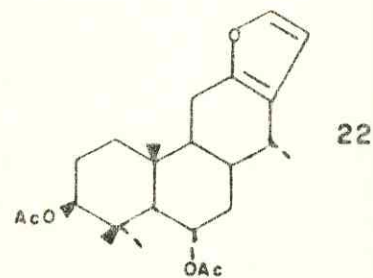
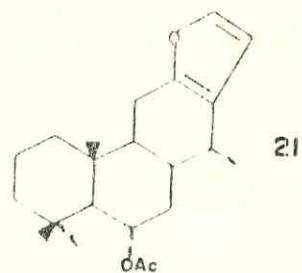
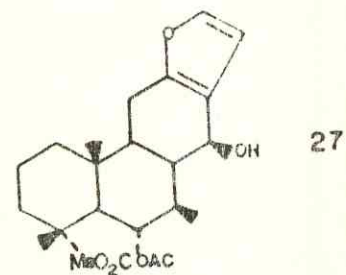
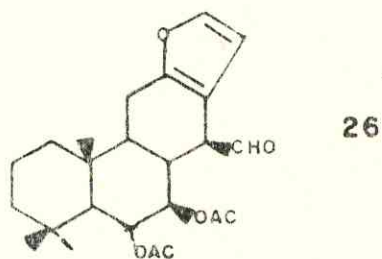
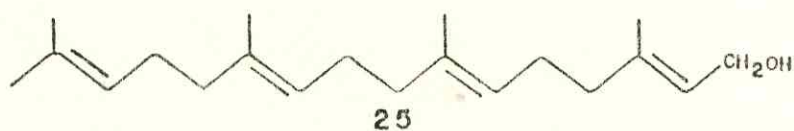
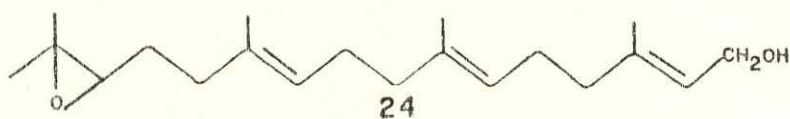
19



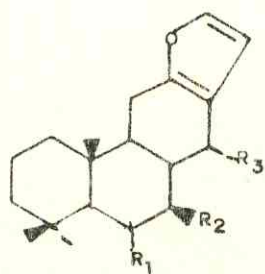
20



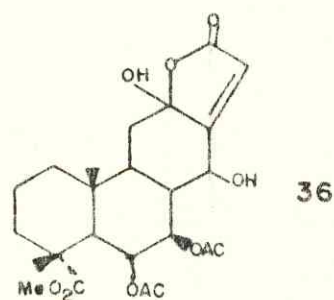
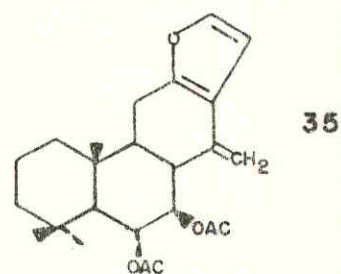
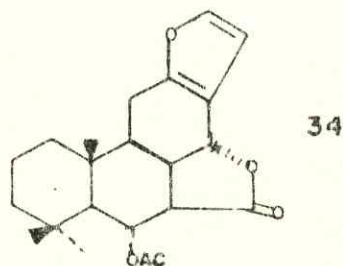
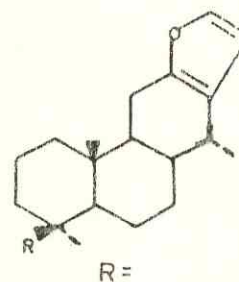
## QUADRO 3. (Continuação)

2. Gênero Dipteryx<sup>9</sup>3. Gênero Pterodon<sup>13-15</sup>

## QUADRO 3. (Continuação)



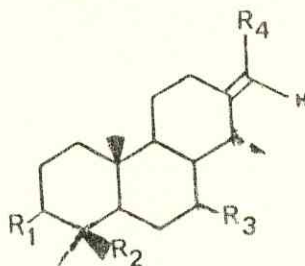
28.  $R_1 = \text{OAC}$  ,  $R_2 = \text{OAC}$  ,  $R_3 = \text{Me}$   
 29.  $R_1 = \text{H}$  ,  $R_2 = \text{OAC}$  ,  $R_3 = \text{Me}$   
 30.  $R_1 = \text{OH}$  ,  $R_2 = \text{OH}$  ,  $R_3 = \text{COOH}$   
 31.  $R_1 = \text{OH}$  ,  $R_2 = \text{OH}$  ,  $R_3 = \text{COOMe}$   
 32.  $R_1 = \text{OAC}$  ,  $R_2 = \text{OH}$  ,  $R_3 = \text{COOMe}$   
 33.  $R_1 = \text{OH}$  ,  $R_2 = \text{OH}$  ,  $R_3 = \text{OH}$

4. Gênero Vouacapoia 16

37.  $-\text{CO}_2 \text{ Me}$   
 38.  $-\text{CH}_2 \text{ OAC}$   
 39.  $-\text{CO}_2 \text{ H}$

## QUADRO 3. (Continuação)

18-32

6. Gênero *Eritrophleum*

40.  $R_1 = H, R_2 = COCH_3, R_3 = OH\beta, R_4 = COOCH_2CH_2N-\overset{H}{CH_3}$   
 41.  $R_1 = OH\beta, R_2 = H, R_3 = =O, R_4 = COOCH_2CH_2N(CH_3)_2$   
 42.  $R_1 = OH\beta, R_2 = H, R_3 = =O, R_4 = COOCH_2CH_2N\overset{H}{CH_3}$   
 44.  $R_1 = OOC-CH_2\overset{OH}{C}(CH_3)_2, R_2 = H, R_3 = H, R_4 = COOCH_2CH_2N(CH_3)_2$   
 45.  $R_1 = OH\beta, R_2 = H, R_3 = OH\beta, R_4 = COOCH_2CH_2N\overset{H}{CH_3}$   
 47.  $R_1 = OH\beta, R_2 = H, R_3 = OH\beta, R_4 = COOCH_2CH_2N(CH_3)_2$   
 48.  $R_1 = OAc\beta, R_2 = H, R_3 = OAc\beta, R_4 = COOCH_2CH_2N(CH_3)_2$   
 49.  $R_1 = OH\beta, R_2 = H, R_3 = O, R_4 = COOH$   
 50.  $R_1 = OH\beta, R_2 = H, R_3 = OH\beta, R_4 = COOH$

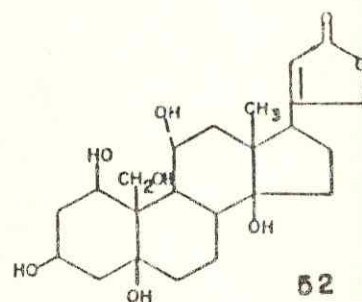
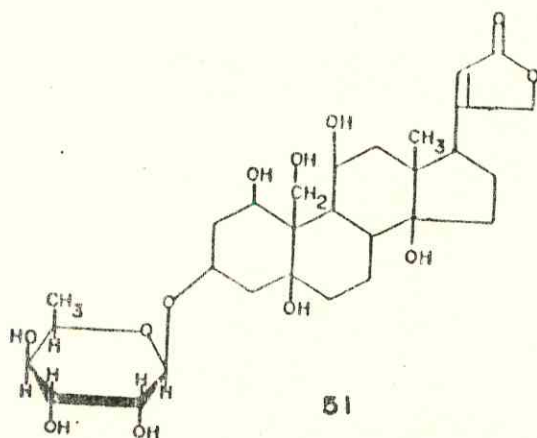


TABELA 1 - Ações farmacológicas dos alcalóides do gênero Erythrophleum

| COMPOSTOS                | Ação<br>cardí-<br>ca | Ação<br>Eméti-<br>ca | Ação<br>anesté-<br>sica<br>local | Ação no<br>sist.<br>vascu-<br>lar | Ação<br>convul-<br>sivan-<br>te | Ação na<br>pres.ar-<br>terial<br>e respi-<br>ração | Ação em<br>úteros<br>isolados | Ação<br>analgé-<br>sica | Inib.do<br>transp.<br>tub.re-<br>nal p/<br>diurét. | Inibi-<br>ção en-<br>zimáti-<br>ca | Ação na<br>contra-<br>ção musc.<br>simples. |
|--------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------|
| Erythrophlei-<br>na (40) | +                    | +                    | .-                               | +                                 | -                               | +                                                  | +                             | -                       | +                                                  | +                                  | +                                           |
| Cassaina (41)            | +                    | +                    | +                                | +                                 | +                               | +                                                  | +                             | +                       | -                                                  | +                                  | +                                           |
| Norcassaina<br>(42)      | +                    | -                    | +                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | +                       | -                                                  | -                                  | -                                           |
| Homophelina<br>(43)      | +                    | +                    | +                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | -                       | -                                                  | -                                  | -                                           |
| Coumingina (44)          | +                    | +                    | +                                | +                                 | -                               | +                                                  | +                             | +                       | -                                                  | -                                  | +                                           |
| Norcassaidi-<br>na (45)  | +                    | +                    | +                                | +                                 | -                               | +                                                  | +                             | -                       | -                                                  | -                                  | -                                           |
| Coumingaina<br>(46)      | +                    | +                    | +                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | -                       | -                                                  | -                                  | -                                           |
| Cassaidina (47)          | +                    | +                    | -                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | -                       | -                                                  | -                                  | +                                           |
| Acetilcassai-<br>na (48) | -                    | +                    | -                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | -                       | -                                                  | -                                  | +                                           |
| Ac.Cassainico<br>(49)    | -                    | -                    | -                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | -                       | -                                                  | -                                  | +                                           |
| Ac.Cassaid. (50)         | -                    | -                    | -                                | -                                 | -                               | -                                                  | -                             | -                       | -                                                  | -                                  | +                                           |



RELAÇÃO ESTRUTURA X ATIVIDADE DOS ALCALÓIDES DO GÊNERO ERY-  
TROPHLEUM

A ação sobre o coração verificada nos alcalóides obtido através do estudo químico das várias espécies do gênero Erythrophleum, semelhante à observada para os glicosídeos digitálicos (Digitogenina,<sup>52</sup>), foi inicialmente atribuída a existência de uma estrutura esteroidal semelhante as geninas<sup>21</sup>. A presença de um anel lactônico insaturado na molécula do esteróide foi considerado responsável pela atividade sobre o coração<sup>20</sup>.

Posteriormente, com a elucidação da estrutura dos alcalóides do gênero Erythrophleum como ésteres de dimetil ou metilaminoetanol com ácidos tricíclicos de diterpenos naturais, foi descartada a hipótese inicial e a sua atividade cardíaca associada a presença de um éster natural. A ação em músculos verificada nos produtos de hidrólise dos alcalóides (ácidos de diterpenos naturais<sup>30</sup>) invalidou esta proposição.

A atividade inibidora de adenosinatrifosfatase Na-K ativada, observada nos alcalóides do gênero Erythrophleum, foi justificada considerando a carbonila em conjugação com a dupla ligação olefínica na cadeia lateral como grupo efetivo. A eletronegatividade do oxigênio do grupo carbonílico constitui um forte aceptor de prótons que forma pontes de hidrogênio com hidroxila do resíduo de ácido fosfórico da enzima intermediária fosforilada<sup>33</sup>.

A similaridade de efeitos observada nos glicosídeos digitálicos e alcalóides do gênero Erythrophleum no sistema

APTase Na-K, justificada através da existência de grupamento ativo em comum, pode explicar a semelhança entre estes dois grupos de substâncias nas propriedades farmacológicas e nos efeitos de inibição de cátion ativo<sup>33 e 34</sup>.

CONSIDERAÇÕES BOTÂNICAS

Cochlospermum regium (Mart et Schr.) Pilg (= Cochlospermum insigne, St. Hil.) um arbusto ou arvoreta apresentando ramos com pronunciadas nodosidades nos pontos de inserção das folhas castanho-purpureos, revestidos de pilosidade mais ou menos ferrugínea. Folhas alternas, longamente pecioladas, palmatilobadas até palmatífidas, com 5-3 segmentos de margem crenada ou serreada, os dois laterais menores, pubescentes, notadamente na página inferior, sobre nervuras e veias. Flores amareladas, com 6 a 8 cm de diâmetro, dispostas em panículas terminais; cálice com duas sépalas exteriores lanceoladas ou oblongas, tenuamente coriáceas, verdes, pubérulas na face dorsal, e com 3 interiores maiores e mais tênues, subpetaloides; corola de perfoliação convoluta, pétalas um pouco desiguais, glabras, ornadas de estrias longitudinais coccíneas; androceu constituído de muitos estames livres, portadores de anteras cuja discênica se dá por um poro apical; ovário vilósulo-florescente, com 3 a 5 placentas. Fruto cápsula ovoide até oblonga, dividindo-se em 3 a 5 valvas. Sementes numerosas, revestidas de pelos lanosos.

Plathymenia reticulata Benth é uma árvore mediana, cerca de 6-8 m de altura, com copa densa, folhas até 8 jogos de pinas, cujos foliôlos ovais e eléticos, de ápice retuso ou emarginado distribuídos em 10-15 pares ao longo do eixo das pinas. Flores creme, dispostas em espigas cilíndricas e pubescentes. Androceu com 10 estames, tendo cada antera uma glândula

apical. Gineceu com ovário estipitado e densamente revestido de pelos. Frutos achatados, glabros, com 10-12 cm de comprimento e aproximadamente 10 sementes, de polpa comestível.



P A R T E I

ESTUDO QUÍMICO DE PLATHYMENIA RETICULATA

CAPÍTULO I

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES  
FIXOS DA PLANTA

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PRLH-1 (15)

A substância PRLH-1, material cristalino, p.f.80-81°C foi obtida por recristalização do sólido precipitado no extra<sub>to</sub> hexânico do lenho de P.reticulada (Esquema 12 pág.115).

O seu espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig.1) apresentou absorções em 7,0  $\delta$  ( $1\text{H}$ , d;  $J=2,0\text{Hz}$ ) e 5,76  $\delta$  ( $1\text{H}$ , d,  $J=2,0\text{Hz}$ ), característicos de prótons de um sistema furânico dissustituído, o que está em concordância com a presença no espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  totalmente desacoplado (PND), Fig.2, de sinais em 149,6  $\delta$  (s, C-12 baixa intensidade), 140,3 (d.C-16), 122,5 (s,C-13, baixa intensidade) e 109,3  $\delta$  (d,C-15).

As bandas de absorção no espectro Infravermelho em 1715, 1225 e 1020  $\text{cm}^{-1}$ , assim como a presença de um sinal no espectro de  $\text{PMN}^1\text{H}$  em 2,10  $\delta$  (3H,s), sugeriram a existência de um grupo acetoxila, confirmado no espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  totalmente desacoplado (PND), Fig.2, pela presença de um singlete em 171,0  $\delta$  ( $-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}_3$ ) e um quarteto em 20,9  $\delta$  ( $-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}_3$ ).

O sinal centrado em 3,66  $\delta$  ( $2\text{H}$ , q<sub>AB</sub>,  $J=11,0\text{ Hz}$ ) no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  é indicativo de um quarteto AB, resultante de um grupo metileno (H-18a e H-18b) ligado a um heteroátomo vizinho ao centro assimétrico C-4. A existência no espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  de um sinal em 73.3  $\delta$  (triplete, C-18) reforça esta posição. Com base nisto, foi possível postular a presença de um grupo acetato primário na substância PRLH-1.

Foi verificado ainda no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  a presença de três grupos metilas, sendo dois metilas quaternários, em 0,96  $\delta$  (s, H-19) e 0,90  $\delta$  (s, H-20) e um metila terciário em 1,10  $\delta$  (d,  $J=7,0\text{ Hz}$ , H-17).

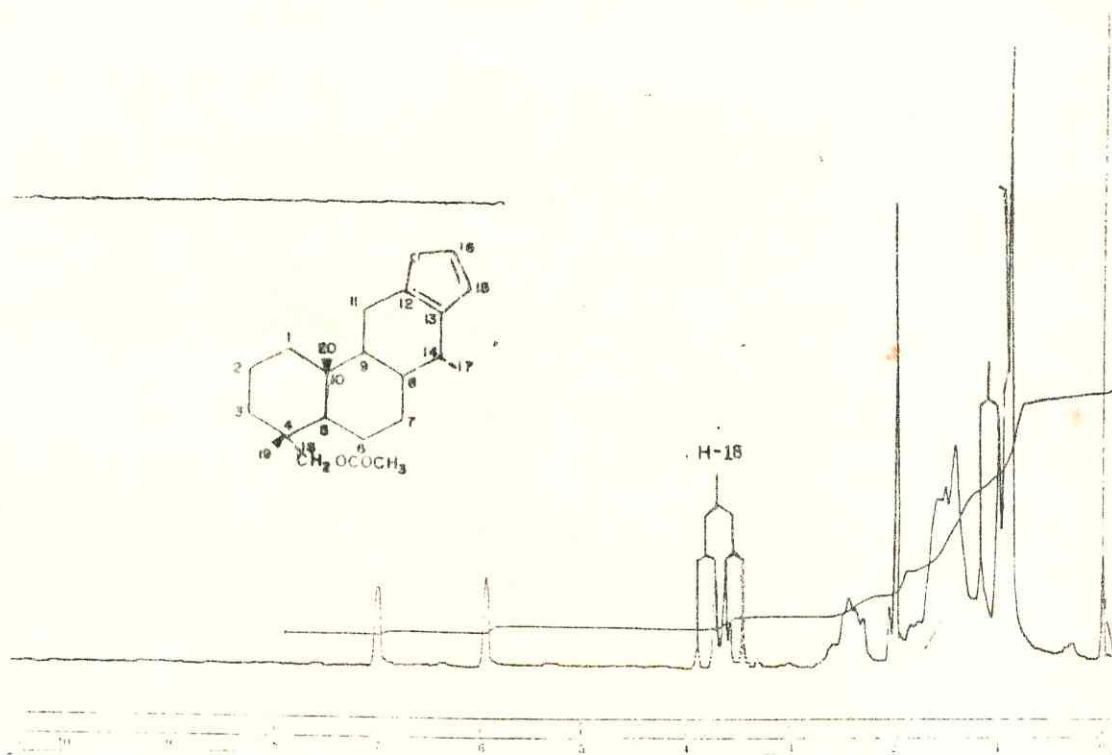


Figura 01 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH - 1  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

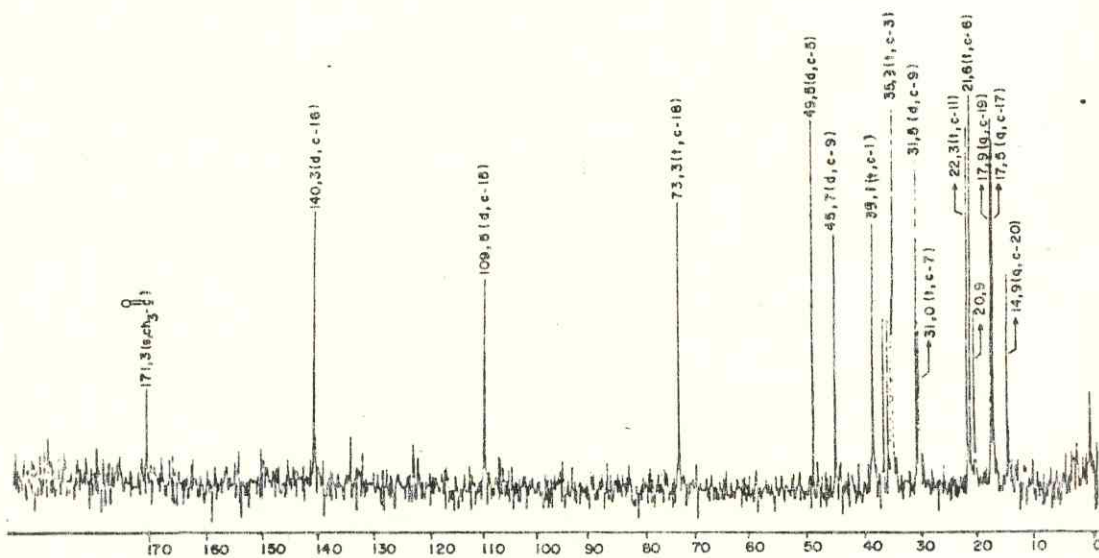


Figura 02 - Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (PND) de PRLH -1  
( 20 MHz,  $\text{CDCl}_3$  )

A presença de somente três grupos metilas e de absorções características de anel furânico no espectro de  $\text{RMN}^1\text{N}$ , bem como o conhecimento prévio da presença de diterpenos do tipo cassano nas espécies do gênero Plathymenia, permitiram propor este tipo de estrutura para a substância PRLH-1<sup>35</sup>.

Com base nos dados acima e em levantamento bibliográfico foi associada a PRLH-1 a estrutura do acetato de vinhaticila, 15, isolado anteriormente de P. reticulata<sup>17</sup>, cuja estrutura, incluindo a estereoquímica, foi determinada por difratometria de Raios -  $\text{X}^5$ .

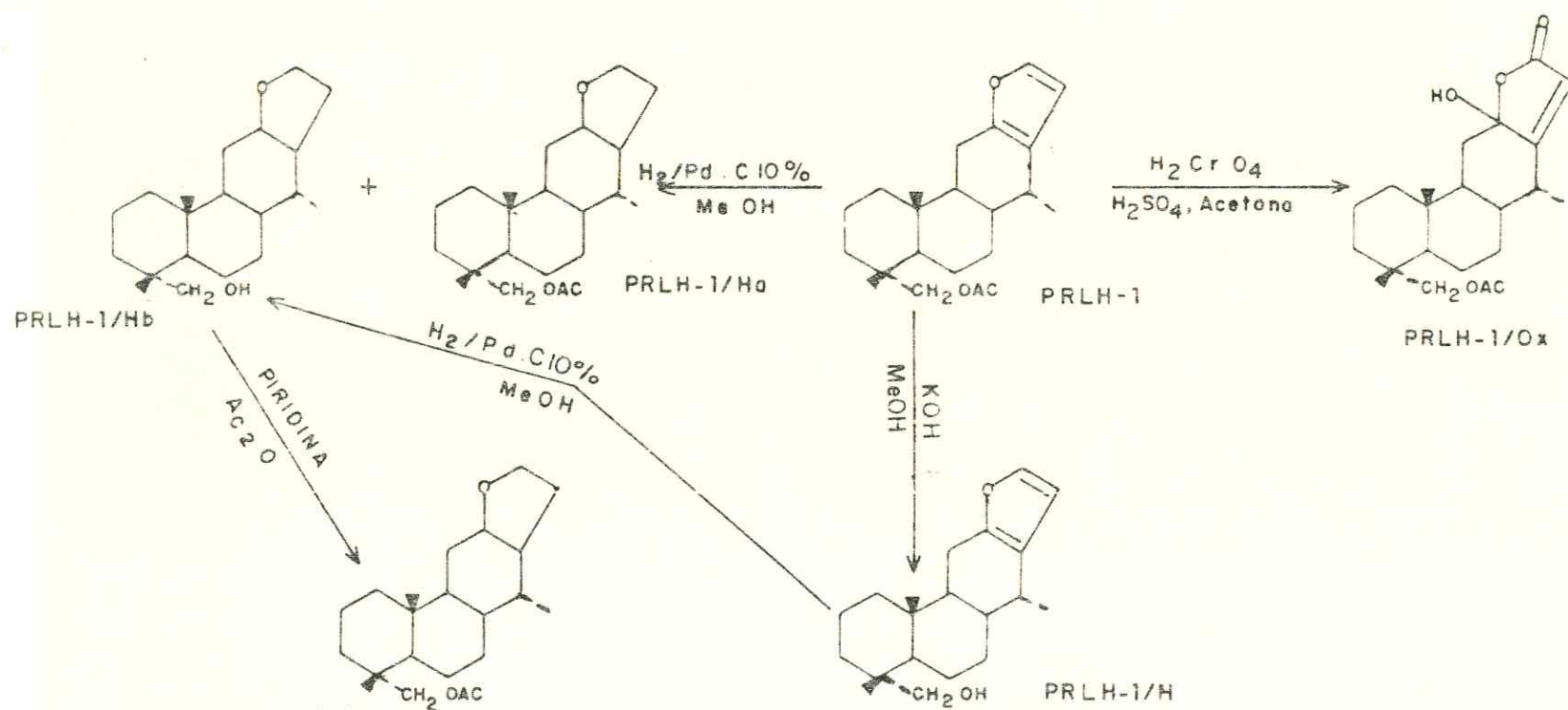
Com a finalidade de obter novos produtos que pudessem ser testados quanto a atividade biológica, bem como para dar apoio a estrutura proposta, foram preparados alguns derivados do acetato de vinhaticila.

A hidrólise alcalina do acetato de vinhaticila, 15, por solução de hidróxido de potássio em metanol (Esquema 01), após elaboração produziu um sólido branco (p.f. 126-128°C) PRLH-1/H, 15a, cujos espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  e  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  são descritos nas Tabelas 02 e 03.

A análise de espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig. 3) mostrou a ausência de absorções associadas ao grupo acetoxila para PRLH-1, 15, ( $2,10 \delta$ , 3H, s), confirmado no Infravermelho (Fig. 04) pela inexistência de absorções de grupamento carbonílico. Também foi verificada no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  do produto de hidrólise de PRLH-1 a proteção das absorções atribuídas ao sistema AB de prótons (H-18a e H-18b) centrada em  $3,16 \delta$  em comparação com o sinal correspondente para PRLH-1 ( $3,66 \delta$ ) que, juntamente com a existência de uma banda intensa em  $3.420 \text{ cm}^{-1}$  no espectro de



ESQUEMA 01 - DERIVADOS DE PRLH-1



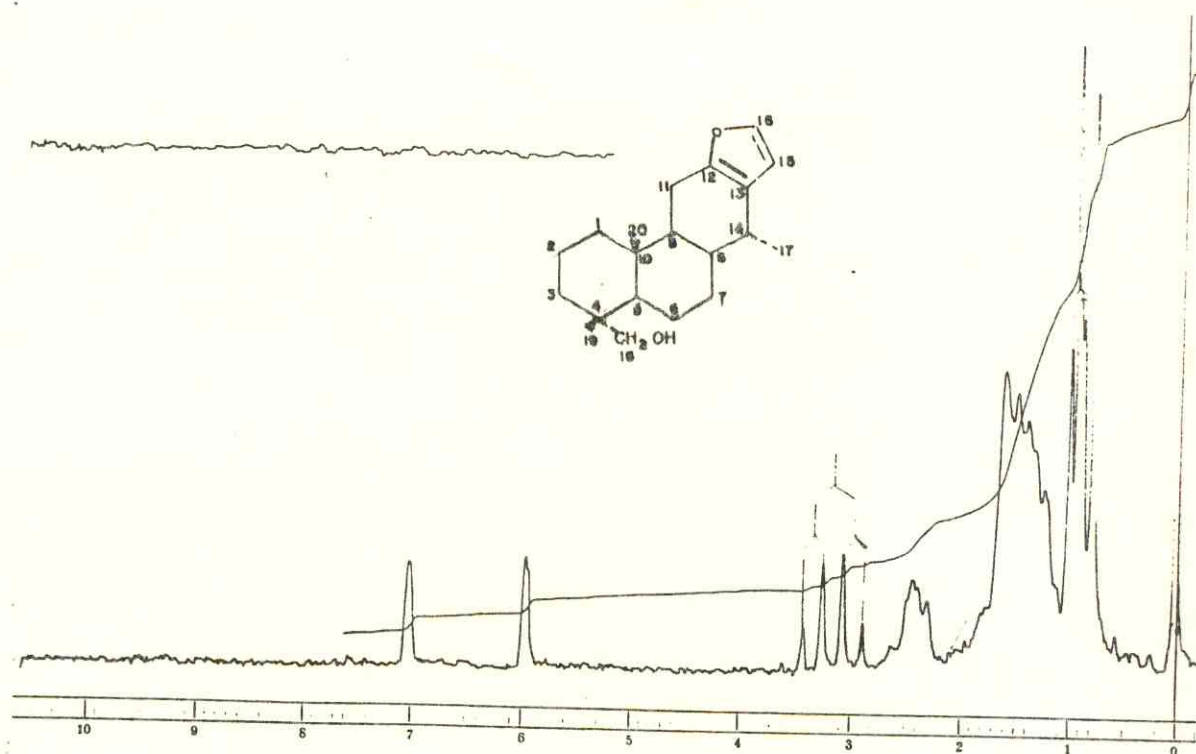


Figura 03 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-1/H  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$ )

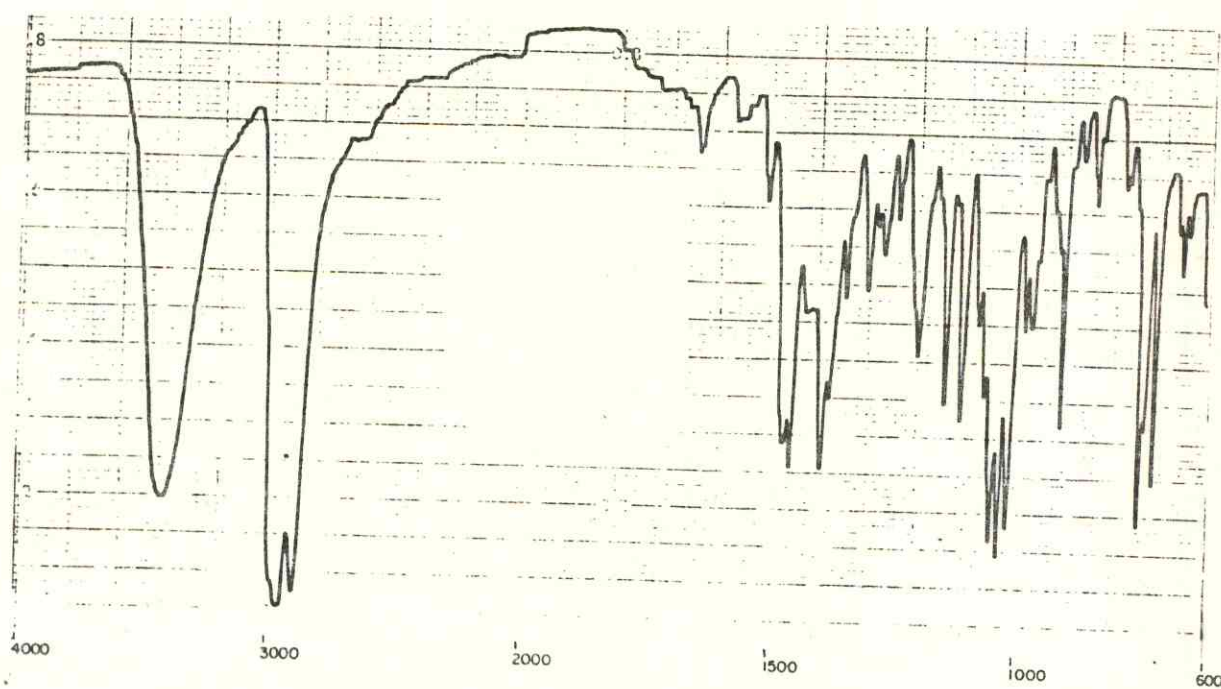


Figura 04 - Espectro de Absorção no Infravermelho PRLH-1/H (KBr)

Infravermelho, demonstraram a presença em 15a de um grupamento hidroxila.

A comparação dos dados de RMN  $^{13}\text{C}$  (Tabela 03) entre PRLH-1, 15, e seu produto de hidrólise PRLH-1/H, 15a, reforça a indicação da presença de um álcool devido a ausência dos sinais atribuídos em PRLH-1 ao grupamento acetoxila ( $171,3 \delta$ , s,  $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{C}$  e  $20,9 \delta$ , q,  $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{C} - \text{CH}_3$ ).

A presença de sinais em  $1650$ ,  $1570$  e  $1510 \text{ cm}^{-1}$  no espectro Infravermelho; em  $7,03\delta$  ( $1\text{H}$ , d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ ) e  $5,9\delta$  ( $1\text{H}$ , d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ ) no espectro de RMN  $^1\text{H}$  e  $149,6 \delta$  (s, C-12);  $140,2\delta$  (2, C-16),  $122,4 \delta$  (s, C-13) e  $109,5\delta$  (d, C-15) no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND, Fig. 05), confirmaram a presença do anel furânico.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 06) utilizando a técnica de APT (ATTACHED PROTON TEST)<sup>36</sup>, na determinação da multiplicidade apresentou 9 linhas de amplitude negativa das quais três correspondem aos grupos metilas (C-17, C-19, C-20) em  $17,5$ ,  $18,0$  e  $14,9 \delta$ , respectivamente; quatro aos grupos metínicos (C-5, C-8, C-9, C-14) em  $48,2$ ;  $31,6$ ;  $45,9$  e  $35,7\delta$ , respectivamente e os vinílicos C-15 ( $109,5 \delta$ ) e C-16 ( $140,2\delta$ ). Verificou-se também a existência de 11 linhas de amplitude positiva associadas as absorções dos sete grupos metilênicos (C-1, C-2, C-3, C-6, C-7, C-11 e C-18) em  $39,2$ ;  $18,0$ ;  $35,3$ ;  $21,3$ ;  $31,0$ ;  $22,2$  e  $72,1 \delta$ , respectivamente e quatro aos carbonos não hidrogenados (C-4, C-10, C-12 e C-13) em  $37,6$ ;  $37,2$ ;  $149,6$  e  $122,4\delta$  respectivamente.

A sobreposição destes dados com aqueles já existentes na literatura<sup>5</sup> para o vinhaticol, tornou possível a confirmação de sua obtenção através da hidrólise alcalina do acetato de vinhaticila.

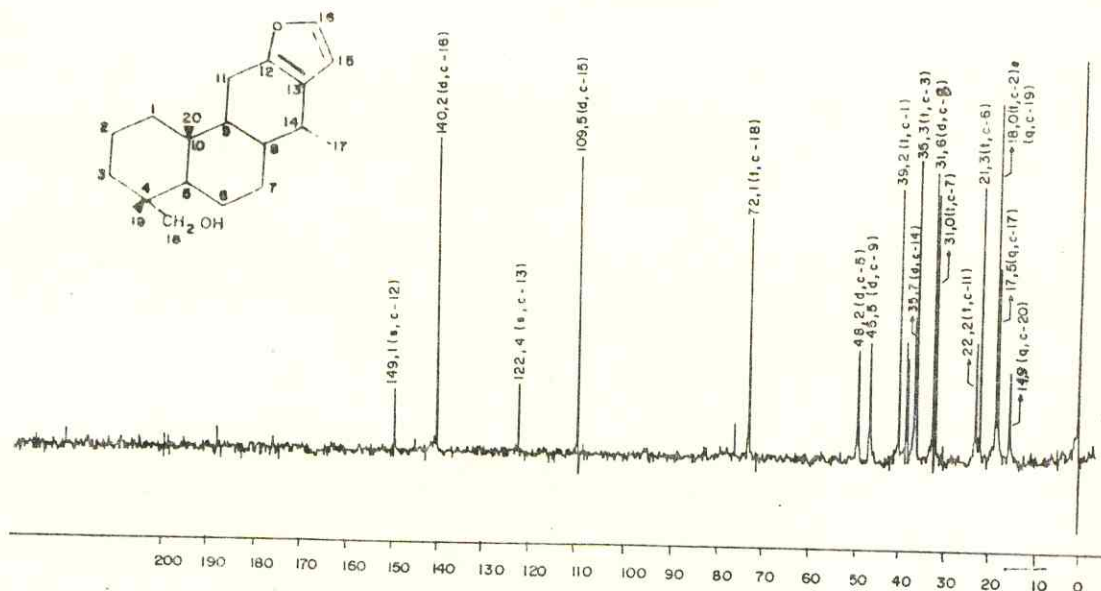


Figura 05 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C (PND) de PRLH-1/H  
( 20 MHz, CDCl<sub>3</sub> )

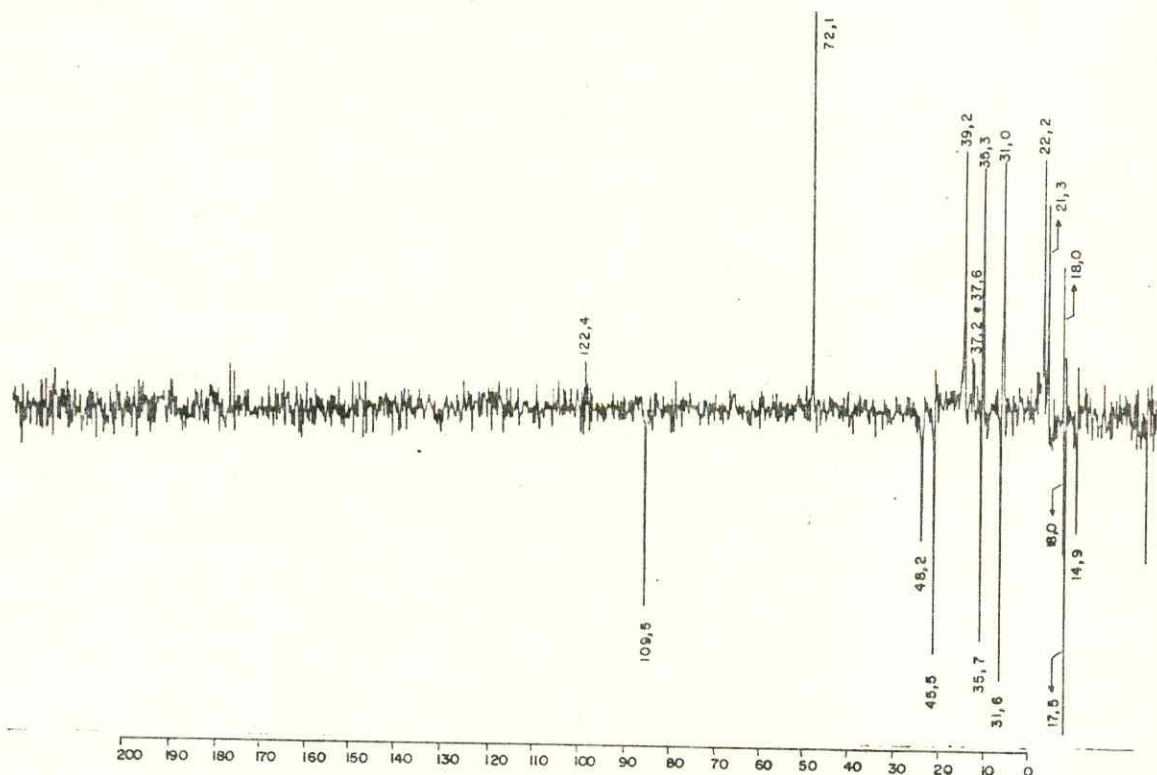


Figura 06 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C (APT) de PRLH-1/H  
( 20 MHz, CDCl<sub>3</sub> )



TABELA 2 - Dados de RMN<sup>1</sup>H (60 MHz,  $\delta$ ), do acetato de vinhaticila e derivados.

| Composto                                                        | (15)                     | (15a)                   | (15b)                  | (15c)                  | (15d)                  |
|-----------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Solvente                                                        | Tetracloroeto de carbono |                         |                        |                        | Clorofórmio            |
| Nº de próton                                                    | Desloc.Químico           | Desloc.Químico          | Desloc.Químico         | Desloc.Químico         | Desloc.Químico         |
| 15                                                              | 5,76 (1H, d, J=2,0Hz)    | 5,90 (1H, d, J=2,0Hz)   | —                      | 3,53 (m, 3H)           | 5,56 (1H, s)           |
| 16                                                              | 7,00 (1H, d, J=2,0Hz)    | 7,03 (1H, d, J=2,0Hz)   | —                      | —                      | —                      |
| 17                                                              | 1,10 (3H, d, J=7,0Hz)    | 0,95 (3H, d, J=7,0Hz)   | 0,90 (3H, d, J=7,0Hz)  | 0,83 (1H, d, J=7,0Hz)  | 1,15 (3H, d, J=7,0Hz)  |
| 18a e 18b                                                       | 3,66 (2H, q, J=11,0Hz)   | 3,16 (2H, q, J=11,0Hz)* | 3,66 (2H, q, J=11,0Hz) | 3,03 (2H, q, J=11,0Hz) | 3,66 (2H, q, J=11,0Hz) |
| 19                                                              | 0,96 (3H, s)             | 0,95 (3H, s)            | 0,90 (3H, s)           | 0,83 (3H, s)           | 0,80 (3H, s)           |
| 20                                                              | 0,90 (3H, s)             | 0,80 (3H, s)            | 0,90 (3H, s)           | 0,72 (3H, s)           | 0,80 (3H, s)           |
| $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}$ | 2,10 (3H, s)             | —                       | 2,03 (3H, s)           | —                      | 2,10 (3H, s)           |

TABELA 3 - Dados de RMN<sup>13</sup>C do acetato de vinhaticila e derivados

| Composto                 | (15)           | (15a)         | (15c)          | (15d)         |
|--------------------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| Solvente                 | Clorofórmio    |               |                |               |
| Nº do Carbono            | Desl.Quím. (δ) | Desl.Quím (δ) | Desl.Quím. (δ) | Desl.Quím (δ) |
| 1                        | 39,1(t)        | 39,2(t)       | 38,9(t)        | 38,0(t)       |
| 2                        | 17,9(t)        | 18,0(t)       | 18,1(t)        | 18,0(t)       |
| 3                        | 35,3(t)        | 35,3(t)       | 35,5(t)        | 35,8(t)       |
| 4                        | 36,5(s)        | 37,6(s)       | 37,7(s)        | 36,6(s)       |
| 5                        | 49,5(d)        | 48,2(d)       | 48,7(d)        | 49,0(d)       |
| 6                        | 21,6(t)        | 21,3(t)       | 21,7(t)        | 21,5(t)       |
| 7                        | 31,0(t)        | 31,0(t)       | 31,7(t)        | 30,4(t)       |
| 8                        | 31,5(d)        | 31,6(d)       | 38,4(d)        | 36,9(d)       |
| 9                        | 45,7(d)        | 45,5(d)       | 42,1(d)        | 45,1(d)       |
| 10                       | 37,3(s)        | 37,2(s)       | 36,6(s)        | 38,9(s)       |
| 11                       | 22,3(t)        | 22,2(t)       | 26,5(t)        | 21,5(t)       |
| 12                       | 149,6(s)       | 149,6(s)      | 78,3(d)        | 106,5(s)      |
| 13                       | 122,4(s)       | 122,4(s)      | 41,9(d)        | 173,6(s)      |
| 14                       | 35,7(d)        | 35,7(d)       | 35,2(d)        | 40,7(d)       |
| 15                       | 109,5(d)       | 109,5(d)      | 30,0(t)        | 113,1(d)      |
| 16                       | 140,3(d)       | 140,2(d)      | 66,5(t)        | 173,6(s)      |
| 17                       | 17,5(q)        | 17,5(q)       | 16,7(q)        | 13,0(q)       |
| 18                       | 73,3(t)        | 72,1(t)       | 72,4(t)        | 73,2(t)       |
| 19                       | 17,9(q)        | 18,0(q)       | 18,1(q)        | 18,0(q)       |
| 20                       | 14,9(q)        | 15,0(q)       | 15,0(q)        | 14,8(q)       |
| CH <sub>3</sub> -C(=O)-  | 171,0(s)       | -             | -              | 171,5(s)      |
| -CH <sub>3</sub> -C(=O)- | 20,9(q)        | -             | -              | 21,0(q)       |

Estruturas: Ver esquema 01

A hidrogenação do acetato de vinhaticila sobre Pd/C-10% em metanol (Esquema 01) levou a formação de dois produtos que foram separados por cromatografia em coluna de sílica gel. Das frações de menor polaridade foi obtido um material oleoso, PRLH-1/Ha, 15b. O seu espectro Infravermelho apresentou absorções características de éster ( $1710$ ,  $1220$ ,  $1020\text{ cm}^{-1}$ ) e ausência das absorções associadas ao anel furânico ( $1570$  e  $1510\text{ cm}^{-1}$ ) em comparação com PRLH-1. A presença de grupo acetoxila em PRLH-1/Ha foi estabelecida no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 07) pelo sinal em  $2,03\text{ }\delta$  ( $3\text{H}$ , s) do mesmo modo que o sinal em  $3,66\text{ }\delta$  ( $2\text{H}$ ,  $q_{AB}$ ,  $J = 11,0\text{ Hz}$ ) foi associado aos prótons H-18a e H-18b.

Foi possível verificar ainda a ausência dos dois dupletos em campo baixo (observados para PRLH-1, 15, em  $7,0$  e  $5,7\delta$ ) característicos dos prótons do anel furânico (Tabela 02). A existência no espectro de massa de PRLH-1/Ha ( $M^+$  348), Figura 08, dos fragmentos  $m/z$  165 e  $m/z$  97 (Esquema 02) justificou a obtenção do devido tetrahidrogenado.

Com base nestes argumentos foi possível propor a estrutura 15b para PRLH-1/Ha, como resultado da hidrogenação do acetato vinhaticila.

O produto de maior polaridade resultante da hidrogenação do acetato de vinhaticila, PRLH-1/Hb, 15c, material sólido (p.f.  $124-125^\circ\text{C}$ ), apresentou em seu espectro Infravermelho, Fig. 09, absorções características de álcool ( $3370\text{ cm}^{-1}$ ); ausência de estiramento carbonílico e de estiramento  $\text{C} = \text{C}$ . O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 10) mostrou, em semelhança a 15a, um sinal em  $3,03\text{ }\delta$  ( $2\text{H}$ ,  $q_{AB}$ ,  $J = 11,0\text{ Hz}$ , H-18a, H-18b). Além disso, foi possível visualizar a existência de um multiplete centrado

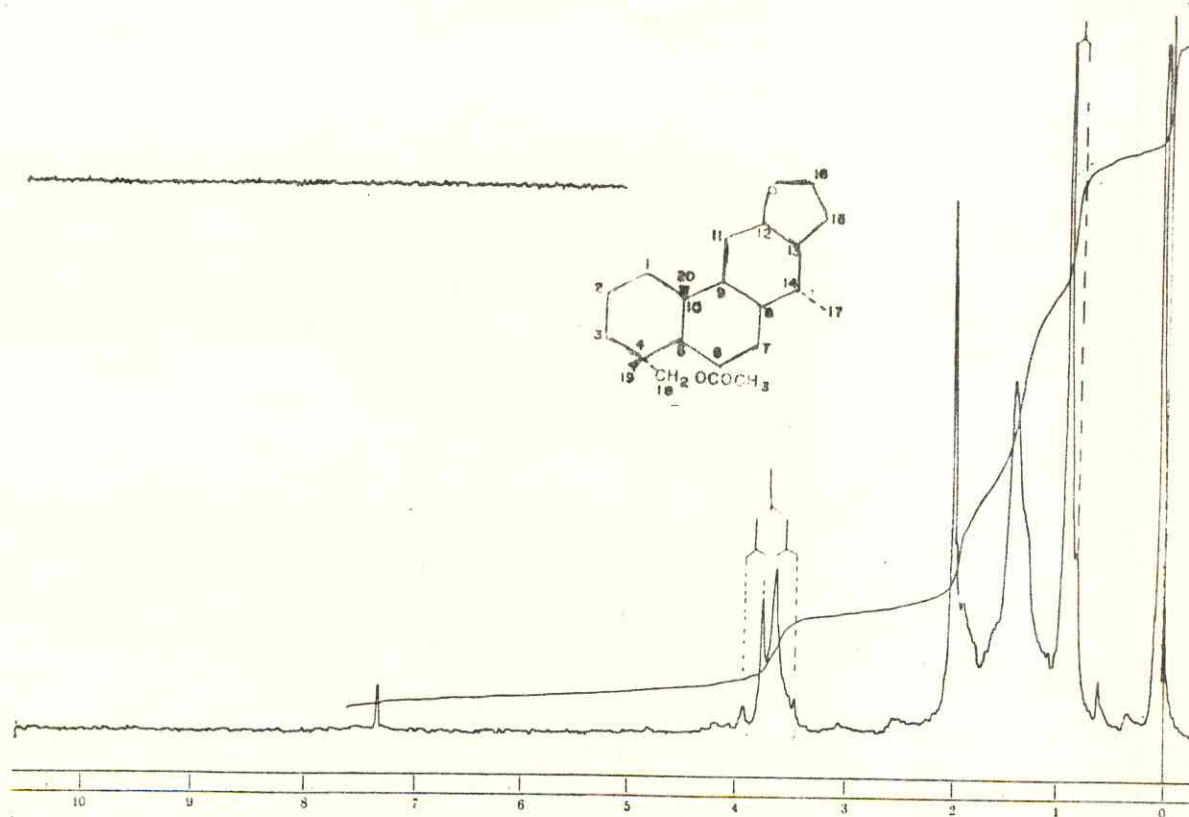


Figura 07 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-1/Ha  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

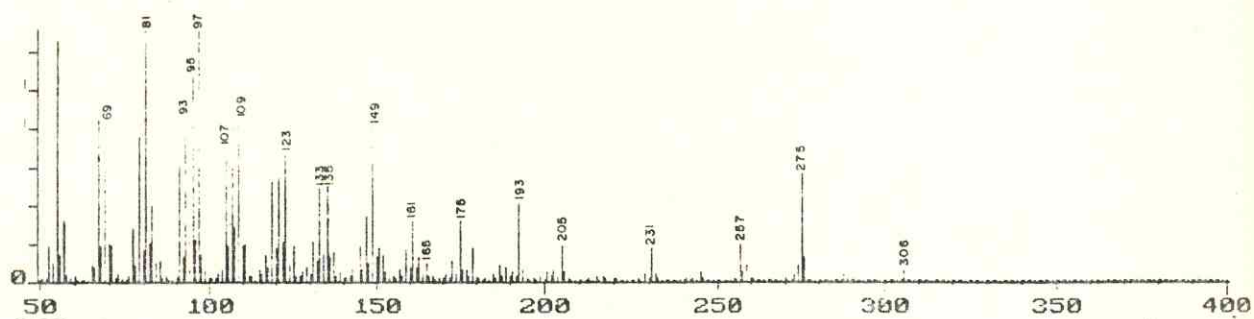
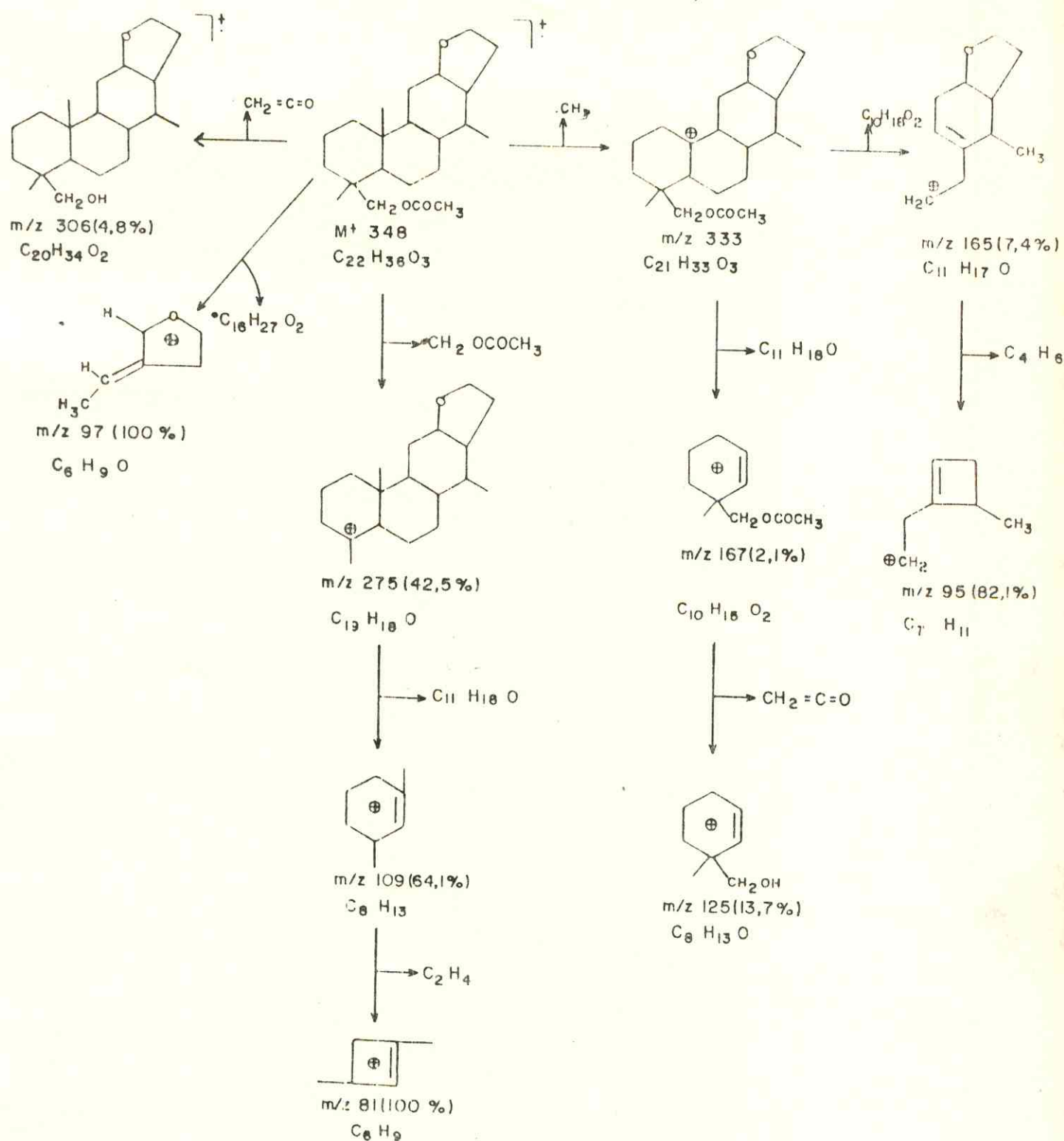


Figura 08 - Espectro de Massa de PRLH-1/Ha





ESQUEMA 02-PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE PRLH-1/Ho  
NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA

em 3,53  $\delta$ , com integração para três prótons, associados aos prótons do anel tetrahidrofurânico (H-12, H-16a e H-16b). Foi observada também a ausência do sinal atribuído ao grupo acetoxila, observado em 2,10  $\delta$  para 15. (Tabela 02).

Os sinais no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  PND e APT de 15c (Fig. 11 e 12) em 78,3 (d, C-12), 41,9 (d, C-13), 30,0 (t, C-15) e 66,5  $\delta$  (t, C-16) quando comparados com as absorções atribuídas a estes mesmos carbonos em 15 (149,6; 122,4; 109,5 e 140,2  $\delta$ , respectivamente), Tabela 03, confirmaram a hidrogenação do anel furânico.

A indicação da presença de grupamento hidroxila fornecida pelo espectro Infravermelho, ausência de grupamento acetoxila (Infravermelho, RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ ) e de absorções características de anel furânico, permitiram propor para PRLH-1/Hb a estrutura do vinhaticol hidrogenado, 15c como resultado da hidrogenação e hidrogenólise do acetato de vinhaticila (Esquema 01).



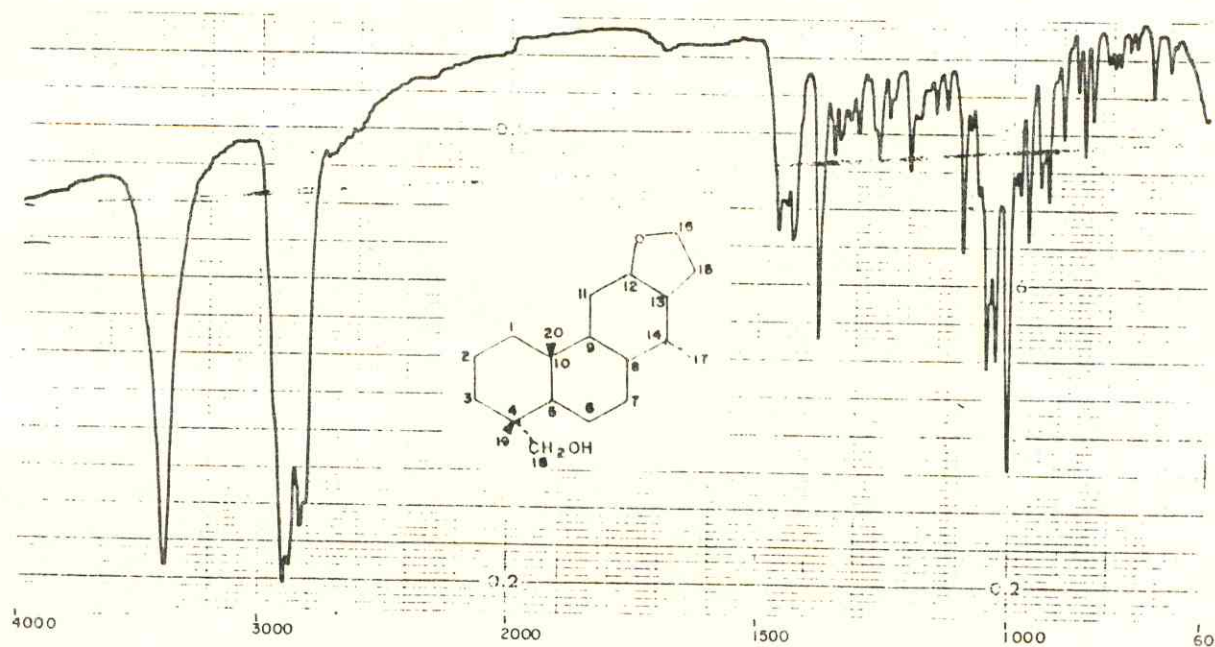


Figura 09 - Espectro de Absorção no Infravermelho de PRLH - 1/Hb

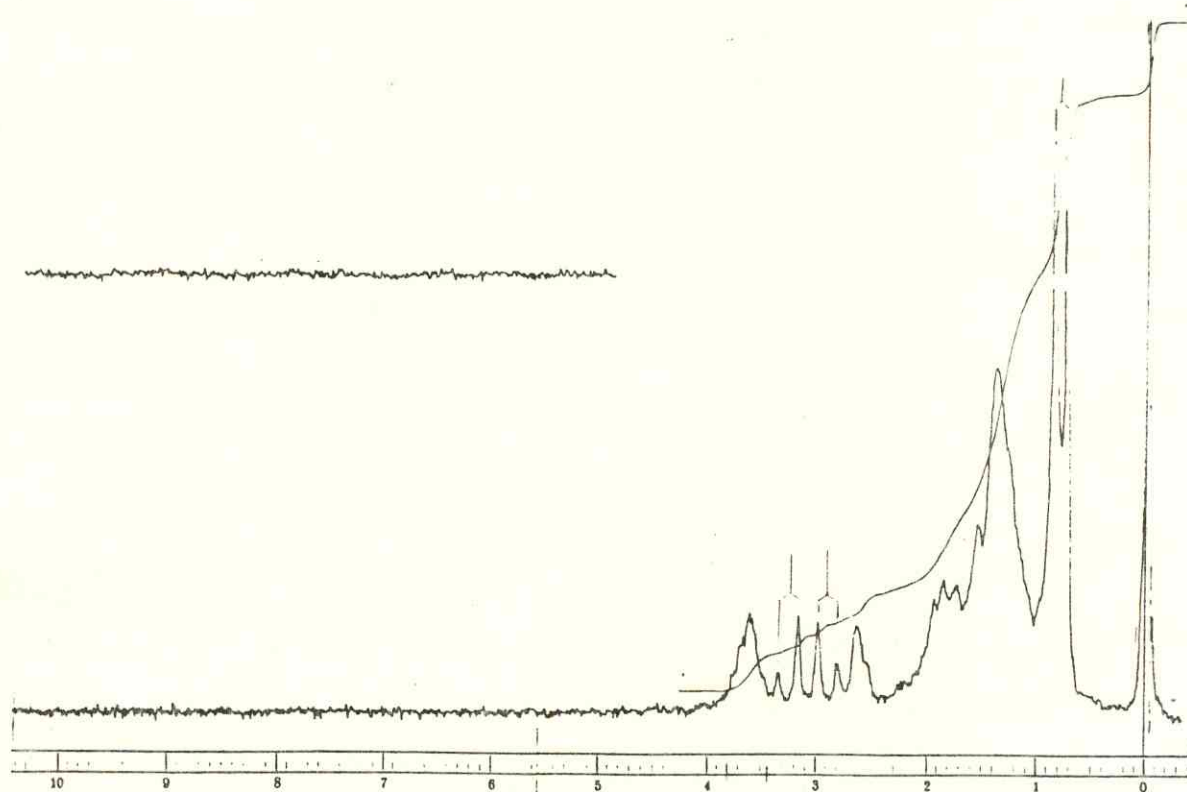
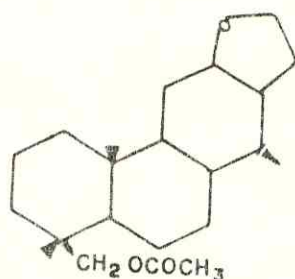


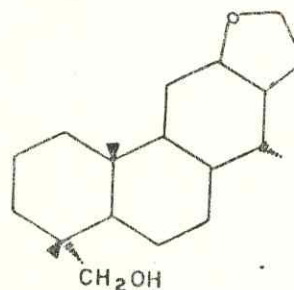
Figura 10 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH - 1/Hb  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$ , )

Com a finalidade de propor uma correlação estrutural entre os dois produtos resultantes da hidrogenação do acetato de vinhaticila em metanol, o produto de hidrogenação e hidrogenólise (PRLH-1/Hb, 15c) foi acetilado (piridina/anidrido acético), Esquema 01, resultando em um material oleoso. Os dados espectroscópicos deste produto mostraram-se sobreponíveis com aqueles propostos para 15b comprovando, deste modo, as estruturas 15b e 15c para os produtos de hidrogenação e de hidrogenação e hidrogenólise do acetato de vinhaticila, respectivamente.

