

NEOLIGNANAS DE Licaria rigida e Osteophloeum platyspermum

T E S E

Apresentada ao Decanato de Pós-Graduação da
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro,
para o grau de "Magister Scientiae".

Mario Geraldo de Carvalho

1 9 8 0

Este trabalho foi realizado sob a orientação do .

Prof. Raimundo Braz Filho

Aos meus pais,
pela abnegação à minha educação.

Aos irmãos e amigos,
meu estímulo.

Aos meus ex-professores.

À Valdete, minha esposa.

O autor expressa seus sinceros agradecimentos:

Ao Prof. Dr. Raimundo Braz Filho, pela dedicada orientação, confiança, amizade e estímulo constante na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Otto R. Gottlieb e Maria Auxiliadora Coelho Kaplan, pelas sugestões, apoio, estímulo e amizade.

Aos Profs. Anselmo Alpande Moraes, Sonildes Lamego Vieira Pinho e Maria Elita Leite de Almeida, pelo incentivo desde o início dos trabalhos.

Aos colegas do Departamento de Química da UFRRJ, pelo apoio e confiança dispensados.

Aos funcionários do Departamento de Química da UFRRJ, pelos serviços prestados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de Iniciação Científica e de Pós-Graduação concedidas.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (INPA), Manaus - Amazonas, pelo fornecimento de extratos de Licaria rígida.

À Central Analítica do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (UFRJ), pelo registro e obtenção de espectros de r.m.n. ^1H (100 MHz), r.m.n. ^{13}C e massa.

Ao Prof. Hipólito Paulino F. Filho, da Universidade Estadual Paulista (UESP), pelo fornecimento do extrato de frutos de Osteophloeum platyspermum.

À Feiga Rifka Sochatkevski, do I.M.L., pela obtenção de espectros u.v..

Ao Prof. Mássaioshi Yoshida, da USP, pela obtenção de espectros de D.O.R..

Ao Prof. José Carlos Netto Ferreira, demais Professores e colegas do Curso de Pós-Graduação em Química Orgânica da UFRRJ, pelos ensinamentos, incentivo e amizade.

Ao Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas (UFRRJ), pelo material colocado à disposição.

ÍNDICE

	<u>Pág.</u>
Índice de Tabelas.....	X
Índice de Quadros.....	XIII
Índice de Figuras.....	XV
Índice de Esquemas.....	XXI
— INTRODUÇÃO.....	1
Cap. 1 - NEOLIGNANAS DE <u>Licaria rigida</u>	4
1.1 - A planta e seus constituintes.....	5
1.2 - Determinação estrutural dos constituintes da planta.....	6
1.2.1 - Elucidação estrutural das neolignanas I e III.....	6
1.2.2 - Elucidação estrutural da substância II.....	35
1.2.3 - Elucidação estrutural das neolignanas IV e V.....	35
1.3 - Parte Experimental.....	68
1.3.1 - Material e Métodos.....	68
1.3.2 - Isolamento dos constituintes de <u>Licaria rigida</u>	70
1.3.3 - Dados físicos e espectrais dos constituintes.....	75
— Derivados mono e di-acetilados de IV.....	77

Cap. 2 - GLICERÍDEOS E NEOLIGNANAS DE <u>Osteophloeum</u> <u>platyspermum</u>	78
2.1 - <u>Osteophloeum</u> e seus constituintes.....	79
2.2 - Elucidação estrutural dos constituintes da planta.....	81
2.2.1 - Elucidação constitucional da substância I.....	81
2.2.2 - Elucidação constitucional da substância II.....	85
2.2.3 - Elucidação constitucional da substância III.....	104
2.2.4 - Elucidação estrutural da substância IV.....	124
2.2.5 - Elucidação estrutural das substâncias V, VI e VII.....	141
2.2.5.1 - Substância V.....	143
2.2.5.2 - Substância VI.....	160
2.2.5.3 - Substância VII.....	179
2.2.6 - Elucidação estrutural da substância VIII.....	187
2.3 - Parte Experimental.....	197
2.3.1 - Material e Métodos.....	197
2.3.2 - Isolamento dos constituintes da planta.....	197
2.3.3 - Transformações químicas.....	200

2.3.4 - Dados físicos e espectrais dos constituintes e derivados.....	202
Cap. 3 - BIOGÊNESE DOS GLICERÍDEOS E NEOLIGNANAS.....	209
3.1 - Biogênese dos Glicerídeos.....	209
3.2 - Biogênese das neolignanas.....	210
3.2.1 - Neolignanas 8.8' e 8.8',7.2'.....	210
3.2.2 - Neolignanas benzodioxânicas (7.0.3', 8.0.4') e biciclo [3,2,1] octânicas (8.1',7.3').....	211
Cap. 4 - RESUMO.....	212
— ABSTRACT.....	214
Cap. 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	216

ÍNDICE DE TABELAS

	<u>Pág.</u>
<u>CAPÍTULO 1</u>	
Tab. 1 - Valores dos deslocamentos químicos, em ppm (δ), dos carbonos das substâncias I e III.....	7
Tab. 2 - Dedução da fórmula molecular das substâncias I e III por espectrometria de r.m.n. ¹³ C e massa.....	8
Tab. 3 - Interpretação de sinais de absorção dos espectros i.v. das substâncias I e III.....	9
Tab. 4 - Dados espectrais de r.m.n. ¹ H (60 MHz) de I e III.	10
Tab. 5 - Deslocamentos (δ , em ppm) dos prótons das Eusiderinas <u>3a</u> e <u>3b</u> comparadas com padrões, em CDCl ₃ como solvente e Pr (Fod) ₃ como aditivo.....	15
Tab. 6 - Deslocamentos químicos (δ) dos átomos de carbono das substâncias I e III, comparados com padrões da literatura.....	17
Tab. 7 - Deslocamentos químicos dos prótons H-7 e CH ₃ -9 (δ), dos carbonos C-7, C-8 e C-9 (δ) e constante de acoplamento (J) entre H-7 e H-8 (Hz)...	19
Tab. 8 - Bandas de absorção registradas no i.v. das substâncias IV e V.....	35
Tab. 9 - Deslocamentos químicos em ppm (δ), correspondentes aos carbonos tri, di, mono e não-protonados da substância IV.....	37
Tab. 10 - Dados de r.m.n. ¹ H (δ) das substâncias IV e V.	39
Tab. 11 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons de IV, IV-Ac e IV-di-Ac.....	44

Tab. 12 - Deslocamentos químicos (δ) dos carbonos de IV e IV-Ac.....	47
Tab. 13 - Deslocamentos químicos dos prótons de V, comparados com os da Canelina C.....	49

CAPÍTULO 2

Tab. 1 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância I.....	82
Tab. 2 - Deslocamentos químicos (δ) dos carbonos tri-, di-, mono e não-protonados da substância I.....	84
Tab. 3 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância II.....	86
Tab. 4 - Valores dos deslocamentos químicos em ppm (δ) dos carbonos da substância III.....	104
Tab. 5 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância III.....	105
Tab. 6 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons das substâncias III e III-Ac.....	106
Tab. 7 - Deslocamentos químicos dos carbonos em ppm (δ) da substância III e do derivado acetilado(III-Ac).	109
Tab. 8 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância IV.....	124
Tab. 9 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância IV.....	126
Tab. 10 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons das substâncias IV e IV-Ac (60 MHz).....	129

Tab. 11 - Valores dos deslocamentos químicos em ppm (δ), dos átomos de carbono das substâncias V, VI e VII.	141
Tab. 12 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância V.....	143
Tab. 13 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons das substâncias V e V-Ac.....	144
Tab. 14 - Comparação dos deslocamentos químicos em ppm (δ), dos carbonos de V, com modelos da literatura....	147
Tab. 15 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância VI.....	160
Tab. 16 - Dados espectrais de r.m.n. ^1H (100 MHz), da substância VI, comparados com os da hidroxí-otobaina (60 MHz).....	162
Tab. 17 - Comparação dos deslocamentos químicos em ppm (δ), dos carbonos de V e VI, com padrões.....	165
Tab. 18 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância VII.....	179
Tab. 19 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância VII (100 MHz), comparados com os da hidroxí-otobaina (60 MHz).....	182
Tab. 20 - Deslocamentos químicos, em ppm (δ), dos carbonos de VI e VII, comparados com padrões.....	184

ÍNDICE DE QUADROS

Pág.

