

EDNA MARIA GONÇALVES DANTAS

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO QUÍMICO
DE PLANTAS DO NORDESTE:
NOVOS DITERPENOS ISOLADOS DE *Croton*
argyrophylloides Muell Arg.

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de
Pós-Graduação em Química Orgânica, como requisito parcial para
obtenção do Grau de Mestre.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - CEARÁ

1987

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

EDNA MARIA GONÇALVES DANTAS

TESE APROVADA EM:

EXAMINADORES

Prof. FRANCISCO JOSÉ QUEIROZ MONTE
ORIENTADOR

Prof. ARNALDO FELISBERTO IMBYRIBA DA ROCHA
Universidade Federal do Amazonas

Prof. CARLOS HUMBERTO SOUZA ANDRADE
Universidade Federal do Ceará

O trabalho apresentado nesta Dissertação foi realizado
sob a orientação do Prof. FRANCISCO JOSÉ QUEIROZ MONTE.

À minha mãe e meu pai "in memoriam".
Ao Marcelo, Lídia e Raquel.

*Se ele for verdadeiramente sábio, não
vos convidará a entrar na mansão de
seu saber, mas vos conduzirá antes ao
limiar de vossa própria mente.*

Gibran Khalil Gibran

AGRADECIMENTOS

Ao Professor FRANCISCO JOSÉ QUEIROZ MONTE, pela orientação, que muito ajudou na realização deste trabalho.

Ao Professor RAIMUNDO BRÁZ FILHO (NPPN-UFRRJ), pela valiosa contribuição na determinação estrutural e obtenção dos espectros de massas.

À Professora TEREZA NEUMA DE CASTRO DANTAS (UFRN), pela amizade, compreensão e estímulo em etapas difíceis durante a realização deste trabalho.

À Professora IVONE MASCARENHAS (I.F.Q. S.Carlos - SP), pela contribuição na obtenção do espectro da difração de Raios X de Ca-29E.

Ao Professor EDILBERTO ROCHA SILVEIRA, pela obtenção de alguns espectros de RMN¹H e RMN¹³C.

Aos Professores dos cursos de pós-graduação que contribuíram para nossa formação acadêmica.

Aos colegas da pós-graduação e do laboratório pela compreensão e amizade.

Aos funcionários do laboratório do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica pelos auxílios prestados nas mais diversas tarefas.

A MARIA VILANIR ALENCAR SILVA e MANOEL DO NASCIMENTO, pela dedicação e paciência que tiveram em datilografar este trabalho.

À CAPES e FINEP pelos auxílios recebidos.

LISTA DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| FIGURA 01. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37E..... | 13 |
| FIGURA 02. Espectro de RMN ¹ H do diterpeno I..... | 14 |
| FIGURA 03. Espectro no I.V. de Ca-37E..... | 15 |
| FIGURA 04. Espectro de massas de Ca-37E..... | 16 |
| FIGURA 05. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-37E..... | 17 |
| FIGURA 05'. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-37E com acoplamento residual..... | 18 |
| FIGURA 06. Espectro de RMN ¹ H do deri- vado I _b | 25 |
| FIGURA 07. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37E Met.Red _{15,18} .. | 26 |
| FIGURA 08. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37 MeCH ₂ N ₂ | 32 |
| FIGURA 09. Espectro no I.V. de Ca-37E MeCH ₂ N ₂ | 33 |
| FIGURA 10. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37E Me..... | 34 |
| FIGURA 11. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37E MeRed ₁₅ | 35 |
| FIGURA 12. Espectro no I.V. de Ca-37E MeRed _{15,18} | 36 |
| FIGURA 13. Espectro de massas de Ca-37E MeRed _{15,18} .. | 37 |
| FIGURA 14. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37E Me Red _{15,18} Acet..... | 38 |
| FIGURA 15. Espectro de RMN ¹ H de Ca-37E H ₂ | 39 |
| FIGURA 16. Espectro de massas Ca-37E H ₂ | 40 |
| FIGURA 17. Espectro de RMN ¹ H de Ca-38E..... | 46 |
| FIGURA 18. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-38E..... | 47 |
| FIGURA 19. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-38E com acoplamento residual..... | 48 |
| FIGURA 20. Espectro de massas de Ca-38E..... | 49 |
| FIGURA 21. Espectro de RMN ¹ H de Ca-38E Me..... | 52 |
| FIGURA 22. Espectro de RMN ¹ H de Ca-38E MeRed..... | 53 |
| FIGURA 23. Espectro de RMN ¹ H de Ca-38E OxiMeRed..... | 54 |
| FIGURA 24. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E..... | 59 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 25. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-29E..... | 60 |
| FIGURA 26. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-29E com acoplamento residual..... | 61 |
| FIGURA 27. Espectro no I.V. de Ca-29E..... | 62 |
| FIGURA 28. Espectro de massas de Ca-29E..... | 63 |
| FIGURA 29. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E com D ₂ O..... | 64 |
| FIGURA 30. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E Red ₃ | 70 |
| FIGURA 31. Espectro de massas de Ca-29E Red ₃ | 71 |
| FIGURA 32. Espectro no I.V. de Ca-29E Red ₃ | 72 |
| FIGURA 33. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E Red ₃ acet..... | 73 |
| FIGURA 34. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E Red ₃ Oxi..... | 75 |
| FIGURA 35. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E Red ₃ OxiOxiMe..... | 76 |
| FIGURA 36. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E Red _{3,12} | 78 |
| FIGURA 37. Espectro no I.V. de Ca-29E Red _{3,12} | 79 |
| FIGURA 38. Espectro de massas de Ca-29E Red _{3,12} | 80 |
| FIGURA 39. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E Red _{3,12} acet..... | 81 |
| FIGURA 40. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E H ₂ | 85 |
| FIGURA 41. Espectro de massa de Ca-29E H ₂ | 86 |
| FIGURA 42. Espectro de RMN ¹³ de Ca-29E Red ₃ desa- coplado e com acoplamento residual..... | 92 |
| FIGURA 43. Espectro de RMN ¹³ C de Ca-29E Red ₃ e espec- tro com expansão parcial..... | 93 |
| FIGURA 44. Desenho estereoscópico de Ca-29E..... | 94 |
| FIGURA 45. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E Me.... | 128 |
| FIGURA 46. Espectro de massas de Ca-37 Me..... | 129 |
| FIGURA 47. Espectro de massas de Ca-37E MeCH ₂ N ₂ | 130 |
| FIGURA 48. Espectro de massas de Ca-37E MeRed ₁₅ | 131 |
| FIGURA 49. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E MeRedAcet..... | 132 |
| FIGURA 50. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E H ₂ | 133 |

| | Página |
|--|--------|
| FIGURA 51. Espectro de absorção no I.V. de Ca-38E..... | 134 |
| FIGURA 52. Espectro de absorção no I.V. de Ca-38E Me.... | 135 |
| FIGURA 53. Espectro de massas de Ca-38E Me..... | 136 |
| FIGURA 54. Espectro de massas de Ca-29E Red ₃ acet..... | 137 |
| FIGURA 55. Espectro de RMN ¹ H de Ca-29E (Expansão dos sinais do prótons furânicos)..... | 138 |
| FIGURA 56. Espectro de absorção no UV de Ca-29E..... | 139 |

LISTA DE TABELAS

| Tabela | Página |
|--|--------|
| 01. Deslocamentos químicos dos carbonos de Ca-37E registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna..... | 9 |
| 02. Deslocamentos químicos de RMN^{13}C para Ca-37E e diterpenos descritos na literatura..... | 10 |
| 03. Deslocamentos químicos de RMN^{13}C para Ca-37E e diterpenos pimaranos descritos na literatura... | 11 |
| 04. Deslocamentos químicos (δ) de Me-4 em Ia, Ib, XIIIa e XIIIb..... | 24 |
| 05. Deslocamentos químicos dos carbonos (δ) de Ca-38E registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna..... | 45 |
| 06. Deslocamentos químicos dos carbonos (δ) de Ca-38E registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna..... | 45 |
| 07. Deslocamentos químicos dos carbonos de Ca-29E, registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna..... | 55 |
| 08. Comparação dos dados de RMN^1H e ^{13}C da Ca-29E e de modelos descritos na literatura..... | 57 |
| 09. Deslocamentos químicos dos carbonos do anel A e de Ca-29E e de modelos XXXII, XXXIII, XXXIV e XXXV descritos na literatura..... | 67 |
| 10. Deslocamentos químicos (δ) dos carbonos de Ca-29E comparados com os modelos, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX, XXX, XXXII, XXXIII, XXXIV, XXXV e Ca-29E Red_3 | 89 |

LISTA DE QUADROS

| Quadro | Página |
|---|--------|
| 01. Reações de conversão dos diterpenos I e XIII nos álcoois Ib e XIIIb respectivamente..... | 21 |
| 02. Reações de XIII com diazometano..... | 28 |
| 03.. Reação de redução seletiva de XIII, seguida de metilação..... | 29 |
| 04. Reações de conversão do éster metílico XVI no diacetato..... | 31 |
| 05. Hidrogenação catalítica de XIII..... | 31 |
| 06. Transformações químicas de Ca-38E..... | 50 |
| 07. Transformações químicas de Ca-29E..... | 68 |
| 08. Redução dos grupos carbonila de Ca-29E e ace- titação do produto reduzido..... | 77 |
| 09. Conversão do anel furânico de Ca-29E em tetra- hidrofurânico..... | 84 |

LISTA DE ESQUEMAS

| Esquema | Página |
|---|--------|
| 01. Principais caminhos de fragmentações de Ca-37E no espectrômetro de massa..... | 19 |
| 02. Principais caminhos de fragmentações de Ca-37E MeRed ^{15,18} no espectrômetro de massa..... | 41 |
| 03. Principais caminhos de fragmentação de Ca-37E H ₂ no espectrômetro de massa..... | 42 |
| 04. Principais caminhos de fragmentação de Ca-29E no espectrômetro de massa..... | 65 |
| 05. Principais caminhos de fragmentações de Ca-29E Red ₃ no espectrômetro de massa | 74 |
| 06. Principais caminhos de fragmentações de Ca-29E Red _{3,12} no espectrômetro de massa..... | 82 |
| 07. Principais caminhos de fragmentação de Ca-29E H ₂ no espectrômetro de massa | 87 |
| 08. Proposta biogenética de formação dos diterpenos Ca-37E (XIII) e Ca-38E (XX)..... | 96 |
| 09. Proposta biogenética de formação do sistema carbocíclico encontrada na Ca-29E (XLV)..... | 97 |
| 10. Proposta biogenética para hidroxilação dos átomos de carbono 3 e 4 do diterpeno Ca-29E (XLV)..... | 97 |
| 11. Proposta biogenética para formação do anel furânico de Ca-29E (XLV)..... | 98 |
| 12. Isolamento dos constituintes fixos da cas- ca da raiz..... | 106 |
| 13. Isolamento dos constituintes fixos da cas- ca do caule..... | 108 |
| 14. Isolamento dos constituintes fixos do le- nho do caule..... | 109 |

RESUMO

Dos extratos hexânico e etanólico da casca da raiz, da casca do caule e do lenho do caule do *Croton argyrophyllloides* Muell Arg. foram isolados dois diterpenos inéditos: Ca-37E [(ácido Caur(15)-ceto(16)-en(18)-oico)] do tipo caurano e Ca-29E [16 epoxi clerodan(3,12)-di-ceto (13,14)-dien(4)-01], um diterpeno labdano modificado, ou seja, do tipo clerodano.

Outro diterpeno, Ca-38E [(ácido Caur(16)-en(18)-(oico)] foi também isolado.

As estruturas foram determinadas a partir da análise dos espectros de RMN¹³C, RMN¹H, I.V, U.V e de massas das substâncias naturais e de seus derivados.

Ca-29E apresentou forte atividade antibiótica contra *pseudomona* e Ca-37E contra *Bacillus subtilis* e *Estafilococos aureus*.

ABSTRACTS

From the hexanic and ethanolic extracts of the root bark, stems bark and xylem of croton *Argyrophyloides* Muell Arg were isolated two new diterpenes one of the caurane type Ca-37E [15-oxo-kaur (16) - en (18) oic acid] and another of the clerodane type a modified labdane diterpene Ca-29E [16-epoxi clerodan (3,12) - di-oxo (13,14) dien (4)-ol].

The known diterpene Ca-38E [kaur (16)-en (18) oic acid] was also isolated. Structural determination was done, by analyses of the NMR¹H, NMR¹³C, I.R.U.V. and MS spectra of natural substances and its derivatives.

Ca-29E showed strong antibiotic activity toward *Pseudomonas* and Ca-37E toward *B. subtilis* and *E. aureus*.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|--------|
| AGRADECIMENTOS..... | VII |
| LISTA DE FIGURAS..... | VIII |
| LISTA DE TABELAS..... | XI |
| LISTA DE QUADROS..... | XII |
| LISTA DE ESQUEMAS..... | XIII |
| RESUMO..... | XIV |
| ABSTRACTS..... | XV |
| CAPÍTULO I | |
| INTRODUÇÃO..... | I |
| CAPÍTULO II | |
| DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES FIXOS DA PLANTA..... | 5 |
| 2.1. Determinação estrutural de Ca-37E..... | 6 |
| 2.2. Determinação estrutural de Ca-38E..... | 44 |
| 2.3. Determinação estrutural de Ca-29E..... | 55 |
| 2.4. Considerações estereoquímicas sobre a Ca-29E e derivados..... | 88 |
| CAPÍTULO III | |
| CONSIDERAÇÕES SOBRE A BIOSÍNTESE DOS CONSTITUINTES: Ca-37E, Ca-38E, Ca-29E..... | 95 |
| CAPÍTULO IV | |
| CONCLUSÃO..... | 99 |

| | Página |
|---|--------|
| CAPÍTULO V | |
| PARTE EXPERIMENTAL..... | 102 |
| 5.1. Introdução..... | 103 |
| 5.2. Estudo dos constituintes fixos..... | 105 |
| 5.2.1. Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes da casca da raiz..... | 105 |
| 5.2.2. Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes da casca da raiz..... | 107 |
| 5.2.3. Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes do lenho do caule..... | 109 |
| 5.2.4. Dados espectrométricos dos constituintes isolados Ca-37E, Ca-38E, Ca-29E..... | 110 |
| 5.3. Obtenção dos derivados e respectivos dados es- pectrométricos..... | 115 |
| 5.3.1. Ca-37E..... | 117 |
| 5.3.2. Ca-38E..... | 118 |
| 5.3.3. Ca-29E..... | 121 |
| CAPÍTULO VI | |
| 6.1. Anexos..... | 127 |
| 6.2. Referências bibliográficas..... | 140 |

CAPÍTULO I
INTRODUÇÃO

A família Euforbiáceas é formada por 300 gêneros e 7.000 espécies. Está distribuída em todo mundo, principalmente nas regiões tropicais. O nordeste brasileiro, possui uma flora constituída de muitos representantes.

Entre as espécies pertencentes a esta família, diversas plantas do gênero Croton, conhecidas como marmeleiros, velames e canelas silvestres, são as que formam um dos maiores grupos existentes no nordeste. Dos representantes deste grupo temos interesse especial nos marmeleiros, que são arvoretas de até 4m de altura, eretos, pouco ramificados, que tem ocorrência no nordeste nas seguintes espécies:

- Croton aff. nepetifolius*, Baill
- Croton sonderianus*, Muell. Arg.
- Croton jacobinensis*, Baill
- Croton argyrophyllloides* Muell Arg.
- Croton compressus*, Lam
- Croton argyrophyllloides* Muell. Art.

Croton argyrophyllloides, popularmente conhecido como "marmeleiro prateado" é um arbusto de ramos delgados, cilíndricos, cinerescentes, escabros, sendo porém os mais novos compresso na parte superior.

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

Pecíolo varia de 5 a 10mm, aproximadamente mais breve que o limbo 5 a 10 vezes. Espátulas são lanceoladas de margem recurvada, muito caducas.

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

Flores femininas com ovário lepidoto encimado por estilete duas vezes profundamente fendido, cálice obtusamente anguloso de lácimos ovais. Flores masculinas de mais ou menos 3 a 3,5mm de envergadura encenando pétalas ovais ou elípticas de dorso lepidoto e cerca de 15 estames com os filetes pubescentes em toda a extensão.

Estudos realizados sobre os constituintes isolados de Croton, mostrou grande variação no bioquismo de suas espécies, para cuja compreensão se fazem necessário novos estudos sobre a constituição química de um número bem maior de espécies deste complexo gênero. No laboratório de Química Orgânica da UFC desde 1979 têm sido desenvolvidos vários trabalhos sobre a constituição química de algumas plantas do gênero Croton: do marmeleiro sabiã, Croton aff nepetifolius, Baill foram isolados alguns alil benzenos, acetofenonas e no óleo essencial identificados vários monoterpenos^(1,2). Do marmeleiro preto, Croton sonderianus, Muell Arg. foram isolados diterpenos do tipo clerodano e do tipo cleistanânico e cumarinas. O óleo fixo apresentou β -sitosterol como componente principal do insaponificável e glicerídeos dos ácidos palmítico, oleico, linoleico, esteárico, isoesteárico, linolênico e araquídico. Do óleo essencial foram identificados monoterpenos e sesquiterpenos^(3,4). Do marmeleiro prateado, Croton argrophylloides foram isolados dois diterpenos do tipo abietano, e do

Óleo essencial identificados monoterpenos e sesquiterpenos^(5,6). Devido o estudo químico desta planta ter sido parcial, e mediante a oportunidade de se trabalhar com maior quantidade de material, optamos por fazer um estudo mais completo, incluindo o desenvolvimento de métodos espectroscópicos na determinação estrutural das substâncias isoladas.

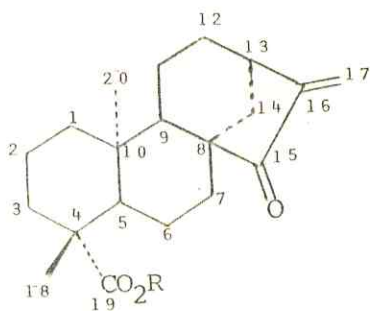
O exemplar estudado desta espécie foi coletado em Viçosa-Ceará e está catalogado no herbário Prisco Bezerra- EAC-Nº 3088 e EAC-Nº 10414 da Universidade Federal do Ceará.

Os extratos etanólicos e hexânicos da casca da raiz, da casca do caule e do lenho do caule foram fracionados e deles isolados quatro substâncias, dentre elas, duas são inéditas, que foram caracterizadas com base em métodos espectroscópicos convencionais, cujos detalhes serão discutidos no capítulo seguinte.

CAPÍTULO II

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES FIXOS DA PLANTA

Um tipo estrutural de diterpeno caurânico natural (I) tornou-se bastante conhecido, sendo registrado em plantas dos gêneros *Xilôpia*^(7,8), *Annona*⁽⁹⁾, *Enhydra*⁽¹⁰⁾ e *Espeletia*⁽¹¹⁾, juntamente com o respectivo éster metílico II⁽⁸⁾. Um constituinte semelhante a I, Ca-37E, foi isolado dos extratos hexânico e etanólico do caule e das raízes de *Croton argyrophyllodes*.



(I) R = H

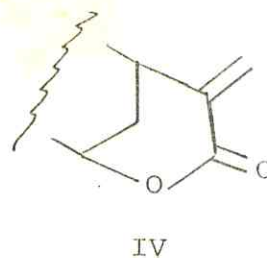
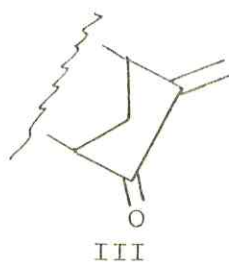
(II) R = CH₃

O reconhecimento deste esqueleto molecular decorreu da observação dos mesmos deslocamentos químicos dos singletos largos (Ha-17 e Hb-17) registrados nos espectros de RMN¹H das substâncias I, II e Ca-37E (Fig. 1, pág.13), caracterizando uma ligação dupla carbono-carbono exocíclica conjugada com uma carbonila.

Além disso, a reação de Ca-37E com excesso de diazometano produziu não somente o éster metílico esperado, mas também o produto de ciclo adição do reagente à ligação dupla do substrato natural (Quadro 2, pág. 23), como observado comumente com compostos contendo ligação dupla carbono-carbono ativadas por conjugação com grupos carbonila. Resultados análogos foram obtidos com diterpenos tetracíclicos isolados desta mesma planta⁽⁵⁾.

A comparação dos espectros de RMN¹H (Fig. 2, pág.14) de I e Ca-37E (Fig. 1, pág.13) evidenciou absorções características: dois singletos largos em 5,26δ (Hb-17) e 5,96δ (Ha-17), um sinal largo em 3,05δ (H-13) e um multipletto em 2,48δ (Heq-14). Estes sinais permitiram deduzir que Ca-37E possui em sua estrutura um

sistema de ligação dupla carbono-carbono conjugada com uma carbonila, III ou IV, como observado nos diterpenos caurânicos^(7,8,9,10,11) ou labdânicos^(5,6).



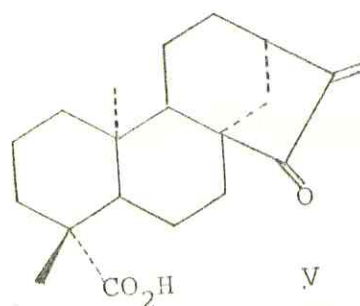
Os deslocamentos químicos dos prótons vînilicos exocíclicos são explicados pela desproteção exercida pela conjugação com a carbonila (efeito mesomérico e pelo efeito anisotrópico do grupo carbonila). A não equivalência destes prótons decorre da posição da carbonila no C-15, sendo que o próton cis em relação ao grupo carbonila sofre maior efeito de desproteção anisotrópica, justificando a ressonância em campo mais baixo.

As absorções no espectro I.V. (Fig. 3, pág. 15) em 1718cm^{-1} e 1640cm^{-1} , correlacionadas com os estiramentos da carbonila cetônica ou lactônica e da ligação dupla carbono-carbono, respectivamente, são satisfatoriamente atendidas pelos sistemas incorporados em III e IV. A banda larga, típica de ácidos carboxílicos (entre 2.500 e 3.500cm^{-1}), no espectro no I.V. de Ca-37E sugeriu a existência de grupo carboxila, confirmado pelo sinal forte em 1685cm^{-1} atribuído ao estiramento da carbonila. A presença de grupo carboxila no carbono 4 de diterpenos (caurânicos, labdânicos, pimarânicos) é relativamente comum.

O espectro de massas (Fig. 4, pág. 16) (Esquema 1, pág. 19), forneceu peso molecular 316μ para a Ca-37E e permitiu deduzir uma fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$. O número de átomos de oxigênio excluiu o anel lactônico inserido na unidade estrutural IV. O pico em m/z 148, correspondente ao fragmento de fórmula $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}^+$ formac

pela ruptura das ligações C_9/C_{10} e C_6/C_7 ⁽⁶⁾, confirmou a presença da carbonila no C-15 e constituiu mais um argumento em favor da unidade III.

Com base no exposto, tornou-se possível propor para a Ca-37E a estrutura V.



O espectro de RMN¹³C (Fig.5, pág.17), registrado com desacoplamento de prótons, revelou 20 picos, dois dos quais em campo baixo (210,1 e 185,3δ). A presença destes dois picos confirmou a existência dos dois grupos C=O sugeridos pela espectrometria na região do I.V. A análise comparativa com o espectro contendo acoplamento residual (Fig.5', pág.18) possibilitou deduzir o número de carbonos primários, secundários, terciários e quaternários (Tabela 1, pág.9), confirmando a fórmula molecular $C_{20}H_{28}O_3$. Os deslocamentos químicos dos carbonos foram assinalados por comparação com dados espectrais descritos para diterpenos cauranos e pimaranos, tais como II, VI, VII, VIII^(17, 18) (Tabela 2, pág.10) IX, X, XI e XII^(19, 20, 21) (Tabela 3, pág. 11), observando-se a multiplicidade dos sinais e as conhecidas regras utilizadas para avaliação dos deslocamentos químicos.

Tabela 1 - Deslocamentos químicos dos carbonos (δ) de Ca-37E registrados em $CDCl_3$ e TMS como referência interna.

| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|----------------------------|-------|-----------------|-----------------|
| 210,40 (CO ₂ H) | 52,40 | 114,80 | 17,50 |
| 185,00 (C=O) | 49,30 | 38,70 | 16,10 |
| 149,30 | 38,10 | 36,80 | |
| 52,70 | | 36,60 | |
| 47,60 | | 33,00 | |
| 39,50 | | 32,30 | |
| | | 21,70 | |
| | | 18,00 | |
| | | 17,80 | |

C₆H₉O₃

C₃H₃

C₉H₁₈

C₂H₆
C₂₀H₂₈O₃

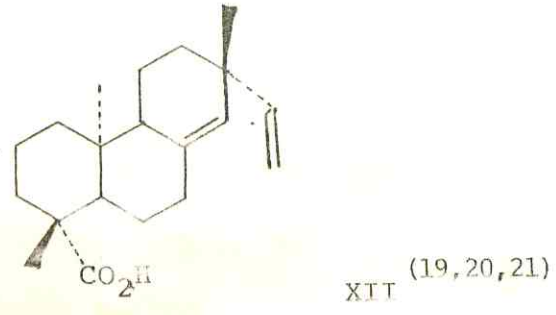
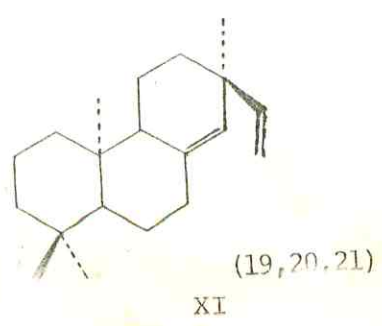
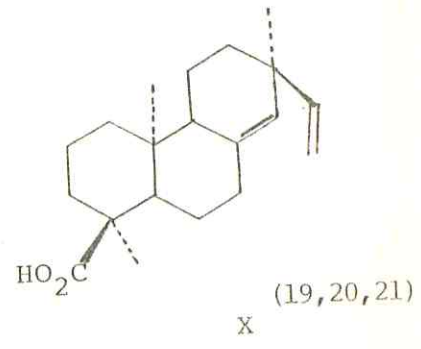
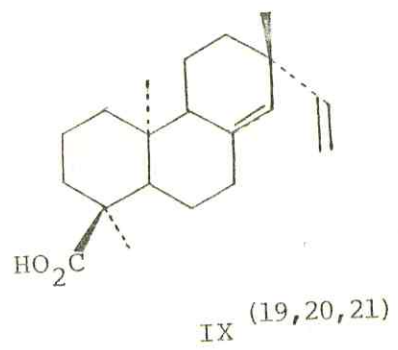
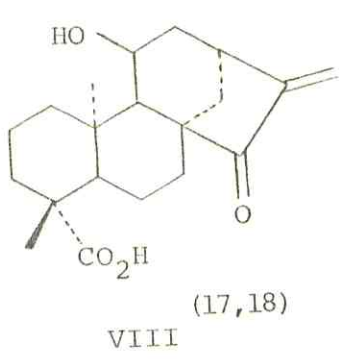
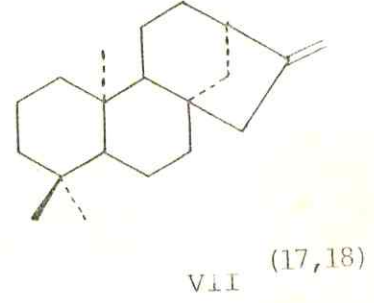
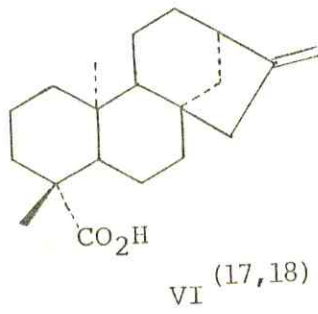
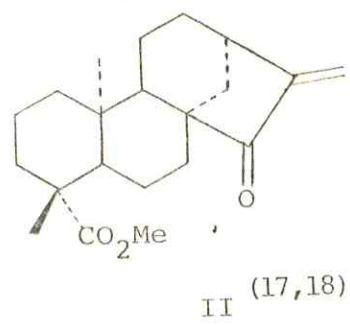


Tabela 2 - Deslocamentos químicos de RMN¹³C para Ca-37E e diterpenos descritos na literatura.

| Carbono | II | VI | VII | VIII | V | XIII |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | 39,90 | 41,10 | 40,50 | 40,20 | 38,70 | 38,70 |
| 2 | 18,80 | 19,60 | 18,70 | 19,60 | 18,00 | 18,00 |
| 3 | 38,00 | 38,60 | 42,10 | 38,50 | 36,80 | 36,80 |
| 4 | 43,70 | 43,80 | 33,30 | 43,90 | 47,60 | 47,60 |
| 5 | 56,10 | 57,10 | 56,30 | 56,40 | 49,30 | 49,30 |
| 6 | 20,00 | 22,50 | 20,30 | 20,90 | 21,70 | 21,70 |
| 7 | 36,40 | 41,50 | 41,30 | 37,30 | 36,60 | 36,60 |
| 8 | 52,30 | 44,40 | 44,30 | 51,00 | 52,70 | 52,70 |
| 9 | 51,50 | 55,20 | 56,10 | 63,30 | 52,40 | 52,40 |
| 10 | 40,60 | 39,90 | 39,40 | 39,30 | 39,50 | 39,50 |
| 11 | 18,20 | 18,60 | 18,20 | 65,30 | 17,80 | 17,80 |
| 12 | 32,10 | 33,30 | 33,30 | 41,60 | 32,30 | 32,30 |
| 13 | 38,00 | 44,20 | 44,00 | 37,80 | 38,10 | 38,10 |
| 14 | 33,60 | 39,90 | 39,90 | 34,90 | 33,00 | 33,00 |
| 15 | 210,30 | 49,20 | 49,20 | 208,80 | 210,40 | 210,40 |
| 16 | 149,40 | 155,70 | 156,00 | 151,90 | 149,30 | 149,30 |
| 17 | 114,20 | 103,80 | 102,80 | 110,80 | 114,80 | 114,80 |
| 18 | 28,50 | 29,30 | 33,70 | 29,30 | 17,50 | 185,00 |
| 19 | 177,70 | 179,90 | 21,70 | 179,90 | 185,00 | 17,50 |
| 20 | 15,30 | 16,00 | 17,60 | 16,00 | 16,10 | 16,10 |

Tabela 3 - Deslocamentos químicos de RMN¹³C para Ca-37E e diterpenos pimaranos descritos na literatura.

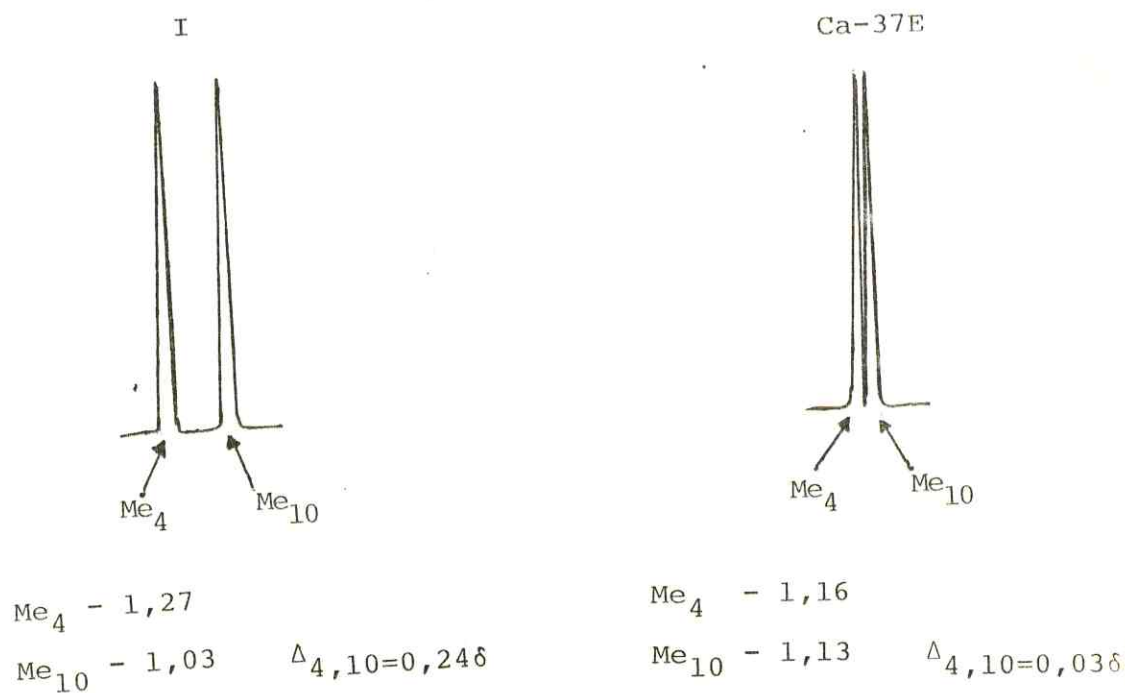
| Carbono | IX | X | XI | XII | V | XIII |
|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | 38,43 | 38,60 | 39,70 | 39,30 | 38,70 | 38,70 |
| 2 | 18,30 | 18,50 | 19,40 | 19,30 | 18,00 | 18,00 |
| 3 | 37,10 | 37,50 | 42,50 | 38,00 | 36,80 | 36,80 |
| 4 | 47,20 | 47,60 | 33,50 | 44,10 | 47,60 | 47,60 |
| 5 | 48,70 | 49,10 | 55,20 | 56,20 | 49,30 | 49,30 |
| 6 | 24,90 | 25,50 | 22,90 | 24,20 | 21,70 | 21,70 |
| 7 | 35,50 | 35,80 | 36,30 | 35,80 | 36,60 | 36,60 |
| 8 | 136,20 | 138,50 | 138,80 | 137,90 | 52,70 | 52,70 |
| 9 | 50,70 | 51,90 | 51,80 | 50,60 | 52,40 | 52,40 |
| 10 | 37,80 | 38,10 | 38,80 | 39,30 | 39,50 | 39,50 |
| 11 | 18,80 | 19,50 | 19,10 | 19,60 | 17,80 | 17,80 |
| 12 | 34,60 | 36,00 | 36,30 | 36,50 | 32,30 | 32,30 |
| 13 | 37,40 | 39,00 | 38,80 | 38,50 | 38,10 | 38,10 |
| 14 | 129,30 | 128,20 | 128,10 | 128,00 | 33,00 | 33,00 |
| 15 | 149,00 | 147,80 | 147,70 | 147,20 | 210,00 | 210,00 |
| 16 | 110,50 | 113,20 | 112,90 | 112,90 | 149,30 | 149,30 |
| 17 | 26,20 | 29,90 | 29,80 | 29,40 | 114,80 | 114,80 |
| 18 | 185,30 | 185,70 | 34,50 | 29,20 | 17,50 | 185,00 |
| 19 | 16,80 | 17,60 | 22,50 | 184,50 | 185,00 | 17,50 |
| 20 | 15,30 | 15,40 | 14,90 | 13,90 | 16,10 | 16,10 |

Comparando-se os dados referentes ao anel A de VI e V (Tabela 2) observou-se diferenças significativas nos deslocamentos químicos dos carbonos 1,3,4,5,6 e 10. Como pode ser visto na Tabela 2 (pág.10), os deslocamentos químicos dos carbonos dos compostos II, VI, VII, VIII e V são praticamente idênticos, excetuando-se os correspondentes aos carbonos 1,3,4,5,6 e 10, e aqueles cujas diferenças são previsíveis em consequência de substituintes (OH ou C=O por exemplo).

A comparação dos espectros de RMN¹H de I (Fig.2, pág.14)

e de Ca-37E (Fig.1, pág.13) revelou uma característica que mereceu atenção especial. A diferença entre os deslocamentos químicos dos dois sinais simples de grupos metila da substância I mostrou-se significativamente distinta daquela observada no caso da Ca-37E (V).

Em função destas observações deduziu-se que o grupo carboxila do carbono-4 de Ca-37E ocupa orientação equatorial, este reoquímica diferente da observada nos diterpenos de I, II, VI, VIII e XII, nos quais este grupo é axial e semelhante aos diterpenos IX e X.



O Me-4 de I, sendo equatorial, revela maior deslocamento químico que o Me-4 axial de Ca-37E. Por outro lado, o Me-10 de I sofre pequena proteção por ação do grupo $\text{HO}_2\text{C}-4$ axial. Assim pode-se justificar a separação relativamente grande entre os sinais de absorção dos grupos metila de I, o que não se observa no caso de Ca-37E.

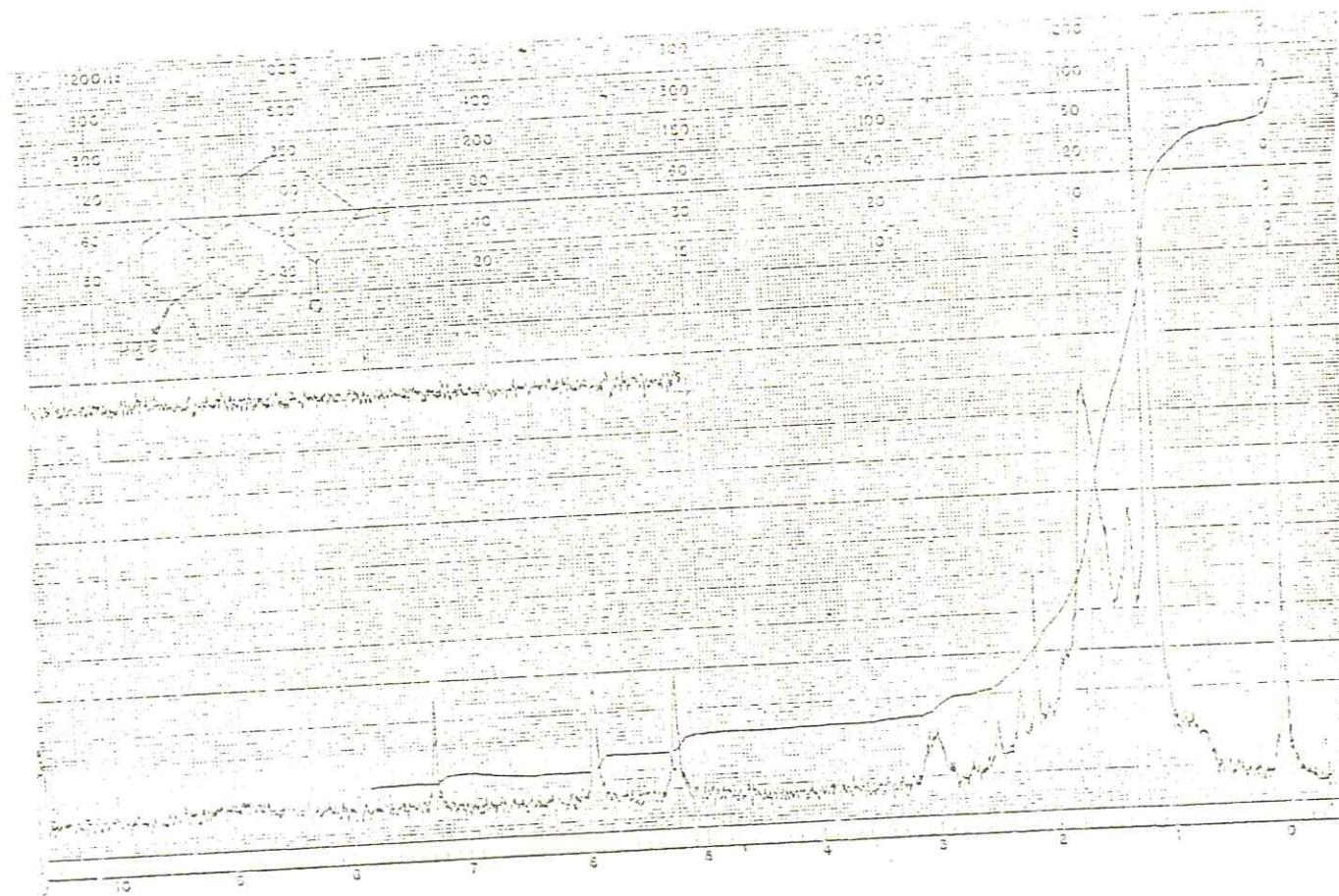


FIGURA 1. Espectro de RMN¹H de Ca-37E.
(60MHz, CDCl₃, δ).

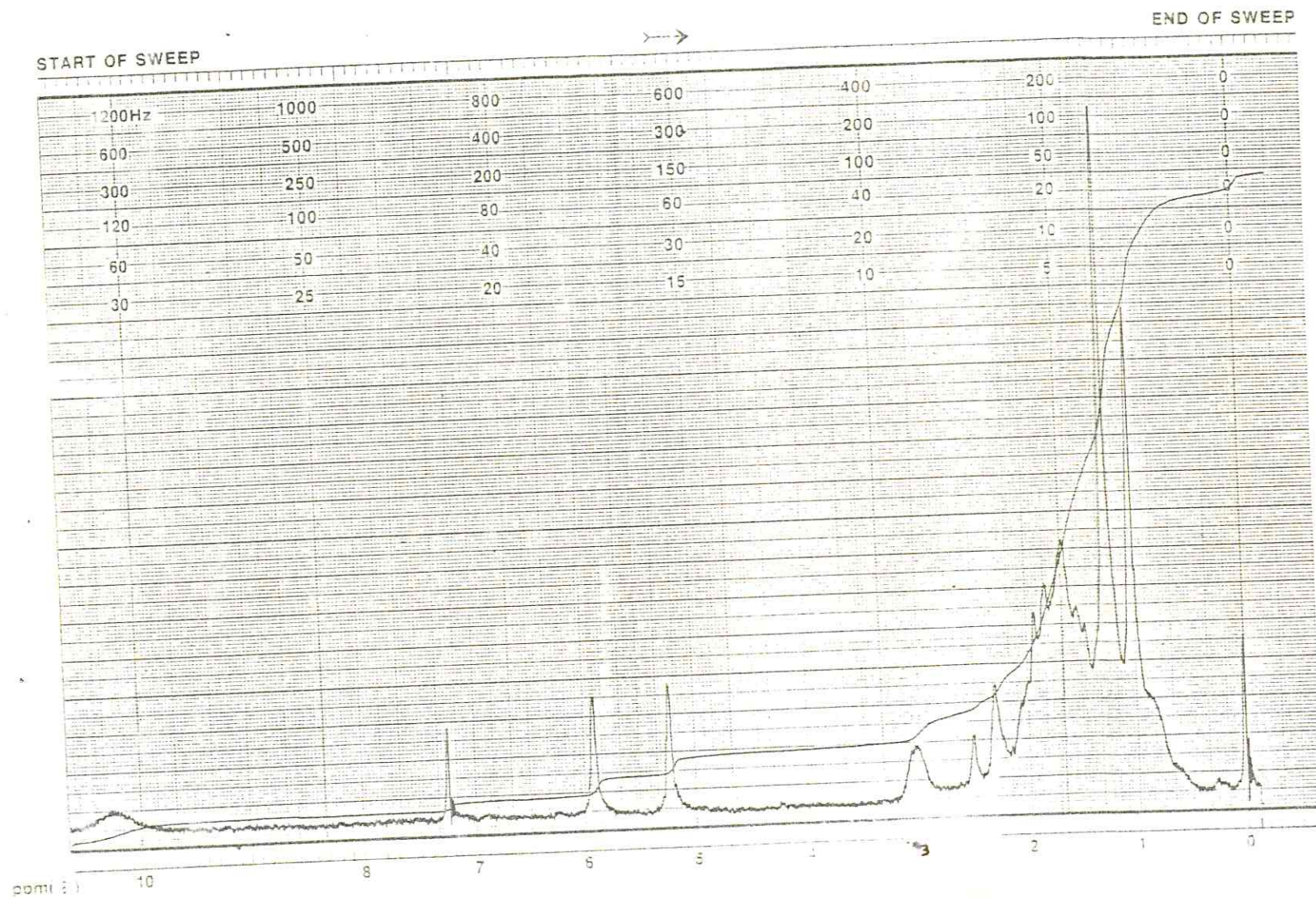


FIGURA 2. Espectro de RMN¹H do diterpeno I
(60MHz, CDCl₃, δ).



FIGURA 3. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E.
(KBr).

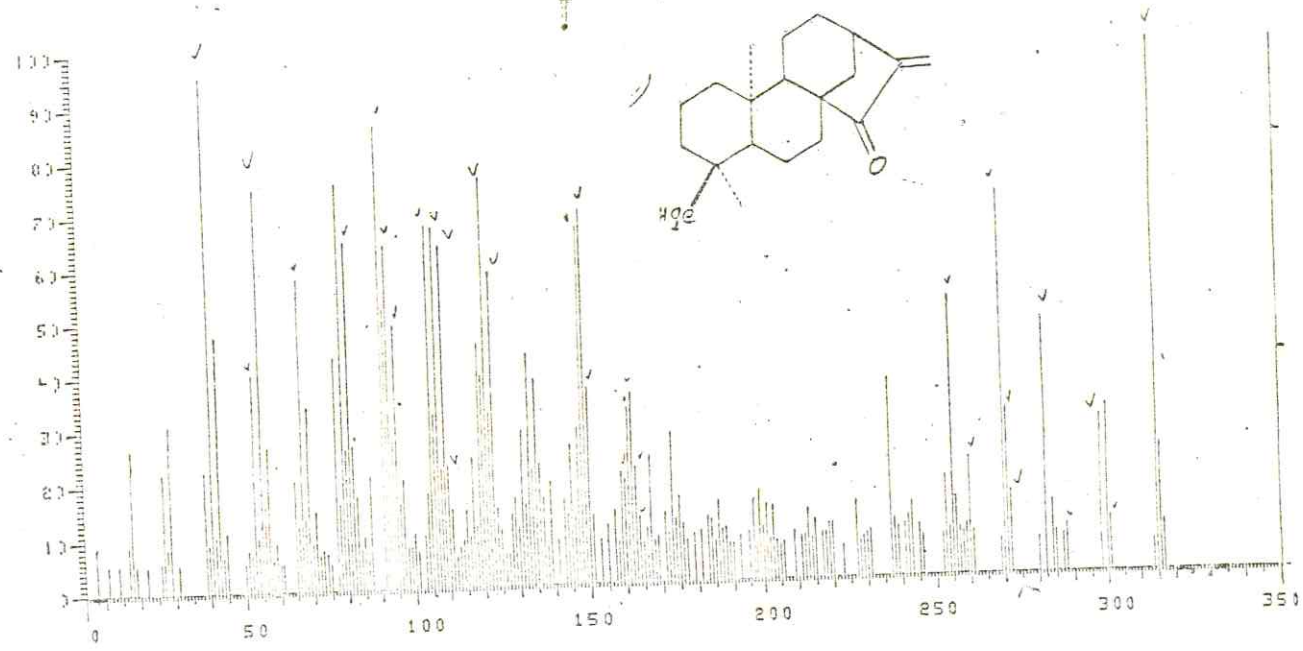


FIGURA 4. Espectro de massa de Ca-37E.