A hidrogenação do acetato de vinhaticila em clorofórmio originou apenas um produto, material oleoso, cujos dados espectrais mostraram-se semelhantes aos obtidos para 15b, permitindo propor a identidade entre o produto de hidrogenação do acetato de vinhaticila em clorofórmio e o produto tetrahidrogenado do acetato de vinhaticila obtido através de hi



(15b)



(15c)



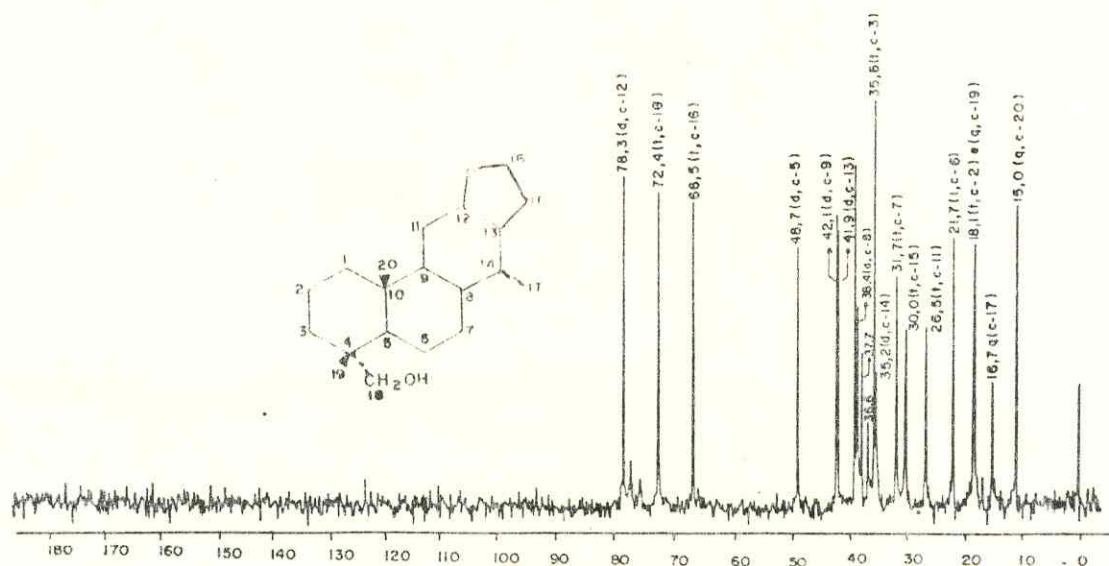


Figura 11 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C (PND) de PRLH - 1/Hb  
( 20 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

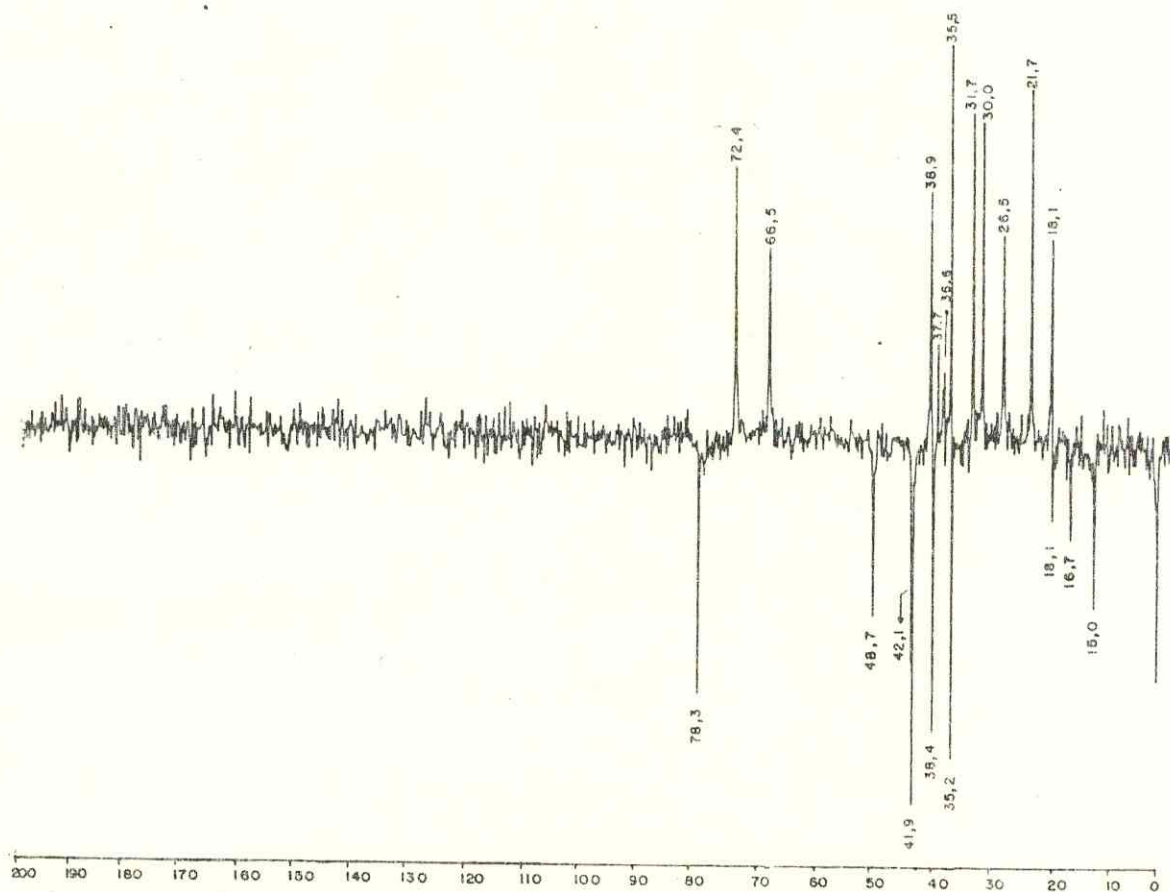


Figura 12 - Espectro de RMN<sup>13</sup>C (APT) de PRLH-1/Hb  
( 20 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

drogenação deste em metanol.

A reação do acetato de vinhaticila com óxido crômico (reagente de Jones) , Esquema 01, forneceu após a separação em coluna de sílica gel, um sólido branco (P-F.181-1849C) , 15d. O seu espectro no Infravermelho (Fig. 13) apresentou absorções características de álcool ( $3330\text{ cm}^{-1}$ ), de grupamentos carbonílicos ( $1730$  e  $1710\text{ cm}^{-1}$ ).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  de 15d, (Fig. 14 e Tabela 02) , mostrou um sinal em  $5,50\text{ }\delta$  ( $1\text{H}$ , s, H-15) que, juntamente com a existência de absorção em  $1640\text{ cm}^{-1}$  no espectro Infravermelho, tornou possível propor a presença de uma dupla trissubstituída. Os sinais no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND), Fig. 15, em  $173,6\text{ }\delta$  (s, C-13) e  $113,1\text{ }\delta$  (d, C-15) tornaram válida esta proposição.

A presença de um sinal simples no espectro de RMN  $^1\text{H}$  com integração para três prótons, em  $2,10\text{ }\delta$  e de uma absorção em  $1710\text{ cm}^{-1}$  no espectro Infravermelho foram associadas a um grupo acetoxila, comprovado no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  através de um singlete em  $171,5\text{ }\delta$  ( $\text{C}(\text{O}) - \text{CH}_3$ ) e de um quarteto em  $21,0\text{ }\delta$  ( $\text{C}(\text{O}) - \text{CH}_3$ ).

Verificou-se também, de maneira análoga a 15 , a presença de um grupo metileno ligado a um centro assimétrico através do sinal em  $3,66\text{ }\delta$  ( $2\text{H}$ ,  $q_{\text{AB}}$ ,  $J = 11,0\text{ Hz}$ , H-18a e H-18b) no espectro de RMN  $^1\text{H}$  e de uma absorção em  $73,2\text{ }\delta$  (C-18) no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , justificando a existência de um grupo acetato primário.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 16) utilizando a técnica de APT, na determinação da multiplicidade, apresentou 9 linhas de amplitude negativa: quatro delas correspondentes a quatro

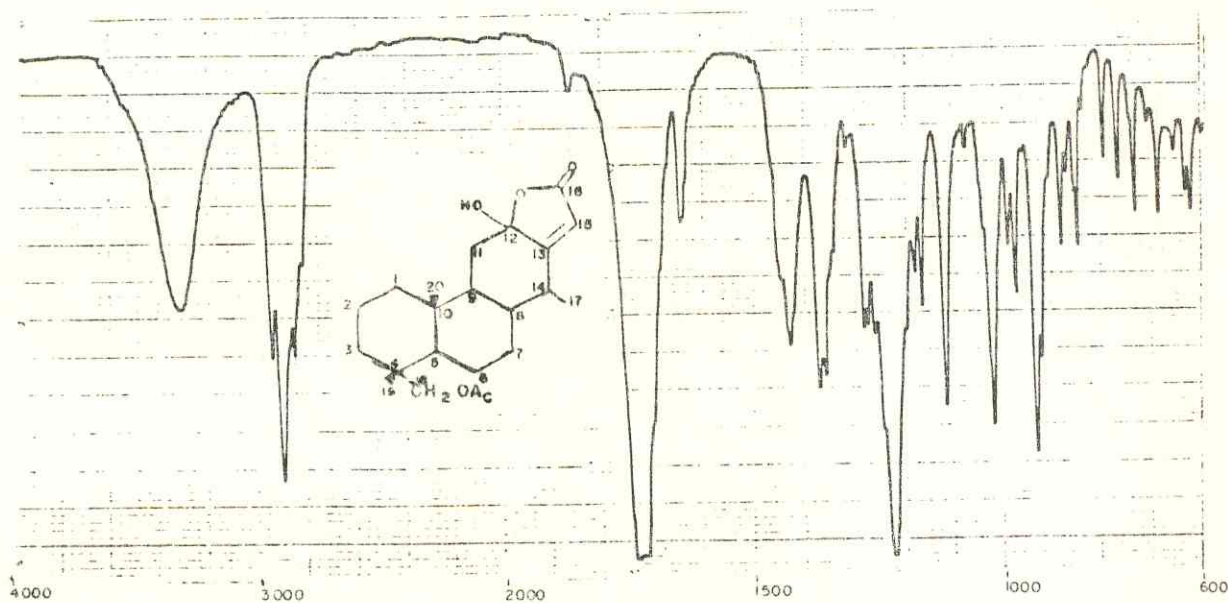


Figura 13 - Espectro de Absorção no Infravermelho de PRLH - 1/Ox

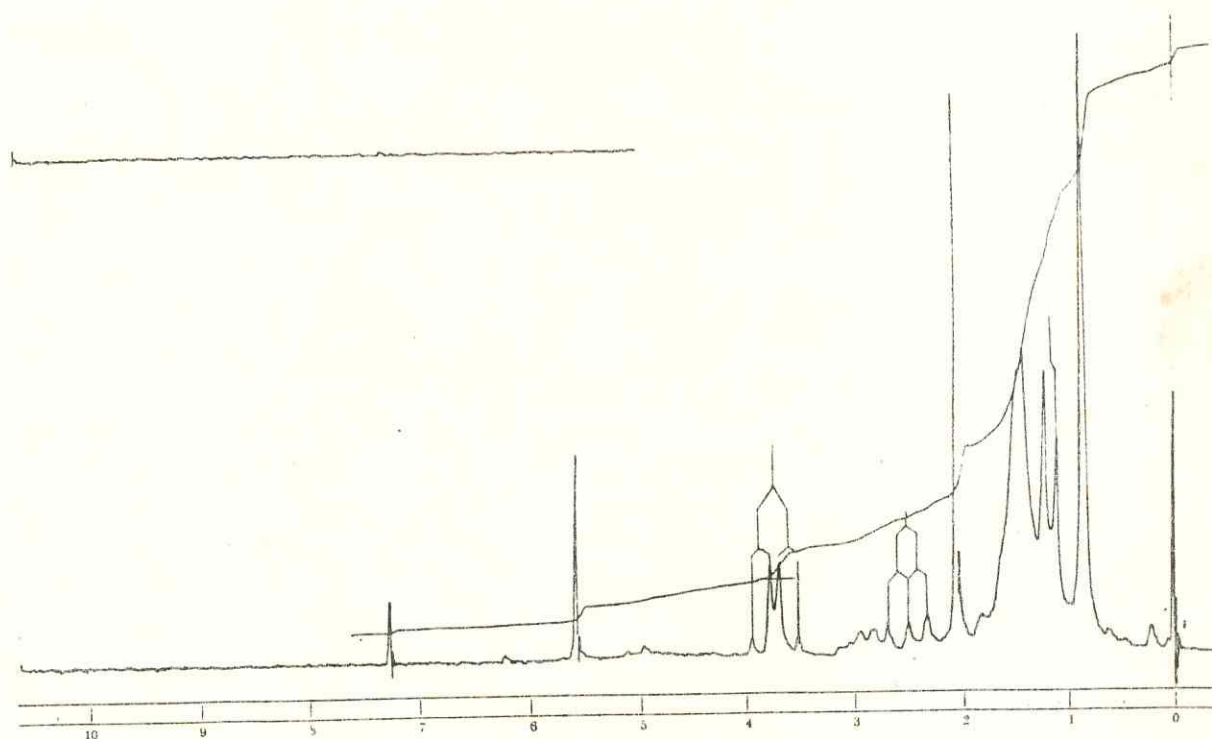


Figura 14 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de PRLH - 1/Ox  
( 60 NHz, CDCl<sub>3</sub> )

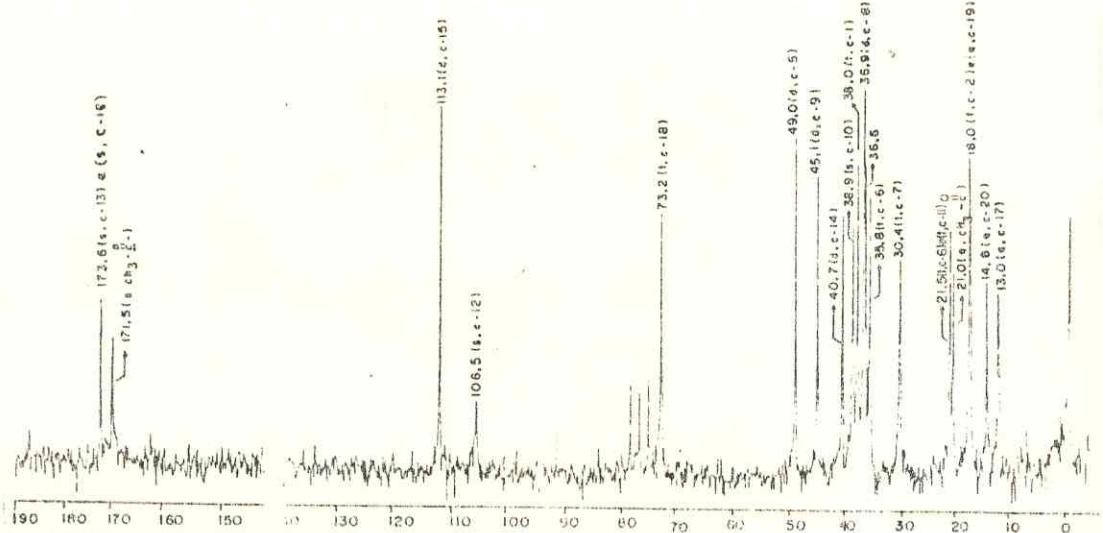


Figura 15 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND) de PRLH-1/Ox  
(20 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

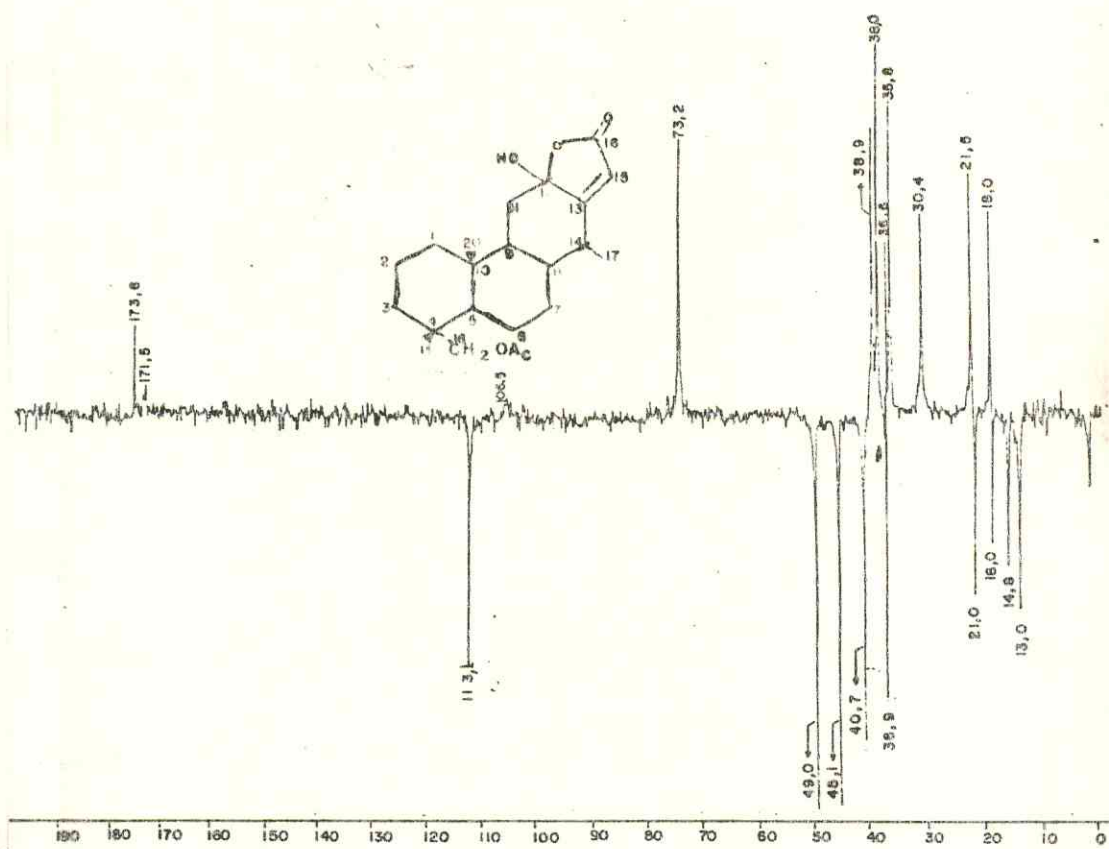


Figura 16 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (APT) de PRLH 1/Ox  
(20 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



grupos metilas (C-17, C-19, C-20 e  $\overset{\text{H}}{\text{C}} - \text{CH}_3$ ) em 13,0; 18,0; 14,8 e 21,0  $\delta$ , respectivamente, cinco grupos metínicos, dos quais quatro são saturados, (C-5, C-8, C-9 e C-14) em 49,0; 36,9; 45,1 e 40,7  $\delta$ , respectivamente, e o vinílico (C-15) em 113,1  $\delta$ . Verificou-se também a existência de 11 linhas de amplitude positiva associadas as absorções de 7 grupos metilênicos (C-1, C-2, C-3, C-6, C-7, C-11 e C-18) em 38,9; 18,0; 35,8; 21,5; 30,4 e 21,5  $\delta$  73,2 e ainda aos 6 carbonos não hidrogenados (C-4, C-10, C-12, C-13, C-16 e  $\overset{\text{O}}{\text{C}} - \text{CH}_3$ ) em 36,6; 38,9; 106,5; 173,6; 173,6 e 171,5  $\delta$ , respectivamente.

A existência no espectro no Infravermelho de uma absorção em  $3330 \text{ cm}^{-1}$ , indicando a presença de grupoameto hidroxila; a presença de duas absorções correspondentes a grupamentos carbonilas ( $1730$  e  $1710 \text{ cm}^{-1}$ ); o aparecimento de sinais no espectro de RMN  $^1\text{H}$  em 5,56  $\delta$  (1H, s, H-15) e em 2,50  $\delta$  (2H, t,  $J = 10,0 \text{ Hz}$ , H-9); ausência dos sinais correspondentes aos prótons do anel furânico dissubstituído, observados para 15 em 7,0  $\delta$  (1H, d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ ) e 5,76  $\delta$  (1H, d,  $J = 2,0 \text{ Hz}$ ) e das alterações ocorridas nos valores do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para 15d em comparação com aqueles atribuídos para o acetato de vinhaticila, 15, (Tabela 03) tornou possível propor a obtenção do lactol 15d através da oxidação do anel furânico.

A obtenção de lactóis, semelhantes a 15d, como resultado da oxidação de diterpenos cassânicos furânicos já havia sido relatada tanto através da utilização de ácido perftálico como agente oxidante<sup>16</sup> como por oxidação com reagente de JONES<sup>37</sup>.

Estes lactóis mostraram interessante atividade biológica contra cercária de S. mansoni e inibição de Cristhí-

dia fasciculata em culturas a uma concentração de 8  $\mu$ g/ml. Tal atividade não foi verificada para diterpenos furânicos<sup>15</sup>.

A correlação dos dados do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  foi feita com modelos A, B, C<sup>38-40</sup>. A numeração dos modelos foi modificada de modo a corresponder a numeração dos diterpenos furânicos. Os valores referentes aos modelos foram associados a 15d como descrito na Tabela 03a.

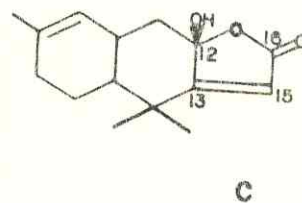
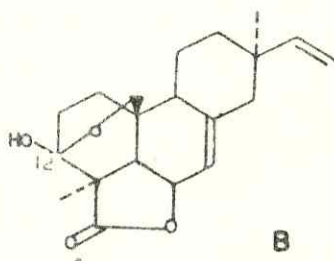
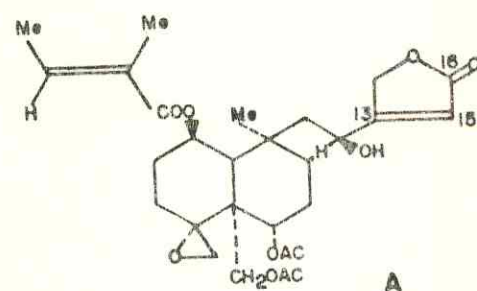
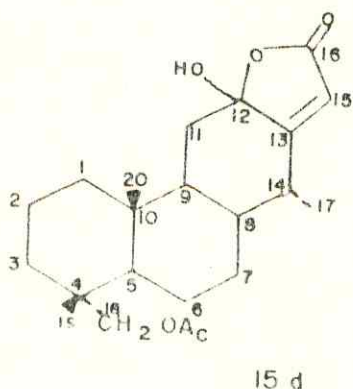


TABELA 03a - Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C do derivado  
PRLH-1/Ox e modelos da literatura<sup>38-40</sup>.

| COMPOSTO                                                                           | <u>15d</u> | <u>A</u> | <u>B</u> | <u>C</u> |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------|----------|----------|
| CARBONO                                                                            |            |          |          |          |
| 1                                                                                  | 38,0 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 2                                                                                  | 18,0 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 3                                                                                  | 35,8 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 4                                                                                  | 36,6 (s)   | _____    | _____    | _____    |
| 5                                                                                  | 49,0 (d)   | _____    | _____    | _____    |
| 6                                                                                  | 21,5 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 7                                                                                  | 30,4 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 8                                                                                  | 36,9 (d)   | _____    | _____    | _____    |
| 9                                                                                  | 45,1 (d)   | _____    | _____    | _____    |
| 10                                                                                 | 38,9 (s)   | _____    | _____    | _____    |
| 11                                                                                 | 21,5 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 12                                                                                 | 106,5 (s)  | _____    | 96,6     | 104,9    |
| 13                                                                                 | 173,6 (s)  | 173,1    | _____    | 169,8    |
| 14                                                                                 | 40,7 (d)   | _____    | _____    | _____    |
| 15                                                                                 | 113,1 (d)  | 114,2    | _____    | 115,3    |
| 16                                                                                 | 173,6 (s)  | 173,2    | _____    | 174,7    |
| 17                                                                                 | 13,0 (q)   | _____    | _____    | _____    |
| 18                                                                                 | 73,2 (t)   | _____    | _____    | _____    |
| 19                                                                                 | 18,0 (q)   | _____    | _____    | _____    |
| 20                                                                                 | 14,8 (q)   | _____    | _____    | _____    |
| CH <sub>3</sub> - $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array}$ | 171,5 (s)  | _____    | _____    | _____    |
| CH <sub>3</sub> - $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array}$ | 21,0 (q)   | _____    | _____    | _____    |

Com base nestes resultados foi possível concluir que o produto obtido através da oxidação do anel furânico do Acetato de Vinhaticila corresponde ao lactol 15d.

O acetato de vinhaticila (15) e seus derivados reacionais (15a, 15b, 15c e 15d) foram submetidos a testes para avaliar as atividades antibacteriana (TABELA 04) e antifúngica (TABELA 05). Os resultados revelaram que estas substâncias apresentam fraca atividade antimicrobiana.



TABELA 4 - Resultado do teste de atividade antibacteriana<sup>a,c</sup> do acetato de vinhaticila (15) e derivados.

| Composto <sup>b</sup>                              | <u>E. coli</u> |    | <u>S. aureus</u> |    | <u>P. aeruginosa</u> |    | <u>B. subtilis</u> |    | <u>M. smegmatis</u> |    |
|----------------------------------------------------|----------------|----|------------------|----|----------------------|----|--------------------|----|---------------------|----|
|                                                    | 24             | 48 | 24               | 48 | 24                   | 48 | 24                 | 48 | 24                  | 48 |
| (15)                                               | 1              | 1  | 1                | 1  | -                    | -  | 3                  | 2  | ±                   | 2  |
| (15a)                                              | ±              | ±  | 5                | 5  | ±                    | 3  | 2                  | 1  | 6                   | 6  |
| (15b)                                              | ±              | 1  | ±                | ±  | 1                    | 1  | -                  | -  | 2                   | 2  |
| 15c                                                | -              | -  | 2                | 2  | ±                    | -  | ±                  | -  | 4                   | 4  |
| 15d                                                | ±              | 2  | 4                | 3  | 2                    | 2  | 3                  | 3  | 5                   | 5  |
| Sulfato de estreptomicina<br>1 mg/ml 25%<br>Etanol | 7              | 6  | 8                | 7  | 6                    | 5  | 9                  | 8  | 20                  | 18 |

a. Código de expressão de atividade qualitativa descrito na página 101.

b. O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração 1 mg/ml.

c. Atividade contra Escherichia coli (ATCC 10.538), Staphylococcus aureus (ATCC 6.533), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15.422), Bacillus subtilis (ATCC 6.633), Mycobacterium smegmatis (ATCC 607), em 24 e 48 horas.

TABELA 5 - Resultado do teste de atividade antifúngica<sup>a,c</sup> do acetato de vinhaticila (15) e derivados.

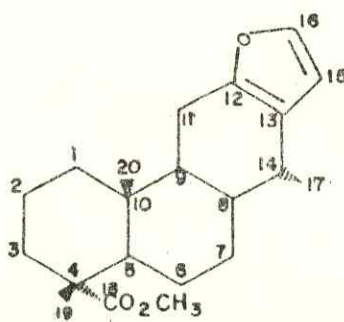
| Composto <sup>b</sup>            | <u>S.cerevisiae</u> |    | <u>C.neoformans</u> |    | <u>A.flavus</u> |    | <u>T.mentagrophytes</u> |    |
|----------------------------------|---------------------|----|---------------------|----|-----------------|----|-------------------------|----|
|                                  | 48                  | 72 | 48                  | 72 | 48              | 72 | 48                      | 72 |
| <u>15</u>                        | 2                   | 2  | +                   | -  | -               | -  | 1                       | 1  |
| <u>15a</u>                       | 3                   | 3  | 3                   | 3  | -               | -  | 4                       | 4  |
| <u>15b</u>                       | 3                   | 3  | +                   | +  | -               | -  | 4                       | 3  |
| <u>15c</u>                       | 3                   | 3  | 3                   | 3  | -               | -  | 3                       | 2  |
| <u>15d</u>                       | 3                   | 3  | +                   | -  | -               | -  | 3                       | 2  |
| Anfotericina B<br>1 mg/ml Etanol | 11                  | 8  | 13                  | 11 | 5               | 4  | 9                       | 7  |

a. Código de expressão da atividade qualitativa descrito na página 101.

b. O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração 1 mg/ml

c. Atividade contra Saccharomyces cerevisiae (ATCC 9.763), Cryptococcus neoformans (ATCC 32.264), Aspergillus flavus (ATCC 9.170).

Trichophyton mentagrophytes (ATCC 9.972) em 48 e 72 horas.

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PRLH-2 (14)

A fração hexânica, PRLH-I-H proveniente do fracionamento cromatográfico do extrato hexânico do lenho de P. reticulata (Esquema 12, pág. 115) era constituída por uma mistura de dois componentes, visualizados por cromatografia sobre camada delgada. Os métodos cromatográficos habituais (tais como: cromatografia em coluna de sílica gel e cromatografia sobre camada delgada de sílica gel em escala preparativa) não levaram ao isolamento dos dois constituintes.

O espectro do Infravermelho da mistura mostrou uma absorção intensa em  $1720\text{ cm}^{-1}$  indicando a existência de grupo carbonílico; enquanto que o espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  revelou a presença de um grupo carbometoxila em  $3,6\delta$  ( $3\text{H}, \text{s}$ ) e um grupo acetoxila em  $2,0\delta$  ( $3\text{H}, \text{s}$ ). A mistura constituída, provavelmente, por um éster metílico e um acetato foi hidrolisada ( $\text{KOH}, \text{MeOH}$ ). A análise por C.C.D. do material resultante da hidrólise mostrou que apenas um dos componentes da mistura havia reagido possibilitando, após cromatografia em coluna de sílica gel, o isolamento de um sólido branco (P.F.  $100-103^\circ\text{C}$ ) denominado PRLH-2.

PRLH-2, 14, apresentou em seu espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig. 17) os dois sinais em campo baixo,  $6,96$  ( $1\text{H}, \text{d}, J=2, \text{OHZ}$ ) e  $5,93\delta$  ( $1\text{H}, \text{d}, J=2, =\text{Hz}$ ), característicos de um anel furânico dissustituído.

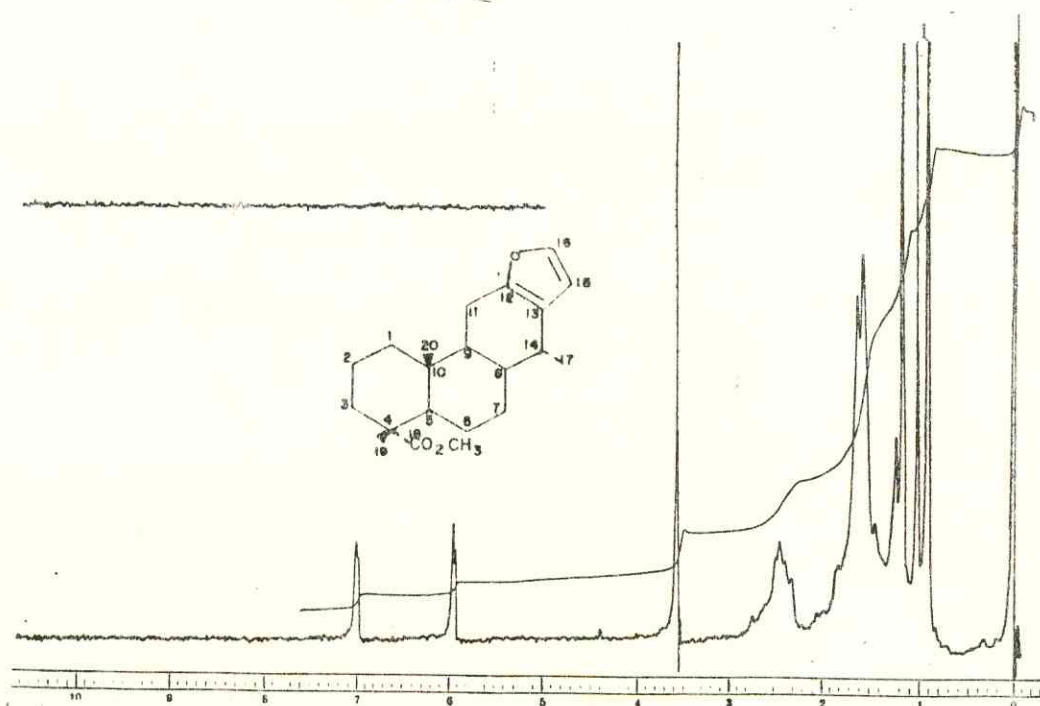


Figura 17 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PRLH-2  
(60 MHz,  $\text{CCl}_4$ )

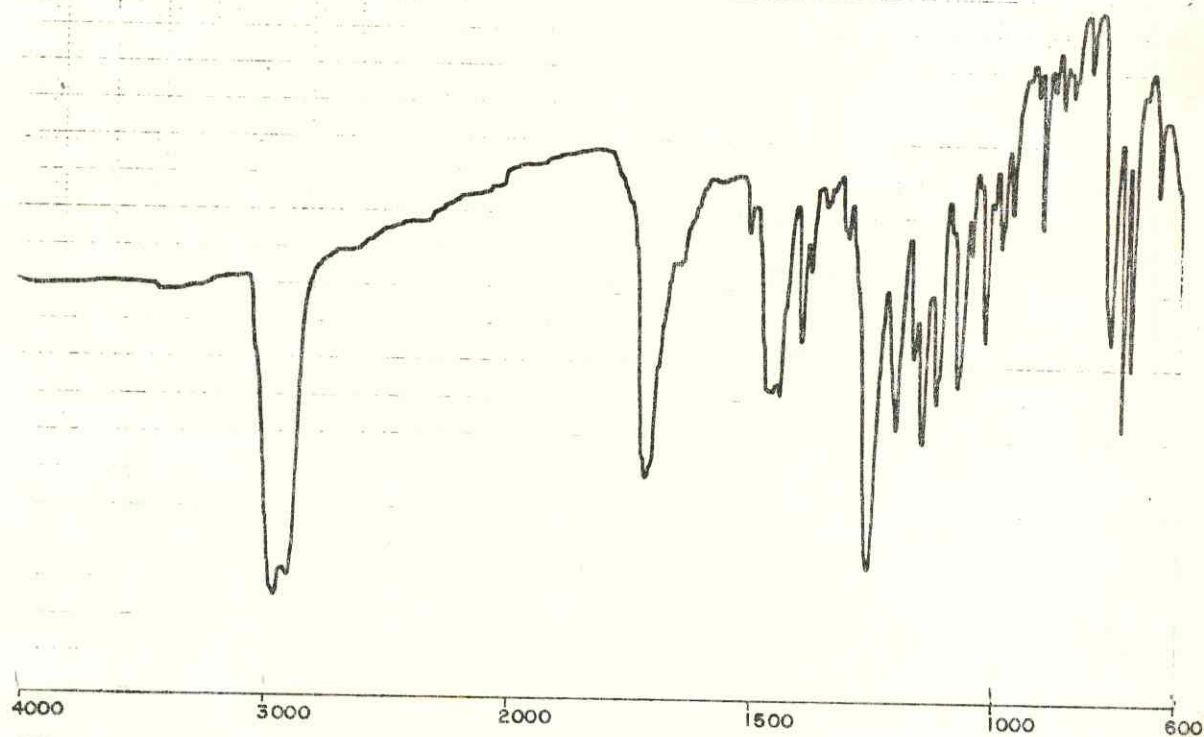


Figura 18 - Espectro no Infravermelho de PRLH-2 (KBr)

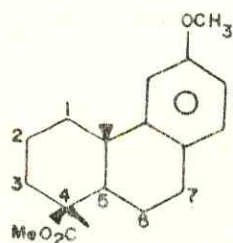


A existência em 14 de um grupo carbometoxila, proposta através do sinal em  $3,60\delta$  ( $3H, s$ ) no espectro de  $RMN^1H$ , foi confirmado no espectro Infravermelho (Fig. 18), através das absorções em  $1720$  e  $1250\text{ cm}^{-1}$  e, no espectro de  $RMN^{13}C$  (Tabela 7), pelos sinais em  $51,9\delta$  (quarteto,  $\text{CH}_3-\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}$ ) e  $171,0\delta$  (singlete, c-18). Foi evidenciada também no espectro de  $RMN^1H$  a presença de dois metilas quaternários em  $1,20\delta$  ( $3H, s$ ) e  $0,90\delta$  ( $3H, s$ ) e um metila terciário em  $1,10\delta$  ( $3H, d, J=7,0\text{Hz}$ ).

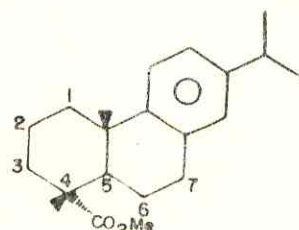
O espectro de  $RMN^{13}C$  totalmente desacoplado (PND, Fig. 19) mostrou 21 linhas sugerindo o esqueleto de um diterpeno contendo um grupo carbometoxila. Este grupo, devido ser dificilmente hidrolisado, foi associado a um éster carbonílico ligado a um carbono quaternário estericamente impedido<sup>7</sup>.

A estereoquímica do grupo carbometoxila em 14 como sendo equatorial foi proposta com base nos dados de Infravermelho e  $RMN^{13}C$ . De acordo com Bory<sup>41</sup>, a existência no espectro Infravermelho (Fig. 18) de uma absorção muito intensa em  $1240\text{ cm}^{-1}$  indica a estereoquímica equatorial uma vez que em axial não é observada esta absorção e sim uma outra localizada em  $1155\text{ cm}^{-1}$ .

A utilização de modelos (D e E)<sup>39</sup> permitiu comprovar no espectro de  $RMN^{13}C$  a estereoquímica de C-4. O modelo D, apresenta o grupo carbometoxila em C-4 na posição axial, o deslocamento químico observado para este carbono é  $47,7\delta$  (Tabela 7). Enquanto que no modelo E é observada uma proteção,  $44,0\delta$ , devido a ausência de interação 1,3-diaxial. Já o carbono C-5 é menos protegido  $\Delta 7,9\delta$  no composto que possui a carbometoxila em posição axial (modelo D).



D



E

|     |       |     |       |
|-----|-------|-----|-------|
| C-1 | 38,0δ | C-1 | 39,4δ |
| C-2 | 18,6δ | C-2 | 20,0δ |
| C-3 | 36,7δ | C-3 | 37,6δ |
| C-4 | 47,7δ | C-4 | 44,0δ |
| C-5 | 44,9δ | C-5 | 52,8δ |
| C-6 | 21,9δ | C-6 | 21,1δ |
| C-7 | 30,0δ | C-7 | 31,2δ |

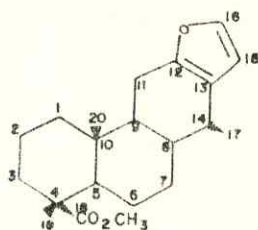
Com base nos valores dos carbonos C-4 e C-5 nos modelos acima e na comparação com os valores atribuídos a estes mesmos em PRLH-2, 14 (Tabela 7), foi possível confirmar a estereoquímica equatorial do grupo carbometoxila.

Os dados desta substância quando comparados com alguns dados já existentes na literatura<sup>7</sup> e <sup>16</sup> tornou possível a proposição da estrutura do vinhaticoato de metila para PRLH-2. O vinhaticoato de metila, 14, já isolado das espécies P. foliolosa<sup>7</sup> e P. reticulata<sup>5</sup>, teve a sua estrutura determinada por difratometria de Raios-X.

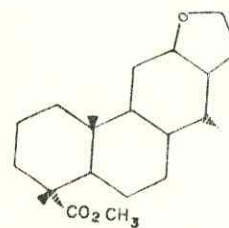
A segunda substância, PRLH-1/H, separada por cromatografia em coluna de sílica gel do produto de hidrólise (pág. 24) material sólido (p.f. 121-123°C), foi caracterizado como vinhaticol 15a, uma vez que os dados espectroscópicos (RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e Infravermelho) mostraram-se sobreponíveis com os obtidos pa

TABELA 06 - Dados de RMN<sup>1</sup>H de vinhaticoato de metila 14 e derivado tetrahidrogenado 14a.

| COMPOSTO                  | <u>14</u>               | <u>14a</u>            |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------|
| SOLVENTE                  | TETRACLORETO DE CARBONO |                       |
| Nº DO H                   | DESLOC. QUIM (δ)        | DESLOC. QUIM. (δ)     |
| 15                        | 5,93 (1H, d, J=2,0HZ)   | -                     |
| 16                        | 6,96 (1H, d, J=2,0HZ)   | -                     |
| 17                        | 1,00 (3H, d, J=7,0HZ)   | 0,86 (3H, d, J=7,0HZ) |
| 19                        | 1,20 (3H, s)            | 1,20 (3H, s)          |
| 20                        | 0,93 (3H, s)            | 0,88 (3H, s)          |
| CH <sub>3</sub> -O-C(=O)- | 3,60 (3H, s)            | 3,63 (3H, s)          |



14



14a

TABELA 07 - Dados de RMN<sup>13</sup>C do vinhaticoato de metila (14) e de  
rivado tetrahydrogenado (14a)

| COMPOSTO                                                         | <u>14</u>              | <u>14a</u>             |
|------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------|
| SOLVENTE                                                         | CLOROFÓRMIO            |                        |
| Nº DO CARBONO                                                    | DESLOCAMENTO QUÍM. (δ) | DESLOCAMENTO QUÍM. (δ) |
| 1                                                                | 35,7 (t)               | 36,9 (t)               |
| 2                                                                | 17,6 (t)               | 18,0 (t)               |
| 3                                                                | 47,6 (t)               | 47,6 (t)               |
| 4                                                                | 49,7 (s)               | 47,6 (s)               |
| 5                                                                | 45,7 (d)               | 42,3 (d)               |
| 6                                                                | 31,5 (t)               | 31,5 (t)               |
| 7                                                                | 30,8 (t)               | 24,5 (t)               |
| 8                                                                | 31,5 (d)               | 38,4 (d)               |
| 9                                                                | 49,7 (d)               | 49,9 (d)               |
| 10                                                               | 38,5 (s)               | 36,4 (s)               |
| 11                                                               | 22,0 (t)               | 26,2 (t)               |
| 12                                                               | 149,6 (s)              | 78,1 (d)               |
| 13                                                               | 122,4 (s)              | 41,9 (d)               |
| 14                                                               | 36,8 (d)               | 35,0 (d)               |
| 15                                                               | 109,5 (d)              | 30,0 (t)               |
| 16                                                               | 140,3 (d)              | 66,2 (t)               |
| 17                                                               | 17,0 (q)               | 17,1 (q)               |
| 18                                                               | 171,0 (s)              | 179,3 (s)              |
| 19                                                               | 17,9 (q)               | 14,5 (q)               |
| 20                                                               | 14,6 (q)               | 11,0 (q)               |
| $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-$ | 51,9 (q)               | 51,7 (q)               |



ra o produto de hidrólise do acetato de vinhaticila (pág.27).

O vinhaticoato de metila, 14, foi submetido a hidrogenação (Pd.C 10%), em metanol (Esquema 03), obtendo-se após a elaboração um sólido branco (p.f.74-76°C), 14a, cujos dados de RMN<sup>1</sup>H e RMN<sup>13</sup> estão descritos nas Tabelas 6 e 7.

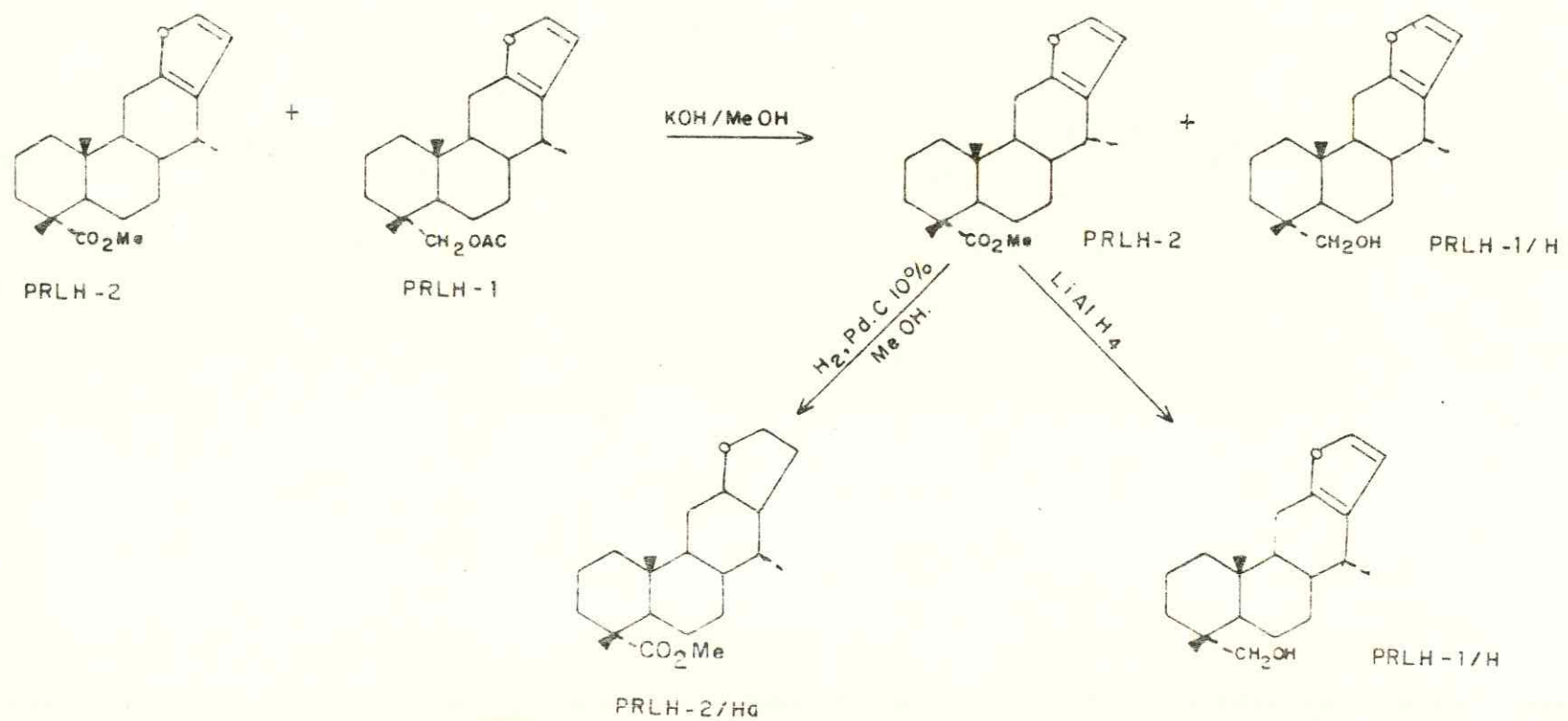
A ausência em seu espectro de RMN<sup>1</sup>H (Fig. 20) dos dois sinais em campo baixo (observados em 6,96 e 5,93δ para 14) foi indicativo da hidrogenação do anel furânico. A existência do anel tetrahydrofurânico para este derivado foi também proposta baseada no espectro de RMN<sup>13</sup>H (PND), fig.21, através da ausência dos sinais correspondentes ao anel furânico (149,6; 122,4; 140,3 e 109,5δ) e a existência de sinais em 78,1; 41,9; 30,0 e 66,2δ associados aos carbonos C-12, C-13, C-15 e C-16, respectivamente.

A presença do grupo carbometoxila foi verificada pelas absorções no Infravermelho em 1715 e 1240 cm<sup>-1</sup> e confirmada no espectro de RMN<sup>13</sup>C através dos sinais associados aos carbonos C-18 e  $\text{H}_3\text{C} - \text{O} - \overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}$  em 179,3 e 51,7δ, respectivamente.

Foi possível ainda verificar no espectro de RMN<sup>1</sup>H a presença de dois metilas quaternários (1,20 e 0,88δ) e um metila terciário (0,86δ, d, J=7, OHZ).

O espectro de RMN<sup>13</sup>C utilizando a técnica de APT, na determinação da multiplicidade (Fig.22) mostrou 9 linhas de amplitude negativa sendo quatro delas correspondentes a quatro grupos metilas (C-17, C-19, C-20,  $-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}} - \text{O} - \text{CH}_3$ ) em 17,1; 14,5; 11,1 e 51,7δ, respectivamente e seis grupos metínicos (C-5, C-8, C-9, C-12, C-13 e C-14) em 42,3; 38,4; 49,9; 78,1; 41,9 e 35,0δ, respectivamente. Foi verificada, também, a existência

ESQUEMA 03 - DERIVADOS DE PRLH - 2



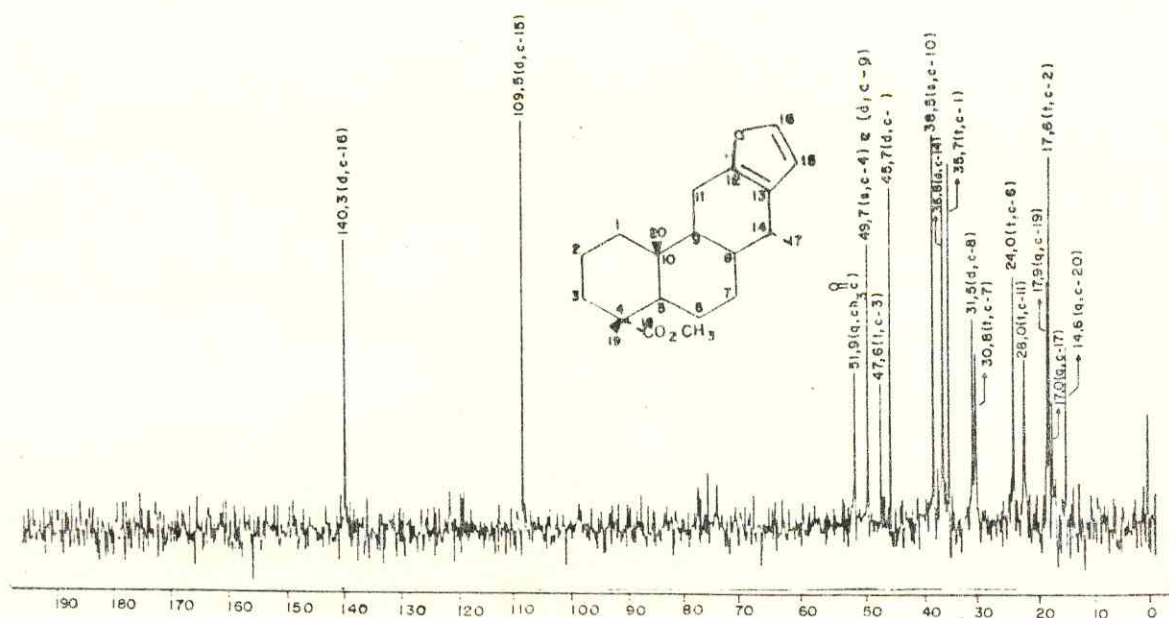


Figura 19 - Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (PND) de PRLH-2  
( 20 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

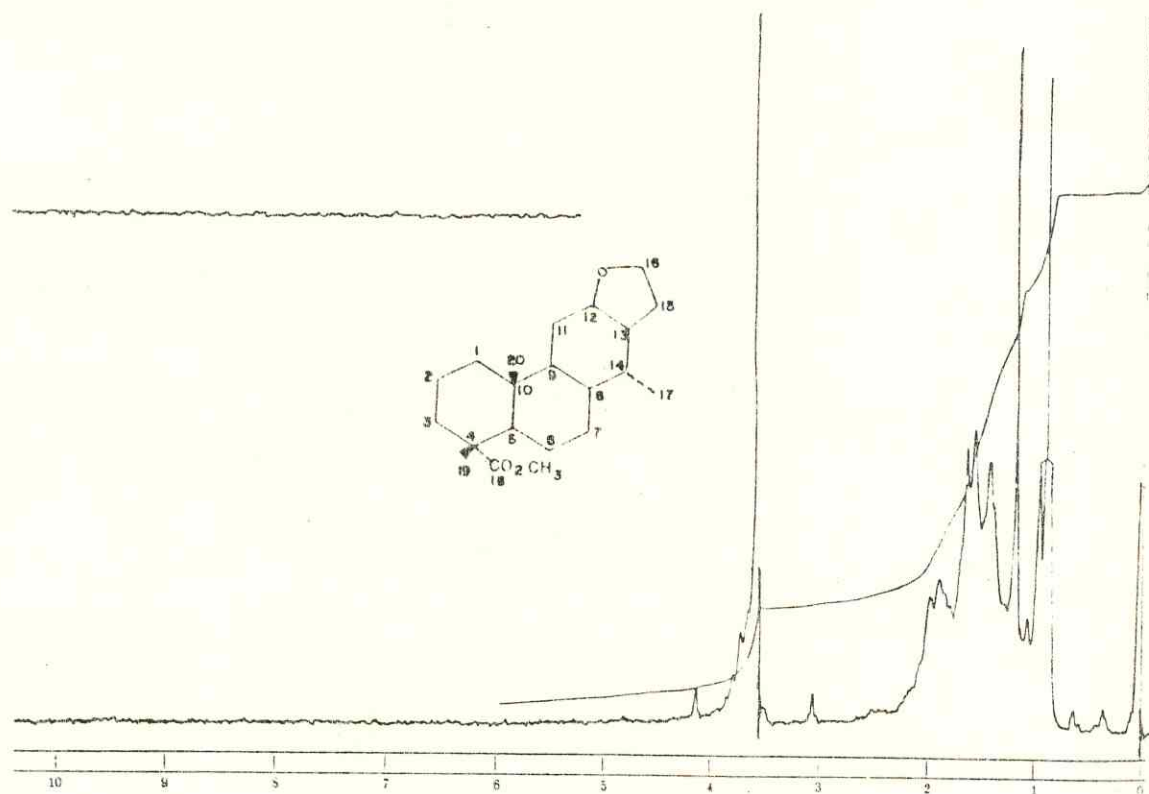


Figura 20 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH - 2/Ha  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$ )

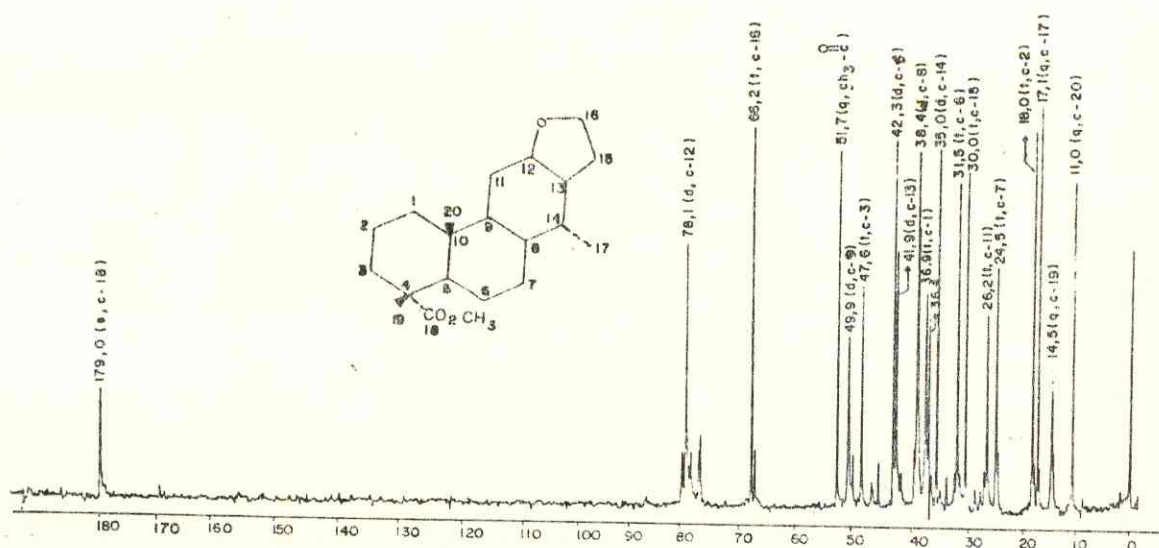


Figura 21 - Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (PND) de PRLH-2/Ha  
( 20 MHz,  $\text{CDCl}_3$  )

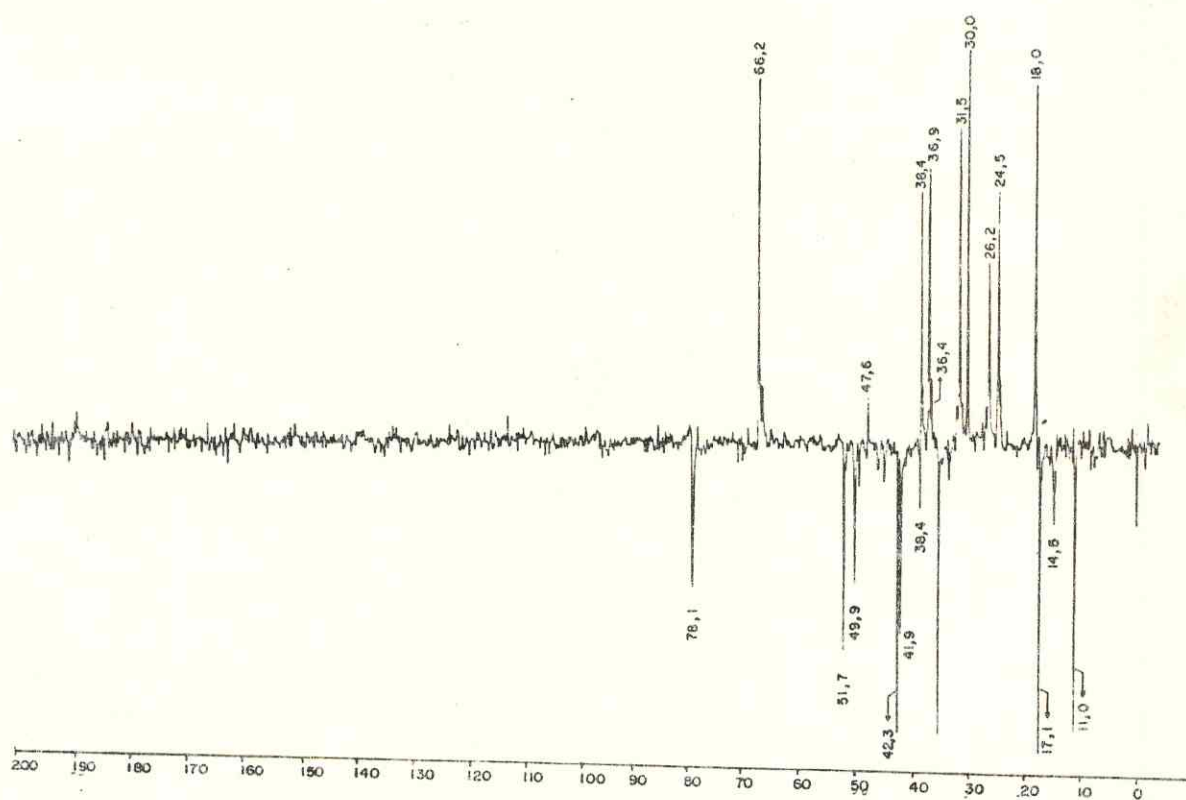


Figura 22 - Espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (APT) de PRLH-2/Ha  
( 20 MHz,  $\text{CDCl}_3$  )



de onze linhas de amplitude positiva, oito das quais associadas a grupos metilênicos (C-1, C-2, C-3, C-6, C-7, C-11, C-15 e C-16) em 36,9; 18,0; 47,6; 31,5; 24,5; 26,2; 30,0 e 66,28, respectivamente e três outras associadas aos carbonos não hidrogegados (C-4, C-10 e C-18) em 47,6; 36,4 e 179,38, respectivamente.

O aumento observado no número de grupos metilênicos no espectro de RMN<sup>13</sup>C de 14a (derivado hidrogenado de PRLH-2) (8 - CH<sub>2</sub>-) em comparação com o produto natural, 14, (6-CH<sub>2</sub>-); a diminuição do número de carbonos não hidrogenados em 14a e as demais evidências estruturais permitiram comprovar a obtenção do derivado tetrahidrofurano do vinhaticoato de metila.

O vinhaticoato de metila, 14, e o seu produto de hidrogenação, 14a, foram submetidos a testes de atividades antibacteriana (TABELA 08) e antifúngica (TABELA 09). Os resultados mostraram que ambos apresentam fraca atividade antimicrobiana.

TABELA 08 - Resultado do teste de atividade antibacteriana<sup>a,c</sup> do vinhaticoato de metila (14) e seu produto de hidrogenação (14a).

| COMPOSTO                                        | <u>E. coli</u> |    | <u>S. aureus</u> |    | <u>P. aeruginosa</u> |    | <u>B. subtilis</u> |    | <u>M. smegmatis</u> |    |
|-------------------------------------------------|----------------|----|------------------|----|----------------------|----|--------------------|----|---------------------|----|
|                                                 | 24             | 48 | 24               | 48 | 24                   | 48 | 24                 | 48 | 24                  | 48 |
| ( <u>14</u> )                                   | -              | -  | 2                | 1  | 1                    | +  | 3                  | 2  | +                   | 2  |
| ( <u>14a</u> )                                  | -              | -  | -                | -  | -                    | 3  | 2                  | 2  | 4                   | 5  |
| Sulfato de estreptomicina em etanol 1 mg/ml 25% | 7              | 6  | 8                | 7  | 6                    | 5  | 9                  | 8  | 20                  | 18 |

- a) Código de expressão de atividade qualitativa descrito na pág. 101.
- b) O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração 1 mg/ml.
- c) Atividade contra Escherichia coli (ATCC 10.538), Staphylococcus aureus (ATCC 6.533), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15.422), Bacillus subtilis (ATCC 6.633), Mycobacterium smegmatis (ATCC 607) em 24 e 48 horas.

TABELA 09 - Resultado do teste de atividade antifúngica do vinhatocoato de metila (14) e produto de hidrogenação (14a).

| COMPOSTO                         | <u>S.cerevisiae</u> |    | <u>C.neoformans</u> |    | <u>A.flavus</u> |    | <u>T.mentagrophytes</u> |    |
|----------------------------------|---------------------|----|---------------------|----|-----------------|----|-------------------------|----|
|                                  | 48                  | 72 | 48                  | 72 | 48              | 72 | 48                      | 72 |
| <u>14</u>                        | 3                   | 3  | -                   | -  | -               | -  | 2                       | 1  |
| <u>14a</u>                       | 2                   | 2  | 1                   | 1  | -               | -  | 1                       | 2  |
| Anfotericina B<br>1 mg/ml Etanol | 11                  | 8  | 13                  | 11 | 5               | 4  | 9                       | 7  |

- a) Código de expressão da atividade qualitativa descrito na pág.101.
- b) O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração 1 mg/ml. em 48 e 72 horas.
- c) Atividade contra Saccharomyces cerevisiae (ATCC 9.763), Cryptococcus neoformans (ATCC 32.264), Aspergillus flavus (ATCC 9.170), Trichophyton mentagrophytes (ATCC 9.972) em 48 e 72 horas.

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PRLH-3 (53)

A cromatografia em coluna de sílica gel da frações F-6, F-9, F-11, resultantes do fracionamento preliminar do extrato hexânico do lenho de P. reticulata (Esquema 11) originou PRLH-3, óleo incolor  $[\alpha]_D^{25} - 22,00^\circ$  (C=1,0, CHCl<sub>3</sub>). O espectro de massa ( $M^+$  290) sugeriu a fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O. O espectro de RMN<sup>13</sup>C, totalmente desacoplado (PND), apresentando 20 linhas espectrais permitiu propor a estrutura de um diterpeno.

Foram observadas, no espectro Infravermelho, absorções em 3050, 1670, 1640, 930 e 765 cm<sup>-1</sup> características de duplas ligações olefínicas (Figura 23).