CAPÍTULO 1

Quadro 1 - Interpretação dos picos em m/e 162 e 208 que aparecem nos espectros de massa das substâncias I e III.....	11
Quadro 2 - Dedução da presença do grupo piperonila nas substâncias IV e V, por espectrometria de massa.....	40
Quadro 3 - Dados de r.m.n. ¹ H dos prótons do sistema ABXY de IV.....	42
Quadro 4 - Resultados das análises das frações da coluna do eluato éter de petróleo + benzeno.....	71
Quadro 5 - Frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato clorofôrmico.....	73

CAPÍTULO 2

Quadro 1 - Fragmentos correspondentes aos picos mais significativos registrados no espectro de massa da substância I.....	83
Quadro 2 - Fragmentos correspondentes aos picos mais significativos registrados nos espectros de massa da substância II e do derivado acetilado(II-Ac). ..	89
Quadro 3 - Fragmentos mais significativos registrados no espectro de massa de IV e do derivado acetilado.....	127
Quadro 4 - Interpretação dos picos m/e 135 e 137 que aparecem no espectro de massa da substância V....	146

Quadro 5	- Fragmentos correspondentes a picos mais significativos que aparecem no espectro de massa da substância VII.....	181
Quadro 6	- Modificações ($\Delta\delta$) dos deslocamentos químicos dos grupos metila de padrões comparados com os de VI e VII (Tab. 20).....	186
Quadro 7	- Análise das frações reunidas da coluna do eluato etéreo (E).....	198
Quadro 8	- Estudo das frações reunidas da cromatografia em coluna de sílica do filtrado B (Esquema 1)....	199
Quadro 9	- Reações de acetilação das substâncias II, III, IV e V.....	200

ÍNDICE DE FIGURAS

	<u>Pág.</u>
<u>CAPÍTULO 1</u>	
Fig. I-1 . Espectro u.v. da substância I.....	20
Fig. I-2 . Espectro i.v. da substância I.....	21
Fig. I-3 . Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) da substância I	22
Fig. I-4 . Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância I, total- mente desacoplado.....	23
Fig. I-5 . Espectro de r.m.n. ¹³ C com acoplamento resi- dual da substância I.....	24
Fig. I-6 . Espectro de massa da substância I.....	25
Fig. III-1 . Espectro u.v. da substância III.....	27
Fig. III-2 . Espectro i.v. da substância III.....	28
Fig. III-3 . Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) da substância III.....	29
Fig. III-4 . Espectro de r.m.n. ¹³ C, totalmente desacoplado da substância III.....	30
Fig. III-5 . Espectro de r.m.n. ¹³ C, com acoplamento resi- dual, da substância III.....	31
Fig. III-6 . Espectro de r.m.n. ¹³ C, com acoplamento resi- dual, da substância III.....	32
Fig. III-7 . Espectro de massa da substância III.....	33
Fig. IV-1 . Espectro u.v. da substância IV.....	50

Fig. IV-2 .	Espectro i.v. da substância IV.....	51
Fig. IV-3 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância IV, com dupla irradiação.....	52
Fig. IV-4 .	Espectro de massa da substância IV.....	53
Fig. IV-5 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância IV, totalmente desacoplado.....	54
Fig. IV-6 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância IV, com acoplamento residual.....	55
Fig. IV-7 .	Espectro D.O.R. da substância IV.....	56
Fig. IV-8 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) do derivado mono-acetilado da substância IV.....	57
Fig. IV-9 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C do derivado mono-acetilado da substância IV, totalmente desacoplado.....	58
Fig. IV-10 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C do derivado mono-acetilado da substância IV, com acoplamento residual.....	59
Fig. IV-11 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado di-acetilado da substância IV.....	60
Fig. V-1 .	Espectro u.v. da substância IV + V.....	61
Fig. V-2 .	Espectro i.v. da substância V.....	62
Fig. V-3 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância V.....	63
Fig. V-4 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância V, com dupla irradiação.....	64
Fig. V-5 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância V, com dupla irradiação.....	65

Fig. V-6 . Espectro de massa da substância V.....	66
---	----

CAPÍTULO 2

Fig. I-1 . Espectro i.v. da substância I.....	90
Fig. I-2 . Espectro de r.m.n. ¹ H da substância I.....	91
Fig. I-3 . Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância I, total- mente desacoplado.....	92
Fig. I-4 . Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância I, com acoplamento residual.....	93
Fig. I-5 . Espectro de massa da substância I.....	94
Fig. II-1 . Espectro i.v. da substância II.....	97
Fig. II-2 . Espectro i.v. do derivado acetilado da sub- stância II.....	98
Fig. II-3 . Espectro de r.m.n. ¹ H da substância II.....	99
Fig. II-4 . Espectro de r.m.n. ¹ H do derivado acetilado da substância II.....	100
Fig. II-5 . Espectro de massa da substância II.....	101
Fig. II-6 . Espectro de massa do derivado acetilado da substância II.....	102
Fig. III-1 . Espectro u.v. da substância III.....	111
Fig. III-2 . Espectro i.v. da substância III.....	112
Fig. III-3 . Espectro i.v. do derivado acetilado de III...	113

Fig. III-4	. Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância III.....	114
Fig. III-5	. Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado acetilado de III.....	115
Fig. III-6	. Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância III, com acoplamento residual.....	116
Fig. III-7	. Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância III, totalmente desacoplado.....	117
Fig. III-8	. Espectro de r.m.n. ¹³ C do derivado acetilado de III, totalmente desacoplado.....	118
Fig. III-9	. Espectro de r.m.n. ¹³ C do derivado acetilado de III, com acoplamento residual.....	119
Fig. III-10	. Espectro de massa da substância III.....	120
Fig. III-11	. Espectro de massa do derivado acetilado da substância III.....	121
Fig. IV-1	. Espectro u.v. da substância IV.....	130
Fig. IV-2	. Espectro i.v. da substância IV.....	131
Fig. IV-3	. Espectro i.v. do derivado acetilado de IV...	132
Fig. IV-4	. Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) de IV.....	133
Fig. IV-5	. Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) do derivado acetilado de IV.....	134
Fig. IV-6	. Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância IV.....	135
Fig. IV-7	. Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado acetilado da substância IV.....	136

Fig. IV-8 .	Espectro de massa da substância IV.....	137
Fig. IV-9 .	Espectro de massa do derivado acetilado da substância IV.....	138
Fig. V-1 .	Espectro u.v. da substância V.....	149
Fig. V-2 .	Espectro i.v. da substância V.....	150
Fig. V-3 .	Espectro i.v. do derivado acetilado de V....	151
Fig. V-4 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância V.....	152
Fig. V-5 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado acetilado da substância V.....	153
Fig. V-6 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância V, totalmente desacoplado.....	154
Fig. V-7 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância V, com acoplamento residual.....	155
Fig. V-8 .	Espectro de massa da substância V.....	156
Fig. V-9 .	Espectro de massa do derivado acetilado da substância V.....	157
Fig. VI-1 .	Espectro u.v. da substância VI.....	168
Fig. VI-2 .	Espectro i.v. da substância VI.....	169
Fig. VI-3 .	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) da substância VI.....	170
Fig. VI-4 .	Espectro de r.m.n. ¹³ C da substância VI, totalmente desacoplado.....	171

Fig. VI-5 .	Espectro de r.m.n. ^{13}C da substância VI, com acoplamento residual.....	172
Fig. VI-6 .	Espectro de massa da substância VI.....	173
Fig. VI-7 .	Espectro i.v. do produto de desidratação da substância VI (VIa).....	174
Fig. VI-8 .	Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) do produto de desidratação de VI (VIa).....	175
Fig. VI-9 .	Espectro de massa do produto de desidratação de VI (VIa).....	176
Fig. VII-1 .	Espectro u.v. da substância VII.....	189
Fig. VII-2 .	Espectro i.v. da substância VII.....	190
Fig. VII-3 .	Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância VII.....	191
Fig. VII-4 .	Espectro de r.m.n. ^{13}C da substância VII, totalmente desacoplado.....	192
Fig. VII-5 .	Espectro de r.m.n. ^{13}C da substância VII, com acoplamento residual.....	193
Fig. VII-6 .	Espectro de massa da substância VII.....	194
Fig. VII-7 .	Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância VII, em presença de D_2O	195

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Pág.