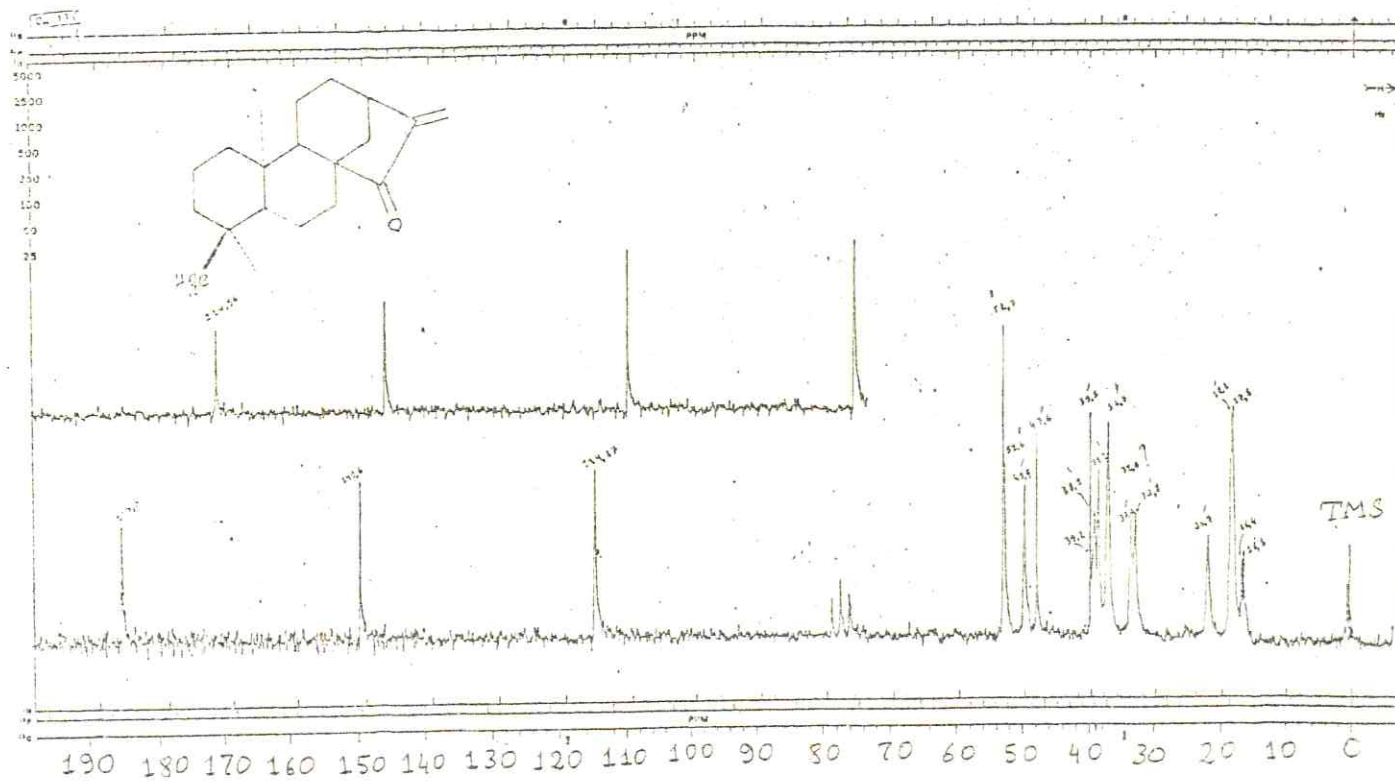


FIGURA 5. Espectro de RMN ^{13}C de Ca-37E.
(25.2MHz, CDCl_3 , δ).

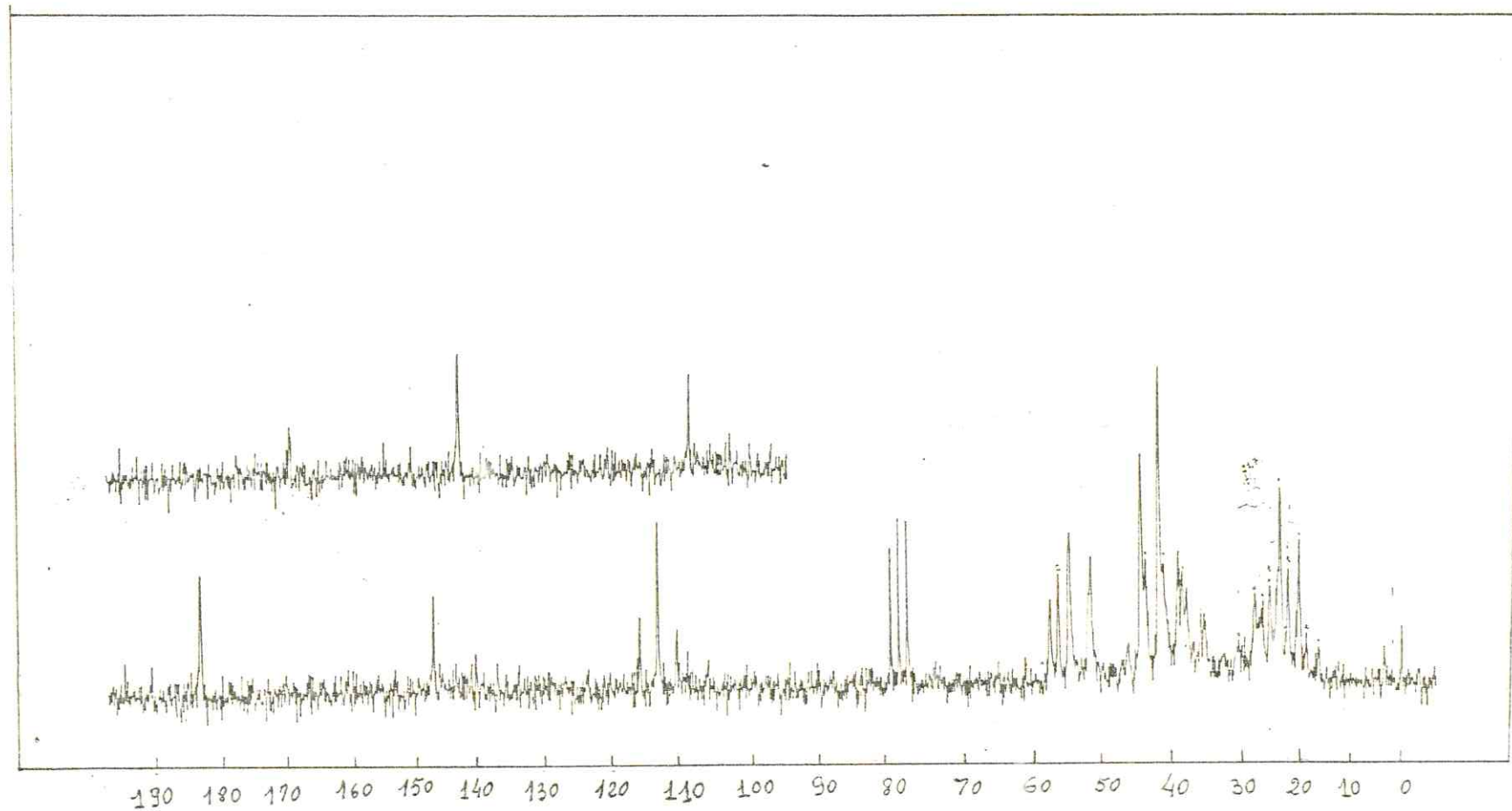
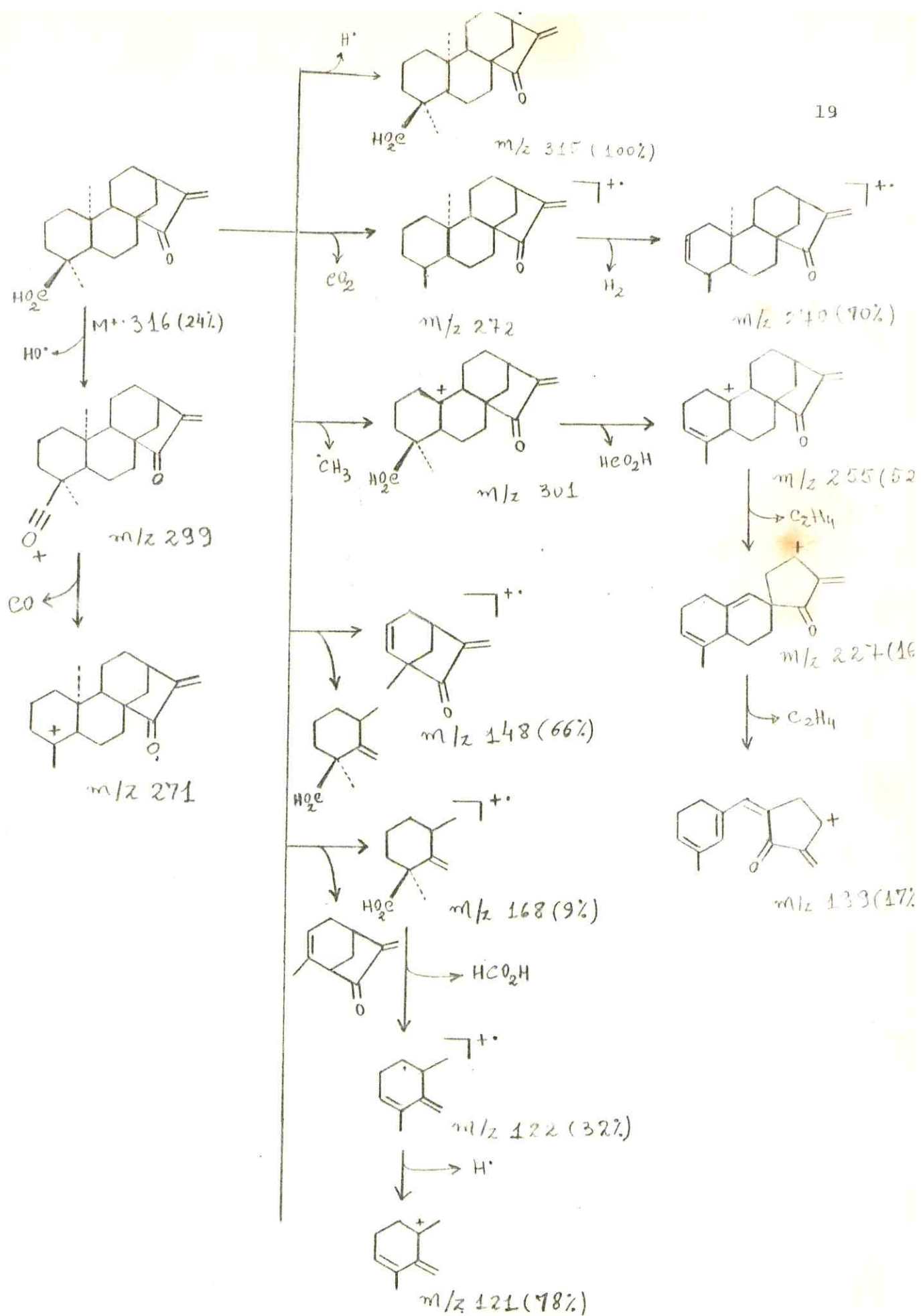
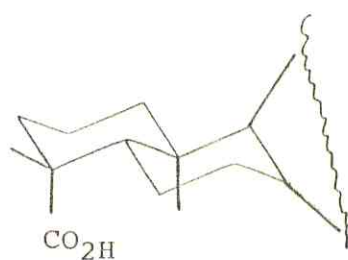


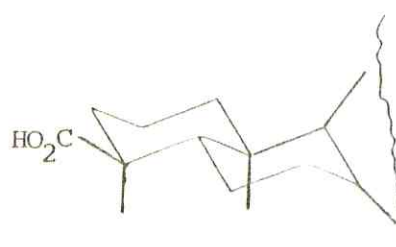
FIGURA 5'. Espectro de RMN ^{13}C de Ca-37E. (com acoplamento residual).
(25.2MHz, CDCl_2 , δ).



ESQUEMA 1 - Possíveis caminhos de fragmentação de XIII (Ca-37E) no espectômetro de massa.



I

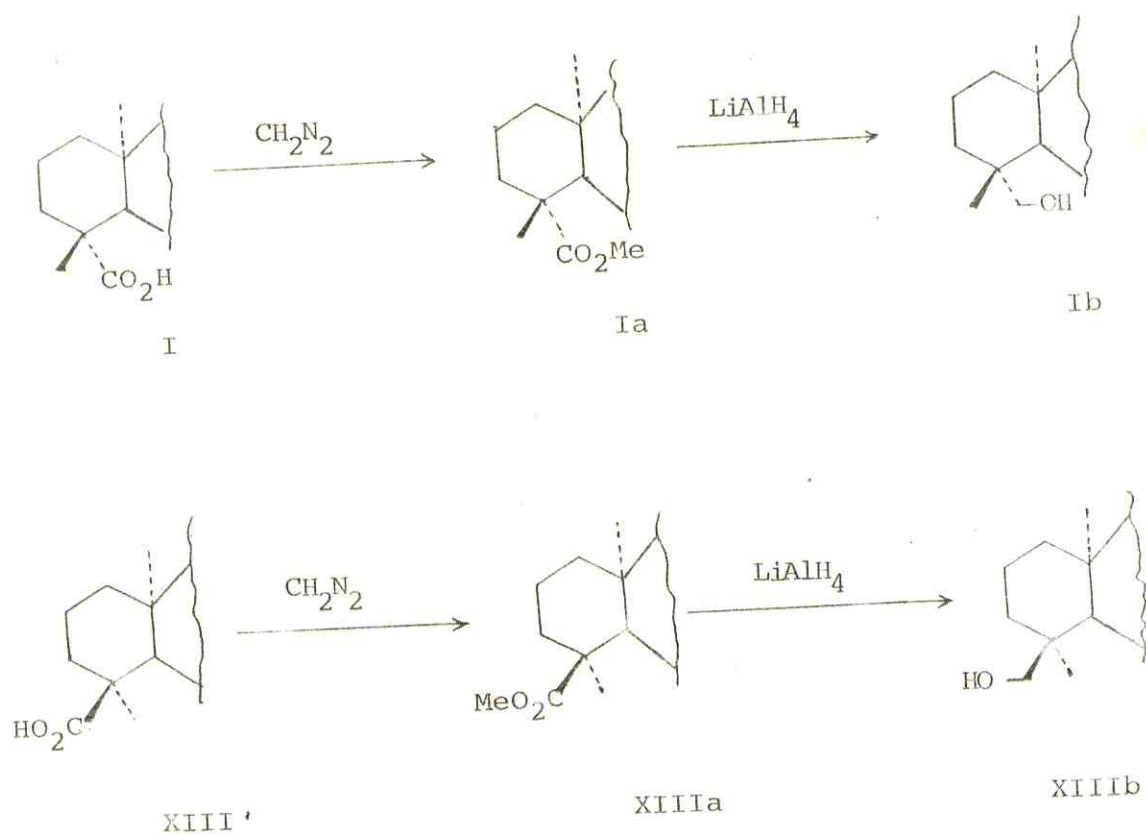


Ca-37E (XIII)

Neste ponto, evidenciou-se a necessidade de dados adicionais para apoiar a estrutura XIII atribuída a Ca-37E.

A configuração axial ou equatorial de grupos $-\text{CH}_2\text{OH}$, COOH ou COOCH_3 na posição 4 de diterpenos pode também ser deduzida através de métodos químicos e físicos. Um dos trabalhos descritos na literatura utilizou a espectrometria de ressonância magnética nuclear para estabelecer a correlação entre os deslocamentos químicos e a orientação axial ou equatorial dos grupos CH_2-OH e CH_2-OAC ^(22,23). Verificou-se que, os prótons metilênicos destes grupos quando ocupam posição equatorial no C-4 exibem absorções em campo mais alto do que na situação axial. Assim, para I e XIII este mesmo resultado seria esperado, já que os dois diterpenos são epímeros no carbono 4. Objetivando confirmar esta previsão foram efetuadas as reações descritas no Quadro 1, pag. 21.

Quadro 1 - Reações de conversão dos diterpenos I e XIII nos álcoois Ib e XIIIb respectivamente.



Segundo a literatura ⁽²²⁾, os prótons metilênicos de grupos CH₂OH localizados na posição equatorial do C-4 (XIIIb) devem revelar menor deslocamento químico do que o do epímero (Ib). Os dados revelados pelos produtos obtidos confirmaram as previsões e constituíram uma evidência adicional para a configuração inserida na estrutura parcial XIII.

| | |
|------------------------------|-------|
| CH ₂ -OH em Ib | 3,56δ |
| CH ₂ -OH em XIIIb | 3,13δ |

A análise comparativa dos espectros de RMN¹H de Ib (Fig. 6, pág.25) e XIIIb (Fig.7, pág.26) evidenciou, ainda, uma nova característica. Os sinais simples correspondentes aos grupos metila dos carbonos 4 e 10 no álcool Ib revelaram deslocamentos

químicos que indicam pequena diferença nas posições de absorção, o que não ocorre no álcool XIIIb que aparecem mais separados. Este resultado é diferente daquele observado na comparação dos diterpenos carboxílicos I (4α -COOH) e XIII (4β -COOH).

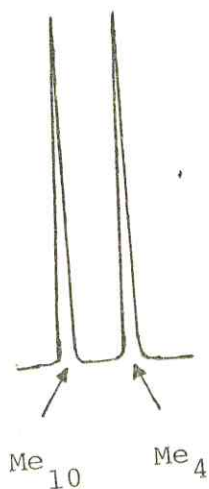
O Me-4 de Ib na ausência do efeito anisotrópico do grupo C=O passa a absorver em $0,99\delta$ ocorrendo um deslocamento para campo mais alto por volta de $0,28\delta$ [$1,27(I) - 0,99(Ib) = 0,28\delta$]. Este deslocamento diamagnético é suficiente para fazer com que o sinal de absorção apareça em campo mais alto do que o sinal do Me-10, o qual praticamente não sofreu deslocamento na modificação de I a Ib em torno de [$0,02\delta$ $1,05(I) - 1,03(Ib) = 0,02\delta$].

Por outro lado, a ausência do efeito anisotrópico da carbonila em XIIIb e a posição axial ocupada pelo Me-4 condicionaram a um menor deslocamento químico, ocorrendo deslocamento do sinal deste grupo para campo alto [$1,16(XIII) - 0,74(XIIIb) = 0,42\delta$]. Por isto a posição de ressonância do Me-4 passa a ser observada em $0,74\delta$. A comparação dos dados de XIII e XIIIb demonstra que o sinal do Me-10 permanece praticamente inalterado. A diferença entre os deslocamentos químicos dos sinais dos grupos metila dos carbonos 4 e 10 da XIIIb é de $0,38\delta$, resultando uma separação significativa.

Ib

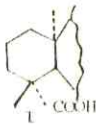
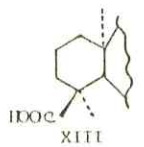
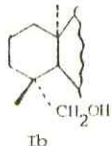
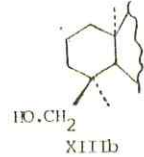
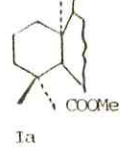
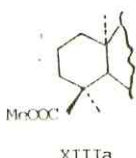
Me₄: 0,99Me₁₀: 1,05 $\Delta_{4,10}=0,06\delta$

XIIIb

Me₄: 0,74Me₁₀: 1,12 $\Delta_{4,10}=0,38\delta$

A análise dos dados de RMN¹H dos produtos das reações descritas no Quadro 1 permitiu, ainda, verificar que, de acordo com dados da literatura (24) a conversão de MeO₂C-4 equatorial em CH₂OH produz um deslocamento para campo alto na posição de ressonância do Me-4 (0,42 δ), aproximadamente o dobro daquele observado na série axial (0,17 δ) Tabela 4 (pág.24). Estes dados revelaram-se em acordo com proposta estrutural XIII.

Tabela 4 - Deslocamentos químicos (δ) de Me-10 e CH₂OH de I, XIII, Ib, XIIIb, Ia, XIIIa.

| | Me-4 | Me-10 | -CH ₂ OH |
|---|------|-------|---------------------|
|  | 1,27 | 1,03 | - |
|  | 1,16 | 1,13 | - |
|  | 0,99 | 1,05 | 3,56 |
|  | 0,76 | 1,12 | 3,13 |
|  | 1,16 | | |
|  | 1,16 | | |

Outro argumento que se coaduna com as deduções descritas encontrou-se na análise dos espectros I.V., aparecendo uma absorção única e intensa em 1240cm^{-1} no espectro XIIIa. Esta banda é atribuída ao estiramento do esqueleto C-CO-O de grupos carbometoxi-equatoriais na posição 4' de diterpenos (25).

A análise comparativa dos dados de RMN¹³C das substâncias II, VI, VII, VIII (Tabela, 2pág.10) e IX, X, XI, XII (Tabela 3, pág.11) revelou-se totalmente em acordo com as deduções anteriores, assumindo também grande importância para diferenciar os dois tipos estereoquímicos.

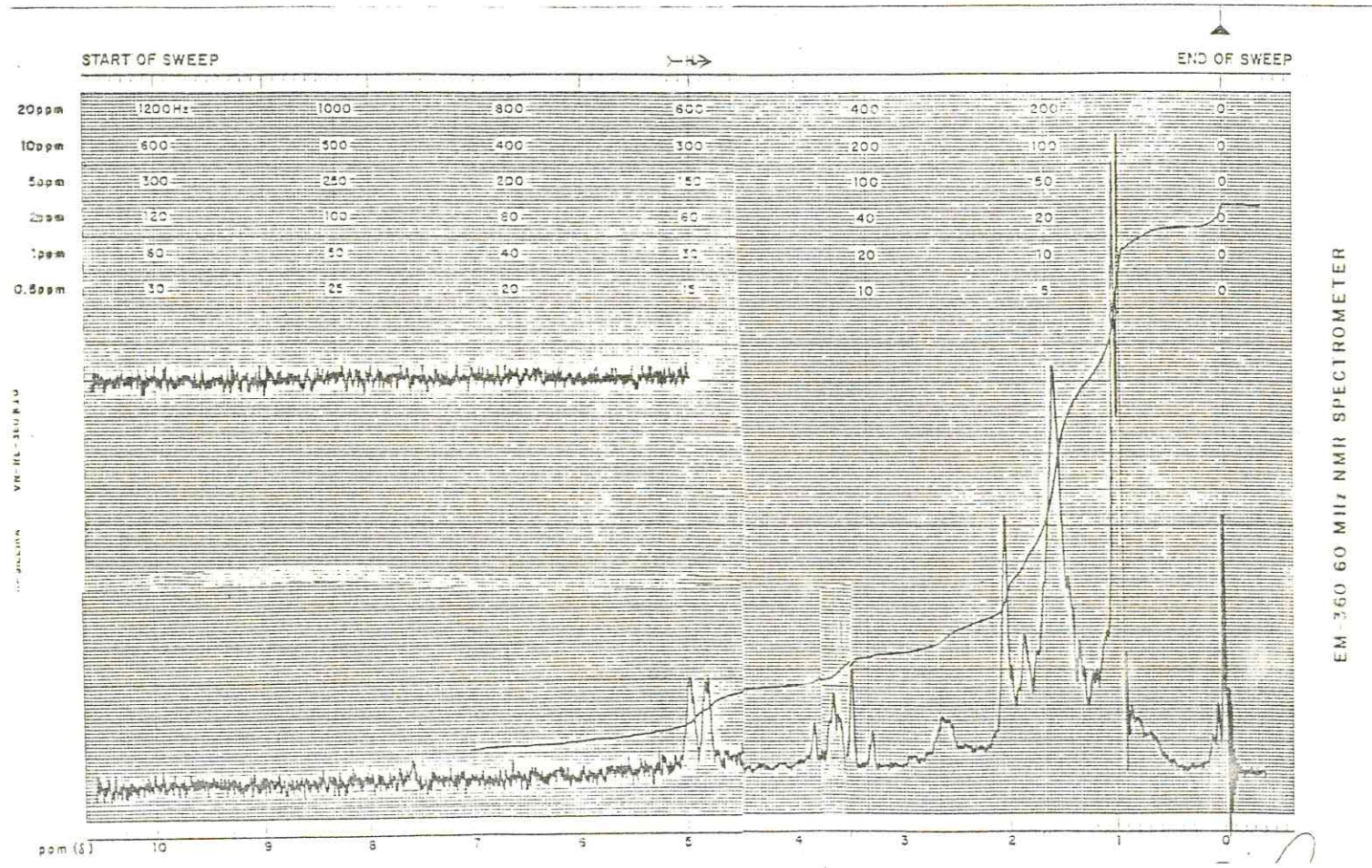


FIGURA 6. Espectro de RMN¹H do derivado Ib
(60MHz, CDCl₃, δ).

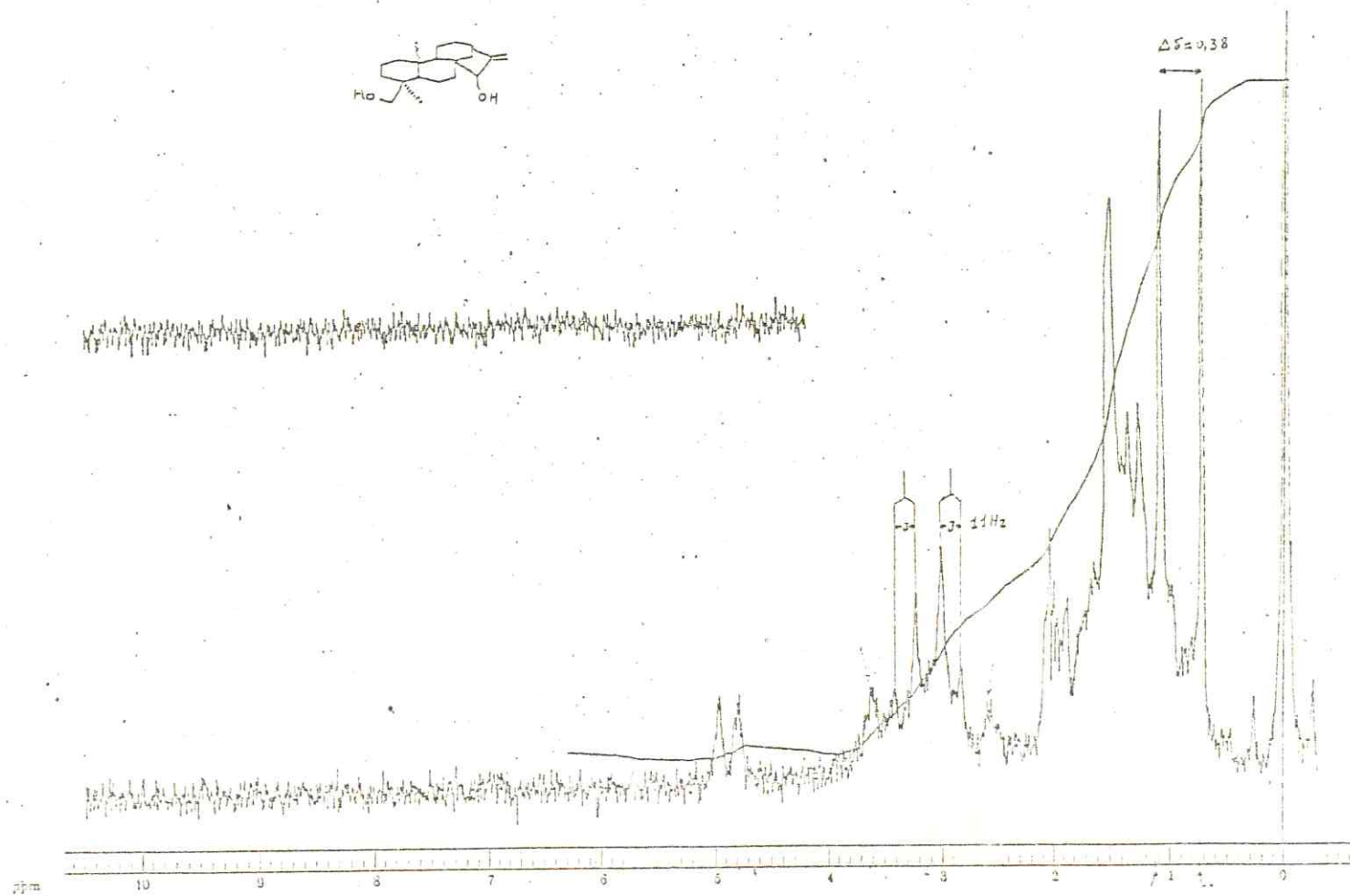
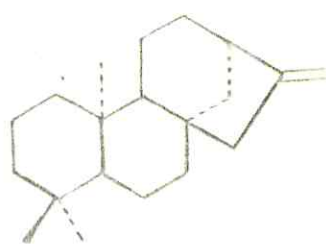
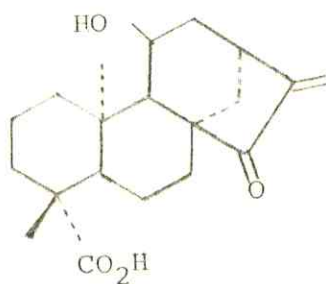


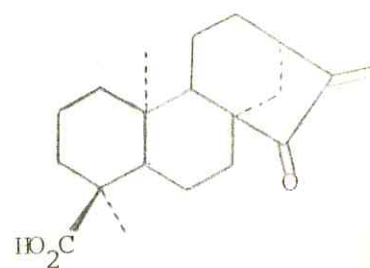
FIGURA 7. Espectro de RMN¹H de Ca-37E Me Red_{15,18}
(60MHz. (CD₂)₂CO-d)



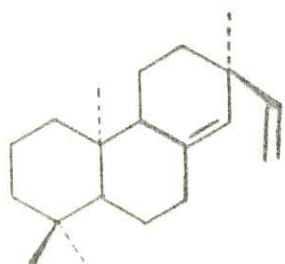
VII



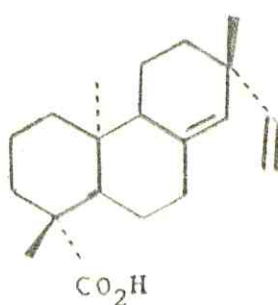
VIII



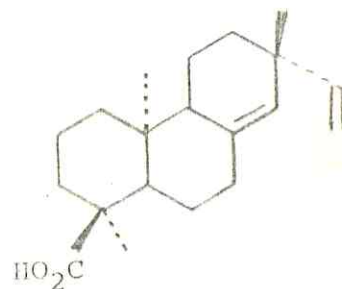
XIII



XI



XII



IX

Comparando-se os deslocamentos químicos dos carbonos do diterpeno VII com os de VIII verificou-se que o sinal do C-3 do último aparece em campo mais alto. Esta modificação pode ser justificada pelo efeito γ dos átomos de oxigênio do grupo carboxila, através da interação deste grupo com o hidrogênio equatorial do carbono 3.

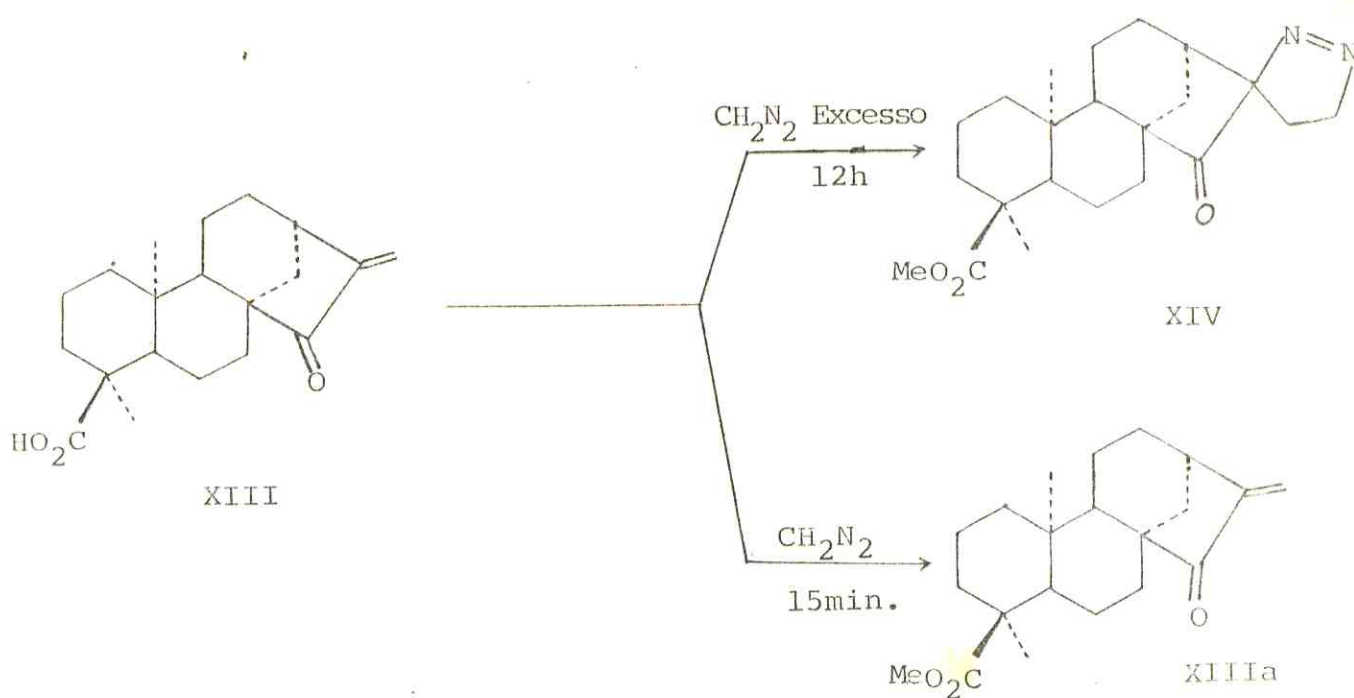
Em XIII este efeito é detectado nos carbonos 3 e 5, o que é compreensível devido, a possibilidade de interação do grupo carboxila também com o hidrogênio axial do carbono 5. Este efeito foi observado em vários outros exemplos diterpênicos (cauranos, pimaranos, isopimaranos e podocarpanos) contendo grupo carboxila na posição 4 (17,18,19,20,21).

O menor deslocamento químico do Me-19 de XIII quando comparado ao Me-18 de VIII pode ser justificado pelo efeito γ

exercido pelos carbonos 2 e 6 em XIII. A comparação dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono 7-17 da Ca-37E e da substância modelo II (Tabela 2) demonstrou que as junções dos anéis B, C e D são idênticas.

Outras reações contribuíram para a elucidação e confirmação da estrutura XIII. O produto da reação com diazometano (XIV, Quadro 2), permitiu confirmar a presença do sistema carbônico α,β -insaturado. O espectro de RMN¹H (Fig.8, pág.32) deste produto (XIV) revelou a ausência dos singletos em 5,96 e 5,26, representantes dos prótons olefínicos do carbono 17 no espectro do composto natural. Esta modificação decorreu da adição do diazometano a dupla ligação originando a pirazolina XIV (Quadro 2).

Quadro 2 - Reações de XIII com diazometano

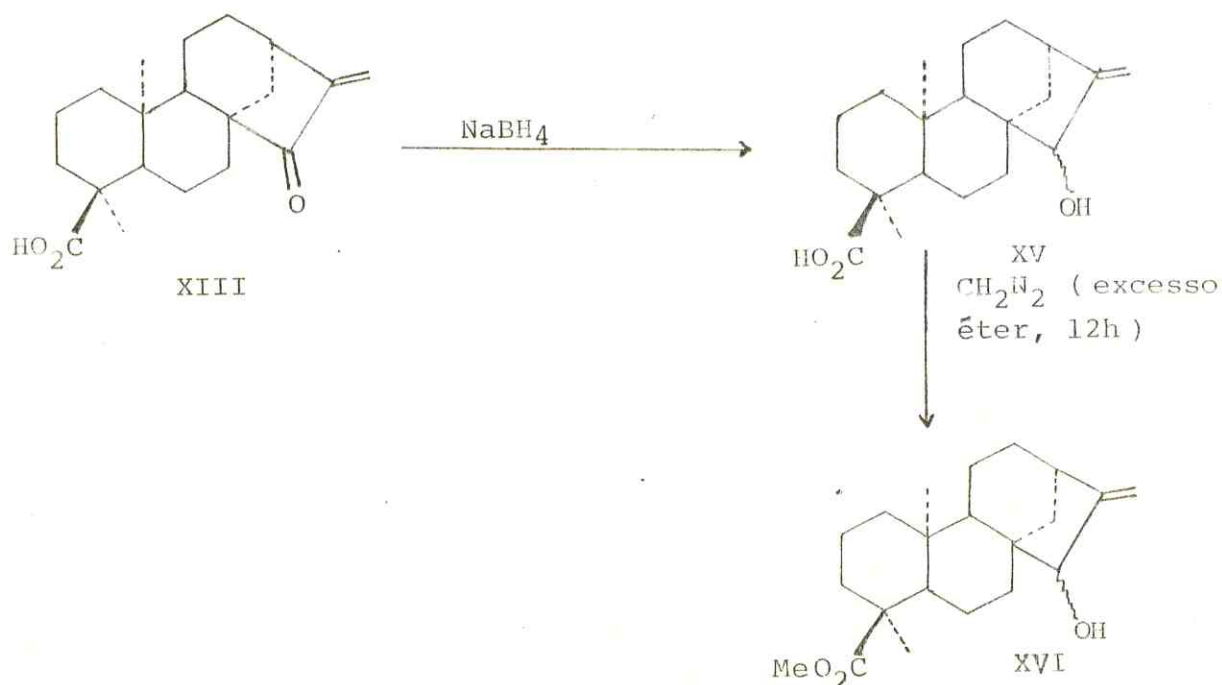


A pirazolina foi caracterizada espectrometricamente através da banda fraca em 1540cm^{-1} na região do IV (Fig.9, pág. 33), correlacionada com o estiramento da ligação dupla nitrogênio-nitrogênio, pela absorção de baixa intensidade em 320 nm no UV, devido a transição $n \rightarrow \pi^*$ e pelo multiplete no espectro de RMN¹H em 4,60 δ , correspondente aos prótons metilênicos vizinhos ao grupo N=N (12,13,14,15).

Controlando-se o tempo e quantidade de reagente ocorre somente a reação de esterificação, obtendo-se o éster metílico XIIIa, impurificado, possivelmente, por uma pequena quantidade de pirazolina (Fig. 10, pág.34).

Um modo mais eficiente para evitar a reação de adição envolveu a redução seletiva da carbonila do C-15 com NaBH₄ antes da reação de metilação (Quadro 3). No espectro de RMN¹H (Fig.11, pág.35) do produto (XVI) obtido através desta sequência de reações observou-se, além do sinal simples do grupo CO₂Me em 3,65 δ , os singletos largos dos prótons olefínicos do carbono 17 em 5,05 e 4,90 δ , deslocamentos químicos diferentes dos observados na substância original (5,96 e 5,26 δ).

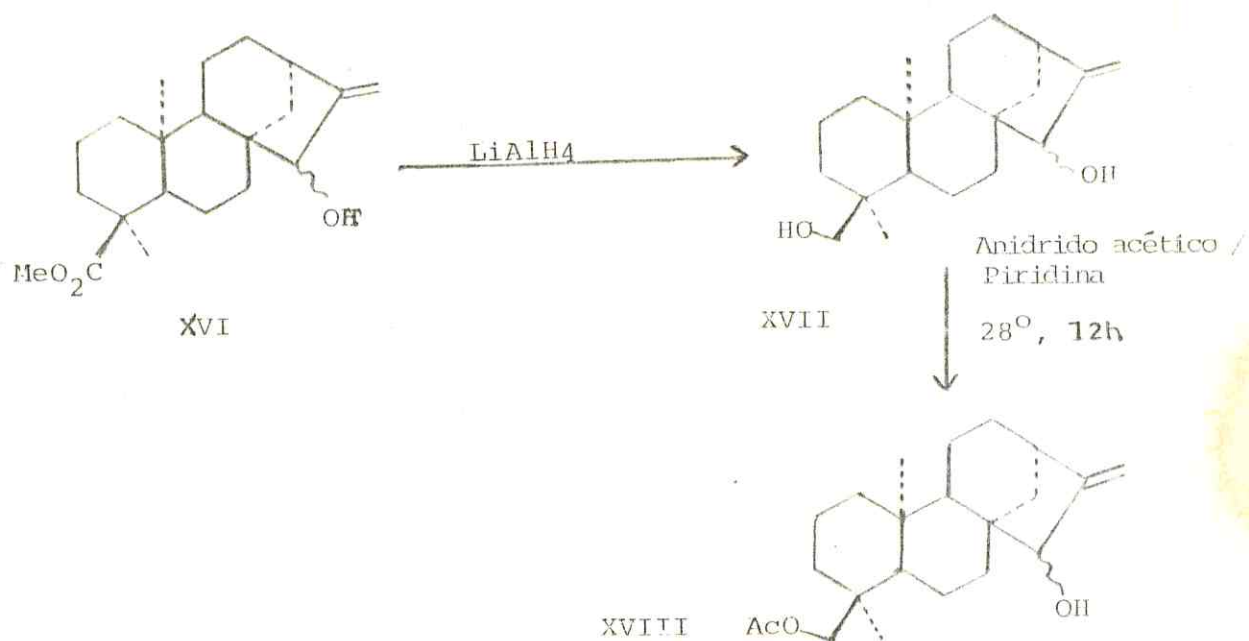
Quadro 3 - Reações de redução seletiva de XIII e de metilação do derivado reduzido.



No produto de redução do grupo carbonila do C-15 (XV), o multiplete do H-13 é deslocado para campo mais alto, passando a absorver em 2,78 δ . O multiplete que aparece em 3,75 δ foi atribuído ao próton carbinólico do C-15 (Fig. 11, pág. 35) (Quadro 3, pág. 29).

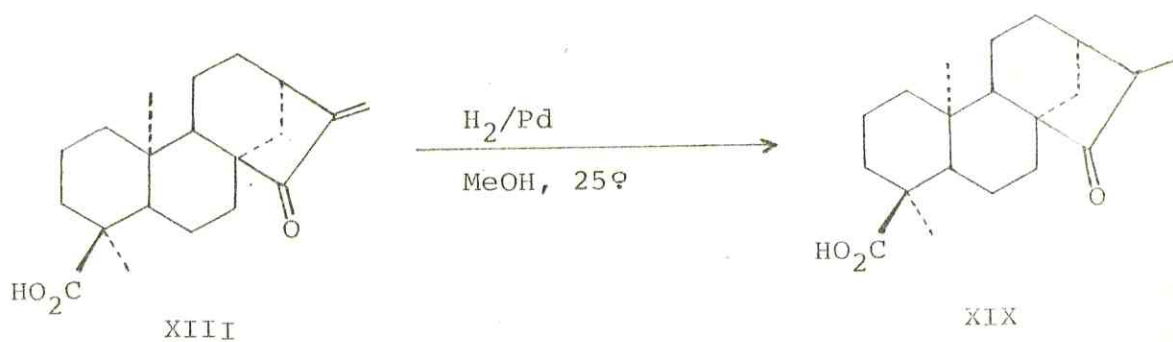
A reação de XVI com LiAlH_4 conduziu ao diol XVII (Quadro 4, pág. 31). No espectro de RMN^1H (Fig. 7, pág. 26) deste produto observou-se, além dos sinais largos (com integração 1:1) correspondentes aos prótons olefínicos, duas bandas equidistantes em relação a 3,13 δ , próxima ao sinal largo de H-15. Estas absorções correspondem aos prótons metilênicos do C-18 originados da redução. Estes prótons, apresentando deslocamentos químicos diferentes em consequência da natureza diastereotópica, constituem um típico sistema AB caracterizado por dois sinais duplos. No espectro de absorção no I.V. (Fig. 12, pág. 36), as ausências das bandas de estiramento dos grupos éster e cetônico indicaram claramente a transformação em seus respectivos álcoois. O peso molecular 304 μ fornecido pelo espectro de massas (Fig. 13, pág. 37) (Esquema 2, pág. 41) confirmou estas deduções. A acetilação de XVII com anidrido acético/piridina forneceu o derivado diacetilado XVIII. O espectro de RMN^1H (Fig. 14, pág. 38) revelou dois sinais simples intensos em 2,19 e 2,08 δ , indicando, como esperado, a formação de um diacetato. O centro dos dois sinais dos prótons metilênicos carbinólicos foi deslocado para 3,68 δ , verificando-se deslocamento paramagnético compatível com a conversão do grupo OH de C-18 em OAc. Por outro lado, os sinais em 5,05 e 4,90 δ apresentaram agora relação de integração 1:2, respectivamente. Este resultado foi interpretado como decorrente da superposição dos sinais de H-15 e um dos prótons de C-17. A acetilação de OH do C-15 tornou o H-15 mais desprotegido, como esperado.

Quadro 4 - Reações de conversão do éster metílico XVI no diacetato.



Finalmente, a substância natural XIII foi hidrogenada, (Quadro 5) tendo os espectros de RMN¹H (Fig. 15, pág.39) e de massas (Fig.16, pág.40) (Esquema 3, pág.42) atestados a adição de 1 mol de H₂ a ligação C=C. No espectro de RMN¹H observou-se o aparecimento de duplete (J=8Hz) em 1,11δ, correspondente ao Me-17, desdobrado pelo acoplamento com H-16.

Quadro 5 - Hidrogenação catalítica de XIII



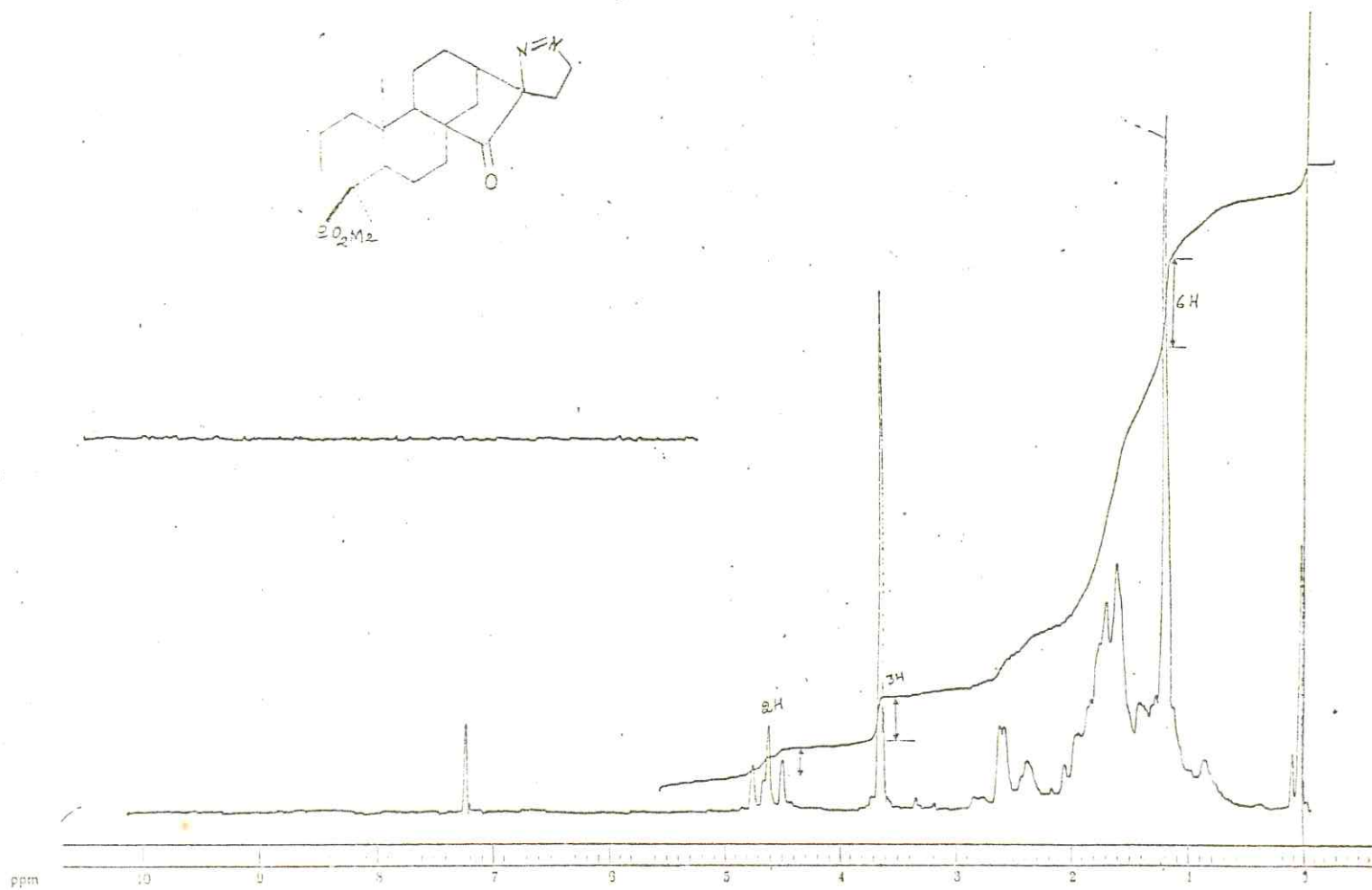


FIGURA 8. Espectro de RMN¹H de Ca-37E MeCH₂N₂.
(60MHz, CDCl₃, δ).