Os sinais no espectro de RMN<sup>1</sup>H (Figura 24, Tabela 10) em 5,85  $\delta$  (1H, dd, J = 10,0 e 18,0 Hz, H-14), 5,10  $\delta$  (1H, dd, J = 2,0 e 18,0 Hz, H-15a) e 4,90  $\delta$  (1H, dd, J = 2,0 e 10,0 Hz, H-15b) foram atribuídos aos prótons olefínicos de um sistema vinílico, que ficou estabelecido no espectro de RMN<sup>13</sup>C pela presença de um tripleto em 111,6  $\delta$  (C-15) e um dubleto em 145,5  $\delta$  (C-14).

A existência de uma segunda dupla ligação olefínica foi proposta baseada no sinal centrado em 5,25  $\delta$  (integração para dois prótons) atribuído a um próton de dupla trissubstituída (H-3) sobreposto com parte das absorções associadas a dupla monossubstituída. A presença de um dubleto em 122,5  $\delta$



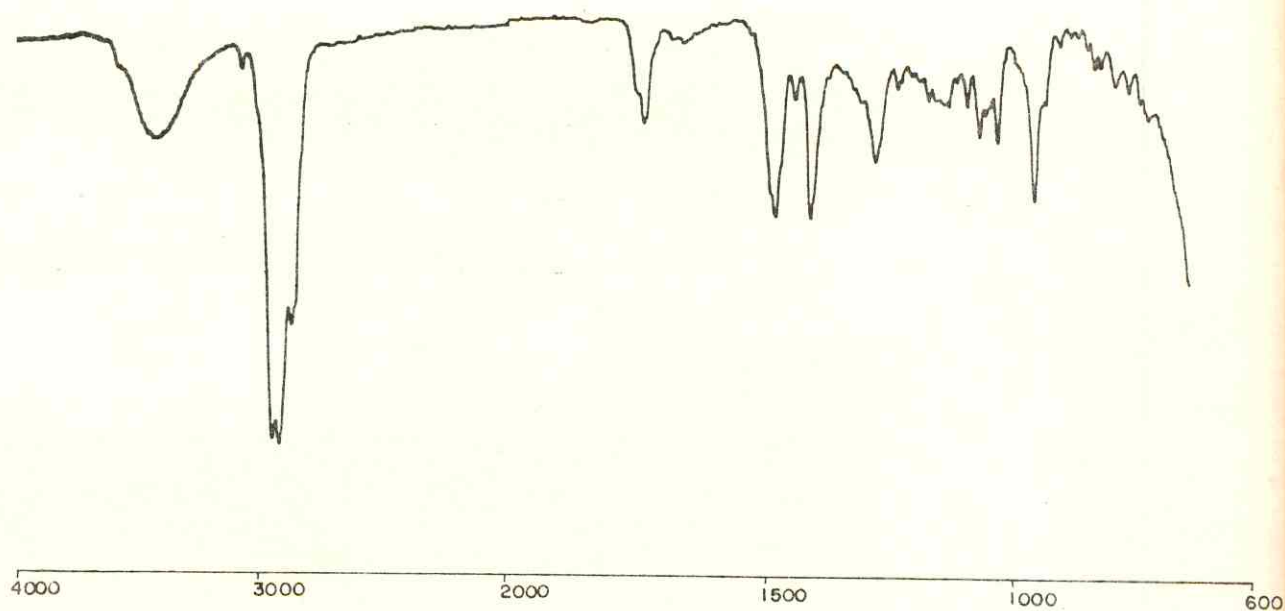


Figura 23 - Espectro no Infravermelho de PRLH-3 (KBr)

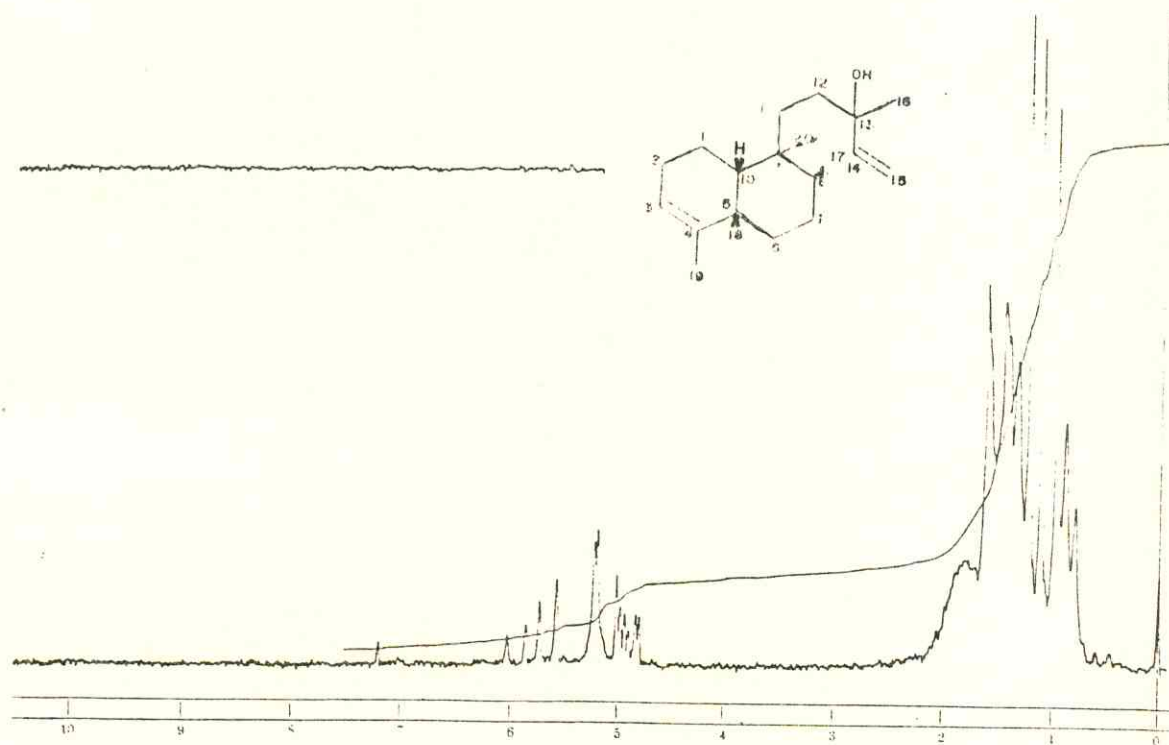


Figura 24 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-3  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

(C-3) e um singlete em 144,5  $\delta$  (C-4) no espectro de RMN<sup>13</sup>C com provaram esta proposição.

Foi possível também verificar a presença de cinco grupos metilas, dois dos quais ligados a carbonos quaternários em 1,20  $\delta$  (3H, s, H-18) e em 1,10  $\delta$  (3H, s, H-20); um metila em carbono terciário não oxigenado em 0,85  $\delta$  (3H, d, J = 6,0 Hz, H-17); um metila em carbono terciário oxigenado em 1,40  $\delta$  (3H, s, H-16) e um metila vinílico em 1,60  $\delta$  (3H, s, H-19).

O espectro de RMN<sup>13</sup>C utilizando a técnica APT na determinação da multiplicidade (Fig. 26) vem reforçar estas proposições através da existência de 09 linhas de amplitude negativa, cinco das quais correspondentes aos grupos metilas (C-16, C-17, C-18, C-19, C-20) em 28,1; 15,4; 37,5; 26,1 e 19,3  $\delta$ , respectivamente, e quatro outras correspondentes a carbonos monohidrogenados (C-3, C-8, C-10, e C-14) em 122,5; 27,4; 44,8; e 145,5  $\delta$ , respectivamente. Foi verificado também a existência de 11 linhas de amplitude positiva correspondentes aos sete grupos metilênicos (C-1, C-2, C-6, C-7, C-11, C-12 e C-15) em 20,0; 25,8; 36,0; 27,2; 31,1; 32,2 e 111,6  $\delta$ , respectivamente e aos quatro carbonos quaternários (C-4, C-5, C-9 e C-13) em 144,5; 38,3, 38,7 e 73,6  $\delta$ , respectivamente.

A função oxigenada, postulada com base na fórmula molecular (C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O), foi associada a um grupamento hidroxila através das absorções no espectro Infravermelho em 3410, 1240 e 1040 cm<sup>-1</sup>. As tentativas infrutíferas de acetilação, piridina-anidrido acético, sugeriram a presença de um álcool terciário, o que foi comprovado no espectro de RMN<sup>13</sup>C através do singlete em 73,6  $\delta$ .

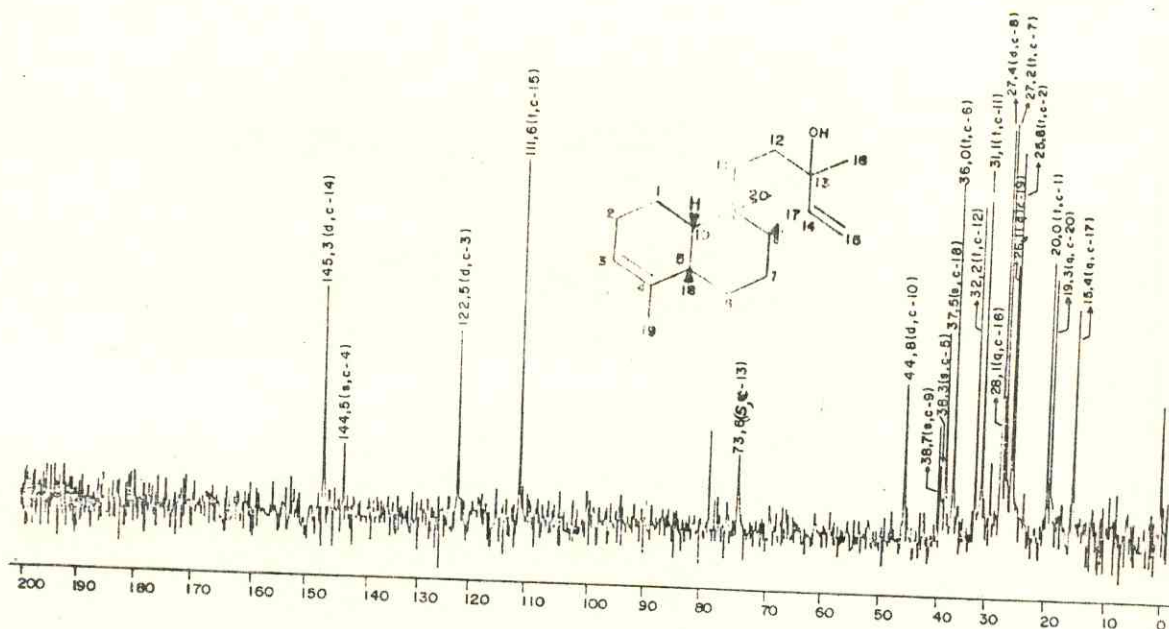


Figura 25 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (PND) de PRLH-3  
( 20 MHz,  $\text{CDCl}_3$  )

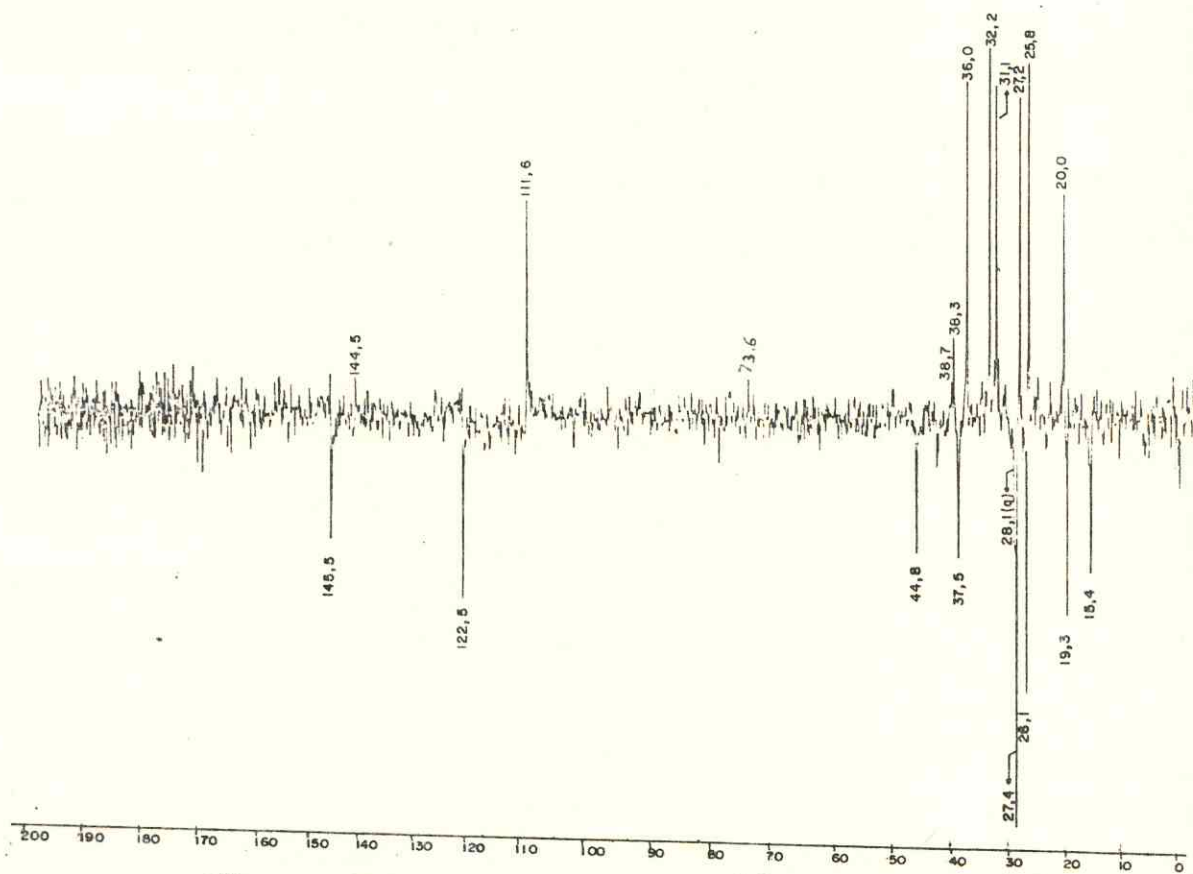


Figura 26 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (APT) de PRLH-3  
( 20 MHz,  $\text{CDCl}_3$  )

A análise dos fragmentos obtidos a partir do espectro de massa (Esquema 04) juntamente com os dados fornecidos pelas outras espectroscopias (pág. 61, RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C e Infra-vermelho) tornaram possível sugerir a estrutura de um diterpeno com esqueleto tipo Clerodano<sup>42 e 43</sup>.

A comparação com os dados existentes na literatura para esta classe de compostos, permitiu propor a estrutura do plathyterpol para PRLH-3 53, já referido anteriormente como um dos constituintes de P. reticulata<sup>44</sup>. Experimentos de difractometria de Raios-X juntamente com dispersão óptica rotatória demonstraram que o plathyterpol apresenta a fusão de anéis A:B cis<sup>45</sup>.

A correlação dos dados do espectro de RMN<sup>13</sup>C de PRLH-3 foi feita usando modelos existentes na literatura<sup>42</sup> abaixo indicados como F, G e H (Tabela 09a).

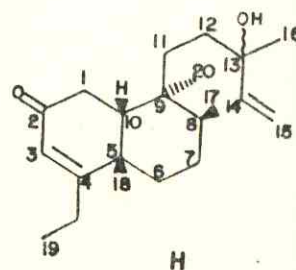
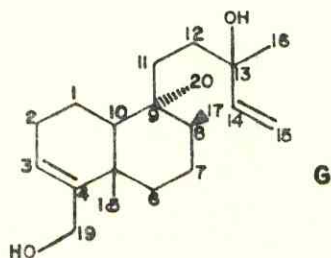
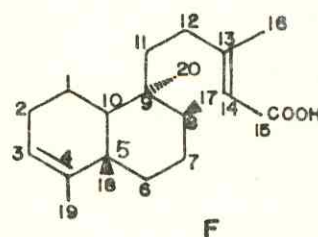
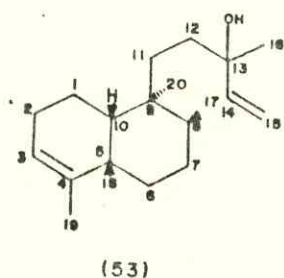
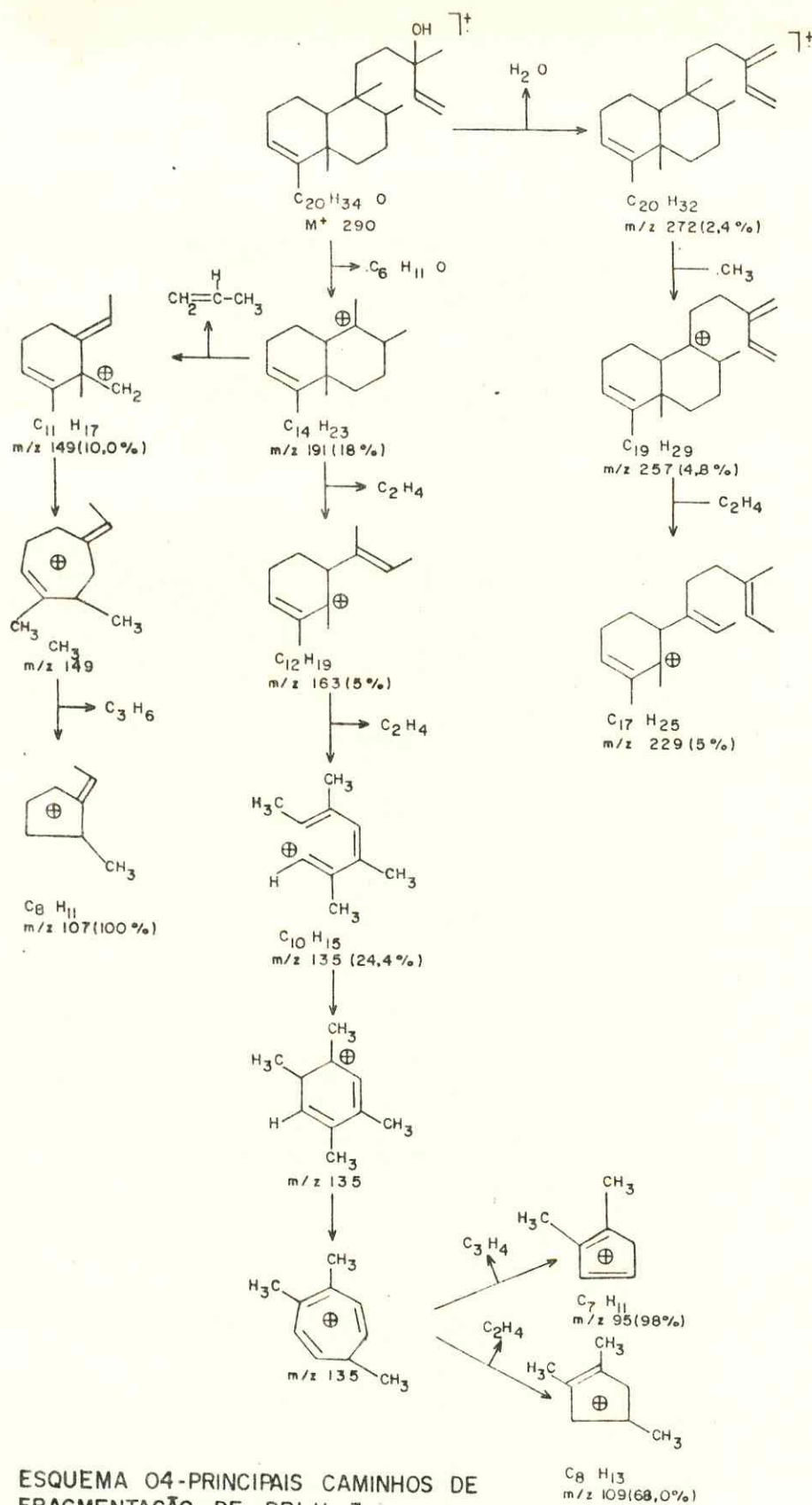




TABELA 09a - Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de PRLH-3 e modelos da literatura<sup>42</sup>.

| COMPOSTO | PRLH-3 (53) | F     | G     | H     |
|----------|-------------|-------|-------|-------|
| SOLVENTE | CLOROFÓRMIO |       |       |       |
| CARBONO  | (ppm)       | (ppm) | (ppm) | (ppm) |
| 1        | 20,0        | 18,1  | 17,2  | —     |
| 2        | 25,8        | 18,2  | 23,3  | —     |
| 3        | 122,5       | 120,2 | 124,7 | —     |
| 4        | 144,5       | 144,3 | 143,1 | —     |
| 5        | 38,3        | 38,0  | 36,0  | —     |
| 6        | 36,0        | 36,6  | 36,7  | 36,7  |
| 7        | 27,2        | 26,7  | 28,8  | 28,2  |
| 8        | 27,4        | 36,2  | 37,1  | 36,6  |
| 9        | 38,7        | 38,6  | 39,8  | 39,8  |
| 10       | 44,8        | 44,3  | 44,9  | 46,9  |
| 11       | 31,1        | —     | —     | 30,3  |
| 12       | 32,2        | —     | —     | 35,3  |
| 13       | 73,6        | —     | —     | 73,0  |
| 14       | 145,5       | —     | —     | 144,6 |
| 15       | 111,6       | —     | —     | 111,9 |
| 16       | 28,1        | —     | —     | 28,1  |
| 17       | 15,4        | 15,7  | 15,8  | 15,9  |
| 18       | 37,5        | 19,8  | 34,9  | 32,2  |
| 19       | 26,1        | 15,8  | —     | —     |
| 20       | 19,3        | 17,9  | 17,4  | 19,2  |

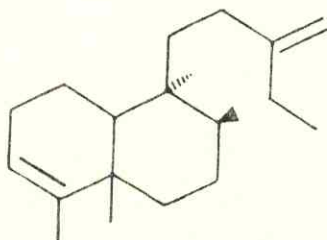


ESQUEMA 04-PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE PRLH-3

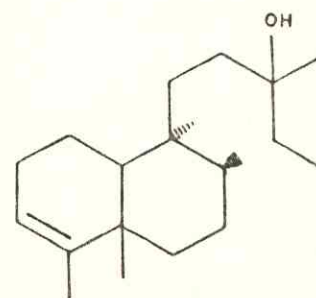
A hidrogenação de PRLH-3 (Pd. C 10% em metanol) forneceu uma mistura constituída por dois componentes separáveis por cromatografia em coluna de sílica gel (Esquema 05). O produto de hidrogenação menos molar (PRLH-3/Ha), material oleoso, mostrou através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massa ( $M^+$  274), Esquema 06, ser o resultado da hidrogenólise do plathyterpol.

O seu espectro de  $RMN^1H$  (Fig. 27) apresentou um multipeto entre 4,90 e 5,30  $\delta$  (3H) associado ao próton de dupla trissubstituída (H-3) e aos prótons da dupla dissustituída (H-16) além das absorções correspondentes a cinco grupos metilas em 1,60  $\delta$  (3H, s, H-19); 1,10  $\delta$  (6H, s, H-18 e H-20); 1,00  $\delta$  (3H, s, metila terminal) e 0,86  $\delta$  (3H, d,  $J = 6,0$  Hz, H-17). As absorções dos grupos metilas em PRLH-3/Ha quando comparados com as absorções correspondentes em PRLH-3 (Tabela 10) mostrou a ausência do sinal em 1,40  $\delta$  (3H, s) indicando a inexistência em PRLH-3/Ha de metila em carbono oxigenado. Foi verificada a ausência de dupla vinílica (observada em 5,85; 5,10 e 4,90  $\delta$  para PRLH-3).

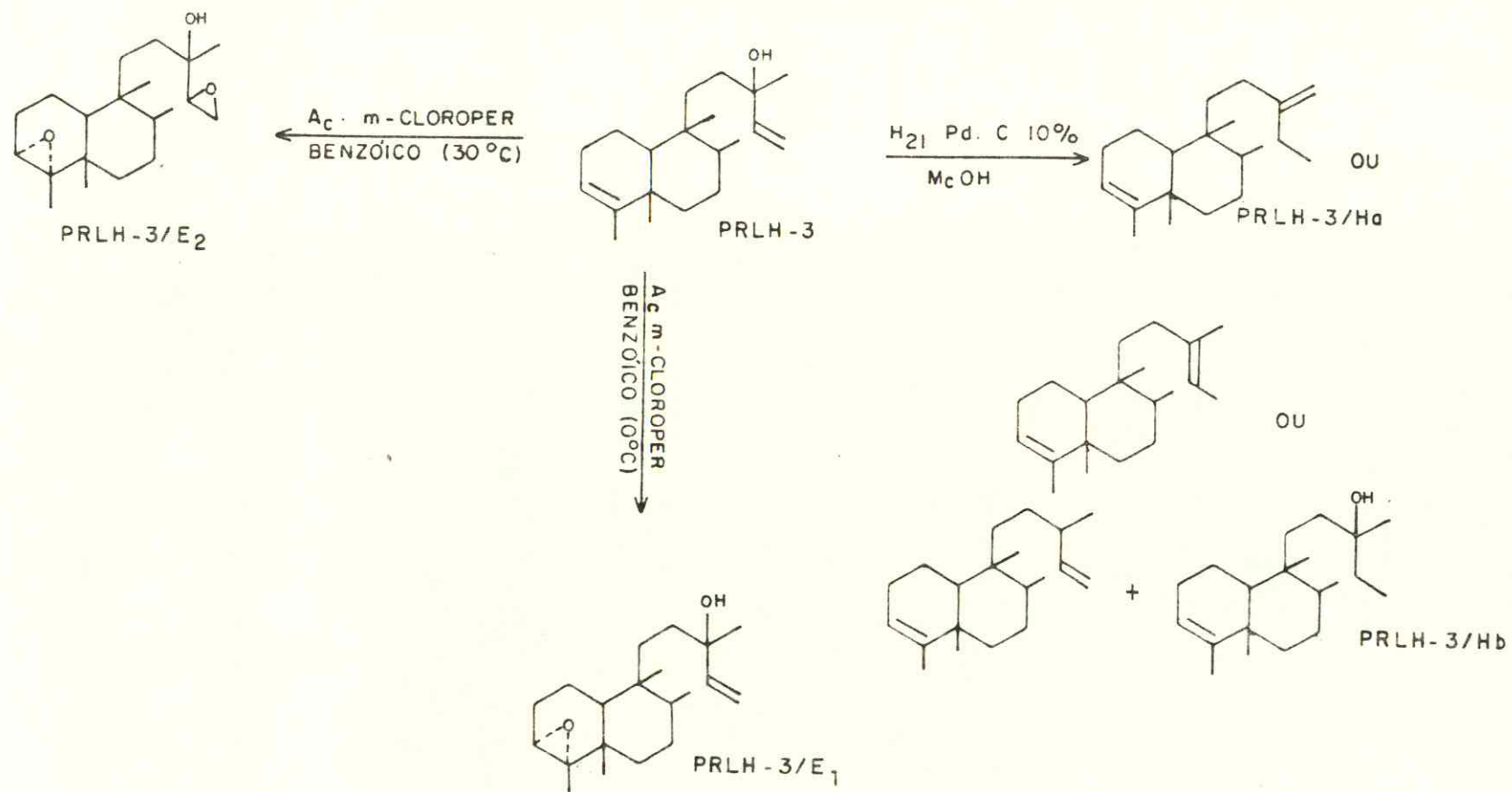
Os dados fornecidos pelas espectroscopias de massa e  $RMN^1H$  tornou possível propor a estrutura 53a para o produto de hidrogenólise do PRLH-3.



(53a)



(53b)



ESQUEMA 05 - DERIVADOS DE PRLH-3



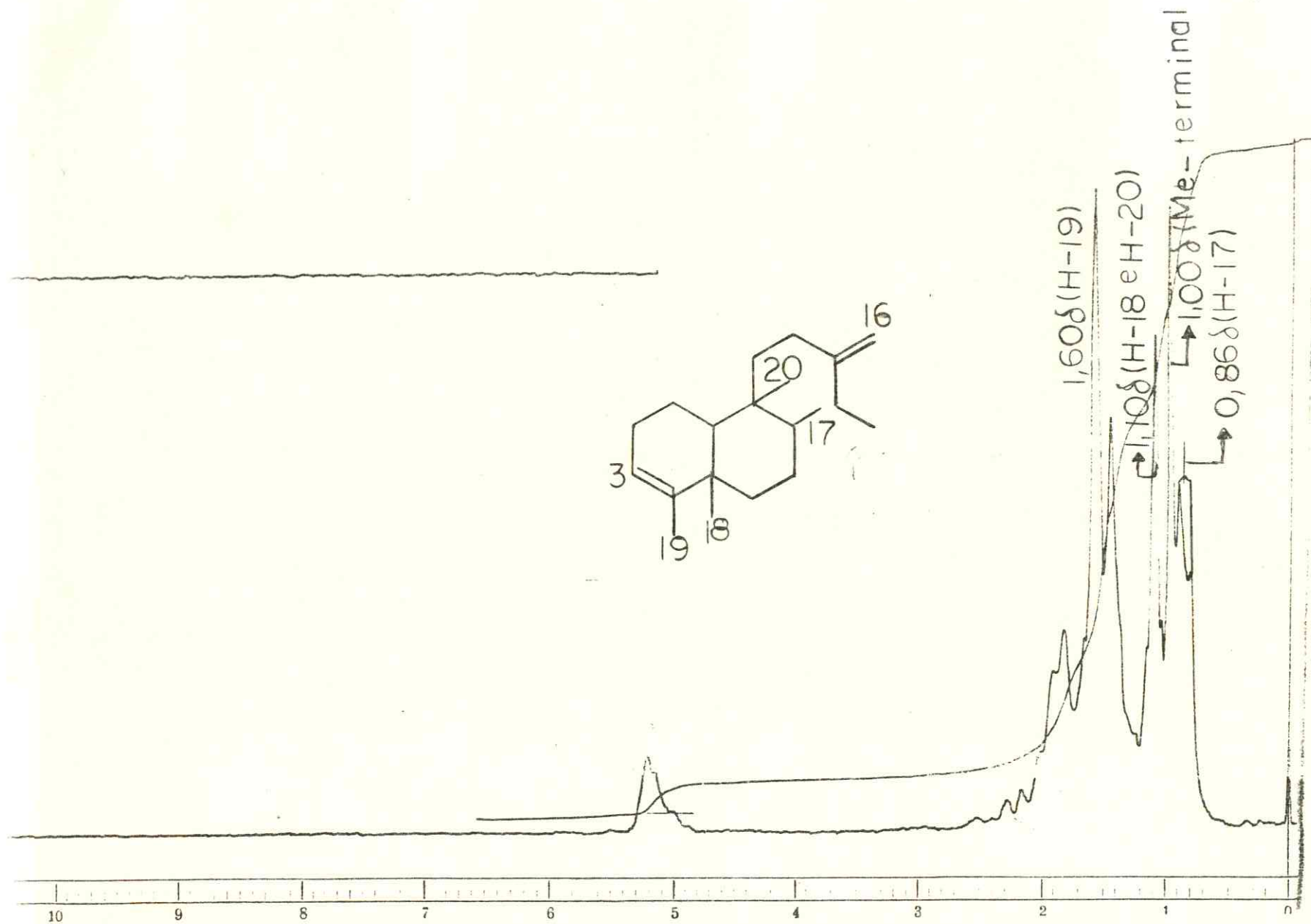
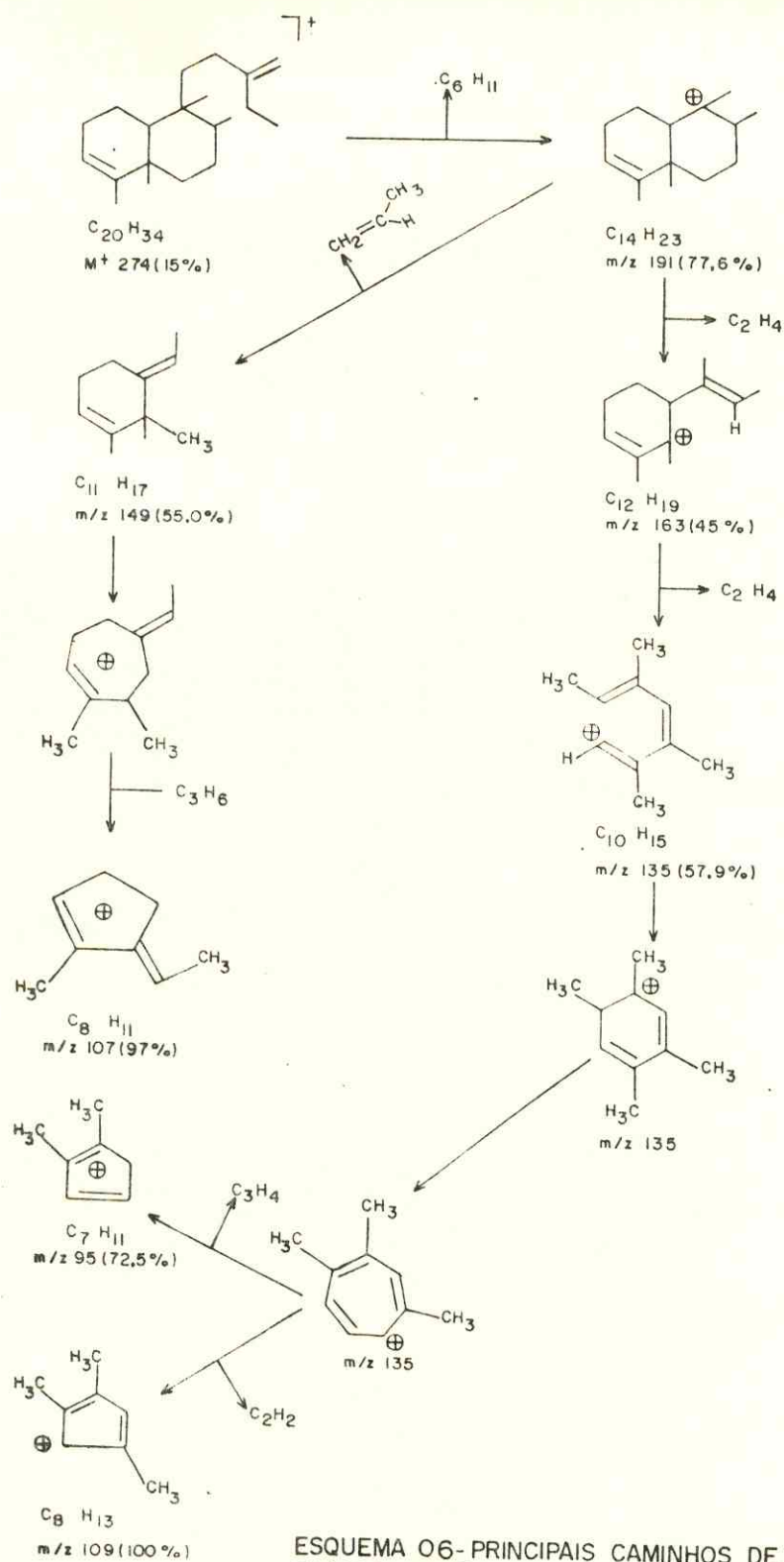


Figura 27 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PRLH-3/Ha  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )



ESQUEMA 06- PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE PRLH-3/H1

TABELA 10 - DADOS DE RMN  $^1\text{H}$  DE PRLH-3 (53) E DERIVADOS PRLH-3/Ha (53a); PRLH-3/Hb (53b) e PRLH-3/E1.

| COMPOSTO        | 53                              | 53a                     | 53b                   | 53c                           |
|-----------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| $\text{H}^1$    |                                 |                         |                       |                               |
| 3               | 5,25 (2H, m)                    | 5,30 - 4,90 (3H, m)     | 5,30 - 5,00 (1H, m)   | 2,96-2,76 (1H, m)             |
| 14              | 5,85 (1H, dd, s 10,0 e 18,0 Hz) | _____                   | _____                 | 5,88(1H, dd, J=10,0 e 18,0Hz) |
| 15a             | 5,10 (1H, dd, J=2,0 e 18,0Hz)   | _____                   | _____                 | 5,13(1H, dd, J=2,0 e 18,0Hz)  |
| 15b             | 4,90 (1H, dd, J=2,0 e 10,0Hz)   | _____                   | _____                 | 4,9 (1H, dd, J=2,0 e 10,0Hz)  |
| 16              | 1,40 (3H, s)                    | 5,30 - 4,90 (3H, m)     | 1,43 (3H, s)          | 1,30 (3H, s)                  |
| 17              | 0,85 (3H, d, J = 6,0 Hz)        | 0,86 - 3H, d, J=6,0 Hz) | 0,83 (3H, d, J=6,0Hz) | 0,86 (3H, d, J=6,0 Hz)        |
| 18              | 1,20 (3H, s)                    | 1,10 (3H, s)            | 1,10 (3H, s)          | 1,20 (3H, s)                  |
| 19              | 1,60 (3H, s)                    | 1,60 (3H, s)            | 1,56 (3H, s)          | 1,30 (3H, s)                  |
| 20              | 1,10 (3H, s)                    | 1,10 (3H, s)            | 1,03 (3H, s)          | 1,20 (3H, s)                  |
| Metila terminal | _____                           | 1,00 (3H, s)            | 0,93 (3H, s)          | _____                         |

O produto mais polar resultante da hidrogenação do Plathyterpol, PRLH-3/Hb ( $M^+$  292) mostrou em seu espectro de RMN  $^1H$  (Tabela 10), Fig. 28, a presença de um singlete largo centrado em  $5,15 \delta$  ( $1H$ , H-3) e absorções correspondentes a seis grupos metilas em  $1,53 \delta$  ( $3H$ , s);  $1,43 \delta$  (s,  $3H$ );  $1,10$  ( $3H$ , s);  $1,03$  ( $3H$ , s);  $0,93$  (metil terminal) e  $0,86$  ( $3H$ , d,  $J = 6,0$  Hz). Foi verificado também a ausência das absorções de dupla ligação vinílica (observadas em  $5,85$ ;  $5,10$  e  $4,90 \delta$  para 53). A confirmação de hidroxila no Infravermelho (Fig. 29) juntamente com os dados obtidos dos espectros de massa e RMN  $^1H$  sugere como válida a estrutura 53b para o produto mais polar resultante da hidrogenação do Plathyterpol.

Como resultado da epoxidação do Plathyterpol em presença de ácido meta-cloroperbenzôico a  $0^\circ C$  (2 horas) foi obtido, após cromatografia em coluna de sílica gel, um monoepóxido, PRLH-3/E<sub>2</sub>, 53c (Esquema 05). O espectro de RMN  $^1H$  (Fig. 30) revelou a presença de um multiplete centrado em  $2,80 \delta$  ( $1H$ ) característico de um grupo epóxido trissubstituído. A presença de bandas correspondentes a dupla vinílica em  $5,88 \delta$  ( $1H$ , dd,  $J = 10,0$  e  $18,0$  Hz);  $5,13 \delta$  ( $1H$ , dd,  $J = 2,0$  e  $18,0$  Hz) e  $4,90 \delta$  ( $1H$ , dd,  $J = 2,0$  e  $10,0$  Hz) a existência de um sinal correspondente a dois grupos metilas em carbono oxigenado em  $1,40 \delta$  ( $6H$ , s, H-16 e H-19) e o desaparecimento do sinal em  $1,60 \delta$ , correspondente em 53 ao metila vinílico (H-19), juntamente com o espectro no Infravermelho (Fig. 31), sugeriram a epoxidação seletiva da dupla ligação carbono-carbono ( $C_3 - C_4$ ) do Plathyterpol. Os fragmentos de massa  $m/z$  179, 151 e 123 resultantes do espectro de massa ( $M^+$  306), Esquema 07, comprovam a obten-



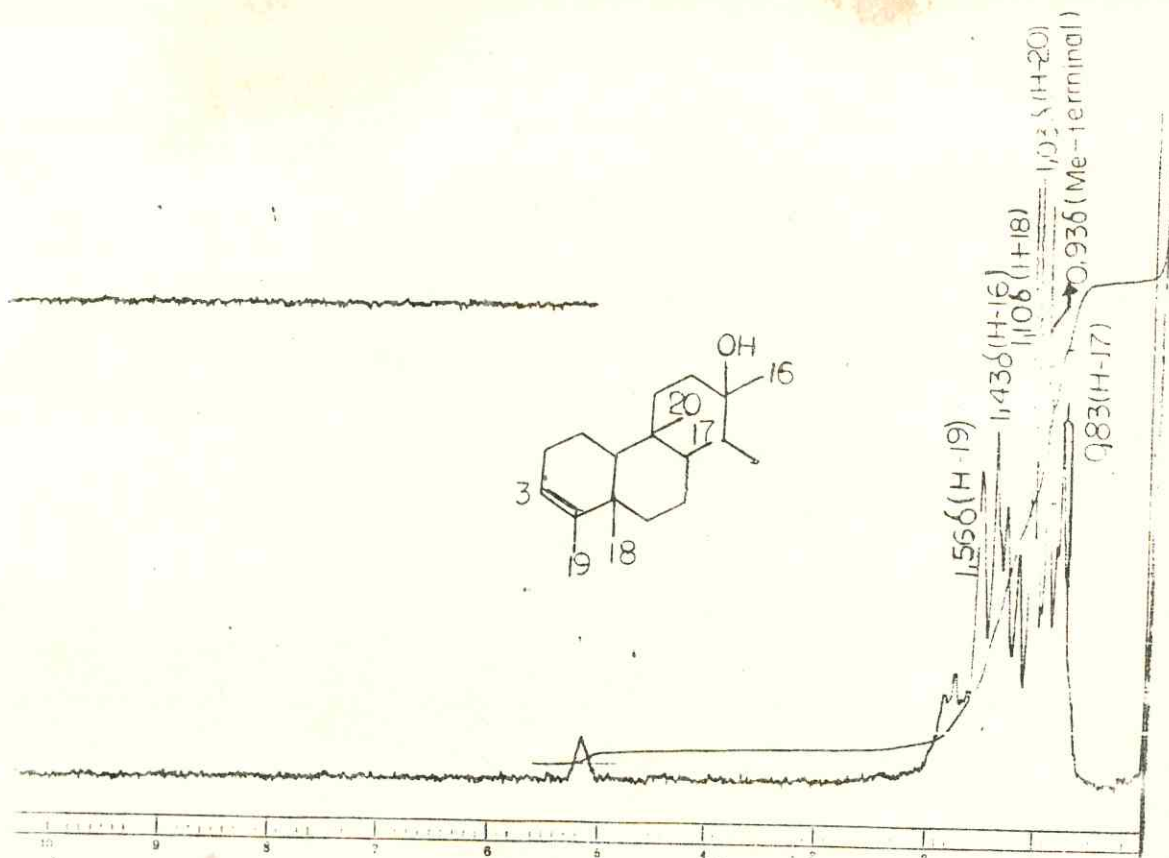


Figura 28 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PRLH-3/Hb  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

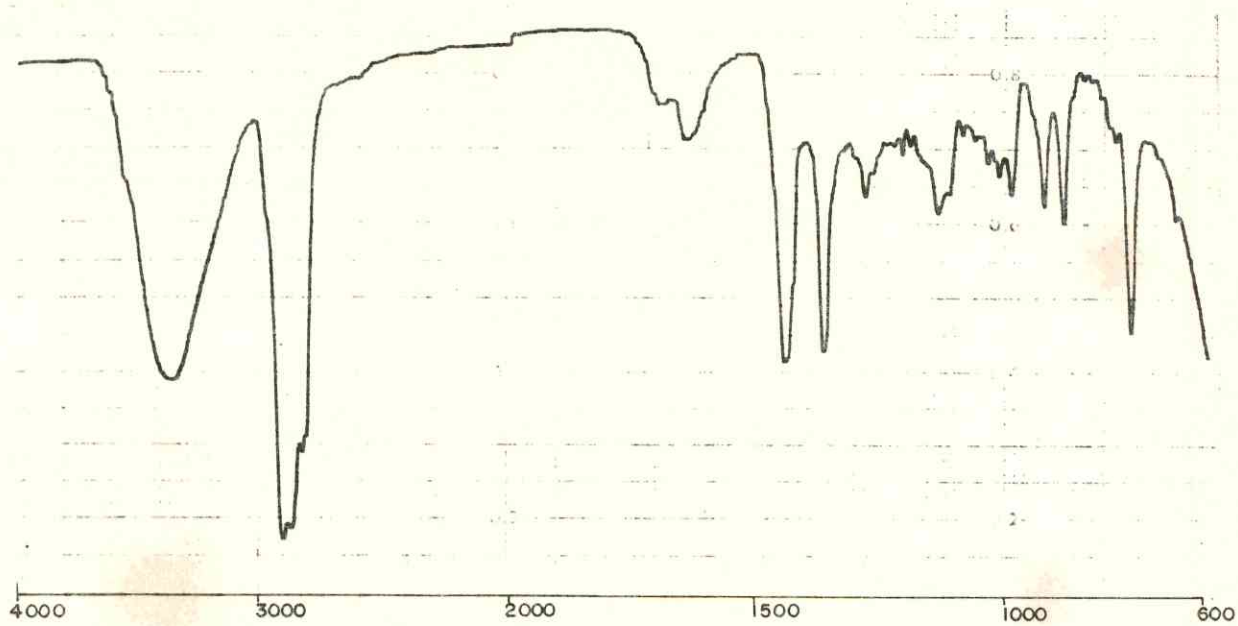


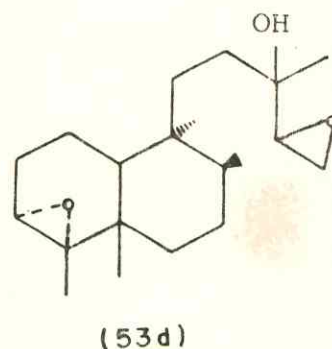
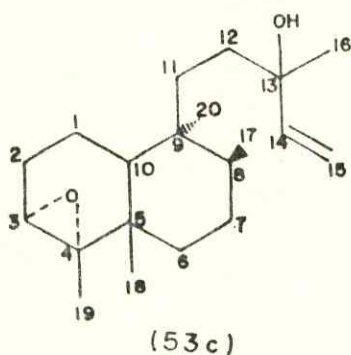
Figura 29 - Espectro no Infravermelho de PRLH-3/Hb (Filme)

ção do monoepóxido do Plathyterpol, 53c.

A epoxidação do Plathyterpol com ácido meta-cloro perbenzôico a temperatura ambiente, por 1 hora, resultou em um produto, PRLH-3/E<sub>2</sub> cujo espectro de RMN <sup>1</sup>H (Figura 32 ) mostrou um multiplete em 2,80  $\delta$  (com integração para 4 prótons). O espectro Infravermelho, Fig. 33, apresentou absorções características do álcool (3430 e 1080  $\text{cm}^{-1}$ ) e ausência de absorções de duplas ligações olefínicas.

O espectro de massa ( $M^+$  322) sugeriu a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$  e análise dos dados fornecidos pelas outras espectroscopias Infravermelho e RMN <sup>1</sup>H permitiram propor a estrutura 53d para o diepóxido PRLH-3/E<sub>2</sub>.

O Plathyterpol 53 foi submetido a testes para avaliar a atividade antibacteriana (Tabela 11) e antifúngica (Tabela 12). Os resultados revelaram uma fraca atividade antimicrobiana para esta substância.



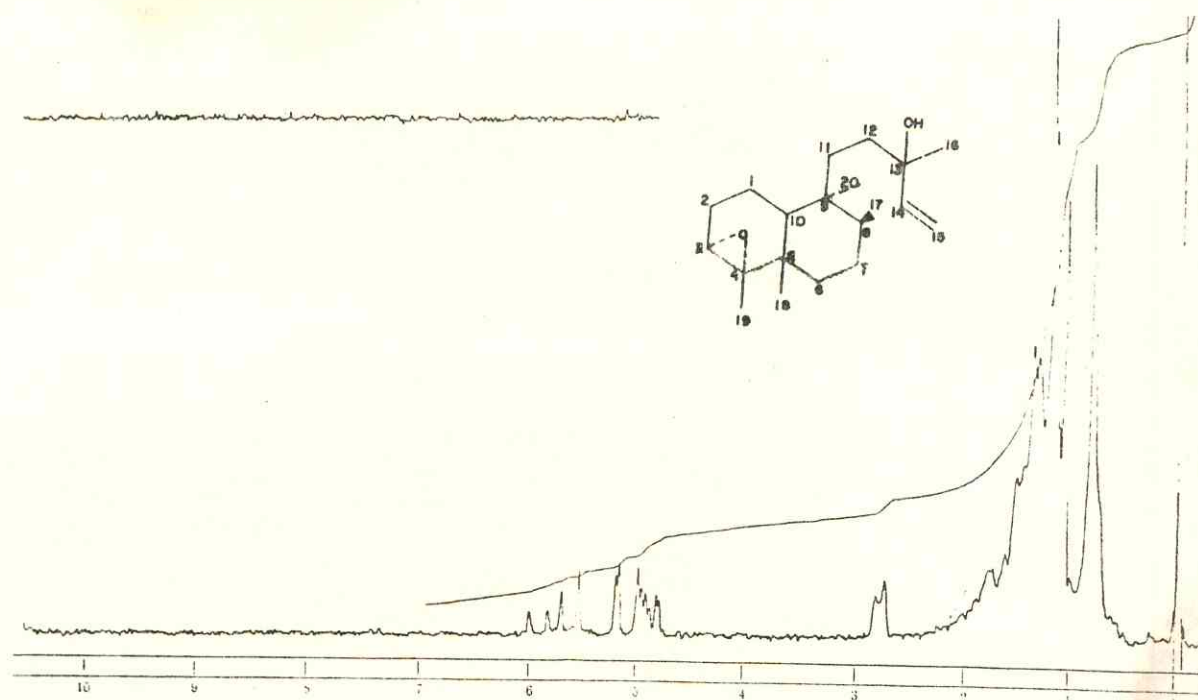


Figura 30 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PRLH-3/ $\text{E}_1$   
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

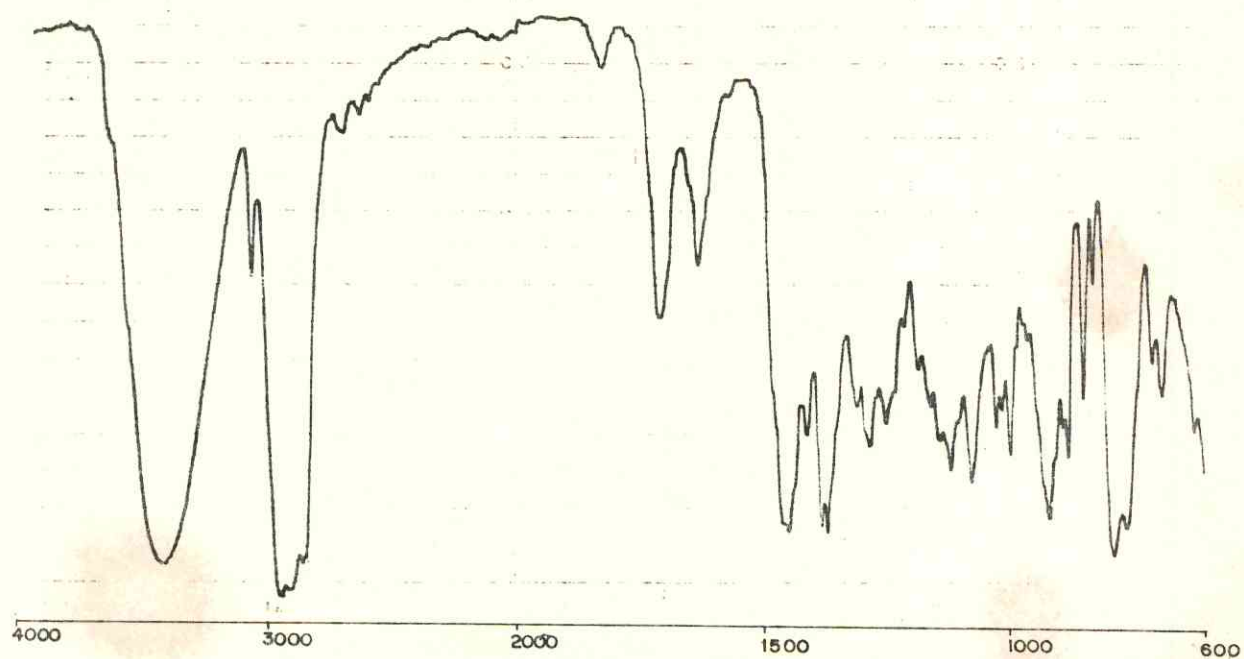


Figura 31 - Espectro no Infravermelho de PRLH-3/ $\text{E}_1$  (Filme)

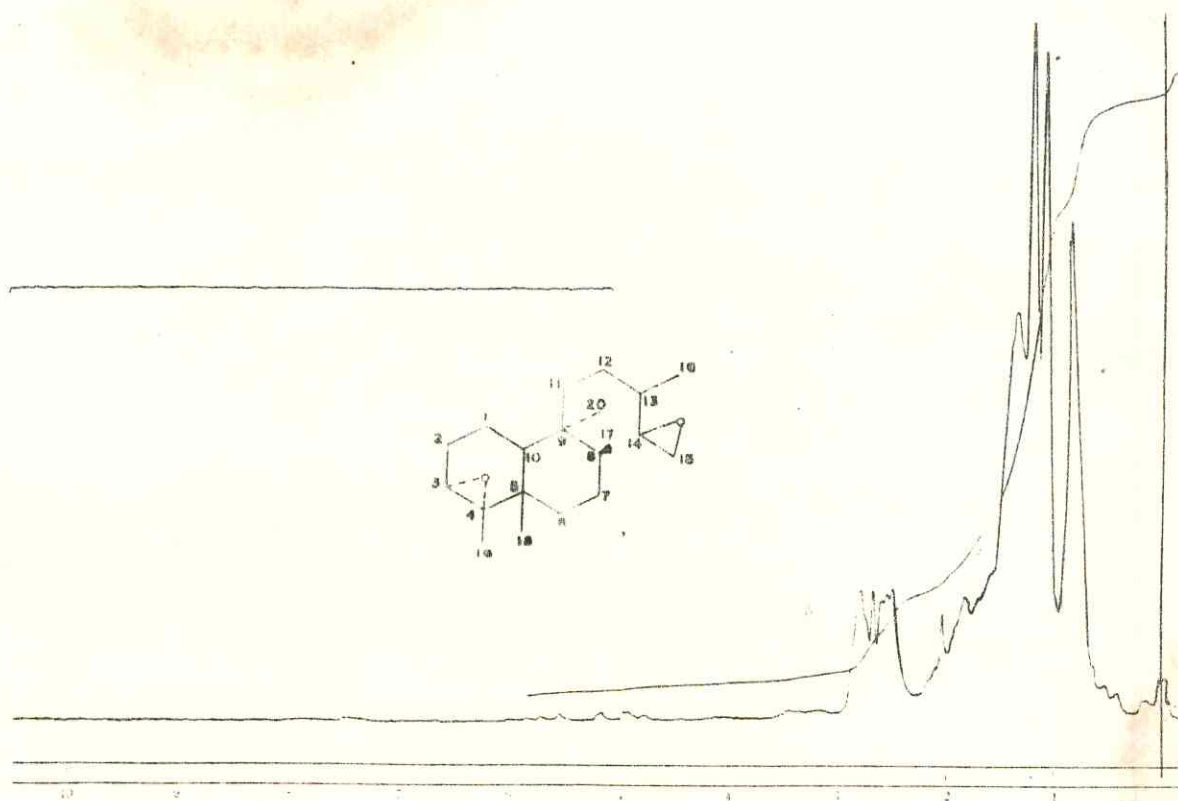


Figura 32 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PRLH-3/E<sub>2</sub>  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

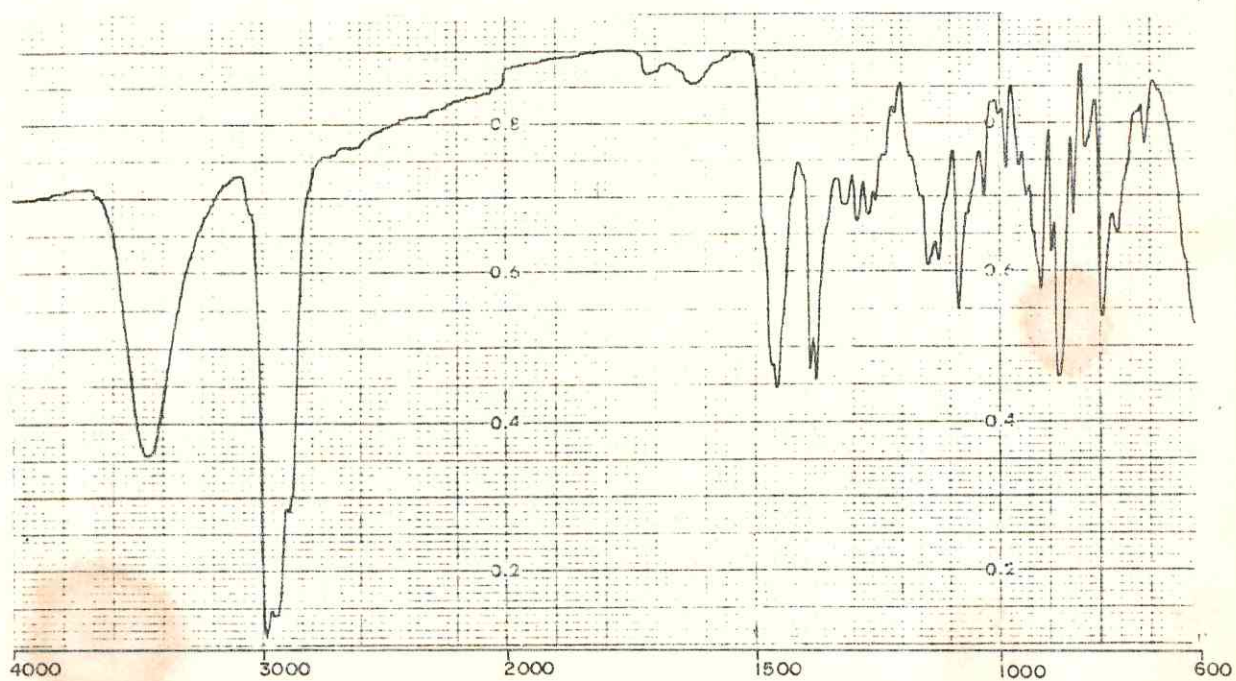
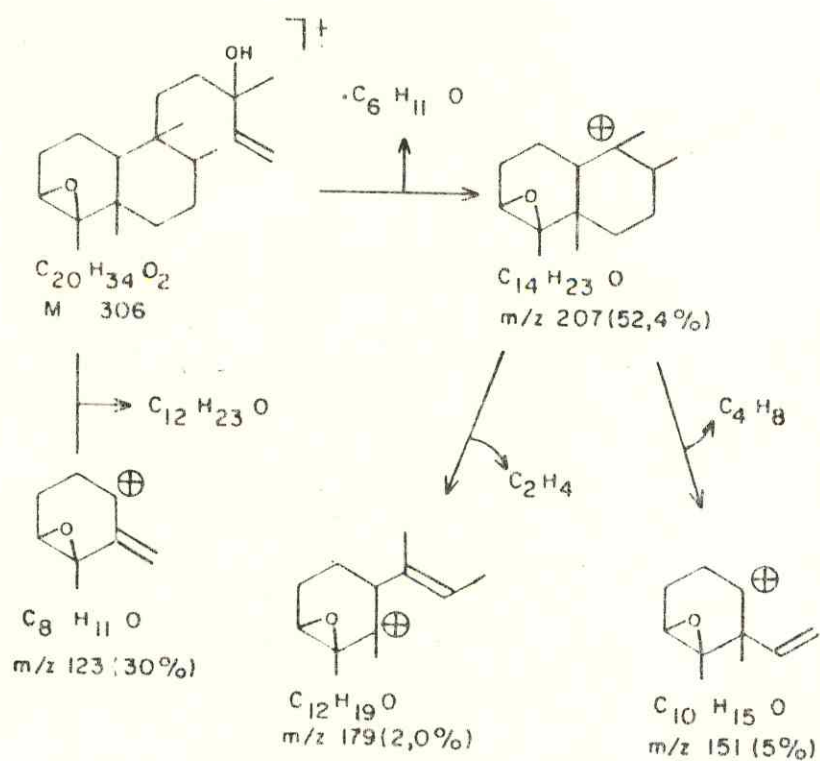


Figura 33 - Espectro no Infravermelho de PRLH-3/E<sub>2</sub> (Filme)





ESQUEMA 07 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE PRLH-3/E<sub>1</sub> NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA

TABELA 11 - Resultado do teste de atividade antibactéria<sup>a,c</sup> do Plathyterpol (53)

| COMPOSTO                                              | <u>E.coli</u> |    | <u>S.aureus</u> |    | <u>P.aeruginosa</u> |    | <u>B. subtilis</u> |    | <u>M.smegmatis</u> |    |
|-------------------------------------------------------|---------------|----|-----------------|----|---------------------|----|--------------------|----|--------------------|----|
|                                                       | 24            | 48 | 24              | 48 | 24                  | 48 | 24                 | 48 | 24                 | 48 |
| (53)                                                  | 1             | 1  | 4               | 4  | 1                   | -  | 1                  | 1  | 6                  | 6  |
| Sulfato de Estrepto-<br>micina.<br>1 mg/ml 25% Etanol | 7             | 6  | 8               | 7  | 6                   | 5  | 9                  | 8  | 20                 | 18 |

a) Código de expressão de atividade qualitativa descrito na pág. 101.

b) O composto foi preparado em soluções de etanol absoluto na concentração de 1 mg/ml.

3) Atividade contra Escherichia coli (ATCC 10.538), Staphylococcus aureus (ATCC 6.533), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15422), Bacillus subtilis (ATCC 6.633), Mycobacterium smegmatis (ATCC 607) em 24 e 48 horas.

TABEIA 12 - Resultado do teste de atividade antifúngica<sup>a,c</sup> do Plathyterpol (53)

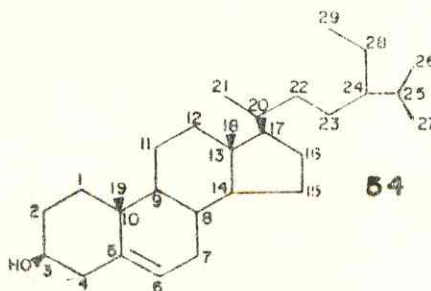
| COMPOSTO                         | <u>S.cerevisiae</u> |   | <u>C.neoformans</u> |    | <u>A.flavus</u> |   | <u>T.mentagraphytes</u> |   |
|----------------------------------|---------------------|---|---------------------|----|-----------------|---|-------------------------|---|
| <u>53</u>                        | 2                   | 2 | 5                   | 3  | +               | - | 4                       | 3 |
| Anfotericina B<br>1 mg/ml Etanol | 11                  | 8 | 13                  | 11 | 5               | 4 | 9                       | 7 |

- a) Código de expressão da atividade qualitativa descrito na página 101.
- b) O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração de 1 mg/ml.
- c) Atividade contra Saccharomyces cerevisiae (ATCC 9.763), Cryptococcus neoformans (ATCC 32.264), Aspergillus flavus (ATCC 9.170), Trichophyton mentagraphytes (ATCC 9.972) em 48 e 72 horas

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PRLH-4 (54)

A recristalização da fração F-10/8 (Esquema 11) levou a separação de um sólido branco (P.F. 131 - 134°C) denominado PPLH-4.