CAPÍTULO 1

Esquema	1 . Caminhos biossintéticos para neolignanais 1,4-benzodioxânicas (8.0.4' , 7.0.3')...	13
Esquema	I-1 . Interpretação do espectro de massa da substância I.....	26
Esquema	III-1 . Interpretação do espectro de massa da substância III.....	34
Esquema	IV-V-1 . Interpretação dos espectros de massa da substância IV e V.....	67
Esquema	2 . Fracionamento do extrato benzênico.....	70
Esquema	3 . Fracionamento químico da fração metanólica.....	74

CAPÍTULO 2

Esquema	I-1 . Interpretação do espectro de massa da substância I.....	95
Esquema	II-1 . Interpretação do espectro de massa da substância II.....	103
Esquema	II-2 . Interpretação do espectro de massa do derivado acetilado da substância II (II-Ac).....	103
Esquema	III-1 . Interpretação do espectro de massa da substância III.....	122
Esquema	III-2 . Interpretação do espectro de massa do derivado acetilado da substância III....	123

Esquema	IV-1	. Interpretação do espectro de massa da substância IV.....	139
Esquema	IV-2	. Interpretação do espectro de massa do derivado acetilado da substância IV (IV-Ac).	140
Esquema	V-1	. Interpretação do espectro de massa da substância V.....	158
Esquema	V-2	. Interpretação do espectro de massa do derivado acetilado da substância V (V-Ac).	159
Esquema	VI-1	. Interpretação do espectro de massa da substância VI.....	177
Esquema	VI-2	. Interpretação do espectro de massa do produto de desidratação da substância VI (VIa).....	178
Esquema	VII-1	. Interpretação do espectro de massa da substância VII.....	195
Esquema	1	. Tratamentos do extrato benzênico.....	197

CAPÍTULO 3

Esquema	3.1	. Proposição biogenética para os glicerídeos I e II.....	209
Esquema	3.2	. Proposta biogenética para as neolignanas III, IV, V, VI e VII.....	210
Esquema	3.3	. Proposta biogenética para as neolignanas benzodioxânicas e biciclo [3,2,1] octânicas.....	211

INTRODUÇÃO

Este trabalho descreve o estudo químico de duas plantas brasileiras: Licaria rigida Kosterm (Lauraceae) e Osteophloeum platyspermum (A.D.C.) Warburg (Myristicaceae).

Este estudo, envolvendo o isolamento e a elucidação estrutural de produtos naturais orgânicos, reflete interesse acadêmico, medicinal e industrial, contribuindo através da quimiotaxonomia para uma classificação mais rigorosa das espécies vegetais.

A aplicação de técnicas modernas de análise orgânica nos trabalhos de isolamento (métodos cromatográficos) e de identificação e elucidação estrutural (métodos espectrométricos: u.v., i.v., r.m.n. ^1H , r.m.n. ^{13}C , massa e D.O.R.) tornou a atividade do Químico Orgânico menos árdua e mais empolgante, possibilitando, a curto prazo, desvendar estruturas que há três décadas era quase impossível. Estas técnicas foram utilizadas durante todas as etapas da atividade de pesquisa que conduziu a produção deste trabalho.

A Licaria brasiliensis (Nees) fornece madeira para vigamento, soalhos e caibros [31].

A casca de espécies de Licaria é usada na preparação de chá pelos nativos.

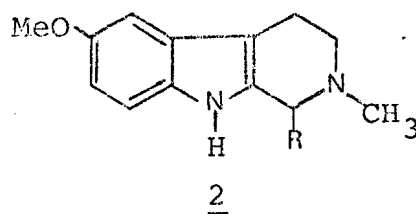
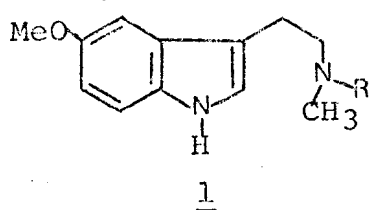
A Licaria puchury-major (Mart.) Kosterm é uma Lauraceae aromática fornecedora do Puxuri comercial de alto valor medicinal [31] e [33].

Estudos fitoquímicos revelaram a presença de lignanas, substâncias empregadas na terapia do câncer, nas espécies de Licaria [8] e [1].

A Licaria rigida (Cap. 1) também elabora neolignanas. Foram isoladas e caracterizadas quatro neolignanas, duas benzodioxânicas e duas biciclo [3,2,1] octânicas.

O interesse pelo estudo de espécies da família Myristicaceae foi despertado pelo uso dos nativos, que utilizam preparados com folhas, casca ou gordura de sementes. As propriedades anti-infecciosas destas preparações foram atribuídas as neolignanas, substâncias bastante difundidas nesta família [33].

Os índios da Bacia Amazônica preparam rapés alucinogênicos utilizando casca de Virola (Myristicaceae). Esta atividade é devido, principalmente, à 5-metoxitriptaminas (1) e de 6-metoxicarbolinas (2), o que explica o uso de resina de Virola theodora como veneno de flexa [33].



O caule da Osteophleom platyspermum forneceu isoflavonas, pterocarpanos e o ácido Kaur-16-en-19-oico [36].

Neolignanas são também produzidas por espécies da família Myristicaceae. Algumas atividades destas substâncias naturais merecem destaque. O ácido dihidroguaiarético e a nor-isoguaiacin são usados como antioxidantes de gordura [32]. O ácido nor-dihidroguaiarético, chamado de "Penicilina de hidroquinona", é o mais potente antimetabolito do câncer in vivo [32].

A nor-isoguaiacin inibe Streptococcus sp, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis e Pseudomonas aeruginosa, em

pequena concentração (100 $\mu\text{g/ml}$) quando se usa "Triptona agar" como meio de cultura. [32].

Atividade semelhante foi revelada pelo ácido dihidroguaiarético, sendo concentração mínima de 10 $\mu\text{g/ml}$ [32].

A atividade antifungo do óleo das sementes da Dialyanthera otoa é devido a presença de (-) otobaina [34].

A semente e o arilo do fruto de árvores da família Myristicaceae têm sido usados na medicina popular devido a suas atividades abortífera, narcótica e terapêutica. A presença de neolignanas responde por estas atividades [34].

A denominação uccuba, é usada na nomeação vulgar dos gêneros Virola, Iryanthera e Osteophloeum.

A gordura "Ucuhuba", produzida industrialmente de Virola sebifera Aublet, Virola surinamensis (Rol.) Warburg e outras espécies, tem grande valor comercial devido ao alto teor de Lauro-dimiristato e Lauro-miristato de glicerila, amplamente utilizados na obtenção de sabão biodegradável de grande valor comercial [34] e [35].

Este trabalho descreve o estudo químico do fruto de Osteophloeum platyspermum (Cap. 2), registrando-se a presença de guaiacin e alguns de seus derivados (otobafenol, hidroxiotobaina e hidroxioxo-otobaina), ácido dihidroguaiarético e glicérides. O teor de lauro-dimiristato de glicerila (90%) no extrato benzênico assume importância comercial e as neolignanas refletem o valor farmacológico da planta estudada.