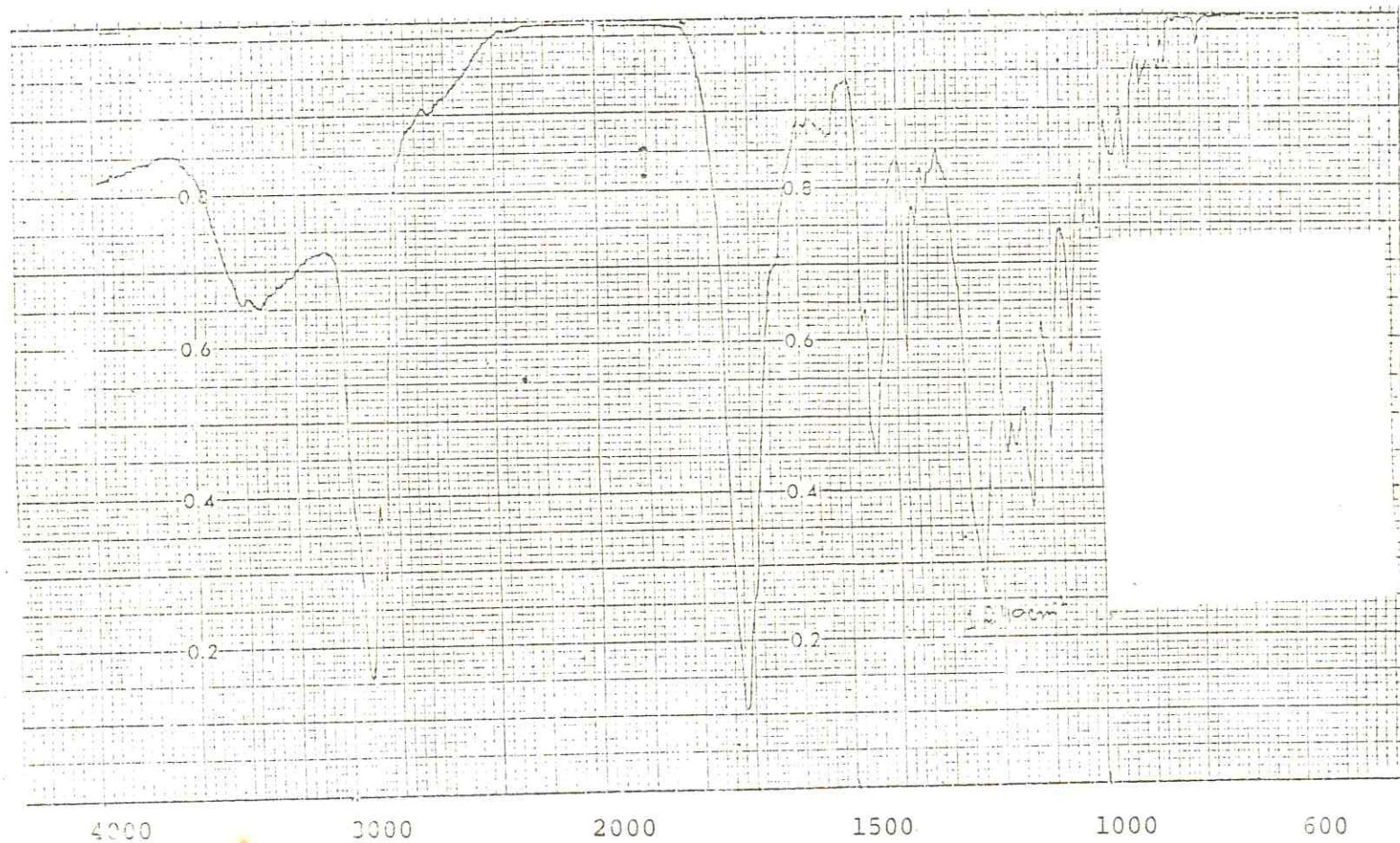


FIGURA 9. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E MeCH₂N₂.
(KBr).

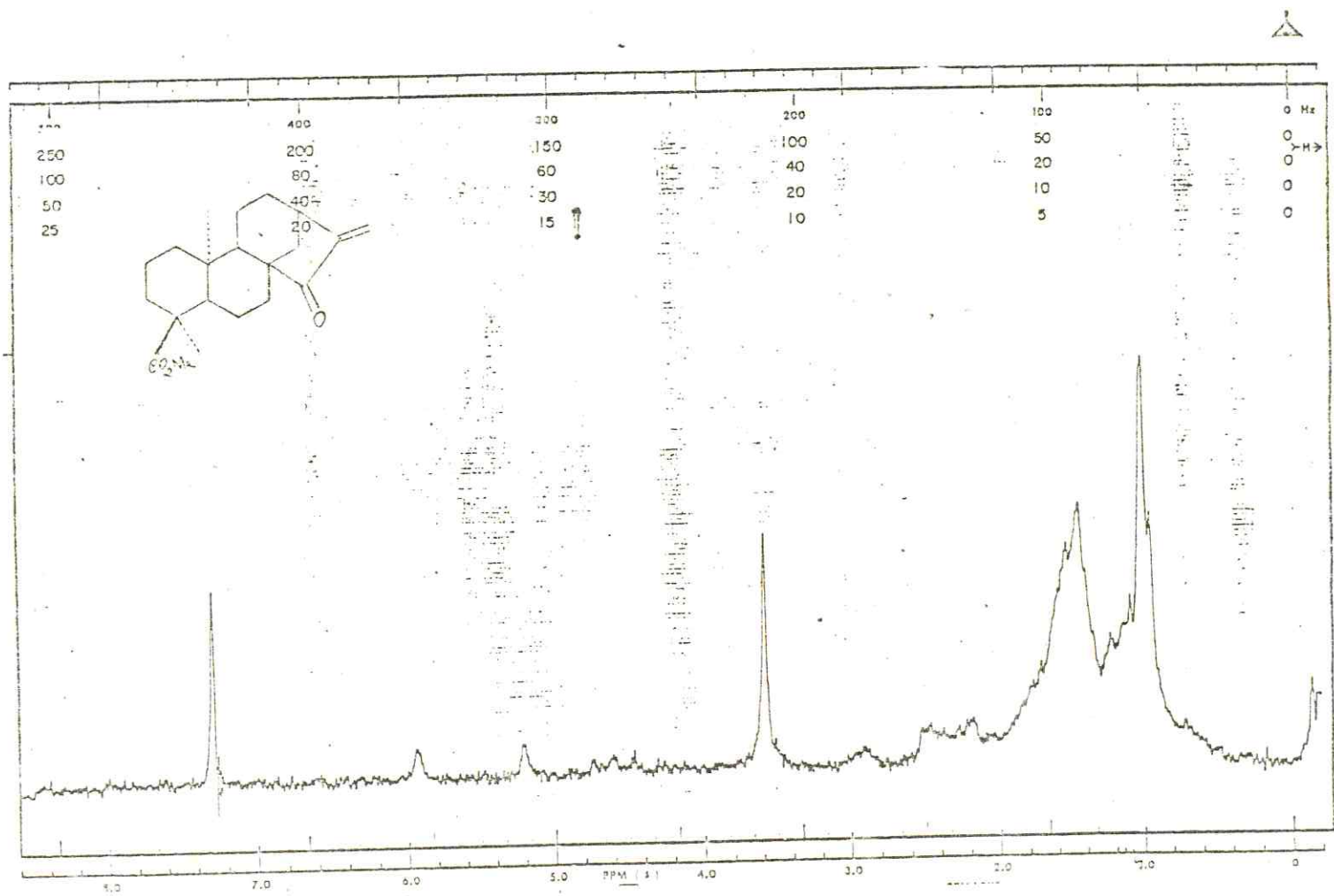


FIGURA 10. Espectro de RMN^1H de Ca-37EME.
(60MHz, CDCl_3 , δ).

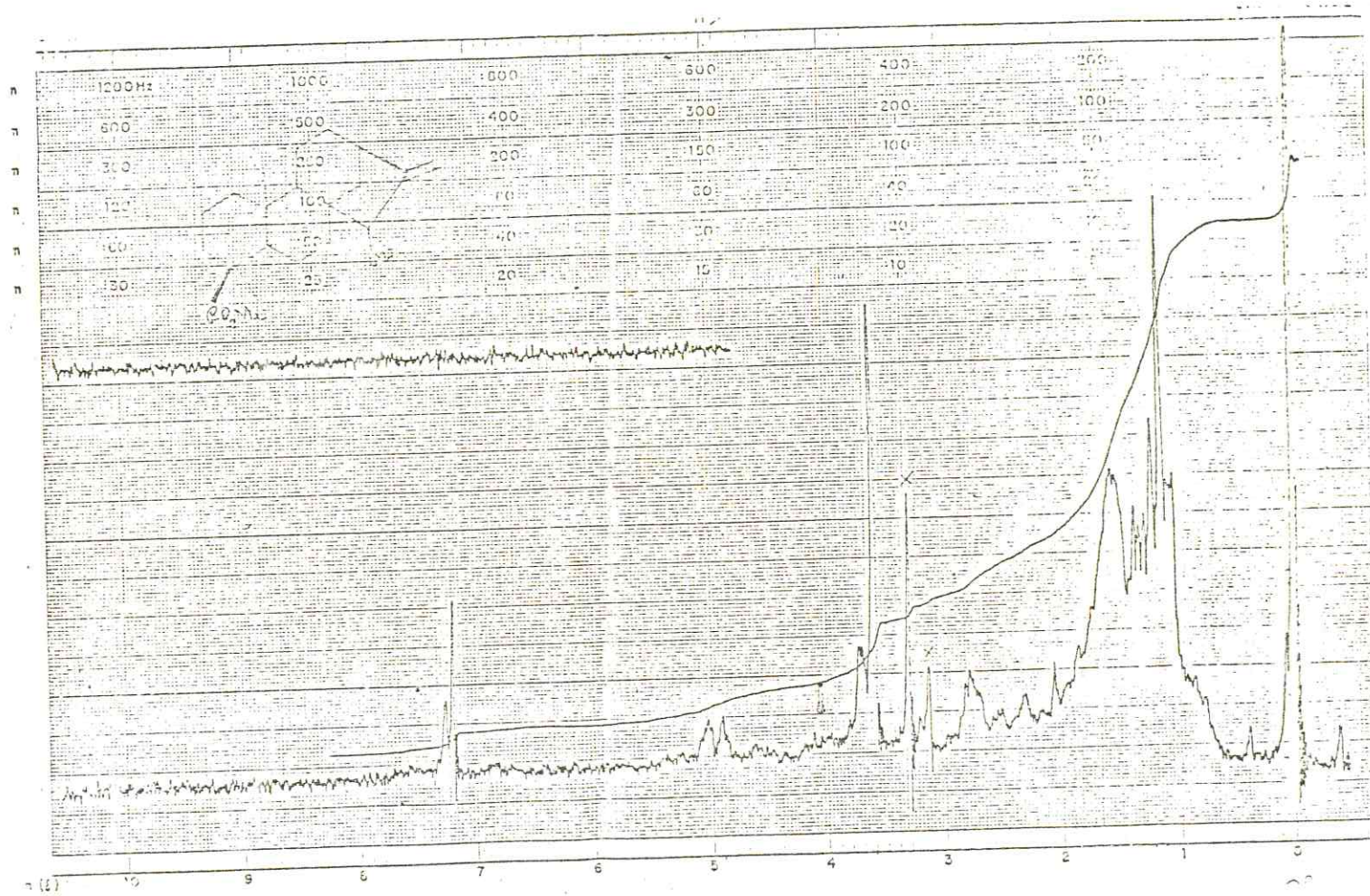


FIGURA 11. Espectro de RMN¹H de Ca-37E MeRed₁₅.
(60MHz, CDCl₃, δ).

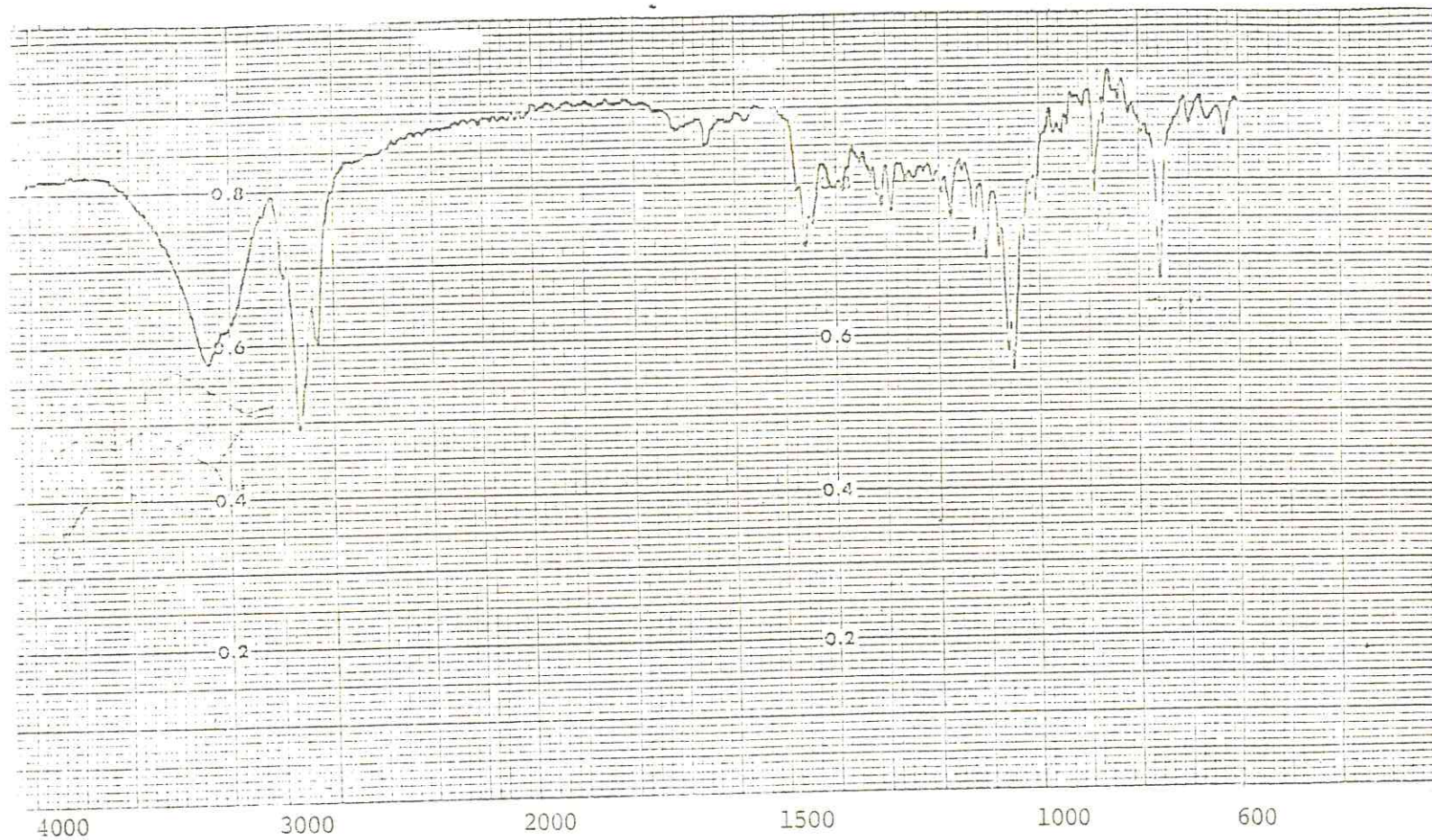


FIGURA 12. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E MeRed_{15,18}.
(KBr).

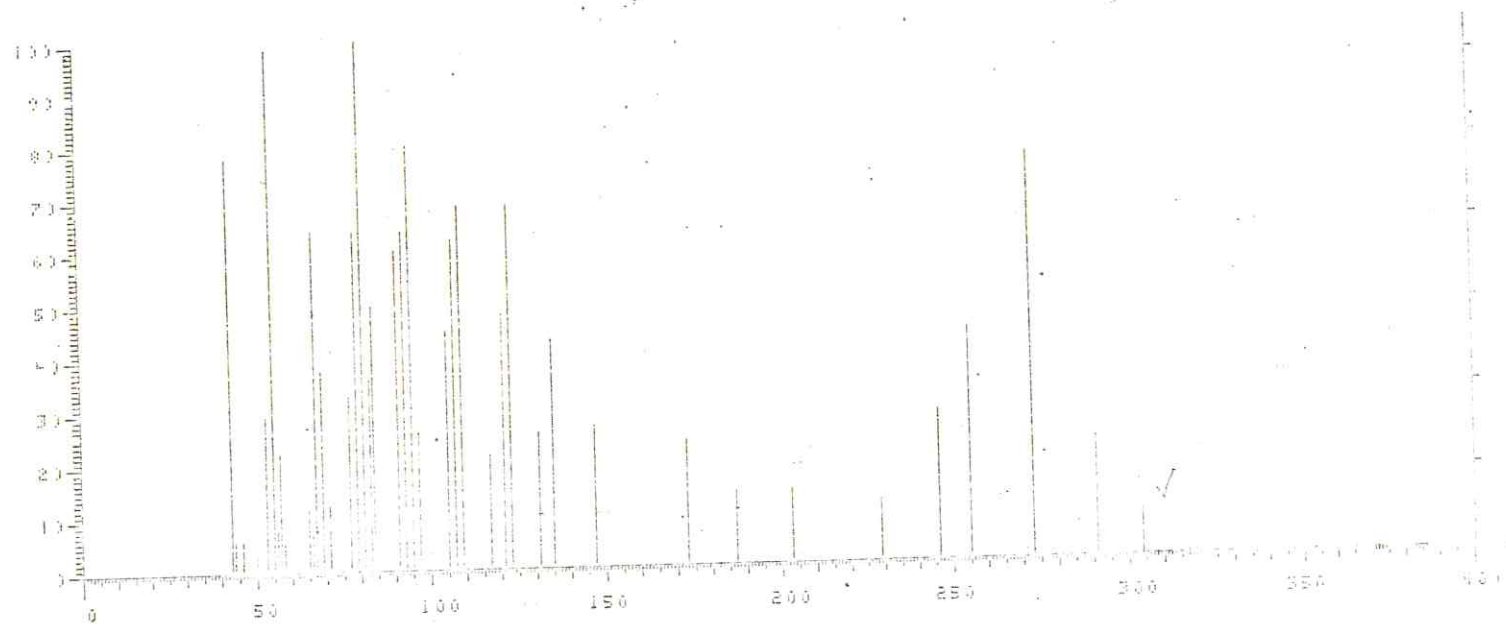


FIGURA 13. Espectro de massas de Ca-37E MeRed_{15,18}.

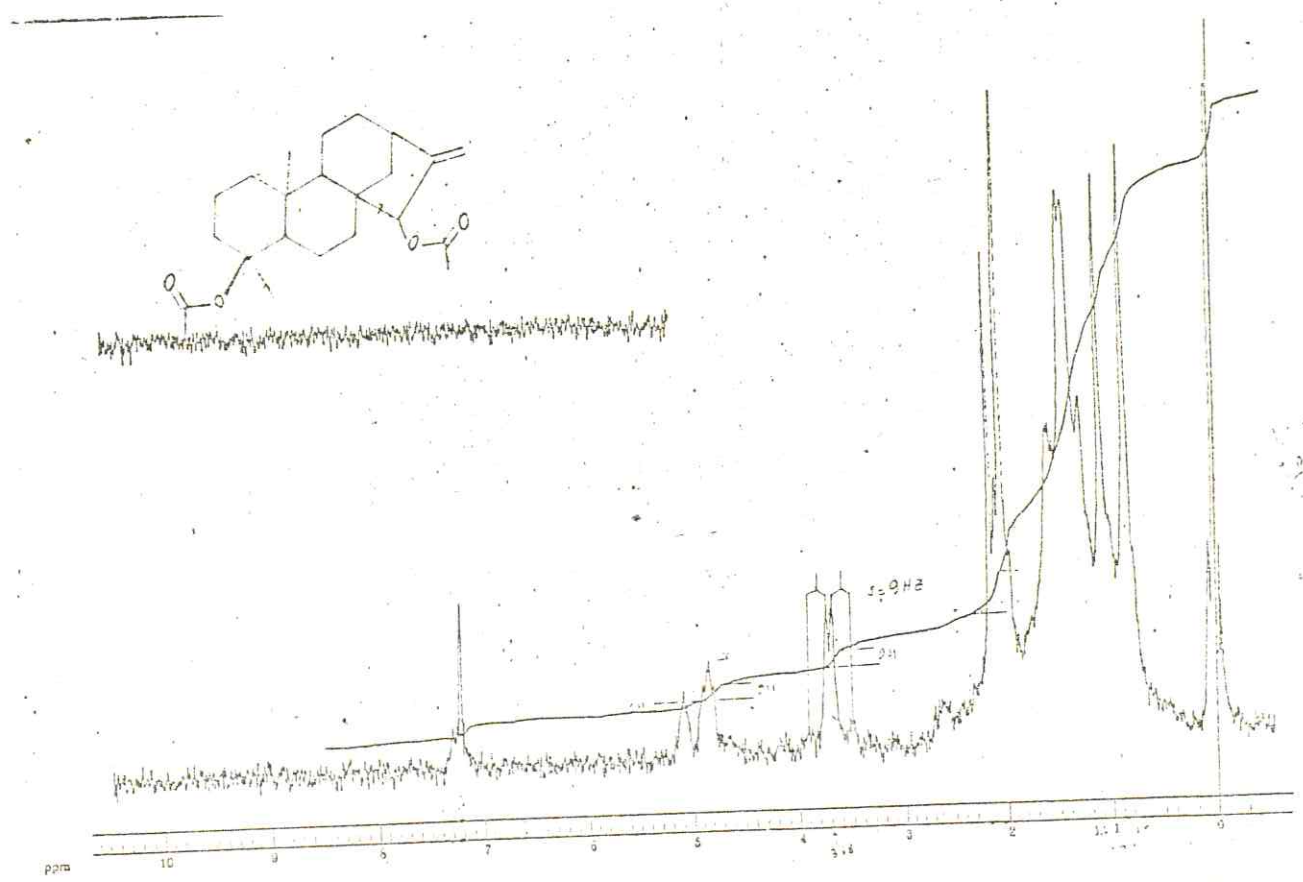


FIGURA 14. Espectro de RMN¹H de Ca-37E MeRed_{15,18}.Acet.
 (60MHz, CDCl₃, δ).

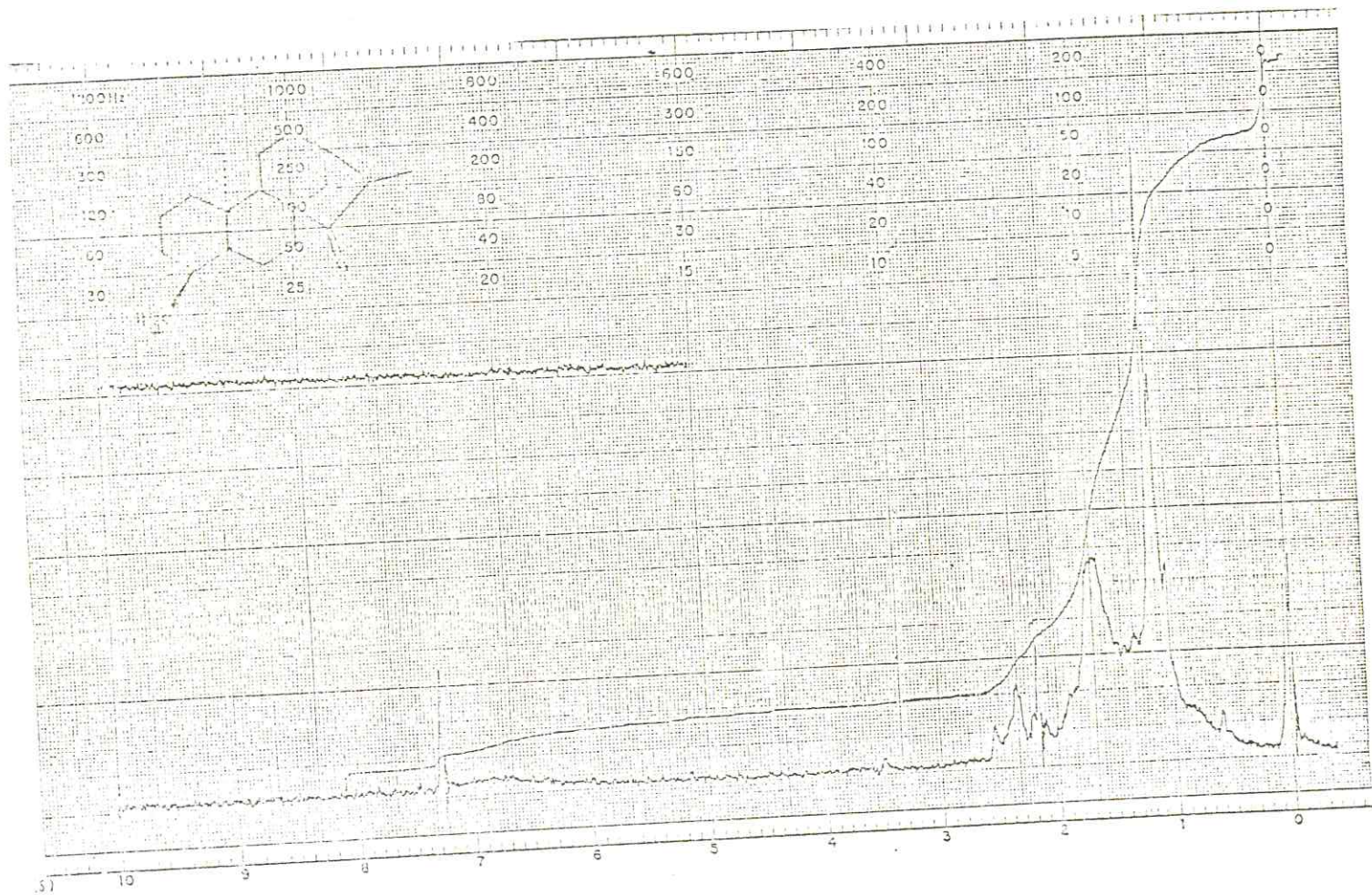


FIGURA 15. Espectro de RMN¹H de Ca-37E H₂.
(60MHz, CDCl₃, δ).

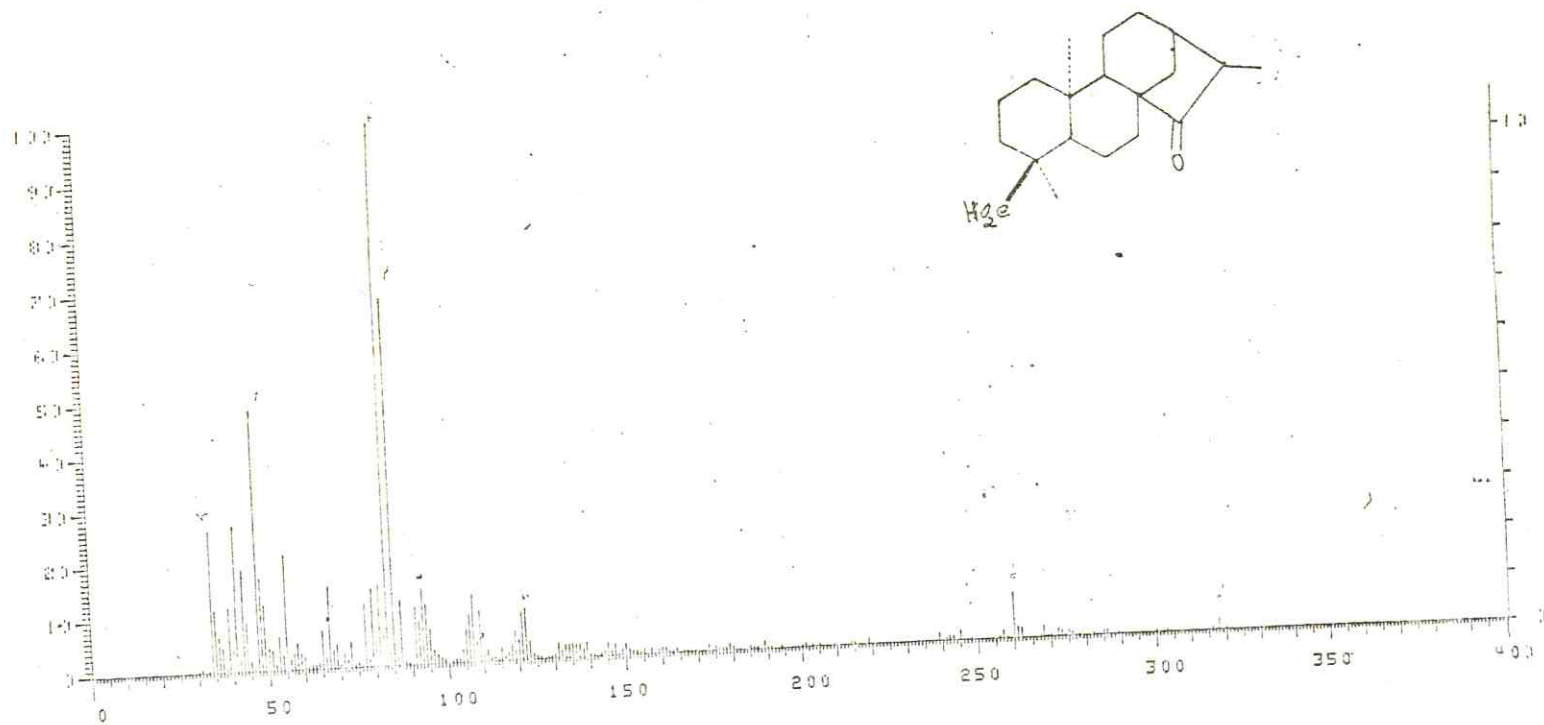
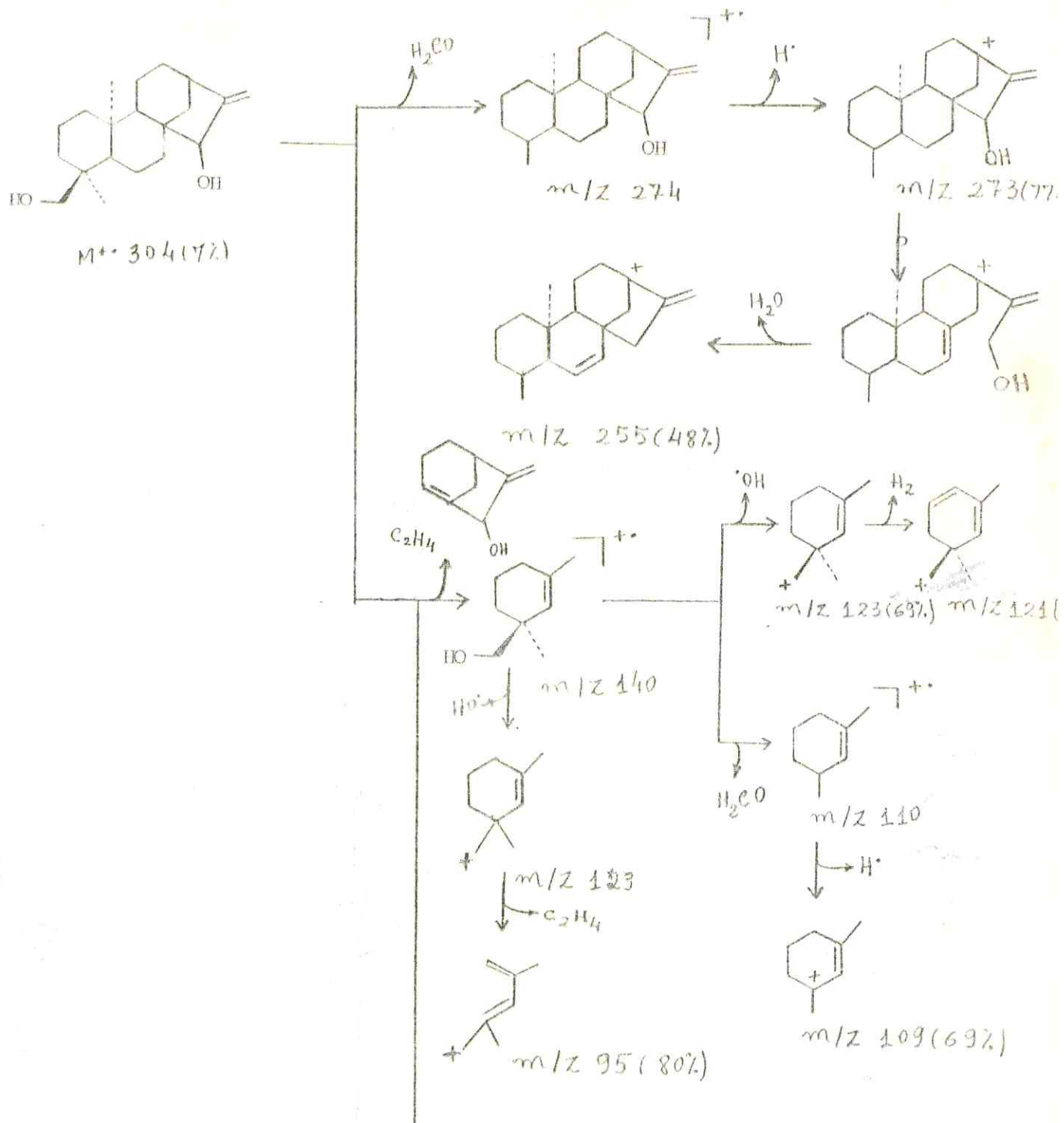
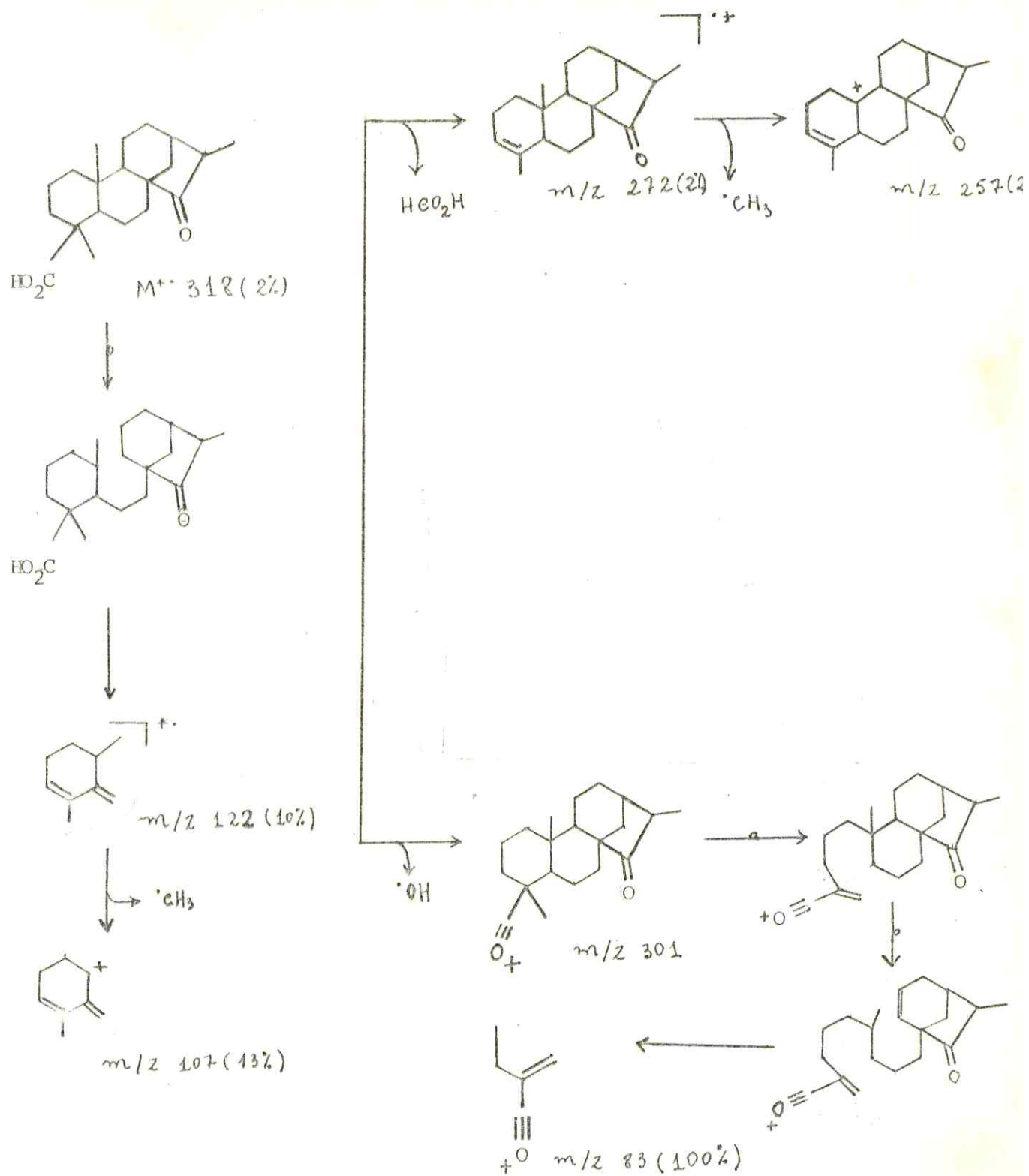


FIGURA 16. Espectro de massas de Ca-37E H₂.



ESQUEMA 2 - Possíveis caminhos de fragmentação de XVII
(Ca-37E MeRed_{15,18}) no espectômetro de massa.



ESQUEMA 3 - Possíveis caminhos de fragmentação de XIX
 (Ca-37E H₂) no espectômetro de massa.

Ca-37E trata-se de uma substância inédita que apresenta atividade antibiótica contra *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*. Esta atividade quando comparada com a da estreptomicina observou-se nas primeiras 24 horas uma atividade maior. Em seguida, diminui em relação ao *Bacillus subtilis* e torna-se igual a atividade da estreptomicina em relação ao *Staphylococcus aureus*.

2.2. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Ca-38E

A comparação dos espectros de RMN (^1H e ^{13}C), IV e massas de Ca-38E com os correspondentes espectros de Ca-37E (XIII), permitiu deduzir que, a única diferença entre as duas substâncias reside na ausência de carbonila cetônica no C-15 de Ca-38E. Assim, o espectro de RMN ^1H (Fig. 17, pág.46) de Ca-38E apresenta um único sinal olefínico e, analogamente à Ca-37E, a diferença entre os deslocamentos químicos dos sinais devido aos grupos metila apresenta-se pequeno ($\Delta_{4,10} = 0,08$).

O espectro de RMN ^{13}C (Fig. 18, pág.47) registrado com desacoplamento de prótons mostrou vinte linhas, uma das quais em campo baixo (185,00), compatível com a existência de um grupo carboxila. A análise comparativa com o espectro com o acoplamento residual (Fig.19, pág.48) permitiu deduzir o número de carbonos primários, secundários, terciários e quaternários, Tabela 5, (pág.45).

O peso molecular de 302 fornecida pelo espectro de massas (Fig. 20, pág.49), está em acordo com estas conclusões e permitiu deduzir a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$.

Tabela 5 - Deslocamentos químicos dos carbonos (δ) de Ca-38E registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna.

| C | CH | CH_2 | CH_3 |
|--------|-------|---------------|---------------|
| 185,00 | 56,00 | 103,10 | 17,80 |
| 155,50 | 50,00 | 49,00 | 16,10 |
| 47,60 | 44,00 | 40,60 | |
| 44,40 | | 39,80 | |
| 39,80 | | 39,50 | |
| | | 37,00 | |
| | | 33,00 | |
| | | 23,00 | |
| | | 18,00 | |
| | | 18,00 | |

| $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$ | C_3H_8 | $\text{C}_{10}\text{H}_{20}$ | C_2H_6 $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$ |
|-------------------------------------|------------------------|------------------------------|--|
|-------------------------------------|------------------------|------------------------------|--|

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos foi feita por comparação com Ca-37E (XIII). As diferenças observadas em relação aos carbonos, 7,8,9,13 e 14 da Ca-38E (Tabela 6, pág.45) foram justificadas pelas ausências de efeitos γ do oxigênio carbonílico nos carbonos 7,9,13 e 14 e de efeito β no C-8.

Tabela 6 - Deslocamentos químicos dos carbonos (δ) de Ca-38E registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna.

| C | δ | C | δ |
|----|----------|----|----------|
| 1 | 39,80 | 11 | 18,00 |
| 2 | 18,00 | 12 | 33,00 |
| 3 | 37,00 | 13 | 44,00 |
| 4 | 47,60 | 14 | 39,50 |
| 5 | 50,00 | 15 | 49,00 |
| 6 | 23,00 | 16 | 155,50 |
| 7 | 40,60 | 17 | 103,10 |
| 8 | 44,40 | 18 | 185,00 |
| 9 | 56,00 | 19 | 17,80 |
| 10 | 39,80 | 20 | 16,10 |

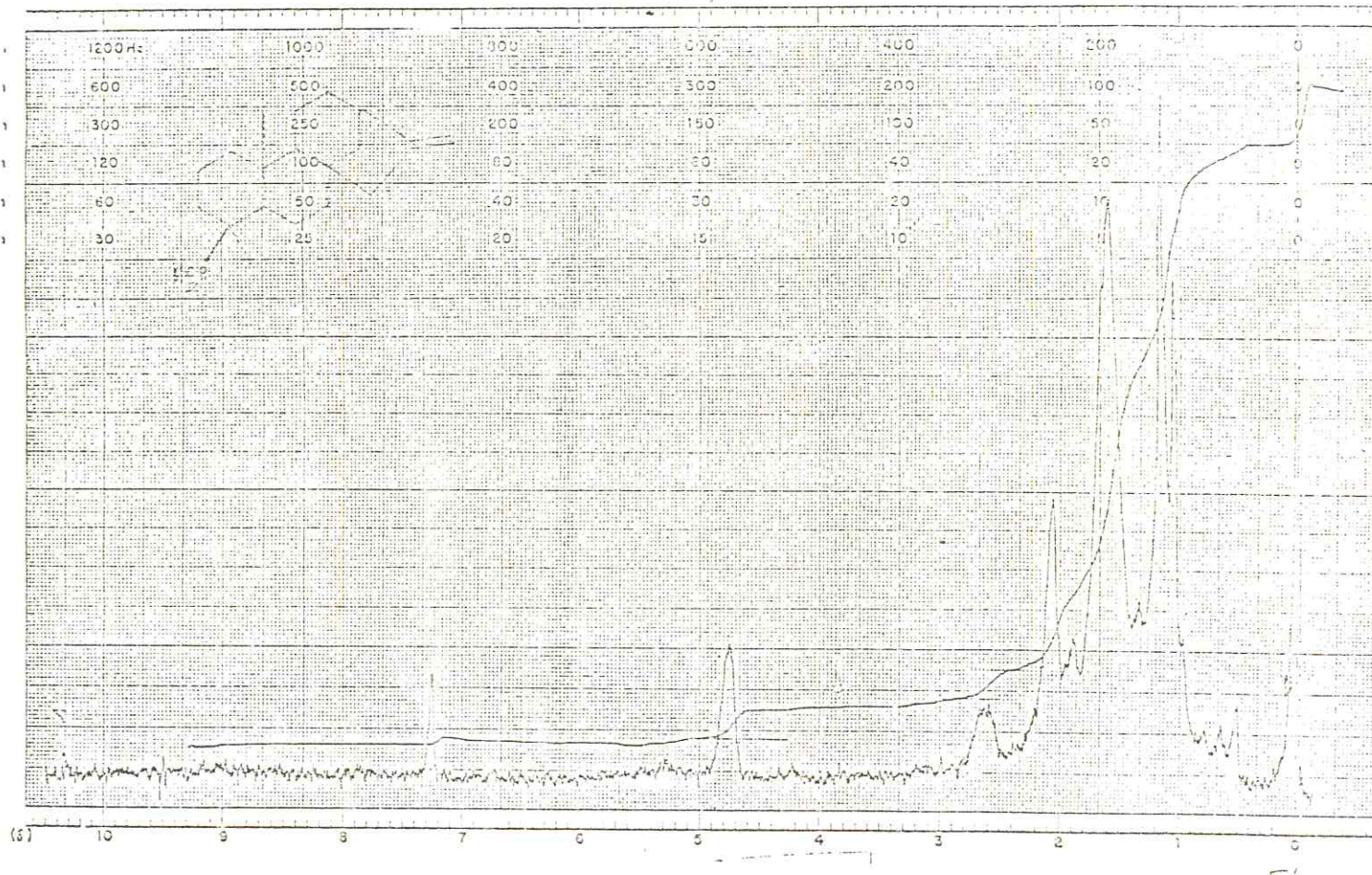


FIGURA 17. Espectro de RMN¹H de Ca-38E.
(60MHz, CDCl₃, δ).