As constantes físico-químicas desta substância indicaram tratar-se de  $\beta$ -sitosterol. Comparação por cocromatografia com a amostra autêntica (reagente Merck) e ponto de fusão misto confirmaram esta proposição.



PRLH-4 ( $\beta$ -sitosterol)



DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PRLH-5 (55)

As frações do extrato hexânico eluídas com clorofórmio (PRLH-I-C) e acetato de etila (PRLH-I-A), Esquema 11, forneceram um composto sólido (P.F. 69 - 71°C) denominado PRLH-5.

A presença de grupos acetoxilas em PRLH-5 foi sugerida pelas absorções intensas em 1720, 1710 e 1230  $\text{cm}^{-1}$  no espectro no Infravermelho (Fig.34) e através da existência no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  a 60 MHz (Fig.35) de dois singletos em 1,93 e 1,96 $\delta$ , ambos com integração para três prótons. A presença de grupo acetoxila foi confirmada no espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  (a 20 MHz), Tabela 14, através do quarteto em 21,2 $\delta$  ( $\text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O})$ ) e do singlete em 171,3 $\delta$  ( $\text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O})$ ).

A proposição de um dos grupos acetila como parte de um acetato alílico foi sugerida através das absorções no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  em 4,36 $\delta$  (2H, d, J=7,0Hz) para o grupo metileno (H-16) e em 5,33 $\delta$  (1H, t, J=7,0Hz) para o próton olefínico (H-15), além dos sinais no espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  em 151,8 (s, C-13); 114,0 (d, C-15) e 60,8 $\delta$  (t, C-16).

O outro grupo acetato foi proposto encontrar-se ligado a um grupo metileno vizinho a um centro assimétrico (sistema AB) com base no sinal centrado em 3,60 $\delta$  (2H, q<sub>AB</sub>, J=11,0Hz). O espectro de  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  reforçou esta proposição através do tripeto em 73,3 $\delta$  (C-18).

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-5 mostrou ainda absorções em 0,83 $\delta$  (6H, s) e 0,93 $\delta$  (3H, d, J=7,0Hz) que foram atribuídas a dois grupos metilas quaternários (H-19 e H-20) e um terciária-

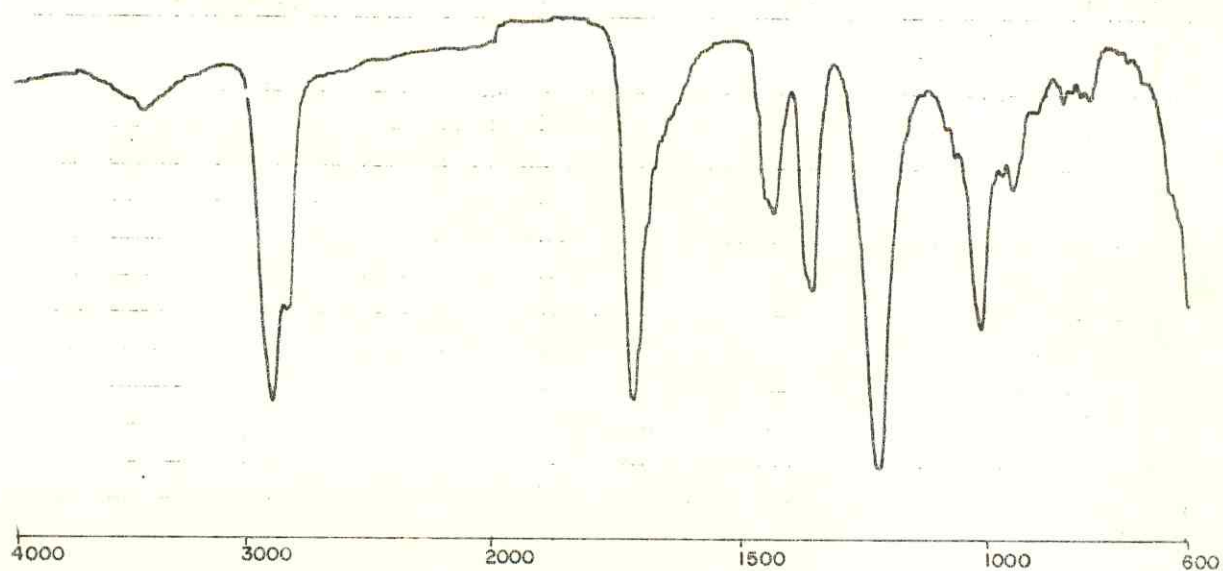


Figura 34 - Espectro no Infravermelho de PRLH-5 (KBr)

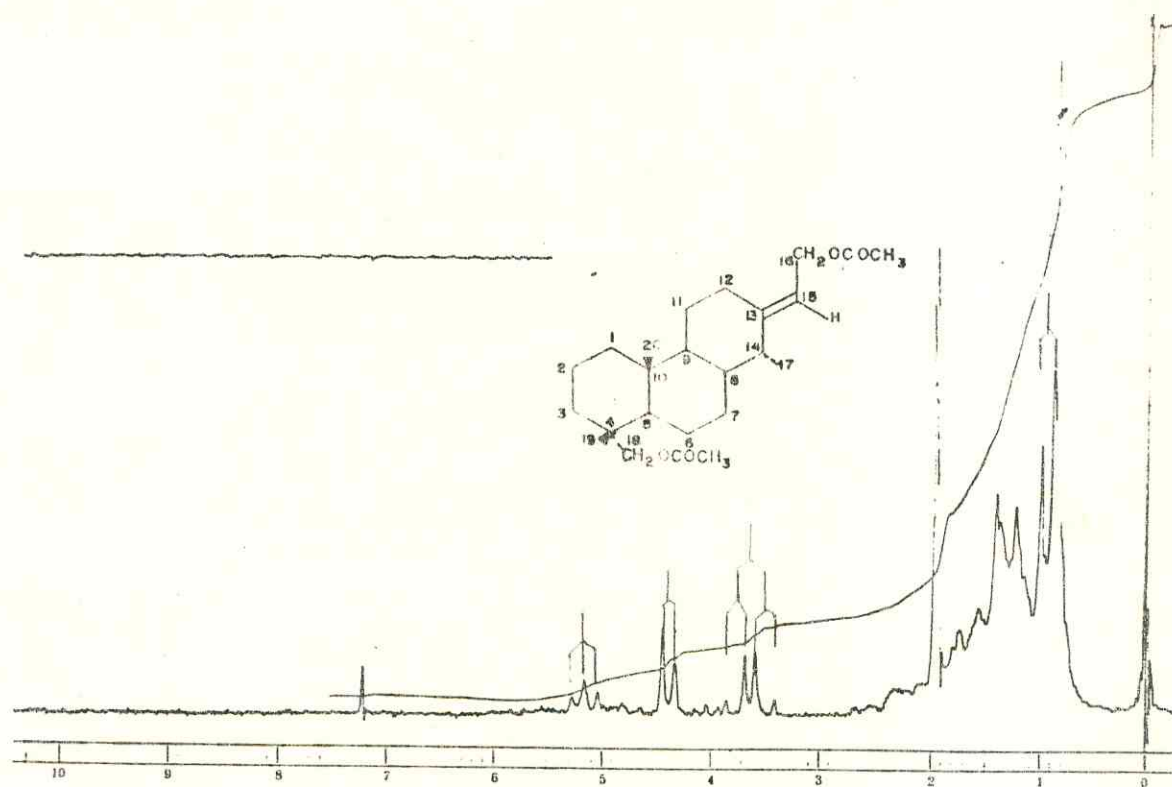


Figura 35 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de PRLH-5  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

rio (H-17), respectivamente.

O espectro de massa de PRLH-5 (Esquema 08) apresentou pico molecular  $m/z = 390$  sugerindo a fórmula molecular  $C_{24}H_{38}O_4$ , com seis graus de insuficiência, isto está de acordo com análise realizada pela utilização de RMN denominada ADEPT (Automatic Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), onde ficou evidenciada a presença de 5 CH, sendo um deles olefínico,  $9CH_2$  e 5  $CH_3$  (Fig. 36).

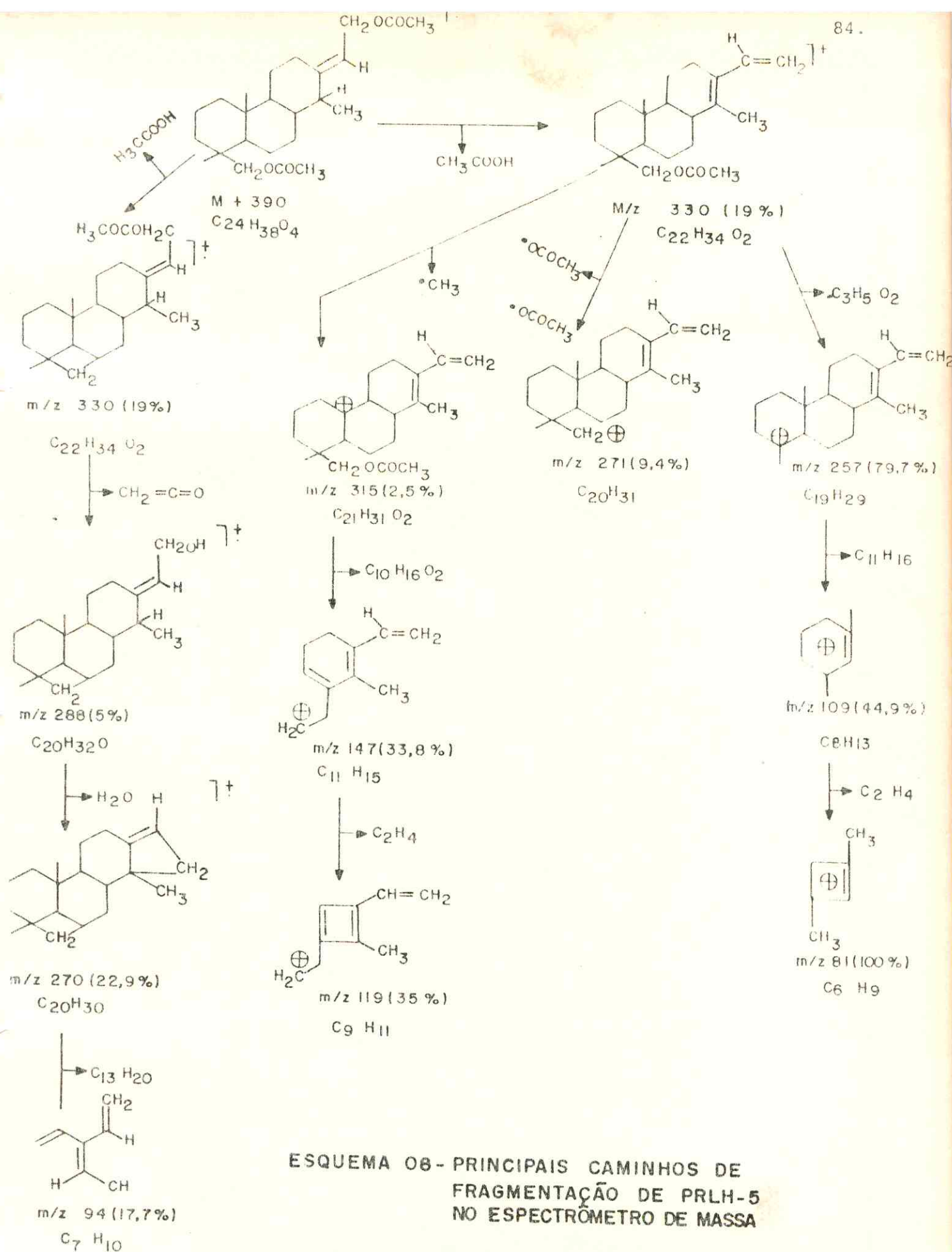
Subtração de 3 graus de insuficiência relativos a duas carbonilas e uma dupla ligação olefínica sugere o caráter tricíclico de PRLH-5. Comparação com os dados espectrométricos do acetato de vinhaticila, 15, (pág. 27) revelou a identidade de parte das duas moléculas particularmente nos anéis A e B, através do quarteto AB comum aos dois espectros de  $RMN^1H$ .

Levantamento bibliográfico possibilitou sugerir para PRLH-5 o esqueleto de um diterpeno cassânico não furânico semelhante aos diterpenos ácidos obtidos através da hidrólise dos alcalóides de várias espécies do gênero Erythrophleum<sup>47-49</sup>.

O espectro de  $RMN^{13}C$  totalmente desacoplado (PND), Tabela 14, apresentou somente 22 linhas das 24 esperadas para um diterpeno diacetilado uma vez que os sinais em 171,3 e 21,26 foram correlacionados com as absorções equivalentes de carbonilas e metilas dos dois grupos acetatos. O que foi confirmado através do espectro de carbono-13 de alta resolução (75 MHz) onde todos os 24 sinais esperados podem ser vistos incluindo as duas carbonilas em 171,1 e 171,36 e os dois grupos metilas de Acetato em 21,0 e 21,16 (Fig. 37).

A análise dos espectros de  $RMN^1H$  e de  $^{13}C$  (TABELAS 13 e 14)





ESQUEMA 08 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE PRLH-5 NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA



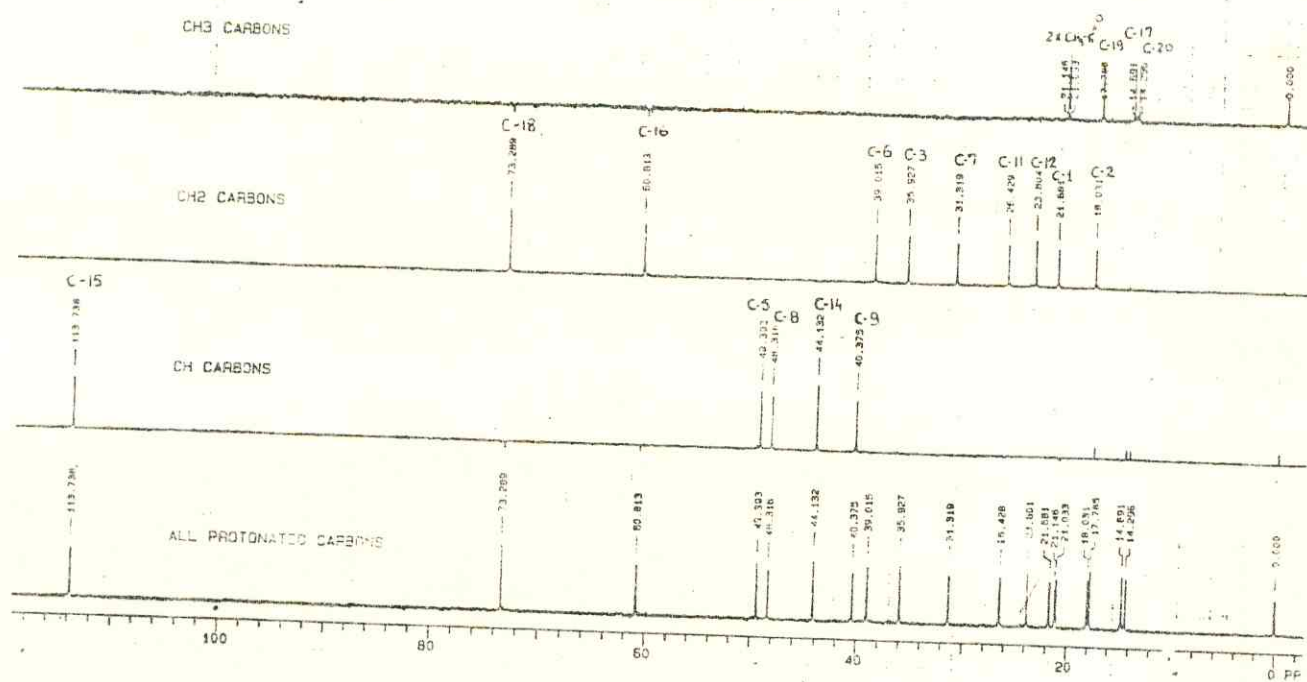


Figura 36 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (ADEPT) de PRLH-5

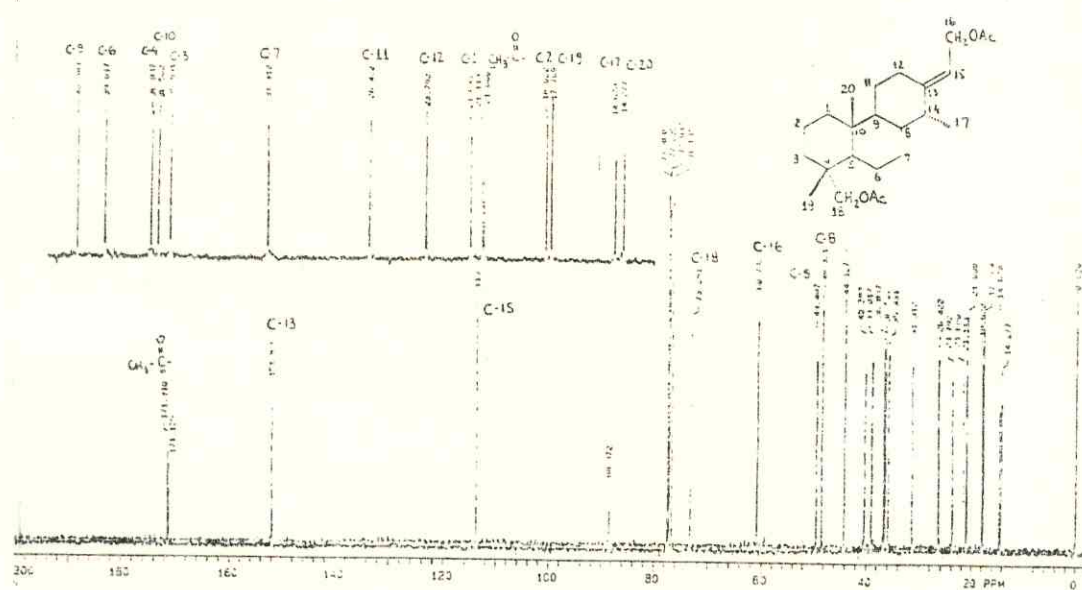


Figura 37 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) de PRLH-5

confirmou a estrutura 55 para a substância PRLH-5.

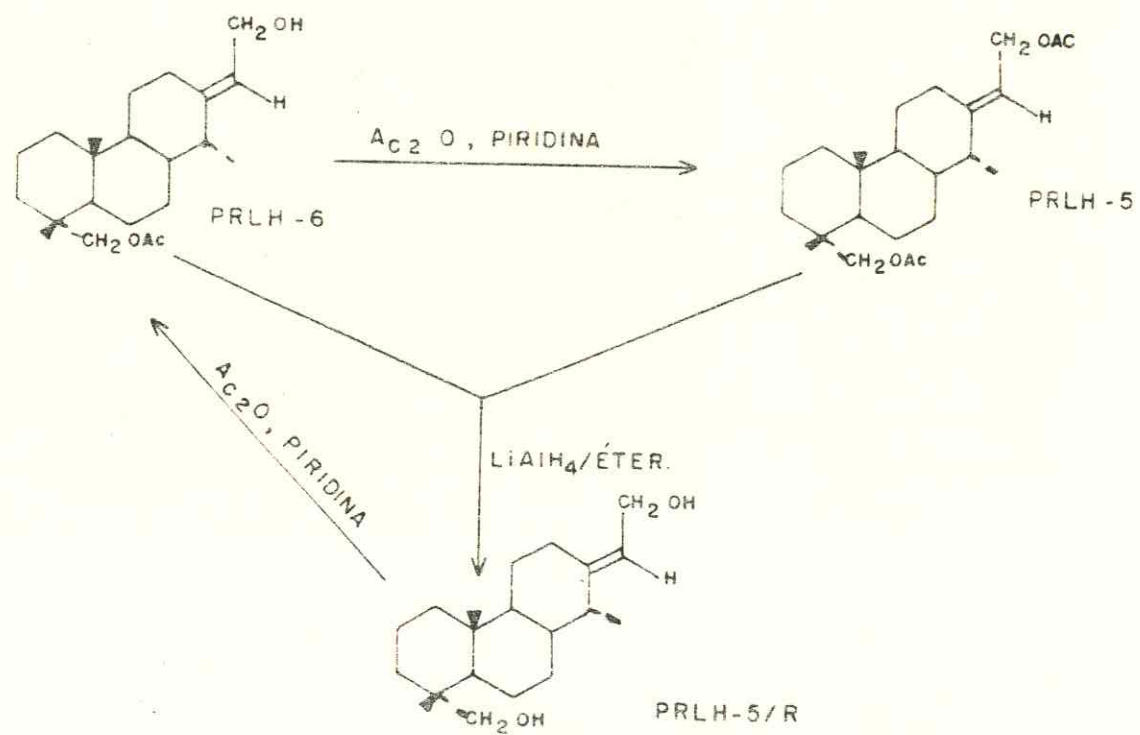
A redução de 55 com  $\text{LiAlH}_4$  em éter etílico (Es - quema 09) originou um material sólido (p.f. 122 - 125°C) , PRLH-5/R cujos dados de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 39) são mostrados na Tabela 13.

O espectro no Infravermelho de PRLH-5/R (Fig. 38) mostrou absorções características de álcool (3400 e 1060  $\text{cm}^{-1}$ ) e de dupla ligação olefínica (1660  $\text{cm}^{-1}$ ). A existência de três grupos metilas foi caracterizada no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 39) através dos três sinais em 0,93 ( $3\text{H}$ , d,  $J = 7,0$  Hz); 0,83 ( $3\text{H}$ , s) e 0,77  $\delta$ ( $3\text{H}$ , s) associados aos metilas H-17, H-19 e H-20, respectivamente.

A análise do espectro de RMN  $^1\text{H}$  sugeriu ainda a redução dos grupos acetoxilas pelo desaparecimento dos sinais observados em 1,96 e 1,93 para PRLH-5. Foi observado também a proteção da absorção atribuída ao sistema AB de prótons (H-18a e H-18b) em 3,16  $\delta$ ( $2\text{H}$ , q<sub>AB</sub>,  $J = 11,0$  Hz) em comparação com o valor deste mesmo sinal (3,60  $\delta$ ) em PRLH-5 (Tabela 13). Do mesmo modo, verificou-se a proteção da absorção atribuída ao grupo metileno alílico (H-16) centrada em 4,03  $\delta$ ( $2\text{H}$ , d,  $J = 7,0$  Hz) em relação ao sinal atribuído a estes prótons em PRLH-5 (4,36  $\delta$ ,  $2\text{H}$ , d,  $J = 7,0$  Hz).

Os dados analisados acima juntamente com a indicação de uma absorção intensa em 3400  $\text{cm}^{-1}$  e o desaparecimento da absorção dos carbonilos em 1720 e 1710  $\text{cm}^{-1}$  no espectro no Infravermelho, tornou possível propor a obtenção de um diol, 55a, como resultado da redução do diterpeno cassânico diacetilado, PRLH-5.

ESQUEMA 09 - DERIVADOS DE PRLH-5 E PRLH-6



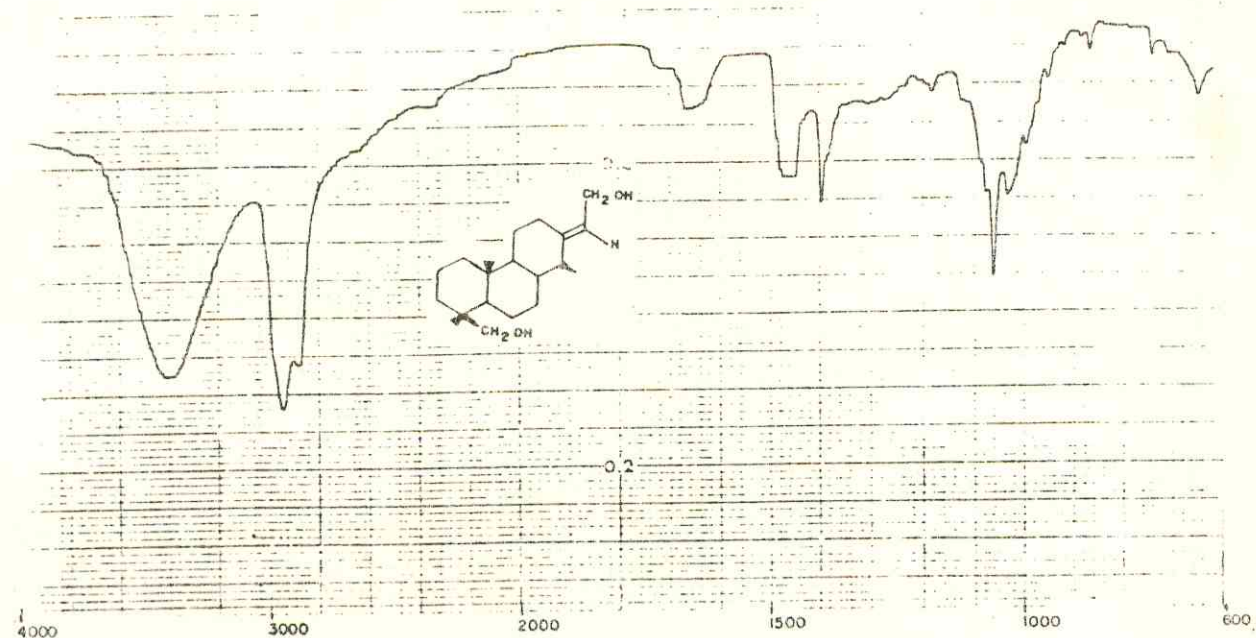


Figura 38 - Espectro de Absorção no Infravermelho de PRLH-5/R

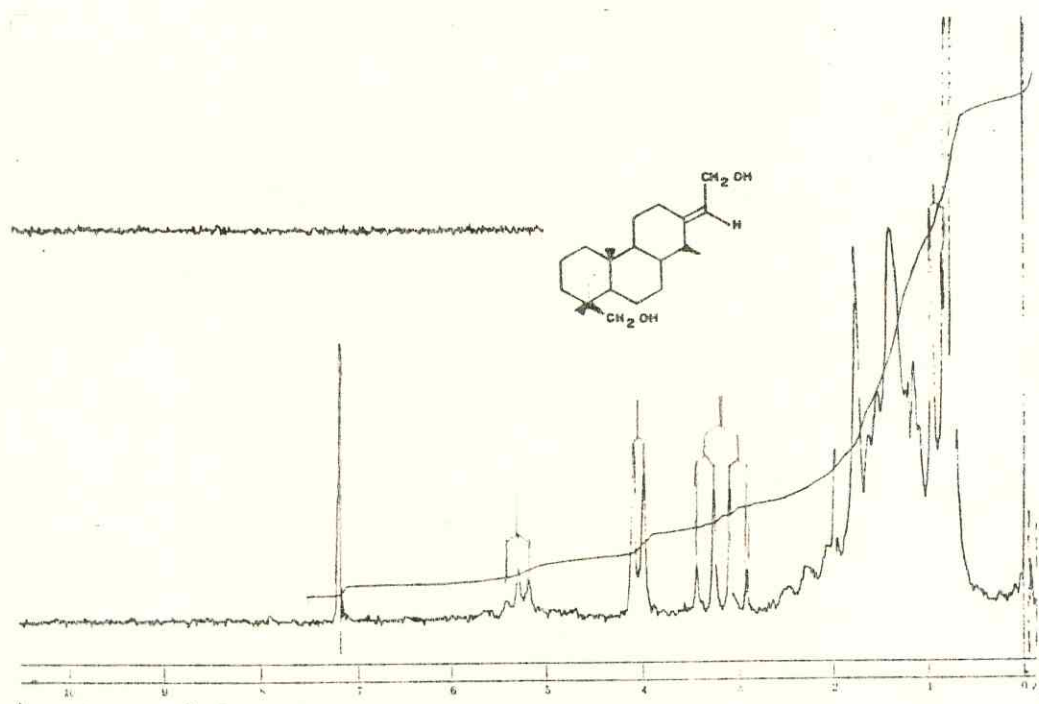


Figura 39 - Espectro de RMN<sup>1</sup>H de PRLH-5/R  
( 60 MHz, CDCl<sub>3</sub> )



TABELA 13 - Comparação dos dados de RMN<sup>1</sup>H(δ, 60MHz) de PRLH-5 (55) PRIH-6 (56) e o produto de redução PRLH-5-R (55a).

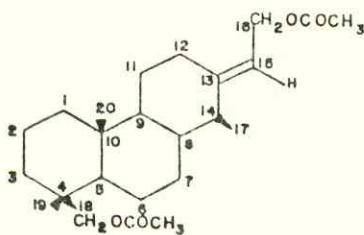
| COMPOSTO<br>SOLVENTE<br>Nº do H | 55                                            | 55a                                            | 56                                                  |
|---------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|                                 | TETRACLORETO DE CARBONO<br>DESLOC.QUÍMICO (δ) | TETRACLORETO DE CARBONO<br>DESLOC. QUÍMICO (δ) | TETRACLORETO DE CARBONO<br>DESLOCAMENTO QUÍMICO (δ) |
| H - 15                          | 5,13 (1H,t,J=7,OHZ)                           | 5,33 (1H, t,J=7,OHZ)                           | 5,23 (1H,t,J=7,OHZ)                                 |
| H - 16                          | 4,36 (2H,d,J= 7,OHZ)                          | 4,03 (2H, d,J=7,OHZ)                           | 3,93 (2H,d,J=7,OHZ)                                 |
| H - 17                          | 0,93 (3H,d,J=7,OHZ)                           | 0,93 (3H, d,J=7,OHZ)                           | 1,16 (3H,d,J=7,OHZ)                                 |
| H - 18a<br>e H-18b              | 3,60 (2H,q <sub>AB</sub> J=11,OHZ)            | 3,16 (2H,q <sub>AB</sub> J=11,OHZ)             | 3,66 (2H,q,J=11,OHZ)                                |
| H - 19                          | 0,83 (3H, s)                                  | 0,83 (3H, s)                                   | 0,86 (3H, s)                                        |
| H - 20                          | 0,83 (3H, s)                                  | 0,77 (3H, s)                                   | 0,86 (3H, s)                                        |
| 2xCH <sub>3</sub> -CO           | 1,96 e 1,93(3H,s)                             | ----                                           | 2,00 (3H, s)                                        |

TABELA 14 - Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C entre PRIH-1, PRIH-1-R e PRIH-5.

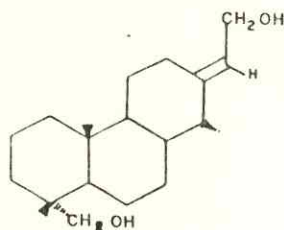
| COMPOSTO<br>Nº DO COMPOSTO                          | <u>15</u>       | <u>15a</u>      | <u>55</u>       |
|-----------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                                     | DESL. QUÍM. (δ) | DESL. QUÍM. (δ) | DESL. QUÍM. (δ) |
| 1                                                   | 39,1 (t)        | 39,2 (t)        | 39,2 (t)        |
| 2                                                   | 17,9 (t)        | 18,0 (t)        | 18,1 (t)        |
| 3                                                   | 35,7 (t)        | 35,3 (t)        | 36,0 (t)        |
| 4                                                   | 36,5 (s)        | 37,6 (s)        | 36,9 (s)        |
| 5                                                   | 49,5 (d)        | 48,2 (d)        | 49,6 (d)        |
| 6                                                   | 21,6 (t)        | 21,3 (t)        | 21,8 (t)        |
| 7                                                   | 31,0 (t)        | 31,0 (t)        | 31,4 (t)        |
| 8                                                   | 31,5 (d)        | 31,6 (d)        | 48,4 (d)        |
| 9                                                   | 45,7 (d)        | 45,5 (d)        | 40,5 (d)        |
| 10                                                  | 37,3 (s)        | 37,2 (s)        | 36,6 (s)        |
| 11                                                  | 22,3 (t)        | 22,2 (t)        | 23,8 (t)        |
| 12                                                  | 149,6 (s)       | 149,6 (s)       | 31,4 (t)        |
| 13                                                  | 122,4 (s)       | 122,4 (s)       | 151,8 (s)       |
| 14                                                  | 35,9 (d)        | 35,7 (d)        | 44,2 (d)        |
| 15                                                  | 109,5 (d)       | 109,5 (d)       | 114,0 (d)       |
| 16                                                  | 140,3 (d)       | 140,2 (d)       | 60,8 (t)        |
| 17                                                  | 17,5 (q)        | 17,5 (q)        | 14,7 (q)        |
| 18                                                  | 73,3 (t)        | 72,1 (t)        | 73,3 (t)        |
| 19                                                  | 17,9 (q)        | 18,0 (q)        | 17,8 (q)        |
| 20                                                  | 14,9 (q)        | 15,0 (q)        | 14,3 (q)        |
| $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}$ | 171,0 (s)       | -               | 171,3; 171,3    |
| $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}$ | 20,8 (q)        | -               | 21,2            |

Finalmente, a proposição estrutural para PRLH-5 foi confirmada pela Análise Espectrométrica de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (300 e 75 MHz) para  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente, utilizando as técnicas mais avançadas de sequências de pulsos. Desta forma, o espectro de correlação heteronuclear (HETCOR), fig. 40, e de correlação homonuclear (COSY), Fig. 41, mostraram as correlações esperadas e contribuíram para o relacionamento entre os sinais observados e a posição estrutural correspondente.

A substância PRLH-5, 55, e seu produto de redução PRLH-5/R, 55a, foram submetidos a testes de atividade antibacteriana (Tabela 15) e antifúngica (Tabela 16). Os resultados mostraram que ambos apresentam fraca atividade antimicrobiana.



(55)



(55a)

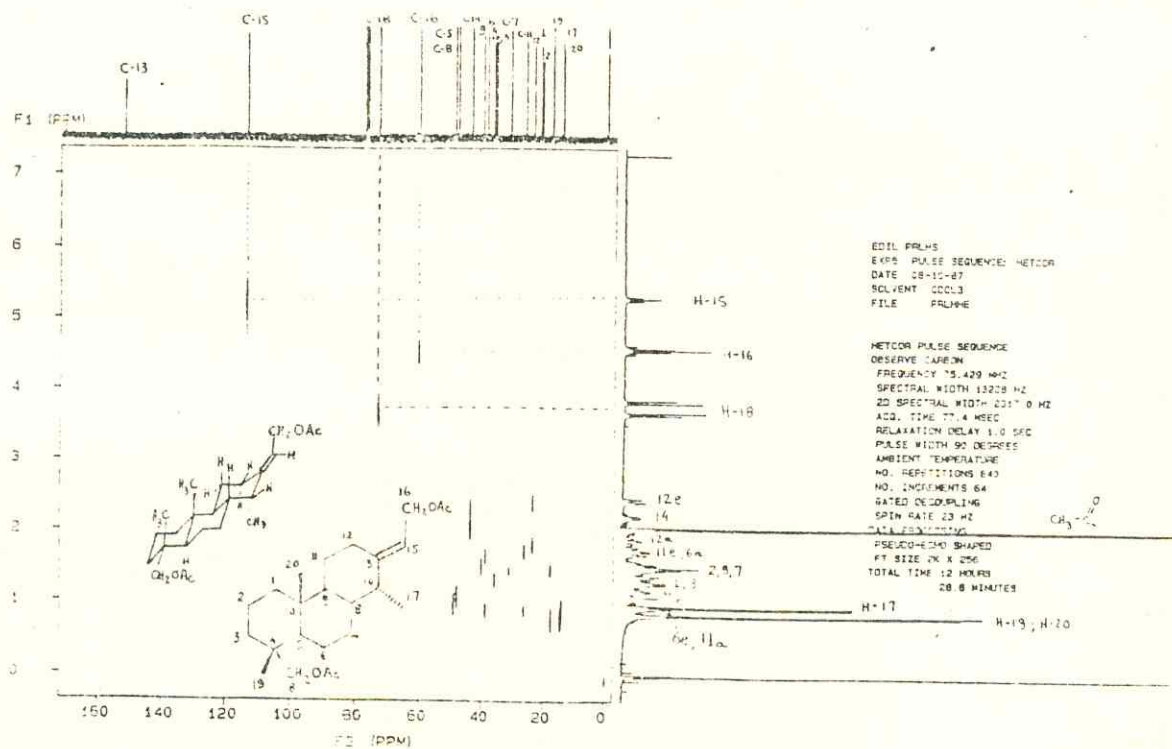


Figura 40 - Espectro de RMN Bidimensional (HECTOR) de PRLH-5

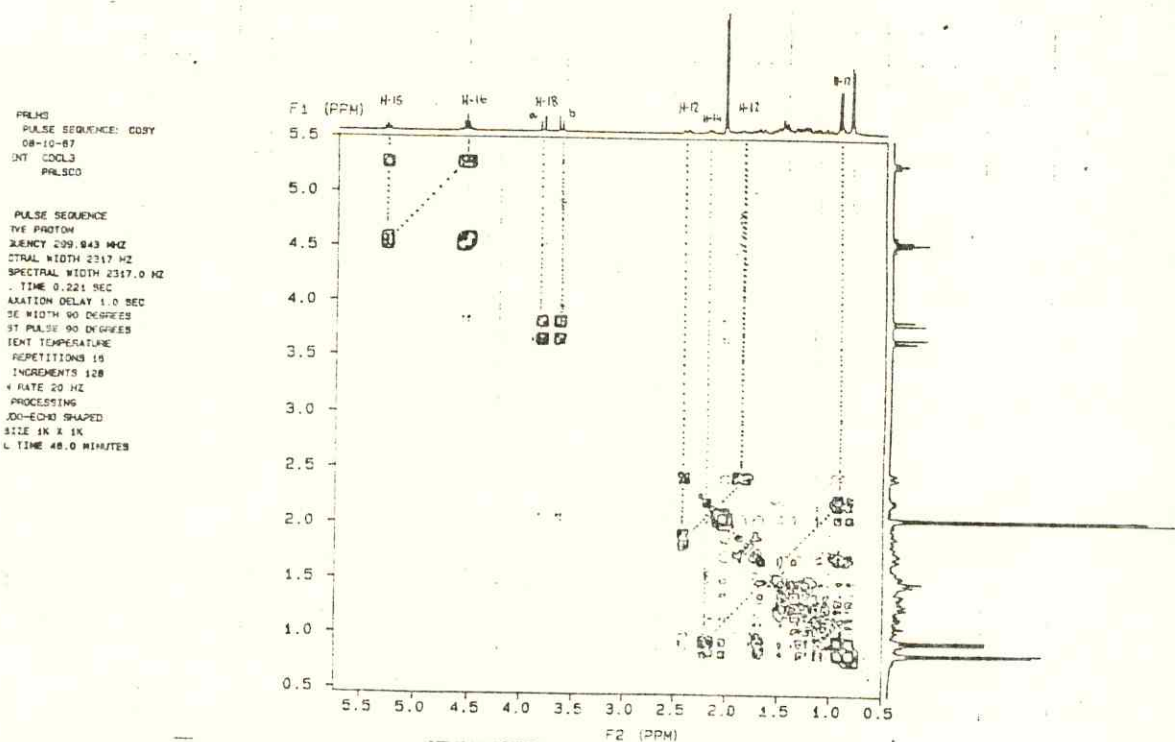


Figura 41 - Espectro de RMN Bidimensional (COSY) de PRLH-5



TABELA 15 - Resultado do teste de atividade antibacteriana<sup>a, c</sup> de PRLH-5 (55) e seu produto de redução (55a).

| COMPOSTO                                      | <u>E.coli</u> |    | <u>S.aureus</u> |    | <u>P.aeruginosa</u> |    | <u>B.subtilis</u> |    | <u>M.smegmatis</u> |    |
|-----------------------------------------------|---------------|----|-----------------|----|---------------------|----|-------------------|----|--------------------|----|
|                                               | 24            | 48 | 24              | 48 | 24                  | 48 | 24                | 48 | 24                 | 48 |
| (55)                                          | 1             | 1  | 1               | 1  | -                   | -  | 2                 | -  | 1                  | 2  |
| (55a)                                         | -             | -  | +               | 1  | -                   | -  | -                 | -  | +                  | +  |
| Sulfato de Estreptomina<br>1 mg/ml 25% Etanol | 7             | 6  | 8               | 7  | 6                   | 5  | 9                 | 8  | 20                 | 18 |

- a) Código de expressão de atividade qualitativo descrito na pág. 101.
- b) O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração 1 mg/ml.
- c) Atividade contra Escherichia coli (ATCC 10.538), Staphylococcus aureus (ATCC 6.533), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15.422) Bacillus subtilis (ATCC 6.633), Mycobacterium smegmatis (ATCC 607) em 24 e 48 horas.

TABELA 16 - Resultado do teste de atividade antifúngica de PRLH-5 (55) e seu produto de redução (55a).

| COMPOSTO                         | <u>S.cerevisiae</u> |    | <u>C.neoformans</u> |    | <u>A.flavus</u> |    | <u>T.mentagrophytes</u> |    |
|----------------------------------|---------------------|----|---------------------|----|-----------------|----|-------------------------|----|
|                                  | 48                  | 72 | 48                  | 72 | 48              | 72 | 48                      | 72 |
| <u>55</u>                        | 2                   | 2  | -                   | -  | -               | -  | 1                       | 1  |
| <u>55a</u>                       | 1                   | 1  | -                   | -  | -               | -  | 1                       | 1  |
| Anfotericina B<br>1 mg/ml Etanol | 11                  | 8  | 13                  | 11 | 5               | 4  | 9                       | 7  |

- a) Código de expressão da atividade qualitativa descrito na pág. 101.
- b) O composto foi preparado em solução de etanol absoluto na concentração 1 mg/ml.
- c) Atividade contra Saccharomyces cerevisiae (ATCC 9.763), Cryptococcus neoformans ATCC 32.264 Aspergillus flavus (ATCC 9.170), Trichophyton mentagrophytes (ATCC 9.972) em 48 e 72 horas.

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE PRLH-6 (56)

As frações mais polares resultantes da eluição com acetato de etila (PRLH-I-A) do extrato hexânico do lenho de P.reticulata (Esquema 12) originaram, após recromatografias sucessivas em coluna de sílica, um material oleoso (PRLH-6) cujo espectro no Infravermelho (Fig.42) apresentou absorções características de éster ( $1715$  e  $1235\text{ cm}^{-1}$ ), álcool ( $3.400\text{ cm}^{-1}$ ) e de dupla ligação olefínica ( $1640\text{ cm}^{-1}$ ).

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig.43) mostrou algumas semelhanças com PRLH-5 (55), tais como: a existência de três grupos metilas (H-17, H-19 e H-20) em  $1,16\delta$  ( $3\text{H}$ , d,  $J=7,0\text{Hz}$ ) e  $0,86\delta$  ( $6\text{H}$ , s), localizações aproximadamente iguais as observadas para 55 e a presença de um sinal em  $5,23\delta$  ( $1\text{H}$ , t,  $J=7,0\text{Hz}$ ) associado ao próton da dupla trissubstituída, H-15, observado em  $5,33\delta$  para 55.

Uma das diferenças observadas entre os espectros de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-5 e PRLH-6 foi quanto a existência em PRLH-6 de apenas um grupo acetoxila ( $2,00\delta$ , s,  $3\text{H}$ ) cuja absorção do grupo metileno a ele ligado ( $3,66\delta$ ,  $2\text{H}$ , q<sub>AB</sub>, H-18a e H-18b) encontra-se em localização idêntica àquela atribuída em PRLH-5 para o grupo acetato vizinho a um centro assimétrico (TABELA 13).

A presença de um dubleto em  $3,93\delta$  ( $2\text{H}$ ,  $J=7,0\text{Hz}$ ) no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-6, em semelhança ao observado para o produto de redução PRLH-6-R, 55a, que foi atribuído ao grupo metilênico alílico H-16, indicou a existência em PRLH-6 de um álcool alílico. O sinal em  $5,23\delta$  ( $1\text{H}$ , t,  $J=7,0\text{Hz}$ ) no espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$ , a absorção intensa em  $3400\text{ cm}^{-1}$  no espectro no Infravermelho e a comparação entre os dados de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-5, PRLH-5-R

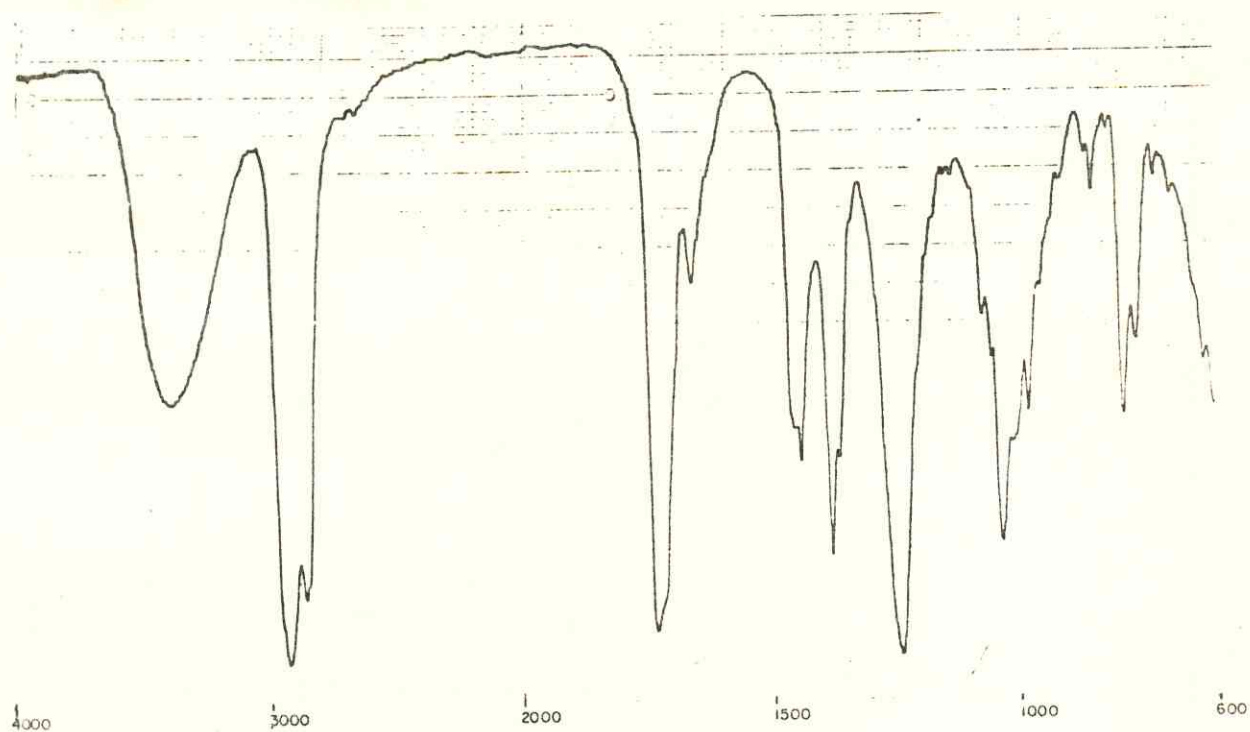


Figura 42 - Espectro de Absorção no Infravermelho de PRLH-6

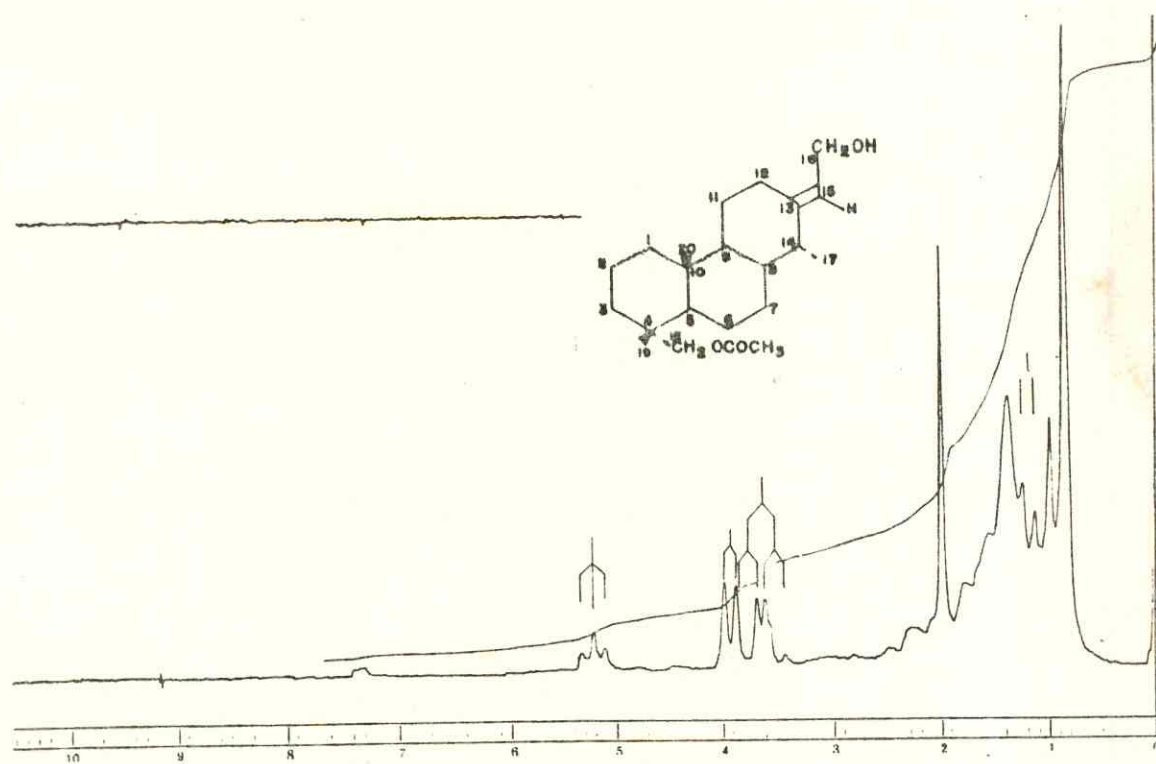


Figura 43 - Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de PRLH-6  
( 60 MHz,  $\text{CCl}_4$  )

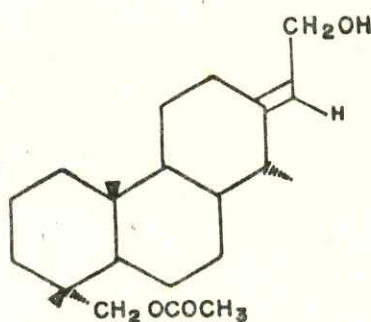


e PRLH-6 (TABELA 13) reforçaram esta proposição.

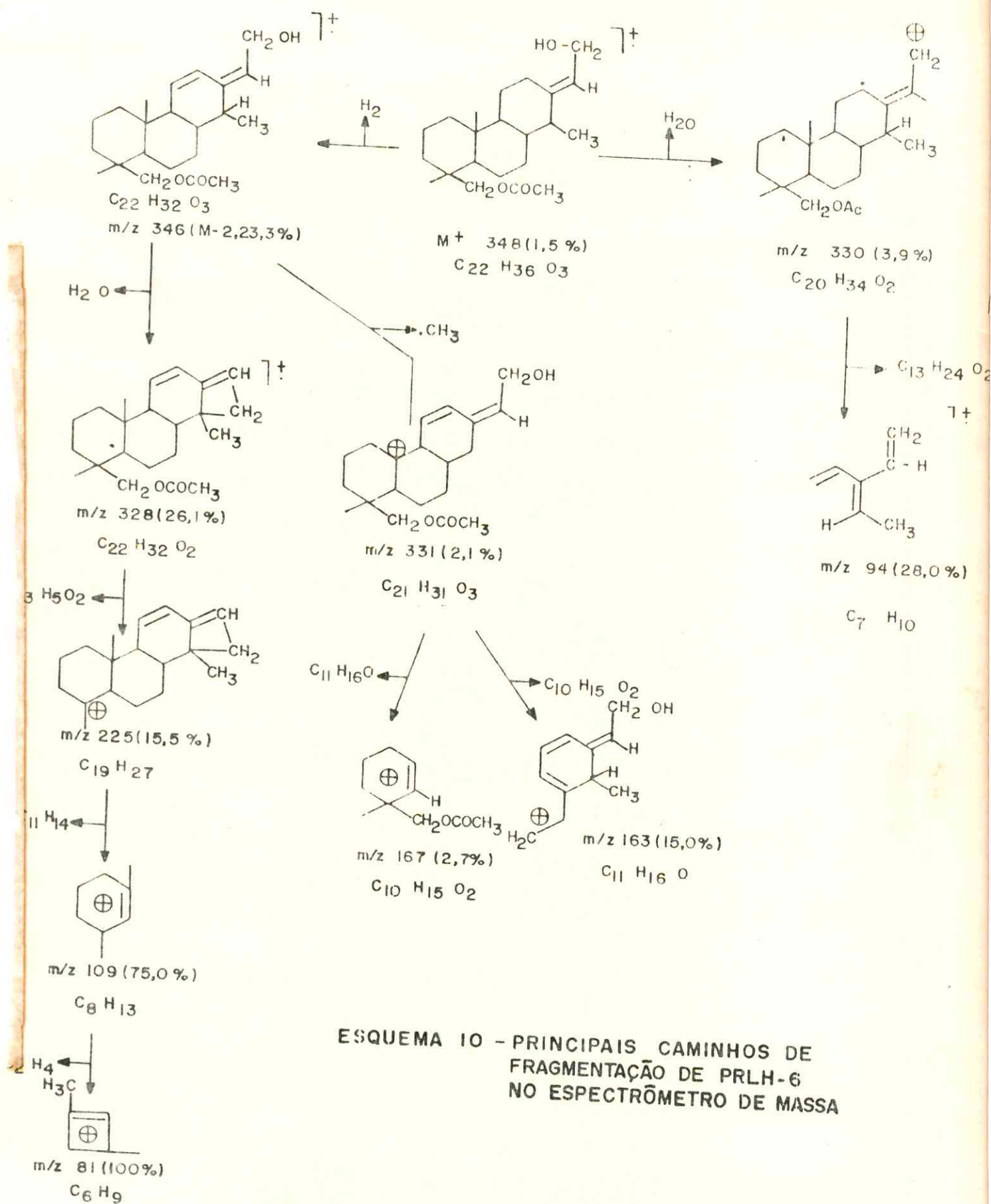
Baseado nos dados acima foi atribuído para PRLH-6 a estrutura de um diterpeno cassânico não furânico, 56, contendo um álcool alílico e um grupo acetato vizinho a um centro assimétrico. ( $M^+$  348, Esquema 10).

Com a finalidade de correlacionar as estruturas 55 e 56 propostas para PRLH-5 e PRLH-6, respectivamente, parte de PRLH-6 foi submetida a acetilação (piridina-anidrido acético), Esquema 09, resultando em um sólido branco (P.F. 69-71°C). Com paração dos dados espectrométricos (Infravermelho e  $RMN^1H$ ), ponto de fusão da mistura e cocromatografia sobre camada delgada de sílica gel confirmaram a obtenção de PRLH-5 a partir da acetilação de PRLH-6.

A redução de PRLH-6 com  $LiAlH_4$  em éter etílico forneceu o mesmo diol, 55a, (P.F. 122-125°C) obtido quando da redução de PRLH-5 (pág. 92), comprovando a estrutura de um diterpeno cassânico monoacetilado, 56, para PRLH-6.



(56)



CAPÍTULO II

PARTE EXPERIMENTAL

## PARTE EXPERIMENTAL

### MATERIAL

O lenho do caule de Plathymenia reticulata Benth (PR) foi utilizada neste estudo. A planta foi coletada na localidade de Crato, no Ceará, e identificada pelo Dr. Afrânio G. Fernandes. A exsicata de um espécime encontra-se depositada no herbário Prisco Bezerra do Depart.de Biologia da Univ. Federal do Ceará. O caule de Cochlospermum regium (CR) foi coletado no município de Maranguape - CE, por uma equipe sob a orientação do Professor Francisco José de Abreu Matos. O caule foi separado em casca e lenho e somente a casca foi utilizada neste estudo.

### METODOLOGIA

Os pontos de fusão foram determinados em aparelhos de microdeterminação marca Mettler, modelo P.F.5 e não foram corrigidos. Os espectros no Infravermelho (IV) foram obtidos usando-se pastilhas de KBr para sólidos e filme para substâncias líquidas em espectrômetro Perkin-Elmer modelo 720 e/ou 1320. Os espectros Ultravioleta (U.V.) foram registrados em espectrofotômetro Jenna modelo Specord entre 200 e 500 nm em soluções etanólica e metanólica. Os espectros de massa foram obtidos em espectrômetros de massa Hewlett - Packard modelo HP-5995-A acoplado a cromatografia de gás e a computador ou espectrômetro de massa FINNIGAN modelo 3.200 CG/EM.

Os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear



protônica (RMN  $^1\text{H}$ ) foram realizadas em espectrômetro Varian modelo EM-360 de 60 MHz usando soluções de tetracloreto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ), clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) ou acetona -  $\text{D}_6$  ( $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$ ) e tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono -  $^{13}\text{C}$  (RMN  $^{13}\text{C}$ ) foram obtidos em espectrômetro Varian XL-300 (75 MHz) e Varian PT-80 (20 MHz). Para ambos RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$ , os deslocamentos químicos foram expressos em parte por milhão (ppm) relativo ao TMS como padrão interno (unidades  $\delta$ ). O desdobramento das bandas foi indicado segundo a convenção: s (singleto), d (dubleto), t (triplete), q (quarteto), m (multiplete) e sl (singleto largo). As cromatografias em coluna de sílica gel foram realizadas utilizando sílica gel 60 (70-230 mesh) para coluna ou sílica gel 60 HF (254-366 mesh) para cromatografia em camada delgada. A revelação das placas utilizadas na cromatografia em camada delgada foi feita com auxílio de lâmpada Ultravioleta UV SL-25 Mineral Light de dois comprimentos de ondas (254 e 366 mm), câmara de vapores de iodo, pulverização com solução de vanilina 5% em etanol seguida de solução de ácido sulfúrico 5% ou solução de sulfato cérico 0,2% em ácido sulfúrico diluído 10%.

#### COMPARAÇÃO COM AMOSTRA AUTÊNTICA

Para tornar possível a identificação, comparações foram feitas com amostras de substâncias conhecidas. Estas comparações foram feitas através de dados espectrais: Infravermelho, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , espectro de massa: determinação do ponto de fusão misto; rotação específica e cocromatografia.

PROCEDIMENTO DOS TESTES BIOLÓGICOS

Os testes antimicrobianos foram realizados no Departamento de Farmacognosia, Universidade de Mississippi. Os ensaios foram baseados no biotestes gerais qualitativos e quantitativos para atividades antimicrobianas descritas por Hufford e colaboradores<sup>50</sup> e modificadas por Clarck e colaboradores<sup>51</sup>. O procedimento do teste antimicrobiano consiste em testar extrato, frações ou compostos puros com os seguintes microorganismos obtidos do "The American Type Culture Collection (A.T.C.C.): Escherichia coli (ATCC 10.538), Staphylococcus aureus (ATCC 6.533), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 15.422), Bacillus subtilis (ATCC 6.633), Mycobacterium smegmatis (ATCC 607), Saccharomyces cerevisiae (ATCC 9.763), Cryptococcus neoformans (ATCC 32.264), Aspergillus flavus (ATCC 9.170), Trichoptyton mentagrophytes (ATCC 9.972).

As placas de Petri (100 x 15 mm) com meios de 25 ml de agar esterilizado. Usando o método de estrias, a placa de agar esterilizada foi inoculada com uma solução de microorganismos testados (1 ml de caldo de cultura em 9 ml de água destilada). Os meios de cultura usados para bactérias foram "agar eugon" e "meio líquido de eugon", enquanto que para fungos foram usados "agar mycophil" e "meio líquido". Foram feitas cavidades removendo-se uma porção cilíndrica (11 mm (Ø) ) da placa de agar solidificado. Em cada cavidade foi adicionado 100 µl de uma solução ou suspensão de extrato, fração ou composto puro. Os extratos e frações foram testados na concentração de 20 mg/ml enquanto que compostos puros foram testados em 1 mg/ml. As placas preparadas como descrito acima foram incubadas

a 37°C (para bactéria) e 30°C para fungos. A atividade antimicrobiana foi registrada como a medida (em milímetros) da zona de inibição (ou raio médio), que são medidas do perímetro compreendido entre a margem da cavidade e a extremidade da zona de inibição. As medidas das atividades antimicrobianas foram efetuadas após 24 e 48 horas de incubação para bactéria e 48 e 72 horas no caso de fungos. Os resultados qualitativos foram descritos usando os seguintes códigos:

CÓDIGOCORRELAÇÃO

—

- Nenhuma atividade

+

- Atividade discutível

1 a 20

- Refere-se ao raio médio da zona de inibição descrito em milímetros.

Sulfato de estreptomicina foi utilizado como substância padrão nos testes antibacterianos e nos testes antifúngicos a substância padrão foi anfotericina B, sendo incluídas em cada caso como controle positivo.



## ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE PLATHYMENIA RETICULATA.

### OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O lenho de Plathymania reticulata (4,0 Kg), previamente moído, foi deixado em contato com hexano a frio, por 48 horas, com agitação constante. Após separação do extrato, o material foi submetido a uma segunda extração com hexano. A destilação do hexano, em evaporador rotativo, originou 130,0g de um óleo amarelo denominado PRLH. A torta proveniente da extração com hexano, depois de seca, foi extraída duas vezes com metanol a frio fornecendo, após a evaporação do solvente 128,0 g de um resíduo denominado PRLM (Esquema 11)

### FRACIONAMENTO PRELIMINAR DE PRLH

Parte do extrato hexânico, PRLH, (100,0g) foi submetida a fracionamento inicial em coluna cromatográfica usando-se 400,0g de sílica gel. Na eluição foram usados hexano, clorofórmio, acetato de etila e suas misturas binárias, dando origem a 97 frações de 50,0 ml que após comparação por cromatografia em camada delgada (C.C.D) foram reunidas como mostrado a seguir:



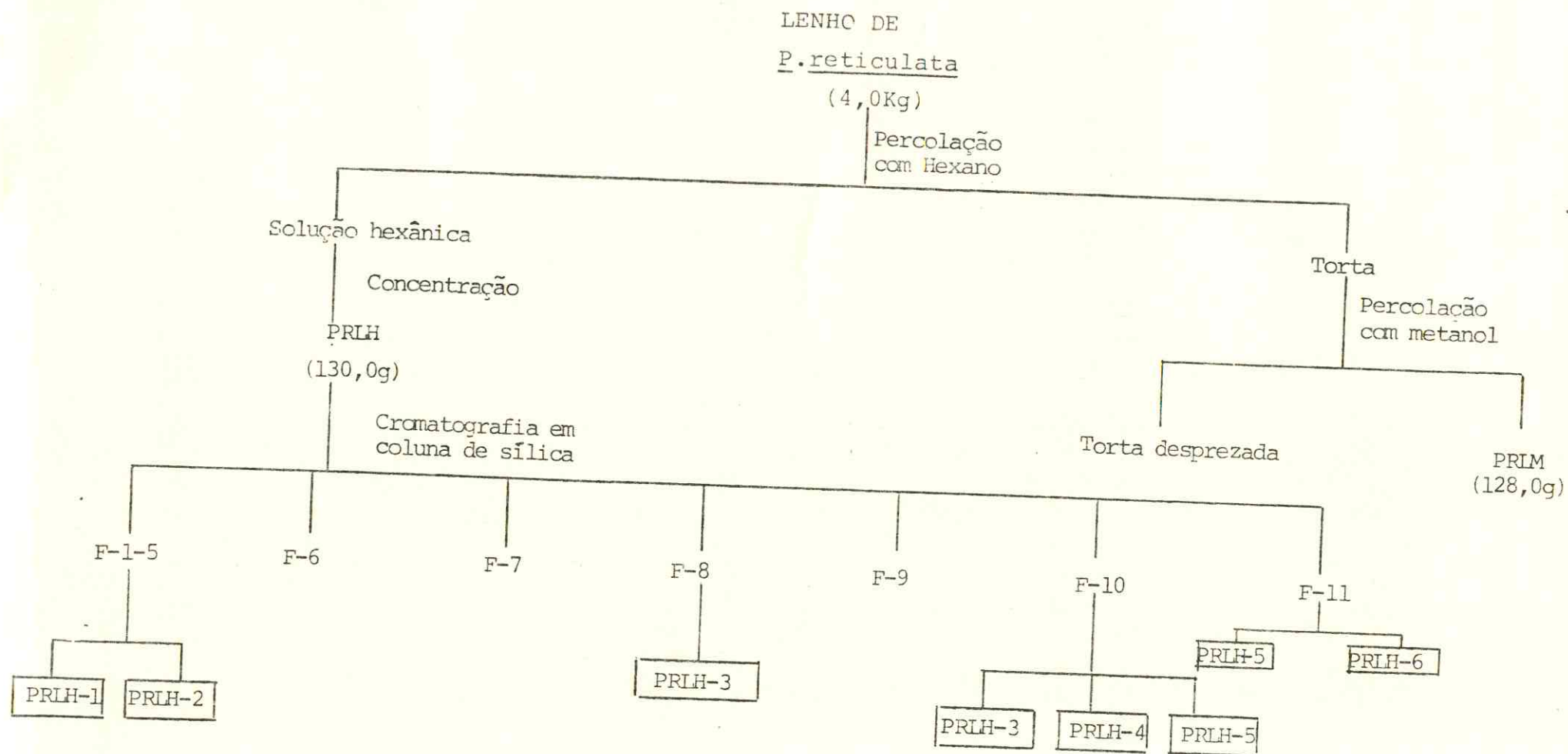
| <u>ELUENTE</u>             | <u>SIGLA</u> | <u>PESO (g)</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|----------------------------|--------------|-----------------|--------------------|
| Hexano                     | PRLH (2)     | 0,08            | F-1                |
| Hexano                     | PRLH (3)     | 0,45            | F-2                |
| Hexano                     | PRLH (4-8)   | 5,20            | F-3                |
| Hexano                     | PRLH (9-10)  | 8,60            | F-4                |
| Hexano                     | PRLH (11-15) | 8,00            | F-5                |
| Hex.-CHCl <sub>3</sub> 10% | PRLH (16-40) | 21,80           | F-6                |
| Hex.-CHCl <sub>3</sub> 50% | PRLH (41-46) | 7,30            | F-7                |
| Clorofórmio                | PRLH (47-71) | 19,10           | F-8                |
| Clorofórmio                | PRLH (72-76) | 2,40            | F-9                |
| Acetato de Etila           | PRLH (77-90) | 4,10            | F-10               |
| Acetato de Etila           | PRLH (91-97) | 21,63           | F-11               |

#### ISOLAMENTO DE PRLH-1

As frações F-1 a F-5 de PRLH, 22,33g, Esquema 11, constituída por uma mistura de óleo e cristais, após filtração a vácuo em funil de placa porosa e recristalização em metanol resultou em 5,6g de cristais amarelos (P.F. 79-81°C) denominados PRLH-1. Esta substância foi identificada como acetato de vinhaticila por dados espectrais (RMN<sup>1</sup>H, RMN<sup>13</sup>C, Infravermelho), ponto de fusão misto e cocromatografia com a amostra autêntica.

#### PRLH-1/H

O líquido-mãe resultante da recristalização de PRLH-1 forneceu ainda 1,2g de cristais menos puros. Na análise por C.C.D. estes cristais revelaram-se como uma mistura de



ESQUEMA 11 - Isolamento dos constituintes químicos do extrato hexânico do lenho de P.reticulata.

dois componentes sendo um deles o acetato de vinhaticila, PRLH-1. Em um balão de 25,0 ml, os cristais foram dissolvidos em 10,0ml de metanol, acrescentados 0,2g de KOH e, a mistura reacional mantida sob refluxo durante 15 horas. A solução básica, resultante da hidrólise, foi neutralizada com HCl 2N e extraída três vezes com  $\text{CCl}_4$ . As fases orgânicas reunidas, após serem lavadas com água, foram tratadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtradas e concentradas em evaporador rotativo. O resíduo resultante, 1,0g, foi cromatografado em sílica gel (15,0g). A eluição com hexano da coluna cromatográfica do produto bruto de hidrólise de PRLH-1, resultou em um sólido (p.f. 100-103°C), 0,30g, denominado PRLH-2, que foi identificado através dos dados espectroscópicos e cromatografia com a amostra autêntica como o vinhaticoato de metila.

Como resultado da eluição com mistura hexano-acetato de etila 5% foram obtidos 0,30g de um produto denominado PRLH-1/H (p.f. 126-128°C). Este produto foi identificado como vinhaticol, produto de hidrólise do acetato de vinhaticila, através de dados espectroscópicos, ponto de fusão misto e cromatografia com a amostra autêntica.

#### HIDROGENAÇÃO DE PRLH-1

0,10g de acetato de vinhaticila foram dissolvidos em metanol, adicionados a um balão contendo 0,15g de Pd.C 10% em 10,0ml de metanol, previamente saturado com hidrogênio por 30 minutos. A reação foi acompanhada por C.C.D e término da reação verificado através do desaparecimento do material de partida. A mistura reacional foi filtrada em coluna de sílica gel para remover o catalizador. O resíduo resultante (0,09g) foi cromat-



tografado em coluna de sílica gel utilizando como eluentes hexano, clorofórmio e suas misturas binárias. O material oleoso resultante das frações eluidas com hexano-clorofórmio 1:1 foi associado através dos dados espectroscópicos ao produto de hidrogenação do acetato de vinhaticila PRLH-1/Ha.

As frações obtidas da eluição com clorofórmio resultaram, após a evaporação do solvente, em um material sólido (p.f. 124-125°C) cujos dados espectroscópicos permitiram caracterizá-lo como o produto de hidrogenólise do acetato de vinhaticila hidrogenado PRLH-1/Hb. (Esquema 01).

#### OXIDAÇÃO DO ANEL FURÂNICO DE PRLH-1 POR REAGENTE DE JONES.

0,5g de acetato de vinhaticila dissolvidos em 10,0ml de acetona, foram resfriadas por agitação em banho de gelo. A solução do reagente de Jones, segundo Fieser<sup>52</sup>, recém-preparada (5,0ml) foi adicionada, lentamente, com o auxílio de uma pipeta. Após 30 minutos de contato foi observado, por C.C.D, o término da reação. Bissulfito de sódio (5,0g) foi acrescentado em pequenas porções, adicionando-se água em seguida. A mistura foi transferida para um funil de decantação e extraída três vezes com éter etílico. As fases etéreas reunidas foram tratadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentradas em evaporador rotativo. O sólido obtido (0,33g) foi cromatografado em coluna de sílica gel (10,0g). As frações eluidas com clorofórmio resultaram em 0,20g do produto de oxidação PRLH-1/Ox, material sólido, (p.f. 181-183°C). (Esquema 01).



ISOLAMENTO DE PRLH-3

A fração F-8 (19,10g) do extrato hexânico do lenho de P. reticulata (PRLH), Esquema 11, foi inicialmente adsorvida em sílica (20,0g), acondicionada ao topo de uma coluna de sílica gel para C.C.D. (50,0g) e eluída com hexano, clorofórmio, acetato de etila e suas misturas binárias, obtendo-se 66 frações de 20,0 ml. Após a comparação por C.C.D. foram agrupadas como segue:

| <u>ELUENTE</u>               | <u>SIGLA</u> | <u>PESO</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|------------------------------|--------------|-------------|--------------------|
| Hexano                       | F-8(1)       | 0,70        | F-8/1              |
| Hexano                       | F-8(2)       | 0,40        | F-8/2              |
| Hexano                       | F-8(3+23)    | 5,20        | F-8/3              |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 1:1 | F-8(24-32)   | 4,80        | F-8/4              |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 1:1 | F-8(33-49)   | 2,70        | F-8/5              |
| Clorofórmio                  | F-8(50-61)   | 0,90        | F-8/6              |
| Acetato de etila             | F-8(62-66)   | 1,70        | F-8/7              |

A 8/3 (5,2g) foi recromatografada em coluna de sílica gel para C.C.D (100,0g) e a eluição com mistura hexano-clorofórmio 1:1 levou ao isolamento de 1,56g de um óleo incolor denominado PRLH-3,  $[\alpha]_D^{25} -22,0$ , (C = 1,0, CHCl<sub>3</sub>) que foi caracterizado como plathyterpol pelos dados espectroscópicos e comparação com a literatura.

A fração F-8/4, 4,80g, foi analisada cromatograficamente em sílica gel para C.C.D., como descrito acima, levando ao isolamento de mais 7,40g de plathyterpol puro.

EPOXIDAÇÃO DE PRLH-3

Plathyterpol (0,50g) foi dissolvido em 20,0ml de clorofórmio, e mantido em um banho de gelo a 0°C. O ácido m-cloroperbenzôico (0,80g) dissolvido em 15,0 ml de clorofórmio foi adicionado, com o auxílio de uma pipeta, por um período de 30 minutos. Em seguida a mistura foi mantida, sob agitação a 0°C. Após um período de duas horas o término da reação foi verificado por C.C.D. através do desaparecimento do material de partida. O excesso de perácido foi destruído com 5,0 ml de uma solução de sulfito de sódio 10% e a mistura reacional lavada cuidadosamente com uma solução de bicarbonato de sódio. A fase orgânica foi separada enquanto que a fase aquosa extraída três vezes com clorofórmio. As fases orgânicas combinadas foram tratadas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente foi destilado em evaporador rotativo. O resíduo obtido (0,48g) foi cromatografado em coluna de sílica gel para C.C.D. e eluída com clorofórmio, resultando 0,30g de um material oleoso, PRLH-3/E1, caracterizado como o monoepóxido do plathyterpol por dados espectroscópicos.

Uma segunda epoxidação foi realizada usando 0,61g de plathyterpol dissolvidos em 15,0 ml de cloreto de metileno e o ácido meta-cloroperbenzôico (0,43g) dissolvido em cloreto de metileno (10,0 ml) foi adicionado durante 30 minutos a 30°C. Em seguida a mistura reacional foi agitada por uma hora à temperatura ambiente. O término da reação foi observado por C.C.D. através do desaparecimento do material de partida. A elaboração do produto bruto foi feita da maneira descrita acima para a obtenção do monoepóxido do plathyterpol. O resíduo obtido

(0,44g) foi cromatografado em coluna de sílica gel para C.C.D. originando 0,35g de um material oleoso, PRLH-3/E2, caracterizado pelos dados espectroscópicos como o diepóxido do plathyterpol. (Esquema 05).

#### HIDROGENAÇÃO DE PRLH-3

0,26g de plathyterpol dissolvidos em clorofórmio foram adicionados a um balão contendo 300 mg de Pd.C 10% em metanol, previamente saturado com hidrogênio por 30 minutos. A reação foi acompanhada por C.C.D. e após 15 horas observou-se o desaparecimento do material de partida. A mistura reacional foi submetida a filtração em uma pequena coluna de sílica gel, para reter o catalizador, sendo o solvente destilado em evaporador rotativo. O resíduo (0,29g) foi cromatografado em coluna de sílica gel e a posterior análise por C.C.D. permitiu reunir as frações resultantes em dois grupos. Das frações menos polares foi separado 0,07g do produto de hidrogenólise do Plathyterpol, PRLH-3/Ha. O grupo constituído pelas frações mais polares resultou em 0,12g do produto de hidrogenação do Plathyterpol, PRLH-3/Hb). (Esquema 08).

#### ISOLAMENTO DE PRLH-5

A fração F-10 (4,10g), Esquema 11, foi submetido a cromatografia em coluna de sílica gel (75,0g). Como resultado da eluição com hexano, clorofórmio, acetato de etila e suas misturas binárias foram obtidas 73 frações de 20,0 ml. A comparação por C.C.D. formou os seguintes grupos de frações:



| <u>ELUENTE</u>               | <u>SIGLA</u> | <u>PESO</u> | <u>DENOMINACÃO</u> |
|------------------------------|--------------|-------------|--------------------|
| Hexano                       | F-10 (1-10)  | 0,13        | F-10/1             |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 10% | F-10 (11-17) | 0,24        | F-10/2             |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 25% | F-10 (18-23) | 0,97        | F-10/3             |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 50% | F-10 (24-29) | 0,80        | F-10/4             |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 50% | F-10 (30-37) | 0,57        | F-10/5             |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 50% | F-10 (38-58) | 0,64        | F-10/6             |
| Clorofórmio                  | F-10 (59-61) | 0,22        | F-10/7             |
| Clorofórmio                  | F-10 (62-66) | 0,27        | F-10/8             |
| Acetato de Etila             | F-10 (67-73) | 0,19        | F-10/9             |

A fração F-10/5, 0,57g, foi recromatografada em sílica gel e, as frações eluídas com mistura hexano-clorofórmio 1:1 forneceram um sólido branco (P.F. 69-71°C) denominado PRLH-5 e caracterizado através dos dados espectroscópicos como um di terpeno cassânico diacetilado, PRLH-5.

Das frações F-10/6 e F-10/7, após serem recromatografadas, foram obtidos mais 0,3g de PRLH-5.

A coluna cromatográfica da fração F-10/3, 0,97g, tornou possível o isolamento do plathyterpol (0,35g) já obtido de outras frações deste extrato (pág.108).

#### ISOLAMENTO DE PRLH-4

A recristalização em hexano da fração F-10/8, 0,27g, levou a separação de 0,07g de um sólido branco (P.F. 131-134°C) que por cocromatografia com a amostra autêntica (reagente Merck) foi caracterizado como  $\beta$ -sitosterol.



ISOLAMENTO DE PRLH-6

A fração F-11 (21,63g) resultante do fracionamento de PRLH (Esquema 11) foi submetida a cromatografia em coluna de sílica gel (100,0g) originando, após comparação por C.C.D., os seguintes grupos de frações:

| <u>ELUENTE</u>                   | <u>SIGLA</u> | <u>PESO(g)</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|----------------------------------|--------------|----------------|--------------------|
| Hexano                           | F-11(1-13)   | 0,13           | F-11/1             |
| Hexano                           | F-11(14-17)  | 0,10           | F-11/2             |
| Hexano-CHCl <sub>3</sub> 1:1     | F-11(18-21)  | 0,60           | F-11/3             |
| Clorofórmio                      | F-11(22-76)  | 5,70           | F-11/4             |
| CHCl <sub>3</sub> -Acet.de Etila | F-11(77-90)  | 12,0           | F-11/5             |
| Acetato de Etila                 | F-11(91-93)  | 1,1            | F-11/6             |

A fração F-11/4, 5,70g, foi adsorvida em sílica gel (7,0g) e cromatografada em uma coluna de sílica gel para C.C.D. (70,0g). A análise das frações resultantes por C.C.D., permitiu reuni-las do seguinte modo:

| <u>ELUENTE</u>                    | <u>SIGLA</u>  | <u>PESO(g)</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|-----------------------------------|---------------|----------------|--------------------|
| Hexano                            | F-11/4(1-34)  | 0,70           | F-11/4/1           |
| Clorofórmio                       | F-11/4(35-73) | 2,42           | F-11/4/2           |
| CHCl <sub>3</sub> -Acet.Etila 1:1 | F-11/4(74-77) | 0,40           | F-11/4/3           |
| Acetato de Etila                  | F-11/4(78-99) | 1,94           | F-11/4/4           |

A fração F-11/4/3, 0,40g, foi recromatografada em coluna de sílica gel para C.C.D. (10,0g) e das frações eluídas com clorofórmio foi isolado um óleo incolor denominado

PRLH-6, que foi caracterizado como um diterpeno cassânico monoacetilado através de seus dados espectrométricos.

Da fração F-11/4/2 foi obtido um material sólido que após a recristalização em hexano resultou em 0,80g de cristais (P.F. 69-71°C) que foram identificados por cocromatografia como PRLH-5 (pág.110).

#### OUTRO MÉTODO DE ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DO LENHO DO CAULE DE PLATHYMENIA RETICULATA

Visando o isolamento de maiores quantidades das substâncias PRLH-5 e PRLH-6, encontradas nas frações mais polares de PRLH, pág. 109 e 112, um outro método de fracionamento deste extrato foi utilizado.

A partir de 8,0Kg de lenho do caule de P.reticulata foram preparados extratos hexânico, PRLH-I (500,0g) e metanólico, PRLM-I, (240,0g), Esquema 12, de maneira já descrita anteriormente (pág.103).

#### FRACIONAMENTO DO EXTRATO HEXÂNICO - PRLH-I

Uma alíquota do extrato hexânico (205,0g) foi adsorvida em sílica gel (600,0g), acondicionada em um funil de decantação e eluída exaustivamente com hexano, seguido de clorofórmio e acetato de etila (Esquema 12). Os resultados são mostrados a seguir:

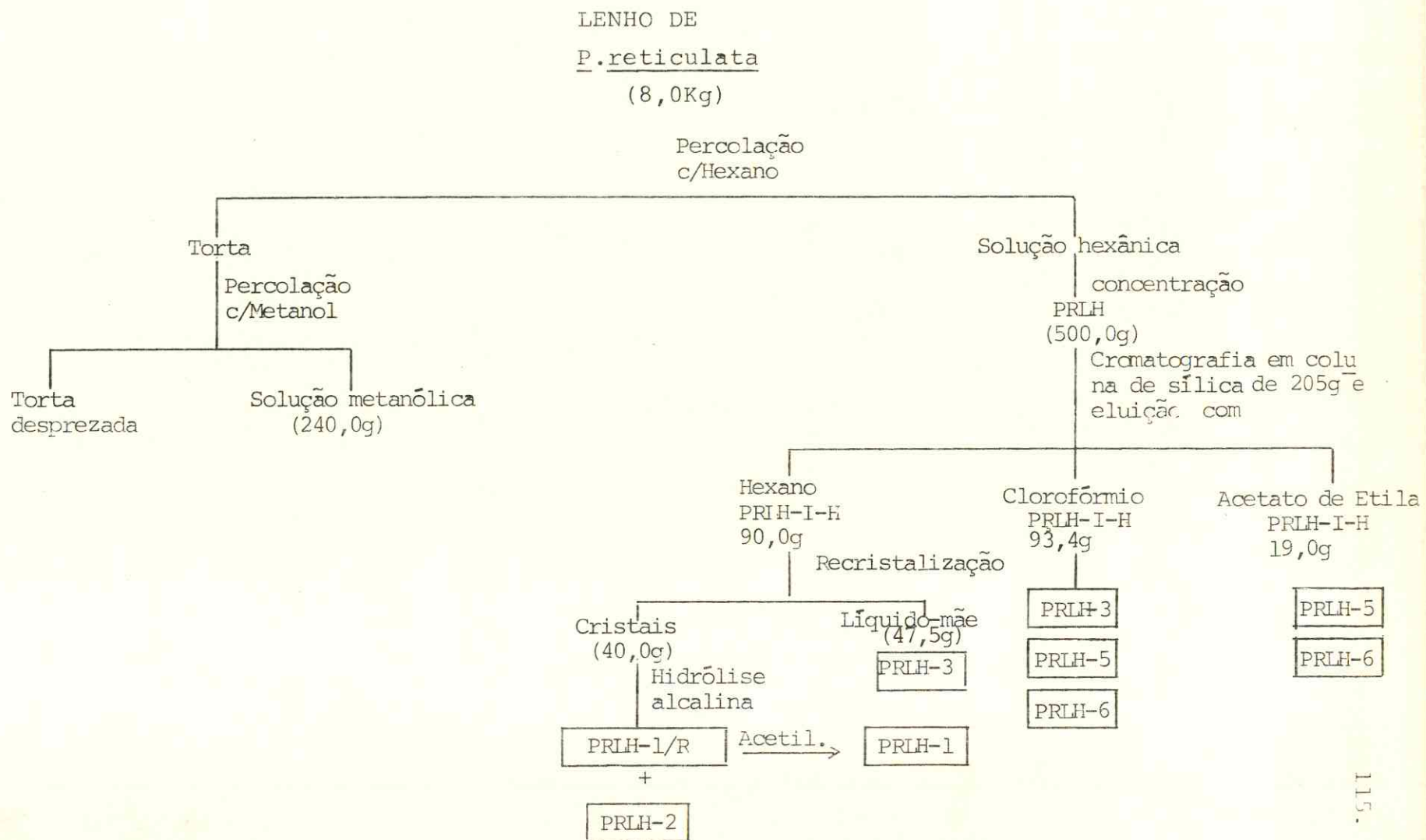
| <u>ELUENTE</u>   | <u>PESO (g)</u> | <u>SIGLA</u> |
|------------------|-----------------|--------------|
| Hexano           | 90,0            | PRLH-I-H     |
| Clorofórmio      | 93,4            | PRLH-I-C     |
| Acetato de Etila | 19,0            | PRLH-I-A     |

#### ISOLAMENTO DE PRLH-2

A fração PRLH-I-H, 90,0g, (Esquema 12) era constituída de cristais imersos em um óleo amarelo. Os cristais foram separados por filtração a vácuo em funil de Büchner, lavados com metanol fornecendo 40,0g, após a evaporação do solvente. O filtrado foi concentrado em evaporador rotativo obtendo-se 47,0g de material oleoso. A comparação por C.C.D. com os constituintes do extrato hexânico obtidos anteriormente (pág. 104) permitiu verificar que os cristais eram uma mistura de acetato de vinhaticila e vinhaticoato de metila, enquanto que o material oleoso apresentava o Plathyterpol impurificado com acetato de vinhaticila e vinhaticoato de metila.

Uma alíquota de cristais (30,0g), dissolvidos em metanol (150 ml), foram transferidos para um balão e, em seguida, acrescentados 5,6g de KOH. A mistura foi mantida sob refluxo por 12 horas. O produto bruto de reação foi elaborado de maneira descrita anteriormente (pág. 106). O resíduo resultante 27,0g foi misturado com sílica (20,0g) e cromatografado em coluna de sílica gel (160,0g). Como resultado da eluição com hexano e hexano-acetato de etila 5% foram obtidos o vinhaticoato de metila (PF. 100-103°C), 5,0g, e o produto de hidrólise do acetato de vinhaticila (vinhaticol, 5,5g), respectivamente.

ESQUEMA 12 - Outro isolamento dos constituintes químicos do extrato hexânico do lenho de Plathymenia reticulata.





#### HIDROGENAÇÃO DE PRLH-2

0,47g de vinhaticoato de metila, dissolvidos em metanol, foram adicionados a uma suspensão de 0,50g de Pd.C 10% em 30,0 ml de metanol, previamente saturado com hidrogênio, por 30 minutos. A mistura foi mantida sob atmosfera de hidrogênio durante a noite. Após tratamento usual, a mistura reacional (0,50g) foi cromatografada em coluna de sílica gel (10,0g) originando 0,20g do produto de hidrogenação do vinhaticoato de metila (P.F. 74-76°C), PRLH-2Ha (Esquema 03).

#### HIDROGENAÇÃO DE PRLH-1/H

0,50g de vinhaticol foram hidrogenados (0,60g de C/Pd 10% em 30,0 ml de metanol) de maneira descrita anteriormente (pág.106) fornecendo após a elaboração 0,45g de material sólido (P.F. 124-125°C). A análise dos dados espectroscópicos e cocromatografia permitiram identificá-lo como o produto de hidrogenação e hidrogenólise do acetato de vinhaticila, PRLH-1/Hb, obtido anteriormente (pág.107), através da hidrogenação do acetato de vinhaticila em metanol.

#### ACETILAÇÃO DE PRLH-1/H

4,5g de vinhaticol foram colocados em um balão e dissolvidos com 20 ml de mistura piridina-anidrido acético 4:1, sob agitação. Após 12 horas de reação observou-se por C.C.D. a formação do produto acetilado. Foi adicionado água, lentamente, ao balão que se encontrava imerso em um banho

de gelo, acrescentados 100 ml de HCl 1N e a solução agitada por 10 minutos. Foram feitas extrações com clorofórmio em um funil de decantação. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com água destilada e concentradas em evaporador rotativo. Foram obtidos 4,3g de um sólido que após recristalização em metanol resultou em 3,5g de cristais amarelos (P.F. 79-81°C). A análise por cocromatografia, ponto de fusão misto e dados espectroscópicos confirmaram a obtenção do acetato de vinhatícila.

#### HIDROGENAÇÃO DE PRLH-1 EM METANOL

O acetato de vinhaticila (0,50g) resultante da acetilação do vinhaticol foi dissolvido em metanol (10,0 ml) e adicionado a um balão contendo mistura de Pd.C 10% (0,6g) em 30,0 ml de metanol, previamente saturado com hidrogênio. Após 15 horas foi verificado por C.C.D. o desaparecimento do material de partida. O produto bruto foi elaborado de maneira descrita anteriormente (pág.106). O resíduo resultante (0,53g) foi cromatografado em coluna de sílica gel (30,0g) e eluída com mistura hexano-acetato de etila 1:1. A comparação das frações resultantes por C.C.D. originou dois grupos de frações. O constituído pelas frações menos polares resultou em 0,10g de um material oleoso cuja comparação dos dados espectroscópicos permitiu caracterizá-lo com PRLH-1/Ha. Já o grupo constituído pelas frações mais polares originou 0,18g do produto de hidrogenólise, PRLH-1/Hb, (P.F. 121-124°C), de maneira análoga aos produtos obtidos através da hidrogenação do acetato de vinhaticila em metanol, anteriormente descritos (pág.107).

### HIDROGENAÇÃO DE PRLH-1 EM CLOROFÓRMIO

0,50g de acetato de vinhaticila foram hidrogenados (Pd.C 10% 0,60g,  $\text{CHCl}_3$  30 ml). Após a elaboração, de maneira descrita anteriormente, foram obtidos 0,42g de material oleoso que foi identificado por cocromatografia e dados espectroscópicos como o produto de hidrogenação do acetato de vinhaticila PRLH-1/Ha.

### ACETILAÇÃO DE PRLH-1/Hb

0,10g do produto de hidrogenação e hidrogenólise do acetato de vinhaticila, PRLH-1/Hb, foi acetilado utilizando 2,0 ml de solução de piridina-anidrido acético 1:4. Após 5 horas, sob agitação, o término da reação foi verificado por C.C.D. através do desaparecimento do material de partida. A mistura reacional foi elaborada do mesmo modo que descrito anteriormente (pág. 116). O produto obtido (0,08g), material oleoso, foi identificado por cocromatografia e dados espectroscópicos como o produto de hidrogenação do acetato de vinhaticila PRLH-1/Ha.

### PRLH-1/H

A fração PRLH-C, 94,0g (Esquema 12) foi adsorvida em 250,0g de sílica gel, acondicionada em um funil de decantação e eluída com hexano, clorofórmio e acetato de etila. Os resultados são mostrados a seguir:



| <u>ELUENTE</u>   | <u>PESO (g)</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|------------------|-----------------|--------------------|
| Hexano           | 5,3             | PRLH-I-C-1         |
| Clorofórmio      | 57,4            | PRLH-I-C-2         |
| Acetato de Etila | 25,0            | PRLH-I-C-3         |

A comparação, por C.C.D., da fração PRLH-C/2 (57,4g) com substâncias já isoladas no fracionamento anterior de P. reticulata, mostrou que esta fração era constituída por acetato de vinhaticila, vinhaticoato de metila e plathyterpol.

11,80g desta mistura foram transferidas para um balão e dissolvidas em 100,0 ml de éter etílico. Em outro balão, 3,0g de  $\text{LiAlH}_4$  foram agitados durante 30 minutos com 100,0 ml de éter etílico. Os frascos foram conectados e exercendo-se a pressão no frasco contendo  $\text{LiAlH}_4$  em éter, metade do volume de éter foi transferido, após a decantação do resíduo. A mistura foi agitada durante 3 horas à temperatura ambiente. O excesso de  $\text{LiAlH}_4$  foi neutralizado com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  hidratado, sendo os sais precipitados separados por filtração a vácuo. O filtrado foi concentrado em evaporador rotativo e o resíduo resultante, 11,40g, adsorvido em sílica gel, acondicionado a uma coluna e eluído com hexano, clorofórmio e suas misturas binárias. A comparação das frações resultantes por C.C.D. permitiu separá-las em dois grupos: o resultante da eluição com hexano-clorofórmio 5% forneceu 5,3g de um material oleoso, caracterizado por cocromatografia e dados espectros cópicos como o plathyterpol. O grupo de frações obtidas através da eluição com mistura hexano-clorofórmio 25% forneceu um material sólido (P.F.121-124°C) que foi identificado por co-



cromatografia, ponto de fusão misto e dados espectroscópicos como o produto resultante da resultante da redução do acetato de vinhaticila e vinhaticoato de metila, vinhaticol, referido anteriormente (pág.106).

#### REDUÇÃO DE PRLH-5

10,20g da fração PRLHI-C/3 (pág. 119 foram dissolvidos em 100,0 ml de éter etílico e reduzidos com  $\text{LiAlH}_4$  (3,0g) conforme procedimento experimental já descrito (pág.119). O produto de redução (9,2g) foi fracionado em coluna de sílica gel (50,0g). A posterior comparação por C.C.D. das frações resultantes levou aos seguintes grupos de frações:

| <u>ELUENTE</u>              | <u>SIGLA</u>      | <u>PESO</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|-----------------------------|-------------------|-------------|--------------------|
| Hexano                      | PRLHI-C/3(1-61)   | 2,60g       | PRLHI-C/3-R(1)     |
| Hexano- $\text{CHCl}_3$ 5%  | PRLHI-C/3(62.90)  | 3,80g       | PRLHI-C/3-R(3)     |
| Hexano- $\text{CHCl}_3$ 25% | PRLHI-C/3(91-110) | 3,03g       | PRLHI-C/3-R(3)     |

A fração PRLHI-C/3-R(1), constituída por um óleo incolor, foi por cocromatografia caracterizado como plathyterpol.

A fração PRLHI-C/3-R(3), material sólido (3,03g) após recristalização em hexano resultou em 1,80g de cristais (P.F. 122-125°C) que foi caracterizado através dos dados espectroscópicos como o produto de redução do diterpeno cassânico diacetilado PRLH-5/R.

ACETILAÇÃO DE PRLH-5/R

0,3g do produto de redução PRLH-5/R foram transferidos para um balão contendo 2 ml de mistura piridina-anidrido acético 1:4, sob agitação. Após 12 horas de reação, acompanhada por C.C.D., observou-se a formação do produto acetilado. A elaboração da mistura reacional foi efetuada de maneira descrita anteriormente (pág.116). O produto resultante (0,27g) foi cromatografado em coluna de sílica gel e a eluição com mistura hexano-acetato de etila 10% resultou em 0,21g de um material sólido (P.F. 69-71°C) que foi caracterizado por cocromatografia e dados espectroscópicos como o diterpeno cassânico diacetilado PRLH-5. (Esquema 11).

ISOLAMENTO DE PRLH-6

A fração PRLHI-A (Esquema 12) foi cromatografada em coluna de sílica gel para C.C.D. e as frações resultantes, após comparação por C.C.D., foram reunidas como mostrado abaixo:

| <u>ELUENTE</u>      | <u>SIGLA</u>   | <u>PESO</u> | <u>DENOMINAÇÃO</u> |
|---------------------|----------------|-------------|--------------------|
| Hexano              | PRLHI-A(1-3)   | 0,69        | PRLHI-A/1          |
| Hexano-Ac.Etila 10% | PRLHI-A(4-11)  | 10,20       | PRLHI-A/2          |
| Hexano-Ac.Etila 10% | PRLHI-A(12-18) | 2,56        | PRLHI-A/3          |
| Hexano-Ac.Etila 25% | PRLHI-A(19-26) | 0,56        | PRLHI-A/4          |
| Hexano-AC.Etila 50% | PRLHI-A(27-44) | 3,06        | PRLHI-A/5          |
| Acetato de Etila    | PRLHI-A(45-52) | 1,01        | PRLHI-A/6          |

A fração PRLHI-A/2, 10,20g, após recromatografia em

coluna de sílica gel para C.C.D. forneceu 0,30g de um óleo incolor. A comparação, por C.C.D., com as substâncias já isoladas do extrato hexânico de P. reticulata permitiu identificar esta substância como PRLH-6.

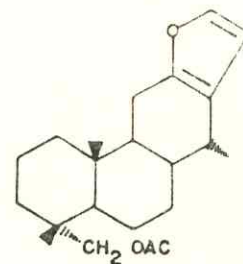
#### REDUÇÃO DE PRLH-6

9,0g da fração PRLHI-A/2 dissolvidos em 100 ml de éter etílico foram reduzidos com uma suspensão de 3,0g de  $\text{LiAlH}_4$  em 100 ml de éter etílico, conforme procedimento experimental anteriormente descrito (Pág. 119). A mistura reacional foi agitada durante 3 horas e, em seguida, elaborada. O resíduo resultante, 8,6g, foi adsorvido em sílica gel (10,0g) e cromatografado em coluna de sílica gel para C.C.D (50,0g) e eluída com mistura hexano-acetato de etila 10 e 20%, resultando no isolamento de 3,20g de um sólido branco (122 - 125°C) que a cocromatografia com o produto de redução de PRLH-5 demonstrou tratar-se da mesma substância.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS  
DE PLATHYMENIA RETICULATA.

PRLH-1

SÓLIDO AMARELO, p.f. 79-81°C



KBr  
 I.V.  $\nu_{\max}$  ( $\text{cm}^{-1}$ )  
 3380, 2940, 2910, 1715, 1620, 1225, 1020

RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CCl}_4$ ,  $\delta$ )  
 7,00 (d, 1H,  $J=2,0$  Hz), 5,76 (d, 1H,  $J=2,0$  Hz, 3,66  
 (Sistema AB, q, 2H,  $J=11$  Hz), 2,10 (3H, s), 1,10 (d,  
 3H,  $J = 7,0$  Hz), 0,96 (3H, s), 0,90 (3H, s).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ )  
 39,1 (t, C-1), 17,9 (t, C-2), 35,3 (t, C-3), 36,5 (s,  
 C-4), 49,5 (d, C-5), 21,6 (t, C-6), 31,0 (t, C-7), 31,5  
 (d, C-8), 45,7 (d, C-9), 37,3 (s, C-10), 22,3 (t, C-11),  
 149,6 (s, C-12), 122,4 (s, C-13), 35,7 (d, C-14),  
 109,5 (d, C-15), 140,3 (d, C-16), 17,5 (q, C-17),  
 73,3 (t, C-18), 17,9 (q, C-19), 14,9 (q, C-20), 171,3  
 (s,  $\text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O})$ ), 20,9 (q,  $\text{CH}_3 - \text{C}(=\text{O})$ ).

E.M. Picos em m/z (%)  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_3$   
 344 ( $\text{M}^+$ , 29,3), 285 (3,2), 271 (7,5), 269 (7,6),  
 265 (6,8), 189 (5,3), 175 (20,3), 173 (7,8), 161 -  
 (15,9), 149 (14,2), 147 (31,4), 145 (42,0), 135 (12,1)  
 134 (7,0), 133 (33,0), 131 (73,4), 119 (23,8), 110 -  
 (18,5), 109 (83,0), 108 (100), 107 (46,4), 105 -  
 (38,6), 97 (16,0), 95 (37,1), 93 (25,0), 91 (39,3),



107(46,4), 105(38,6), 97(16,0), 95(37,1), 93(25,0),  
91(39,3), 83(16), 80(10), 77(26), 69(25,9), 67(28,6).

PRLH-1/Ha

MATERIAL OLEOSO

I.V. Filme  
v max. ( $\text{cm}^{-1}$ )

2880, 2800, 1710, 1440, 1360, 1220, 1080, 1040, 1020,  
770.

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CCl}_4, \delta$ )

3,66(q, 2H,  $J=11, \text{OHZ}$ ), 2,03(s, 3H), 0,90(d, 3H,  $J=7, \text{OHZ}$ ),  
0,90(s, 6H).

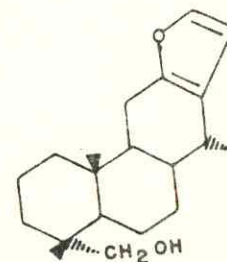
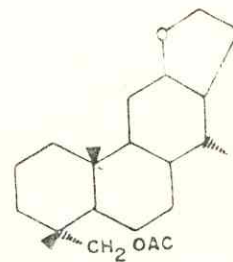
E.M.

$\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3$  m/z (%)

348( $\text{M}^+$ , Ausente), 307(1,1), 306(4,8), 289(1,4), 288(2,9),  
276(9,8), 275(42,5), 259(6,5), 257(14,8), 231(13,3),  
215(2,3), 206(3,5), 205(13,8), 203(4,8), 198(30,7), 197(12,9),  
175(24,5), 165(7,5), 161(24,2), 159(12,3), 152(10,5),  
151(13,5), 149(61,8), 147(25,8), 145(14,3), 137(11,8),  
135(37,8), 123(50,8), 109(64,1), 108(21,2), 107(65,4),  
97(100), 95(82,2), 93(65,1), 83(29,8), 77(21,1), 69(62,3),  
57(24,5), 55(94,9).

PRLH-1/H

Sólido branco p.f. 126-128°C.



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

3420, 3005, 2990, 2970, 2940, 1650, 1570, 1510, 1450,  
1300, 1200, 1150, 1100, 1055, 900, 750.

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>,  $\delta$ )

7,03 (d, 1H, J=2, OHz), 5,90 (d, 1H, J=2, OHz), 3,16 (q, 2H, J=11, OHz), 0,95 (d, 3H, J=7, OHz), 0,95 (s, 3H), 0,80 (s, 3H).

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ).

39,2 (t, C-1), 18,0 (t, C-2), 35,3 (t, C-3), 37,6 (s, C-4),  
48,2 (d, C-5), 21,3 (t, C-6), 31,0 (t, C-7), 31,6 (d, C-8),  
45,5 (d, C-9), 37,2 (s, C-10), 22,2 (t, C-11), 149,6 (s, C-12),  
122,4 (s, C-13), 35,7 (d, C-14), 109,5 (d, C-15), 140,2 (d, C-16),  
17,5 (q, C-17), 72,1 (t, C-18), 18,0 (q, C-19), 15,0 (q, C-20).

E.M.

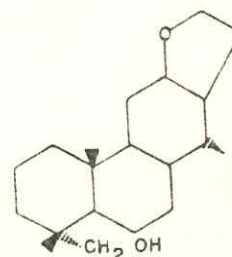
C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>

302 (M<sup>+</sup>, 23,3), 287 (2,8), 271 (15,3), 215 (1,3), 203 (1,1),  
201 (2,4), 193 (2,8), 189 (7,7), 177 (2,5), 175 (11,8),  
163 (17,0), 161 (17,3), 160 (8,7), 149 (16,4), 148 (10,3),  
147 (33,8), 146 (11,9), 145 (36,6), 135 (14,8), 134 (7,3),  
133 (32,1), 131 (44,9), 125 (4,3), 121 (18,1), 119 (22,9),  
115 (11,2), 109 (75,2), 108 (100), 107 (48,5), 105 (38,7),  
97 (44,8), 93 (30,2), 91 (47,7), 83 (22,7), 81 (67,7),  
79 (52,9), 77 (33,4), 69 (28,7), 55 (65,1).

PRLH-1/Hb

Sólido branco

p.f. 124-125°C.



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

3390, 2900, 2890, 2840, 1480, 1470, 1370, 1080, 1050,  
1030, 1010, 900, 850.

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>,  $\delta$ ).

3,53 (multiplete centrado em, 2H), 3,03 (q, 2H, J=11Hz)  
0,83 (d, 3H, J=7,0Hz), 0,83 (s, 3H), 0,72 (s, 3H).

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ )

38,9 (t, C-1), 18,1 (t, C-2), 35,5 (t, C-3), 37,7 (s, C-4),  
48,7 (d, C-5), 21,7 (t, C-6), 31,7 (t, C-7), 38,4 (d, C-8),  
42,1 (d, C-9), 36,6 (s, C-10), 26,5 (t, C-11), 78,3 (d, C-12),  
41,9 (d, C-13), 35,2 (d, C-14), 30,0 (t, C-15), 66,5 (t, C-16),  
16,7 (q, C-17), 72,4 (t, C-18), 18,1 (q, C-19), 15,0 (q, C-20).

E.M.

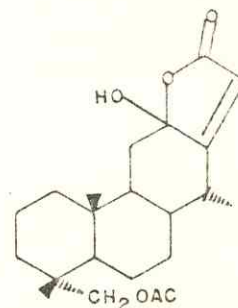
C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>. m/z (%).

306 (M<sup>+</sup>, 9,3), 291 (2,5), 289 (4,2), 288 (8,5), 275 (65,1),  
274 (12,8), 259 (13,4), 257 (20,4), 245 (7,4), 231 (17,3),  
205 (16,7), 193 (35,0), 179 (16,5), 175 (29,9), 173 (12,1),  
163 (13,5), 161 (31,7), 159 (17,0), 151 (16,6), 149 (81,5),  
147 (81,5), 147 (34,0), 145 (18,5), 137 (16,6), 135 (44,1),  
133 (45,0), 131 (18,0), 125 (15,6), 122 (20,4), 121 (42,3),  
119 (44,2), 110 (24,8), 109 (65,0), 108 (25,7), 105 (42,2),  
97 (100), 95 (78,3), 91 (28,0), 85 (12,4), 83 (28,6),  
81 (83,2), 79 (36,0), 77 (10,6), 71 (21,5), 69 (53,5),  
67 (42,8), 55 (62,6).

PRLH-1/Ox.

Sólido branco

p.f. 181-183°C.

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

3330, 2940, 2900, 1730, 1715, 1640, 1430, 1220, 1120, 930.

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ).5,56 (s, 1H), 3,66 (q, 2H,  $J=11$ , OHZ), 2,50 (t, 2H,  $J=10$ , OHZ), 2,10 (s, 3H), 1,15 (d, 3H,  $J=7$ , OHZ), 0,86 (s, 6H).RMN<sup>13</sup>C ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ).38,0 (t, C-1), 18,0 (t, C-2), 35,8 (t, C-3), 36,6 (s, C-4), 49,0 (d, C-5), 21,5 (t, C-6), 30,4 (t, C-7), 36,9 (d, C-8), 45,1 (d, C-9), 98,9 (s, C-10), 21,5 (t, C-11), 106,5 (s, C-12), 173,6 (s, C-13), 40,7 (d, C-14), 113,1 (d, C-15), 173,6 (s, C-16), 13,0 (q, C-17), 73,2 (t, C-18), 18,0 (q, C-19), 14,8 (q, C-20), 171,5 (s,  $\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})$ ), 21,0 (q,  $\text{CH}_3-\text{C}(=\text{O})$ ).

E.M.

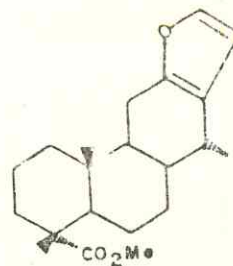
 $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_5$  m/z (%)376 ( $\text{M}^+$ , ausente), 316 (3,2), 303 (1,4), 302 (1,4), 298 (4,2), 286 (5,1), 215 (6,6), 203 (20,0), 193 (2,2), 189 (20,0), 187 (8,5), 176 (8,3), 174 (20,3), 162 (22,0), 160 (100), 149 (29,0), 145 (10,5), 133 (23,1), 123 (23,0), 121 (27,7), 109 (43,8), 108 (13,4), 97 (23,9), 95 (60,3), 93 (41,8), 91 (50,0), 83 (21,4), 81 (78,0), 79 (44,9), 77 (28,2), 71 (13,8), 69 (39,4), 65 (12,6), 57 (25,7), 53 (32,5).



PRLH-2

Sólido amarelo

n.f. 100-103°C

I.V.  $\overset{\text{KBr}}{\nu}_{\text{max}}$  (cm<sup>-1</sup>).

3000, 2920, 2900, 1720, 1440, 1400, 1250, 1200, 1140,  
1120, 1070, 1020, 740.

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>, δ).

6,96 (d, 1H, J=2, OHz), 5,93 (d, 1H, J=2, OHz), 3,60 (s, 3H,  
CH<sub>3</sub>-O-C(=O)), 1,20 (s, 3H), 1,00 (d, 3H, J=7, OHz), 0,93 (s, 3H).

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, δ).

35,7 (t, C-1), 17,6 (t, C-2), 47,6 (t, C-3), 49,7 (s, C-4),  
49,7 (d, C-5), 24,0 (t, C-6), 30,8 (t, C-7), 31,5 (d, C-8),  
45,7 (d, C-9), 38,5 (s, C-10), 22,0 (t, C-11), 149 (s, C-12),  
122,4 (s, C-13), 36,8 (d, C-14), 109,5 (d, C-15), 140,3 (d, C-16),  
17,0 (q, C-17), 179,0 (s, C-18), 17,9 (q, C-19), 14,6 (q, C-20),  
51,9 (q, CH<sub>3</sub>-O-C(=O)).

E.M.

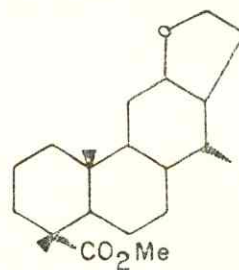
C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub> m/z (%)

330 (M<sup>+</sup>, 78,3), 315 (5,9), 271 (46,1), 255 (13,4), 251 (4,8),  
221 (2,9), 220 (2,7), 207 (2,0), 201 (3,2), 199 (8,4), 189 (19,5),  
173 (18,2), 162 (77,0), 161 (10,0), 160 (3,2), 153 (5,4),  
151 (29,2), 149 (26,0), 147 (51,2), 145 (52,7), 135 (21,0),  
134 (14,8), 133 (65,8), 131 (79,2), 129 (12,9), 128 (13,5),  
123 (17,2), 121 (65,7), 119 (40,5), 115 (20,8), 111 (21,2),  
109 (100), 108 (100,0), 107 (97,0), 97 (20,3), 93 (43,6),  
91 (82,6), 81 (79,0), 77 (56,1), 69 (38,9), 59 (27,5).

PRLH-2/Ha

Sólido branco

p.f. 74-76°C.

I.V.  $\overset{\text{KBr}}{\nu}_{\text{max}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ).

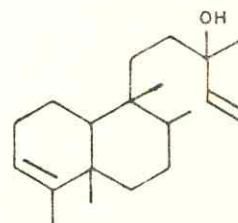
2870, 2850, 1715, 1450, 1395, 1260, 1150, 1110, 1080, 770.

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CCl}_4$ ,  $\delta$ ).

3,63 (s, 3H), 1,20 (3H, s), 0,86 (d, 3H, J=7,0 Hz), 0,88 (s, 3H).

RMN<sup>13</sup>C ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ).

36,9 (t, C-1), 18,0 (t, C-2), 38,4 (t, C-3), 47,6 (s, C-4),  
 49,9 (d, C-5), 31,5 (t, C-6), 24,5 (t, C-7), 38,4 (d, C-8),  
 42,3 (d, C-9), 36,4 (s, C-10), 26,2 (t, C-11), 78,1 (d, C-12),  
 41,9 (d, C-13), 35,0 (d, C-14), 30,0 (t, C-15), 66,2 (t, C-16),  
 17,1 (q, C-17), 179,0 (s, C-18), 14,5 (q, C-19), 11,0 (q, C-20),  
 51,7 (q,  $\text{CH}_3\text{-O-C}$ ).

PRLH-3Óleo incolor  $[\alpha]_D^{25}$  -22,00° (C 1,0,  $\text{CHCl}_3$ )I.V.  $\overset{\text{Filme}}{\nu}_{\text{max}}$   $\text{cm}^{-1}$ 

3410, 3040, 2960, 2910, 1720, 1670, 1640, 1445, 1380, 1250, 1040, 1000, 930, 775

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CCl}_4$ ,  $\delta$ ).

5,85 (dd, 1H, J=10,0 e 18,0 Hz), 5,25 (m, 2H), 5,10 (dd, 1H,

$J=2,0$  e  $18,0\text{Hz}$ ),  $4,90$  (dd,  $1\text{H}$ ,  $J=2,0$  e  $10,0\text{Hz}$ ),  $1,60$  (s,  $3\text{H}$ ),  $1,40$  (s,  $3\text{H}$ ),  $1,20$  (s,  $3\text{H}$ ),  $1,10$  (s,  $3\text{H}$ ),  $0,85$  (d,  $3\text{H}$ ,  $J=7,0\text{Hz}$ ).

RMN $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ).

$20,0$  (t, C-1),  $25,8$  (t, C-2),  $122,5$  (d, C-3),  $144,5$  (s, C-4),  $38,7$  (s, C-5),  $36,0$  (t, C-6),  $27,2$  (t, C-7),  $37,5$  (d, C-8),  $38,3$  (s, C-9),  $44,8$  (d, C-10),  $31,1$  (t, C-11),  $32,2$  (t, C-12),  $73,6$  (s, C-13),  $145,3$  (d, C-14),  $111,6$  (t, C-15),  $28,1$  (q, C-16),  $15,4$  (q, C-17),  $26,1$  (q, C-18),  $27,7$  (q, C-19),  $19,3$  (q, C-20).

E.M.

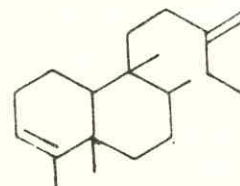
$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$       m/z (%)

$290$  ( $\text{M}^+$ ),  $272$  (2,4%),  $257$  (4,8%),  $229$  (4,9),  $191$  (18),  $163$  (4,9),  $149$  (10,0),  $135$  (24,4),  $109$  (68,2),  $107$  (100,0),  $95$  (72,5),  $69$  (31,7).

PRLH-3/Ha

Material oleoso

I.V.      Filme  
 $\nu_{\text{max.}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ )



$2880$ ,  $2860$ ,  $2840$ ,  $1450$ ,  $1380$ .

RMN $^1\text{H}$  ( $\text{CCl}_4$ ,  $\delta$ ).

$5,30-4,90$  (m,  $1\text{H}$ ),  $1,60$  (s,  $3\text{H}$ ),  $1,10$  (s,  $6\text{H}$ ),  $1,0$  (s,  $3\text{H}$ ),  $0,86$  (d,  $3\text{H}$ ,  $J=6,0\text{Hz}$ ).

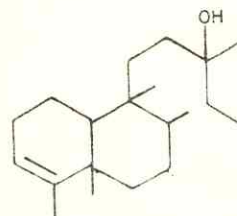
E.M.

$\text{C}_{20}\text{H}_{32}$ .

$274$  ( $\text{M}^+$ , 15,0),  $273$  (80,0),  $259$  (32,5),  $191$  (77,5),  $189$  (97,5),  $177$  (60,0),  $175$  (52,5),  $163$  (45,0),  $161$  (30,0),  $149$  (55,0),  $135$  (57,5),  $121$  (75,0),  $109$  (100),  $107$  (97,0),  $95$  (72,5).

PRLH-3/Hb

Material oleoso

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>, δ).

5,3-5,0 (t, 1H), 1,53 (s, 3H), 1,10 (s, 3H), 1,03 (s, 3H),  
0,93 (s, 3H), 0,86 (d, 3H, J=6,0 Hz).

E.M.

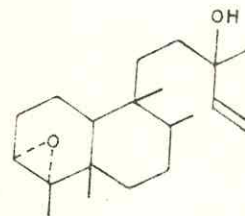
C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O

m/z (%)

292 (M<sup>+</sup>, 3,6), 274 (41,5), 259 (34,1), 191 (100), 190 (58,5),  
189 (51,2), 175 (29,3), 135 (26,8), 121 (29,3), 109 (43,9),  
95 (31,7).

PRLH-3/E1

Material oleoso

I.V. Filme  
D<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>).

3410, 3060, 2950, 2890, 2850, 1710, 1630, 1440, 1380,  
1365, 1120, 1070, 1000, 920, 850, 795.

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>, δ).

5,88 (dd, 1H, J=10,0 e 18,0 Hz), 5,13 (dd, 1H, J=2,0 e  
18,0 Hz), 4,90 (dd, 1H, J=2,0 e 10,0 Hz), 2,76-2,96 (m, 1H),  
1,30 (s, 6H), 1,20 (s, 6H), 0,86 (d, 3H, J=6,0 Hz).

E.M.

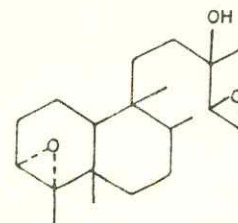
Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>

306 (M<sup>+</sup>, Ausente), 277 (2,4), 259 (2,4), 254 (2,9), 207 (52,4),  
189 (53,6), 163 (23,2), 135 (43,9), 121 (39,0), 107 (53,6),  
95 (41,5), 55 (53,6), 43 (100), 41 (70,7).



PRLH-3/E2

Material oleoso

I.V. Filme  
U<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>).3430, 3030, 2990, 2950, 2890, 1475, 1390, 1380, 1290, 1270,  
1140, 1120, 1080, 920, 880, 800.RMN<sup>1</sup><sub>H</sub> (CCl<sub>4</sub>δ).2,40-2,85 (m, 4H), 1,30 (s, 3H), 1,20 (s, 6H), 1,10 (d, 3H,  
J=7,0Hz), 0,83 (s, 3H).E.M. C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub> m/z (%)322 (M<sup>+</sup>, ausente), 306 (2,4), 242 (2,4), 206 (89,0), 204 (52,4),  
188 (65,8), 168 (29,2), 161 (57,3), 159 (53,6), 147 (70,7),  
145 (63,4), 133 (85,3), 131 (73,1), 53 (14,6), 41 (100).PRLH-4

Cristais brancos p.f. 131-134°C.

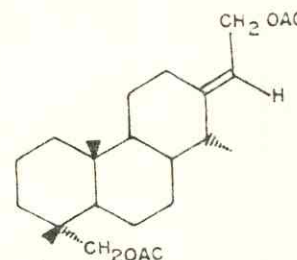
I.V. KBr  
U<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>).

3300, 2800, 1600, 1430, 1350, 1040, 950, 835, 795.

PRLH-5

Sólido branco

p.f. 69-71°C.

I.V. KBr  
U<sub>max</sub> (cm<sup>-1</sup>).2900, 2840, 1720, 1710, 1660, 1440, 1360, 1230, 1215,  
1020, 785, 760.

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>, δ).

5,13(1H, t, J=7, OHz), 4,36(2H, d, J=7, OHz), 3,60(2H, q<sub>AB</sub>, J=11, OHz), 1,96(3H, s); 1,93(3H, s), 0,93(3H, d, J=7, OHz), 0,83(6H, s).

RMN<sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, δ).

39,2(t, C-1), 18,1(t, C-2), 36,0(t, C-3), 36,9(s, C-4), 49,6(d, C-5), 21,8(t, C-6), 31,4(t, C-7), 48,4(d, C-8), 40,5(d, C-9), 36,6(s, C-10), 23,8(t, C-11), 31,4(t, C-12), 151,8(s, C-13), 44,8(d, C-14), 114,0(d, C-15), 60,8(t, C-16), 14,7(q, C-17), 73,73(t, C-18), 17,8(q, C-19), 14,3(q, C-20), 171,0(CH<sub>3</sub>-C=O), 21,2(q, HC<sub>3</sub>-C=O).

E.M.

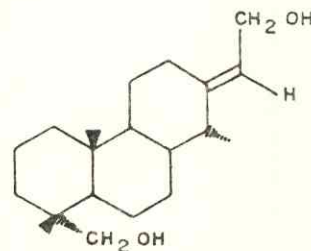
C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>

390(M<sup>+</sup>, ausente), 330(19,0), 316(2,3), 315(2,3), 288(5,0), 271(9,4), 257(79,7), 255(19,0), 241(7,3), 201(8,8), 189(7,9), 188(9,3), 187(16,0), 175(28,8), 173(16,3), 163(12,4), 161(35,0), 159(19,9), 148(23,9), 146(14,1), 135(62,1), 133(62,8), 131(20,1), 123(27,2), 121(44,4), 119(35,0), 109(44,9), 107(78,0), 105(53,0), 97(21,6), 95(52,2), 93(77,1), 91(60,1), 81(100), 79(78,8), 69(43,4), 67(69,9), 55(81,4), 53(22,9).

PRLH-5/R

Sólido branco

p.f. 122-125°C.



I.V.  $\Delta_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>)

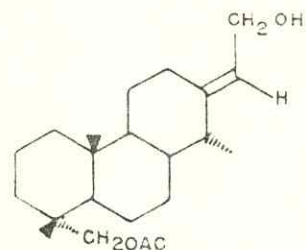
3400, 2970, 2890, 1660, 1480, 1400, 1060.

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

5,33 (t, 1H, J=7, OHz), 4,03 (d, 2H, J=7, OHz),  
3,16 (q<sub>AB</sub>, 2H, J=11 Hz), 0,93 (d, 3H, J=7, OHz),  
0,83 (3H, s), 0,77 (s, 3H).

PRLH-6

Material Oleoso



I.V.  $\nu_{\text{max}}^{\text{Filme}}$  (cm<sup>-1</sup>)

3400, 2920, 2860, 1715, 1660, 1460, 1440, 1380, 1235,  
1030, 795.

RMN<sup>1</sup>H (CCl<sub>4</sub>, δ).

5,23 (t, 1H, J=7, OHz), 3,93 (d, 2H, J=7, OHz),  
3,66 (q<sub>AB</sub>, 2H, J=11, OHz), 2,0 (s, 3H), 1,16 (d, 3H,  
J=7, OHz), 0,86 (s, 6H).

E.M.

C<sub>22</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> m/z (%)

348 (M<sup>+</sup>, 1,5) 346 (23,3), 331 (2,1), 330 (3,9), 328 (26,1),  
319 (5,1), 305 (3,8), 303 (1,1), 302 (2,1), 291 (1,2), 275 (1,7),  
273 (5,7), 269 (13,2), 268 (14,3), 263 (6,3), 257 (12,2),  
255 (15,6), 253 (50,5), 251 (35,9), 239 (10,0), 221 (22,6),  
205 (12,3), 201 (12,8), 189 (26,2), 187 (58,1), 175 (49,8),  
173 (37,3), 171 (26,8), 161 (59,8), 159 (53,8), 148 (23,7),  
147 (64,7), 135 (62,29), 133 (78,0), 132 (78,4), 131 (64,0),  
121 (87,9), 120 (58,7), 119 (78,7), 117 (25,9), 109 (75,0),  
108 (41,5), 107 (89,3), 105 (51,4), 85 (91,6), 93 (58,8),  
81 (100), 67 (12,0), 60 (93,0).

P A R T E        I I

ESTUDO QUÍMICO DE COCHLOSPERMUM REGIUM

CAPÍTULO III

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES

FIXOS DA PLANTA



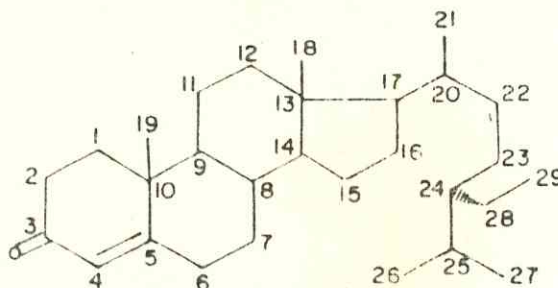
DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-1 (57)

A fração solúvel éter de petróleo do extrato benzênico da casca do caule de C. regium foi submetida a hidrólise alcalina (Esquema 21) e do insaponificável obtido um sólido branco (p.f. 75-78°C) designado CR-1.

O espectro Infravermelho (Fig. 44) desta substância, além de indicar a ausência de hidroxila e a natureza alifática, apresentou uma absorção bem definida em  $1690\text{ cm}^{-1}$  sugeriu a presença de cetona  $\alpha, \beta$  - insaturada em anel de seis membros.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 45) mostrou um sinal simples em  $5,65\delta$  condizente com o próton de uma dupla tris substituída na vizinhança de um grupo desprotetor. O multipeto entre  $2,20 - 2,52\delta$  foi atribuído a um grupo metile - no vizinho a carbonila. Outras absorções em campo alto não permitiram interpretação.

Com base no espectro de massa ( $M^+412$ ), Esquema 13, e nos demais dados espectrais foi proposta a analogia entre CR-1 e a  $\beta$ -sitostenona, 57. Por outro, a comparação com os dados existentes na literatura<sup>53</sup> vêm reforçar a obtenção da  $\beta$ -sitostenona.