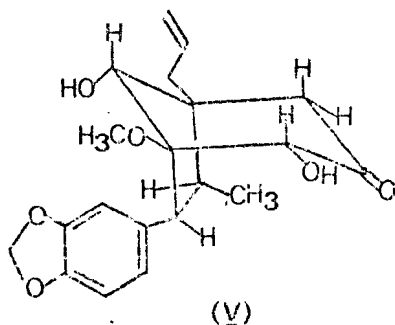
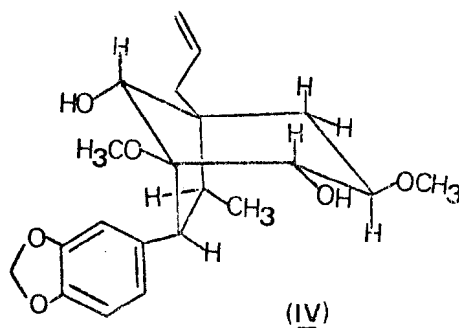
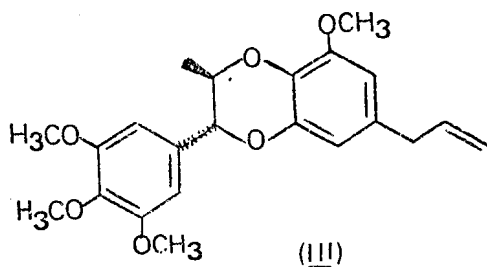
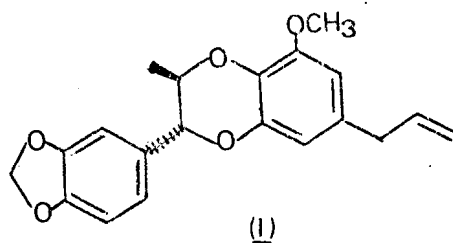
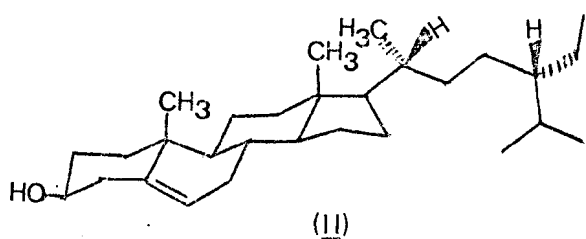
CAPÍTULO 1

NEOLIGNANAS DE Licaria rigida

1.1 - A planta e seus constituintes

A espécime utilizada para estudo foi coletada em 1974 na Reserva Florestal Ducke, região amazônica, e registrada no Herbário do INPA sob o nº 43576. A classificação foi feita por Kubitzki como Licaria rigida Kosterm.

A madeira do tronco forneceu sitosterol (II), Eusiderina B (I), Eusiderina A (III), Canelina A (IV) e Canelina C (V).

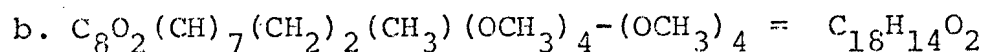
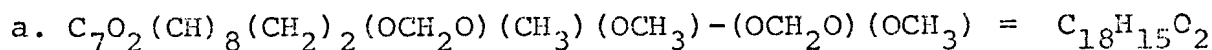


1.2 - Determinação estrutural dos constituintes da planta

1.2.1 - Elucidação estrutural das neolignananas benzodioxanas I e III.

Os espectros de r.m.n. ^{13}C [16] das substâncias I (Figs. I-4 e I-5) e III (Figs. III-4, III-5 e III-6) permitiram assinalar o número de átomos de carbono mono-, di-, tri- e não protonados, com base na comparação de espectros totalmente desacoplado (Figs. I-4 e III-4) e com acoplamento residual (Figs. I-5, III-5 e III-6, Tab. 1). Estes dados, em conjunto com o peso molecular revelado por espectrometria de massa, possibilitaram deduzir a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_5$ para a substância I e $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$ para III (Tab. 2), sendo o número de átomos de hidrogênio confirmado por r.m.n. ^1H (Figs. I-3 e III-3). Estes dados permitiram ainda ampliar estas formulações para $\text{C}_7\text{O}_2(\text{CH})_8(\text{CH}_2)_2(\text{OCH}_2\text{O})(\text{CH}_3)(\text{OCH}_3)$ e $\text{C}_8\text{O}_2(\text{CH})_7(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_3)(\text{OCH}_3)_4$, respectivamente.

Subtraindo-se destas formulações os átomos de carbono correspondentes a metilenodioxi e metoxilas, obtêm-se $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{O}_2$ e $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_2$ como representantes do esqueleto básico.



O número de átomos de carbono do esqueleto básico (C_{18}) permitiu classificação das duas substâncias como lignoide ($\text{C}_6\text{C}_3 + \text{C}_6\text{C}_3$).

Tab. 1 - Valores dos deslocamentos químicos, em ppm (δ), dos carbonos das substâncias I e III, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

$-\text{CH}_3$		$-\text{CH}_2-$		$-\overset{ }{\text{C}}-$		$-\overset{ }{\underset{ }{\text{C}}}-$	
I	III	I	III	I	III	I	III
17,21	17,30	39,97	39,94	74,05	73,97	130,70	131,11
56,04 (OMe)	56,10 (OMe)	101,13 (OCH ₂ O)	115,63	80,64	80,97	131,11	132,20
<hr/> CH ₃ OMe	56,10 (OMe)	<hr/> 115,62	<hr/> (CH ₂) ₂	104,45	104,37	132,18	132,35
	56,10 (OMe)			107,43	104,37	144,17	138,30
	60,72 (OMe)			108,23	104,52	147,40	144,06
				109,42	109,43	147,90	148,37
		(CH ₂) ₂ OCH ₂ O		121,12	137,11	148,35	153,38
	<hr/> CH ₃ (OMe) ₄			137,15	<hr/> (CH) ₇	<hr/> C ₇	153,38
				<hr/> (CH) ₈			<hr/> C ₈

Tab. 2 - Dedução da fórmula molecular das substâncias I e III por espectrometria de r.m.n. ^{13}C e massa.

Substância	Fórmula (Tab.1)	Massa	M^+	Fórmula Molecular
I	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_3$	308	340	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_5$
III	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_4$	354	386	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_6$

Os espectros no u.v. da substância I [$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 283 (ϵ 4320) e 240 (ϵ 7270), Fig. I-1] e da substância III [$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 220 (ϵ 8912), Fig. III-1] confirmaram a presença de sistema aromático polissubstituído por oxigrupos. Inalteração dos espectros após adição de hidróxido de sódio revelou a ausência de hidroxila fenólica.

A análise dos espectros i.v. das substâncias I (Fig. I-2) e III (Fig. III-2) permitiu as deduções [2] descritas na Tab. 3 e revelou a semelhança das duas substâncias (Figs. I-2 e III-2).

Tab. 3 - Interpretação de sinais de absorção dos espectros i.v. das substâncias I e III.

KBr (cm ⁻¹) max		Grupos funcionais
I	III	
3050	3040	$\nu_{\text{C}=\text{C}-\text{H}}$
2950-2800	3000-2800	$\nu_{\text{C}-\text{H}}(\text{CH}_3, \text{CH}_2, \text{OCH}_3 \text{ e/ou } \text{O}_2\text{CH}_2)$. } Sistema aromático
1600	1600	
1500	1500	
1250, 1150	1240, 1230	$\nu_{\text{C}-\text{O}} (= \text{C}-\text{O}-\text{CH}_3)$
1120, 1060	1150, 1120	
980	1000	$\text{RCH}=\text{CH}_2$
940	920	

Os espectros de r.m.n.¹H das substâncias I (Fig. I-3) e III (Fig. III-3) revelaram-se compatíveis com esqueleto lignoide dimérico benzodioxânico, com dois anéis aromáticos. Esta dedução baseou-se nos deslocamentos químicos e feições dos sinais correspondentes aos prótons destas substâncias. A comparação dos espectros de r.m.n.¹H (Figs. I-3 e III-3) e r.m.n.¹³C (Figs. I-4, I-5, III-4 e III-5) permitiu deduzir que as duas substâncias diferem somente no padrão de oxigenação de um grupo arila, tendo I um grupo 3,4-metilenodioxifenil e III 3,4,5-trimetoxifenil.