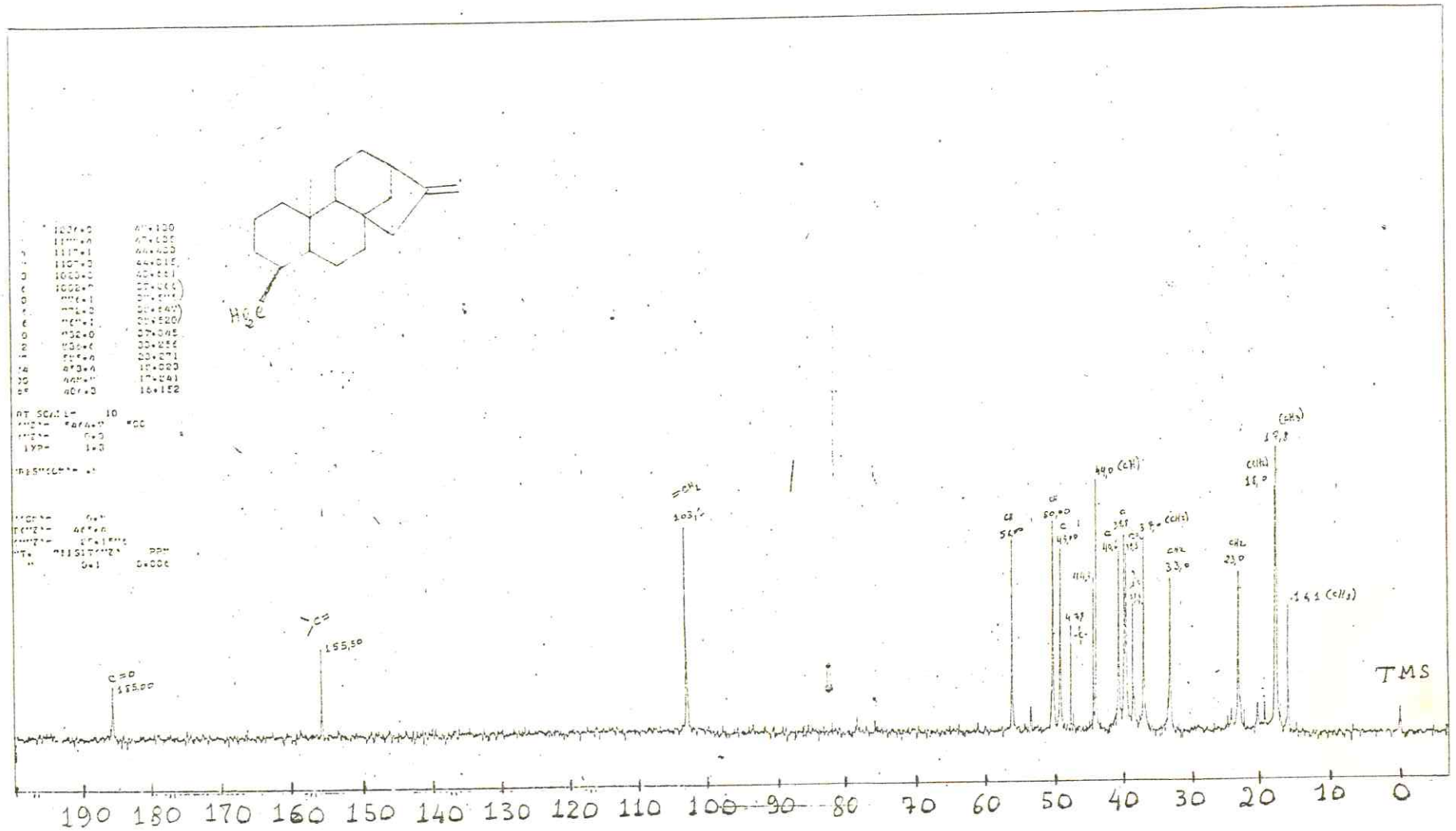


FIGURA 18. Espectro de RMN¹³C de Ca-38E.
 (25.2 MHz, CDCl₃, δ).

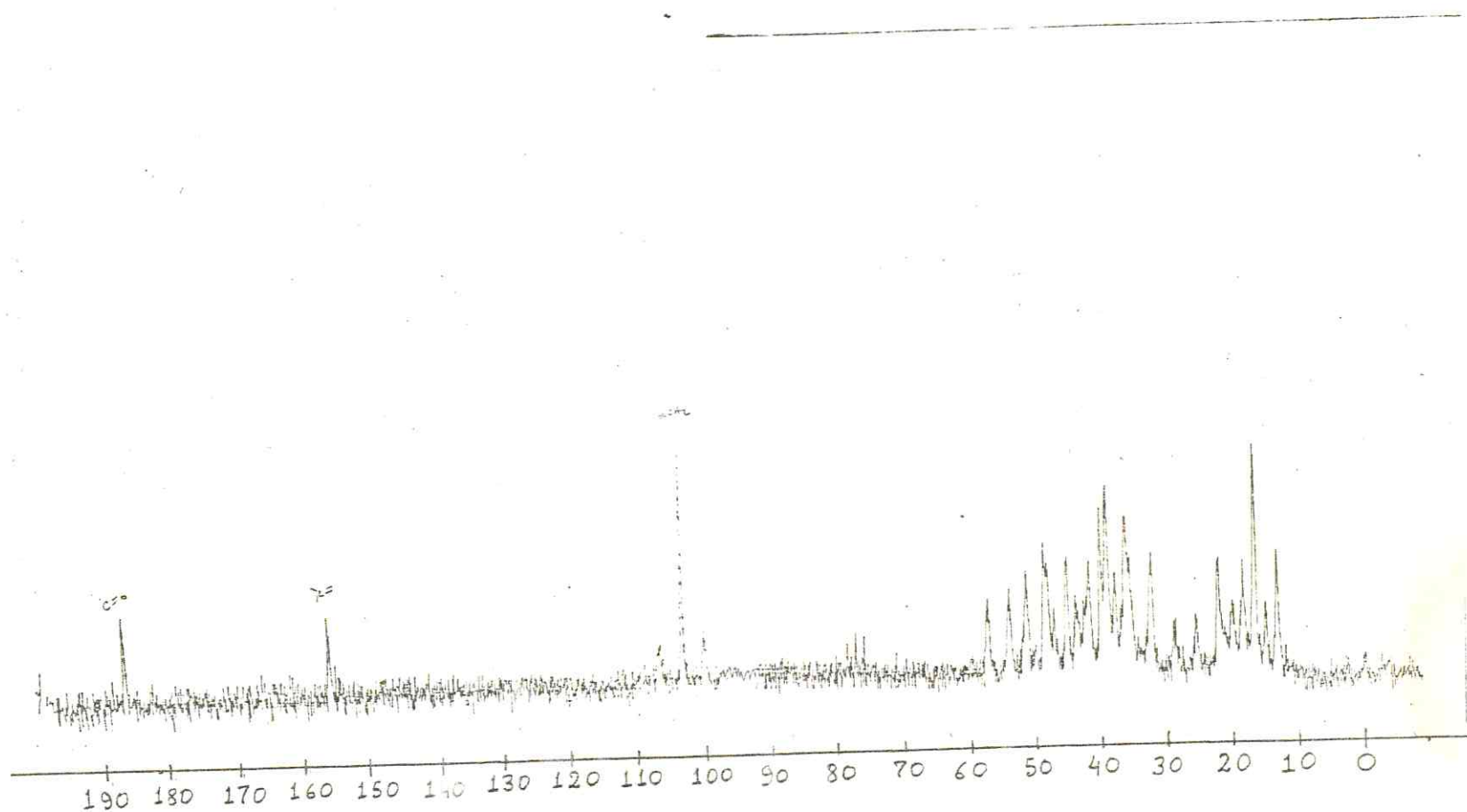


FIGURA 19. Espectro de RMN¹³C (com acoplamento residual) de Ca-38E.
(25.2MHz, CDCl₃, δ)

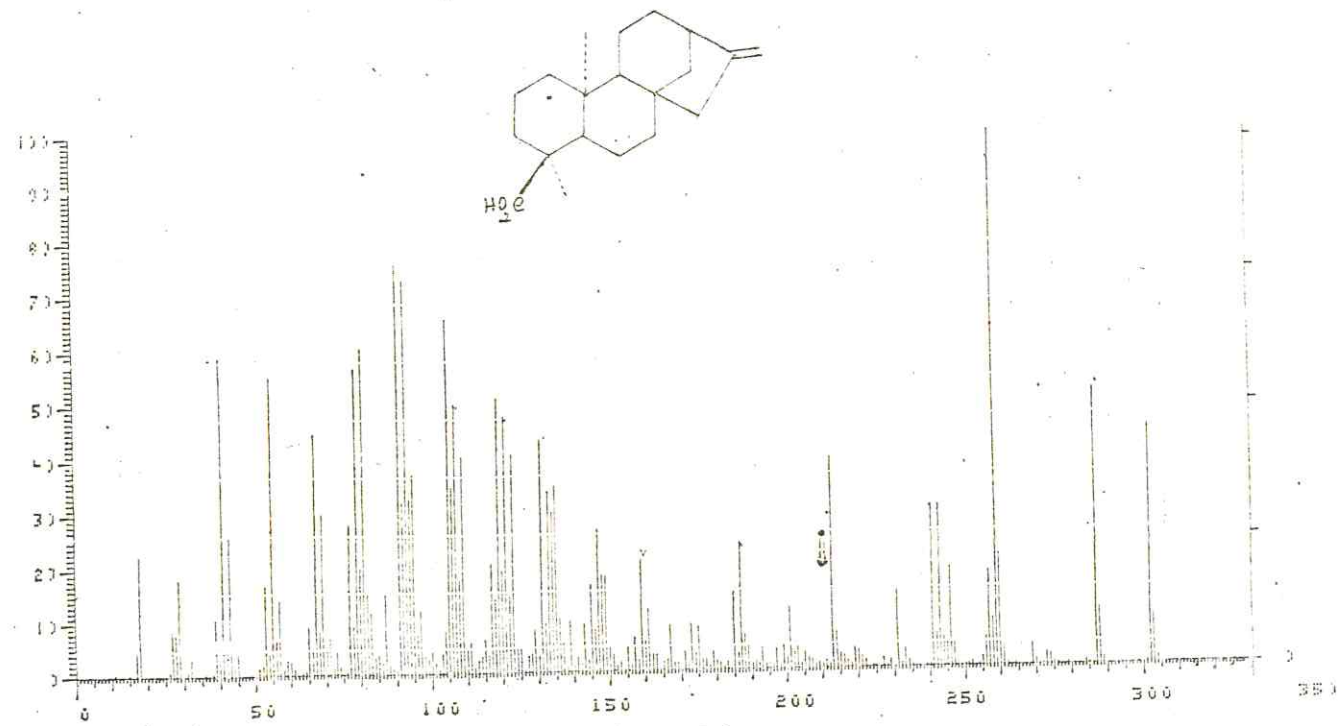
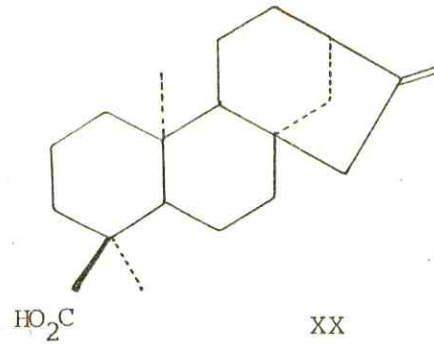


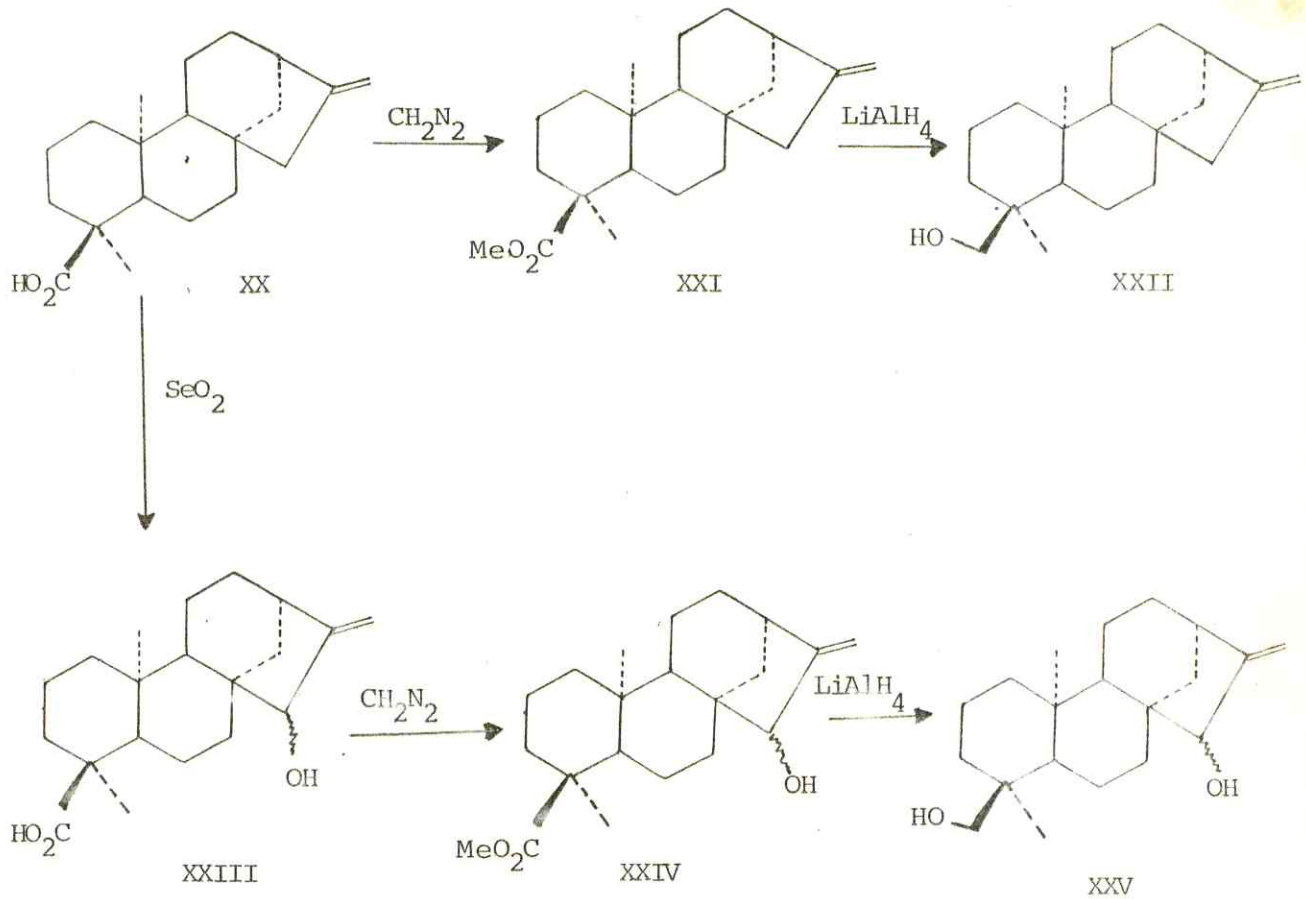
FIGURA 20. Espectro de massas de Ca-38E.

Estas deduções indicaram para Ca-38E a estrutura XX.



As reações químicas efetuadas com a Ca-38E forneceram produtos (Quadro 6) concordantes com a estrutura proposta.

Quadro 6 - Transformações químicas da Ca-38E.



A obtenção do éster metílico XXI foi indicada pelo pico simples em 3,74 δ no espectro de RMN¹H (Fig. 21, pág.52). Como esperado, a conversão do grupo carbometoxila em hidroximetilênico' (XXI a XXII) ocasionou um deslocamento para campo alto no espectro de RMN¹H (Fig.22,pág.53) do Me-4, aproximadamente o dobro (0,4 δ) daquele obtido na série axial (0,2 δ). As posições de absorção dos grupos metila Me-4 e Me-10 revelaram as modificações esperadas, ocasionando uma diferença razoável entre os deslocamentos químicos (0,33 δ) compatível com a observada em XIII.

A oxidação de XX com SeO₂ seguido de metilação e posterior redução com LiAlH₄ originou XXV. O espectro de RMN¹H (Fig. 23,pág.54) de XXV é semelhante ao correspondente espectro (Fig.7, pág.26) de XVII.

Os prótons hidroximetilênicos do produto XXV aparecem como sistema AB centrado em 3,22 δ , caracterizado por dois sinais duplos, como observado em XXII e XVII.

O ponto de fusão e os dados fornecidos pelos espectros I.V. de RMN¹H e de massas de Ca-38E revelaram-se idênticos aos de uma substância anteriormente isolada, (Ácido Argirofílico).^(26,27)

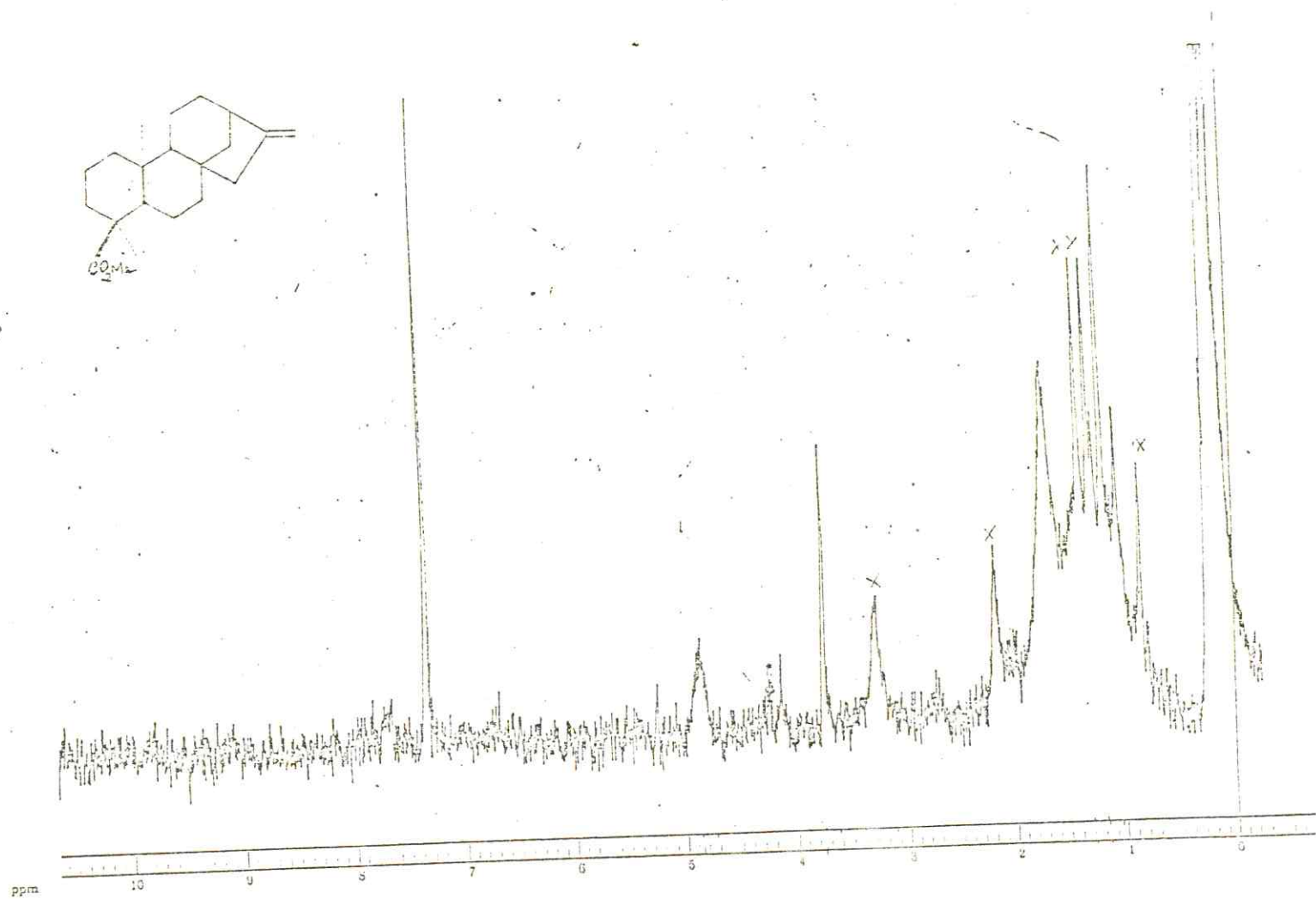


FIGURA 21. Espectro de RMN^1H de Ca-38E Me.
(60MHz, CDCl_3 , δ).



FIGURA 22. Espectro de RMN¹H de Ca-38E MeRed.
(60MHz, CDCl₃, δ).

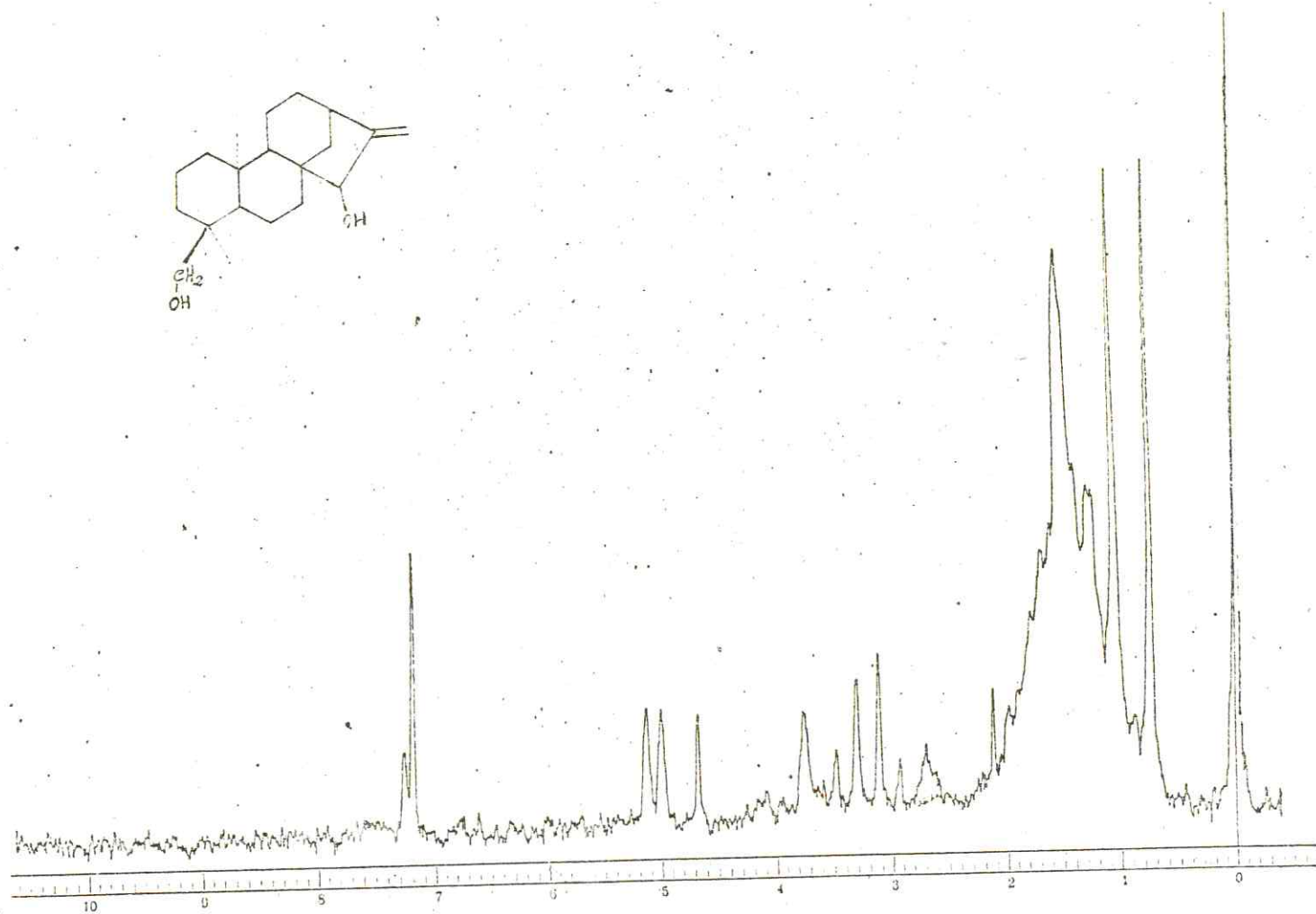


FIGURA 23. Espectro de RMN¹H de Ca-38E OximeRed
(60MHz, CDCl₃, δ).

2.3. DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE Ca-29E

A presença do anel furânico β substituído em Ca-29E foi sugerida pelos sinais em 8,05, 7,47 e 6,80 δ observados no espectro de RMN¹H registrado a 90MHz (Fig.24,pág.59), apresentando os dois últimos constante de acoplamento da ordem 2,5Hz, revelando a interação vicinal.

O espectro de RMN¹³C totalmente desacoplado (Fig. 25 , pág.60) exibiu vinte linhas, duas delas em campo relativamente baixo (215,50 e 195,00 δ) atribuídas a dois grupos carbonila. A análise comparativa dos espectros de RMN¹³C totalmente desacoplado e com acoplamento residual (Fig.26, pág.61) indicou o número de carbonos primários, secundários, terciários e quaternários (Tabela 7) possibilitando deduzir a fórmula molecular C₂₀H₂₇O₃.

Tabela 7. - Deslocamentos químicos dos carbonos (δ) de Ca-29E, registrados em CDCl₃ e TMS como referência interna.

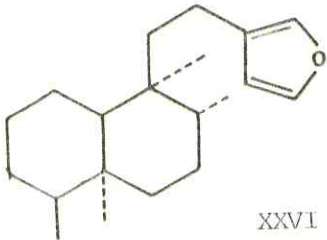
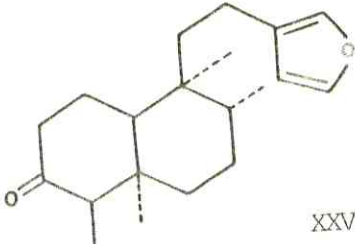
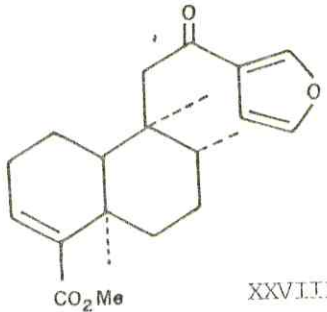
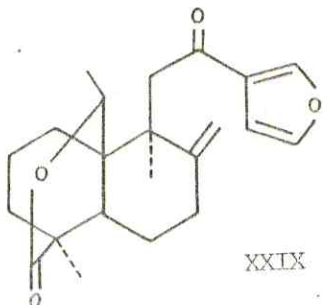
| C | CH | CH ₂ | CH ₃ |
|--|--------------------------------------|------------------------------------|--|
| 215,04 | 146,91 | 47,10 | 21,75 |
| 195,00 | 144,38 | 36,03 | 17,60 |
| 129,64 | 108,69 | 31,04 | 16,51 |
| 81,48 | 41,86 | 26,73 | 14,89 |
| 45,16 | <u>37,32</u> | <u>23,68</u> | - |
| <u>41,47</u> | | | |
| C ₆ | (CH) ₅ | (CH ₂) ₅ | (CH ₃) ₄ |
| (C=O) ₂ (C-O)(=C)(C) ₂ | (=CH) ₃ (CH) ₂ | (CH ₂) ₅ | (CH ₃) ₄ |
| <u>C₆O₃</u> | <u>C₅H₅</u> | <u>C₅H₁₀</u> | <u>C₄H₁₂ C₂₀H₂₇O₃</u> |

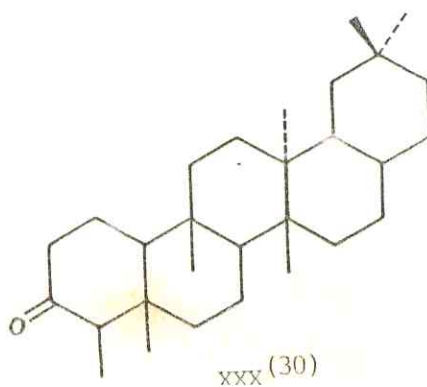
A incorporação de mais um átomo de oxigênio presente no anel furânico e a existência de grupo OH revelada pelo espectro I.V (Fig.27,pág.62) permitiram deduzir a fórmula molecular $C_{20}H_{28}O_4$ para a Ca-29E.

O espectro de massas de Ca-29E (Fig. 27,pág.63) (Esquema 4,pág.65) forneceu pico correspondente ao íon molecular em m/z 332, confirmando a fórmula molecular $C_{20}H_{28}O_4$, compatível com um diterpeno contendo sete insuficiências.

A existência do anel furânico β -substituído foi confirmado através dos dados de RMN (1H e ^{13}C) comparados com os de substâncias modelo (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação dos dados de RMN¹H e ¹³C da Ca-29E e de modelos descritos na literatura.

| DITERPENENO | C-16 | C-15 | C-14 | C-13 |
|--|----------------|----------------|----------------|--------------|
| | H-16 | H-15 | H-14 | Ref. |
| Ca-29E | 146,91 8,05 | 144,38 7,47 | 108,69 6,80 | 129,64 — |
|  XXVI | 142,60 7,22 | 138,40 7,35 | 111,00 6,33 | 125,90 28 |
|  XXVII | 142,80 7,23 | 138,50 7,37 | 110,90 6,23 | 125,40 28 |
|  XXVIII | 146,80 8,03 | 144,20 7,45 | 109,10 6,80 | 130,40 28 |
|  XXIX | 147,30 — | 144,00 — | 108,60 — | 127,60 29 |



Os deslocamentos químicos dos prótons 14,15 e 16 no espectro de RMN¹H (Fig. 24, pág.59) e dos carbonos 13,14,15 e 16 no espectro de RMN¹³C (Fig. 25, pág.60) da Ca-29E são comparáveis com os correspondentes prótons e carbonos dos diterpenos XXVIII e XXIX (Tabela 8).

O deslocamento químico do carbono carbonílico em 195,00δ, a absorção do grupo carbonila em 1650cm⁻¹ no espectro I.V. (Fig. 27, pág.62) e a presença dos picos em m/z 110 (12%) e 95 (67%) no espectro de massas (Fig.28, pág.63) confirmaram estas deduções.



Os deslocamentos químicos revelados pelo espectro de RMN¹³C e a existência do anel furânico e de duas carbonilas permitiram caracterizar a Ca-29E como um diterpeno com esqueleto bicíclico, totalizando as sete insuficiências deduzidas com base na fórmula molecular.

O grupo C=O que absorve em 1680cm⁻¹ no espectro na região do I.V. (Fig.27, pág.62) foi correlacionado com uma cetona em hexanel. Este grupo foi localizado no C-3 com base em argumentos biossintéticos, já que a oxidação desta posição em diterpenos naturais não é rara.

Além das observações acima mencionadas, o espectro de RMN¹H registrado a 90MHz (Fig.24, pág.59) apresentou ainda três grupos metila terciários, e um duplete em 0,90δ (J=7Hz), correspondente a um grupo metila secundário. O sinal largo em 3,80δ desaparece após adição de D₂O (Fig.29, pág.64) e, por isto, foi

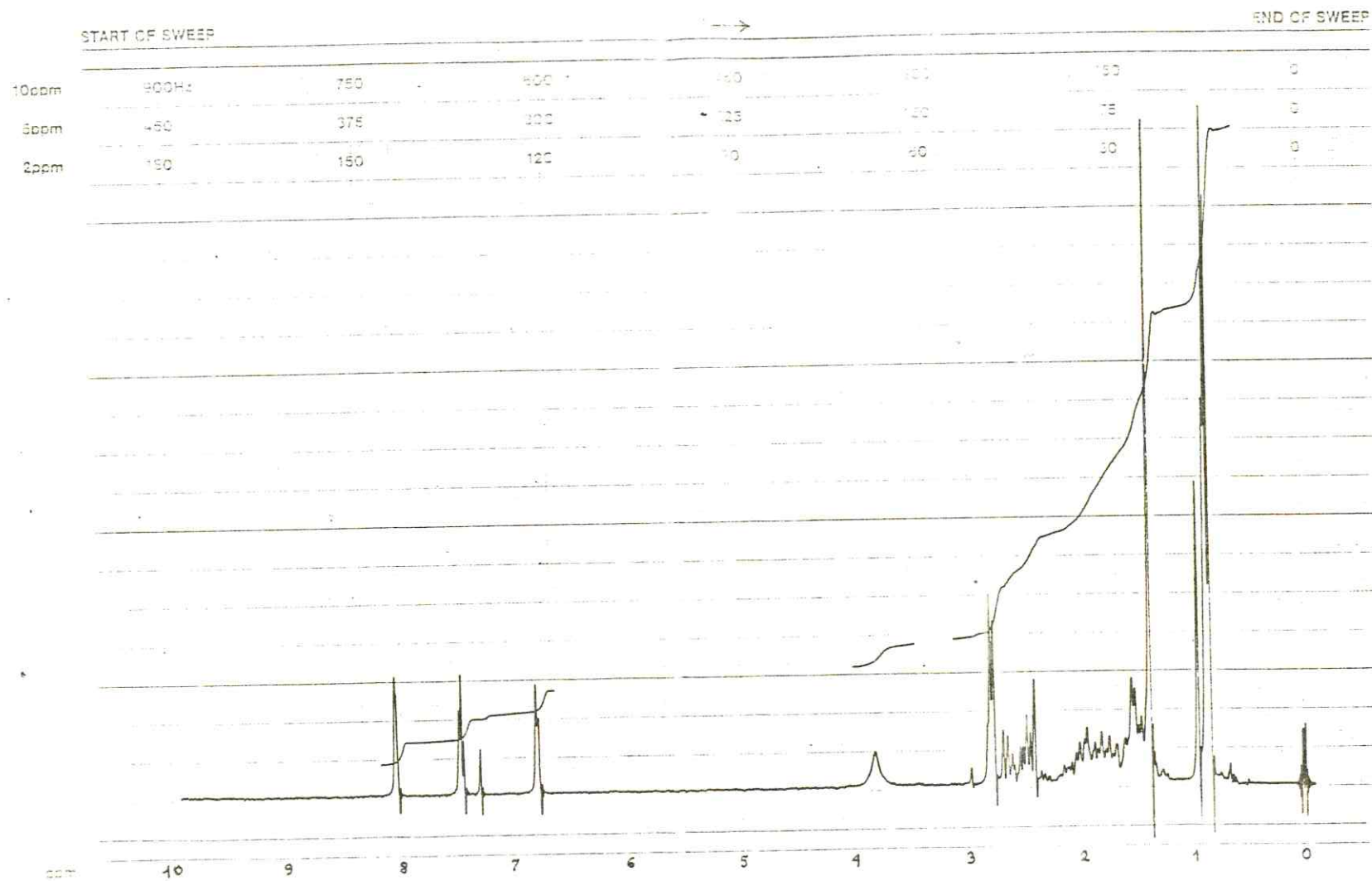


FIGURA 24. Espectro de RMN¹H de Ca-29E.
(60MHz, CDCl₃, δ).

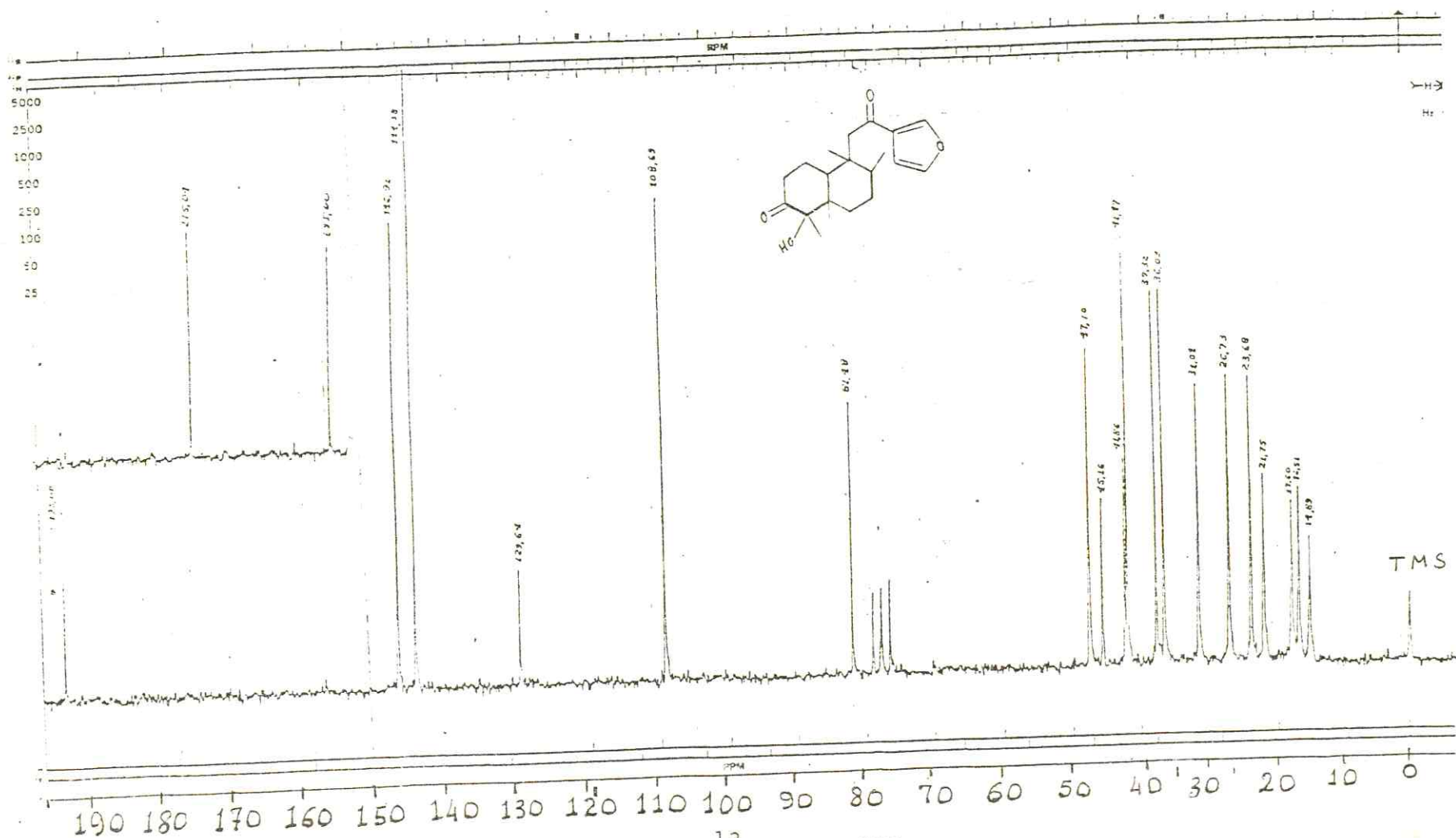


FIGURA 25 Espectro de RMN¹³C de Ca-29E.
(25.2 MHz, CDCl₃, δ).

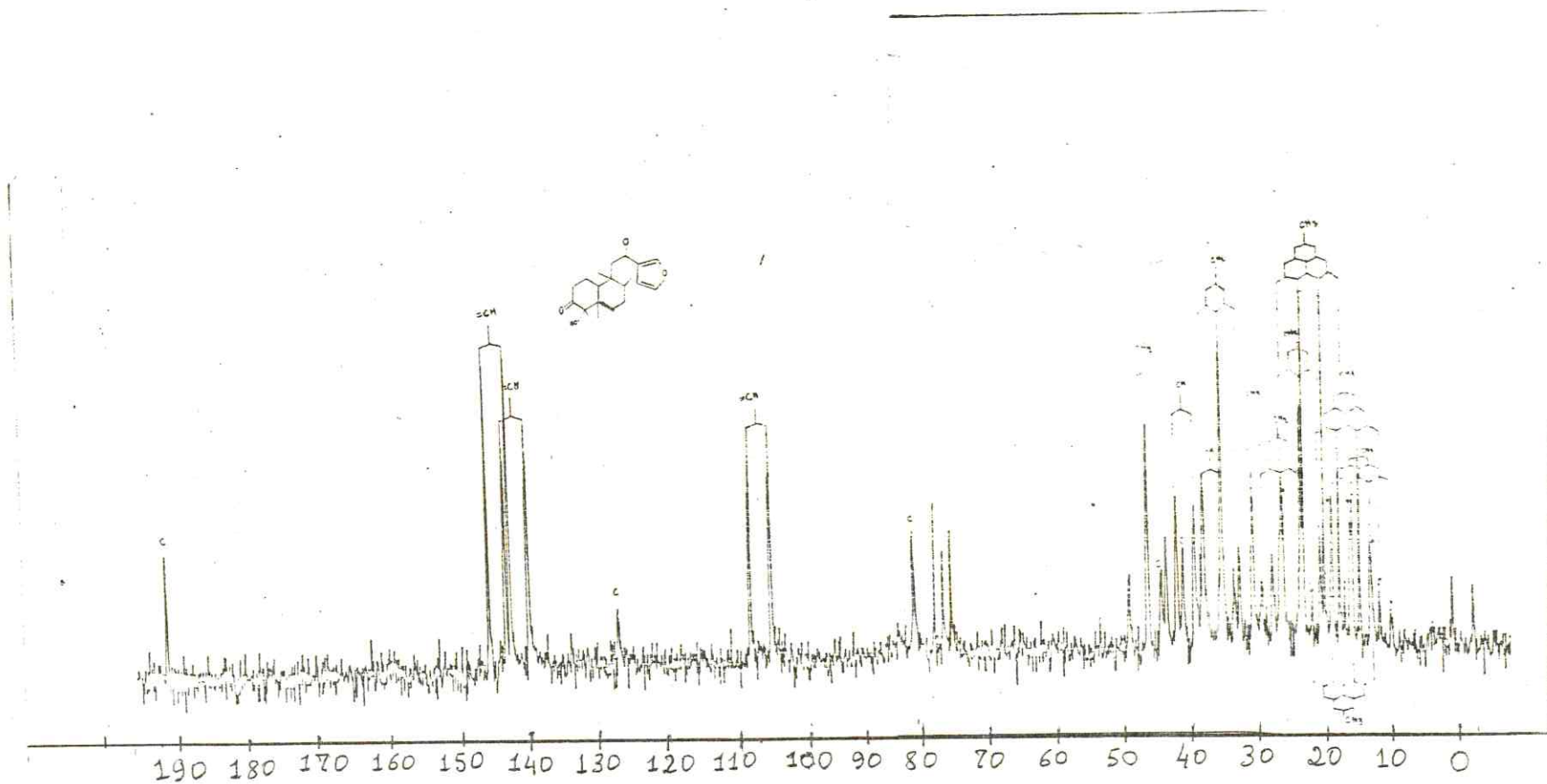


FIGURA 26. Espectro de RMN ^{13}C com acoplamento residual de Ca-29E.
(25.2MHz, CDCl_3 , δ).



FIGURA 27. Espectro de absorção no I.V. de Ca-29E.
(KBr).

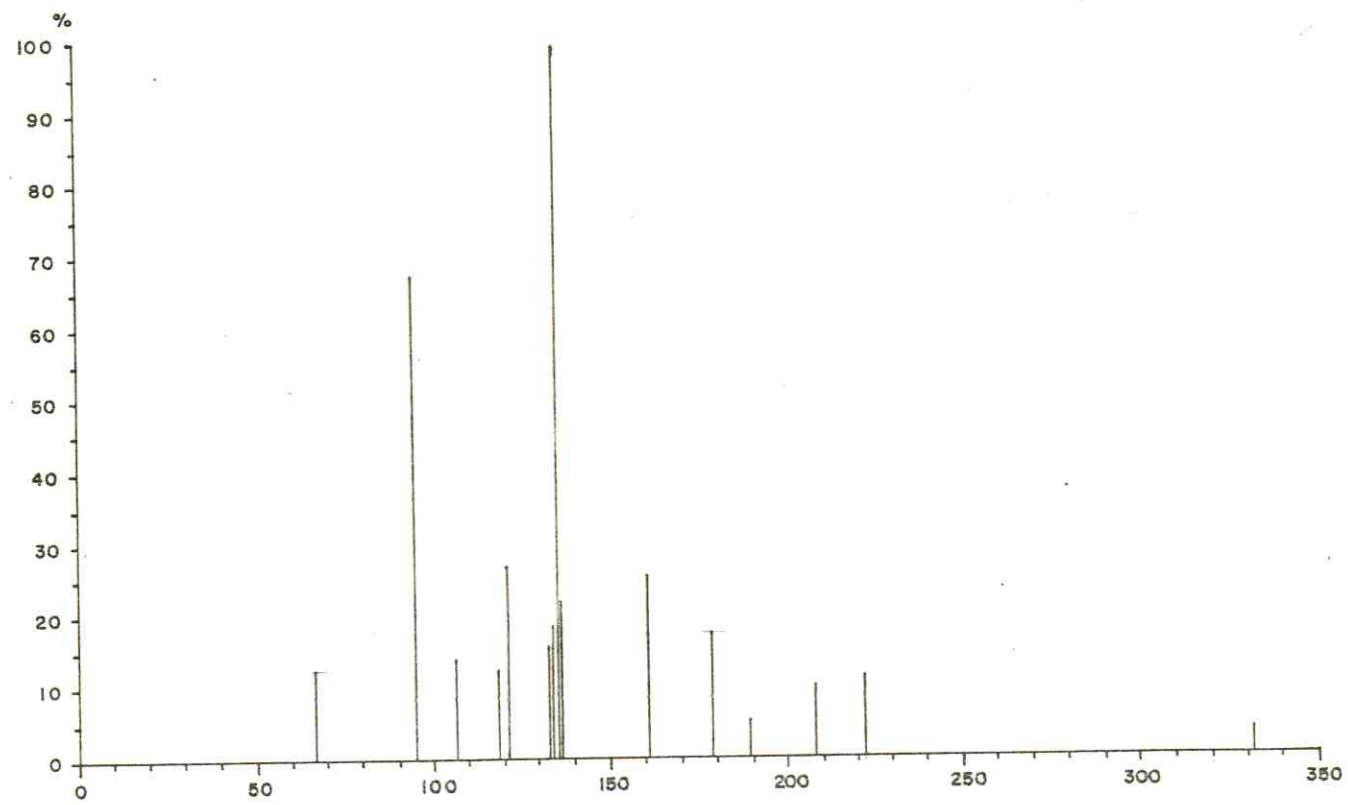


FIGURA 28. Espectro de massas de Ca-29E.

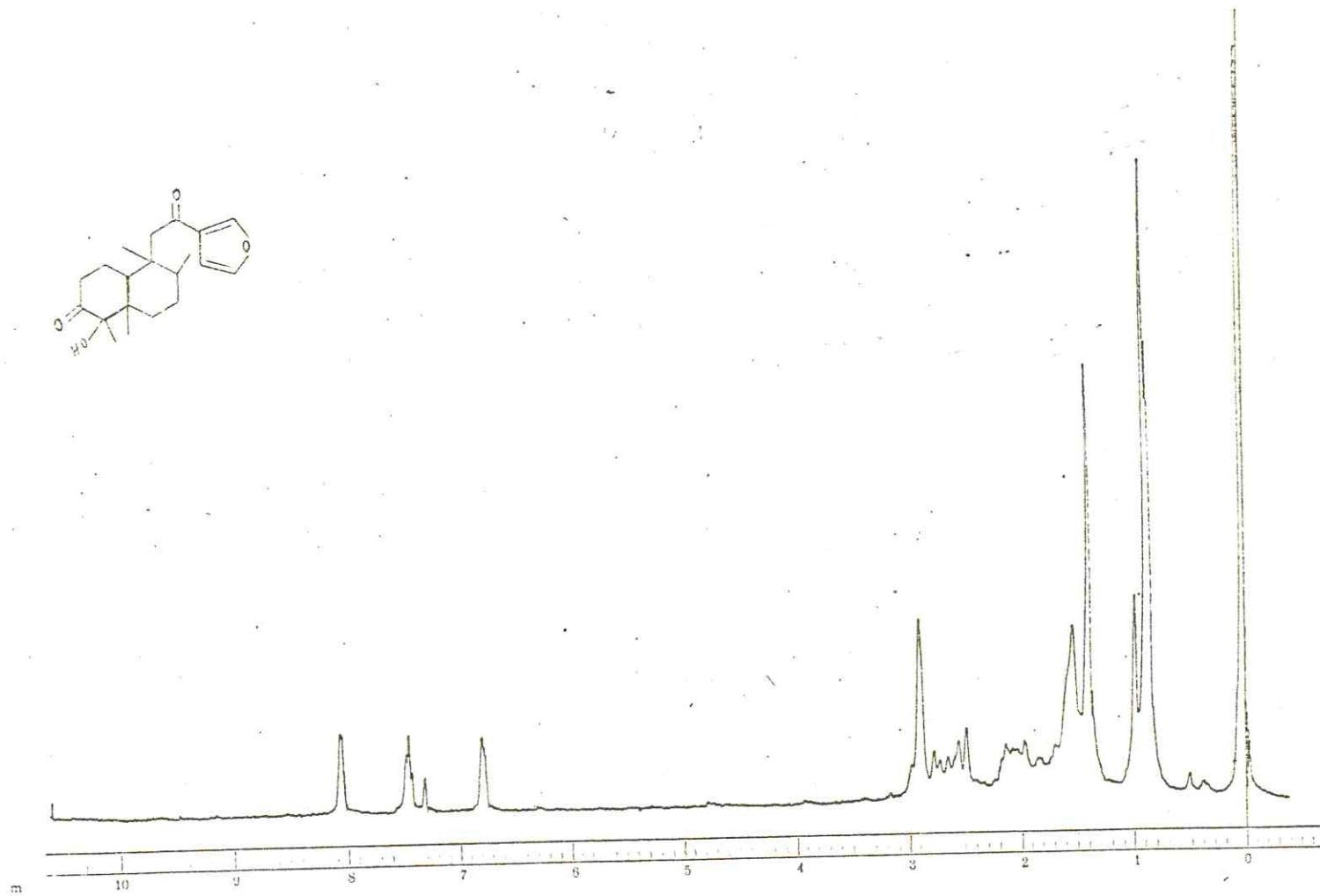
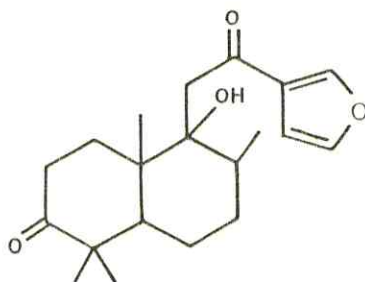


FIGURA 29. Espectro de RMN^1H de Ca-29E após adição de D_2O .
(60MHz, CDCl_3 , δ).