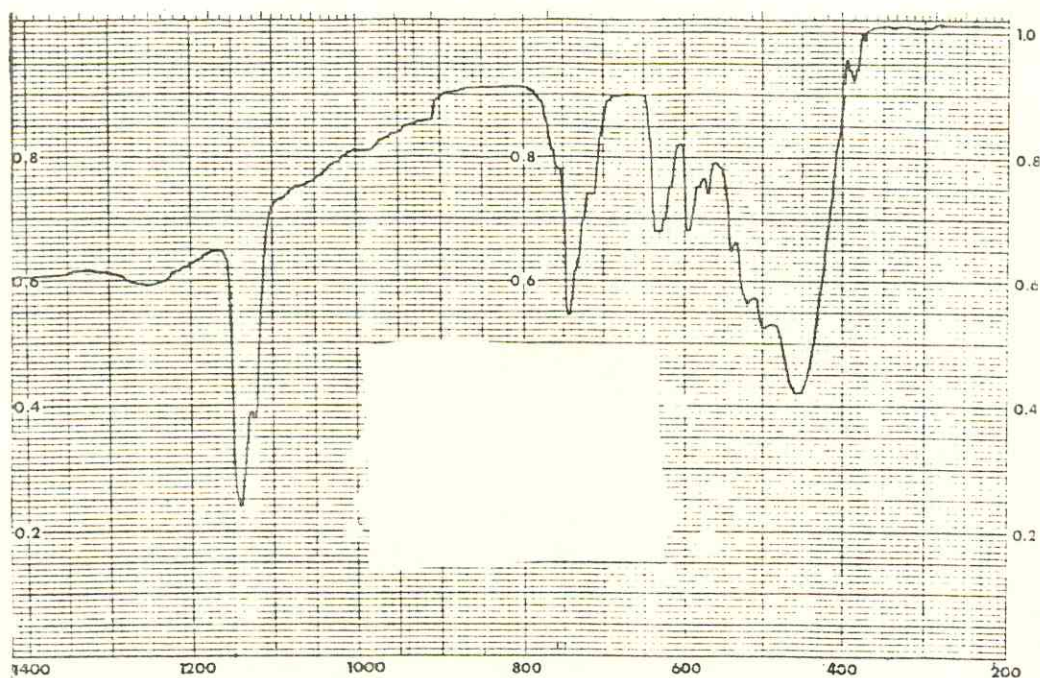


Figura 44: Espectro de Absorção no Infravermelho de  
CR-1 (KBr)

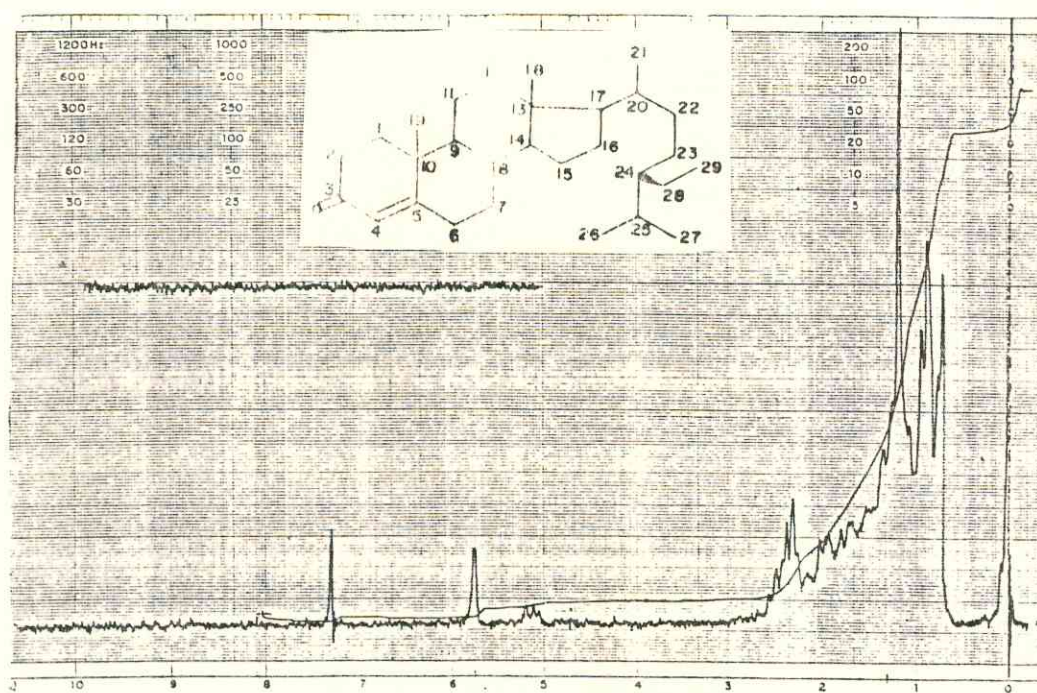
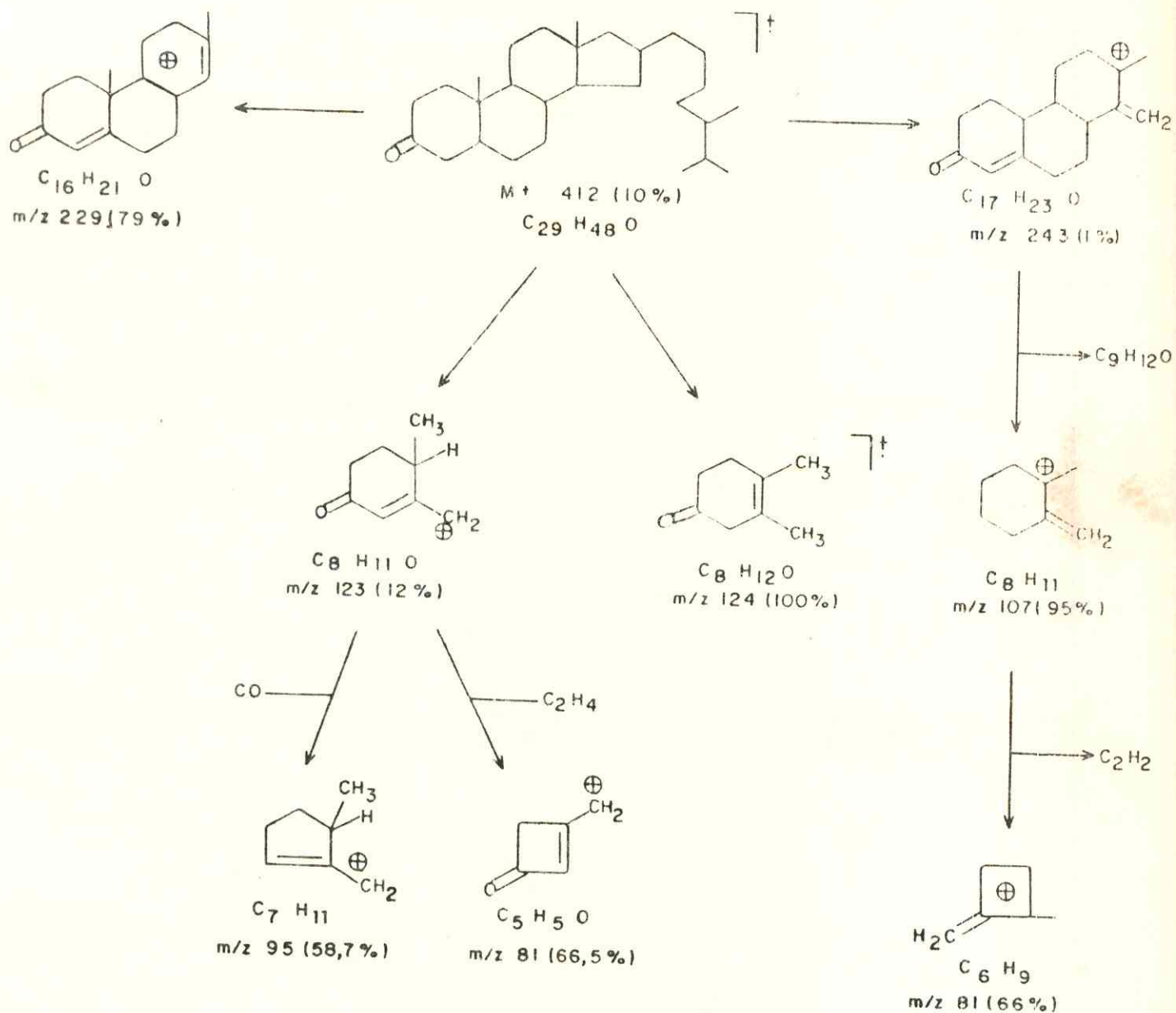


Figura 45 : Espectro de RMN<sup>1</sup>H de CR-1  
(60 MHz , CDCl<sub>3</sub>)



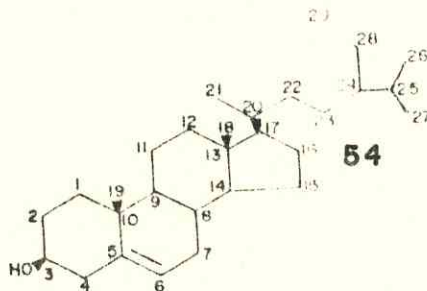
ESQUEMA 13 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO  
DE CR-1 NO ESPECTÔMETRO DE MÁSSA



DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-2 (54)

A substância CR-2 (P.F. 132-134°C) foi obtida através das frações resultantes da eluição com benzeno (CR-EB-2, Esquema 19) do extrato benzênico da casca do caule de C.regium. O espectro Infravermelho apresentou absorções típicas de estiramento O-H ( $3475\text{ cm}^{-1}$ ) e de C = C ( $1673\text{ cm}^{-1}$ ).

O ponto de fusão, além dos dados espectrais foi correlacionado com o  $\beta$ -sitosterol,<sup>54</sup> substância largamente encontrada na natureza, cuja identificação foi confirmada por ponto de fusão misto.





DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-3 (58)

A substância CR-3 (P.F. 221-224°C) foi isolada do extrato benzênico da casca do caule de C. regium (ver descrição pág.178).

O espectro Infravermelho desta substância (Fig. 46) mostrou bandas de absorção correspondentes a presença de grupo hidroxila (3521 e 3331  $\text{cm}^{-1}$ ) e de carbonila conjugada (1685  $\text{cm}^{-1}$ ). A natureza aromática da substância foi proposta levando-se em conta as absorções em 1613, 1598 e 1503  $\text{cm}^{-1}$ .

O espectro Ultravioleta em meio neutro mostrou máximos de absorção em 257 (Banda II, inflexão,  $\epsilon$  6315) e 375 nm (Banda I,  $\epsilon$  8.771), Fig.47, coincidentes com os de um flavonol. A curva mostrou-se inalterada após a adição de acetato de sódio indicando a ausência de hidroxila na posição 7. O acréscimo de ácido bórico à solução anterior não causou modificação da Banda I, descartando-se a possibilidade de sistema ortodihidroxi. A adição de  $\text{AlCl}_3$  à solução de CR-3, em meio neutro, causou deslocamento das duas bandas de absorção que não foram regeneradas após a adição de ácido clorídrico, sugerindo a presença de sistema 3 e/ou 5-hidroxila<sup>54</sup>.

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig.48) apresentou absorções em 6,43 e 6,83 $\delta$  ( $J=2,0\text{Hz}$ ) que foram atribuídas aos prótons do anel A, H-6 e H-8, respectivamente) sugerindo o padrão de substituição do anel A como 5,7-dissubstituído<sup>55</sup>. Os prótons do anel B foram caracterizados pelas seguintes absorções: o dupletto em 7,03 $\delta$  ( $J=9,0\text{Hz}$ , H-5'); o dupletto de dupletto em 7,76 $\delta$  ( $J=2,0$  e  $9,0\text{ Hz}$ , H-6') e o dupletto em 7,80 $\delta$  ( $J=2,0\text{Hz}$ , H-2'). Con

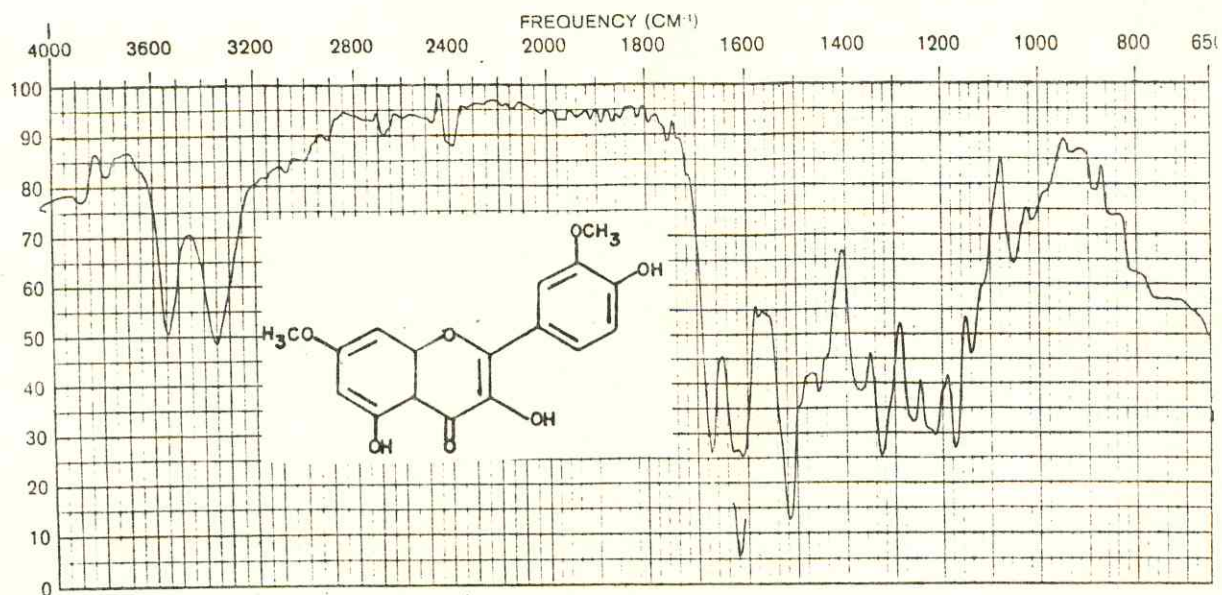


Figura 46: Espectro de Absorções no Infravermelho de  
CR-3 (KBr)

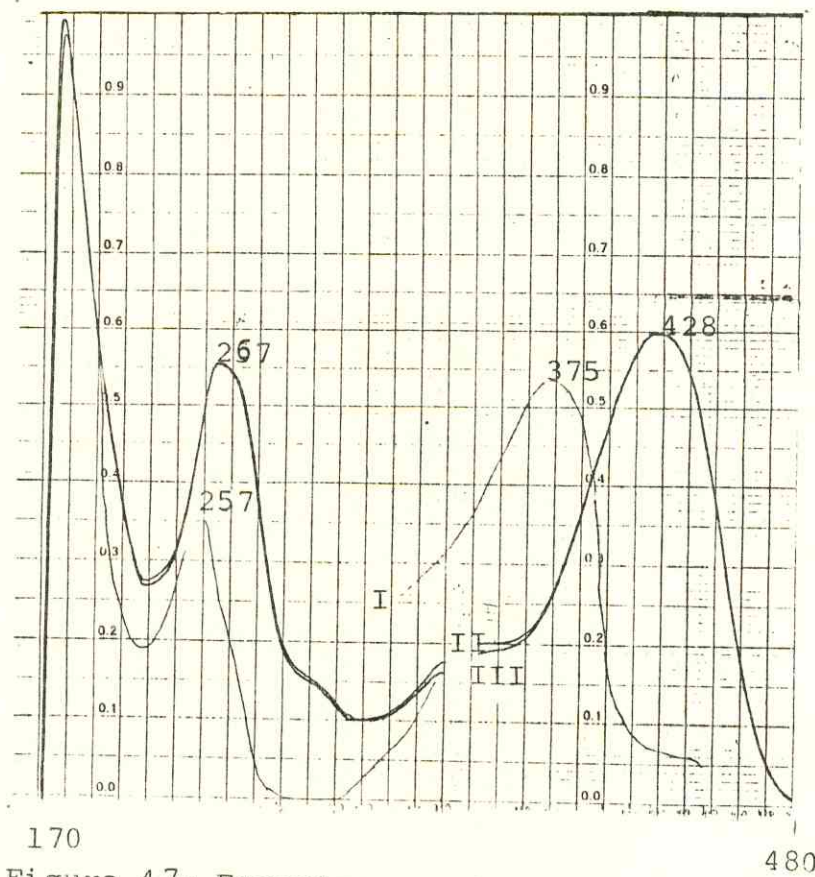
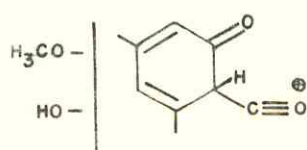


Figura 47: Espectro no ultravioleta de  
CR-3 (MeOH)

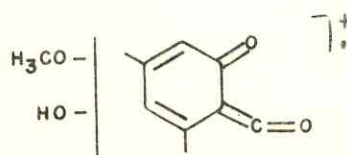
- I - MeOH
- II - MeOH+AlCl<sub>3</sub>
- III - MeOH+AlCl<sub>3</sub>/HCl

considerando-se estas multiplicidades, foi proposto o padrão 3', 4'-disubstituído para o anel B. Foi ainda evidenciada a presença de uma banda simples em 3,96 ( $6H$ ,  $CH_3-O$ ), cuja curva de integração permitiu associá-la aos prótons de dois grupos metoxilas.

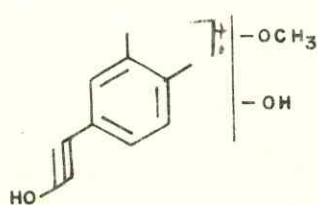
Os picos correspondentes aos fragmentos  $m/z$  167, 166, 164 e 151 observados no espectro de massa da substância CR-3 ( $M^+$  330), foram atribuídos as estruturas parciais (1), (2), (3) e (4), figura 49, os quais juntamente com os dados fornecidos pelas demais espectroscopias permitiram propor às estruturas de Rhamnazina e Ombuina para a substância CR-3.



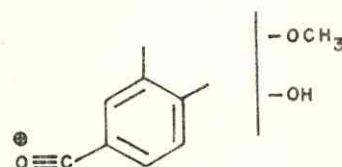
(1)



(2)

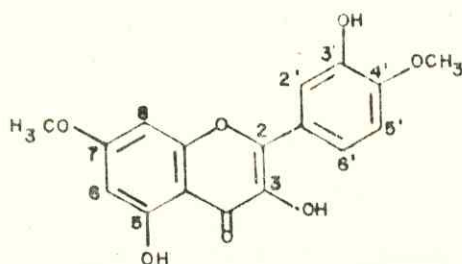


(3)

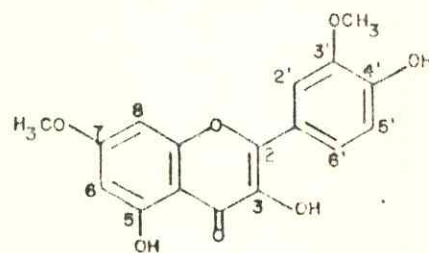


(4)

A análise dos dados existentes na literatura<sup>56</sup> para 3,5,3'-trihidroxí-7,4'-dimetoxiflavona (Ombuina) e aqueles<sup>57</sup> de 3,5,4'-trihidroxí-7,3'-dimetoxiflavona (Rhamnazina), permitiram caracterizar a substância CR-3 como Rhamnazina, 58.



Ombuina



Rhamnazina



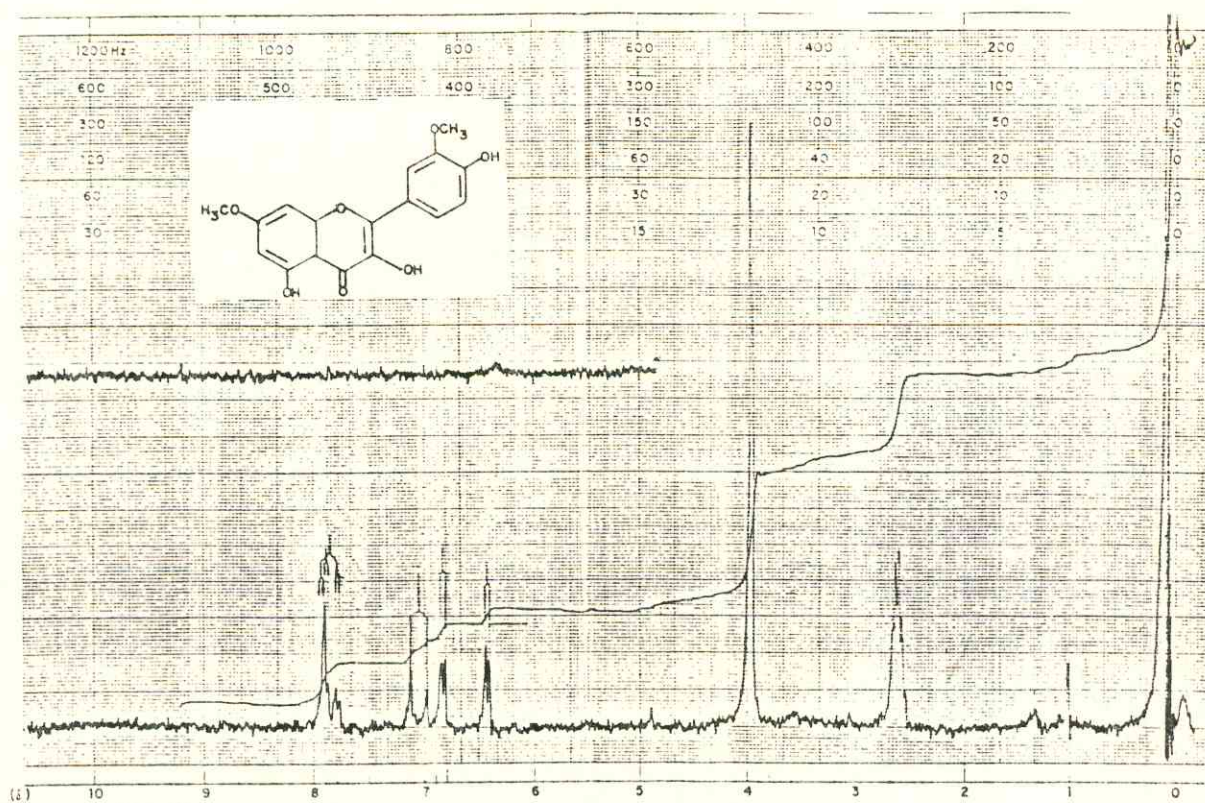


Figura 48: Espectro de RMN<sup>1</sup>H de CR-3 (60MHz, DMSO)

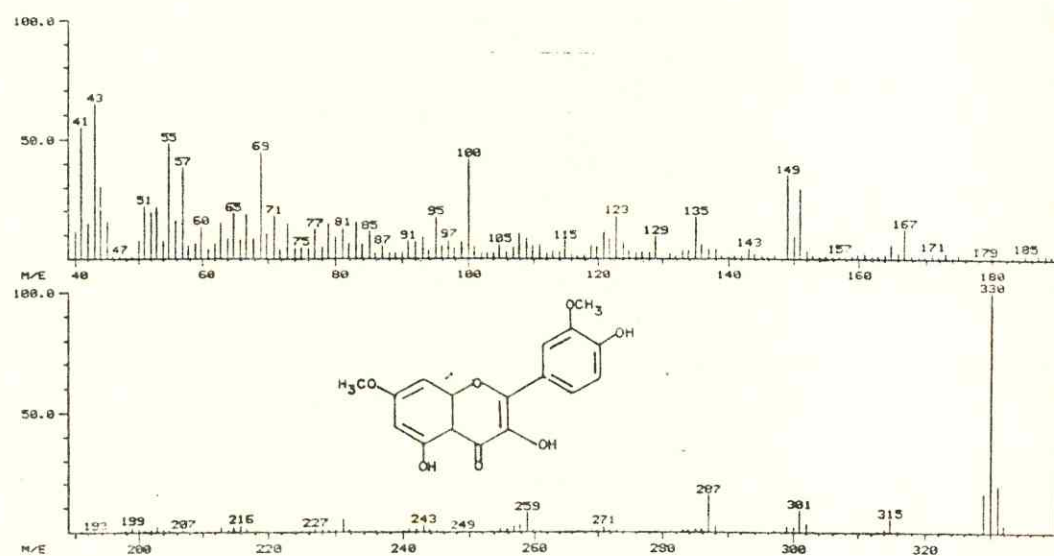


Figura 49: Espectro de Massa de CR-3



DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-4 (59)

A fração acetona (CR-EB-4) do extrato benzênico da casca do caule de C. regium (esquema 19) levou ao isolamento de um sólido branco, p.f. 252 - 254°C, designado CR-4.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 50) mostrou-se bastante simplificado: um singlete em 7,2 $\delta$  e uma banda larga centrada em 6,5 $\delta$  que sofre deslocamento após a adição de  $\text{D}_2\text{O}$ .

A presença de hidroxilas foi confirmada através das absorções em  $3500\text{ cm}^{-1}$  no espectro Infravermelho (Fig. 51). Estabeleceu-se, além disso, o caráter aromático da substância - 1610 e  $1540\text{ cm}^{-1}$  e a presença de carbonila conjugada ( $1660\text{ cm}^{-1}$ ) que permitiram concluir que se trata de um ácido aromático.

A metilação (diazometano/éter) da substância CR-4 resultou em um sólido branco (p.f. 198-200°C), 59a, CR-4-OMe. O espectro Infravermelho deste derivado (Fig. 52) apresentou uma banda intensa em  $3300\text{ cm}^{-1}$  indicando que as hidroxilas fenólicas não sofreram metilação. O espectro de massa do derivado metilado, CR-4-OMe ( $\text{M}^+$  184) em comparação ao da substância original, CR-4, ( $\text{M}^+$  170), confirmou a metilação da função ácido.

Em seguida, o derivado metilado foi submetido a acetilação (piridina-anidrido acético) fornecendo um material sólido (p.f. 101-104°C), CR-4-OMe-OAc, 59b. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  deste derivado revelou o aparecimento de um singlete em 2,35  $\delta$  (com integração para 9 prótons).



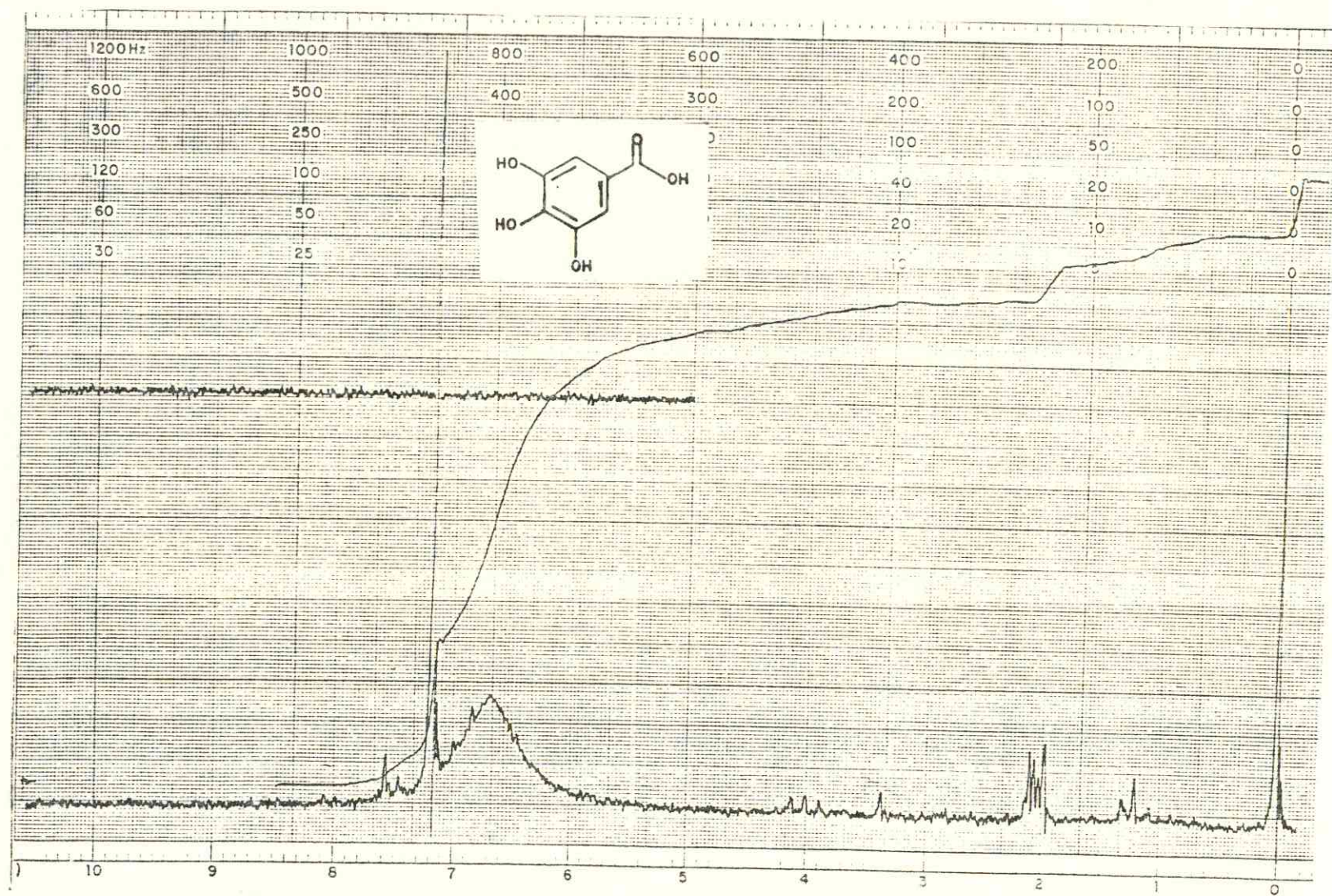


Figura 50: Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de CR-4 (60MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )



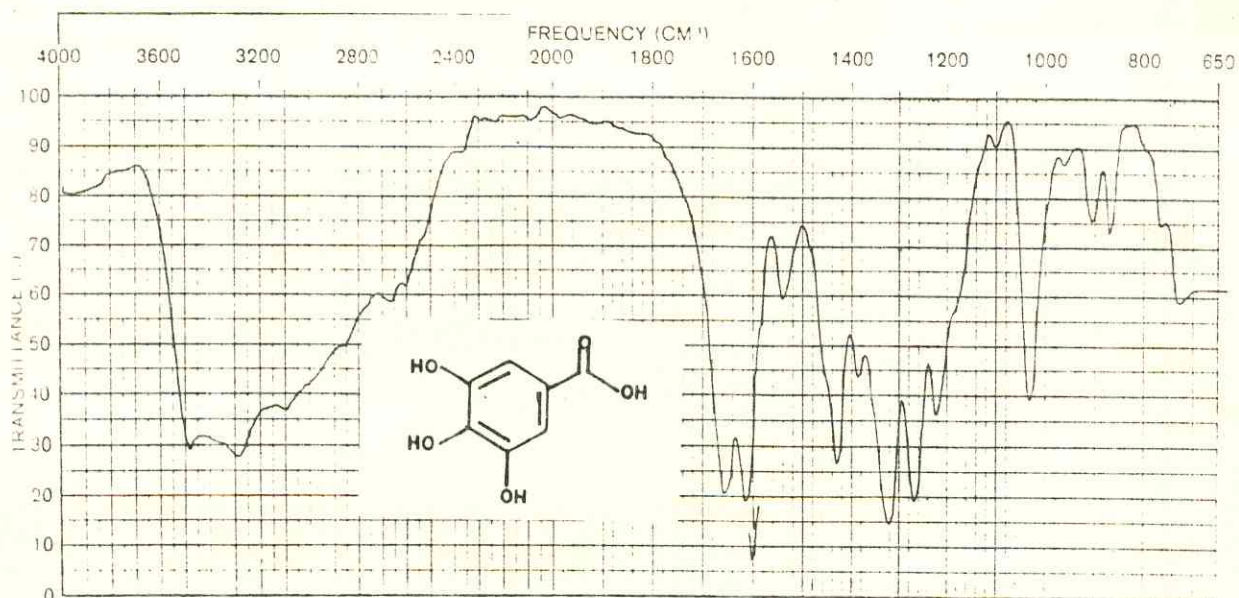


Figura 51: Espectro de Absorção no Infravermelho de  
CR-4 (KBr)

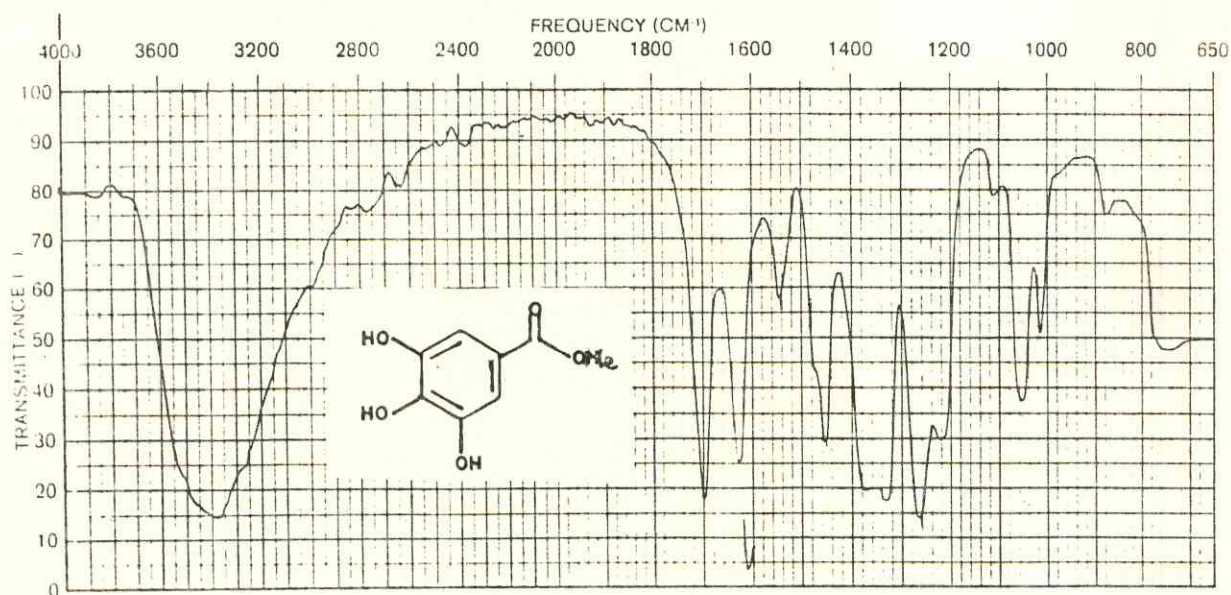
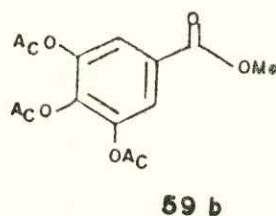
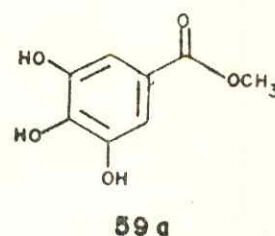
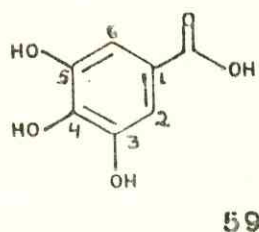


Figura 52: Espectro de Absorção no Infravermelho de  
CR-4 OMe (KBr)

As observações do baixo peso molecular, caráter aromá-  
tico, a indicação da presença de função ácida, bem como, a  
dificuldade de metilação das hidroxilas fenólicas conduziram  
a estrutura do ácido gálico, 59, para CR-4. O ponto de fusão  
já mencionado anteriormente é coincidente com aquele do ácido  
gálico ( $251^{\circ}\text{C}$ )<sup>58</sup>. A existência de ácido gálico e seus deriva-  
dos em plantas é bastante frequente.





DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-5 (60)

A fração em clorofórmio, resultante do fracionamento preliminar do extrato alcoólico da casca do caule de C. regium (Esquema 20), levou ao isolamento de um sólido branco (P.F. 102-106°C) denominado CR-5.

O espectro Infravermelho desta substância (Fig. 53) indicou a presença de éster  $\alpha, \beta$ -insaturado ( $1715, 1275 \text{ cm}^{-1}$ ) de dupla olefínica ( $1685 \text{ cm}^{-1}$ ), o caráter aromático ( $1615, 1550$  e  $1500 \text{ cm}^{-1}$ ) e a existência de grupos hidroxilas ( $3400 \text{ cm}^{-1}$ ).

Devido a insolubilidade na maioria dos solventes orgânicos, a substância foi submetida a acetilação em presença de piridina-anidrido acético obtendo-se o derivado acetilado CR-5OAc (p.f. 88-90°C).

O espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig. 54) do derivado acetilado apresentou um par de dubletos em 7,75 $\delta$  e 6,30 ( $1\text{H}$ , cada,  $d$ ,  $J=15,0\text{Hz}$ ) atribuídos aos deslocamentos químicos de prótons olefínicos (acoplamento TRANS). Foi possível verificar também em campo baixo a existência de dois outros dubletos em 7,70 e 7,26 $\delta$  ( $2\text{H}$ , cada,  $J=8,0\text{Hz}$ ) que foram associados a prótons localizados em anel aromático para-dissubstituído formando um sistema AA'BB'. O sinal em 4,26 $\delta$  ( $2\text{H}$ , t,  $J=7,0\text{Hz}$ ) associado a um grupo metileno ligado a heteroátomo e o sinal intenso em 1,20 $\delta$  (aproximadamente  $56\text{H}$ , s) foi relacionado com as absorções dos grupos metilênicos provavelmente de um álcool de cadeia longa. O singlete em 2,30 $\delta$  ( $3\text{H}$ ) foi atribuído aos prótons de um grupo acetoxila.

A substância CR-5 apresentou máximo de absorção no

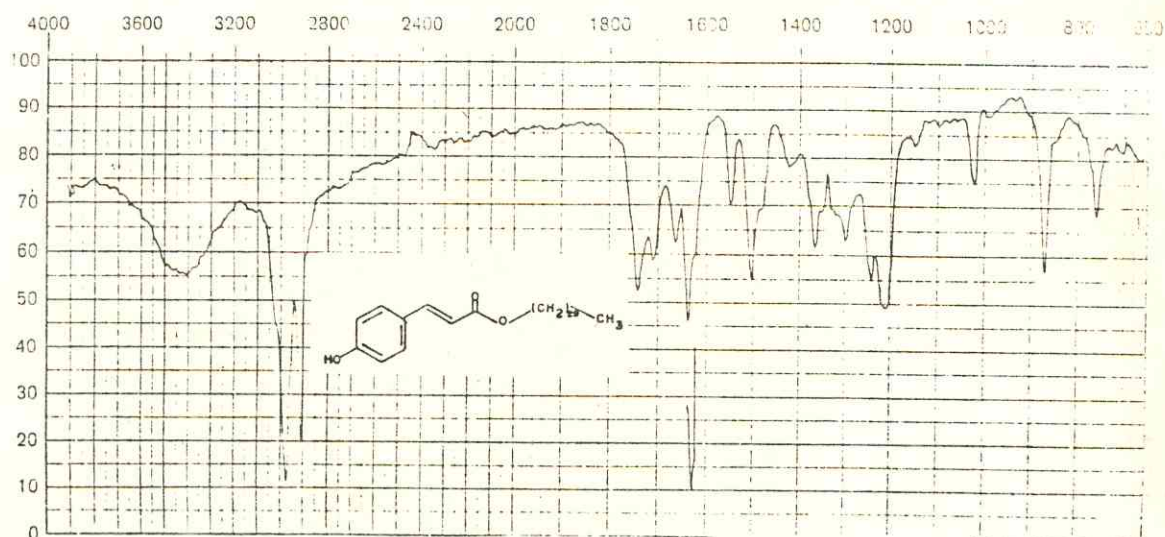


Figura 53: Espectro de Absorção no Infravermelho de  
CR-5 (KBr)

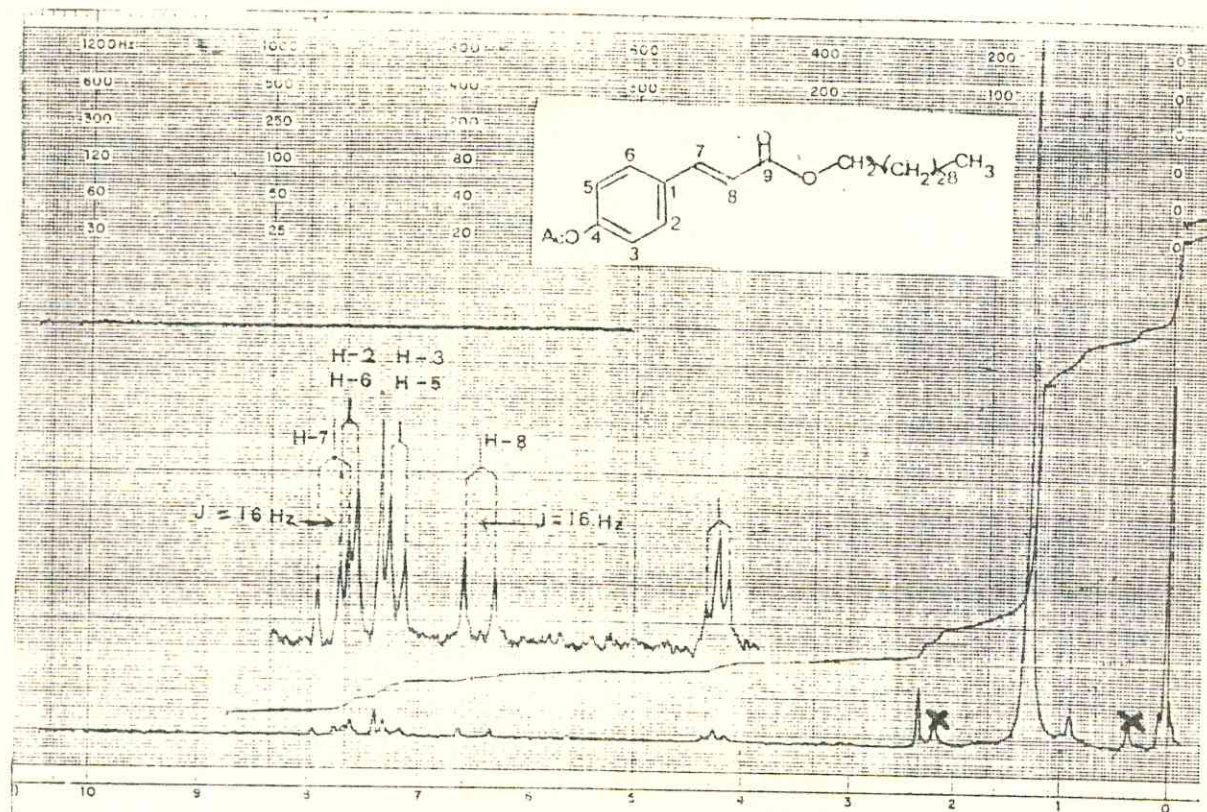
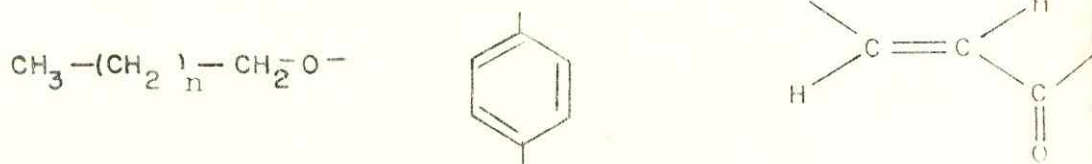


Figura 54: Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de CR-5-OAc (60MHz,  $\text{CDCl}_3$ )



espectro ultravioleta em 312 nm ( $\epsilon$  44.705) associada a um ês-ter  $\alpha,\beta$ -insaturado.

A análise dos espectros ultravioleta, infravermelho e RMN<sup>1</sup>H mostrou que a substância apresenta as seguintes par-tes integrantes de sua estrutura:

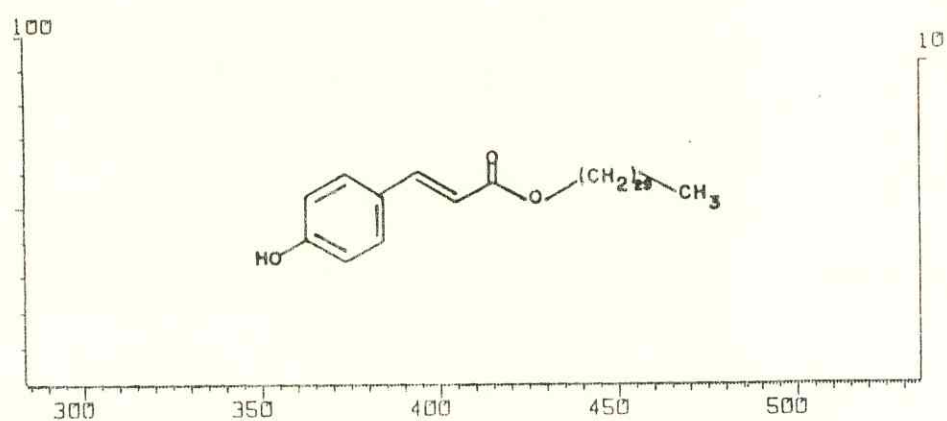
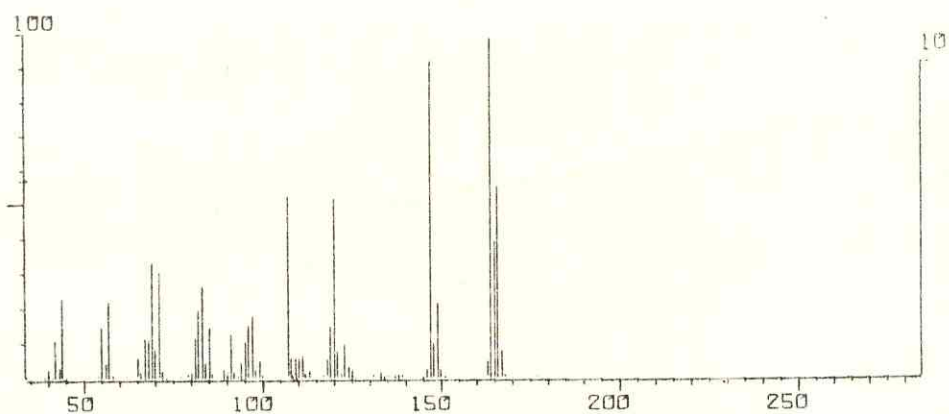


O espectro de massa ( $M^+$ 584), Fig. 55, evidenciou a presença de grupo cinamoila substituído através dos fragmentos muito intensos  $m/z$  164 e 147 (Esquema 14) coerentes com a es-trutura do ácido p-hidroxicinâmico.

Com a finalidade de obter maior quantidade de dados, parte desta substância foi metilada com diazometano resultan-do, após ser cromatografada em coluna de sílica gel, em um sô-lido branco (p.f. 74 - 76°C), CR-5OMe.

O espectro de RMN<sup>1</sup>H CR-5OMe, Fig. 56, mostrou, além das absor-ções verificadas para CR-5OAc, a presença de um singlete em 3,83 $\delta$  (3H) característico de um grupo metoxila (Fig. 56). Os fragmentos apresentados no espectro de massa ( $M^+$ 598) são mos-trados no Esquema 15.

O espectro de RMN<sup>13</sup>C (Fig. 57) do derivado acetilado CR-5-OAc, 60a, apresentou sinais compatíveis com a existência de duas carbonilas (168,0 e 166,9  $\delta$ ) e de prótons olefínicos (143,4 e 118,5  $\delta$ ). Os dados de RMN<sup>13</sup>C do ácido p-hidroxicinâmico existentes na literatura<sup>59</sup> (Tabela 17) serviram de modelo pa-



AMP.: 00

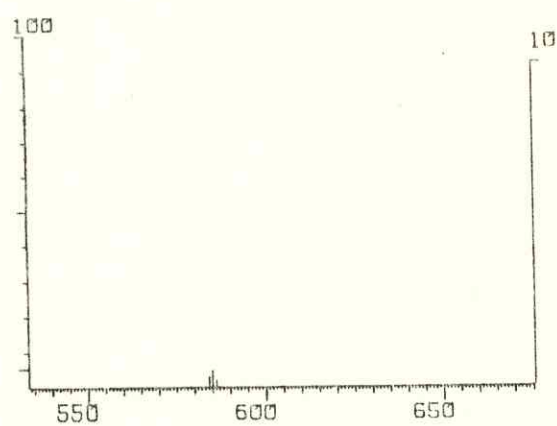
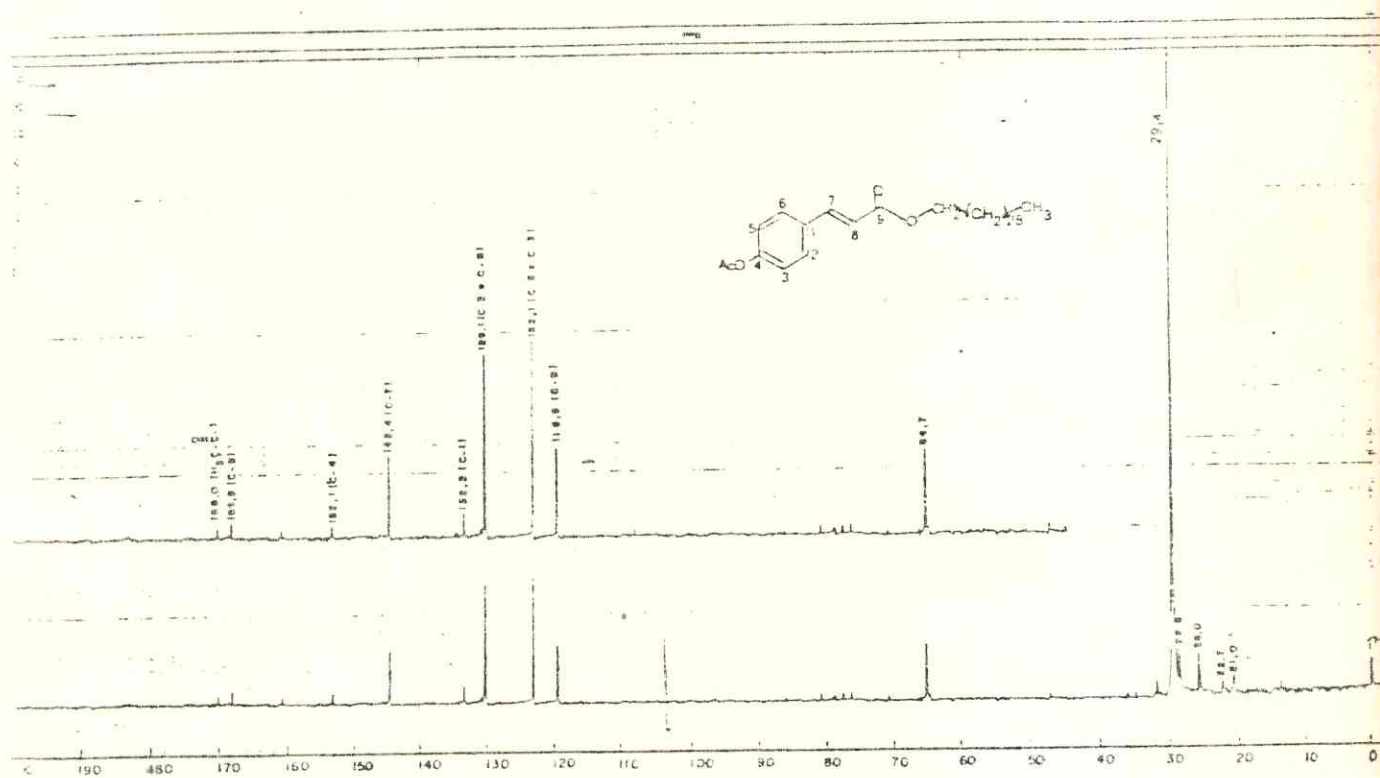
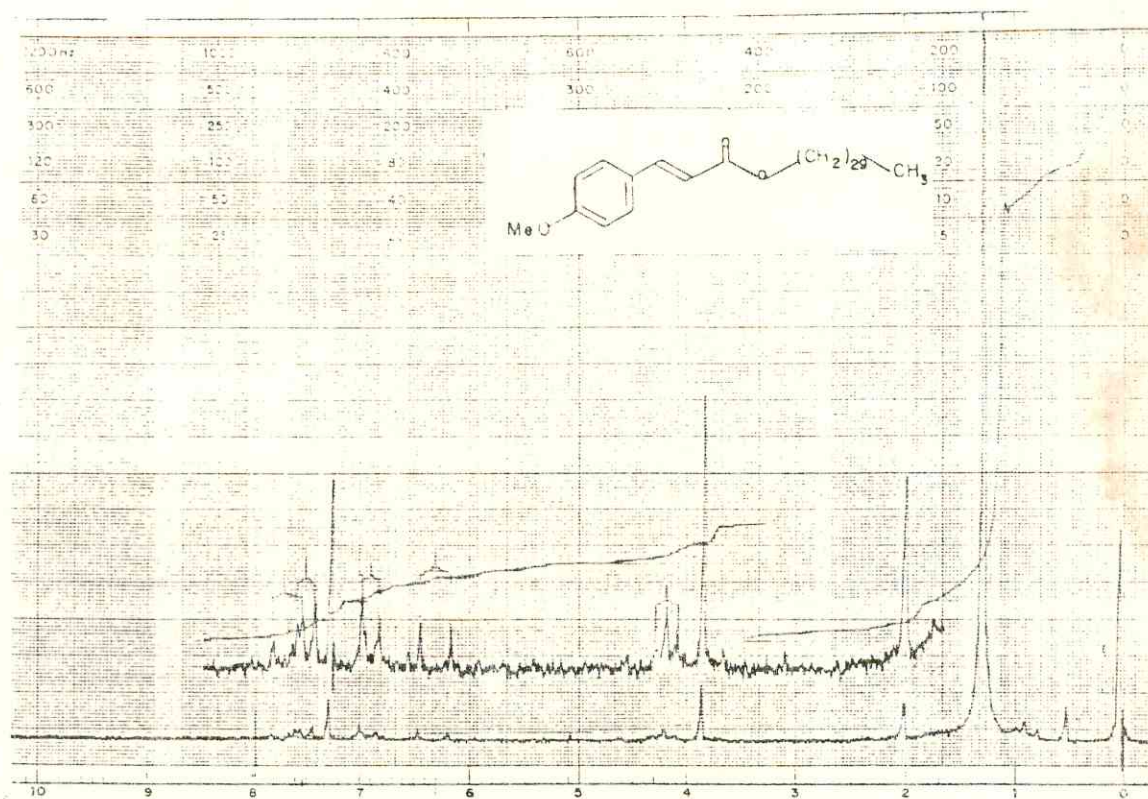
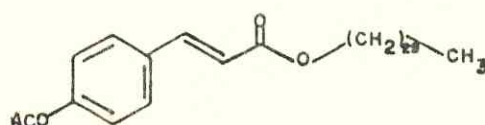


Figura 55: Espectro de Massa de CR-5





| COMPOSTO      | CR-5-OAc          | Ác.P.HIDROXICINÂMICO               |
|---------------|-------------------|------------------------------------|
| SOLVENTE      | CDCl <sub>3</sub> | CO (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| Nº DO CARBONO | (δ)               | (δ)                                |
| 1             | 132,2             | 126,90                             |
| 2             | 129,1             | 131,70                             |
| 3             | 122,1             | 117,26                             |
| 4             | 155,1             | 160,33                             |
| 5             | 122,1             | 117,26                             |
| 6             | 129,1             | 131,70                             |
| 7             | 143,4             | 146,48                             |
| 8             | 118,5             | 115,88                             |
| 9             | 166,9             | 170,65                             |
|               | 168,0             |                                    |



60a

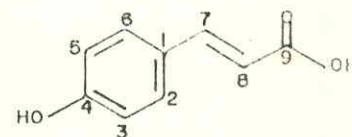
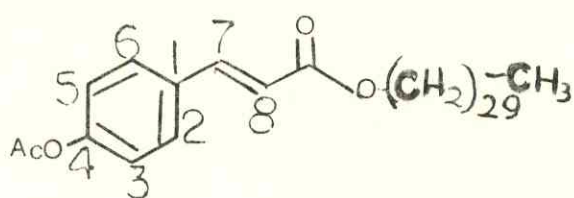


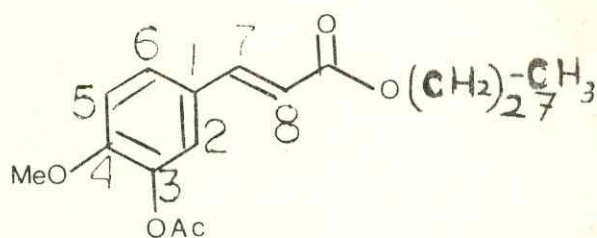
TABELA 17 - Comparação dos espectros de RMN<sup>13</sup>C da porção cina  
moíla do derivado CR-5-OAc e do ácido p-hidroxinâmi  
co.

TABELA 17 - Comparação dos dados de RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) de CR-5-OAc e Erytrinasinato Acetilado.

| NÚMERO DE <u>H</u>                                                             | CR-5-ACETILADO                  | ERYTRINASINATO-ACETILADO        |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 2                                                                              | 7,70 (1 <u>H</u> , d, J=8,0Hz)  | 6,98 (1 <u>H</u> , s)           |
| 3                                                                              | 7,26 (1 <u>H</u> , d, J=8,0Hz)  | .....                           |
| 5                                                                              | 7,26 (1 <u>H</u> , d, J=8,0Hz)  | 7,05 (1 <u>H</u> , d, J=8,0Hz)  |
| 6                                                                              | 7,70 (1 <u>H</u> , d, J=8,0Hz)  | 6,87 (1 <u>H</u> , d, J=8,0Hz)  |
| 7                                                                              | 7,75 (1 <u>H</u> , d, J=15,0Hz) | 7,52 (1 <u>H</u> , d, J=15,0Hz) |
| 8                                                                              | 6,30 (1 <u>H</u> , d, J=15,0Hz) | 6,18 (1 <u>H</u> , d, J=15,0Hz) |
| -O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -R                                         | 4,26 (2 <u>H</u> , t, J=7,0Hz)  | 4,15 (2 <u>H</u> , t)           |
| $\begin{array}{c} \text{O} \\   \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{O}- \end{array}$ | 2,30 (3 <u>H</u> , s)           | 2,30 (3 <u>H</u> , s)           |
| -(CH <sub>2</sub> -) <sub>n</sub>                                              | 1,20 (n=28, s)                  | 1,20 (n=26, s)                  |
| -OCH <sub>3</sub>                                                              | .....                           | 3,80 (3 <u>H</u> , s)           |



CR-5-Acetilado



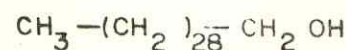
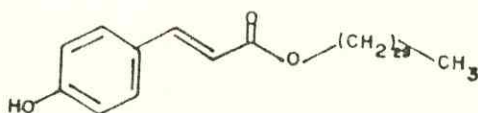
Erytrinasinato-acetilado

ra a atribuição dos sinais referentes aos carbonos aromáticos (129,9; 132,2; 117,3 e 160,3  $\delta$ ).

Foi possível, também, verificar no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  a existência de um sinal em 29,40  $\delta$  e que, juntamente com os sinais em 32,0; 29,70; 28,70; 26,0; 22,7; 21,0 e 64,70  $\delta$  foram atribuídos aos carbonos do álcool de cadeia longa<sup>60</sup>.

A caracterização do álcool de cadeia longa foi feita através do produto de hidrólise alcalina (KOH, 40%,  $\text{CHCl}_3$ ) de CR-50Me, cujo ponto de fusão (79-80°C)<sup>61</sup> é coincidente com o existente na literatura para o triacontanol, 61.

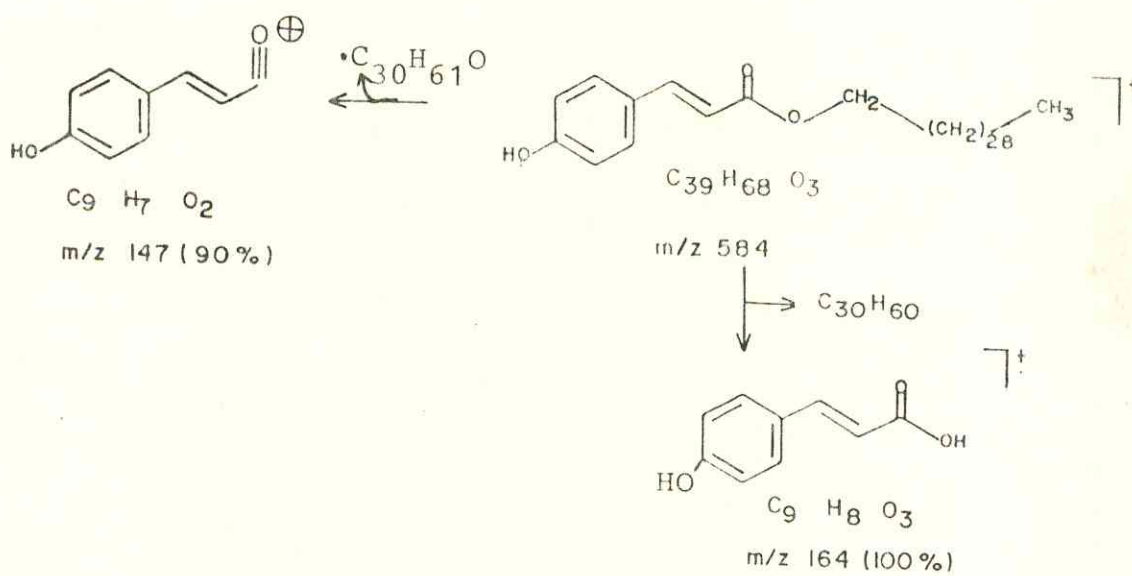
A junção destes dados permitiu propor a estrutura do ácido p-hidroxicinâmico esterificado com o triacontanol, 60, para a substância CR-5. A comparação dos dados fornecidos pelos espectros de RMN  $^1\text{H}$  de CR-5-OAc com os de 4-O-Metil-3-O-Acetilcinamato de octacosanila<sup>62</sup> (erythimasinato acetilado), 62, Tabela 18, tornou possível comprovar a obtenção de um homólogo do erythinasinato, p-Hidroxicinamato de triacontanila, 60, para a substância CR-5. De acordo com levantamento bibliográfico esta substância é inédita na literatura.