A presença da unidade estrutural 1 foi deduzida com base nos seguintes dados (Tab. 4):

1. O grupo metila (CH_3-9) é representado por um dubleto em 1,3 δ (Tab. 4).

2. A presença de um multipletto (1H) entre 4,3-3,8 δ correspondente ao H-8 interagindo com CH_3-9 e H-7.

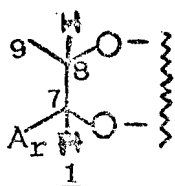
3. Um dubleto (1H) em 4,6 δ correspondente ao H-7 interagindo somente com H-8.

Tab. 4 - Dados espectrais de r.m.n. ^1H (60MHz) de I e III, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Prótons *	I				III			
	δ	feição	[H]	J(Hz)	δ	feição	[H]	J(Hz)
Me-9	1,3	d	3	6,0	1,3	d	3	6,0
CH_2-7'	3,3	d	2	7,0	3,32	d	2	7,0
OCH_3	3,9	s	3	-	3,9	s	12	-
H-8	4,3-3,8	m	1		4,3-3,8	m	1	
H-7	4,6	d	1	8,0	4,58	d	1	8,0
CH_2-9'	5,3-4,9	m	2		5,3-4,9	m	2	
$\text{CH}-8'$	6,3-5,6	m	1		6,3-5,6	m	1	
O_2CH_2	6,0	s	2	-				
H-2'	{ 6,5 ou 6,4	d	1	2,0	{ 6,52 ou 6,4	d	1	2,0
H-6'	{ 6,4 ou 6,5	d	1	2,0	{ 6,4 ou 6,52	d	1	2,0
H-2	} 6,9							
H-6		s	3	-	6,62	s	2	-
H-5								

(*) A numeração utilizada está baseada na origem biossintética [1].

Neste ponto, tornou-se possível estabelecer a estrutura parcial la para a substância I e lb para a substância III.



la. Ar = metilendioxifenil (piperonila)

lb. Ar = trimetoxifenil tri-O-metilpirogálila)

A presença dos picos em m/e 162 (Fig. I-6; Esquema I-1) no espectro de massa de I e em m/e 208 (Fig. III-7, Esquema III-1) de III confirmaram esta dedução, já que os fragmentos a e b (Quadro 1) podem ser correlacionados com estes picos.

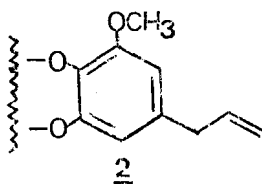
Quadro 1. Interpretação dos picos em m/e 162 e 208 que aparecem nos espectros de massa das substâncias I e III.

Substância	M ⁺	%	Fragmento	m/e	%
I	340	29	 <u>a</u>	162	100
III	386	100	 <u>b</u>	208	86

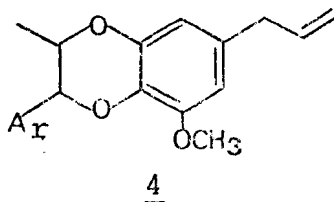
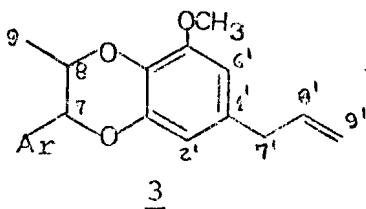
Os espectros de massa permitiram, ainda, sugerir a mesma fórmula C₁₀H₁₀O₃ para a outra unidade C₆C₃ das duas substâncias, tendo em vista que 340-162 e 386-208 fornecem a mesma diferença 178 (C₁₀H₁₀O₃).

As absorções em 3,3 δ (d, CH₂-7'), 5,3-4,9 δ (m, CH₂-9') e 6,6-5,6 δ (m, CH-8') foram atribuídas aos prótons de um grupo alila, definindo a cadeia C₃ da outra unidade C₆C₃. O duplete em 3,3 δ (campo relativamente baixo) corresponde aos prótons do grupo metilênico localizado entre o grupo fenila e o grupo vinila [4].

Para completar a definição da unidade aromática 2 presente nas duas substâncias, restaram dois sinais duplos correspondentes a dois prótons aromáticos que mantêm entre si relação meta (I: 6,5 δ , J = 2Hz; 6,4 δ , J = 2Hz; III: 6,52 δ , J = 2Hz) e um sinal representando três prótons de metoxila (I: 3,9 δ , III: 3,9 δ).



Com base nas estruturas parciais 1 e 2, que estão em acordo com a previsão biogenética [5], foi possível postular as constituições moleculares 3 e 4 para as substâncias I e III, respectivamente.



a = I : Ar = 3,4-metilenodioxifenil (Pi)

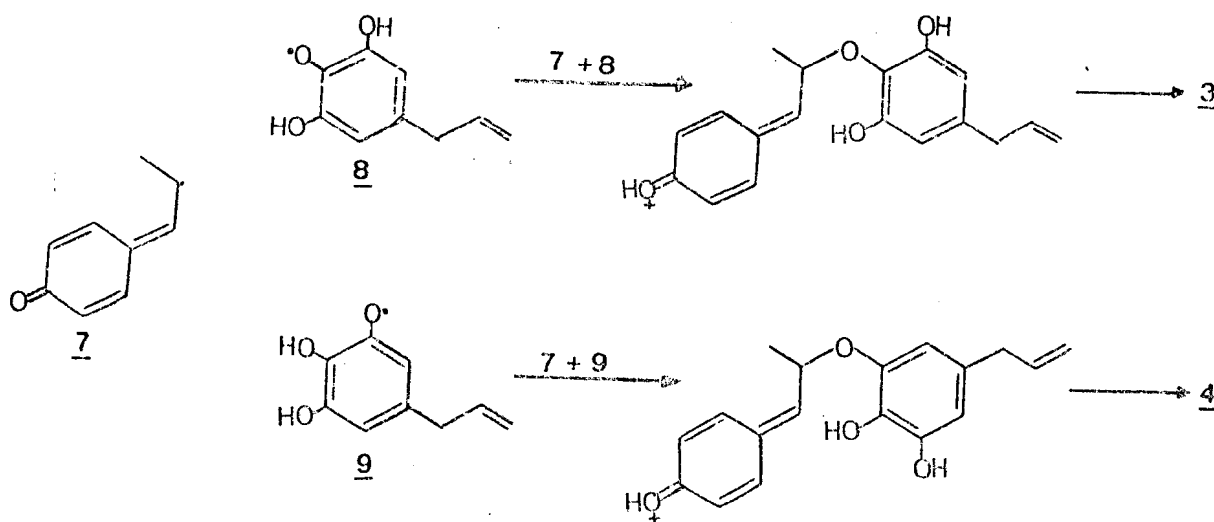
b = III : Ar = 3,4,5-trimetoxifenil (Tp)

Marlini e Zanarotti [15] reconheceram a dificuldade de decidir entre as alternativas 3b e 4b para Eusiderina,

substância isolada do gênero Eusideroxylon (Lauraceae) por Hobbs e King [14], e julgaram necessário recorrer a análise por Raios X.

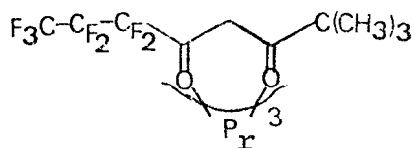
A alternativa constitucional 4 revela-se menos provável biogeneticamente. A rota (7 + 9; Esquema 1) para fornecer 4 envolve acoplamento oxidativo de 7 e 9. Neste caso o oxigênio radical ocupa posição meta em relação ao grupo alila. Este radical é menos estável do que 8, já que no radical 8 os dois átomos de hidrogênio do grupo CH₂ alílico contribuem para a estabilização por hiperconjugação.

Esquema 1. Caminhos biogenéticos para neolignanans 1,4-benzodioxânicas (8.O.4', 7.O.3').

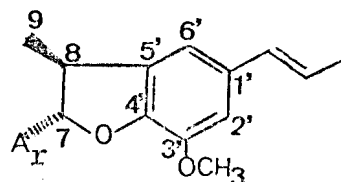


Com base nestes argumentos a alternativa 3 surgiu como mais provável.