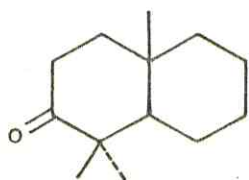
correlacionado com um proton de grupo hidroxila. Tratamento de Ca-29E com anidrido acético/piridina não forneceu derivado acetilado, indicando a natureza terciária do grupo hidroxila. A presença de grupo hidroxila foi confirmada pela banda fina em 3440 cm^{-1} que aparece no espectro I.V. (Fig.27,pág.62).

As conclusões acima, permitiram cogitar da constituição XXXI para Ca-29E.

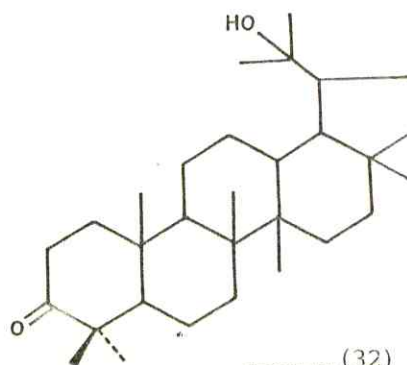


XXXI

Entretanto, os deslocamentos químicos dos átomos de carbonos do anel A, comparados com os dos modelos XXXII-XXXV não sustentaram esta possibilidade constitucional. Esta alternativa foi afastada definitivamente pela ausência de sinais de CH-5 e de Me-4 em torno de 54,00 e 26,00 δ , respectivamente, no espectro de RMN¹³C de Ca-29E. Os dados descritos na Tabela 9 demonstraram que os deslocamentos químicos destes carbonos não sofrem modificações significativas em terpenóides com esta situação estrutural no anel A.



XXXII (31)



XXXIII (32)

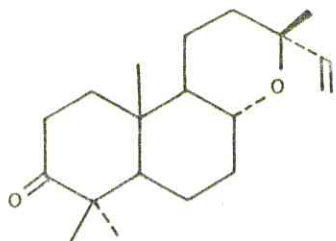
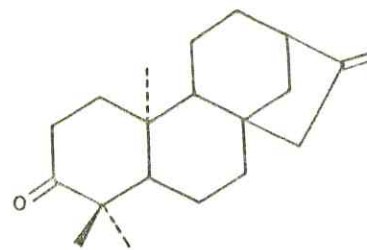
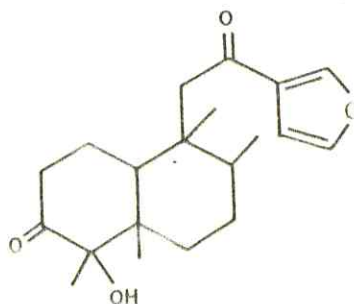
XXXIV⁽³³⁾XXXV⁽³⁴⁾

Tabela 9 - Deslocamentos químicos dos carbonos do anel A de Ca-29E e dos modelos XXXII, XXXIII, XXXIV e XXXV descritos na literatura.

| Carbonos | XXXII | XXXIII | XXXIV | XXV | Ca-29E |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1 | 40,30 | 39,60 | 37,80 | 39,00 | 23,68 |
| 2 | 34,30 | 34,60 | 33,80 | 33,90 | 36,03 |
| 3 | 215,30 | 217,80 | 217,30 | 217,10 | 215,04 |
| 4 | 47,20 | 47,20 | 47,30 | 47,00 | 81,48 |
| 5 | 52,90 | 54,90 | 54,90 | 53,60 | 45,16 |
| 10 | 33,50 | 36,80 | 36,50 | 38,50 | 41,86 |
| 18 | 24,70 | 26,70 | 26,60 | 27,30 | 21,75 |
| 19 | 20,70 | 21,00 | 20,80 | 21,00 | 14,89 |

Em função destas observações, foi proposta para Ca-29E a constituição XXXVI, contendo esqueleto labdânico modificado e denominado clerodano⁽³⁵⁾.



XXXVI

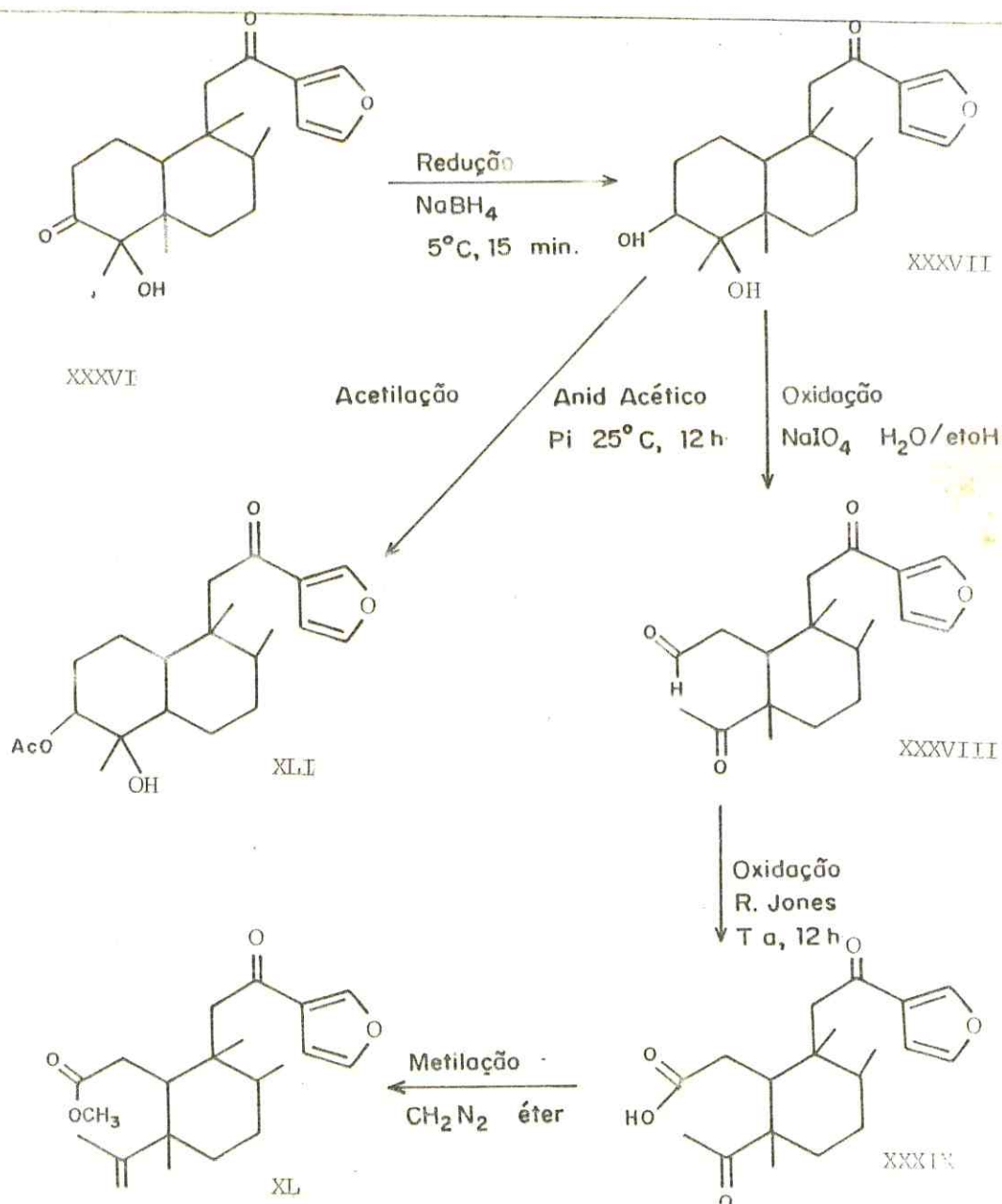
Os dados espectroscópicos disponíveis, a biogênese de diterpenos e a reações químicas efetuadas revelaram-se em acordo com esta dedução. A presença do grupo hidroxila no C-4, justificou o singlete representando grupo metil em campo relativamente baixo (1,36 δ) no espectro de RMN¹H, atribuído ao grupo Me-4.

A. Reações químicas de confirmação da constituição XXXVI

A.1. Localização do grupo OH no carbono alfa a carbonila (C-4).

A localização do grupo hidroxila terciário no C-4 foi justificada por intermédio das reações descritas no Quadro 7.

Quadro 7 - Transformações químicas de Ca-29E



O diol obtido pela redução seletiva da carbonila no C-3 com NaBH_4 foi evidenciado pelos seguintes dados:

a) Aparecimento de um multiplete em 3,55 δ no espectro de RMN^1H (Fig.30, pág.70) de XXXVII, atribuído ao próton carbinólico H-3;

b) Aumento de 2 unidades no peso molecular de XXXVII (Fig. 31, pág.71) (M^+ 334) quando comparado com o peso molecular de XXXVI (Fig. 28, pág.63) (M^+ 332, Esquema 4).

c) Ausência de banda em 1700cm^{-1} no espectro no I.V. (Fig.32, pág.72) da XXXVII;

d) Presença de banda adicional (3340cm^{-1}) na região de estiramento O-H de álcoois no espectro I.V. (Fig.32, pág. 72) da XXXVII;

e) Deslocamento paramagnético do multiplete em 3,55 δ do H-3 observado no espectro de RMN^1H de XXXVII (Fig. 30, pág.70), para 4,70 δ no espectro de RMN^1H (Fig. 33, pág.73) no derivado acetilado (XLI), em consequência da acetilação.

Tratamento de XXXVII com NaIO_4 produziu, como esperado, o ceto aldeído XXXVIII, comprovando que se formou um diol vicinal em XXXVII. O derivado XXXVIII foi identificado por espectrometria de RMN^1H (Fig.34, pág. 75):

a) Singlete largo em 9,65 δ caracterizou o próton aldeídico;

b) Singlete intenso em 2,25 δ revelou os prótons do grupo metilacetona.

Oxidação de XXXVIII com o reagente de Jones produziu o ácido correspondente (XXXIX), que foi metilado com diazometano para obtenção do éster metílico XL. O espectro de RMN^1H (Fig.35, pág.76) de XL exibiu sinais que permitiram sua identificação, destacando-se o sinal simples e intenso em 3,48 δ , característico do grupo carbometoxílico.

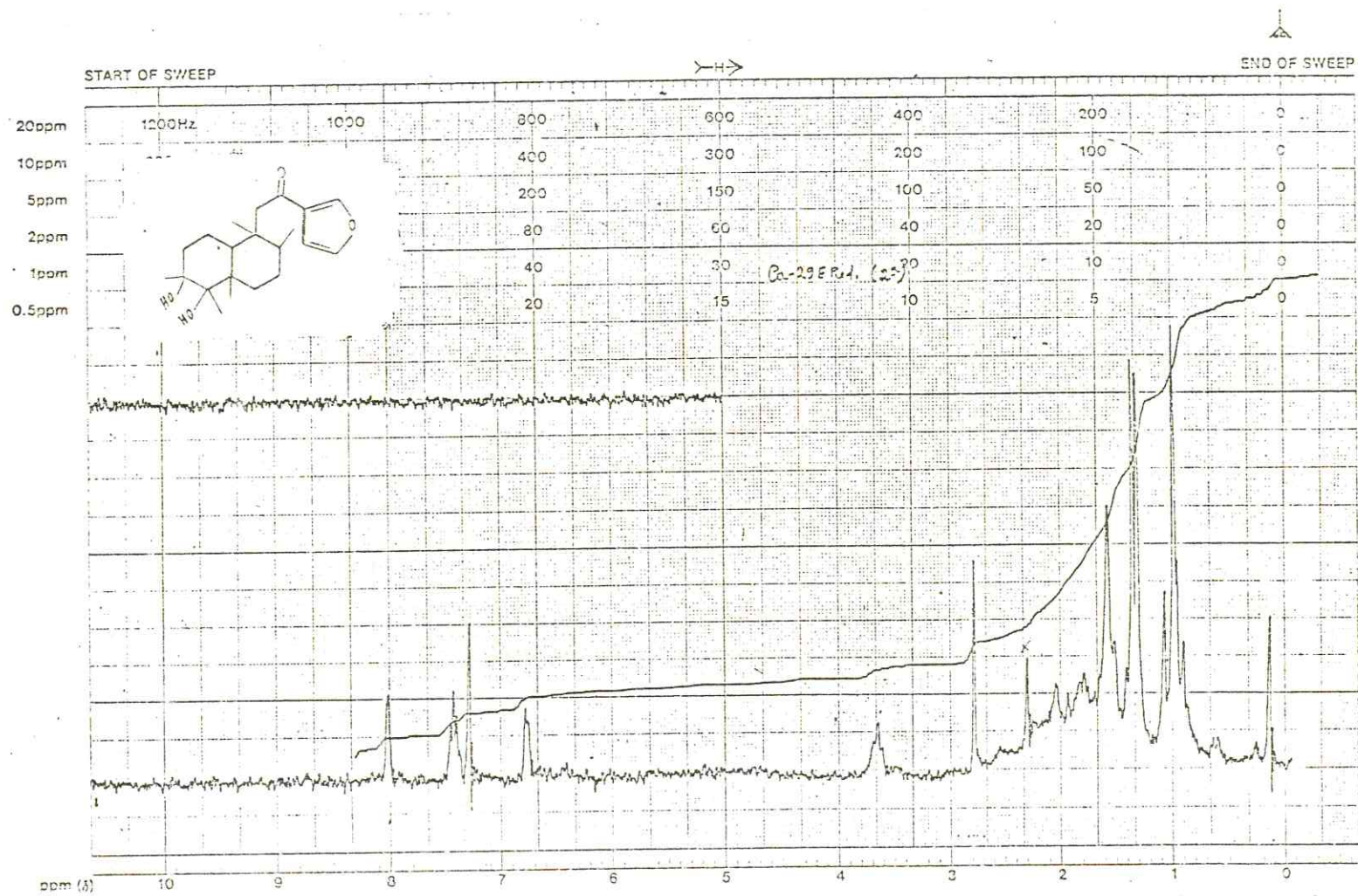


FIGURA 30. Espectro de RMN¹H de Ca-29E Red₃.
(60MHz, CDCl₃, δ).

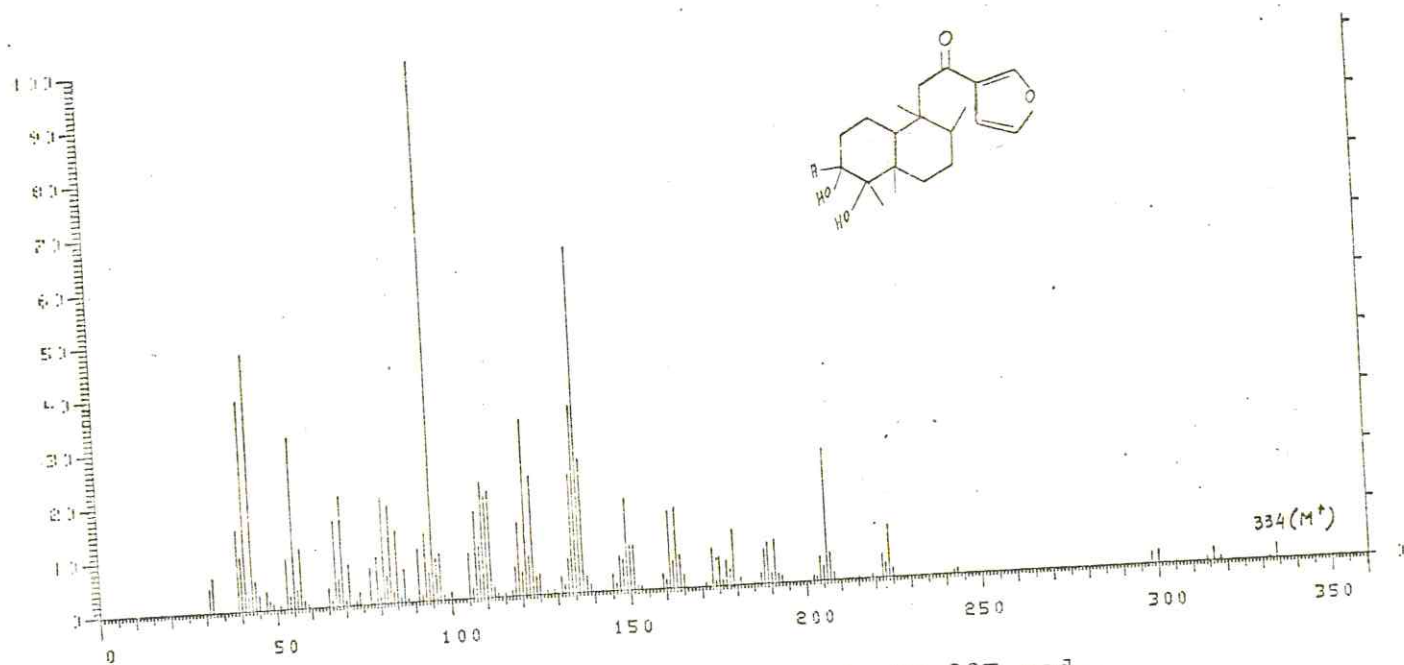


FIGURA 31. Espectro de massas de Ca-29E red₃.

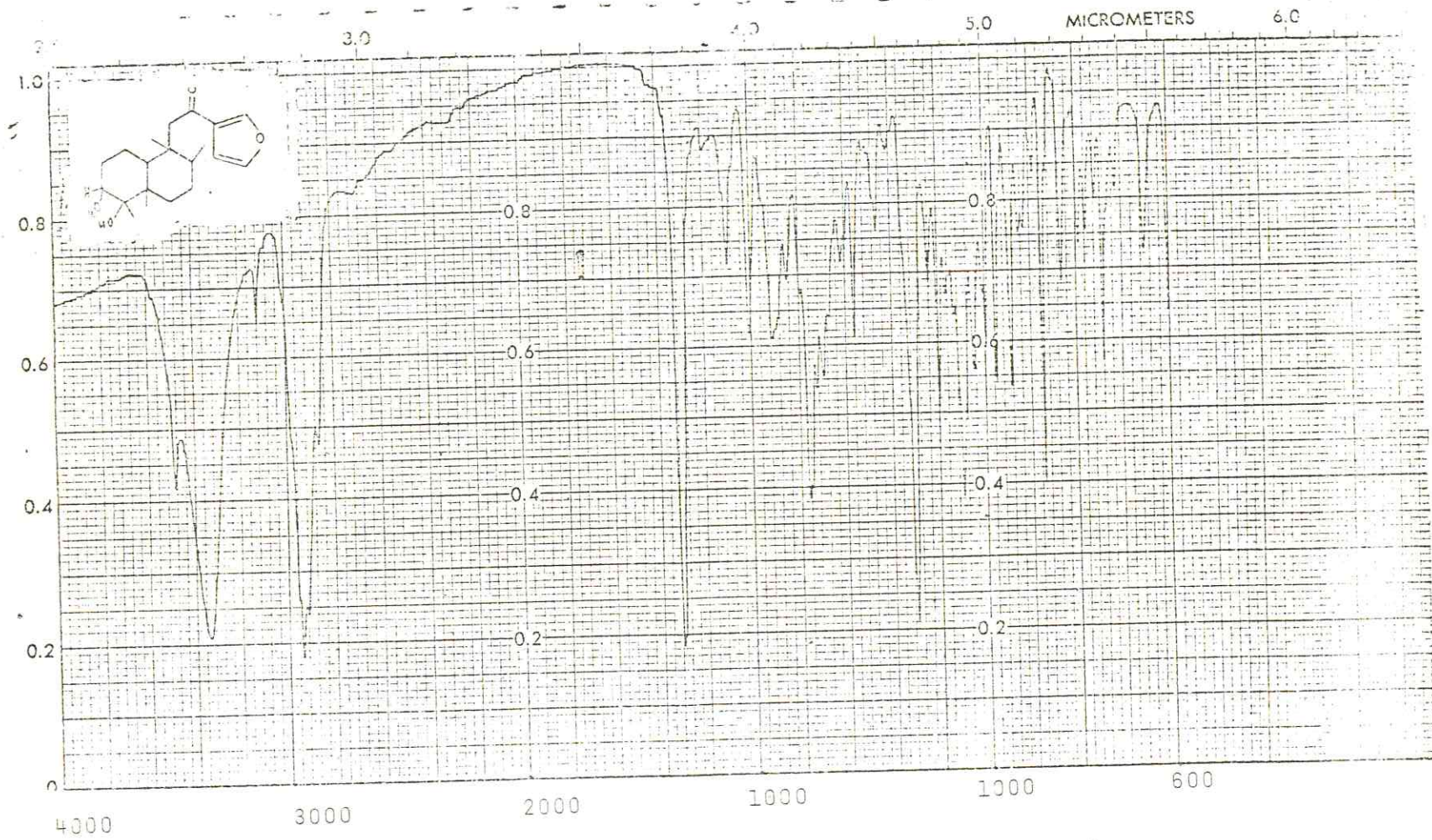


FIGURA 32. Espectro de absorção no I.V. de Ca-29E Red₃.
(KBr).

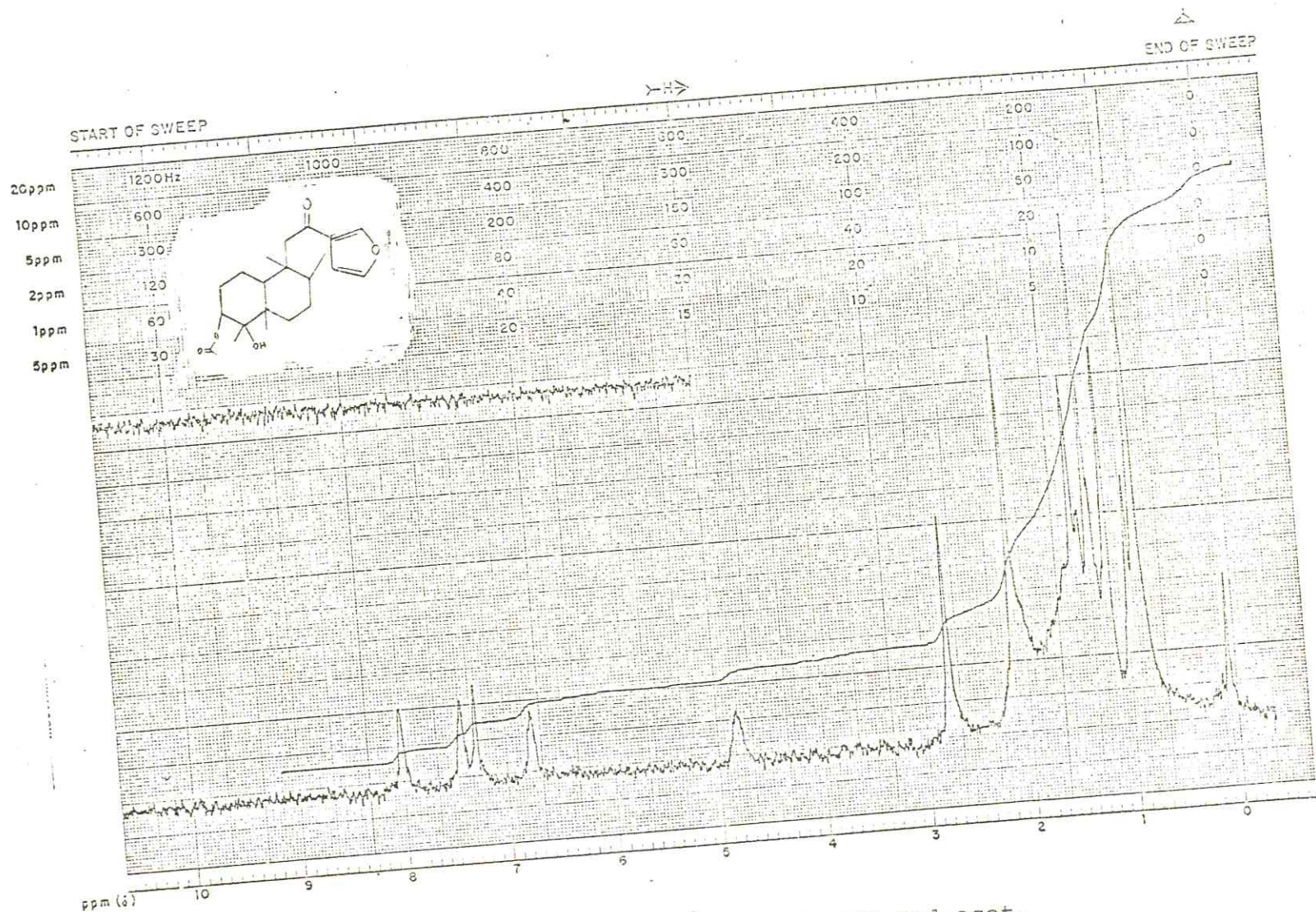
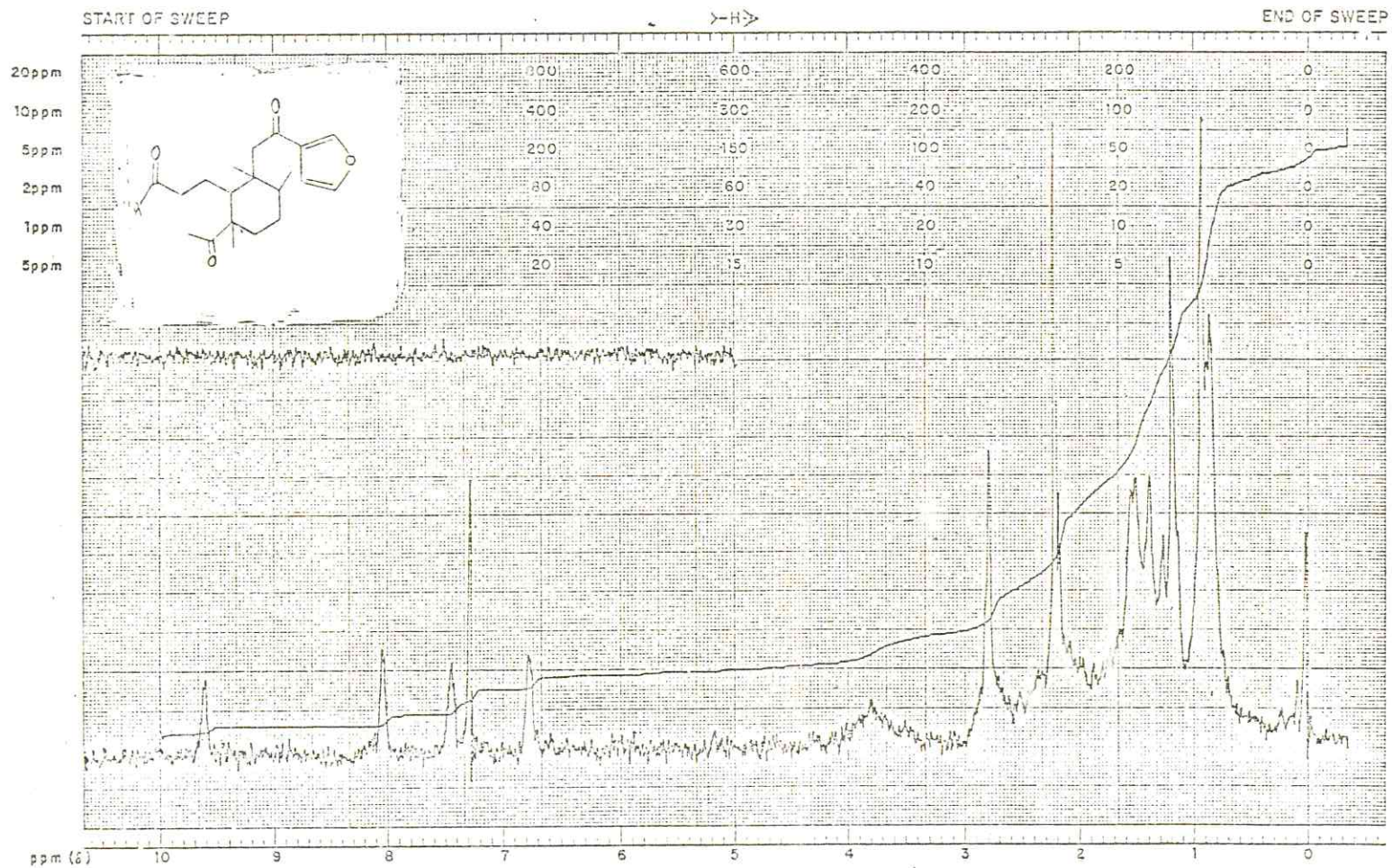


FIGURA 33. Espectro de RMN^1H de Ca-29E Red₃acet.
(60MHz, CDCl_3 , δ).



1 FIGURA 34. Espectro de RMN¹H de Ca-29E Red₃Oxi.
(60MHz, CDCl₃, δ).

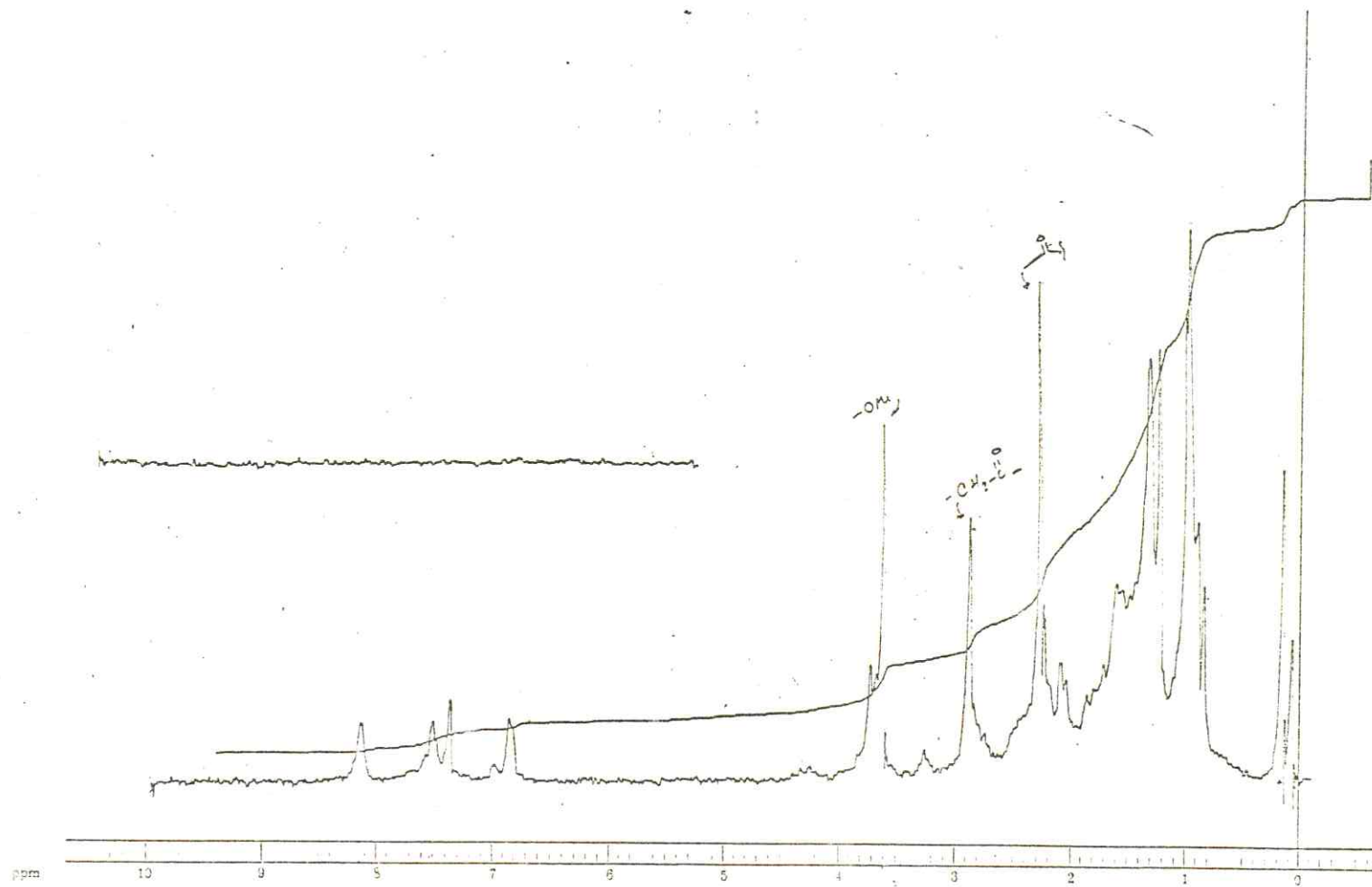
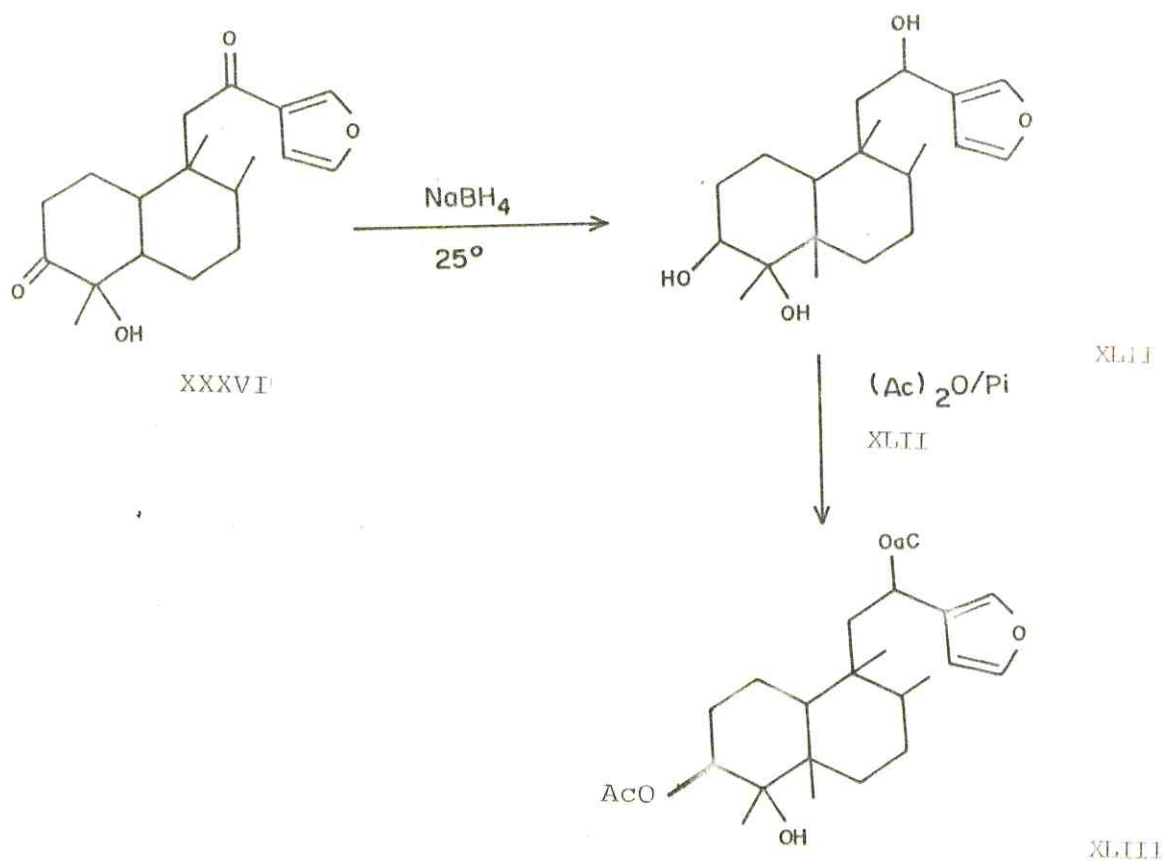


FIGURA 35. Espectro de RMN¹H de Ca-29E Red₃OxiOxiMe.
(60MHz, CDCl₃, δ).

A sequência reacional mostrada no Quadro 8 forneceu produtos que revelaram resultados concordantes com a localização da carbonila no C-12, posição conjugada com o anel furânico.

Quadro 8 - Redução dos grupos carbonila de Ca-29E e acetilação do produto reduzido.



a) Os sinais dos protons furânicos, que apareceram em 8,05 δ , 7,47 δ e 6,80 δ no espectro de RMN^1H (Fig.24, pág.59) do produto natural XXXVI foram convertidos em dois multipletos no espectro de RMN^1H (Fig.36, pág.78) do triol XLII. Um dos multipletos ocorre em 7,37 δ e o outro em 6,40 δ , com relação integracional de 2:1, respectivamente. A absorção em 7,37 δ está em acordo com a transformação de carbonila em hidroxila. A eliminação do efeito anisotrópico do grupo C=O tornou os prótons 15 e 16 do

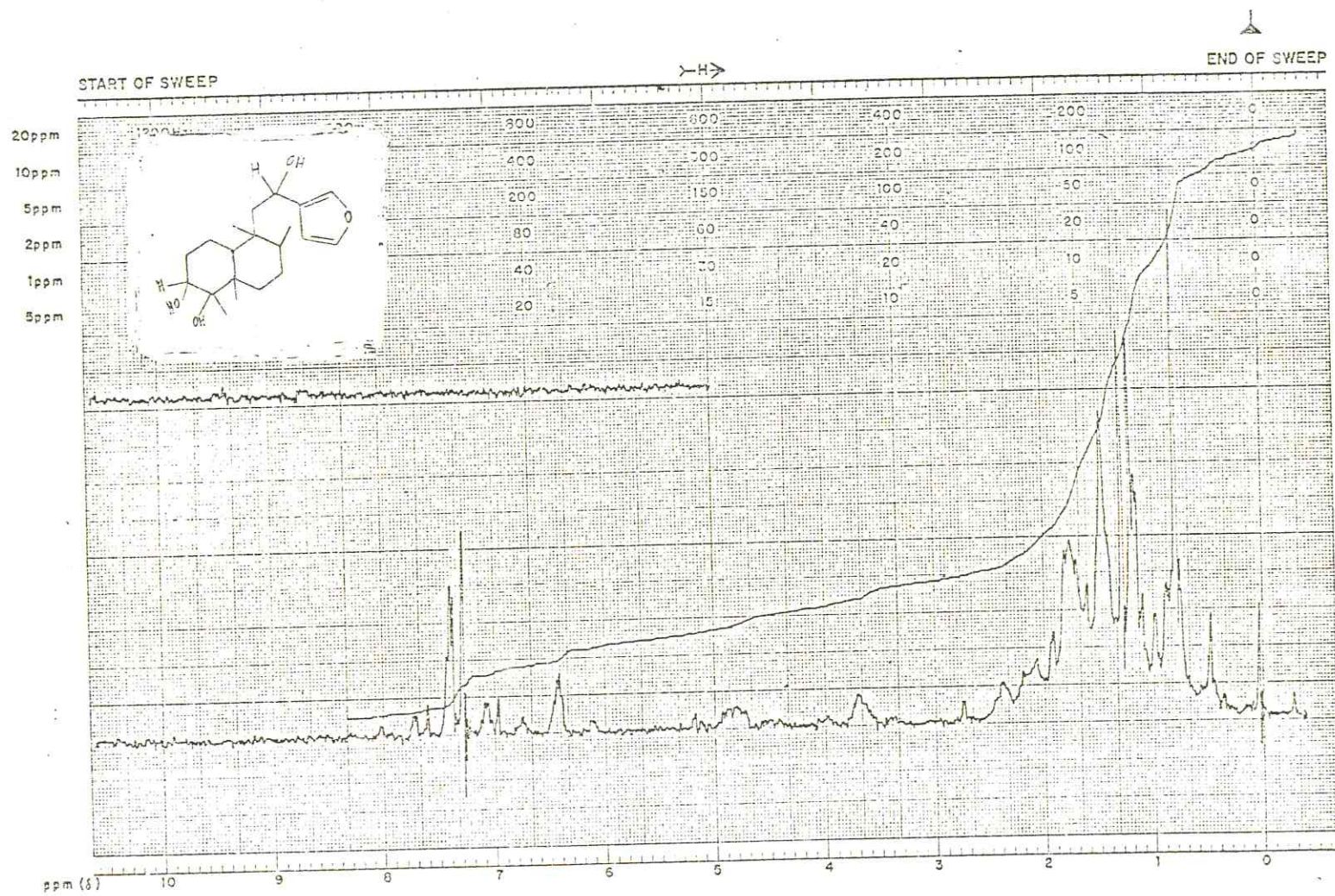


FIGURA 36. Espectro de RMN¹H de Ca-29Red_{3,12}.
(60MHz, CDCl₃, δ).

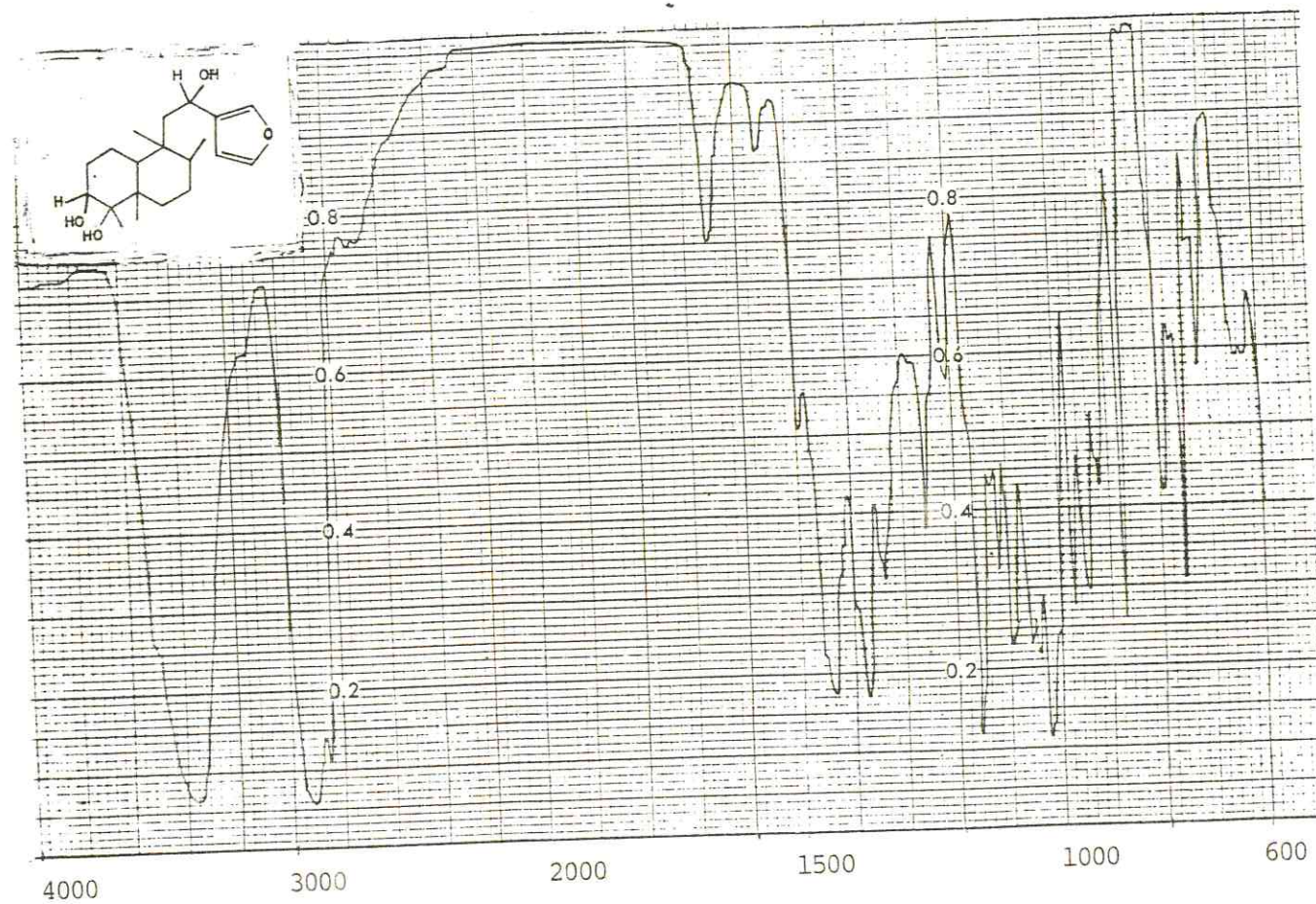


FIGURA 37. Espectro de absorção no I.V. de Ca-29E Red_{3,12}.
(KBr).