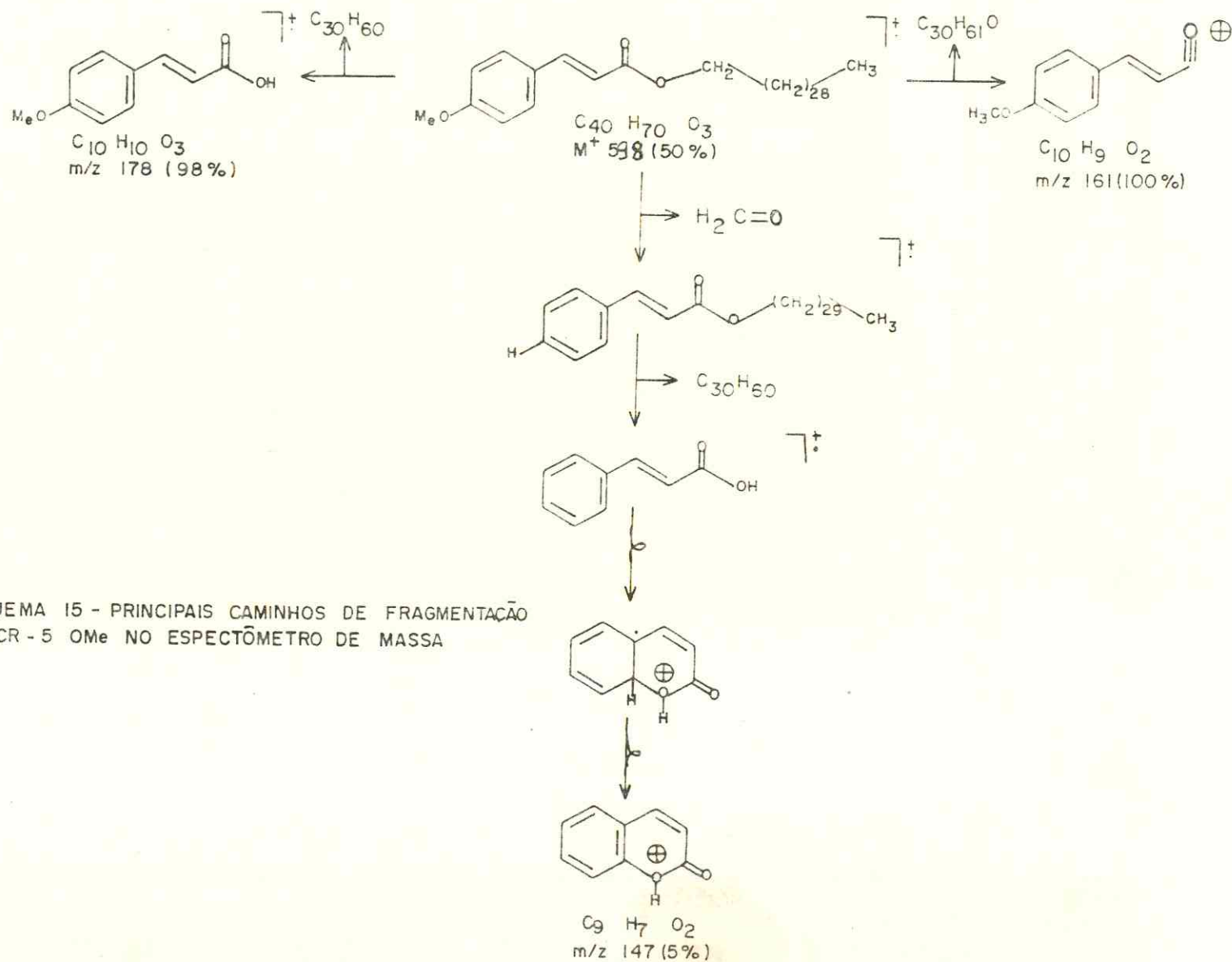
61

60





ESQUEMA 14 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE CR-5 NO ESPECTÔMETRO DE MASSA



ESQUEMA 15 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE CR-5 OMe NO ESPECTÔMETRO DE MASSA

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-6 (7)

Da fração éter etílico do extrato etanólico da casca do caule de C. regium (Esquema 20) isolou-se um sólido cristalino (p.f. 258-260°C) denominado CR-6. O seu espectro no Ultravioleta (Fig. 58) mostrou bandas de absorção em 287 nm ( $\epsilon$  18.217) e 324 nm ( $\epsilon$  4.329) e feição característica do esqueleto de um flavonóide. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 59), Tabela 19, é compatível com o de uma flavanona, no qual foram observadas as absorções próprias dos prótons do anel heterocíclico em 5,55  $\delta$  ( $1\text{H}$ , dd,  $J=4,0$  e  $12,0\text{Hz}$ , H-2); 3,17  $\delta$  ( $1\text{H}$ , dd,  $J=12,0$  e  $18,0\text{Hz}$ , H-3ax) e 2,67  $\delta$  ( $1\text{H}$ , dd,  $J=4,0$  e  $18,0\text{Hz}$ , H-3eq<sup>54</sup>). Um singleto em campo baixo (13,80  $\delta$ ) é consistente com a presença de hidroxila quelatogênica com a carbonila do anel heterocíclico em acordo com o espectro Infravermelho (Fig. 60), que apresenta baixa frequência do estiramento carbonílico ( $1620\text{ cm}^{-1}$ <sup>63</sup>).

As evidências obtidas do espectro de RMN  $^1\text{H}$ , juntamente com a análise dos espectros no Ultravioleta e Infravermelho permitiram sugerir a estrutura da 5,7, 4'-trihidroxi-flavonona (Naringenina), (p.f. 248-251°C, MeOH-EtOAc)<sup>64</sup> para a substância CR-6.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Fig. 61) do derivado acetilado (piridina-anidrido acético), CR-6-OAc, 7a, apresentou um sinal adicional em 2,26  $\delta$  (9H, s) correspondente a existência de grupos acetoxilas (Tabela 19).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Fig. 62) de CR-6 é conclusivo na identificação desta substância, como pode ser observado

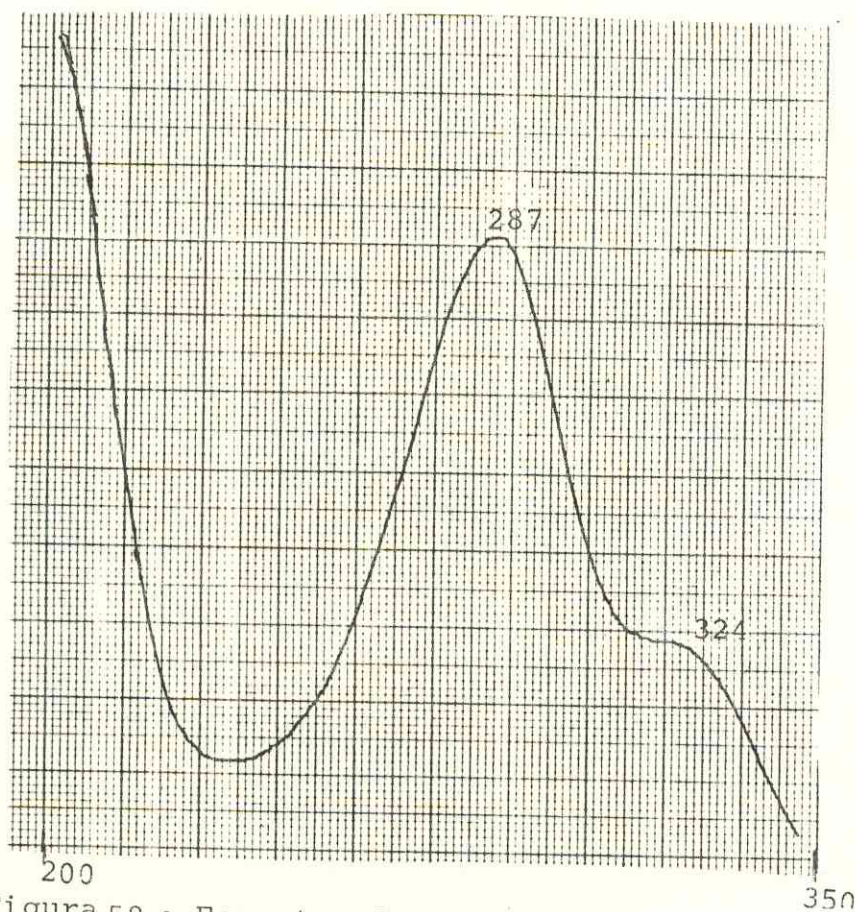


Figura 58 : Espectro de Absorção no Ultravioleta de CR-6 (ETOH)

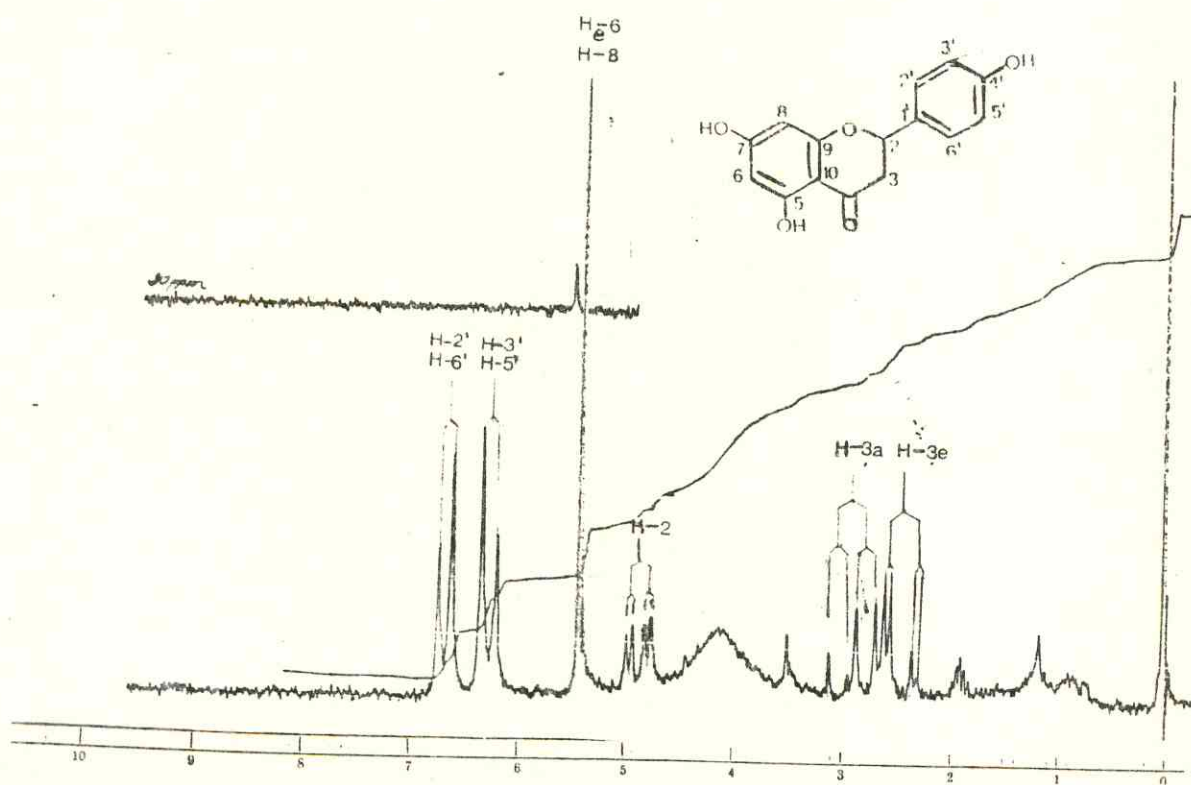


Figura 59 : Espectro de RMN<sup>1</sup>H de CR-6 (60 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO/D<sub>2</sub>O)



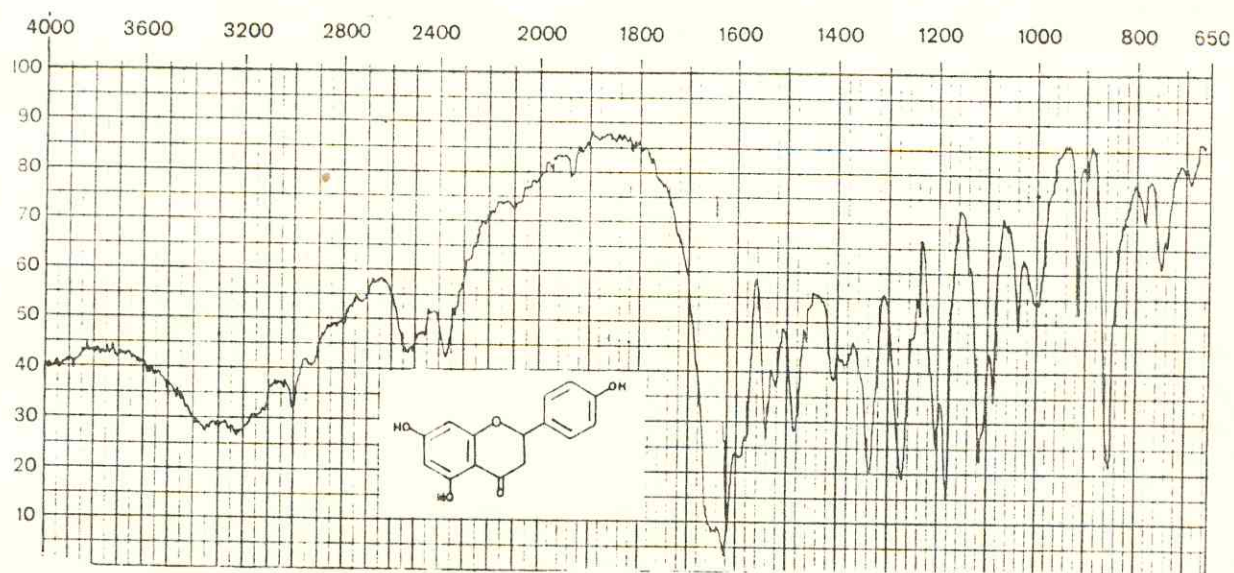


Figura 60: Espectro de Absorção no Infravermelho de CR-6 (KBr)

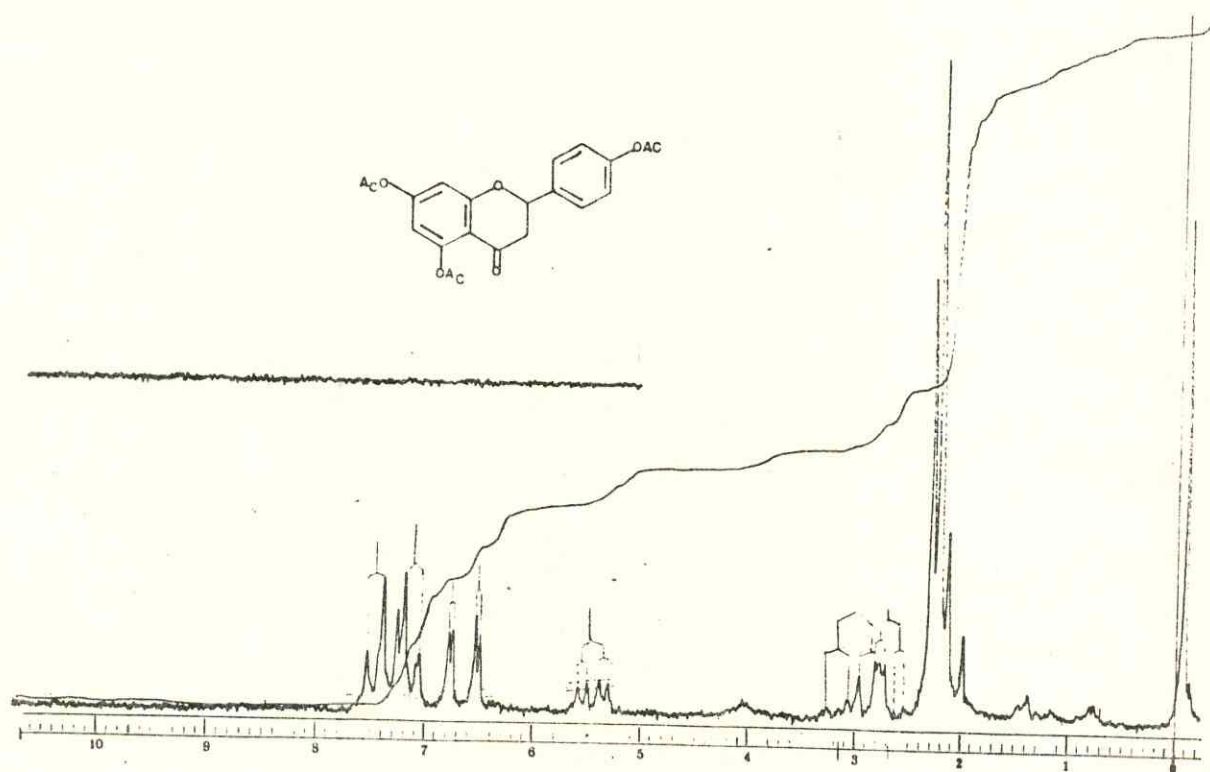
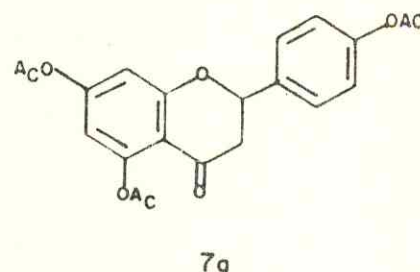
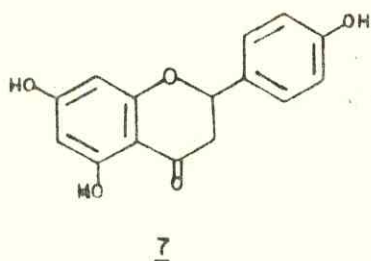


Figura 61: Espectro de RMN<sup>1</sup>H de CR-6-OAc (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

através da comparação dos dados de CR-6 e aqueles descritos na literatura<sup>65</sup> para a naringenina (Tabela 20).

A análise do espectro de massa de CR-6 ( $M^+$  272) ,  
Figura 63 , permitiu relacionar os fragmentos  $m/z$  179  
(80%);  $m/z$  152 (88% );  $m/z$  120 (92%);  $m/z$  153 (23 %) e  $m/z$   
(125(95%) com as estruturas parciais (a), (b), (c), (d), e  
(e), Esquema 16.



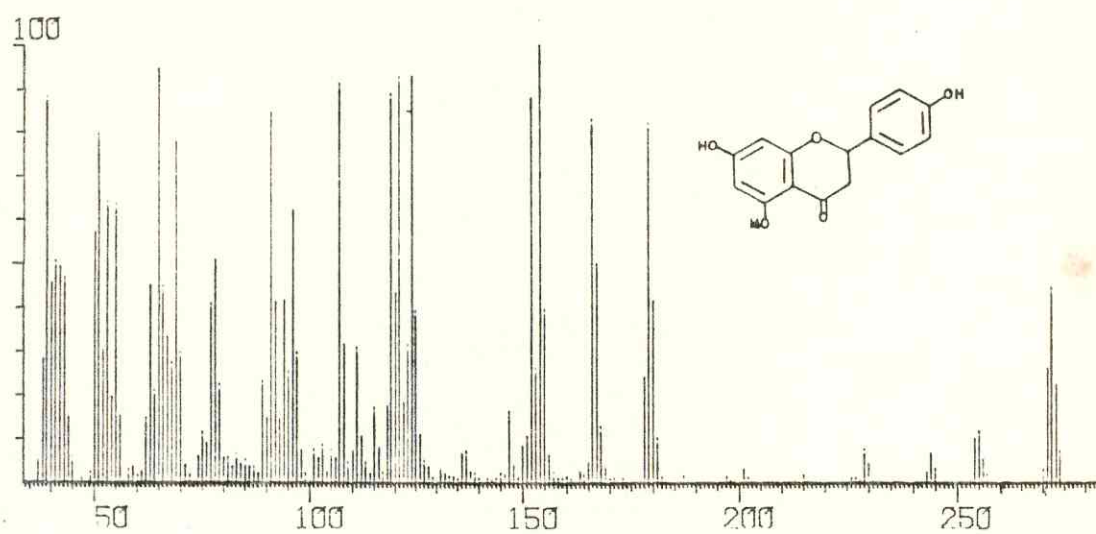
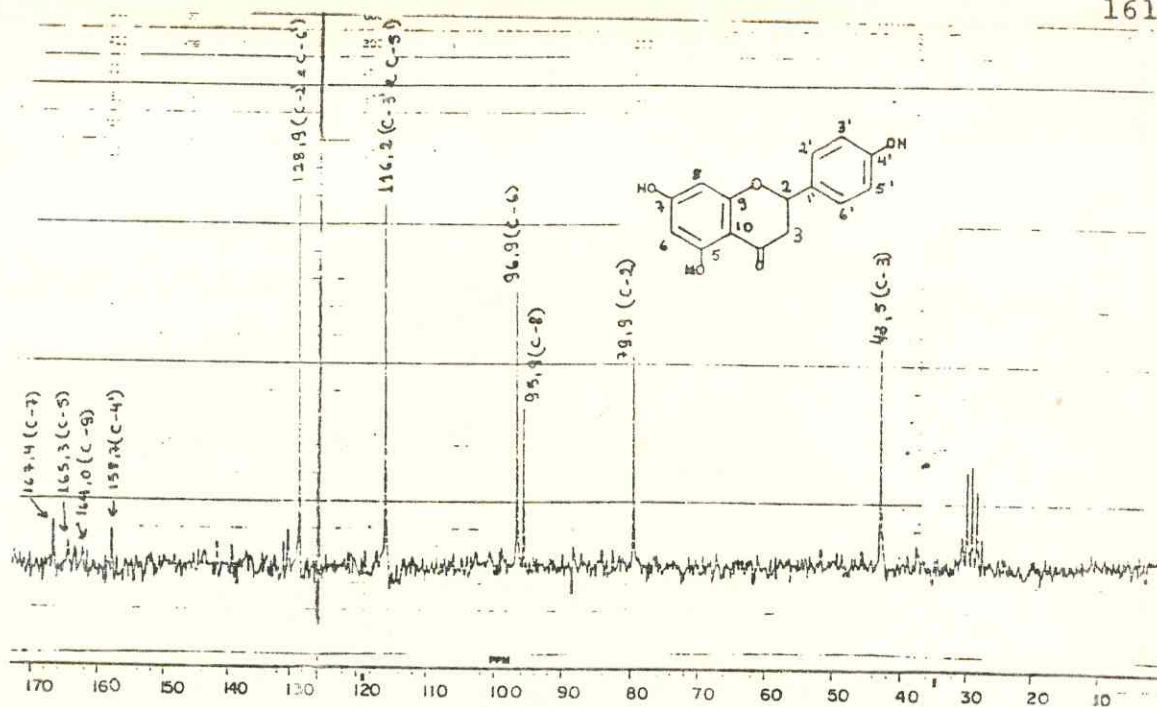


TABELA 19 - Dados de RMN<sup>1</sup>H de CR-6 (7) e CR-6-OAc (7a)

| COMPOSTO             | <u>7</u>                          | <u>7a</u>                      |
|----------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| SOLVENTE             | CO(CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> | CCl <sub>3</sub>               |
| Nº DO PRÓTON         | DESLOC. QUÍMICO (δ)               | DESLOC. QUÍMICO (δ)            |
| H-8                  | 5,95 (2H, s)                      | 6,73 (1H, d, J=2,5Hz)          |
| H-6                  | 5,95 (2H, s)                      | 6,50 (1H, d, J=2,5Hz)          |
| H-2', H-6'           | 7,33 (2H, d, J=9,0Hz)             | 7,46 (2H, d, J=9,0Hz)          |
| H-3', H-5'           | 6,80 (2H, d, J=9,0Hz)             | 7,13 (2H, d, J=9,0Hz)          |
| H-2                  | 5,55 (1H, dd, J=4,0 e 12,0Hz)     | 5,53 (1H, dd, J=4,0 e 12,0Hz)  |
| H-3ax.               | 3,17 (1H, dd, J=12,0 e 18,0Hz)    | 3,03 (1H, dd, J=12,0 e 18,0Hz) |
| H-3eq.               | 2,67 (1H, dd, J= 4,0 e 18,0Hz)    | 2,70 (1H, dd, J=4,0 e 18,0Hz)  |
| H <sub>3</sub> C C=O |                                   | 2,30 (9H, s)                   |

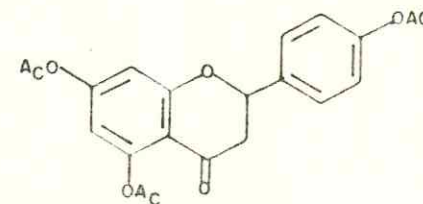
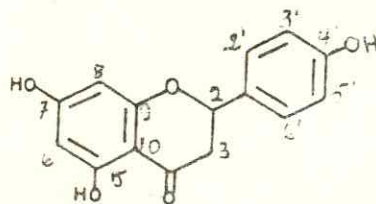
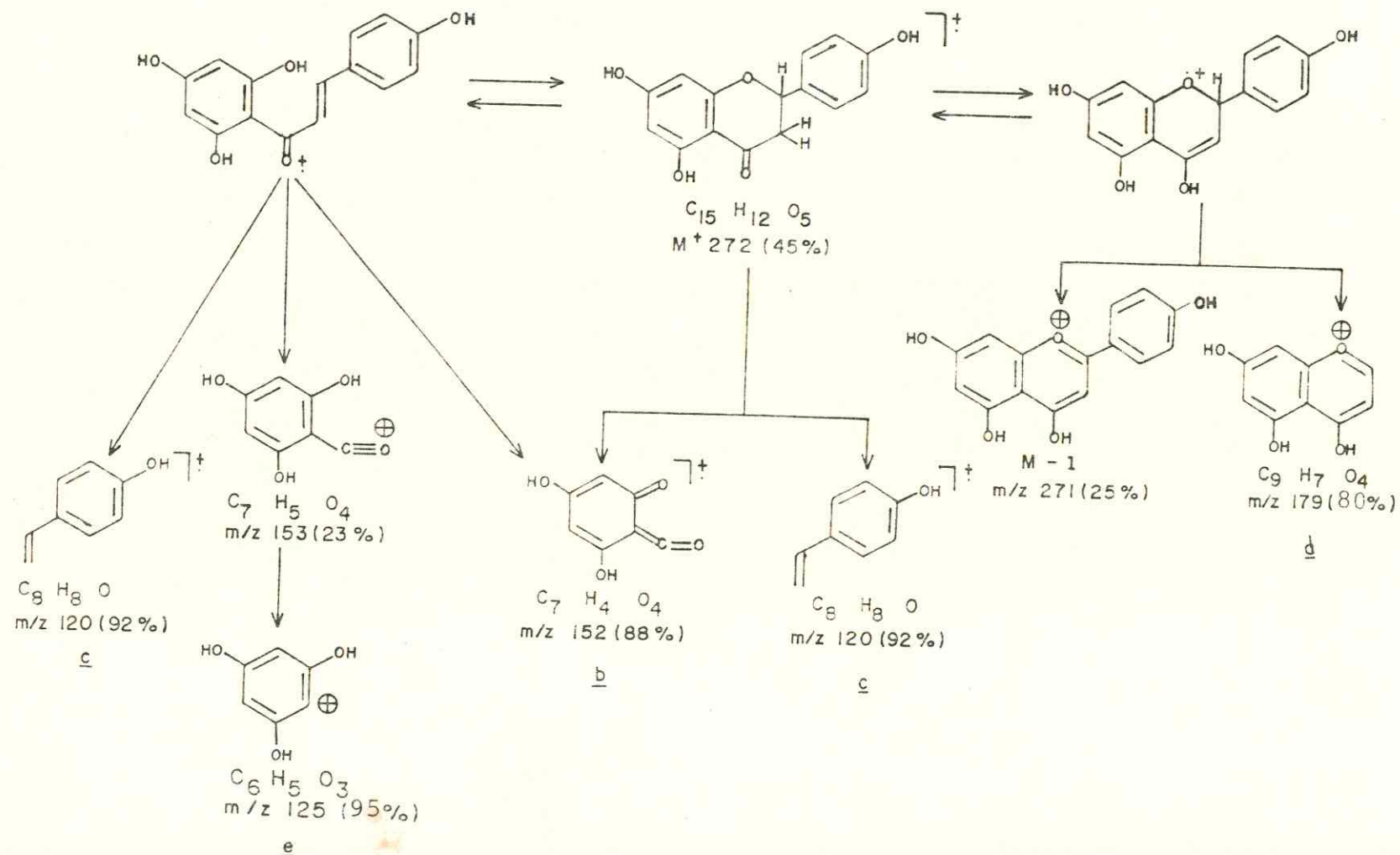




TABELA 20 - Comparação dos dados de RMN<sup>13</sup>C de CR-6 e naringeni  
na.<sup>65</sup>

| COMPOSTO<br>SOLVENTE<br>Nº DO CARBONO | CR-6<br>CO (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub><br>DESLOC. QUIM. (δ) | NARINGENINA<br>(CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO<br>DESLOC. QUIM. (δ) |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| 2                                     | 79,9 (d)                                                        | 79,8 (d)                                                               |
| 3                                     | 43,5 (t)                                                        | 43,4 (t)                                                               |
| 4                                     | 197,1 (s)                                                       | 197,1 (s)                                                              |
| 5                                     | 165,3 (s)                                                       | 165,1 (s)                                                              |
| 6                                     | 96,9 (d)                                                        | 96,8 (d)                                                               |
| 7                                     | 167,4 (s)                                                       | 167,2 (s)                                                              |
| 8                                     | 95,9 (d)                                                        | 95,8 (d)                                                               |
| 9                                     | 164,0 (s)                                                       | 164,2 (s)                                                              |
| 10                                    | 103,0 (s)                                                       | 103,1 (s)                                                              |
| 1'                                    | 130,7 (s)                                                       | 130,7 (s)                                                              |
| 2'                                    | 128,9 (d)                                                       | 128,9 (d)                                                              |
| 3'                                    | 116,2 (d)                                                       | 116,1 (d)                                                              |
| 4'                                    | 158,7 (s)                                                       | 158,5 (s)                                                              |
| 5'                                    | 116,2 (d)                                                       | 116,1 (d)                                                              |
| 6'                                    | 128,9 (d)                                                       | 128,9 (d)                                                              |

ESQUEMA 16 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE CR-6  
NO ESPECTÔMETRO DE MASSA.



# DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE CR-7-OAc (09) e CR-8-OAc (63)

A fração acetona do extrato etanólico da casca do caule de C.regium (Esquema 20), apresentou precipitação quando se tentou a sua solubilização em metanol. O precipitado, após a separação por filtração a vácuo, foi acetilado (piridina-anidrido acético) fornecendo, após cromatografia em coluna de sílica gel, uma substância sólida (p.f. 157-159°C) que foi denominada CR-7-OAc.

O fracionamento cromatográfico do material residual do extrato etanólico da casca do caule de C.regium conduziu a fração CR-REE3, resultante da eluição com acetona (Esquema 22). Por ser muito polar esta fração foi acetilada em presença de uma mistura piridina-anidrido acético e, após cromatografia em coluna de sílica gel, resultou em um material sólido (p.f. 174-176°C) denominado CR-8-OAc.

O espectro Ultravioleta em meio neutro de CR-7-OAc, mostrou bandas de absorção em 285 nm ( $\epsilon$  22.222) e 304 nm ( $\epsilon$  8.714) semelhantes as absorções observadas para CR-8-OAc, (284 e 331nm,  $\epsilon$  17.500 e 2500, respectivamente). A localização destas absorções bem como as suas intensidades relativas permitiram sugerir esqueleto de flavonóide para estas duas substâncias<sup>54</sup>.

A análise dos espectros de RMN<sup>1</sup>H de CR-7-OAc e CR-8-OAc (Figs. 64 e 65) revelou claramente que são glicosídeos<sup>54</sup>, observando-se as seguintes absorções: um sinal centrado em 4,30 $\delta$  (3H) atribuído aos prótons H-2", H-3" e H-4" e outro em 5,45 $\delta$  (1H) associado ao próton H-1" referentes a ose para o glicosídeo CR-7-OAc e os sinais centrados em 4,10 $\delta$  e 5,10 $\delta$

associados aos mesmos prótons para a ose da substância CR-8OAc.

Para a substância CR-7-OAc as absorções associados a aglicona mostraram a sua origem flavanônica, verificando-se a presença das absorções referentes aos prótons do anel heterocíclico, que são as seguintes: o duplo dubleto em 5,80 $\delta$  (1H, J=4,0 e 12,0Hz, H-2); os duplos dubletos em 3,10 (1H, J=12,0 e 18,0Hz, H-3a) e 2,93 $\delta$  (1H, J=4,0 e 18,0Hz, H-3e). O par de dubletos em 6,26 $\delta$  (1H, J=3,0Hz, H-6) e 6,33 $\delta$  (1H, J=3,0Hz, H-8) foram atribuídos aos prótons do anel A. Os dois dubletos em 7,83 $\delta$  (2H, J=9,0Hz, H-2', H-6') e 7,43 $\delta$  (H, J=9,0Hz, H-3', H-5') foram associados aos prótons do anel B. Foi verificado também a presença de um singlete em campo baixo (12,40 $\delta$ ).

No espectro de RMN<sup>1</sup>H da substância CR-8-OAc o singlete em 6,10 (H-6 e H-8) foi atribuído aos prótons do anel A; o par de dubletos em 7,30 $\delta$  (J=9,0Hz, H-2', H-6') e 7,10 $\delta$  (J=9,0Hz, H-3' e H-5') associados aos prótons do anel B e aos prótons do anel heterocíclico os duplos dubletos em 5,20 (1H, dd, J=4,0 e 18,0Hz, H-2,3,0 (J=12,0 e 18,0Hz, H-3a) e 2,83 (4,0 e 18,0Hz, H-3e).

Foi possível evidenciar também, através dos espectros de RMN<sup>1</sup>H a presença de grupos acetoxilas pelos sinais em 2,30 (3H, s), 2,06 $\delta$  (12H, s) para a substâncias CR-7-OAc e 2,30 $\delta$  (3H, s), 2,06 $\delta$  (15H, s) para a substância CR-8OAc.

Comparação dos dados fornecidos pelos espectros de RMN<sup>1</sup>H de CR-7-OAc e CR-8-OAc permitiu propor para a aglicona a estrutura da naringenina acetilada (CR-6-OAc, pág. 162, Tabela 19).

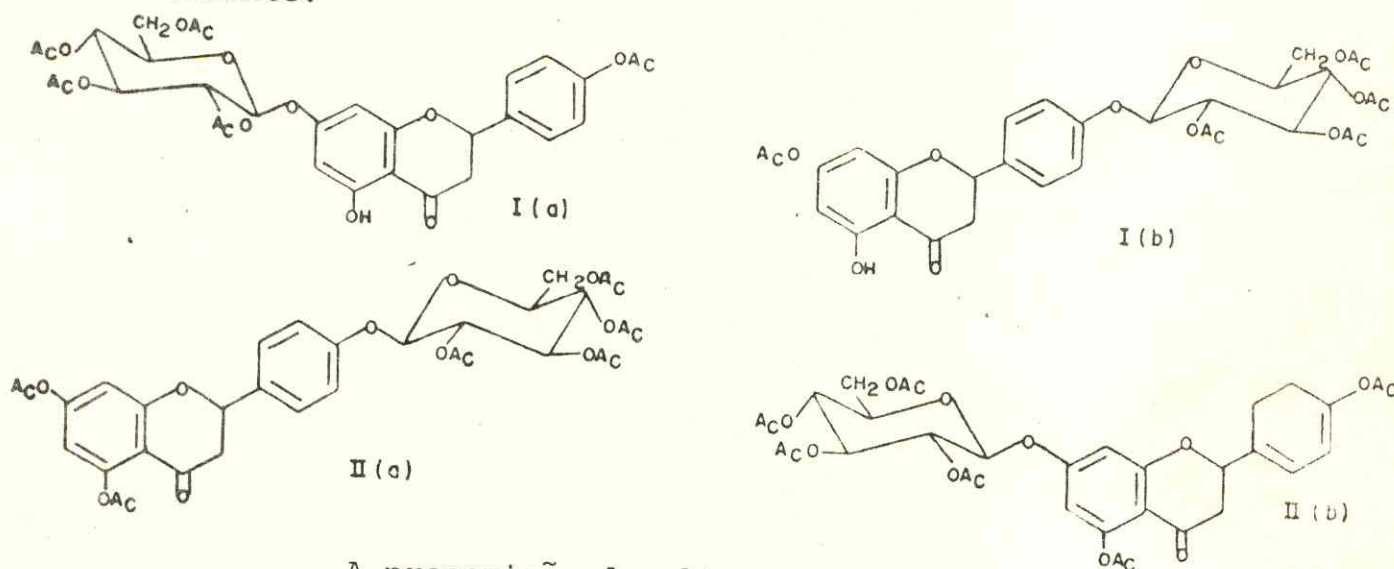
Os valores das absorções referentes aos açúcares nos espectros de RMN<sup>1</sup>H de CR-7-OAc e CR-8-OAc mostraram-se semelhan



tes ao da glicose pentaacetato<sup>66</sup>.

Os espectros de massa das substâncias CR-7-OAc ( $M^+644$ , Fig.67) e CR-8-OAc ( $M^+686$ , Fig.68) apresentaram fragmentos de massa  $m/z$  331, 271, 229 e 169 que confirmam a presença da glicose na forma de pentaacetato<sup>67</sup>. Alguns fragmentos de massas intermediárias, tais como:  $m/z$  153, 152 e 120 apoiam a suposição de que a naringenina é a aglicona dos glicosídeos CR-7-OAc e CR-8-OAc (Esquemas 17 e 18).

Com base nos dados analisados podemos propor as estruturas I(a), I(b) e II(a), II(b) representando as estruturas possíveis para as substâncias CR-7-OAc e CR-8-OAc respectivamente.

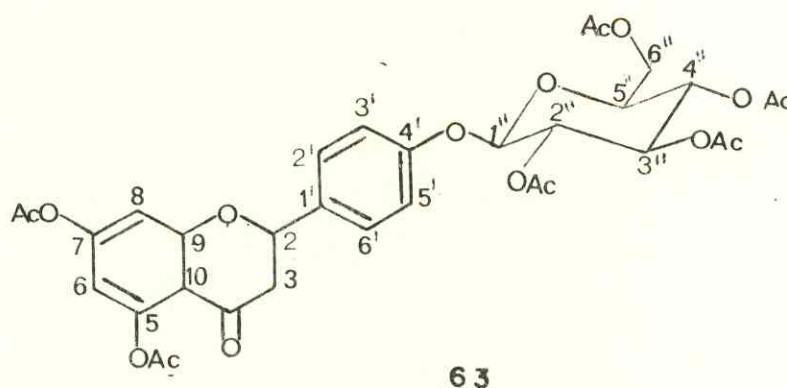
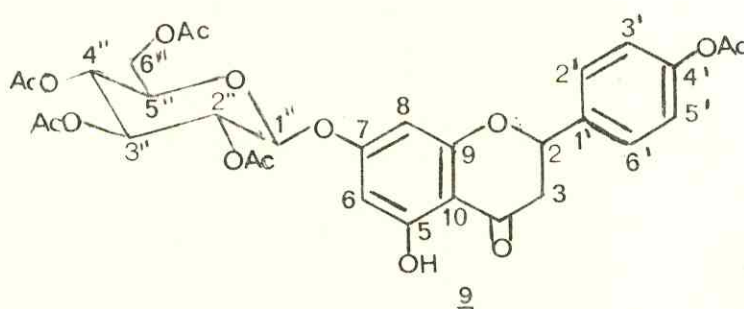


A proposição da glicose como unidade de açúcar presente nos glicosídeos CR-7-OAc e CR-8-OAc foi reforçada através da comparação por C.C.D. dos produtos de hidrólise (ácido trifluoracético) dos dois glicosídeos e a glicose padrão.

Os dados existentes na literatura para glicosídeos da naringenina<sup>68, 69</sup> permitiram localizar a ligação glicosídica na posição 7 para a substância CR-7-OAc e na posição 4' para CR-8-OAc e, deste modo, relacioná-las com as I(a) e II(a), respectivamente. A existência de um sinal em campo baixo (12,40δ)

no espectro de CR-7-OAc (Fig.65) associado ao próton de hidroxila fenólica da posição C-5 associado por pontes de hidrogênio a carbonila do anel pirônico (C-4), as integrações dos sinais correspondentes aos grupos acetoxilas nos aspectos de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (Fig.65 e 66) de CR-7-OAc e CR-8-OAc e a existência dos fragmentos  $m/z$  194 e 195 no espectro de massa de CR-8-OAc, vêm confirmar esta proposição.

O 7-O-glicosídeo da naringenina, 9, conhecido como prunina, mostra características estruturais semelhantes as observadas para CR-7-OAc. Entretanto, não é conhecido na literatura o 4'-O-Glicosídeo da naringenina, 63, relacionado com a substância CR-8-OAc.



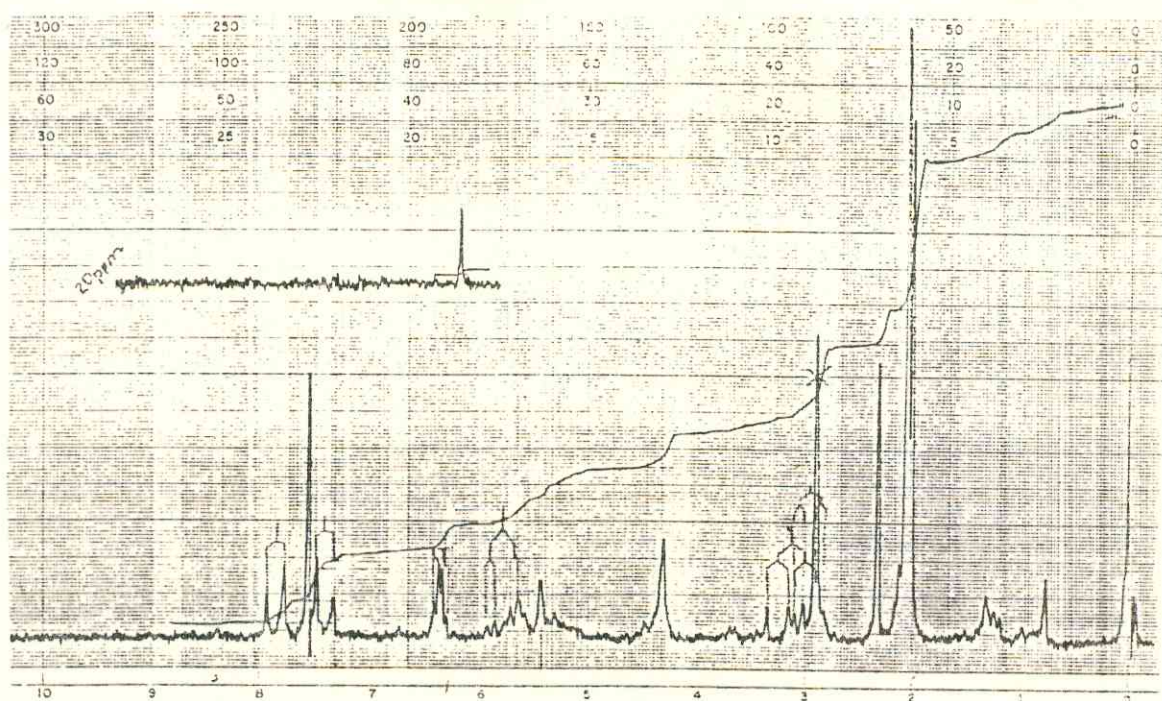


Figura 65: Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de CR-7 OAc 60 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

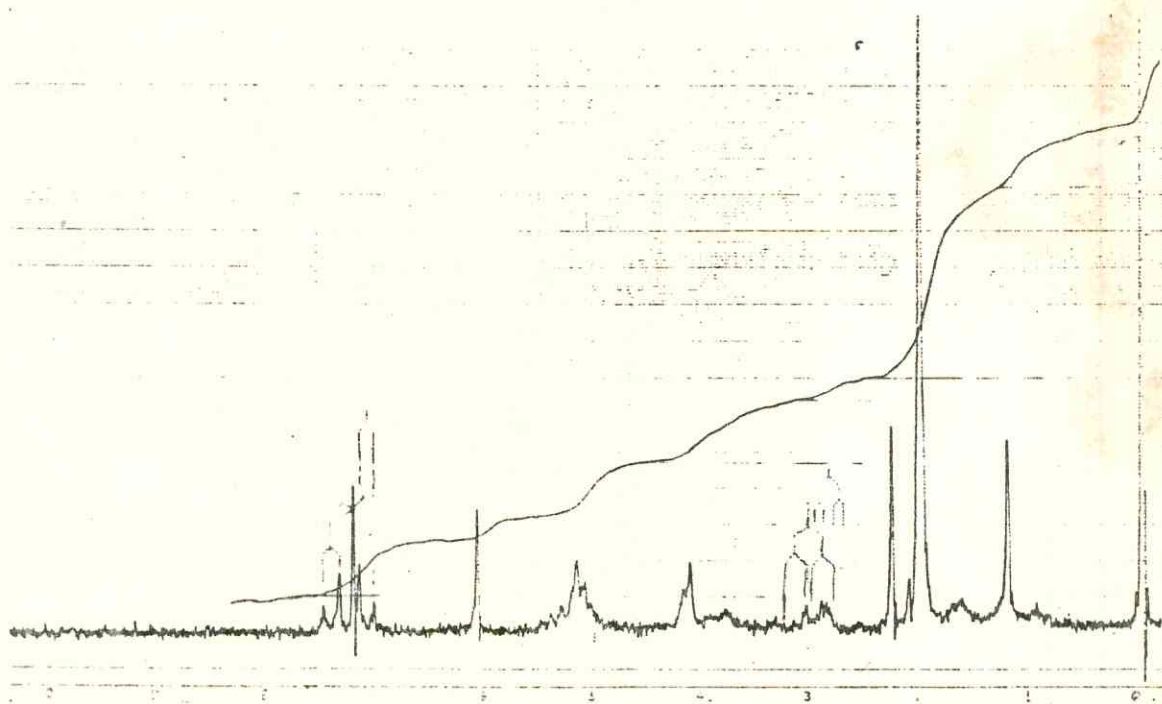
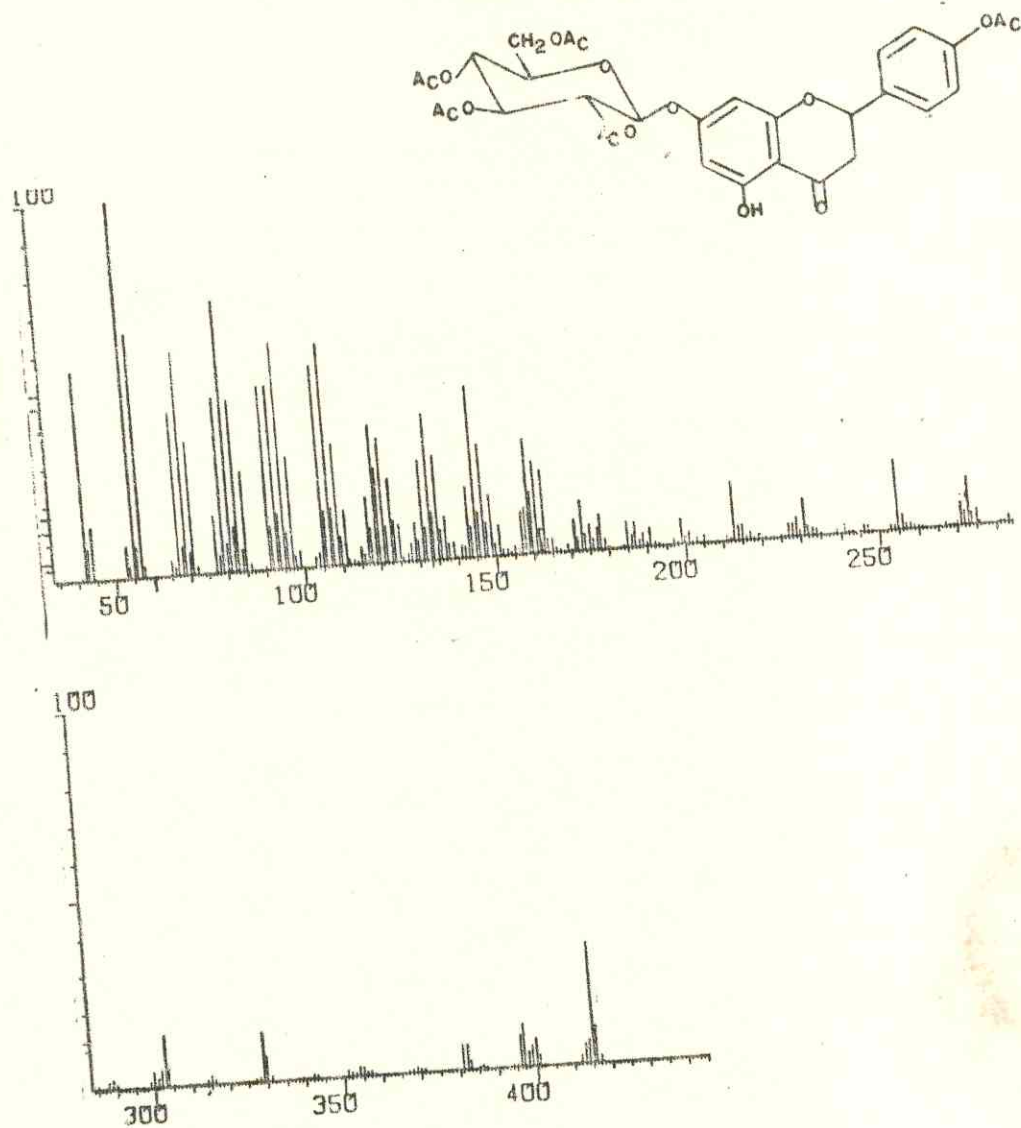


Figura 66: Espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  de CR-8 OAc (60 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )







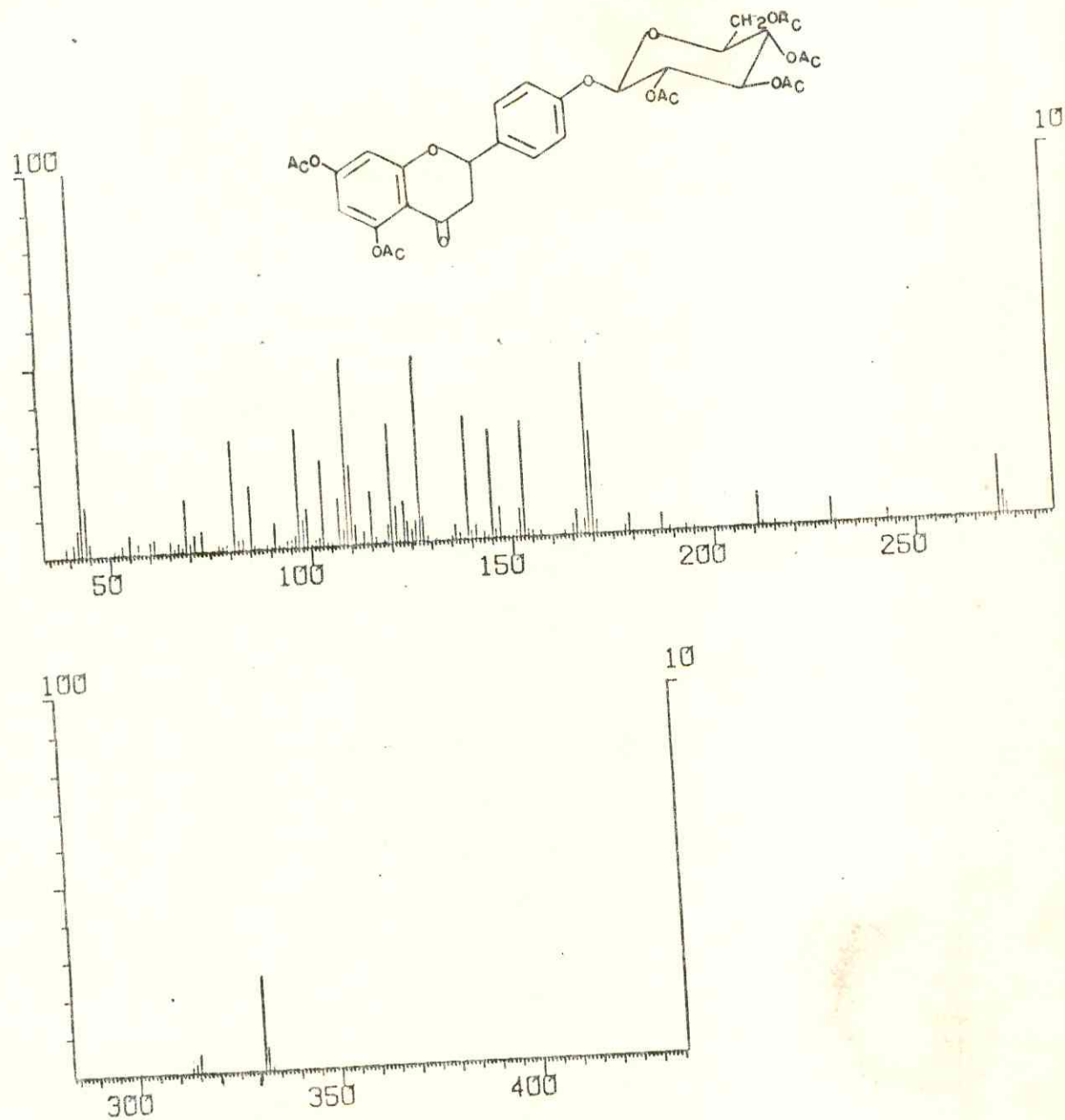
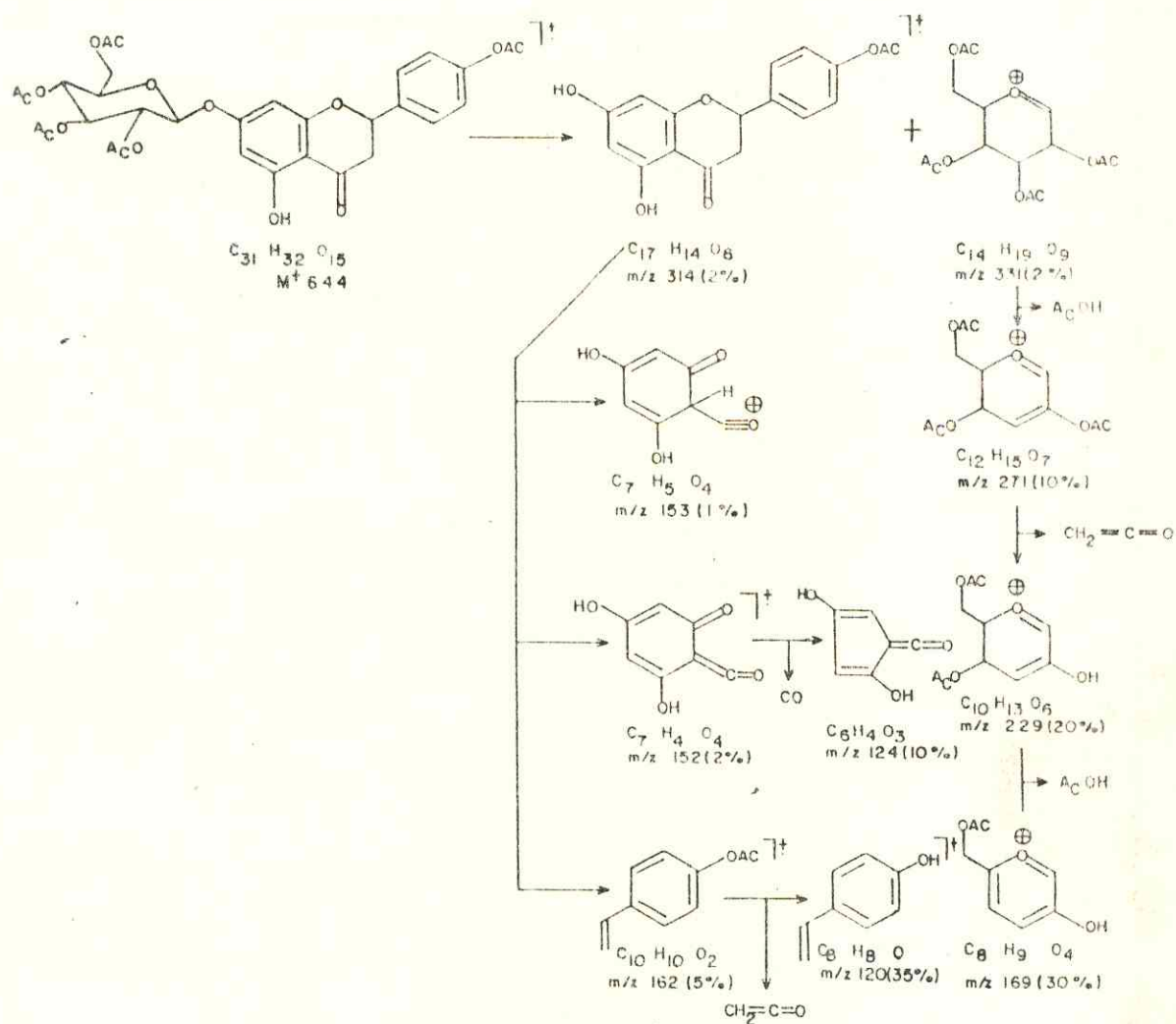
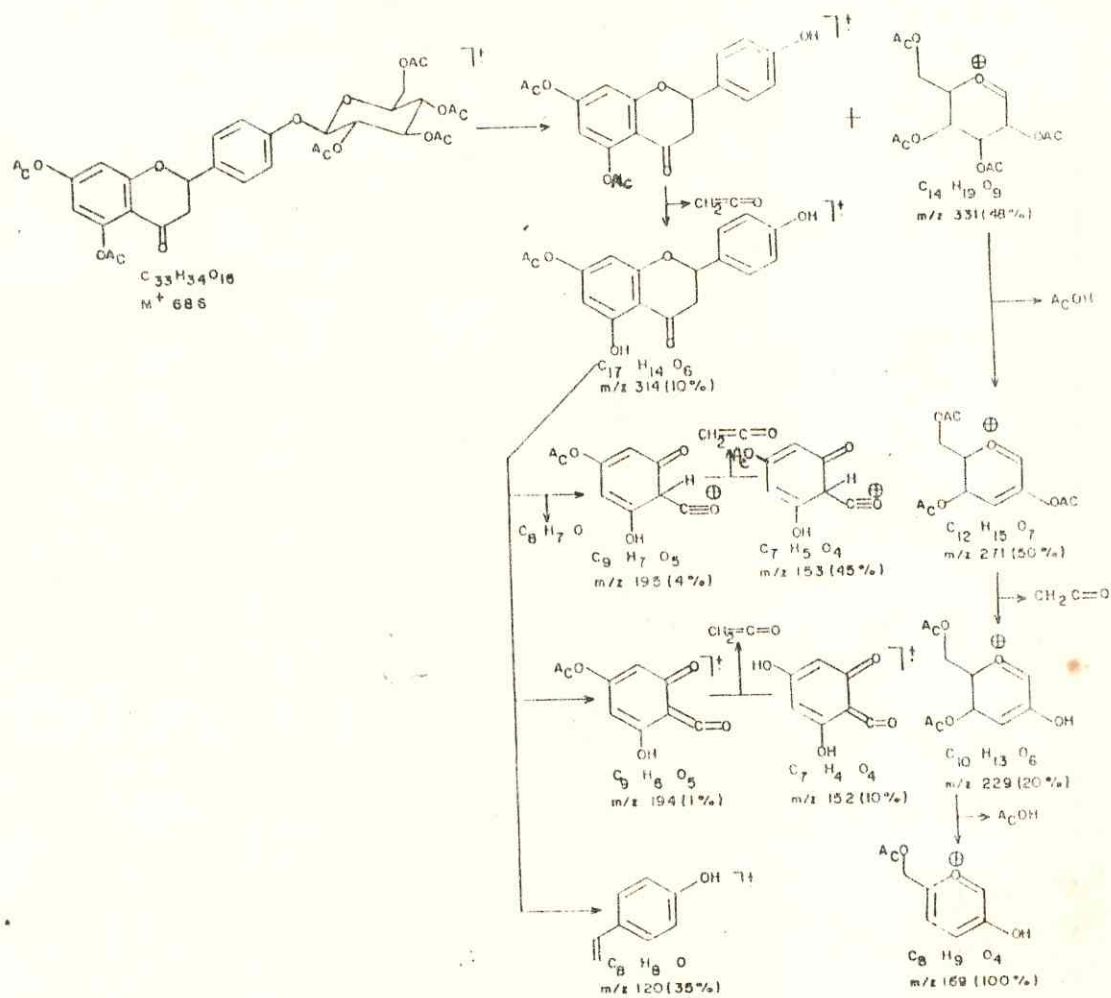


Figura 68: Espectro de Massa de CR-8 OAc

ESQUEMA 17 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE CR-7 OAC NO ESPECTÔMETRO DE MASSA.



ESQUEMA 18 - PRINCIPAIS CAMINHOS DE FRAGMENTAÇÃO DE CR - B OAC NO ESPECTÔMETRO DE MASSA





CAPÍTULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

(Ver notas da página 99 )



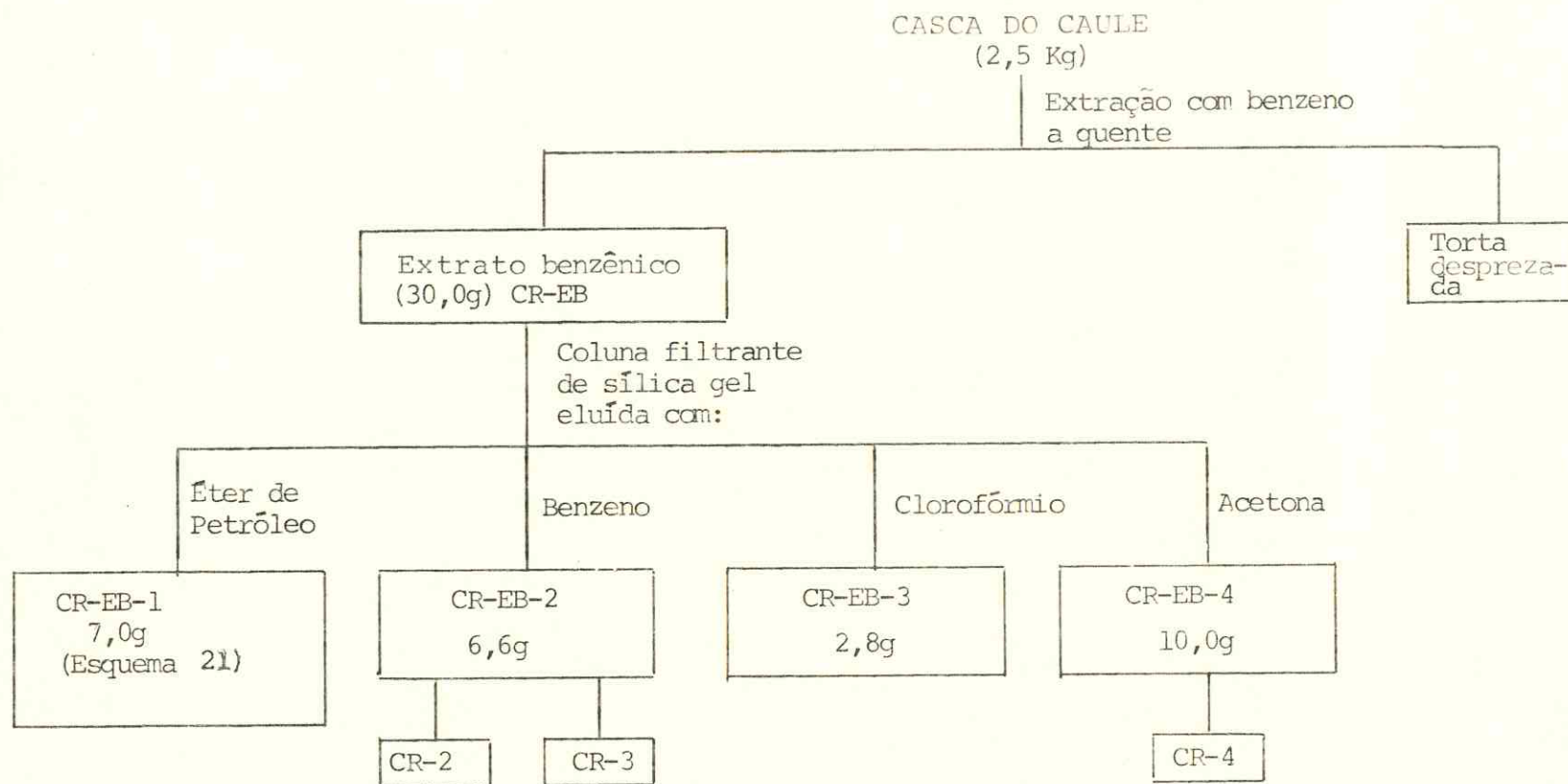
ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE COCHLOSPERMUM REGIUMOBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A casca do caule de C.regium (2,5 Kg), previamente triturada, foi extraída com benzeno em extrator tipo Soxhlet. Após a destilação do solvente em evaporador rotativo foi obtido um resíduo sólido (30,0g) denominado CR-EB (Esquema 19). A torta foi submetida a secagem e, em seguida, extraída exaustivamente com etanol a frio conduzindo, após a evaporação do solvente a 312,0g de um resíduo sólido denominado CR-EE (Esquema 20).