De fato, utilizando-se o reagente de deslocamento Pr (Fod)₃ (10) como aditivo em r.m.n.¹H [6], verificou-se que as modificações nos deslocamentos químicos dos prótons das duas substâncias são compatíveis com a estrutura 3. Esta dedução resultou de análise comparativa dos deslocamentos paramagnéticos

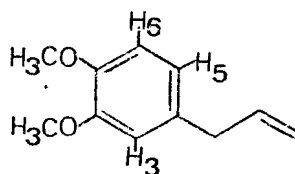
10

1,1,1,2,2,3,3-Heptafluoro-7,7--
-dimetiloctanodionato Praseo-
dimium (III).

11

a : Ar = Piperonil

b : Ar = Tri-O-metilgalil

12

dos prótons oximetínicos e vizinhos à posições oxigenadas das Eusiderinas 3a e 3b e dos padrões 11a, 11b e 12, induzidos pela presença do aditivo 10 (na razão 1:1 reagente-substrato; Tab.6). As estruturas 11a, 11b e 12 foram confirmadas por síntese [13].

Tab. 5. Deslocamentos (Δ , em ppm)¹ dos prótons das Eusiderinas 3a e 3b comparadas com padrões, em CDCl₃ como solvente e Pr (Fod)₃ como aditivo.

Prótons	3a		11a		3b	11b	12
	$\Delta\tau$	% Δ ² _{OMe}	$\Delta\tau$	% Δ ² _{OMe}	$\Delta\tau$	$\Delta\tau$	% Δ ² _{OMe}
H-7	9,2	57	12,0	110	5,6	4,8	—
H-8	19,2	118	6,2	57	6,0	2,8	—
Me-8	16,6	102	1,6	15	4,6	0,9	—
OMe	16,2	—	10,9	—	4,6	3,0	—
H-6'	8,8	54	2,5	23	2,0	0,8	—
H-2'	3,6	22	6,6	61	2,4	1,8	—
H-3	—	—	—	—	—	—	55
H-6	—	—	—	—	—	—	54
H-5	—	—	—	—	—	—	24

¹ Dados obtidos por extrapolação gráfica dos deslocamentos observados na razão 1:1 (aditivo-substrato).

² Calculado em relação ao deslocamento paramagnético da metoxila-5'.

Analisando a Tab. 5 obteve-se as seguintes conclusões:

a) o efeito de coordenação do Pr sobre H-8 em 3a é mais forte do que sobre H-7. Conseqüentemente, a metoxila deve estar em C-5', orto ao oxigênio ligado ao C-8. Efeito análogo é observado no padrão 11a, sendo o efeito mais forte sobre o próton H-7.

- b) o grupo metila sofre um efeito paramagnético mais forte em 3a do que em 11a devido a maior proximidade do centro de coordenação.
- c) os $\Delta\tau$ absolutos dos prótons em 3b e 11b são menores em decorrência da presença do segundo centro de coordenação no grupo tri-O-metilgalil. A coordenação do aditivo com os átomos de oxigênio dos grupos metoxila é evidenciada pelos deslocamentos observados em 12.

Estes dados afastaram a alternativa 4 definitivamente, surgindo a constituição 3a para I e 3b para III, sendo que a constituição 3b corresponde a Eusiderina [14,15]. Esta substância foi denominada Eusiderina A e 3a Eusiderina B.

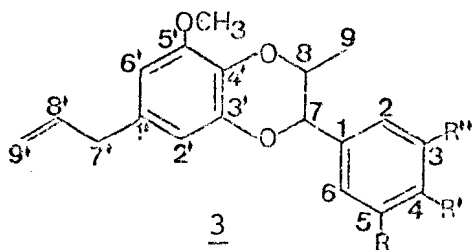
A análise dos espectros de r.m.n.¹³C das substâncias I (Figs. I-4 e I-5) e III (Figs. III-4, III-5 e III-6) estão em acordo com estas deduções. A correlação átomo de carbono-deslocamento químico (Tab. 6) baseou-se na comparação dos espectros totalmente desacoplado e com acoplamento residual (carbonos mono-, di-, tri- e não protonados), na aplicação de regras conhecidas para previsão de deslocamento químico [16] e na comparação com modelos [7].

Tab. 6 - Deslocamentos químicos (δ) dos átomos de carbono das substâncias I e III, comparados com os padrões da literatura [7], em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Carbo- nos	Padrões			I (3a)	III (3b)
	Eusiderina A	<u>5</u>	<u>6</u>		
C-1	131,9 ou 132,1	133,2	131,4	130,7	132,35
C-2	104,1	103,0	106,1	107,13	104,37
C-3	153,0	153,4	148,1	147,9	153,33
C-4	138,0	138,5	148,1	147,9	138,3
C-5	153,0	153,4	108,0	108,23	153,33
C-6	104,1	103,0	120,0	121,32	104,37 ^a
C-7	80,6	93,7	93,7	80,64	80,97
C-8	73,7	42,6	42,6	74,05	73,97
C-9	17,0	16,3	16,1	17,21	17,3
C-1'	132,1 ou 131,9			132,18	132,2
C-2'	109,1			109,42	109,43
C-3'	143,8			144,17	143,8
C-4'	130,9			131,11	131,12
C-5'	148,1			148,35	148,37
C-6'	104,3			104,45	104,52 ^a
C-7'	39,7			39,97	39,94
C-8'	136,9			137,15	137,11
C-9'	115,3			115,62	115,63
OMe-3	55,8	56,1			56,1
OMe-4	60,4	60,7			60,72
OMe-5	55,8	56,1			56,1
OMe-5'	55,7			56,1	56,1
O_2CH_2			101,3	101,13	

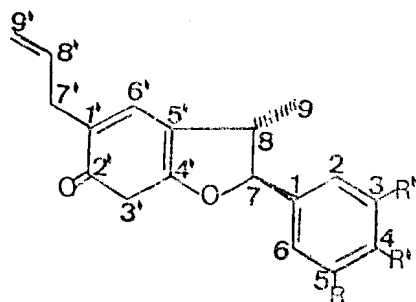
Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do anel A da substância I confirmaram as atribuições feitas para os átomos de carbono do anel A da Eusiderina A [7].

Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono do grupo piperonila de I foram atribuídos com base no modelo 6.



a : R' , R'' = O_2CH_2 , R = H

b : R = R' = R'' = OMe



5 : R = R' = R'' = OMe

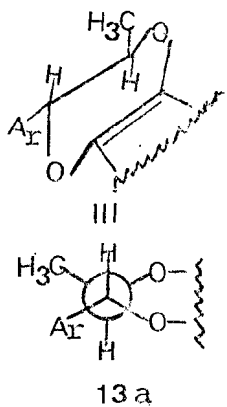
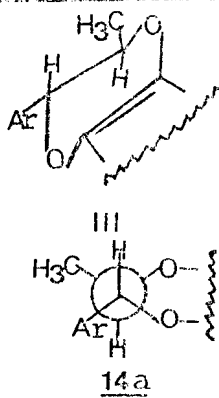
6 : R = H e R' , R'' = O_2CH_2

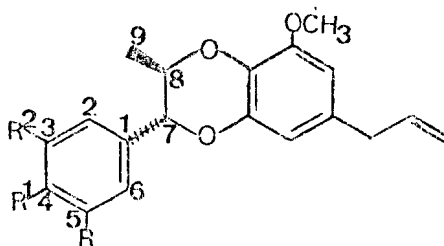
Configuração relativa das Eusiderinas A(3b) e B(3a).

A configuração relativa e a conformação adotada pelas duas Eusiderinas são evidenciadas pelos deslocamentos químicos dos carbonos 7, 8 e 9, pela constante de acoplamento (J) entre os prótons 7 e 8 e pelo deslocamento químico dos prótons do grupo metila 9 (Tab. 7).

Estes dados revelam que as duas substâncias possuem idêntica configuração relativa (13 e 14) e adotam a mesma conformação (13a, 14a, Tab. 7).