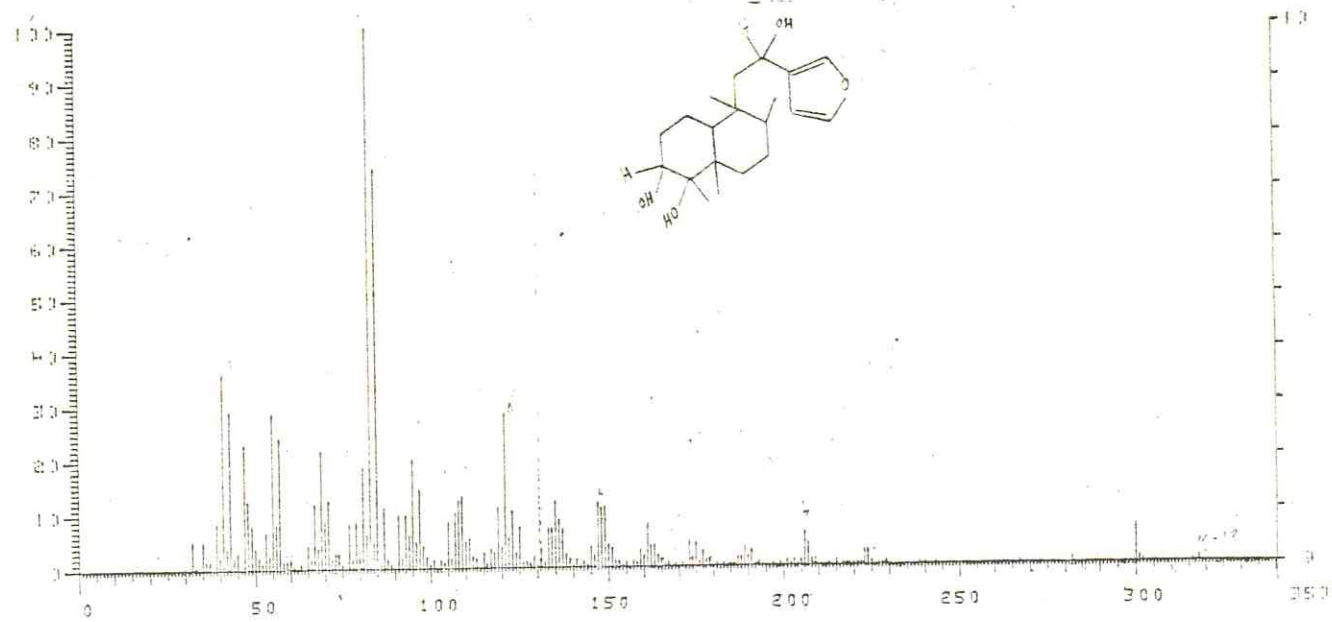


FIGURA 38. Espectro de massas de Ca-29E Red_{3,12}.

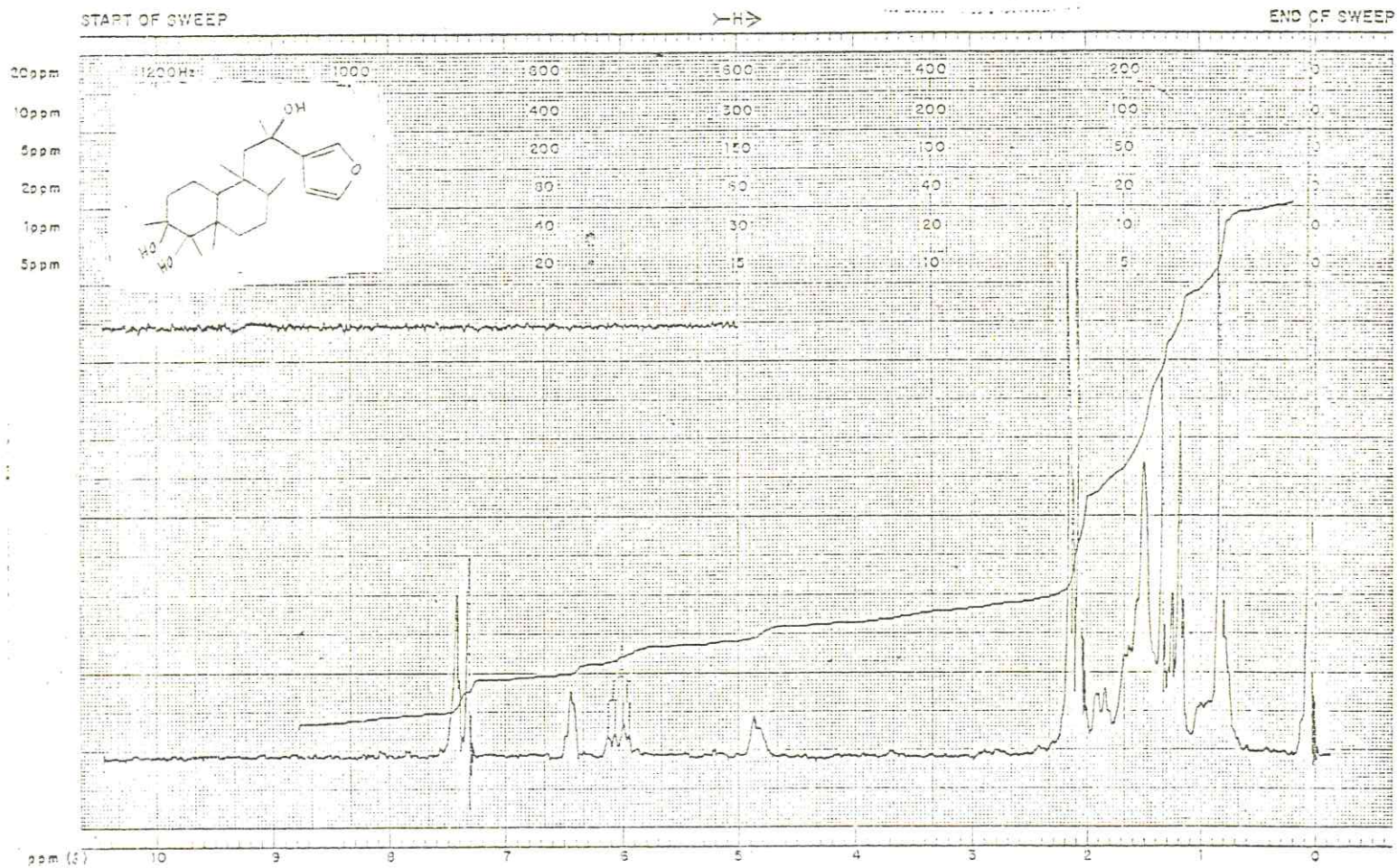
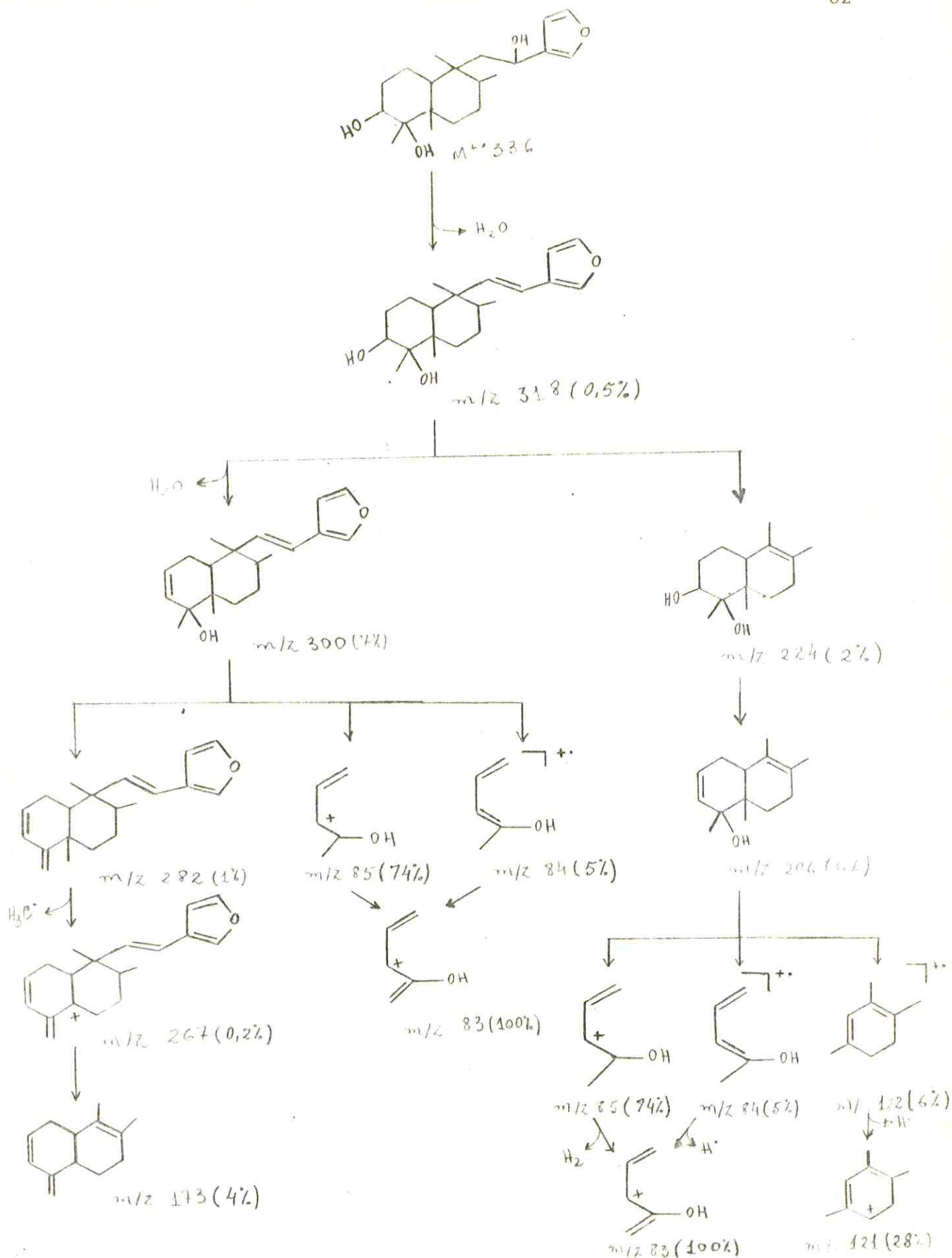


FIGURA 39. Espectro de RMN¹H de Ca-29E Red_{3,12}acet.
(60MHz, CDCl₃, δ).



ESQUEMA 6 - Possíveis caminhos de fragmentação de XLII
 (Ca-29E Red_{3,12}) no espectômetro de massa.

anel furânico, quase magneticamente equivalentes, ocorrendo ao mesmo tempo deslocamento para campo alto. O próton 14 também sofreu o efeito da redução da carbonila, apresentando um deslocamento diamagnético menor ($6,80 - 6,45 = 0,35\delta$).

b) Os dois multipletos representantes dos prótons carbinólicos do C-3 e do C-12 revelaram deslocamentos químicos bastante distintos ($3,65\delta$, H-3 e $4,82\delta$, H-12), demonstrando o efeito anisotrópico do anel furânico sobre o H-12.;

c) O espectro no I.V. (Fig.37, pág.79) de XLII mostrou o desaparecimento das bandas intensas em 1660 e 1700cm^{-1} região de estiramento de carbonilas. Por outro lado, a região de estiramento de O-H exibiu uma banda gorda e intensa, envolvendo os três grupos hidroxila localizados nos carbonos 3,4 e 12;

d) O pico de maior massa observado no espectro de massas de XLII (Fig.39, pág.80) (Esquema 6, pág.82) ocorre em 318, o que pode ser explicado pela perda de uma molécula de água do íon molecular ($M^+ 336 \xrightarrow{-H_2O} m/z 318$).

A eliminação de mais duas moléculas de água, fornecendo fragmentos com $m/z 300$ e 282 ($m/z 318 \xrightarrow{-H_2O} m/z 300 \xrightarrow{-H_2O} m/z 282$), está em acordo com a presença de três hidroxilas em XLII. A obtenção do derivado diacetilado XLIII foi deduzida da análise do espectro de RMN^1H (Fig.39, pág.81) pela presença de sinais correspondentes aos grupos acetoxila ($2,05$ e $2,13\delta$) e aos prótons carbinólicos (H-3: $4,70\delta$; H-12: $6,00\delta$).

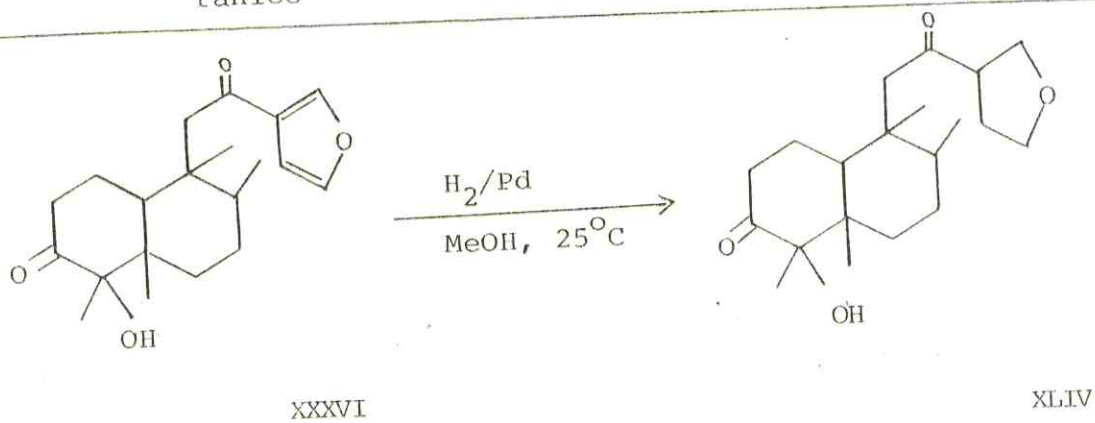
A.3. Caracterização química do anel furânico

A existência do anel furânico foi ainda confirmada quimicamente através da hidrogenação catalítica de XXXVI (Quadro 9).

O espectro de RMN^1H (Fig.40, pág.85) do produto de adição exibiu sinais entre $4,0$ e $3,5\delta$ correspondentes aos prótons dos carbonos sp^3 15 e 16.

Além disto, o espectro de massas (Fig.41, pág.86) registrou um peso molecular 336μ , comprovando a adição de 2 moles de hidrogênio (Esquema 7, pág.87).

Quadro 9 - Conversão do anel furânico de Ca-29E em tetrahidrofurânico



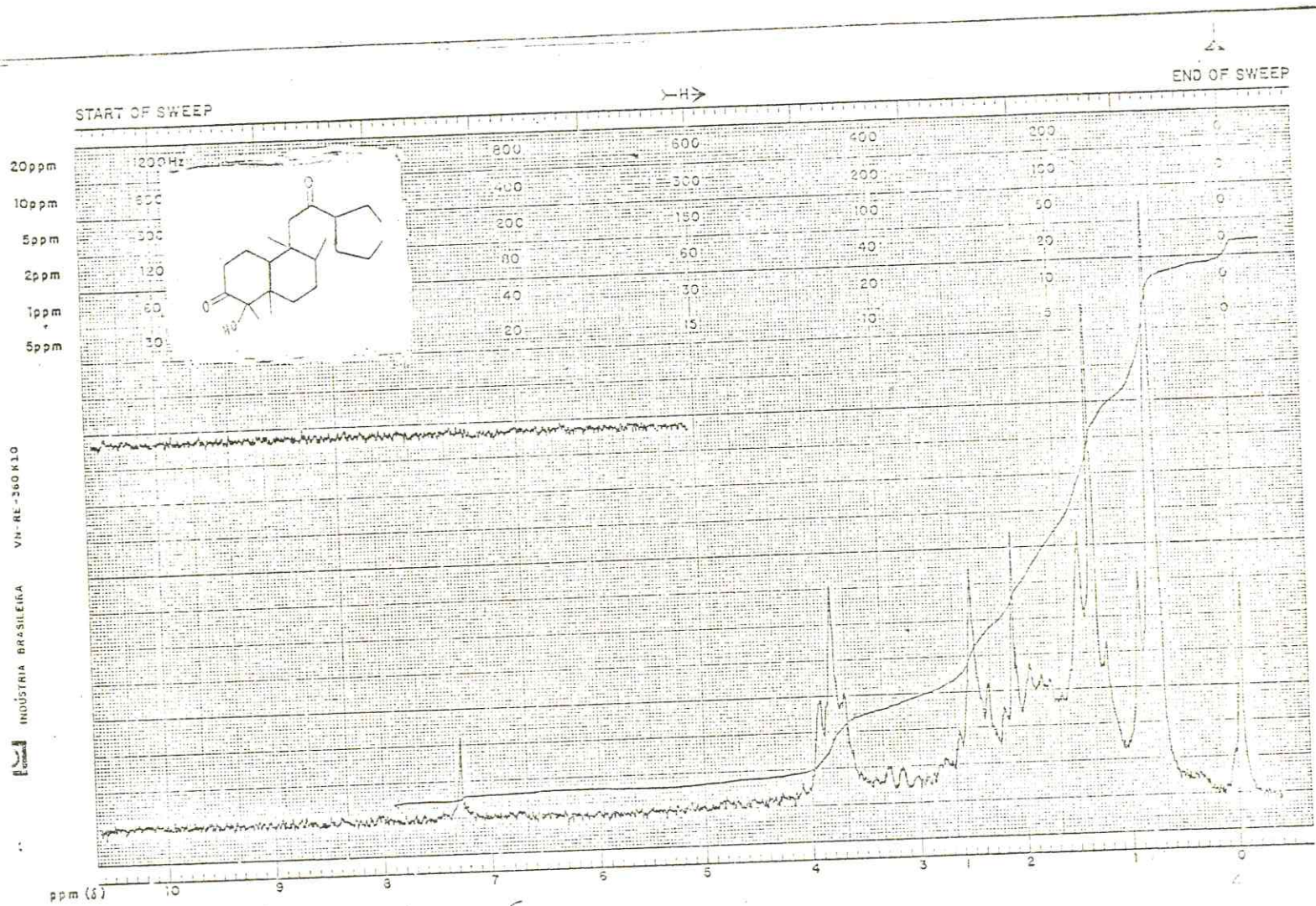


FIGURA 40. Espectro de RMN¹H de Ca-29E H₂.
 (60MHz, CDCl₃, δ).

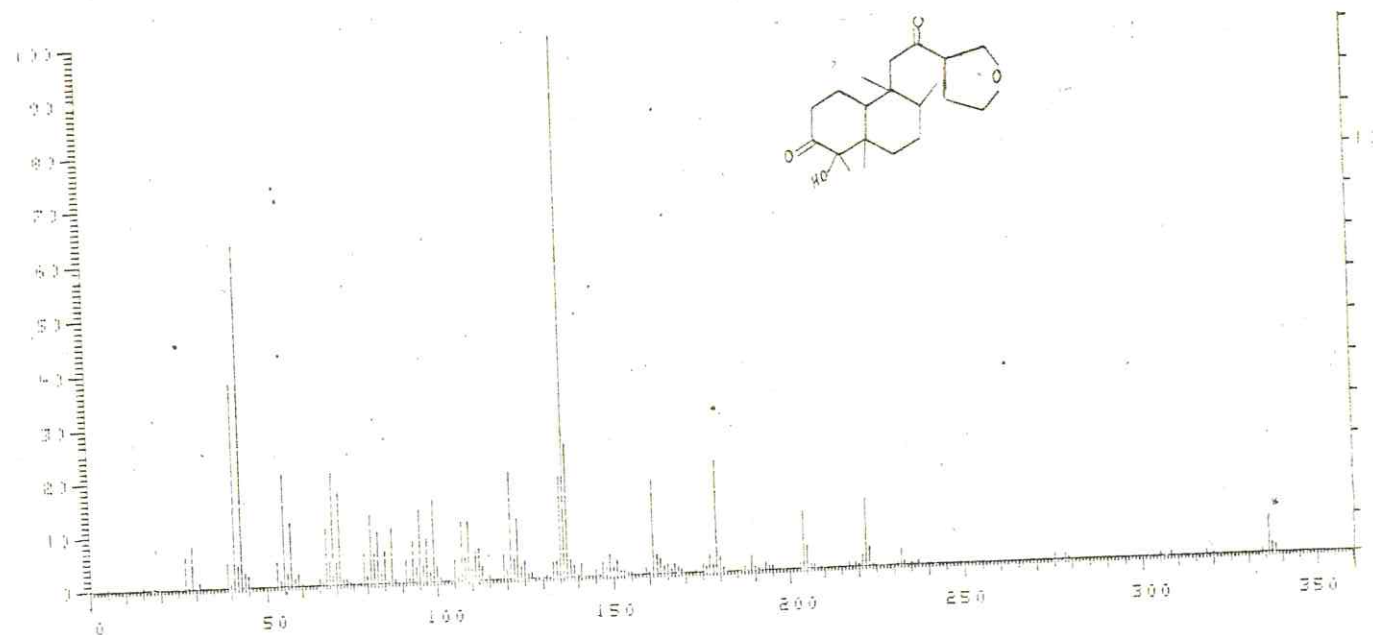
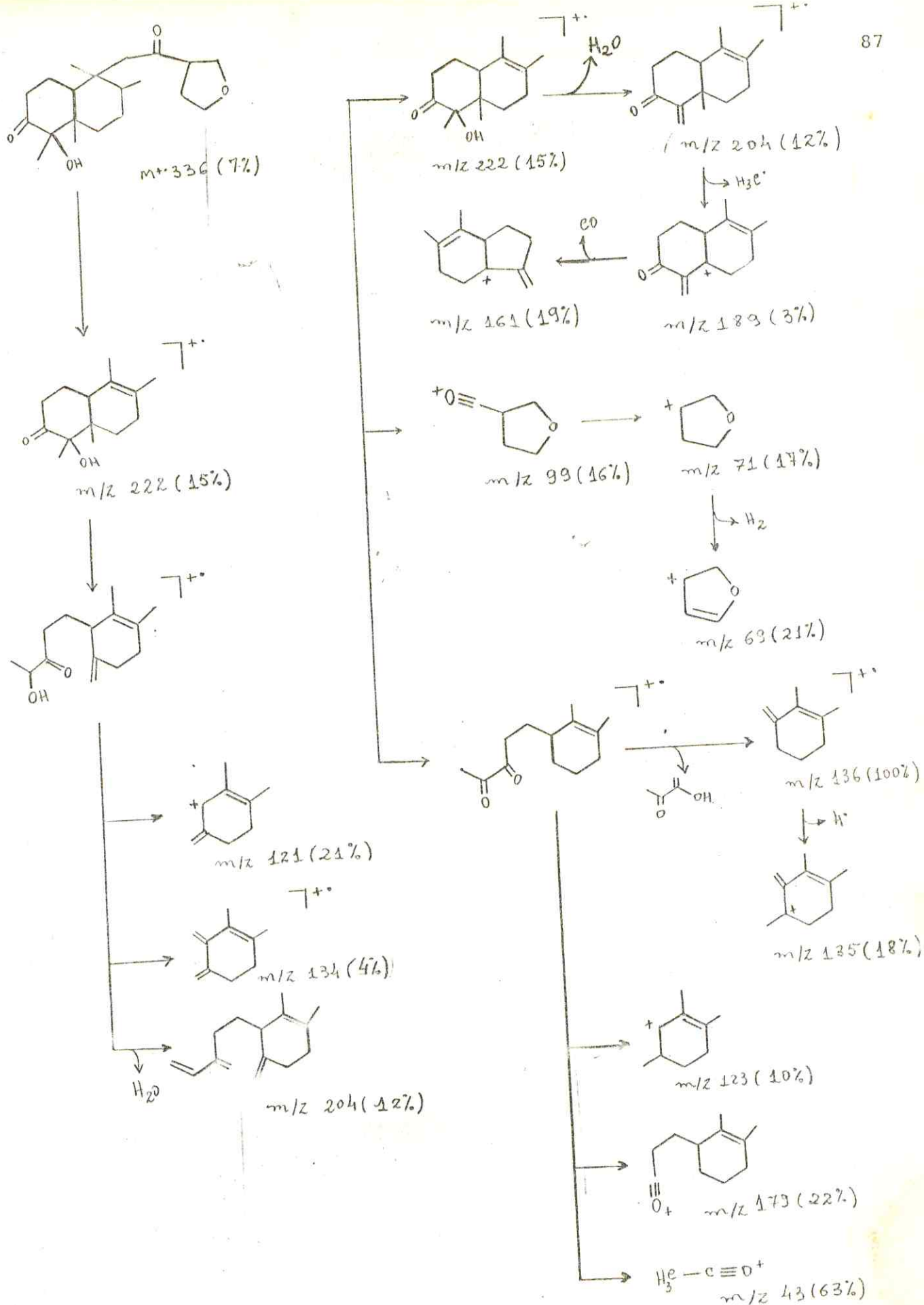


FIGURA 41. Espectro de massas de Ca-29E H₂.



ESQUEMA 7 - Possíveis caminhos de fragmentação de XLIV (Ca-29E H₂) no espectômetro de massa.

2.4. CONSIDERAÇÕES ESTEREOQUÍMICAS SOBRE A Ca-29E E DERIVADOS

A comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos de Ca-29E com os modelos XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX, (Tabela 8, pág.57) e XXXII, XXXIII, XXXIV, XXXV (Tabela 9, pág.67) permitiu propor as configurações dos centros quirais C-4, C-5, C-8, C-9 e C-10 da Ca-29E.

As estereoquímicas dos carbonos 8 e 9 foram determinadas por comparação direta dos deslocamentos químicos destes carbonos e de seus correspondentes grupos metila com os dos modelos XXVI, XXVII e XXVIII (pág. 57). As absorções dos grupos metila 17 e 20 estão em acordo com a orientação alfa atribuída a estes grupos (Tabela 10, pág.89).

Os carbonos 5 de XXVII e XXX (Tabela 10) absorvem respectivamente em 41,80 e 42,10 δ . Em Ca-29E, este carbono não protonado sofre o efeito β adicional da hidroxila localizada no carbono 4, justificando o maior deslocamento químico 45,16 δ observado para este carbono.

As absorções dos carbonos sp^3 monoprotonados revelados pelo espectro de RMN¹³C de Ca-29E com acoplamento residual de prótons (SFORD, Fig.16, pág.61) aparecem em 41,86 (C-10) e 37,32 δ (C-8). O deslocamento químico do sinal atribuído ao C-10 se coordena com a localização do grupo hidroxila no C-4 em posição axial, exercendo um forte efeito γ de proteção sobre o C-10, justificando, assim, o aparecimento em campo alto em relação aos carbonos 10 de XXVII e XXVIII (pág.89). A localização axial da hidroxila do C-4 de Ca-29E apoiou-se também nos seguintes argumentos:

- O deslocamento químico do Me-19 de Ca-29E (14,89 δ) é praticamente igual ao observado para Me-19 de XXVII (14,40 δ) e

Tabela 10 - Deslocamentos químicos (δ) dos carbonos de Ca-29E comparados com os modelos XXXVI, XXVII, XXVIII, XXIX, XXX, XXXII, XXXIII, XXXIV, XXXV e Ca-29E Red₃.

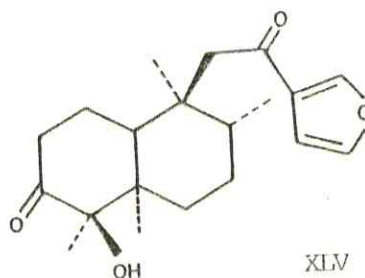
C O M P O S T O S

| Carbo- nos | Ca-29E | XXVI | XXVII | XXVIII | XXIX | XXX | XXXII | XXXIII | XXXIV | XXXV | Ca-29ERed ₃ |
|---------------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------------------------|
| 1 | 23,68 | | 23,20 | | | 22,30 | 40,30 | 39,60 | 37,80 | 39,00 | 17,80 |
| 2 | 36,03 | | 39,40 | | | 41,50 | 34,30 | 34,60 | 33,80 | 33,90 | 29,76 |
| 3 | 215,04 | | 216,60 | | | 213,00 | 215,30 | 217,80 | 217,30 | 217,10 | 76,99 |
| 4 | 81,48 | | 58,20 | | | 58,20 | 47,20 | 47,20 | 47,30 | 47,00 | 76,47 |
| 5 | 45,16 | | 41,80 | | | 42,10 | 52,90 | 54,90 | 54,90 | 53,60 | 42,36 |
| 6 | 31,04 | | 41,50 | 35,80 | | 41,30 | 22,40 | | | 20,00 | 32,62 |
| 7 | 26,73 | | 27,40 | 27,70 | | | 26,50 | | | | 26,64 |
| 8 | 37,32 | 36,70 | 36,60 | 38,40 | | | 21,20 | | | | 37,29 |
| 9 | 41,47 | 38,80 | 39,40 | 42,40 | | | 43,20 | | | | 42,10 |
| 10 | 41,86 | | 49,00 | 47,60 | | | 33,50 | 36,80 | 36,50 | 38,50 | 43,60 |
| 11 | 47,10 | | | | | | | | | | 47,63 |
| 12 | 195,00 | | | | 194,30 | | | | | | 195,44 |
| 13 | 129,64 | | | | 127,60 | | | | | | 129,62 |
| 14 | 108,69 | | | | 108,60 | | | | | | 108,83 |
| 15 | 144,38 | | | | 144,00 | | | | | | 144,24 |
| 16 | 146,91 | | | | 147,30 | | | | | | 146,84 |
| 17 | 16,51 | 16,10 | 15,80 | 16,70 | | | | | | | 16,72 |
| 18/23 | 21,75 | | 6,80 | 166,70 | | 6,80 | 24,70 | 26,70 | 26,60 | 27,30 | 23,45 |
| 19/24 | 14,89 | | 14,40 | 20,90 | | 14,60 | 20,70 | 21,00 | 20,80 | 21,00 | 15,66 |
| 20 | 17,60 | 18,20 | 18,30 | 17,70 | | | 17,70 | | 15,00 | 18,10 | 17,80 |

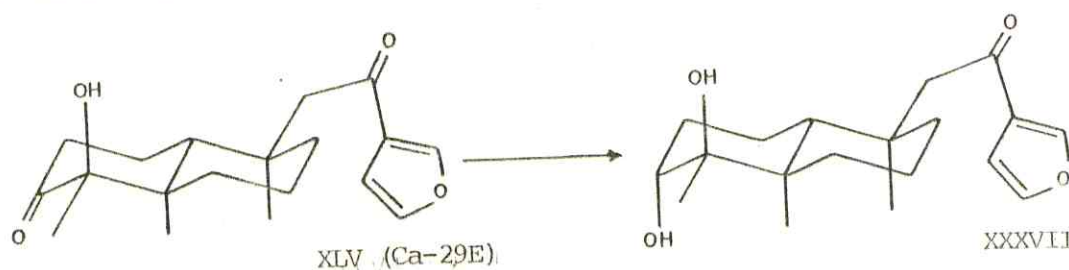
o Me-24 de XXX (14,60 δ), o que não seria esperado se a hidroxila fosse equatorial e o metil axial.

- O deslocamento químico do H₂C-2 de Ca-29E (36,03 δ) é menor que os dos H₂C-2 de XXVII (39,40 δ) e de XXX (41,50 δ), revelando efeito γ da hidroxila axial.

- O deslocamento químico do H₂C-6 de Ca-29E (31,04 δ) é menor do que o do H₂C-6 de XXVII (41,50 δ) e de XXX (41,30 δ) e maior do que o do H₂C-6 de XXXV (20,00 δ), demonstrando o efeito γ da hidroxila sobre o C-6 de Ca-29E. Os dados discutidos permitem propor a configuração relativa inserida na estrutura XLV (Ca-29E):



A análise do espectro de RMN¹³C (Tabela 10) do produto de redução de Ca-29E (XXXVII) com NaBH₄ revelou-se de acordo com as deduções descritas. A hidroxila no C-3 de XXXVII é axial. O deslocamento para campo alto do C-1 de XXXVII (17,80 δ) quando comparado com o sinal de C-1 da substância original (23,68 δ) (Tabela 10) demonstrou o efeito exercido pela hidroxila axial localizada no C-3.



O C-19 da Ca-29E sofreu pequeno deslocamento para campo baixo, justificado pelo efeito δ da hidroxila axial do C-3. Todos os outros carbonos, exceto aqueles cujas modificações são previstas, permaneceram praticamente com os mesmos deslocamentos químicos. Finalmente, os estudos cristalográficos por difração de Raios X confirmaram a estereoquímica relativa proposta para Ca-29E com base em estudos químicos e espectroscópicos. A fig.44 ,pág. 94, representa o desenho estereoscópico.

Ca-29E trata-se de uma substância inédita que apresenta forte atividade contra pseudomona.

TOTAL 22
 RESOL 2 9765

| NO | PPPM(Hz) | PPM | INTG |
|----|----------|---------|------|
| 1 | 2237.58 | 155.442 | 575 |
| 2 | 2287.83 | 149.841 | 1821 |
| 3 | 2157.55 | 144.142 | 897 |
| 4 | 1951.17 | 129.818 | 588 |
| 5 | 1635.74 | 100.229 | 1179 |
| 6 | 1198.42 | 79.282 | 1858 |
| 7 | 1157.22 | 76.994 | 1727 |
| 8 | 1149.41 | 76.474 | 1342 |
| 9 | 1126.95 | 74.888 | 1176 |
| 10 | 715.82 | 47.525 | 1033 |
| 11 | 655.27 | 43.527 | 1127 |
| 12 | 636.71 | 42.362 | 938 |
| 13 | 632.81 | 42.183 | 1212 |
| 14 | 558.54 | 37.294 | 1869 |
| 15 | 498.23 | 32.616 | 856 |
| 16 | 447.26 | 29.757 | 848 |
| 17 | 448.39 | 29.639 | 1849 |
| 18 | 352.53 | 23.455 | 924 |
| 19 | 267.57 | 17.982 | 1632 |
| 20 | 251.95 | 16.763 | 1287 |
| 21 | 225.35 | 15.558 | 942 |
| 22 | 1.89 | 0.138 | 1071 |

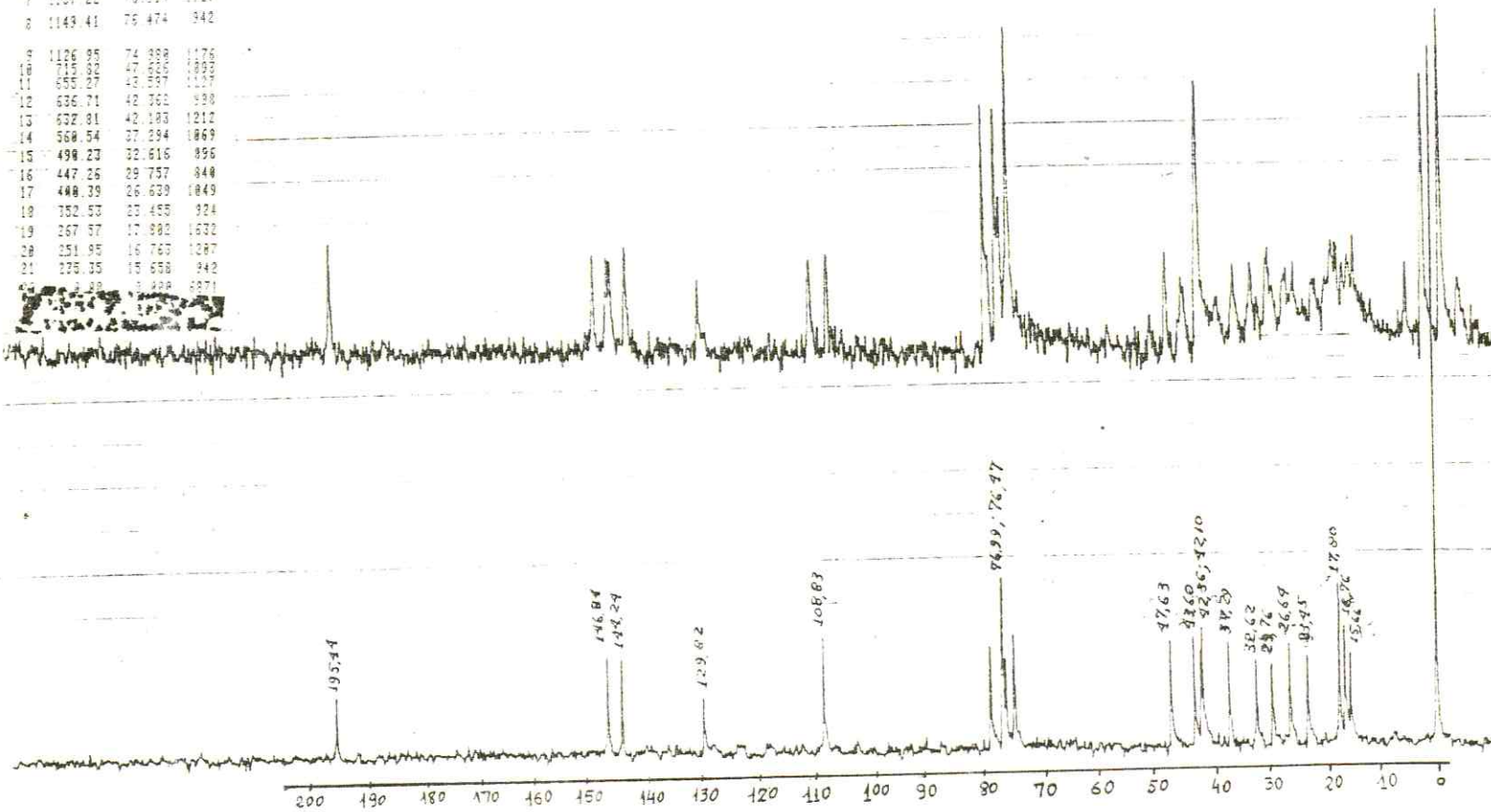


FIGURA 42. Espectro de RMN¹³C de Ca-29E Red₃ desacoplado e com acoplamento residual (15,03MHz, CDCl₃, δ).

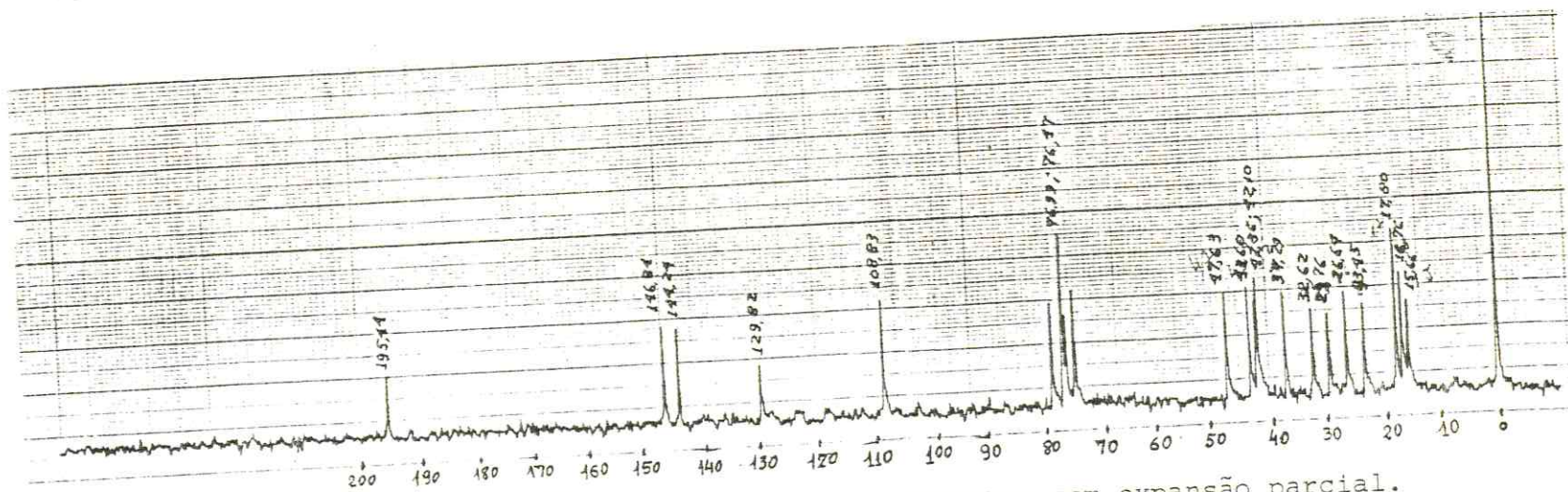
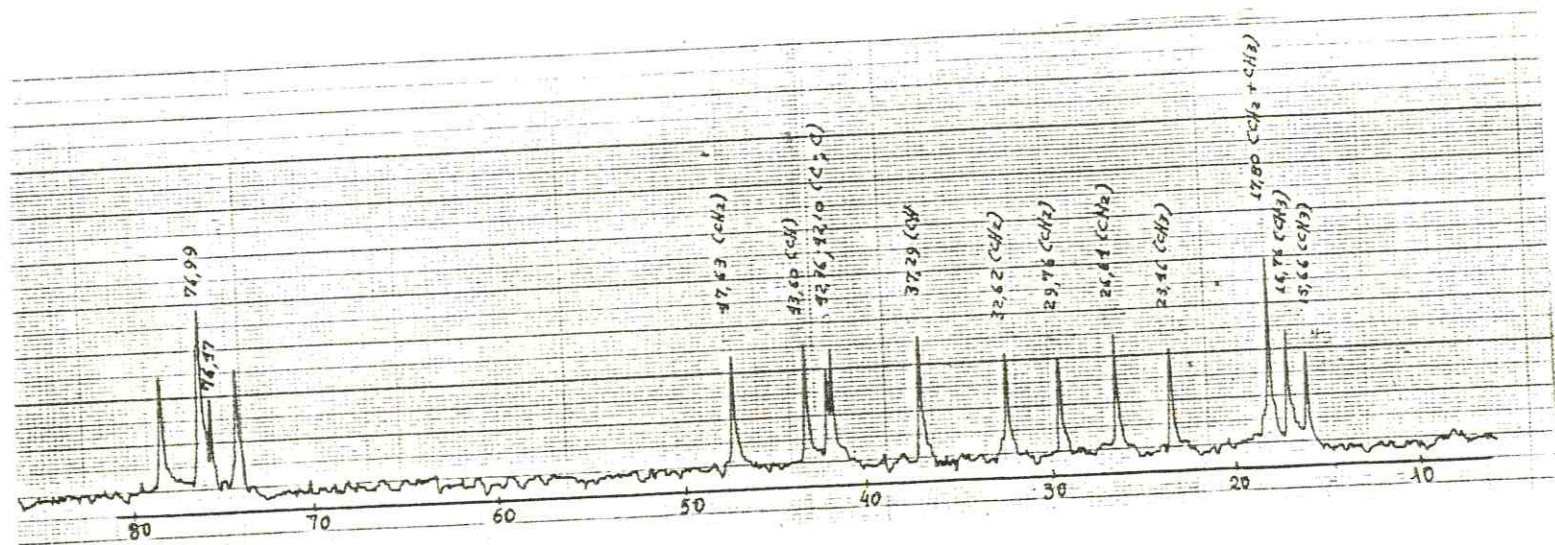


FIGURA 43. Espectro de RMN¹³C de Ca-29E Red₃ e espectro com expansão parcial.
(25.2MHz, CDCl₃, δ).

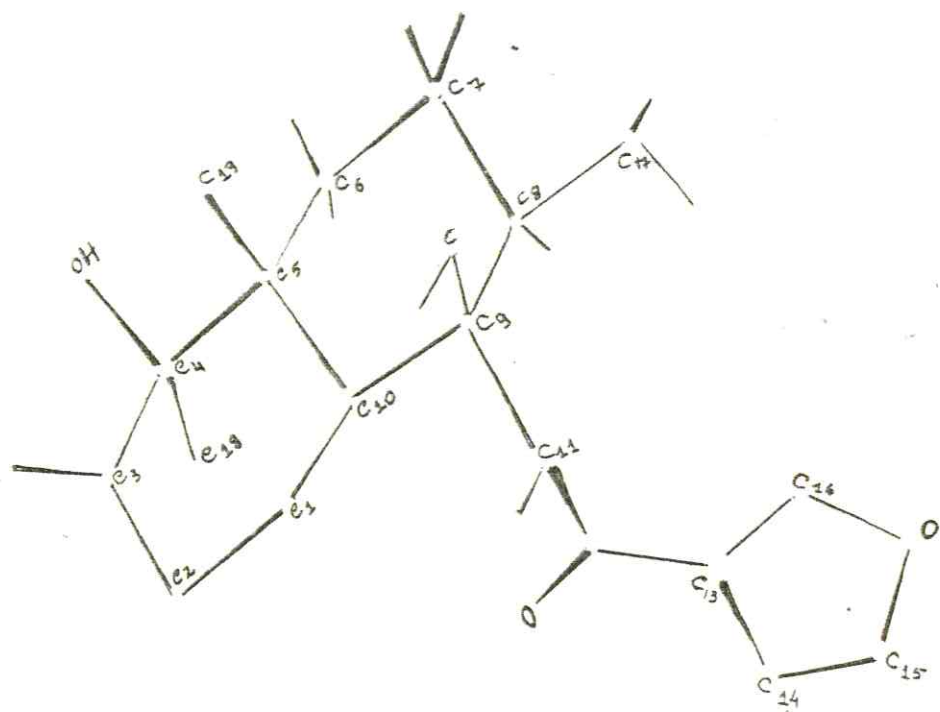


FIGURA 44. Desenho estereoscópico de Ca-29E

CAPÍTULO III

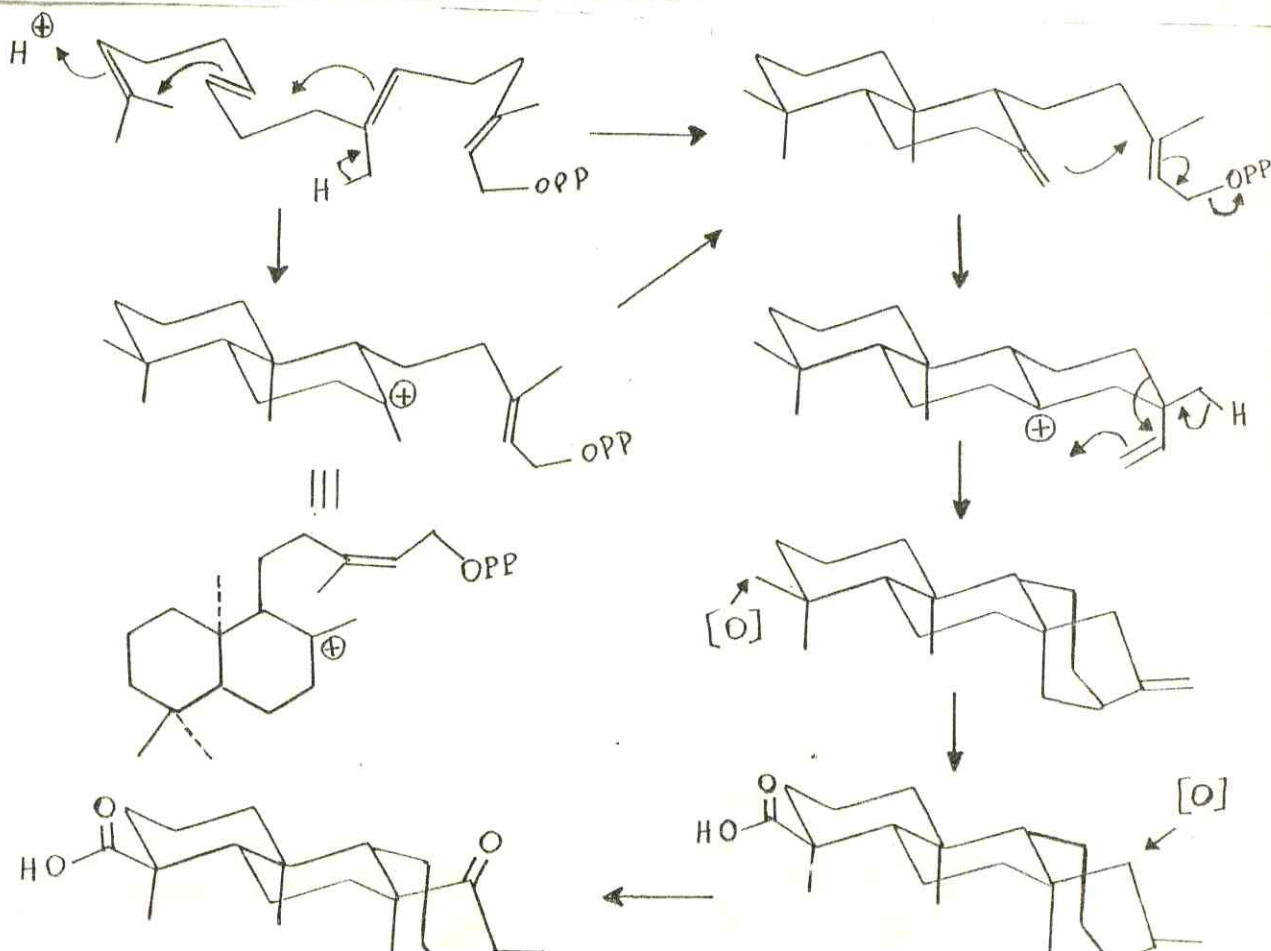
CONSIDERAÇÕES SOBRE A BIOSÍNTESE DOS CONSTITUINTES CA-37E, CA-38E
E CA-29E.