FRACIONAMENTO PRELIMINAR DE CR-EB.

O extrato benzênico, CR-EB (30,0g), foi adsorvido em sílica (30,0g) e acondicionado em um funil de decantação de 250 ml contendo 90,0g de sílica gel. Na eluição foram usados éter de petróleo, benzeno, clorofórmio e acetona (Esquema 19). Os resultados são mostrados abaixo:

| <u>ELUENTE</u>   | <u>PESO(g)</u> | <u>SIGLA</u> |
|------------------|----------------|--------------|
| Éter de petróleo | 7,0            | CR-EB-1      |
| Benzeno          | 6,6            | CR-EB-2      |
| Clorofórmio      | 2,8            | CR-EB-3      |
| Acetona          | 10,0           | CR-EB-4      |



ESQUEMA 19 - Isolamento dos constituintes químicos da casca do caule  
Cochlospermum regium - Extrato Benzênico.

ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO ELUÍDA COM ÉTER DE PETRÓLEO - CR-EB-1

A fração éter de petróleo CR-EB-1 (7,0g) apresenta-se como um material oleoso. Uma parte deste material foi submetida a saponificação. 4,0g foram transferidos para um balão, dissolvidos com 25,0 ml de etanol e 3,0 ml de uma solução de KOH aquoso 40%. A mistura foi mantida por 30 minutos sob refluxo e o final da reação observado por C.C.D. através do desaparecimento do material de partida. Foram acrescentados 50,0 ml de água à mistura reacional que foi transferida para um funil de decantação de 250 ml e extraída com éter etílico (3x). A fase etérea, após ser lavada com água foi tratada com sulfato de sódio anidro e destilada em evaporador rotativo, resultando em 2,2g de insaponificável (Esquema 21). A fase aquosa foi acidificada (HCl, 2N) e extraída com éter etílico. A fase orgânica resultante, depois de lavada, forneceu, após a evaporação do solvente, 1,1g de ácidos livres (Esquema 21).

O insaponificável (2,2g) foi cromatografado em uma coluna de sílica gel (50,0g) utilizando-se os eluentes: éter de petróleo, benzeno e acetato de etila. Das frações eluídas com benzeno resultou um sólido branco, 0,86g (P.F. 75-78°C) designada CR-1. As demais frações não levaram ao isolamento de substâncias.

ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO ELUÍDA COM BENZENO - CR-EB-2

A fração CR-EB-2 (6,6g) foi submetida a coluna de sílica gel utilizando-se éter de petróleo, benzeno, acetato



de etila e suas misturas binárias como eluentes. As frações resultantes da eluição com éter de petróleo-benzeno 1:1 continham 1,03g de um sólido (p.f. 132-136°C) denominado CR-2.

As frações eluídas com benzeno-acetato de etila 5% forneceram um sólido amarelo, 0,62g, que foi recromatografado em coluna de sílica gel, usando-se misturas de benzeno-acetato de etila em polaridade crescente, conduzindo a 0,20g de um sólido amorfo (p.f. 221-224°C) designado CR-3. A acetilação com piridina-anidrido acético de 0,10g de CR-3, de maneira descrita anteriormente (pág.116), levou ao derivado acetilado CR-3OAc (p.f. 157-159°C).

As frações restantes do fracionamento cromatográfico de CR-EB-2, embora analisadas por cromatografia em coluna de sílica gel, não levou ao isolamento de nenhuma substância pura.

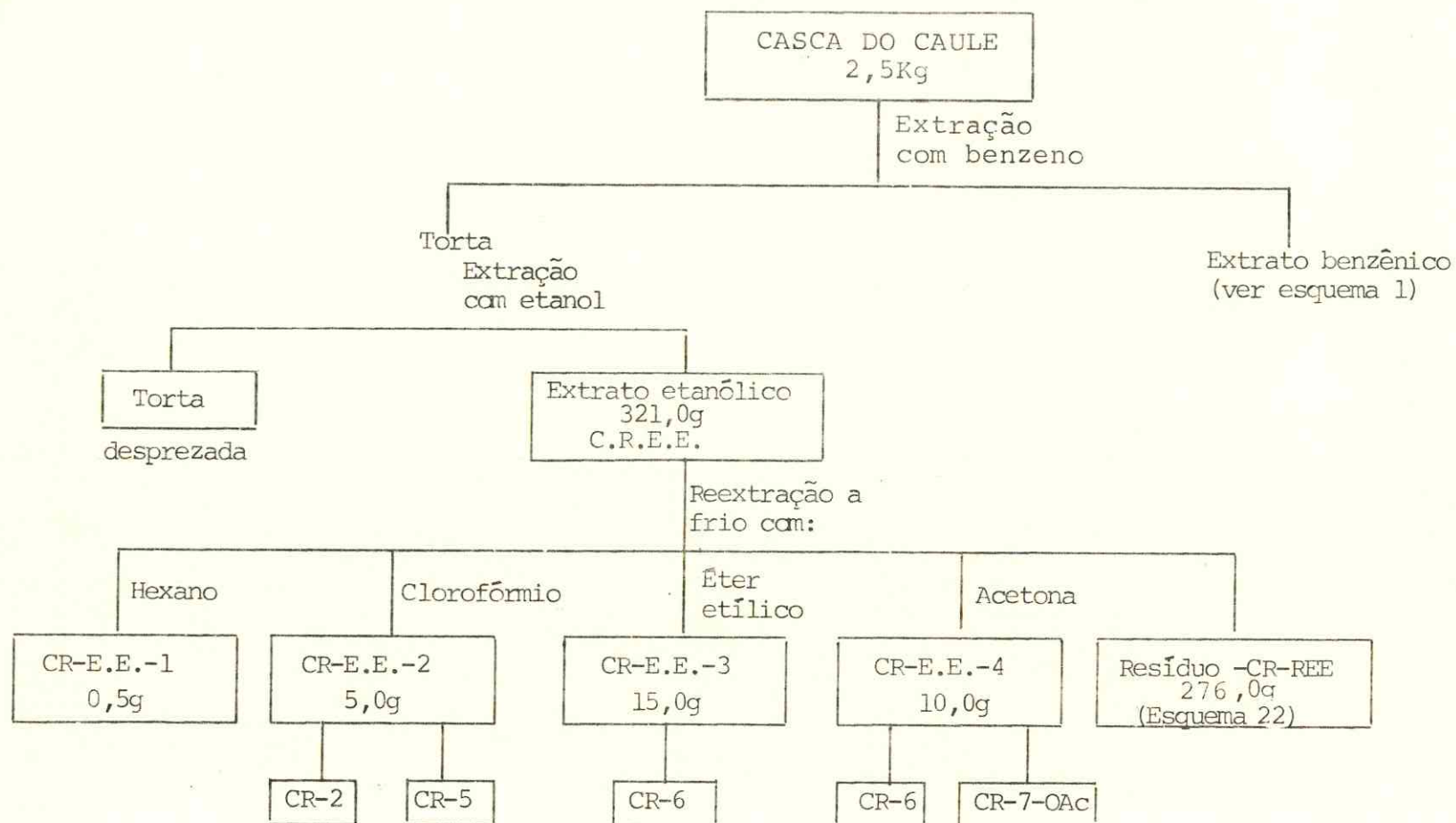
#### ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO ELUÍDA COM CLOROFÓRMIO - CR-EB-3

Da fração clorofórmio, CR-EB-3 (2,8g), apesar de vários fracionamentos em coluna de sílica gel, não foi possível isolar substâncias puras.

#### ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO ELUÍDA COM ACETONA - CR-EB-4

A fração acetona CR-EB-4 (10,0g) foi submetida a separação cromatográfica em coluna filtrante (50,0g) e eluída com clorofórmio, éter etílico e acetona. As frações resultantes da eluição com éter etílico e acetona foram reunidas, após comparação por C.C.D., obtendo-se 2,5g de material sólido.





ESQUEMA 20 - Isolamento dos constituintes químicos da casca do caule  
Cochlospermum regium - Extrato Etanólico.

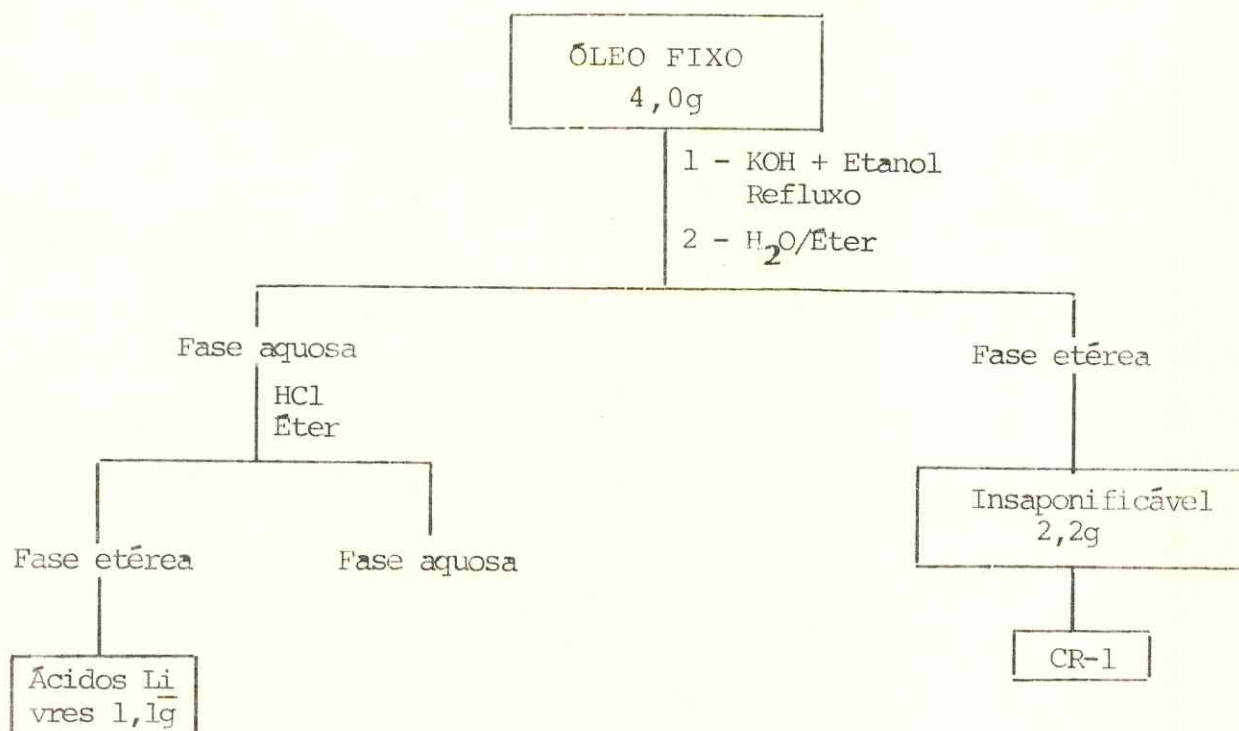
Este foi adsorvido em sílica gel e cromatografado em coluna de sílica gel usando-se como eluentes misturas de éter de petróleo-acetato de etila em várias proporções. As frações mais polares, após serem recromatografadas, possibilitaram o isolamento de 1,3g de um sólido branco de ponto de fusão 252-254°C denominado CR-4. A metilação de 0,3g com excesso de diazometano resultou no derivado metilado CR-4-OMe (p.f. 198-200°C). A acetilação de 0,2g do derivado CR-4-OMe em piridina-anidrido acético, como descrito na página 125, forneceu um material sólido (P.F. 101-104°C) denominado CR-4-OMe-OAc.

#### FRACIONAMENTO PRELIMINAR DE CR-EE

O extrato etanólico bruto, CR-EE, (312g) foi reextraído exaustivamente com hexano a frio fornecendo a fração CR-EE-1 (0,5g), após a evaporação do hexano. O resíduo da extração com hexano foi tratado da mesma forma com clorofórmio fornecendo a fração CR-EE-2, (5,0g), seguido de éter etílico e acetona fornecendo as frações CR-EE-3 (15,0g) e CP-EE-4 (10,0g), respectivamente. O resíduo final da reextração do extrato etanólico, 276,0g, foi denominado CR-REE (Esquema 22).

#### ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO-CR-EE-1

A fração CR-EE-1 (0,5g), Esquema 20, forneceu um óleo viscoso. A análise por C.C.D. em vários sistemas de solventes, revelou a sua complexidade e, apesar de vários fracionamentos através de coluna cromatográfica de sílica gel, não foi possível o isolamento de substâncias puras.



ESQUEMA 21 - Saponificação da fração CR-EB-1

ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO CR-EE-2

Esta fração (5,0g) foi adsorvida em sílica, colocada em uma coluna contendo 150,0g de sílica e eluída com misturas hexano-acetato de etila em polaridade crescente. As frações resultantes da eluição com hexano foram reunidas (1,4g) e recristalizadas com hexano. A comparação por C.C.D. do sólido obtido após a recristalização e o ponto de fusão misto ( $132-136^{\circ}\text{C}$ ) permitiram identificá-lo como CR-2, isolado anteriormente (pág.196).

As frações eluídas com hexano-acetato de etila 5% foram recromatografadas fornecendo 0,90g de um sólido branco amorfo p.f.  $102-106^{\circ}\text{C}$ ) denominado CR-5. Em consequência das dificuldades apresentadas quanto a solubilidade em solventes orgânicos, a substância foi submetida a acetilação e metilação. A acetilação da substância CR-5 com piridina-anidrido acético (conforme o procedimento descrito na pág.116), resultou no derivado acetilado CR-5-OAc (p.f.  $80-81^{\circ}\text{C}$ ). CR-5 (0,30g), dissolvida em éter foi metilada com excesso de diazometano obtendo-se o derivado metilado CR-5-OMe ( $74-76^{\circ}\text{C}$ ). O derivado metilado CR-5-OMe (0,01g) foi submetido a hidrólise alcalina (KOH, 40%,  $\text{CHCl}_3$ , refluxo por 1 hora). A elaboração do produto de hidrólise foi efetuada da maneira descrita na pág.114), resultando no ácido p-Metoxicinâmico e no triacontanol (p.f.  $79-80^{\circ}\text{C}$ ).



ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO - CR-EE-3

Fracionamento cromatográfico em sílica gel de CR-EE-3, 15,0g, conduziu às frações hexano, éter etílico, acetona e metanol.

A fração éter etílico (3,8g), selecionada para estudo por conter uma mistura menos complexa de constituintes, foi submetida a cromatografia em camada delgada em escala preparativa. A revelação com luz ultravioleta mostrou a presença de três faixas. Da faixa de maior R.f resultou, após a extração com acetona e destilação do solvente, um sólido (p.f. 258-261°C) denominado CR-6. Deste material 0,10g foram acetilados como descrito anteriormente, obtendo o produto CR-6-OAc (p.f. 126-129°C). Das duas faixas restantes, reveladas com luz ultravioleta, não foi possível isolar substâncias com grau de pureza satisfatório.

ELABORAÇÃO DA FRAÇÃO - CR-EE-4

A fração CR-EE-4 (10,0g) apresentou precipitado quando se tentou a solubilização em metanol. O precipitado (1,0g) foi separado por filtração a vácuo e acetilado conforme procedimento anteriormente descrito (pág.116), resultando na substância denominada CR-7-OAc (p.f.157-159°C).

Aproximadamente 2,0 mg de CR-7-OAc e 1,0 ml de ácido trifluoracético (4N), em tubo selado, foram aquecidos em uma estufa a 100°C por 1 hora. Logo após foi acrescentado metanol, transferido para um balão e evaporado a securo em evaporador rotativo. Este procedimento foi repetido até que

não houvesse mais eliminação de ácido trifluoracético. O resíduo foi redissolvido em álcool isopropílico e analisado por cromatografia em papel e camada delgada de sílica gel com padrões de açúcar, sendo a unidade de açúcar presente em CR-7-OAc identificada como glicose.

A porção de CR-EE-4 solúvel em metanol foi concentrada em evaporador rotativo e o resíduo resultante, após ser cromatografado em coluna de sílica gel, forneceu uma substância sólida (p.f. 258-261°C) identificada por C.C.D., ponto de fusão misto e dados espectroscópicos como CR-6.

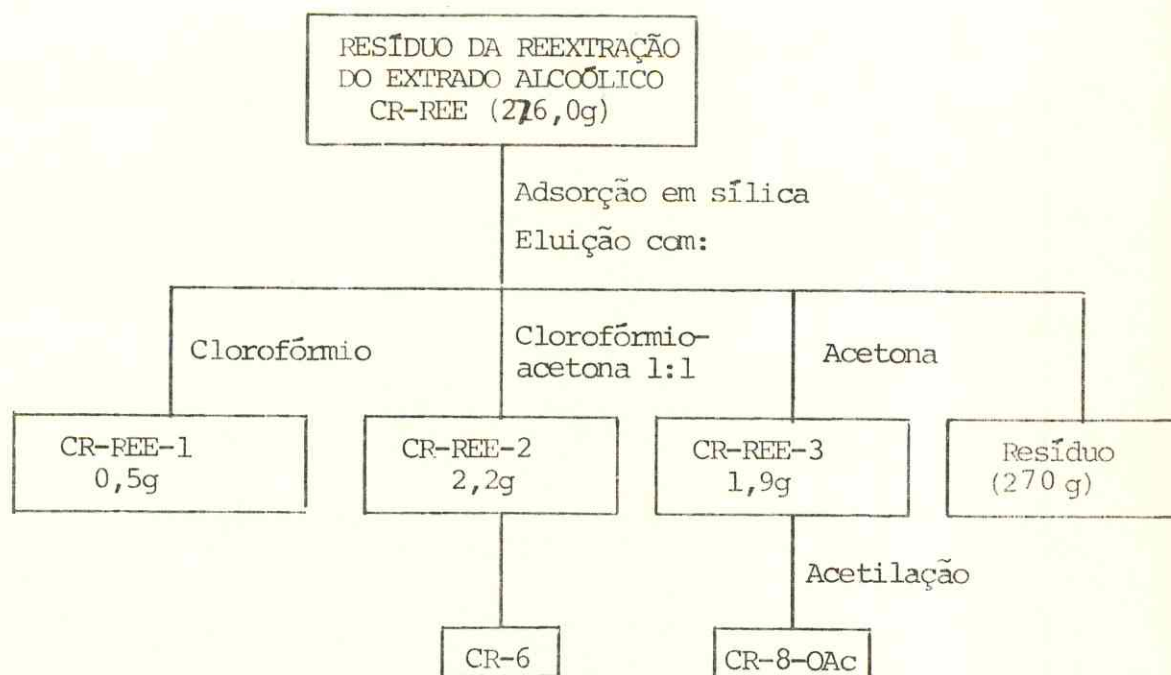
#### ELABORAÇÃO DO MATERIAL RESIDUAL DO EXTRATO ETANÓLICO-CR-REE

A parte insolúvel da reextração do extrato etanólico da casca do caule CR-REE (276,0g), Esquema 22, foi adsorvida em sílica, submetida a coluna filtrante e separados os eluatos: clorofórmio (CR-REE-1, 0,5g), clorofórmio-acetona 1:1 (CR-REE-2, 2,2g) e acetona (CR-REE-3, 1,9g).

A fração CR-REE-1 (0,5g), embora tenha sido recromatografada, não forneceu substâncias puras.

A fração CR-REE-2 (2,2g) foi recromatografada e, das frações resultantes, obtido material sólido (0,5g) que após recristalização em hexano-acetona mostrou ponto de fusão 258-261°C. A comparação por C.C.D. com CR-6 revelou tratar-se da mesma substância.

A fração acetona (1,9g) mostrou-se muito polar quando analisada por C.C.D.. Por esta razão foi submetida a acetilação em piridina-anidrido acético, de maneira descrita anteriormente (pág. 116). A cromatografia em coluna de sílica gel



ESQUEMA 22 - Material residual da reextração a frio do extra-  
to etanólico da casca do caule Cochlospermum re-  
gium.

do produto acetilado resultou em frações contendo 0,6g de um sólido (p.f. 174-176°C) denominado CR-8-OAc. Aproximadamente 0,002g desta substância foi hidrolisada (ácido trifluoracético), de maneira descrita anteriormente (pág.182), para identificação das oses. A posterior comparação do produto de hidrólise com padrões de açúcar através de cromatografia em papel e camada delgada de sílica gel, permitiram identificar a glicose como a unidade de açúcar presente em CR-8-OAc.



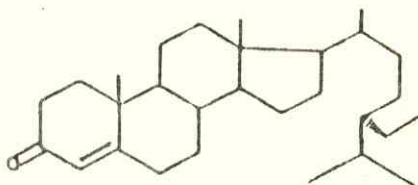
CR-1 (57)

p.f. 75-80°C

$$\lambda_{\max}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1}) \quad 2985, 2850, 1690, 1670, 1560, 1495, 1280, 1100.$$

$$\text{RMN}^1\text{H} (\text{CDCl}_3, \delta) \quad 5,65 (1\text{H}, \text{s}, \text{HC=}), \quad 2,20-2,52 (2\text{H}, \text{m} - \text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}-) \\ 1,30 (\text{s}).$$

E.M.

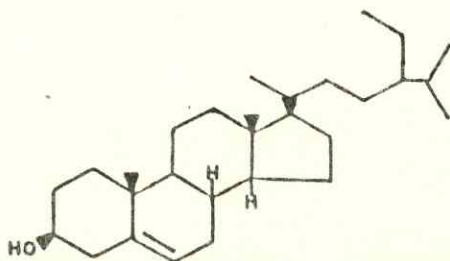
$$\text{C}_{29} \text{H}_{48} \text{O} \text{ Picos em m/z(\%)} \quad 412(10,0), 271(8,7), \\ 243( ), 229(79,0), 173(10,0), \\ 161(12,0), 124(100,0), 123 \\ (12,0), 107(95), 95(58,7), \\ 91(67,0), 81(66,5), 69(78,3).$$
CR-2 (54)

p.f. 132-134°C

$$\text{I.V. } \lambda_{\max}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1}) \quad 3475, 3010, 2980, 2910, 1673, 1483, 1393, 1270, \\ 1230, 1080, 990, 833.$$

$$\text{RMN}^1\text{H} (\text{CDCl}_3, \delta) \quad 5,5 - 5,1 (\text{m}, 1\text{H}, \text{HC=})$$

E.M.

$$\text{C}_{29} \text{H}_{50} \text{O} \text{ picos em m/z(\%)} \quad 414(39), 396(11), \\ 330(5), 225(28), 213(40), \\ 163(50), 159(65), 145(85), \\ 133(70), 119(72), 107(94), \\ 105(100), 95(90), 81(98), \\ 69(65).$$


CR-3 (58)

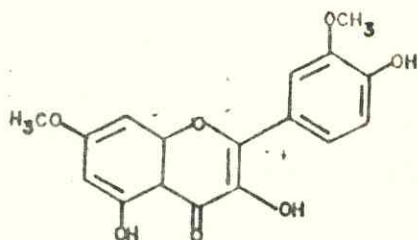
p . f. 221-224°C

U.V. <sup>MeOH</sup>  $\lambda_{\max}$  (nm) 255, 271, 368 ( $\epsilon$  6.315, 8.771, respectivamente).

I.V. <sup>KBr</sup>  $\lambda_{\max}$  3521, 3331, 1660, 1610, 1590, 1500, 1313, 1260, 1220, 1180, 1140, 1050, 1010, 890.

RMN<sup>1</sup>H (DMSO,  $\delta$ ) 7,80 (1H, d, J=2, OHz, H-2'), 7,76 (1H, dd, J=2,0 e 9, OHz, H-6'), 7,03 (1H, d, J=9, OHz, H-5'), 6,83 (1H, d, J=3, OHz, H-8), 6,43 (1H, d, J=3, OHz, H-6), 3,96 (6H, s, CH<sub>3</sub>-O-)

E.M. : C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub> picos em m/z(%) 330(100), 329(16,2), 302(3,4), 301(9,1), 287(14,9), 167(12,5), 165(5,8), 151(29), 149(35,2), 135(17,9), 123(18), 121(10,9), 108(10,8), 100(41)

CR-4 (59)

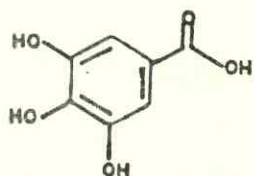
p . f. 252-254°C

U.V. <sup>MeOH</sup>  $\lambda_{\max}$  (nm) 267

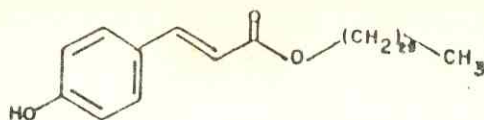
I.V. <sup>KBr</sup>  $\lambda_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>) 3550, 1660, 1610, 1540, 1430, 1305, 1260, 1030, 870.

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ ) 7,28(s), 6,3-6,98(s1).

E.M. C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub> Picos em m/z(%), 170(100), 153(93,3), 135(12), 135(26,7), 107(8,8), 96(8,7), 79(34,5), 71(13), 55(19,7).



CR-5 (60)



p.f. 102-106°C

U.V.  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  (nm) 312 ( $\epsilon$  44.705)

I.V.  $\lambda_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3400, 3010, 2970, 2900, 1715, 1685, 1640, 1615,  
1550, 1500, 1340, 1275, 1215, 1195, 1185, 995,  
850.

E.M.  $\text{C}_{39}\text{H}_{68}\text{O}_3$ . Picos em m/z(%) 584( $\text{M}^+$ , 5%),  
164(100), 148 (10), 147(90),  
120(50), 107(50).

CR-50Ac (60a)

p.f. 88-90°C

I.V.  $\lambda_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3005, 2910, 2850, 1760, 1720, 1650, 1620, 1510,  
1480, 1380, 1330, 1270, 1190, 990, 930, 850.

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 7,75(1H, d, J=15, OHZ, CH=), 7,70(2H, d, J=8, 0Hz, H-2, H-6)  
7,26(2H, d, J=8, 0Hz, H-3, H-5), 6,30(1H, d, J=15, OHZ),  
=CH), 4,26(2H, t, -O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-R), 2,20(3H, s, CH<sub>3</sub>-CO),  
1,20(~56H, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, n= 28).

RMN<sup>13</sup>C ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ) 168,0(s,  $\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}$ -CH<sub>3</sub>), 166,9(s, C-9), 155,1(s, C-4),  
143,4(d, C-7), 132,2(s, C-1), 129,1(d, C-2 e C-6),  
122,1(d, C-3 e C-5), 118,5(d, C-8) 64,7(t, -O-CH<sub>2</sub>-  
CH<sub>2</sub>-R), 32,0, 29,7, 29,3, 28,7, 26,0, 22,7, 21,0  
-(CH<sub>2</sub>-)<sub>n</sub>, 14,1(q, -CH<sub>3</sub>).

E.M. Calculado para  $C_{41}H_{70}O_4$  - Picos em  $m/z$ (%), 626( $M^+$ 1%),  
166(60), 164(100), 147(90), 120(50),  
107(50), 55(25), 43(20), 57(20).

CR-5OMe (60b)

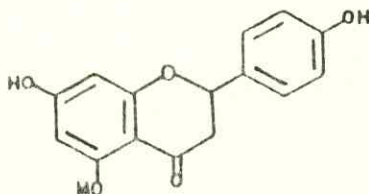
p.f. 74-76°C

I.V.  $\lambda_{max}^{KBr}$  ( $cm^{-1}$ ) 3010, 2980, 2930, 1730, 1660, 1630, 1550, 1500,  
1280, 1200, 1160, 1010, 875.

$RMN^1H$  ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ) 7,66 (1H, d,  $J=15,0Hz$ ,  $CH=$ ), 7,50 (2H, d,  $J=8,0Hz$ , H-2, H-6), 6,90 (2H, d,  $J=8,0Hz$ , H-3, H-5), 6,30 (1H, d,  $J=15,0Hz$ ,  $=CH$ ), 4,16 (2H, t,  $J=7,0Hz$ ,  $-O-CH_2-CH_2-R$ ), 3,83 (3H, s,  $J=7,0Hz$ ,  $-O-CH_3$ ), 1,30 (56H, s,  $(CH_2)_n$ ,  $n=28$ ).

E.M.  $C_{40}H_{70}O_3$ . Picos em  $m/z$ (%) 598( $M^+$ , 40), 570(12),  
178(98), 161(100), 148(3), 147(5),  
134(40), 121(51), 52(47), 43(93).

CR-6 (07)



p.f. 258-260°C.

U.V.  $\lambda_{max}^{ETOH}$  (nm) 287, 324 ( $\epsilon$  18.217 e 4329, respectivamente).

I.V.  $\lambda_{max}^{KBr}$  ( $cm^{-1}$ ) 3450, 3000, 2930, 1620, 1590, 1540, 1520, 1410,  
1340, 1270, 1180, 1120, 1040, 915, 850.

$RMN^1H$  ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ ) 7,33 (2H, d,  $J=9,0Hz$ , H-2', H-6'), 6,80 (2H, d,  $J=9,0Hz$ , H-3', H-5'), 5,95 (2H, s, H-6, H-8), 5,55 (1H, dd,  $J=4,0$  e  $12,0Hz$ , H-2), 3,17 (1H, dd,  $J=12,0$  e  $18,0Hz$ , H-3a), 2,67 (1H, dd,  $J=4,0$  e  $18,0Hz$ , H-3e).



E.M.  $C_{15}H_{12}O_5$ . Picos em m/z(%) 272( $M^+$ ,45), 271(25),  
179(80), 166(83), 153(23), 152(88),  
125(95), 120(92), 107(90), 92(85), 78(50).

RMN  $^{13}C$  [ $(CD_3)_2CO$ , )] 43,4(t,C-3), 79,8(d,C-2), 95,8(d, c-8),  
96,8(d,C-6), 103,1(s,C-10), 116,1(d,C-3' e  
C-5'), 128,9(d,C-2' e C-5'), 1307(s,C-1),  
158,5(s,C-4'), 165,1(s,C-5), 167,2(s,C-7),  
197,1(s,C-4).

CR-7-OAc (09)

p.f. 157-159°C

MeOH

$\lambda_{max}$  (nm) 285, 304( 22.222 e 8.714, respectivamente).

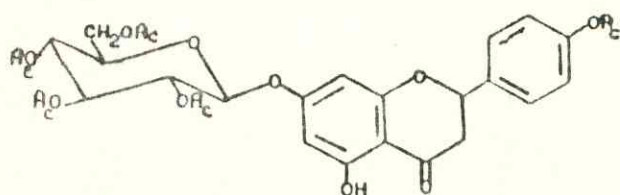
KBr

$\lambda_{max}$  ( $cm^{-1}$ ) 2340, 3040, 2985, 1760, 1630, 1520, 13,80,  
1245, 1065, 1045, 835.

RMN  $^1H$  ( $CD_3$   $_2CO$ , ) 12,40(1H,s,-OH), 7,83(2H,d,J=9,OHZ,H-2',H-6'),  
7,43(2H,d,J=9,OHZ,H-3',H-5'), 6,33(1H,d,J=3,  
OHZ,H-6), 5,80(1H,dd,J=4,0 e 12,OHZ,H-2),  
5,45 (1H,H-1"), 4,30 (3H,H-2",H-3" e H-4"),  
3,10(1H,dd,J=12,0 e 18,OHZ,H-3a), 2,93(1H,dd,  
J=4,OHZ,e 18,OHZ,H-3e), 2,30(3H,s, $CH_3CO$ ),  
2,06(12H,s,  $CH_3-CO$ ).

E.M.

$C_{31}H_{32}O_{15}$ . Picos em m/z(%)  $M^+$ (644, ausente),



415(30), 331(22), 314(2), 271(10), 255(13),  
231(8), 229(1), 169(100), 153(10), 152(4),  
127(25), 120(12), 109(92), 97(12), 69(5)

CR-8-OAc (63)

p.f. 174-176°C

MeOH

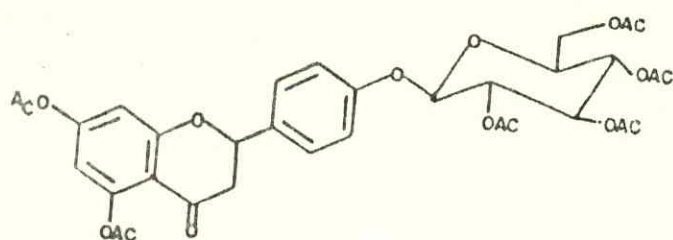
Vmax (nm) 284, 331( 17.500 e 2.500), respectivamente).

KBr

max (cm<sup>-1</sup>) 3550, 3050, 3005, 1775, 1650, 1600, 1540 ,  
1445, 1385, 1255, 1335, 1160, 1080, 930, 845.

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ) 7,30 (2H, d, J=9, OHz, H-2', H-6'), 7,10 (2H, d, J=9, 0 Hz, H-3', H-5'), 6,10 (2H, s, H-6 e H-8), 5,20 (1H, dd, J=4,0 e 12, OHz, H-2), 5,10 (1H, H-1"), 4,10 (3H, H-2", H-3" e H-4"), 3,0 (1H, dd, J=12,0 e 18, OHz, H-3a), 2,83 (1H, dd, J=4,0 e 12, OHz, H-3e), 2,30 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO), 2,06 (15H, s, CH<sub>3</sub>CO).

E.M.

C<sub>33</sub>H<sub>34</sub>O<sub>16</sub>. Picos em m/z(%), 686 (M<sup>+</sup>),

331(50), 314(12), 271(50),  
229(1), 169(100), 153(45),  
152(10), 127(95), 120(35),  
109(98), 97(38), 69(18).

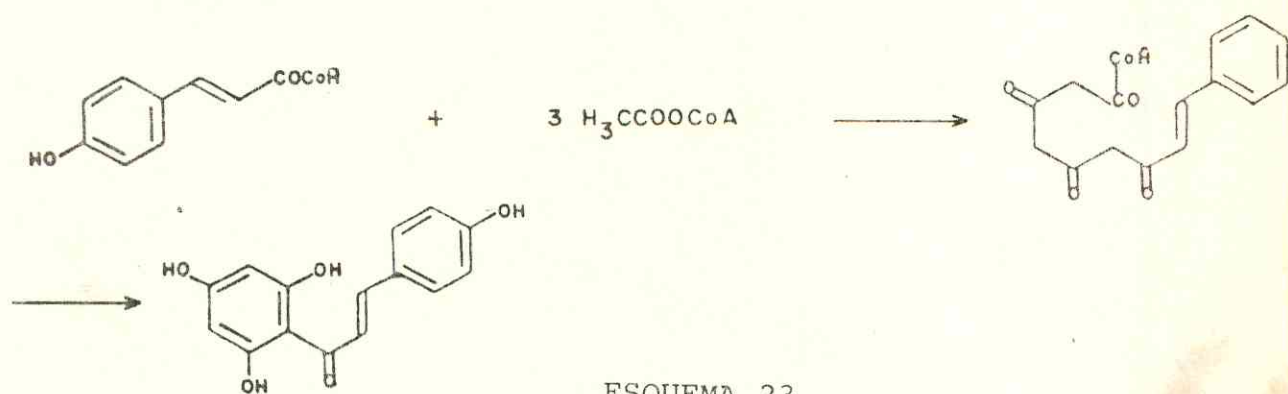
P A R T E   I I I

C O N S I D E R A Ç Õ E S   B I O S S I N T Ê T I C A S

## BIOSSÍNTESE

### 1. Biossíntese de flavonóides

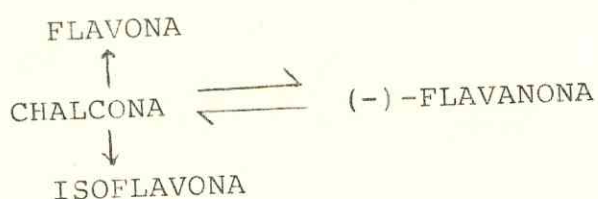
Os falvonóides originam-se de três unidades acetato e um intermediário fenilpropanóide, o ácido chiquímico. A estrutura básica resultante apresenta o anel B contendo funções oxigenadas características da via chiquimídico, enquanto o anel A as apresenta em posição meta, característica da via acetato-malona<sup>70</sup>, conforme esquema abaixo.



Chalconas e flavanonas têm sido comprovados como precursores de todas as classes de falvonóides. Experimentos enzimáticos e com precursores marcados mostraram que chalconas e (-)-flavanonas existem em equilíbrio e estão diretamente envolvidos como intermediários na biossíntese de flavonóides. Contudo, inúmeros experimentos envolvendo chalconas e (-)-flavanonas, levando a formação de flavonas e isoflavonas, mostraram que os produtos formados a partir de chalconas como precursor apresentaram maior atividade específica do que aqueles obtidos a partir de flavanonas<sup>71</sup>. Então, através destes resultados, foi possível concluir que flavonas e isoflavonas são formadas diretamente de chalconas e, que (-)-flavanonas funciona como precur-



sor somente via isomerização para chalcona. As relações biossintéticas podem ser sumarizadas como mostrado a seguir:

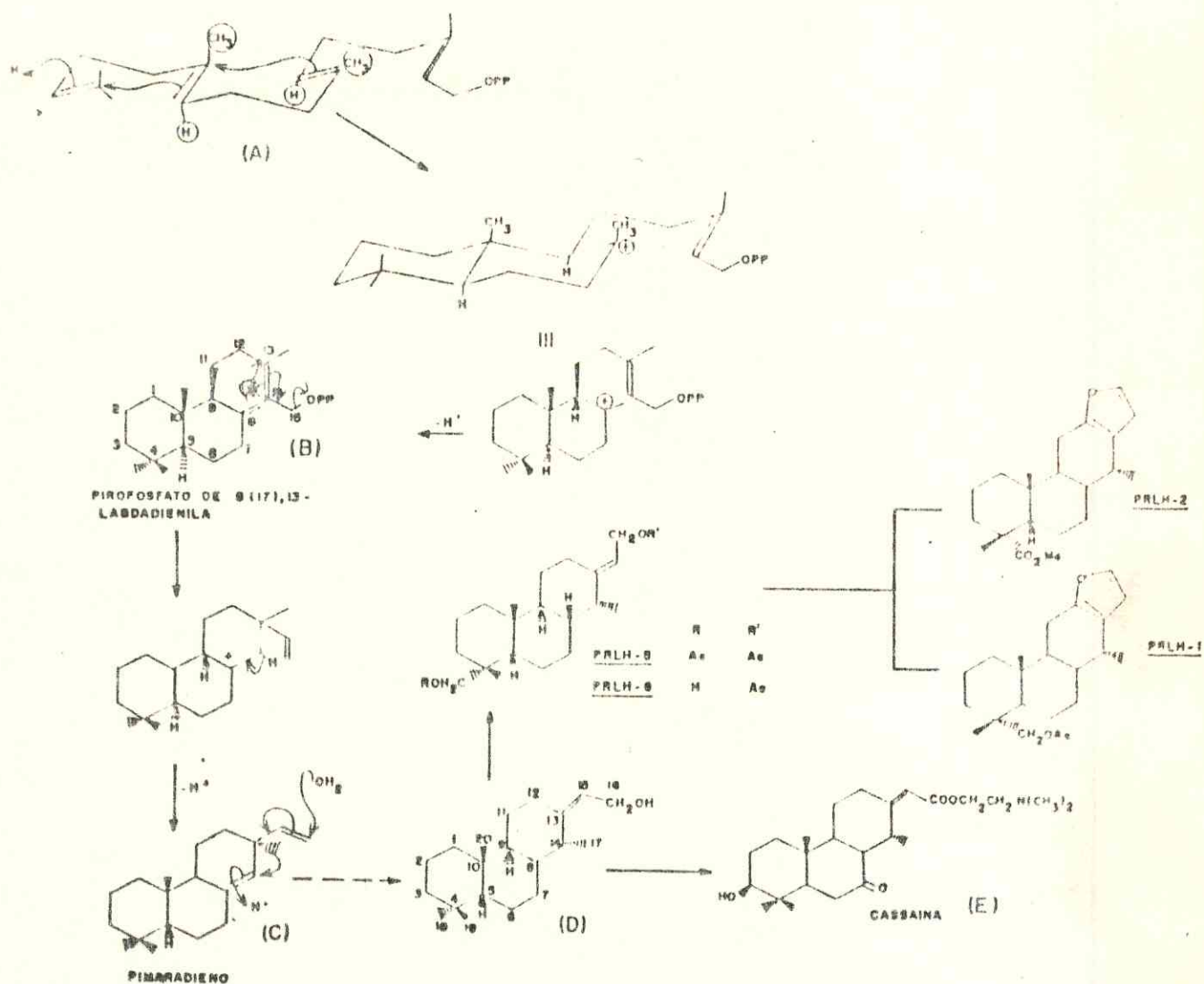


Os flavonóides isolados de Cochlospermum regium se enquadram claramente neste caminho de biossíntese, como era esperado.

## 2. Proposta biogenética dos diterpenos tricíclicos e tetracíclicos com estereoquímica "normal" isolados de Plathymenia reticulata.

Os diterpenos são elaborados a partir do pirofosfato de trans-trans-geranilgeranila. Uma conformação cadeira-cadeira adequada (A) é ciclizada determinando a estereoquímica nos carbonos C-5, C-9 e C-10 trans-anti do intermediário pirofosfato de 8(17)13-labdadienila (B) conforme esquema 23<sup>72-74</sup>. Em seguida, ocorre uma nova ciclização da qual resulta o diterpeno tricíclico pimaradieno (C). O ataque de água à dupla terminal e migração do grupo metila conduz ao tipo cassano (D) que pode originar a cassaina (E)<sup>74</sup>. Pimaradieno e cassaina não foram isolados de Plathymenia reticulata. Oxidação, acetilação da metila C-18 de (D) e isomerização para obtenção da estereoquímica correta fornece as estruturas de PRLH-5 e PRLH-6 (Esquema 24). A estereoquímica destas substâncias, previstas pela biossíntese, está de acordo com os dados espectrais de RMN de prótons e de carbono-13 discutidos no capítulo 1.

## ESQUEMA 24 - Biossíntese de diterpenos do tipo cassânico.

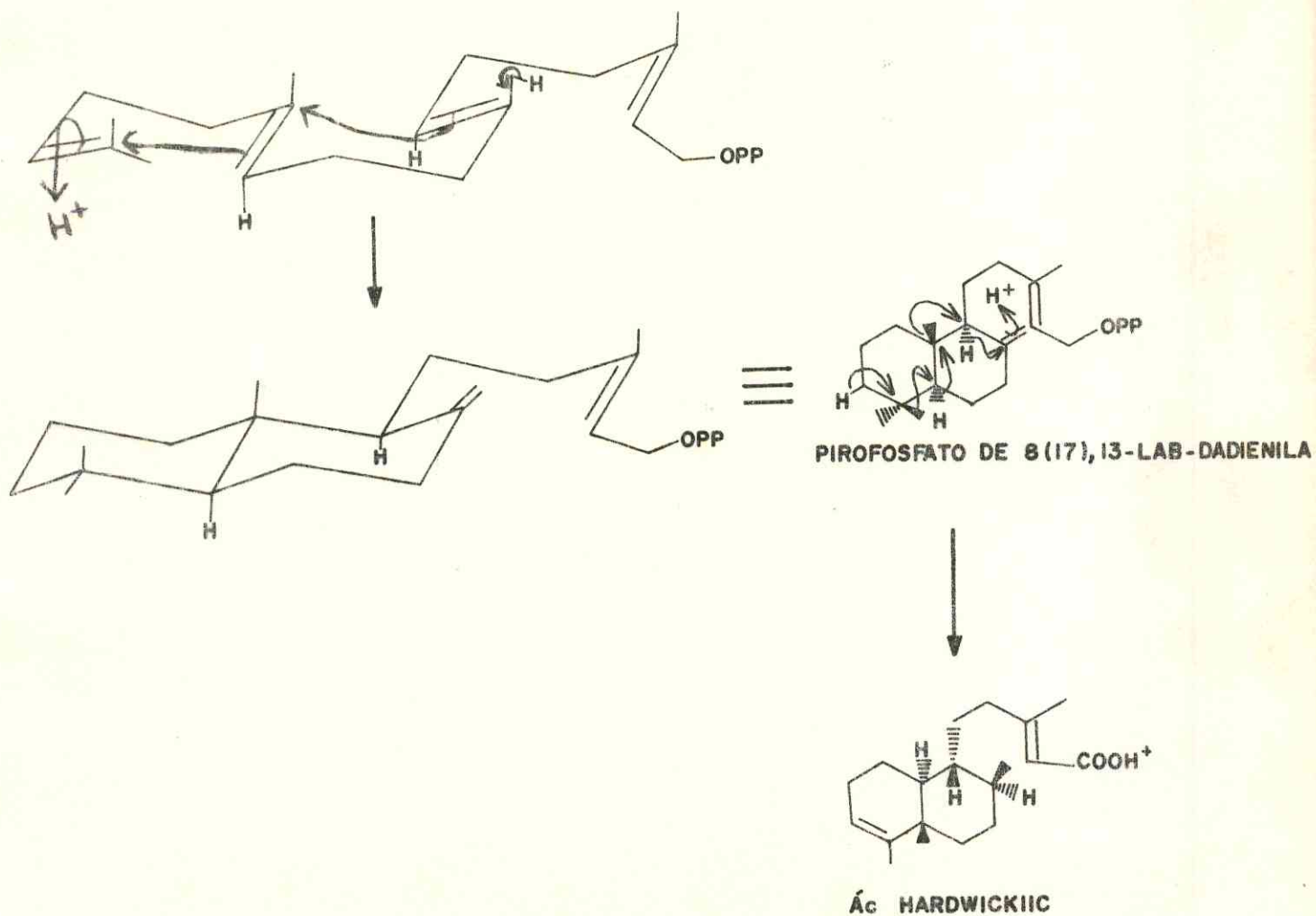


3. Formação biogenética para o diterpeno bicíclico tipo clero-  
dano com estereoquímica "não usual" (PRLH-3) isolado de  
Plathymenia reticulata.

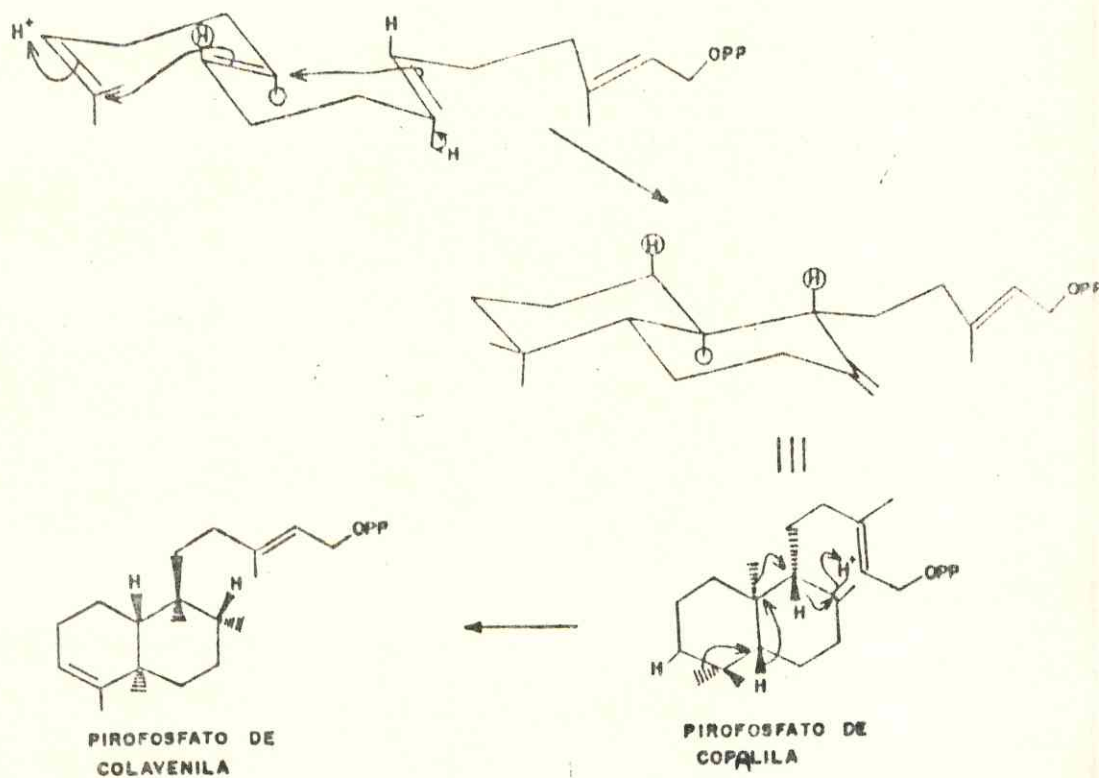
São conhecidos diterpenos do tipo clerodano com estere-  
oquímica "normal" e enantiomérica conforme esquemas 24a e b  
abaixo.

ESQUEMA 25 - Biossíntese de diterpenos do tipo clerodano.

a) Com estereoquímica "normal"<sup>74</sup>.



b) Com estereoquímica "enantiomérica"<sup>74</sup>.





A estrutura de PRLH-3 determinada através de técnicas avançadas de espectroscopia (ver pág. 60) e comparação com dados da literatura, apresenta estereoquímica "não usual" na qual se observa fusão cis para os anéis A:B e os grupos metila nas posições 8 e 9 em trans, em uma situação idêntica ao plathyterpol (53) cuja estrutura foi proposta para PRLH-3. Coincidi também com plathyterpol a rotação específica determinada para PRLH-3,  $[\alpha]_D - 22^\circ$  (Lit.<sup>44</sup>  $-28^\circ$ ).

Não se encontrou na literatura qualquer proposta de biogênese para este tipo de diterpeno

C O N C L U S Ã O

O estudo químico da espécie vegetal Plathymenia reticulata resultou no isolamento de seis substâncias (PRLH-1, PRLH-2, PRLH-3, PRLH-4, PRLH-5 e PRLH-6) enquanto que o estudo químico da espécie Cochlospermum regium forneceu oito substâncias (CR-1, CR-2, CR-3, CR-4, CR-5, CR-6, CR-7-OAc e CR-8-OAc).

As substâncias PRLH-1 e PRLH-2 foram caracterizadas através de métodos espectrométricos (I.V.,  $\text{RMN}^1\text{H}$ ,  $\text{RMN}^{13}\text{C}$  e massa) como acetato de vinhaticila e vinhaticoato de metila, respectivamente. Já a substância PRLH-3, também a partir de dados espectrométricos foi associada a estrutura do plathyterpol.

As substâncias PRLH-1, PRLH-2 e PRLH-3 já foram descritas na literatura como constituintes desta espécie vegetal. Para estas três substâncias foram preparados derivados (hidrólise, redução, hidrogenação, epoxidação e oxidação). Estes derivados assim como os produtos naturais, foram testados quanto as suas atividades antibacterianas e antifúngicas. Em todos os casos uma fraca atividade antimicrobiana foi detectada.

A substância PRLH-5 teve a sua estrutura determinada como 16,18-diacetoxicass-13(15)-eno utilizando técnicas espectrométricas convencionais e modernas técnicas de Ressonância Magnética Nuclear como ADEPT (Automatic Distortionless Enhancement by Polarization Transfer). Através de interconversão química de PRLH-6 [16-hidroxi-18-acetoxicass-13(15)eno] a PRLH-5 e da preparação de derivado comum a estas duas substâncias, por redução com  $\text{LiAlH}_4$ , foi possível propor correlações estruturais entre elas.

De acordo com levantamento bibliográfico, os diter

penos PRLH-5 e PRLH-6 estão sendo descritos pela primeira vez na literatura como produtos naturais. Trabalhos anteriores<sup>19-32</sup> sobre várias espécies do gênero Erythrophleum (Leguminosae) mostraram que este tipo estrutural foi relatado apenas como produto de hidrólise de alcalóides (amidas em C-16).

A espécie Cochlospermum regium forneceu os flavonóides CR-3 (3,5,4, - trihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona) , CR-6 (5,7,4'-trihidroxiflavanona, naringenina); dois triterpenóides CR-1 ( $\beta$ -sitostenona) e CR-2 ( $\beta$ -sitosterol) e o fenol CR-4 (ácido gálico). Além destas substâncias foi isolado o p-hidroxicinamato de triacontanila (CR-5) que, pela primeira vez está sendo descrito na literatura como produto natural.

Um certo número de ésteres do ácido cinâmico substituído, com estruturas semelhantes a CR-5 apresentam atividade contra microorganismos. Um estudo sobre este tipo de atividade será, portanto, realizado com a substância em referência.

Uma outra substância inédita isolada desta espécie ' foi CR-8-OAc.

Os estudos espectrométricos realizados para as substâncias isoladas e seus derivados, especialmente os relativos a PRLH-5, PRLH-6, CR-5 e CR-8-OAc , contribuem para a literatura química fornecendo dados estruturais que poderão servir de padrões a serem utilizados na determinação estrutural de compostos semelhantes que venham a ser isolados.



BIBLIOGRAFIA

- (1) PRISTA, L.N. Anais da Faculdade de Farmácia do Porto, 1956  
16, 105.
- (2) ACHENBACH, H. Pure & Appl. Chem. 1986, 58, 653.
- (3) ASPINALL, G.O.; FRASER, R.N.; SANDERSON, G.R. CHEMICAL  
ABSTRACTS 1965, 63, 11.686g.
- (4) COOK, T.F.; KNOK, J.R. Phytochemistry, 1975, 14, 2510.
- (5) MATOS, F.J.A.; CRAVEIRO, A.A.; MAURERA, M.A.M.A. J. NAT.  
Prod. 1984, 47, 481.
- (6) DUCKE, A. Estudos Botânicos do Ceará. Coleção Mossoroense, Mossoró, Escola Superior de Agricultura 1979, 55.  
Edição facsimilar da separata dos Anais da Academia Brasileira de Ciências. 31(2):211-308, 1959.
- (7) KING, F.E.; KING, T.J.; NEILL, K.G. J.Chem.Soc., 1953.  
1055.
- (8) MATOS FILHO, A. Rodriguésia 1959, 21/22, 45.
- (9) MENDES, F.N.P. Contribuição ao conhecimento químico de  
plantas do Nordeste Dipterix lacunífera Ducke. Tese de  
Mestrado. Universidade Federal do Ceará. Departamento de  
Química Orgânica e Inorgânica. 1987.
- (10) POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. Advances in legumes sistematic  
vol.2, 627, Royal Botanic Gardens, Kew Richmond, England,  
1981.



- (11) PURUSHOTHAMAN, K.K.; KALYANI. K.; SUBRAMANIAN, K. Indian J. Chem , 1974, 12, 903.
- (12) PASCOE, K. D.; BURKE, A. B.; CHAN, W.R. J. NAT. Prod. , 1986, 49, 913.
- (13) MARRAJAN, J. R.; MONTEIRO, M. B. An. Acad. Brasil. Ciênc. , 1970, 42, 103.
- (14) SANTOS, D.; VICHINEWSKI, F. W.; BAKER, P.M. An Acad. Brasil. Ciênc., 1972, 44, 45.
- (15) FASCIO, M.; MORS, W.B.; GILBERT, B.; MARRAJAN, J.R. Phytochemistry, 1976, 15, 201.
- (16) KING, F.E.; GODSON, D.H.; KING, T.J. J. Chem. Soc., 1955, 1117.
- (17) MAURERA, M.A.M.A.; MATOS, F.J.A.; CRAVEIRO, A.A. Anais do VI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 1983 , 81.
- (18) MALING, H.M.; KRAYER, O. Chemical Abstracts, 1964, 60: 2533<sup>(z)</sup>.
- (19) DJALMA, G. Helv. Chim. Acta, 1939, 22, 1497
- (20) BLOUNT, B. K.; OPENSHAW, H. T.; TODD, A.R. J. Chem. Soc. 1940, 286
- (21) SANTI, R.; ZWEIFEL, B. Chemical Abstracts, 1938, 32 , 2219<sup>9</sup>.
- (22) CHEN, K. K.; HARGREAVES, C.C.; WINCHESTER, W.T. Chemistry Abstracts, 1938, 32: 3090<sup>8</sup>.
- (23) COTTEN, M.V.; GOLDBERG, L.I.; WALTON, R.P. Chemical Abstracts, 1951, 47, 768<sup>d</sup>.

- (24) SANTI, R. Chemical Abstracts, 1938, 32, 8000<sup>8</sup>.
- (25) SANTI, R. Chemical Abstracts, 1938, 32: 8000<sup>9</sup>.
- (26) SANTI, R. Chemical Abstracts, 1940, 34: 3367<sup>4</sup>.
- (27) VOGEL, G.; STOECKERT, I.; TERVOOREN, U. Chemical Abstracts, 1967, 66: 9706<sup>Y</sup>.
- (28) SJOERD, L.; BONTING, C. Chemical Abstracts, 1963, 59: 1907<sup>a</sup>.
- (29) SJOERD, L.; HAWKING, M.N. Chemical Abstracts, 1964, 60: 8288<sup>h</sup>.
- (30) FLACKE, W.; Chemical Abstracts, 1959, 54: 8415<sup>C</sup>.
- (31) MASUCCI, P. Chemical Abstracts, 1936, 31: 2687<sup>1</sup>.
- (32) PARIS, R. Chemical Abstracts, 1949, 44: 8101<sup>6</sup>.
- (33) PORTIUS, H.J.; REPKE, K. Chemical Abstracts, 1965, 62: 6972<sup>h</sup>.
- (34) SJDERO, L.; HAWKING, M.N. Chemical Abstracts 1964, 60: 8289<sup>b</sup>.
- (35) KING, F.E.; GODSON, D.H.; KING, T.J. J.Chem.Soc. 1955, 1117.
- (36) SHOOLERY, J.N. J. NAT. Prod., 1984, 47, 226.

- (37) MARRAJAN, J.R.; MONTEIRO, M.B. J.Chem.Soc. Perkin I, 1973, 520.
- (38) SHIMOMURA, H.; SASHIDA, Y.; ORAWA, K. Tetrahedron Letters. 1981, 22, 1367.
- (39) ZECHMEISTER, L.; HERZ, W.; GRISEBACH, H. Progress in the chemistry of organic natural products. 1979, 62, Wien-Spring-warlag. New York,
- (40) STEPHEW, N.G.; CANDELLINA, J.H.. J.NAT. .Prod. 1984, 47, 76.
- (41) BORY, S.; FÉTIZON, M. Mémoires présentés a la société. Chimique, 1964, 3, 570.
- (42) SHAMA, S.C.; TANDON, J.S.; PORTER, B.; MUPPALA, S.R. Phytochemistry, 1984, 24(5), 1194.
- (43) MISRA, R.; PANDEY, R.C.; DEV, S. Tetrahedron Letters, 1964, 49, 3751.
- (44) KING, T.J.; RODRIGO, S. Chem.Comm. 1967, 575.
- (45) KING, T.J.; RODRIGO, S.; WALLWORK, S.C. Chem.Comm. 1969, 683.
- (46) ZECHMEISTER, L.; HERZ, W.; GRISEBACH, A. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, 1979, 56, Wien-Springer-Verlag. New York
- (47) MATHIESON, D.W. J.Chem.Soc. 1970, 1705.
- (48) GRIFFIN, W.J.; PHIPPARD, J.H. Phytochemistry: 1971, 10, 2793.



- (49) CLARKE, R.L. Phytochemistry. 1971, 10, 851.
- (50.) HUFFORD, C.D.; FUNDERBURK, M.J.; MORGAN, J.M. J.Pharm.Sci. 1975, 64, 789.
- (51) CLARK, A.M.; EL-FERALY, F.S.; LI, W.S. J.Pharm.Sci. 1981, 70, 911.
- (52) FIESER, L.F.; FIESER, M. Reagents of organic synthesis 1967, 142, Jonh Wiley & Sons Inc. New York.
- (53) PINHEIRO, J.A. Análise da constituição química da madeira de Maytenus guianensis Klotzch. Belo Horizonte, Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, 1980. Tese de Mestrado.
- (54) MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. 1970. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, New York.
- (55) BETTERHAM, T.S.; HIGHET, R.J., Aust.J.Chem. 1964, 17, 428.
- (56) AMAND, N.K.; GUPTA, S.R. Chemical abstracts. 1962, 57, 13712<sup>a</sup>.
- (57) GEISSMAN, T.A. The chemistry of flavonoids. 1962, 425.
- (58) RIFFITHS, L.A.; SMITH, G.E. Biochem. J. 1972, 130, 141.
- (59) TENAI, B.; MARKHAM, K.R. Tetrahedron, 1976, 32, 565.
- (60) LEVY, G.C. Topics in carbon-13 RMN spectroscopy, 19, 2, 85. Wylley-Interscience Publication.



- (61) INDEX MERCK, 1976, 8386, Merck & Co. Inc. USA.
- (62) FOMUM, Z. T. ; AYAFOR, J. F.; WANDJI, J. Phytochemistry, 1986, 25, 757 .
- (63) BRIGGS, L. H.; COLERBOOK, L. D. Spectrochimica Acta, 1962, 18, 939.
- (64) GUPTA, A. K.; VIDKA PATI, T. J. Indian J. Chem., 1979 , 18, 85
- (65) COTTENTH, P. J. J. Chem. Soc. Perkin I., 1978, 532
- (66) HILLS, W. E.; HORN, D. H. S. Aust.J. Chem. 1965, 18, 531
- (67) PEARL, I. A.; DARLING, S. F. Phytochemistry, 1968, 7, 831
- (68) SIEKEL, M. K.; J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 5685
- (69) HASEGAWA, M.; SHIRATO, T. J. Am. Chem. Soc. 1952, 74, 6144.
- (70) HARBONE, J. B. The flavonoids, 1975, Capítulo 16, 869
- (71) WONG, E. Chem. Comm. 1968, 7, 395
- (72) TORSSELL, K. B. G. Natural product chemistry, 1983 John Wiley & Sons Limited. New York.
- (73) NEWMAN, A. A. Chemistry of terpenes and terpenoids, 1972 Academic Press, London.
- (74) PORTER, J.W., SPURGEON, S.L. Biosynthesis of Isoprenoid Compounds, 1981, John Wiley and Sons, New York.