Tab. 7 - Deslocamentos químicos dos prótons H-7 e CH₃-9 (δ), dos carbonos C-7, C-8 e C-9 (δ) e constante de acoplamento (J) entre H-7 e H-8 (Hz).

Substância	r.m.n. ¹ H			r.m.n. ¹³ C			Conformações
	H-7	CH ₃ -9	J _{H-7,H-8}	C-7	C-8	C-9	
I	4,6	1,3	8,0	80,64	74,05	17,21	
III	4,58	1,3	8,0	80,97	73,97	17,3	



13 (I) : R¹ , R² = O₂CH₂ ; R = H

14 (III) : R = R¹ = R² = OCH₃

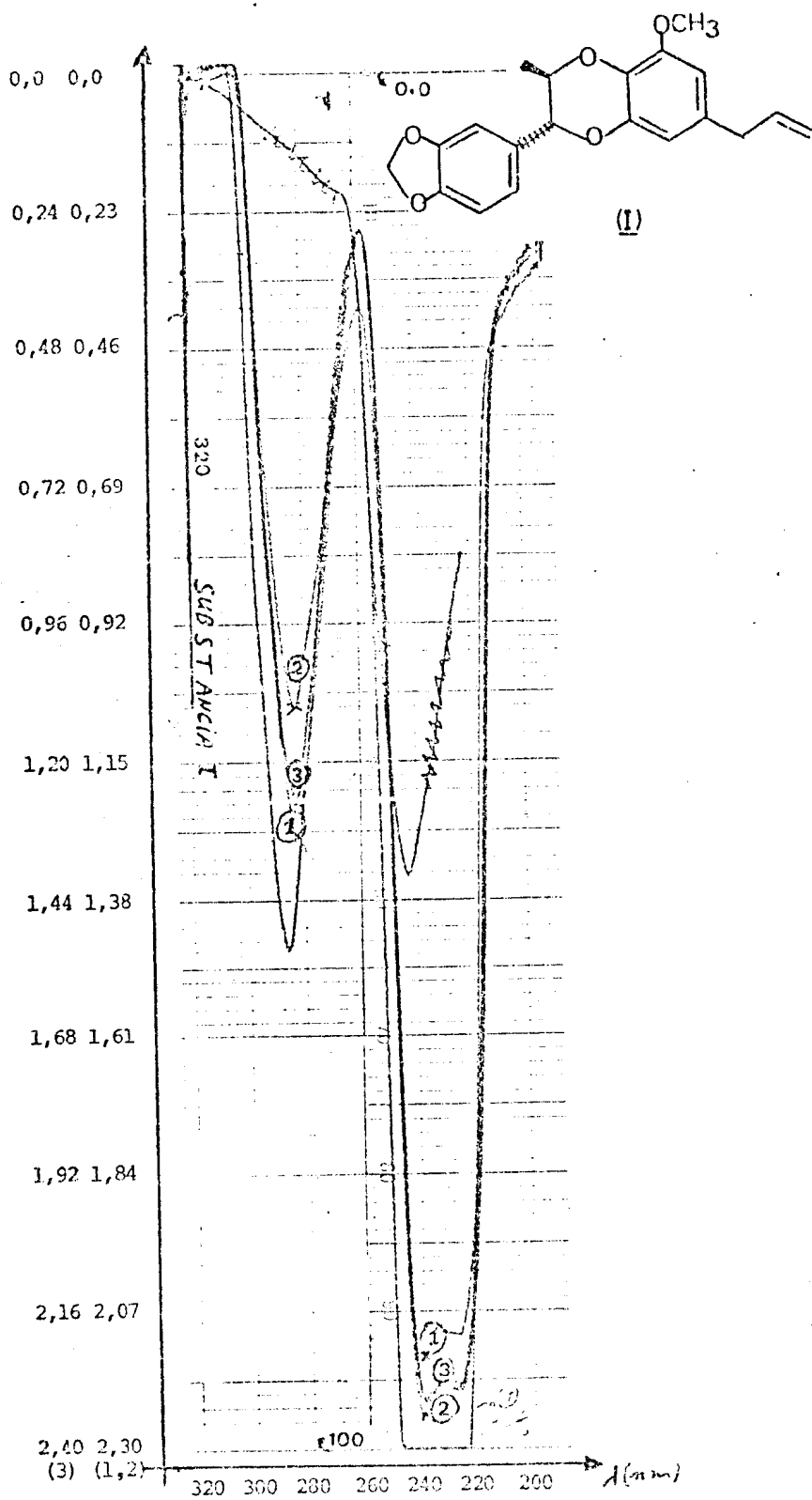


Fig. 1.1 - Espectro u.v. de I em EtOH(1); I com NaOH(2) e I com NaOH + HCl(3). Concentração: 1mg/10ml.

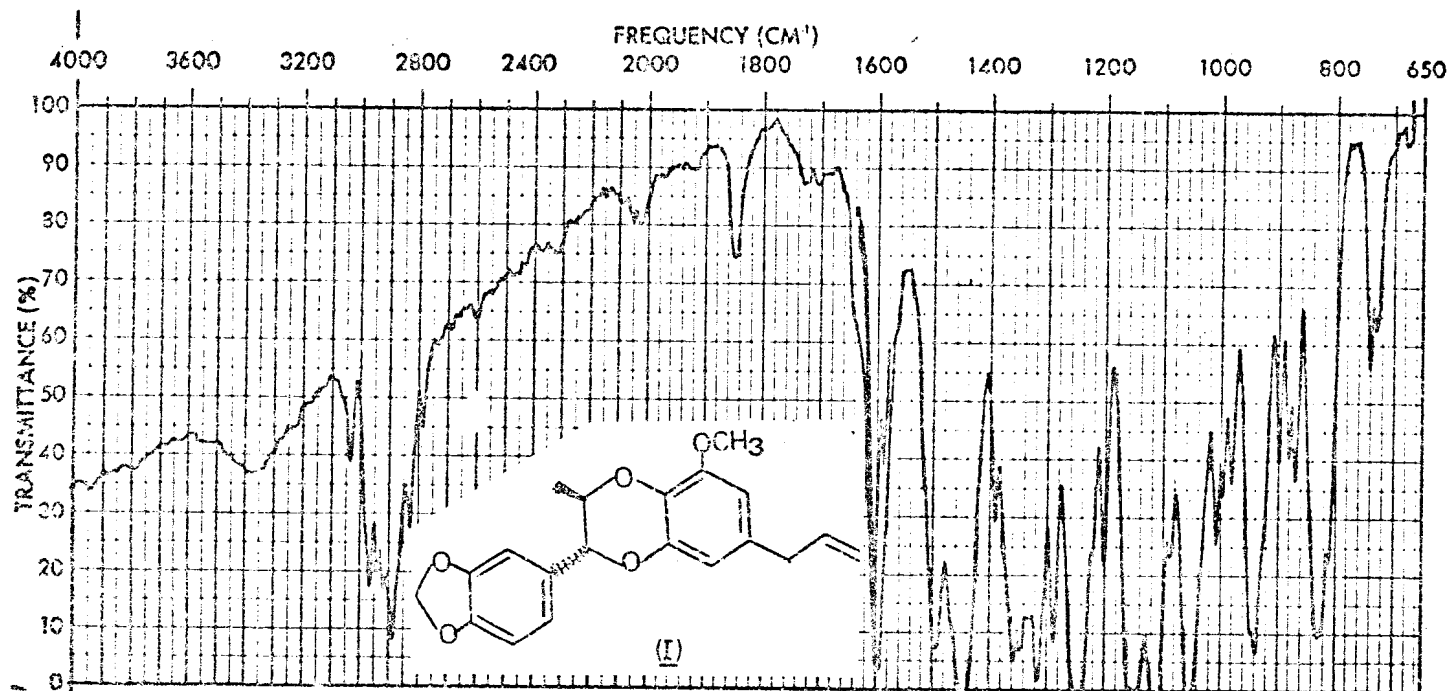


Fig. I-2 → Espectro i.v. da substância I em KBr.