Os diterpenos XIII (Ca-37E), XX (Ca-38E) e XLV (Ca-29E), isolados de Croton argyrophilloides pertencem aos tipos estruturais caurano (XIII e XX) e clerodono (XLV). Estas três substâncias naturais derivam biogeneticamente do precursor pirofosfato de geranil-geranila, passando pelo esqueleto intermediário labdânico. Rotas diferentes utilizando este precursor fornecem os três diterpenos isolados (Esquemas 8, 9, 10 e 11).

Os diterpenos tetracíclicos XIII e XX formam-se através da reação entre as ligações dupla da cadeia lateral localizada no C-13 e a exocíclica, resultando o íon carbônico no C-8.⁽³⁶⁾ Assim, ocorre a ciclização para a formação do anel C (Esquema 8). O anel D envolve a formação da ligação entre o carbono 8 e o carbono vinílico 13. Os diterpenos pertencentes a esta classe revelam oxidações nos carbonos 15 e 18. As etapas envolvidas nas reações de oxidações não podem ser definidas com precisão.

As duas substâncias são produzidas biogeneticamente podendo ocasionalmente serem encontrados numa mesma planta^(7,37).

Esquema 8 - Proposta biogenética⁽³⁶⁾ de formação dos diterpenos Ca-37E (XIII) e Ca-38E (XX).



A formação de XLV envolve caminho biossintético diferente, ocorrendo modificação do esqueleto labdânico. Esta modificação é promovida pela protonação da ligação dupla exocíclica localizada no C-8, seguida de rearranjos sucessivos de átomos de hidrogênio e de grupos metila (Esquema 9).

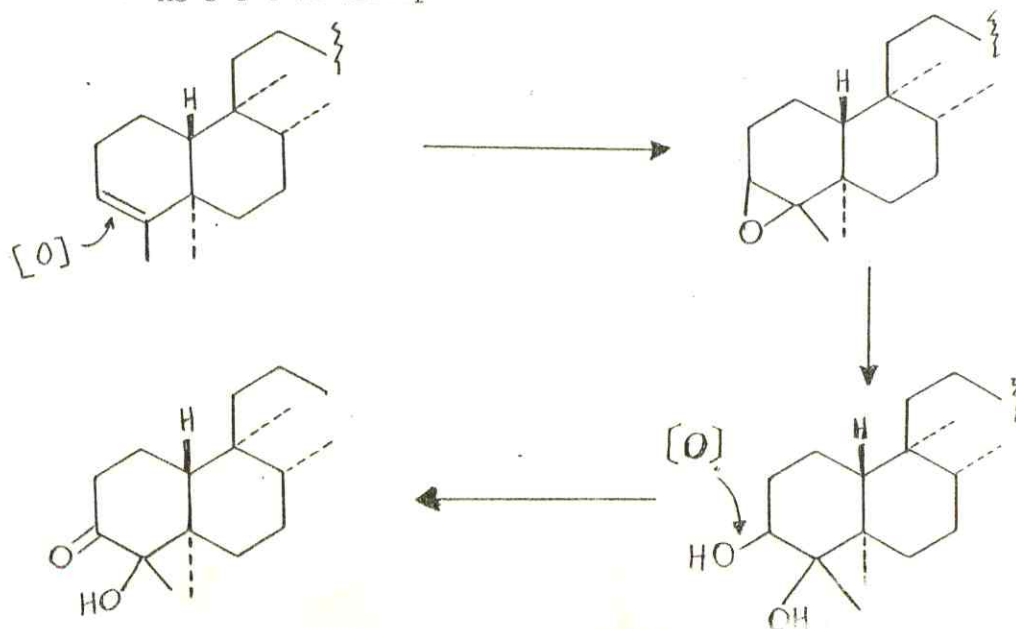
Esquema 9 - Proposta biogenética⁽³⁸⁾ de formação do sistema carbocíclico encontrada na Ca-29E (XLV).



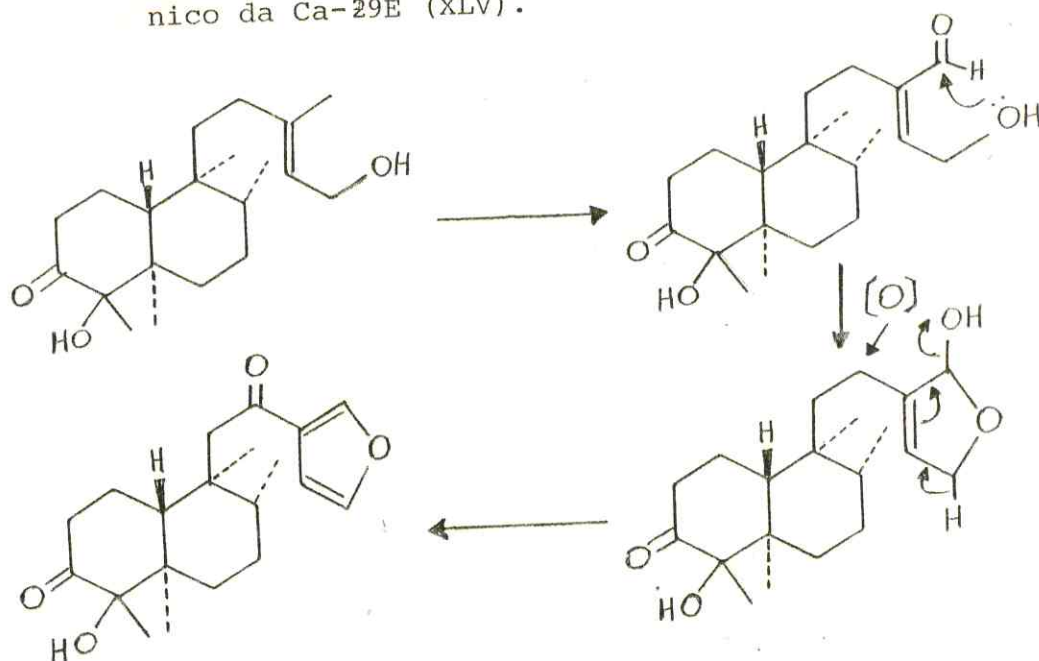
A presença de átomos de oxigênio nos carbonos 3 e 4 pode ser justificada através das reações postuladas no Esquema 10.

Transformações químicas envolvendo os átomos de carbonos 13, 14, 15 e 16 da cadeia sustentada pelo C-9 fornecem o anel furânico. Pode-se postular, com base em modificações análogas observadas em triterpenos⁽³⁹⁾, oxidação dos carbonos 15 e 16 seguida de ciclização para formação do hemiacetal e posterior desidratação.

Esquema 10 - Proposta biogenética⁽³⁹⁾ para hidroxilação dos átomos de carbono 3 e 4 do diterpeno Ca-29E (XLV).



Esquema 11 - Proposta biogênica⁽³⁹⁾ para formação do anel furânico da Ca-29E (XLV).



A possibilidade de oxidação no C-3 de Ca-29E durante a ciclização do pirofosfato de geranil-geraniol não pode ser afastada definitivamente. A escolha do caminho descrita acima decorre da ausência de oxigenação deste carbono nos dois diterpenos caurânicos e da frequência da ocorrência de clerodanos com ligação dupla entre os carbonos 3 e 4.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÃO

O trabalho desenvolvido nesta tese nos permitiu chegar a algumas conclusões.

a) Nos diterpenos citados, portadores de grupos carboxila ou carbometoxila no C-4 com orientação axial, I e II por exemplo, os sinais de ressonância dos prótons metílicos Me-4 e Me-10 são nitidamente separados, com uma diferença entre os deslocamentos químicos em torno de $0,25 \delta$. Se o grupo carboxila ou carbometoxila ocupa posição equatorial os sinais dos prótons destes grupos metila aparecem praticamente superpostos, sendo a diferença entre deslocamentos químicos em torno de $0,03\delta$ (página 12).

A destinação entre as séries de diterpenos contendo substituintes equatorial e axial no C-4 pode também ser feita com base na espectrometria de ressonância magnética de ^{13}C . Quando se fez a confrontação dos dados espectrais dos diterpenos cauranos, pimaranos, isopimaranos e podocarpanos pertencentes as duas séries com esqueletos sem metila oxigenado na posição 4, verificou-se uma proteção somente no C-3 no caso do grupo oxigenado ser axial e proteção de C-3 a C-5 quando o grupo oxigenado é equatorial.

Particularmente o estudo de Ca-37E propiciou o lançamento de um método adicional para a determinação de grupos oxigenados na posição 4 em diterpenos cauranos, pimaranos, podocarpanos através do uso das espectrometrias de RMN^1H e de ^{13}C .

b) Dois dos componentes isolados Ca-37E e Ca-29E são inéditos e constituem boa perspectiva em termos de aproveitamento, já que os mesmos, revelaram as atividades antibióticas descritas anteriormente.

Os derivados das referidas substâncias foram submetidos ao teste de antibióticos, cujos resultados ainda estão em fase de conclusão.

CAPITULO V

PARTE EXPERIMENTAL

5.1. INTRODUÇÃO

Os pontos de fusão foram determinados em microscópio de Kofler e não foram corrigidos.

Os espectros de absorção na região do infravermelho (I.V.) foram registrados em espectrômetro PERKIN-ELMER mod. 720 e/ou U.R. - 20 Jena, utilizando pastilha de KBr para sólidos, filme para substância líquida ou por dissolução em CCl_4 ou CHCl_3 .

Os espectros de ressonância magnética nuclear protônica (RMN^1H) foram registrados em espectrômetros EM-360 da VARIAN (60 MHz) e em espectrômetro da VARIAN EM 390 (90MHz).

Os deslocamentos químicos (δ) foram descritos em relação ao tetrametilsilano (TMS), utilizando CDCl_3 , CCl_4 ou CD_3COCD_3 como solvente. O desdobramento das bandas foram indicadas segundo a convenção: s (banda simples); d (dubleto); t (tripleto); q (quarteto); dd (duplo dubleto) e m (banda múltipla).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN^{13}C) foram registrados em espectrômetro XL-100 da VARIAN (25,2MHz) e espectrômetro JEOL JNM-FX60 (15,03MHz).

Os deslocamentos químicos (δ) em relação ao tetrametilsilano (TMS) usando CDCl_3 como solvente. O desdobramento das bandas nos espectros com acoplamento residual, obtido segundo a técnica de SFORD (single frequency off resonance decoupled), foram descritos seguindo a mesma convenção nos espectros de RMN^1H .

Os espectros de massas (EM) foram registrados em espectrômetro CF-5 da VARIAN do NPPN, Rio de Janeiro.

Cromatografia em camada delgada foi realizada utilizando-se sílica gel G, (F254) da Merck. As revelações foram feitas com iôdo.

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

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

5.2. ESTUDO DOS CONSTITUINTES FIXOS

5.2.1. Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes da casca da raiz

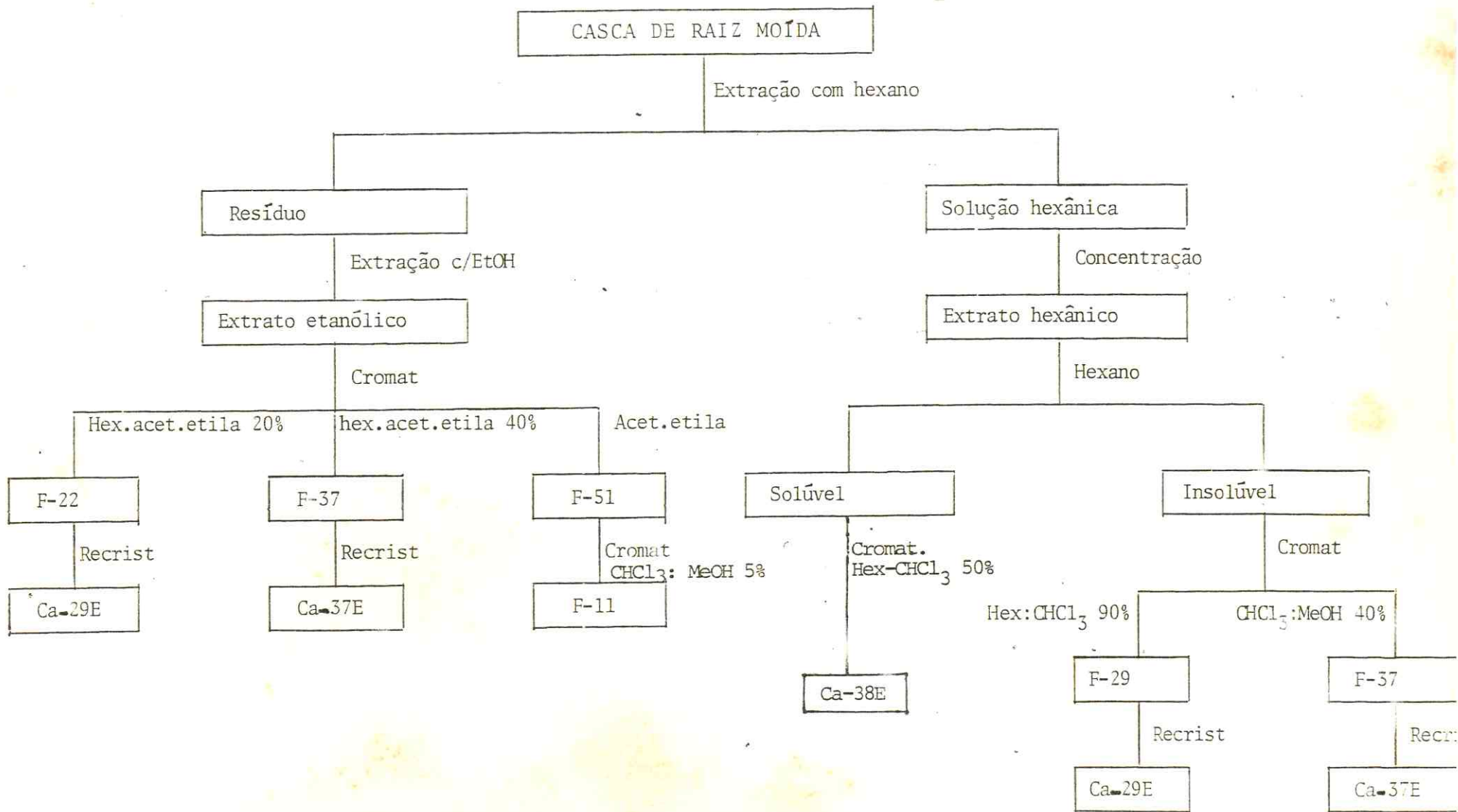
2,00 Kg de cascas de raiz moídas foram extraídas exaustivamente com hexano à temperatura ambiente sob agitação. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, obteve-se 40,5g (2%) de extrato bruto sólido amarelado. 30g deste extrato bruto foram lavados com hexano fornecendo 25g de material insolúvel e 5g de material solúvel. A parte solúvel em hexano apresentou-se como uma substância cristalina impregnada com um óleo amarelado. Cromatografia em coluna de sílica, originou material esbranquiçado ainda impuro. Recromatografia usando hexano-clorofórmio 50% como eluente, seguido de recristalização em hexano-metanol resultou em 540mg de Ca 38E puro, ponto de fusão 163-164°C.

O material insolúvel (12g) foi submetido a coluna cromatográfica da qual uma fração eluída com hexano-clorofórmio 90% apresentou um material cristalino branco. Recristalização com hexano-metanol resultou em 8,0g de Ca-29E puro, ponto de fusão 122-124°C. No ensaio de avaliação de atividade antimicrobiana esta substância mostrou forte atividade inibitória de crescimento de Pseudomona (40).

Uma outra fração eluída com clorofórmio-metanol 40% constituiu um material cristalino impuro que após várias recristalizações com hexano-metanol resultou em 400mg de Ca-37E, ponto de fusão 202-204°C.

A torta resultante foi igualmente submetida a extração com etanol. O extrato escuro obtido (360g) após evaporação do solvente a pressão reduzida, foi adsorvido em sílica e cromatografado em coluna filtrante. Eluições com hexano-acetato de etila 20% e 40% respectivamente permitiram obter após recristalizações sucessivas 1,05g de Ca-29E e 1,58g de Ca-37E.

ESQUEMA 12

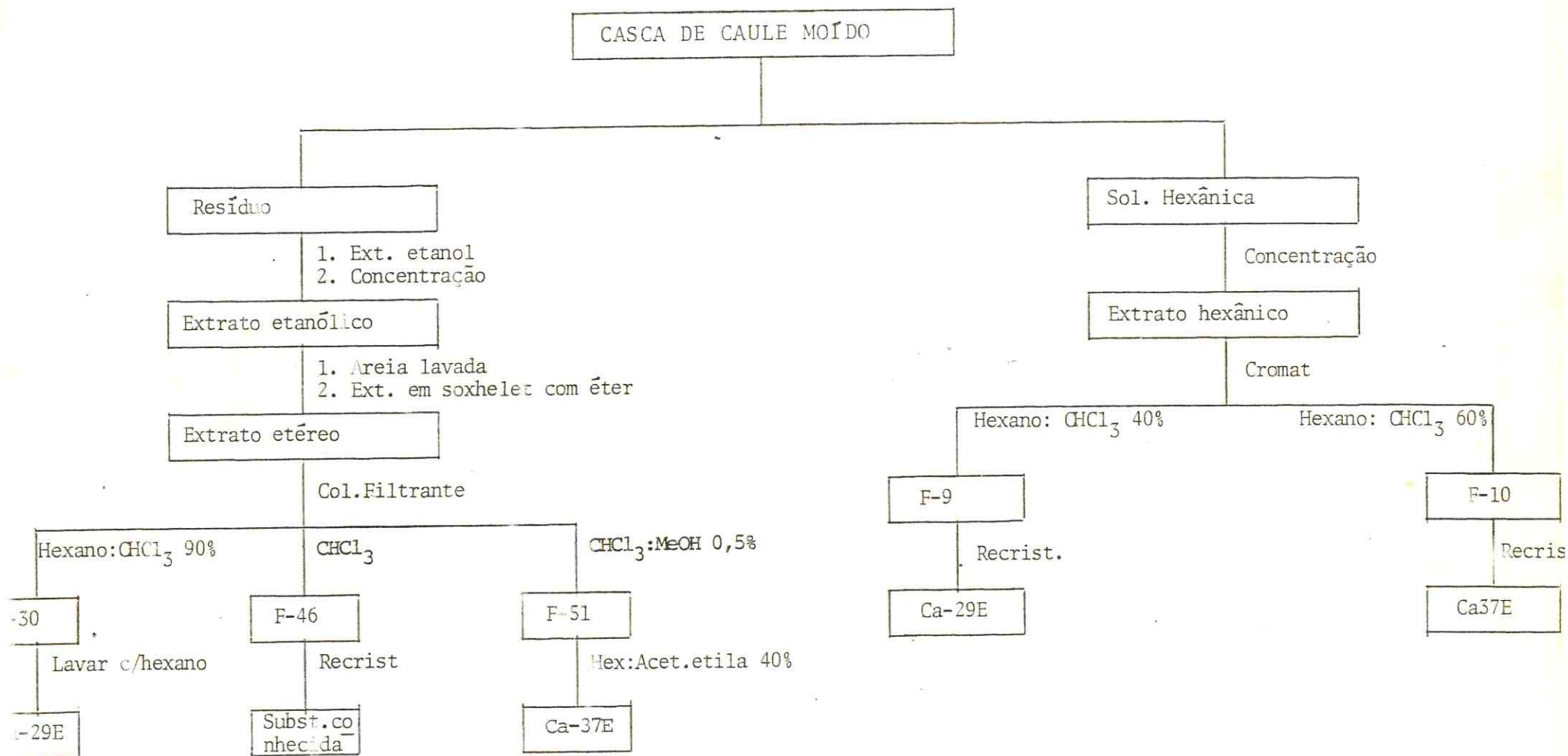


5.2.2. Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes da casca do caule.

2,50Kg de cascas do caule foram moídas e extraídas com hexano a frio, sob agitação mecânica durante uma semana. Evaporação do solvente resultou em 20g de extrato bruto (0,8%). Este, por cromatografia em coluna de sílica tendo como solvente hexano-clorofórmio 40% forneceu material cristalino impuro (F-9). Após recristalização em hexano-metanol obteve-se 4,00g de Ca-29E, puro. A fração seguinte, eluída com hexano-clorofórmio 60% conduziu também a um material cristalino impuro (F-10). Repetidas recristalizações em hexano-metanol resultou em 1,2g de Ca-37E puro.

O resíduo resultante da extração com hexano foi submetido ao mesmo tratamento anterior utilizando como solvente etanol. 105,5g de extrato pastoso esverdeado obtido (23%) foram misturados com areia lavada e extraídos em Soxhlet com éter etílico. O extrato etéreo foi fracionado em coluna filtrante, da qual a fração 30 eluída com hexano-clorofórmio 90%, após lavagens com hexano, forneceu 1,25g de Ca-29E. A fração 46 eluída com CHCl_3 evidenciou material cristalino impuro. Sucessivas recristalizações em hexano-metanol mostrou tratar-se de uma substância com ponto de fusão 211-213°C um diterpeno isolado anteriormente desta planta (5). Uma terceira fração (F-51) (22,0g) eluída com CHCl_3 -MeOH 0,5% foi recromatografada em coluna. A fração eluída hexano-acetato de etila 40% conduziu novamente ao isolamento de 1,5g de Ca-37E. Duas outras frações bastante polares, F-106 e F-131 foram ainda isoladas do extrato etanólico. Devido a dificuldades na purificação e as quantidades obtidas, suas caracterizações não foram concluídas até o momento.

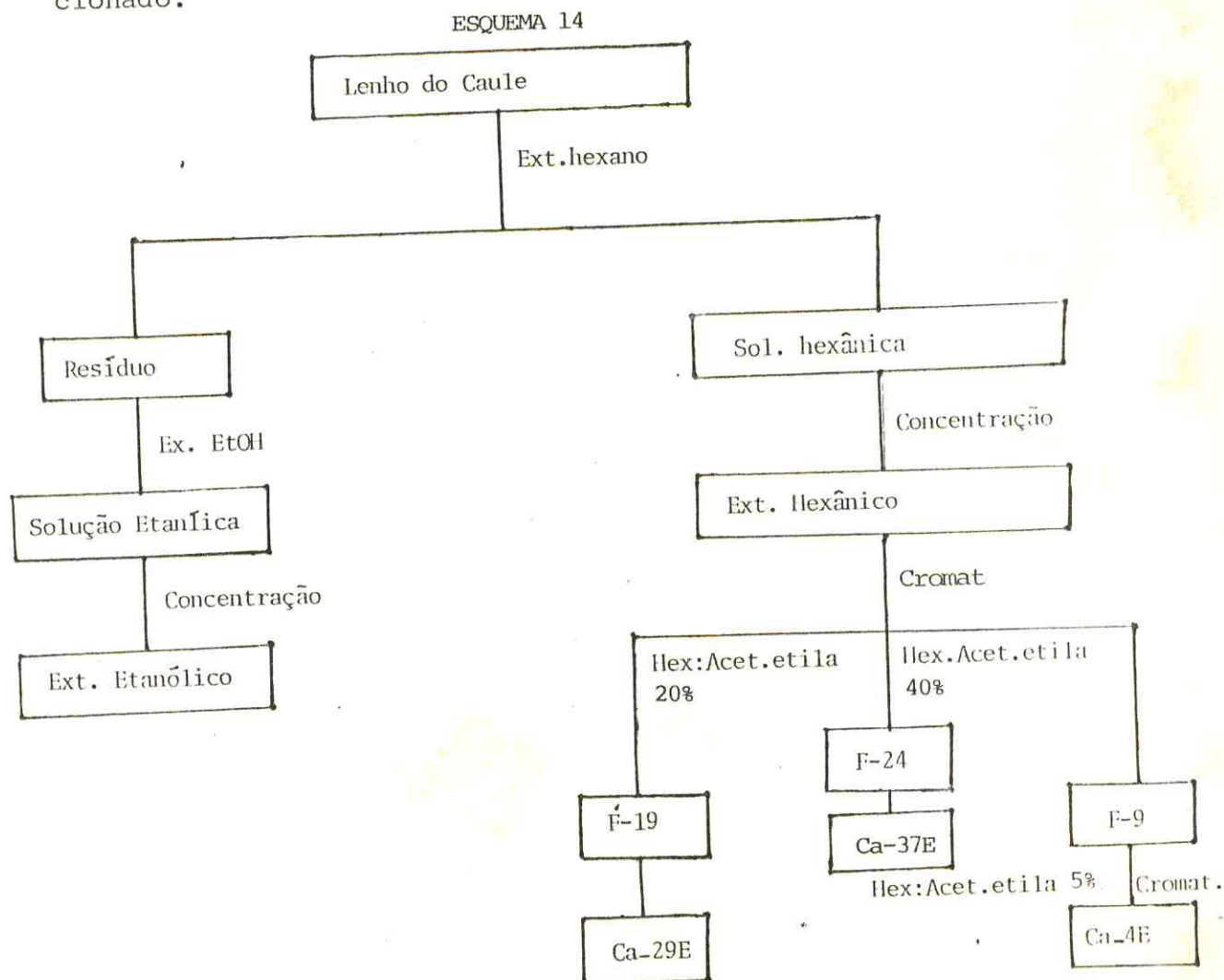
ESQUEMA 13



5.2.3. Preparação dos extratos e isolamento dos constituintes do lenho do caule.

2,00Kg do lenho do caule foram extraídos com hexano de maneira idêntica as anteriores e as 12,00g de extrato obtidos foram cromatografadas em coluna de sílica. Três frações principais isoladas, duas eluídas respectivamente com hexano-acetato de etila 20% e hexano-acetato de etila 40% foram identificados como Ca-29E e Ca-37E. A terceira fração foi eluída com hexano-acetato de etila 10%. Eluição com hexano-acet. de etila 5%, forneceu um óleo ainda não caracterizado (Ca-4E).

Processo idêntico aos anteriores foi feito a partir do resíduo, resultando em 7,5g do extrato atanólico que não foi fracionado.



5.2.4. Dados espectroscópicos dos constituintes isolados:

Ca-37E

Ca-38E

Ca-29E

Ca-37EIV: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$

3.450, 3.000, 2.640, 1,718, 1.685

EM: M^+ calculado para $C_{20}H_{28}O_3$ 316

Picos em m/z (%)

 M^+ 316(24), 315(100), 282(48), 270(70), 255(52), 227(14),
199(15), 148(67), 122(34), 121(78), 105(67).RMN¹H (CDCl₃, δ)5,96(s1, 1H), 5,25(s1, 1H), 3,05(s1, 1H OH), 2,48(m, 1H
cHeq-14), 1,63(s1, 1H CH-13), 1,16(s, 3H CH₃-20), 1,13(s,
3H CH₃-18).RMN¹³C (CDCl₃, δ)38,70(t, C-1), 18,00(t, C-2), 36,80(t, C-3), 47,60(s, C-4),
49,30(d, C-5), 21,70(t, C-6), 36,60(t, C-7), 52,70(s, C-8),
52,40(d, C-9), 39,50(s, C-10), 17,80(t, C-11), 32,30(t, C-12),
38,10(d, C-13), 33,00(t, C-14), 210,40(s, C-15), 149,30(s,
C-16), 114,80(t, C-17), 185,00(s, C-18), 17,50(q, C-19),
16,10(q, C-20).

Ca-38E

IV: $\nu_{\max}^{\text{KEr}} (\text{cm}^{-1})$

banda larga 3200-2500, 1690, 1650, 1270, 875.

EM: M^+ calculado para $C_{20}H_{30}O_2$ 302

Picos em m/z (%)

M^+ 302(44), 287(52), 259(100), 257(10), 246(28), 243(29),
241(29), 213(39), 201(12), 187(24), 185(15), 159(20),
147(21), 131(44), 123(40), 121(47), 119(50), 109(40),
107(48), 105(64), 91(75).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

4,78(s1, 2H), 2,18(s, 2H CH₂-15), 2,67(s1, 1H, OH), 1,19(s,
3H CH₃-20), 1,07(s, 3H CH₃-18).

RMN¹³C (CDCl₃, δ)

39,80(t, C-1), 18,00(t, C-2), 37,00(t, C-3), 47,60(s, C-4),
50,00(d, C-5), 23,00(t, C-6), 40,60(t, C-7), 44,40(s, C-8),
56,00(d, C-9), 39,80(s, C-10), 18,00(t, C-11), 33,00(t, C-12),
44,00(d, C-13), 39,50(t, C-14), 49,00(t, C-15), 155,50(s,
C-16), 103,10(t, C-17), 185,00(s, C-18), 17,80(q, C-19),
16,10(q, C-20).

Ca-29E

LV: $\nu_{\max}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$

3.440, 3.080, 2.910, 1.680, 1.645, 1.540, 1.535, 1.470, 1.140,
860.

EM: M^+ calculado para $C_{20}H_{28}O_4$ 332

Picos em m/z

M^+ 332(3,3), 222(11,1), 204(10), 189(5,0), 179(17,2), 161
(25,6), 136(100), 135(18,5), 134(16), 134(15,6), 121
(26,7), 110(12), 107(13,9), 95(67,2), 67(12,2), 43(45).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

8,05(s1, 1H H-17), 7,46(t, 1H J=2 H-16), 6,80(d, 1H J=2
H-15), 3,65(s1, 1H OH), 2,78(s, 2H CH₂-11), 1,50(s, 3H
CH₃-19), 0,90(d, J=7 3H CH₃-14), 0,86(s, 6H CH₃-18
CH₃-20).

UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm)

210, 255

RMN¹³C (CDCl₃, δ)

23,68(t,C-1), 36,03(t,C-2), 215,04(s,C-3), 81,48(s,C-4),
45,16(s,C-5), 31,04(t,C-6), 26,73(t,C-7), 37,32(d,C-8),
41,47(s,C-9), 41,86(d,C-10), 47,10(t,C-11), 195,00(s,
C-12), 129,64(s,C-13), 108,69(d,C-14), 144,38(d,C-15),
146,91(d,C-16), 16,51(q,C-17), 21,75(q,C-18), 14,89(q,
C-19), 17,60(q,C-20).

5.3. OBTENÇÃO DOS DERIVADOS E RESPECTIVOS DADOS ESPECTROMÉTRICOS

5.3.1. Ca-37E

a) Obtenção de XIV (Ca-37E MeCH_2N_2)

Ca-37E (XIII) (250mg) foi tratado com solução etérea de CH_2N_2 durante 12 horas nas condições ambientais. A solução foi preparada a partir de nitrosometiluréia (1500mg) em contato com solução de NaOH 60 (150ml). O excesso de diazometano foi eliminado com algumas gotas de ácido acético glacial. A solução etérea foi lavada com solução aquosa de NaHCO_3 5%, seca com Na_2SO_4 anidro e destilada. Cromatografia em pequena coluna de sílica permitiu isolar 220mg de produto puro.

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

2.940, 1.715, 1.700, 1.380, 1.240.

EM: M^+ calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$ 372

Picos em m/z (%)

($\text{M}^+ - 28$), 344 (3), 274 (7), 243 (7), 215 (8), 167 (9), 149 (35),
121 (41), 79 (63), 41 (100).

RMN^1H (CDCl_3 , δ)

Desaparecimento total dos prótons olefínicos em 5,96 e 5,26;
4,60 (m, 2H), 3,65 (s, 3H OCH_3) 1,18 (s, 6H $\text{H}_3\text{C}-4$, $\text{H}_3\text{C}-10$).

b) Obtenção de XIIIa (Ca-37E Me)

Utilizando a mesma técnica, 60mg de XIII foram tratados com sol. etérea de diazometano durante 30 minutos, a partir de 180mg de nitrosometiluréia, 36mg de XIIIa foram conseguidos puros através de cromatografia em coluna de sílica.

IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹)

2.930, 1.718, 1.640, 1.240, 940.

EM: M⁺ calculado para C₂₁H₃₀O₃ 330

Picos em m/z (%)

M⁺ 330(8), 270(18), 255(11), 167(22), 149(100), 121(50),
55(59), 49(74).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

5.96(s1,1H), 5.26(s1, 1H); 3.65(s,3H, OCH₃); 1.17(s,6H H₃C-4 H₃C-10).

c) Obtenção de XV (Ca-37E Red₁₅)⁽⁴¹⁾

A uma solução de 590mg de XIII em MeOH foram adicionados 250mg de NaBH₄ a 5°C. Deixou-se reagir por 40 minutos à temperatura ambiente. A mistura foi diluída com H₂O, acidificada com HCl 5% e extraída com acetato de etila. O solvente foi removido a vácuo e o produto (540mg) apresentou-se sob a forma de cristais brancos. Este produto foi confirmado após metilação.

d) Obtenção de XVI (Ca-37E MeRed₁₅)

Seguindo a técnica anterior, XV (500mg) foi metilado com diazometano produzido a partir de nitrosometiluréia (2000mg) em solução aquosa de NaOH 60% (210ml). Cromatografia em coluna de sílica a partir do produto bruto (550mg) permitiu obter 5 fra

ções com CHCl_3 . A fração F-3 (178mg) foi recromatografada, sendo eluída com CHCl_3 , 110mg de XVI.

EM: M^+ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3$ 332

Picos em m/z (%)

M^+ 332(16), 314(9), 299(18), 272(57), 257(55), 189(37), 123(68), 121(100), 55(88), 43(86).

RMN^1H (CDCl_3 , δ)

5,03(s1, 1H); 4,93(s1, 1H); 3,73(s1, 1H CH-15); 3,65(s, 3H OCH_3); 2,80(s1, 1H CH-13); 1,17(s, 6H $\text{H}_3\text{C}-4$, $\text{H}_3\text{C}-10$).

e) Obtenção de XVII (Ca-37E MeRed_{15,18})⁽⁴²⁾

Em um balão de 125ml acompanhado de condensador de refluxo, devidamente protegido de umidade (CaCl_2) foi colocado uma suspensão de LiAlH_4 (50mg) em éter etílico recém destilado (20ml). Levou-se a suspensão a 0°C e através de um funil de adição adicionou-se a mistura em reação por 1 hora a 0°C e 8 horas à temperatura ambiente. Adicionou-se acetato de etila (2ml) para eliminar excesso de LiAlH_4 . Após 10 minutos, 0,8ml de H_2O e em seguida 1ml de NaOH 15% e mais 0,8 de H_2O .

Filtrou-se o precipitado de aluminato e lavou-se com acetato de etila. A solução foi secada em Na_2SO_4 , evaporou-se o solvente e obteve-se um sólido branco cristalino (120mg). Cromatografia em coluna de sílica resultou em 77mg do produto puro.

IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1})

3.280, 2.950, ausência de absorção em 1.720, 1.660, 890, 760.

EM: M^+ calculado para $C_{20}H_{32}O_2$

Picos em m/z (%)

M^+ 304(7), 273(77), 255(48), 135(42), 123(69), 121(49), 95
(80), 109(69), 95(80).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

4,98(s1, 1H), 4,79(s1, 1H), 3,13(dd J=1 2H), 3,75(s1, 1H CH-
15), 2,60(s1, 1H CH-13), 1,12(s, 3H H₃C-10), 0,74 (s, H₃C-4).

f) Obtenção de XIX (Ca-37E H₂)

Ca-37E (70mg) dissolvida em metanol (10ml) foi adicionada a uma suspensão de Pd/C (37mg) em metanol (26ml) e hidrogenado a temperatura ambiente sob agitação durante 1 hora. A mistura da reação foi filtrada em coluna de sílica e após evaporação do solvente a pressão reduzida, obtendo-se 64mg de Ca-37E H₂ (XIX).

IV. ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹)

Banda larga, 3.400-2.600, 2.930, 1.740, 1.700, 900.

EM: M^+ calculado para $C_{20}H_{30}O_3$ 318

Picos em m/z (%)

M^+ 318(2), 272(2), 257(2), 136(4), 121(100), 107(13),
83(100).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

Ausência dos prótons olefínicos em 5,96 e 5,25; 2,33(s1, 1H
CH-13), 1,69(s1, 1H CH-16), 1,0(s, 3H H₃C-18), 1,26(s, 3H
H₃C-20), 1,11(d, J=8Hz 3H H₃C-17).

g) Obtenção de XVIII (Ca-37E MeRed₁₅Acet)

30mg de XVII (Ca-37E Me Red_{15,18}) foram dissolvidos em piridina (0,6ml) e anidrido acético (1ml) e deixados em repouso durante uma noite. A adição de H₂O gelada seguida de extração com CHCl₃ e lavagem da solução clorofórmica com HCl 10% forneceu 32mg de XVIII.

IV: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$

2.980, 2.950, 1.735; 1.680, 1.240, 760.

RMN¹H (CDCl₃)

5,10 (s, 1H), 4,85 (s, 2H), 3,68 (dd, J=9Hz 2H); 2,19 (s, 3H OCH₃); 2,08 (s, 3H OCH₃); 1,10 (s, 3H H₃C-20); 0,87 (s, 3H H₃C-18).

5.3.2. Ca-38E

a) Obtenção de XXI (Ca-38E Me)

Mesma técnica de metilação de Ca-37E.

Quantidades:

| | |
|-------------------|-------|
| Ca-38E | 135mg |
| Nitrosometilurêia | 600mg |
| KOH | 70g |
| Éter | 50ml |
| Peso bruto | 195mg |

Após cromatografia em coluna de sílica e eluição com CHCl_3 : Hex 25%, obtivemos 100mg de XXI.

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

2.980, 1.720, 1.650, 1.150, 780.

RMN^1H (CDCl_3 , δ)

4,85(s1, 2H); 3,28(s, 2H CH_2 -15); 3,60(s, 3H OCH_3); 1,17(s, 3H CH_3 -20); 1,04(s, 3H CH_3 -18).

b) Obtenção de XXII (Ca-38E MeRed)

Em uma suspensão de LiAlH_4 (50mg) em éter etílico(20 ml) foi adicionado vagarosamente solução de XXIII(100mg) em éter etílico(15ml). Após 1 hora a 0°C e 8 horas a temperatura ambiente, adicionou-se acetato de etila(2ml) para eliminar o excesso de LiAlH_4 . Decorridos 10 minutos adicionou-se 0,8ml de H_2O .

Filtrou-se o precipitado de aluminato e lavou-se com acetato de etila. A solução foi seca em Na_2SO_4 , evaporou-se o solvente e obteve-se 94mg. Cromatografia em coluna de sílica resultou em 75mg eluídas com Hex- CHCl_3 30%.

c) Obtenção de XXIII (Ca-38E Oxi)

200mg de XX (Ca-38E) (0,66 moles) dissolvidos em etanol (8ml) foram colocadas em um balão de 3 bocas. 40mg (0,5 equivalentes) de SeO_2 dissolvidos em etanol (2ml) e água (0,7ml) foram adicionados lentamente (aproximadamente 40 minutos) através de funil de separação mantendo-se a mistura sob refluxo brando durante o período de adição do reagente e por todo o tempo de reação (4 horas). A solução foi filtrada em pequena coluna de sílica eluída com metanol. O resíduo obtido após evaporação do solvente foi cromatografado em coluna de sílica, fornecendo 120mg de produto puro, eluído com CHCl_3 -MeOH 3%.

RMN¹H (CDCl_3 , δ)

5,16 (sl, 1H); 5,01 (sl, 1H); 3,73 (s, 1H CH-15); 2,70 (sl, 1H CH-13), 1,05 (s, 3H CH_3 -20); 0,74 (s, 3H CH_3 -18).

d) Obtenção de XXIV (Ca-38E OXiMe)

80mg de XXIII foram tratados com diazometano produzido a partir de 500mg de nitrosometilurêia em éter (30ml) na presença de KOH (60%) (55ml). Cromatografia em coluna de sílica permitiu obter 76mg de XXIV puros.

RMN¹H (CDCl_3 , δ)

4,95 (sl, 1H); 5,15 (sl, 1H), 3,75 (s, 1H CH-15); 3,23 (dd 2H); 2,70 (sl, 1H CH-13); 1,05 (s, 3H CH_3 -20); 0,74 (s, 3H CH_3 -18).

e) Obtenção de XXV (Ca-38E OxiMeRed)

Conforme técnica descrita anteriormente para obtenção de XVII 64mg de XXIV foram reduzidos com LiAlH_4 (32mg) em éter etílico (17ml). O produto bruto (78mg) foi cromatografado em coluna de sílica tendo como eluente CHCl_3 ; MeOH 0,5%, fornecendo 46mg de XXV puros.

5.3.3. Ca-29E

a) Obtenção de XXXVII (Ca-29E Red₃)

A uma solução de 260mg de Ca-29E (XXXVI) em 26ml de MeOH foram adicionados 60mg de boro-hidreto de sódio a 5% em pequenas quantidades. Após 15 minutos de reação à temperatura ambiente a mistura foi diluída com água, acidificada com HCl 5% e extraída com acetato de etila. O produto bruto foi purificado obtendo-se 213mg de XXXVII.

IV: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$

3.350, 2.950, 1.660, 1.550, 1.500, 1.150

EM: M^+ calculado para $C_{20}H_{30}O_4$

Picoç em m/z (%)

M^+ 334(2), 224(9), 206(24), 149(17), 136(64), 121(32), 95
(100), 55(31), 43(58), 41(39).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

8,0 (s1, 1H H-17), 7,37(t, 1H, H-16), 6,73(d, J=2 1H
H-15), 3,30 a 3,80 (s1, 1H H-3), 2,70(s, 2H CH₂-11), 1,16
(s, 3H, CH₃-19), 1,12(s, 3H CH₃-18), 0,87(d, J=7 3H
CH₃-14), 0,84(s, 3H, CH₃-20):

b) Obtenção de XXXVIII (Ca-29E Red₃Oxi)

Uma solução de Ca-29E (100mg) em EtOH (30ml) foi agitada a temperatura ambiente por 48 horas em presença de metaperiodato de sódio em excesso (120mg). A seguir, água foi adicionada e o precipitado obtido foi filtrado. Extração com CHCl₃ forneceu 92mg de material bruto. Cromatografia em coluna de sílica eluída com CHCl₃, resultou em 35mg do produto puro.

RMN¹H (CDCl₃, δ)

9,60 (s, 1H), 8,0 (s, 1H H-17), 7,37 (m, 1H H-16), 6,75 (m, 1H H-15), 3,80 (s, 1H), 2,75 (s, 2H CH₂-11), 2,22 (s, 3H CH₃-CO), 1,20 (s, 3H CH₃-19), 1,16 (s, 3H CH₃-18), 0,80 (d, J=7 CH₃-14) 0,87 (s, 3H CH₃-20).

c) Obtenção XXXIX (Ca-29E Red₃OxiOxi)

Reagente de Jones (1ml) em um funil de adição foi adicionado gota a gota a uma solução de XXXVIII (33mg) em acetona, quantidade mínima necessária. A adição ocorreu a 0°C sob agitação. Após 1 hora a temperatura ambiente adicionou-se éter, sendo a fase etérea separada e lavada com água até que a fase aquosa não mais apresente coloração amarelada indicando a ausência de derivados de cromo. O solvente foi evaporado obtendo-se 30mg do produto bruto (XXXIX) o qual foi metilado (obtenção de XL).

d) Obtenção XL (Ca-29E Red₃OxiOxiMe)

Nitrosometiluréia (100mg) dissolvida em éter etílico (15ml) foram adicionados a uma solução de XXXIX (30mg) em etílico (12ml). A mistura foi deixada em repouso durante uma noite, o solvente evaporado sob pressão reduzida, obtendo-se 40mg de XL.

RMN¹H (CDCl₃, δ)

8,10(s, 1H H-17), 7,50(s, 1H H-16), 6,82(s, 1H H-15), 3,72(s, 3H OCH₃), 2,88(s, 2H CH₂-11), 2,30(s, 3H CH₃-CO), 1,20(s, 3H CH₃-19), 1,20(s, 3H CH₃-18), 0,95(s, 3H CH₃-20), 0,85(s J=2 CH₃-14).

e) Obtenção de XLI (Ca-29E Red₃Acet)

30mg de XXXVII (Ca-29E Red₃) foram dissolvidos em piridina (0,6ml) e anidrido acético (1ml) e deixados em repouso durante uma noite. Adição de H₂O gelada seguida de extração com CHCl₃ e lavagem da solução clorofôrmica com HCl 10%, forneceu 61 mg de produto bruto. Cromatografia em coluna de sílica eluída com CHCl₃ permitiu obter 42mg de XLI.

EM: M⁺ calculado para C₂₂H₃₂O₅ 376

Picos em m/z (%)

M⁺ 376(5), 358(2), 334(2), 316(4), 298(4), 266(6), 206(31), 173(28), 121(26), 95(100), 55(22), 41(80).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

8,0(s, 1H H-17), 7,37(m, 1H H-16), 6,75(m, 1H H-15), 4,80(sl, 1H H-3), 2,73(s, 2H CH₂-11), 2,10(s, 3H CH₃-C), 1,20(s, 2H CH₃-19), 1,16(s, 3H CH₃-18), 0,87(s, 3H CH₃-20), 0,90(d, J=7 CH₃-14).

Seguindo a mesma técnica para obtenção de Ca-29E Red₃ (XXXVII), a uma solução de 60mg de Ca-29E (XXXVI) dissolvidos em 10ml MeOH foram adicionados 30mg de NaBH₄ produzindo 50mg de XLIII.

IV: $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$

3.370, 2.920, 1.560, 1.500, 1.160 cm^{-1}

EM: M^+ calculado para C₂₀H₃₂O₄ 336

Picos em m/z (%)

(M-18) 318(%), 300(7), 282(1), 206(6), 147(12), 121(28), 83(100), 41(36).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

7,37(m, 2H H-17), H-16), 6,35(d, J=2 1H H-15), 3,30 a 3,80 (sl, 1H H-3), 4,60 a 4,90(sl, 1H H-12), 1,16(s, 3H CH₃-19), 1,12(s, 3H CH₃-18), 0,87(s, 3H CH₃-20), 0,77(d J=7 CH₃-14).

g) Obtenção de XLIII (Ca-29E Red_{3,12}Acet)

Utilizando técnica anterior, 40mg de XLII foram dissolvidos em 25ml de piridina e 2,5ml de anidrido acético. Obteve-se 45mg de produto bruto. Cromatografia em coluna de sílica eluída com CHCl₃, forneceu 40,5mg de XLIII.

RMN¹H (CDCl₃, δ)

7,37(m, H-17; H-16), 6,36(m, 1H, H-15), 5,80-6,20(sl, 1H H-12) 4,80(m, 1H, H-3), 2,10(s, 3H, CH₃-C=O) 2,0(s, 3H CH₃-C=O), 1,20(s, 3H CH₃-10), 1,16(s, 3H CH₃-118), 0,87(s, 3H CH₃-20); 0,80(d J=7, 3H CH₃-14).

h) Obtenção de XLV (Ca-29E H₂)

Ca-29E (54mg) dissolvida em metanol (10ml) foi adicionada a uma suspensão de Pd/C (26mg) em metanol (20ml) e hidrogenada à temperatura ambiente sob agitação durante 1 hora. A mistura de reação foi filtrada em coluna de sílica e após evaporação do solvente a pressão reduzida obtendo-se 51mg de Ca-29E H₂ (XLIV), ponto de fusão, 69-71°C.

IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$

3.440, 3.120, 2.940, 1.660, 1.600, 1.560, 1.385, 1.150, 1.100, 1.050.

EM: M⁺ calculado para C₂₀H₃₂O₄ 336

Picos em m/z (%)

M⁺336 (7), 222 (15), 204 (12), 189 (3), 179 (22), 161 (19), 136 (100), 135 (18), 134 (4), 123 (10), 121 (21), 99 (16), 71 (17), 69 (21), 43 (63).

RMN¹H (CDCl₃, δ)

Ausência de prótons olefínicos:

3,65 (sl, 1H - OH), 2,78 (s, 2H CH₂-11), 1,40 (s, 3H, CH₃-19), 0,90 (d, J=7 3H, CH₃-14), 0,86 (s, 6H, CH₃-18 CH₃-20).

CAPÍTULO VI

I. ANEXOS

II. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

I - ANEXOS

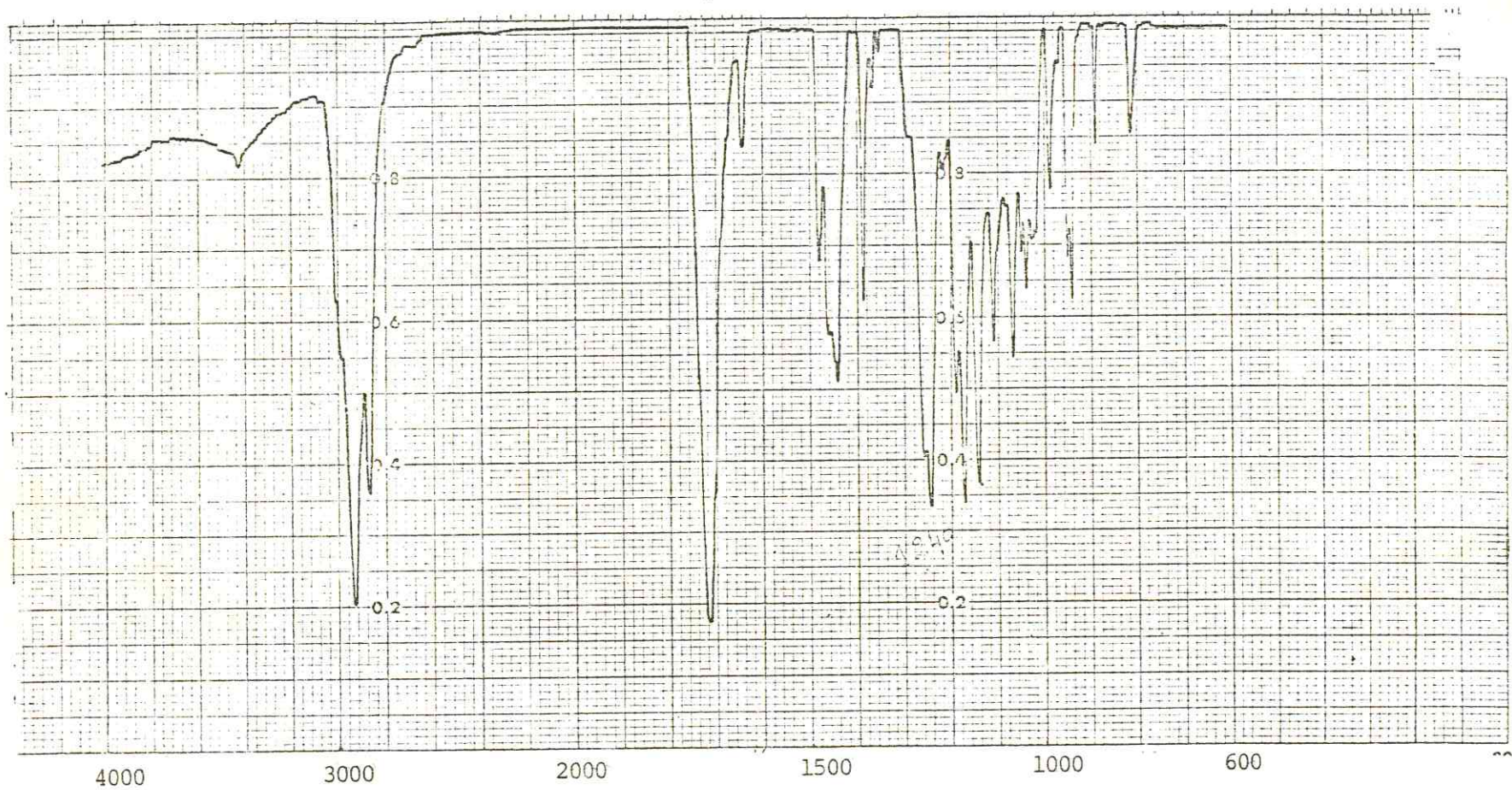


FIGURA 45. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E Me.
(KBr)

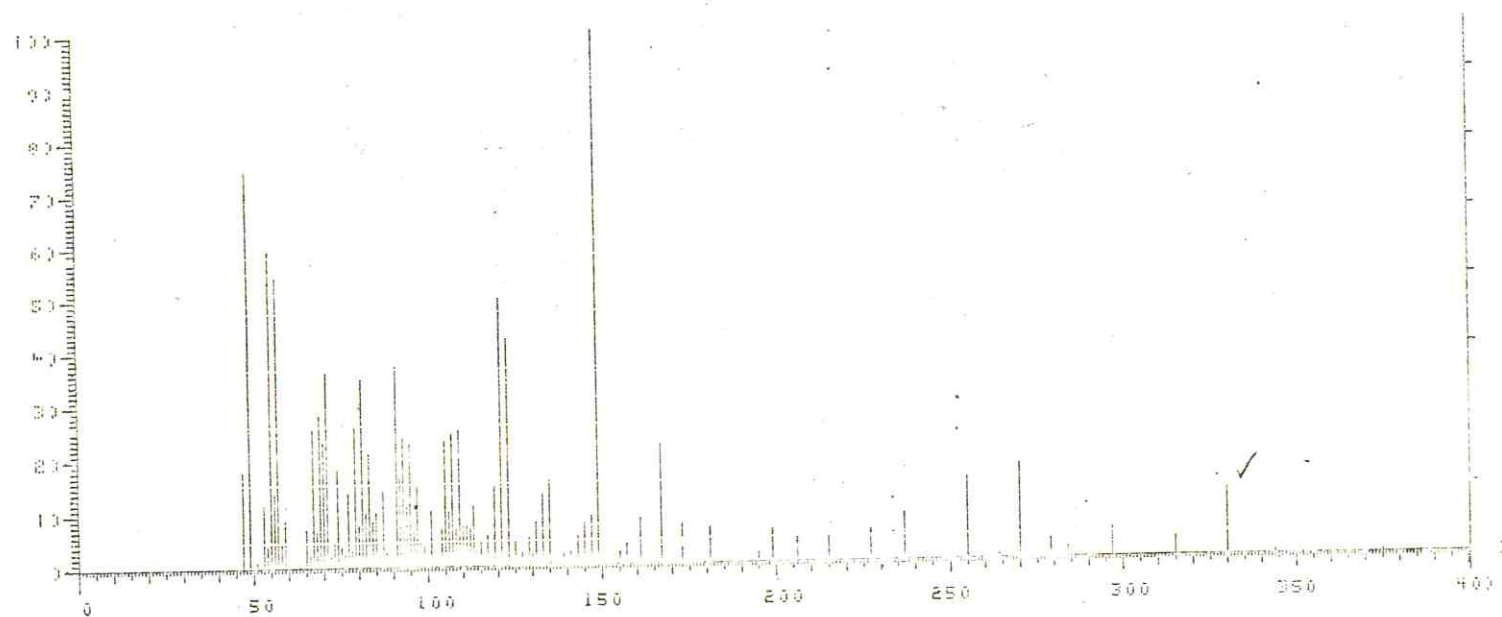


FIGURA 46. Espectro de massas de Ca-37E Me.

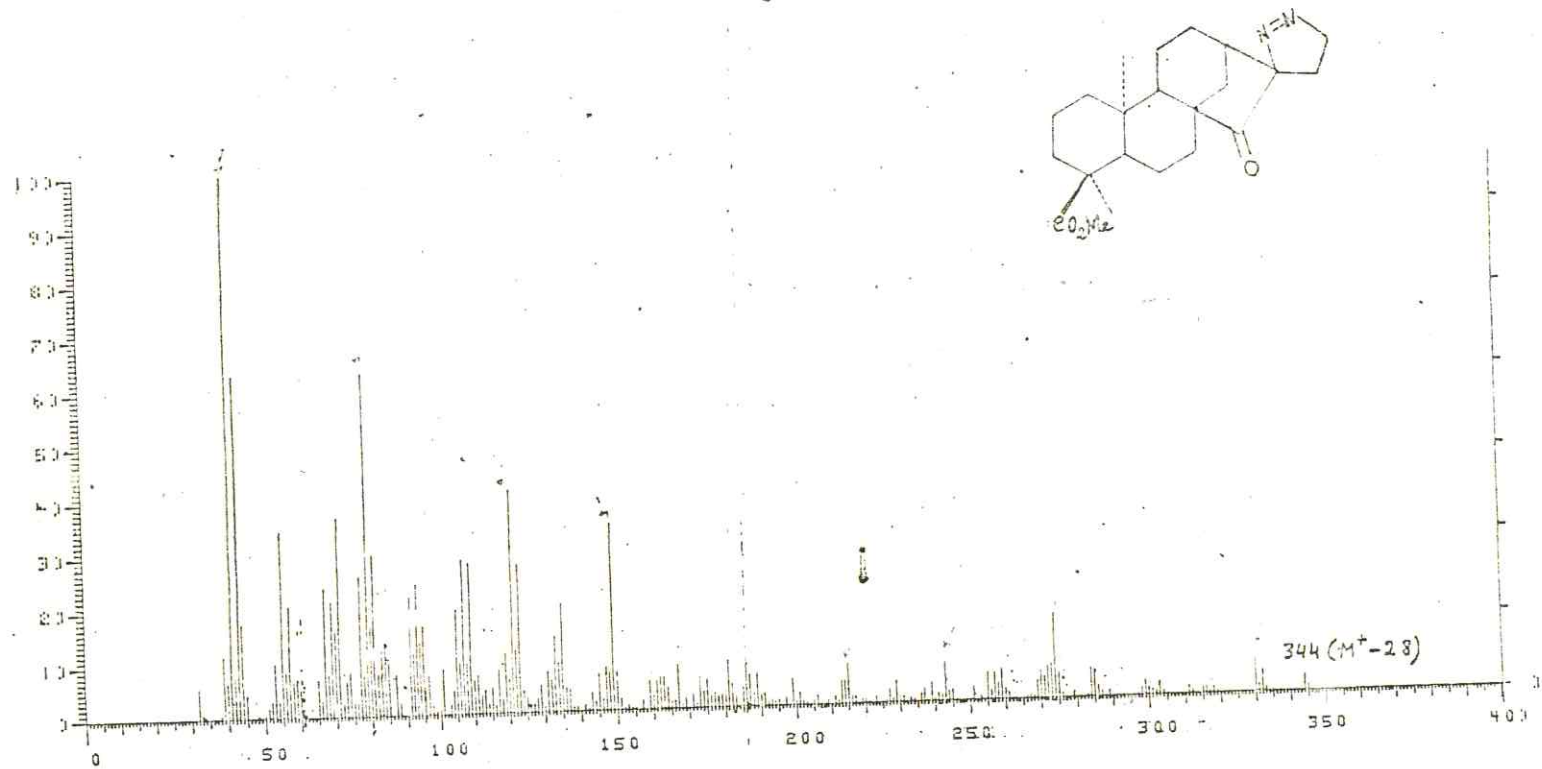


FIGURA 47. Espectro de massas de Ca-37E MeCH₂N₂.

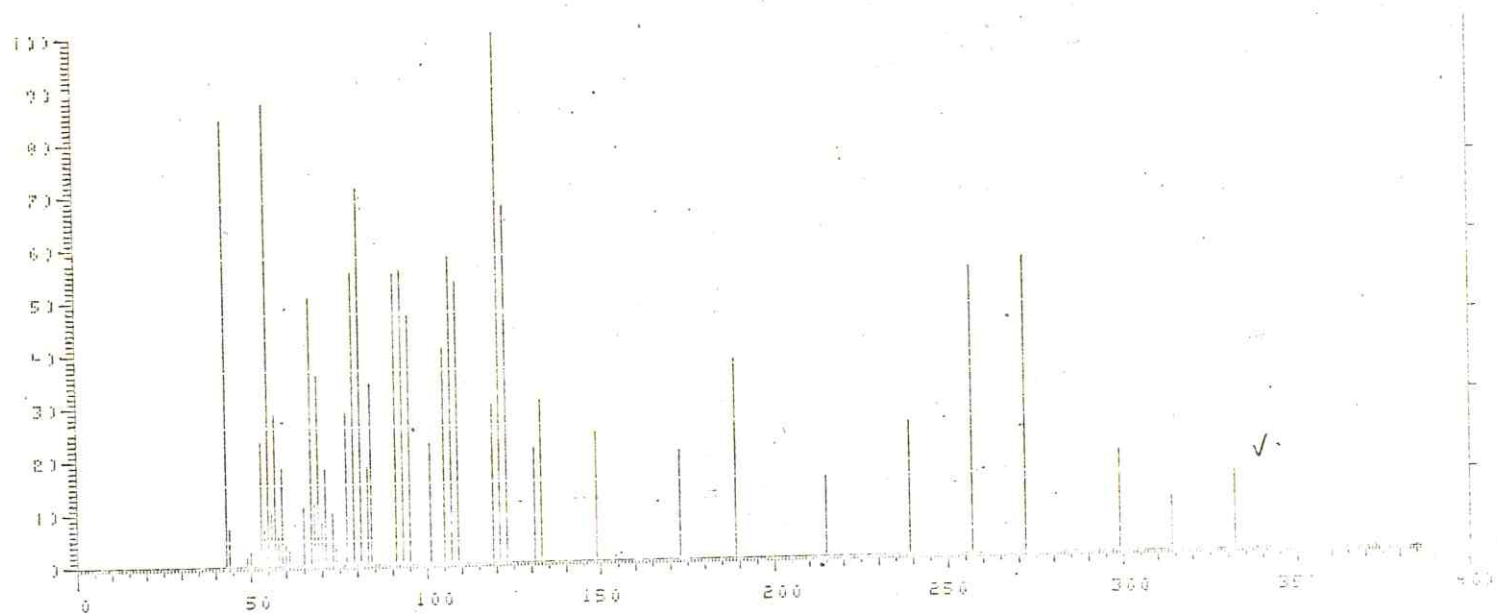


FIGURA 48. Espectro de massas de Ca-37E MeRed₁₅.

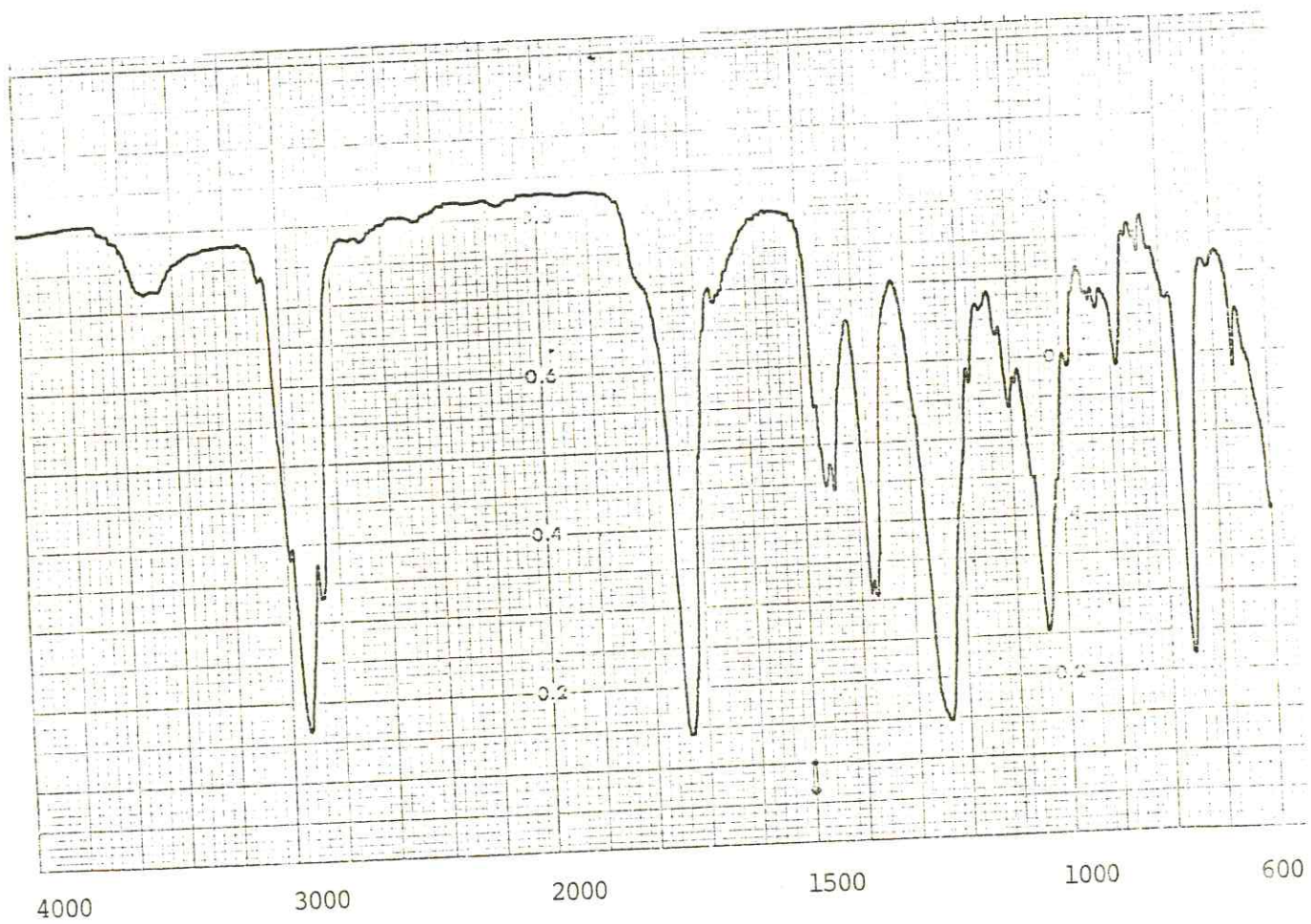


FIGURA 49. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E RedMeRedAcet.
(KBr).

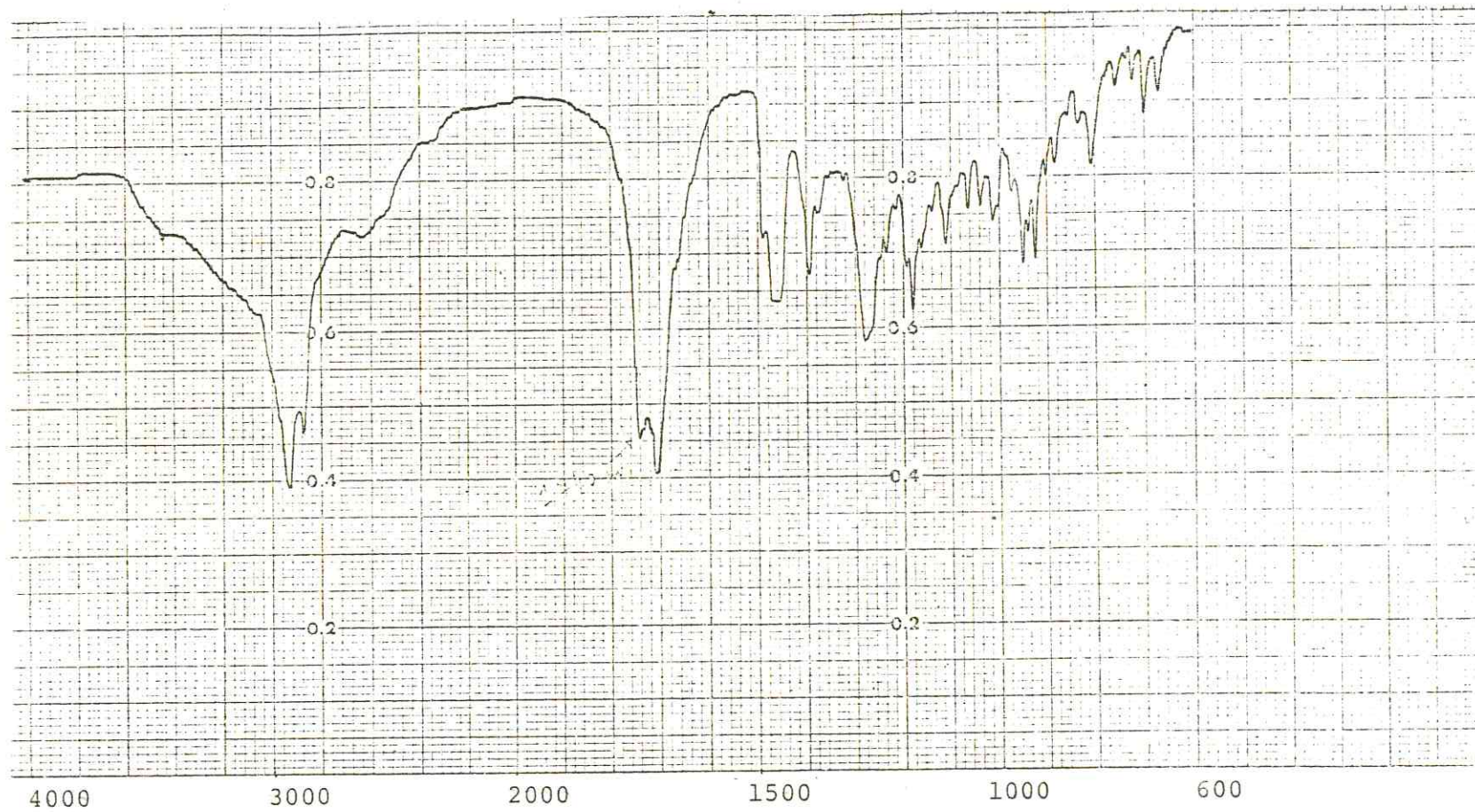


FIGURA 50. Espectro de absorção no I.V. de Ca-37E H₂.
(KBr)

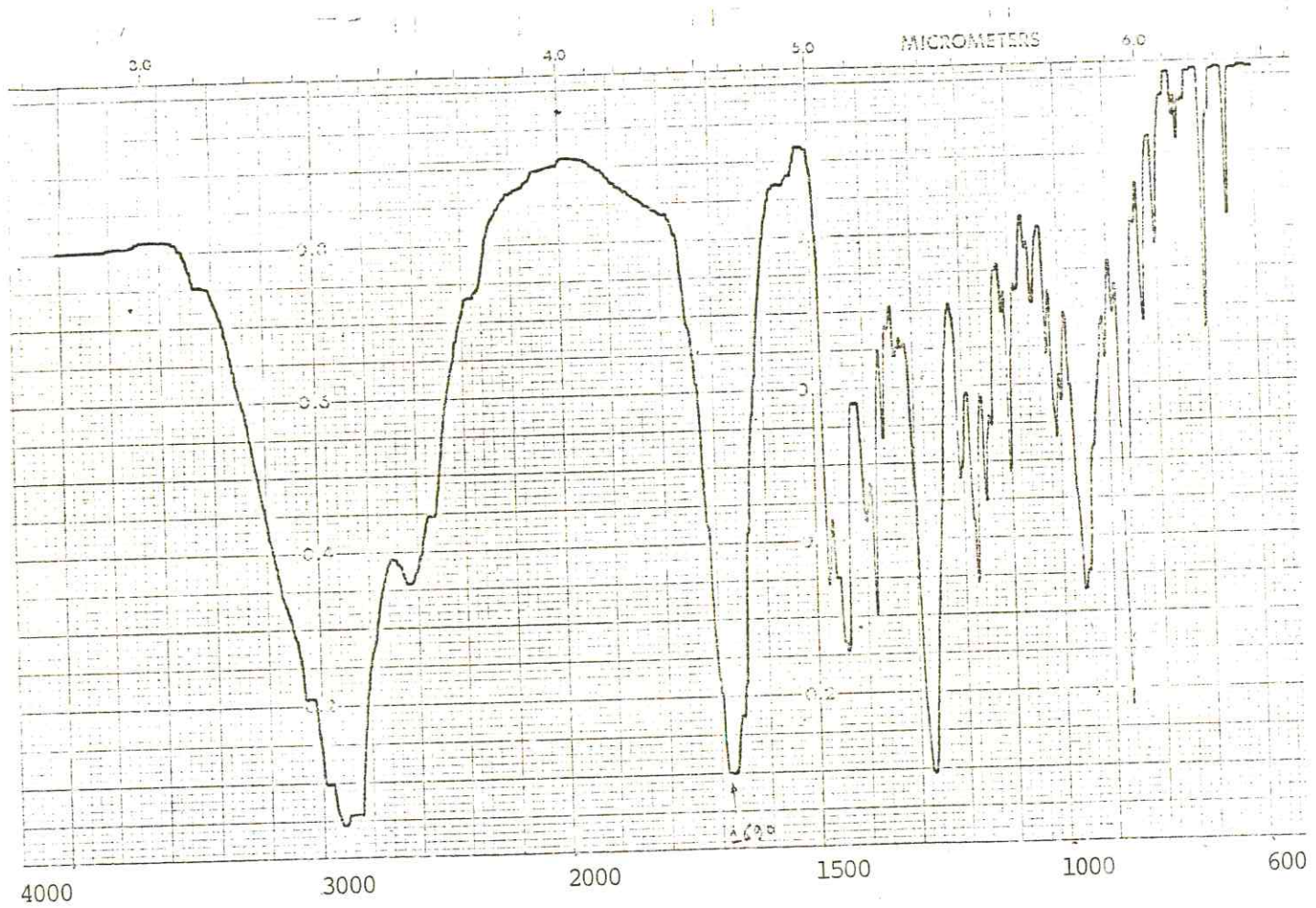


FIGURA 51. Espectro de absorção no I.V. de Ca-38E.
(KBr).



FIGURA 52. Espectro de absorção no I.V. de Ca-38E Me (KBr).

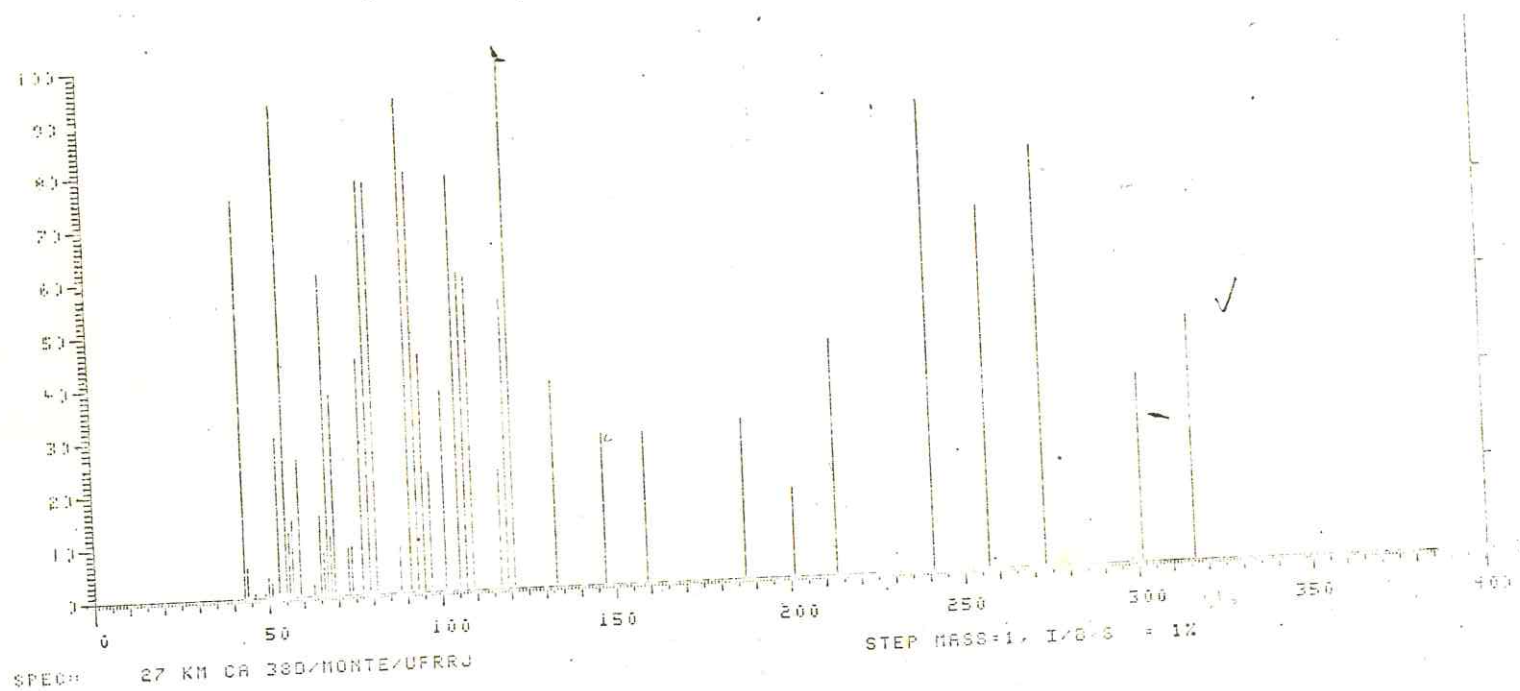


FIGURA 53. Espectro de massas de Ca-38E Me.

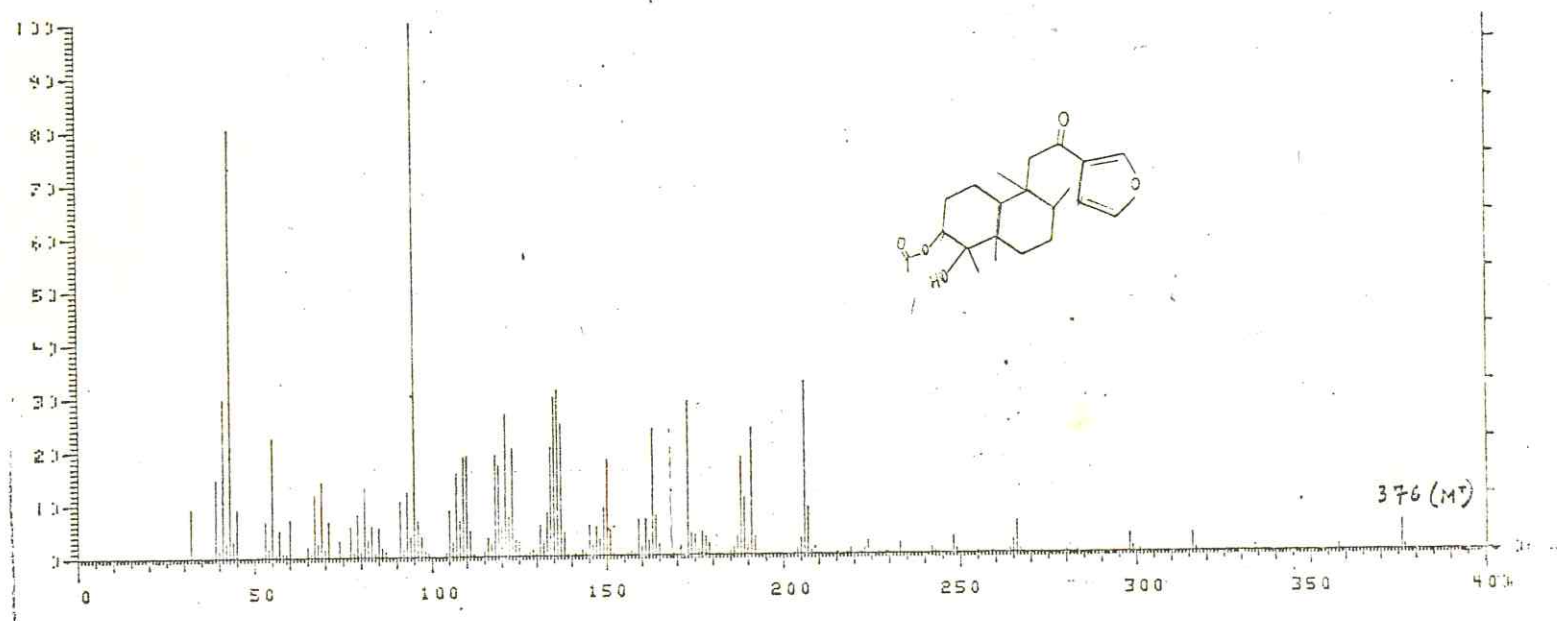


FIGURA 54. Espectro de massas de Ca-29E Red₃acet.

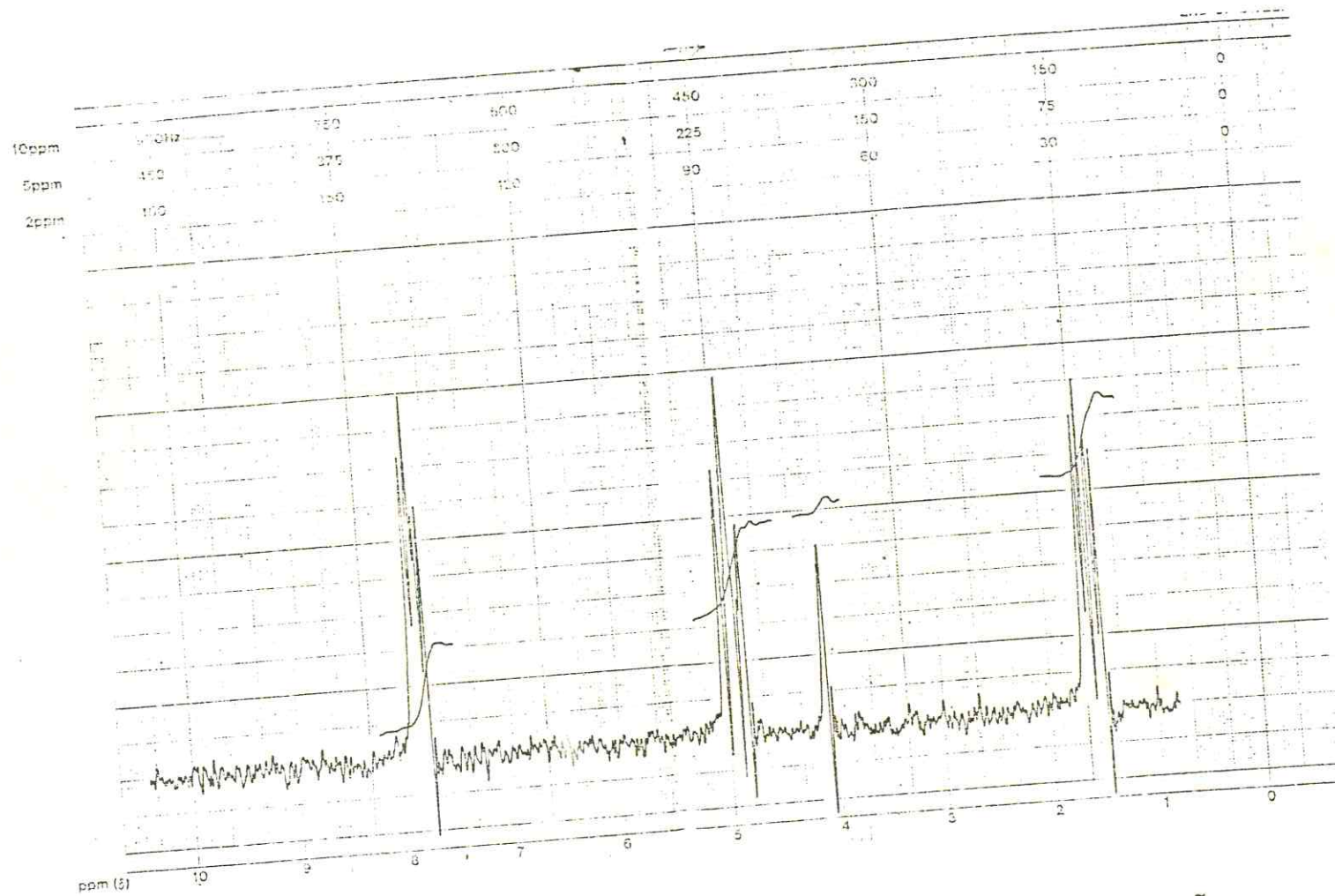


FIGURA 55. Espectro de RMN¹H de Ca-29E(XXXVI). Expansão dos sinais dos protons furânicos. (90MHz, CDCl₃,).

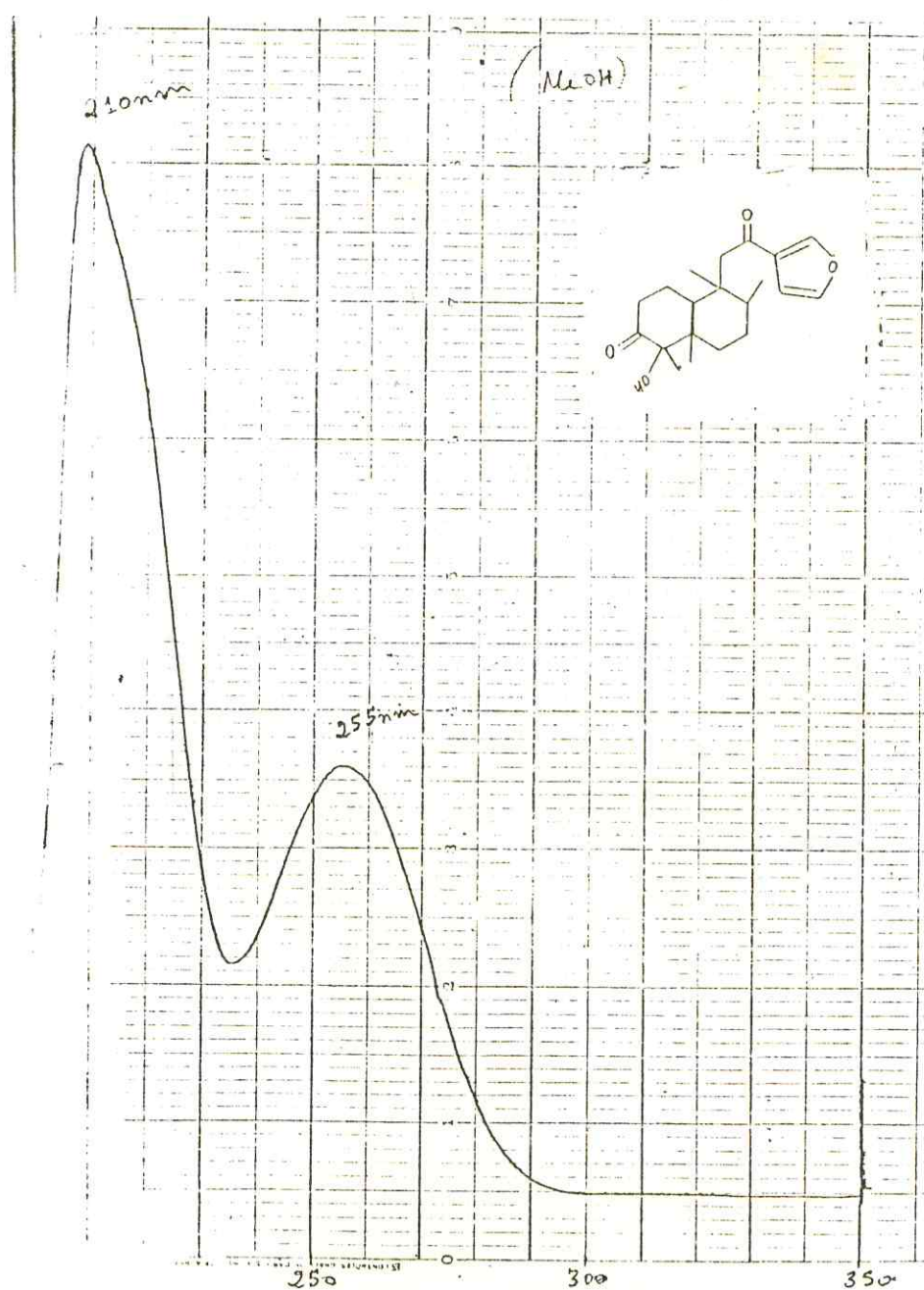


FIGURA 56. Espectro de absorção no U.V. de Ca-29E.
(MeOH).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. T.N.C. DANTAS - Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste: *Croton aff nepetifolius*, Baill, Dissertação de Mestrado. Fortaleza, 1979.
02. A.A. CRAVEIRO, C.H.S. ANDRADE, F.J.A. MATOS, J.W. ALENCAR e T.N.C. DANTAS - *Journal of Natural Products*, 43, 756, 1980.
03. E.R. SILVEIRA - Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas Nativas do Nordeste: *Croton sonderianus* Muell Arg. Dissertação de Mestrado. Fortaleza (1979).
04. A.A. CRAVEIRO, E.R. SILVEIRA, *Phytochemistry*, 21, 2571 (1982).
05. F.J.Q. MONTE - Contribuição ao Conhecimento Químico de Plantas do Nordeste : *Croton argyrophylloides* Muell Arg. Dissertação de Mestrado, Fortaleza (1980).
06. F.J.Q. MONTE; C.H.S. ANDRADE, A.A. CRAVEIRO, R. BRAZ FILHO - *Journal fo Natural Products* 47, 55 (1984).
07. D.E. U. EKONG e E.O. OLAGBEMI e F.A. ODUTOLA - *Phytochemistry* 8, 1053 (1969).
08. D.E.U. EKONG and A.V. OGAN - *J. Chem. Soc. (c)* 311, (1968).
09. A.S. RODRIGUES, M.I.L. MACHADO e R. BRAZ FILHO - Diterpenos de *Annona squamosa* Bent. 31a. Reunião Anual da SBPC, 9, 84 (1971).
10. S.C. PAKRASHI, P.P. DASTIDAR and E. ALI - *Indian J. Chem.* 9, 84 (1971).
11. C.H. BRIESKORN and E. POHLMAN - *Tetrahedron Letters*, 54, 5661 (1968).
12. R.J. CRAWFORD, A. MISHRA and R. J. DUMMEL - *Journal of the American Chemical Society*, 3959 (1966).
13. J.P. FREEMAN - *J. Org. Chem.* 14, 1379 (1964).
14. J.M. STEWART, C. CARLISIE, K. KEM and G. LEE - *J. Org. Chem.* 35, 204 (1970).
15. S. BERNSTEIN and J.P. JOSEPH - *J. Org. Chem.* 25, 1976.

16. C.M. HASAN, T.M. HEALEY and P.G. WATERMAN - *Phytochemistry* 21, 2134, 1982.
17. K. YAMASAKI, H. KOHDA, R. KASAI and O. TANAKA - *Tetrahedron Letters* 13, 1005, 1976.
18. K. YAMASAKI, H. KOHDA, T. KOBAYASHI, N. KANEDA, R. KASAI, O. TANAKA and K. NISHI - *Chem Pharm. Bull* 25, 2895, 1977.
19. E. BREITMAIER and W. VOELTER - "¹³C NMR Spectroscopy Methods and Applications" Verlag-Chemie, Weinheim/Bergstr. 198, 1974.
20. A. C. PINTO e A.L. PEREIRA - *Química Nova* 7, 51, 1984.
21. A. MATSUO, S. UTO, M. NAKAYAMA and S. HAYASHI - *Tetrahedron Letters* 28, 2451, 1976.
22. A. GAUDEMER, Mme. J. POLOSNIKY et E. WENKERT - *Soc. Chim.* 5a. Serie 407, 1964 (memoire).
23. A.G. GONZALEZ, B.M. FRAGA, M.G. HERMANDEZ and J.G. LOUIS - *Phytochemistry* 20, 846, 1981.
24. A.G. GONZALEZ, B.M. FRAGA, M.G. HERMANDEZ e J. G. LOUIS - *Phytochemistry* 12, 2721, 1973.
25. S. BOREY et M. FÉTIZON - *Societě Chimique* 570, 1963.
26. M.M. F. ALBUQUERQUE, F.D.A. LYRA, J.F. MELO, O.G. LIMA, F. D. MONACHE, M.B.S. DIU e L.C. MOREIRA - *Revista do Instituto de Antibióticos* 14, 83, 1974.
27. J.F. MELO, M.M. ALBUQUERQUE, O.G. LIMA, G.D. MONANCHE S. MACRI, B. BOTLA, F.D. MONACHE e G.B.M. BETTOLO - *Revista do Instituto de Antibióticos* 16, 27, 1977.
28. E.R. SILVEIRA - *Biological Evaluation and Chemical Constitution of "Marmeleiro Preto" Croton sonderianus* Muell Arg. Tese de Doutorado, University of Mississippi, 1985.
29. J. BASTARD, D.K. DUC, M. FETIZON, M.J. FRANCIS, P.K. GRANT, R.T. WEAVERS, C. KANETO, G.V. BADDELEY, J.M. BERNASSAU, I.R. BURFITT, P.M. WOUKULICH and E. WENKERT - *Journal of Natural Products* 47, 592, 1984.

30. A. PRATA, A.K. MUKHOPADHYAY and A.K. MITRA - *Organic Magnetic Resonance* 17, 166, 1981.
31. B.L. BUCKMALTA et al *Helv-Chim. Acta* 58, 1567, 1975.
32. A.A. GUNATILAKA, N.P.D. NANAYAKKARA, M.V.S.; SULTANBAWA and BALASUBRAMAMAM - *Phytochemistry* 21, 2061, 1982.
33. C.W.J. CHANG, I. FLAMENT, J.A. MATSON, T. NISHUDA, G.OHLOFF, F.W. WEHRLI, A.J. WEIHNHEIMER - *Fortschritte Der Chemie Organischer Naturstoff* 36, 56, 1979.
34. J.R. HAUSON and M. SWERNS - *J.S. Perkin I.* 114, 1976.
35. T.K. DEVON and A.I. SCOTT - *Handbook of Naturally Occuring Compounds II*, Academic Press N.Y. 1972.
36. T.A.GEISSMAN and D.H. CROUT - *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism* - Freeman Cooper & Company San Francisco (Cal.) 300, 1969.
37. W. LWANDE, C. MACFOY, M. OKECY, F.D. MONACHE e G.B. M. BETTOLO - *Fitoterapia*, LVI, 126 (1985).
38. T.A.GEISSMAN, D.H. CROUT - *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism* - Freeman Cooper & Company, San Francisco (Cal.) 303, 1969.
39. T.A.GEISSMAN, D.H. CROUT - *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism* - Freeman Cooper & Company, San Francisco (Cal.) 346, 1969.
40. AGUIAR, L.M.B.A. Departamento de Biologia da UFC. Microbiologia - Informação pessoal não publicada.
41. L. ANIJANO, J.S. CALDERAN, F. GOMEZ and A.T. RIOS - *Phytochemistry* 12, 2041, 1982.
42. C.M. HASAN, T.M. HEALEY and P.G. WATERMAN - *Phytochemistry* 21, 1365, 1982.