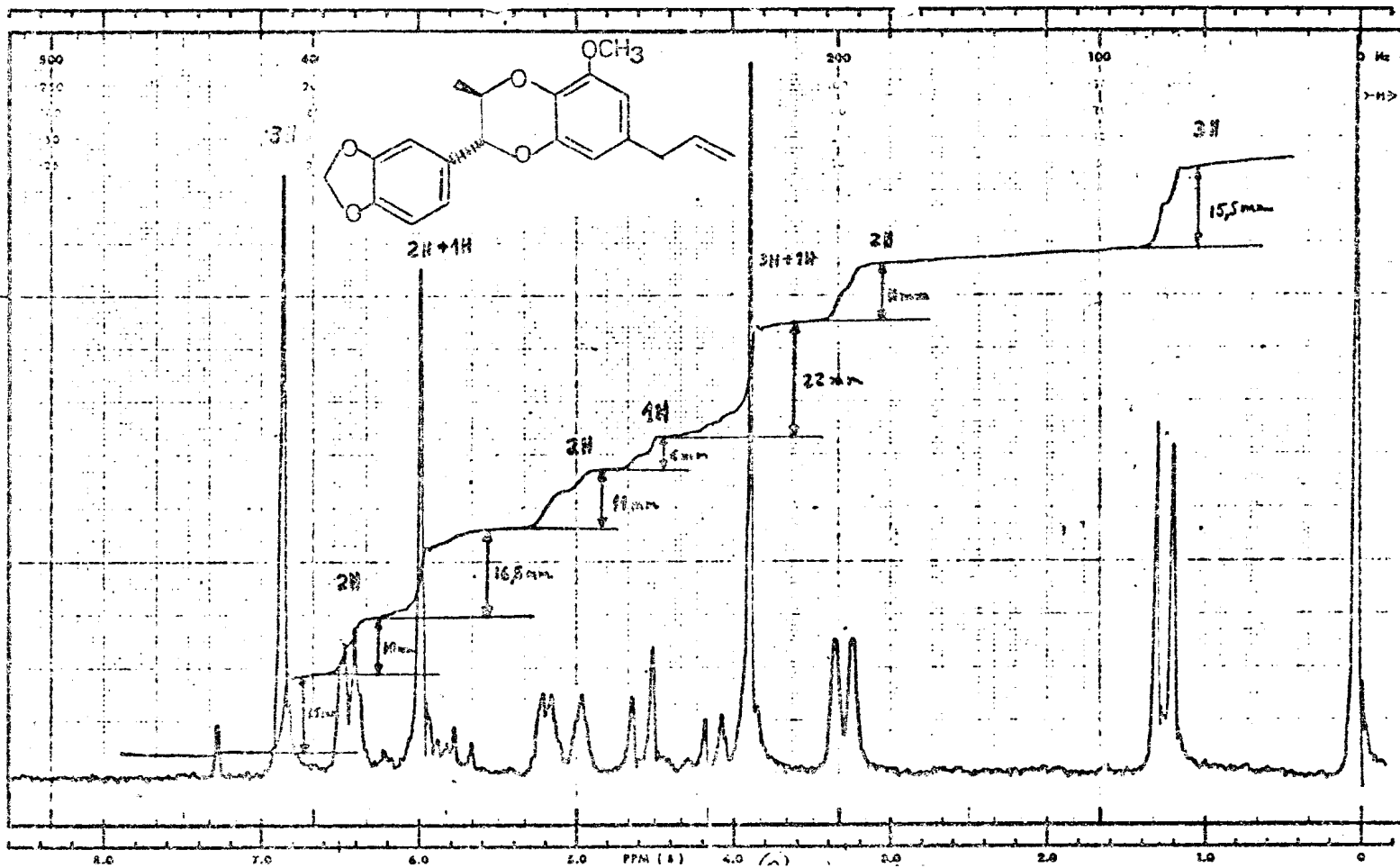


Fig. I-3 - Espectro de r.m.n. ^1H (60 MHz) da substância I em CDCl_3 e TMS como referência interna.

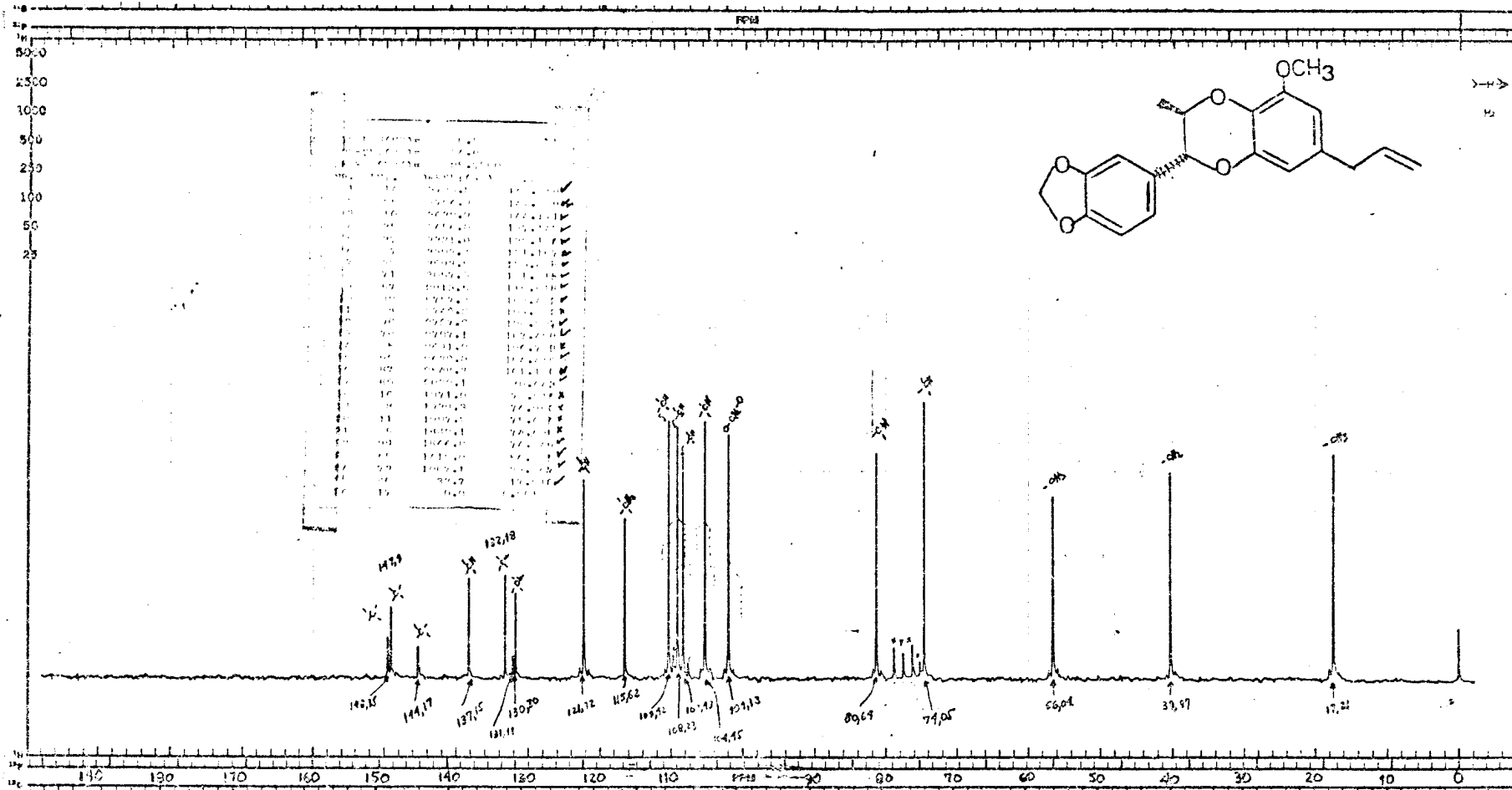


Fig. I-4 • Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) da substância I, totalmente desacoplado em CDCl_3 e TMS como referência interna.

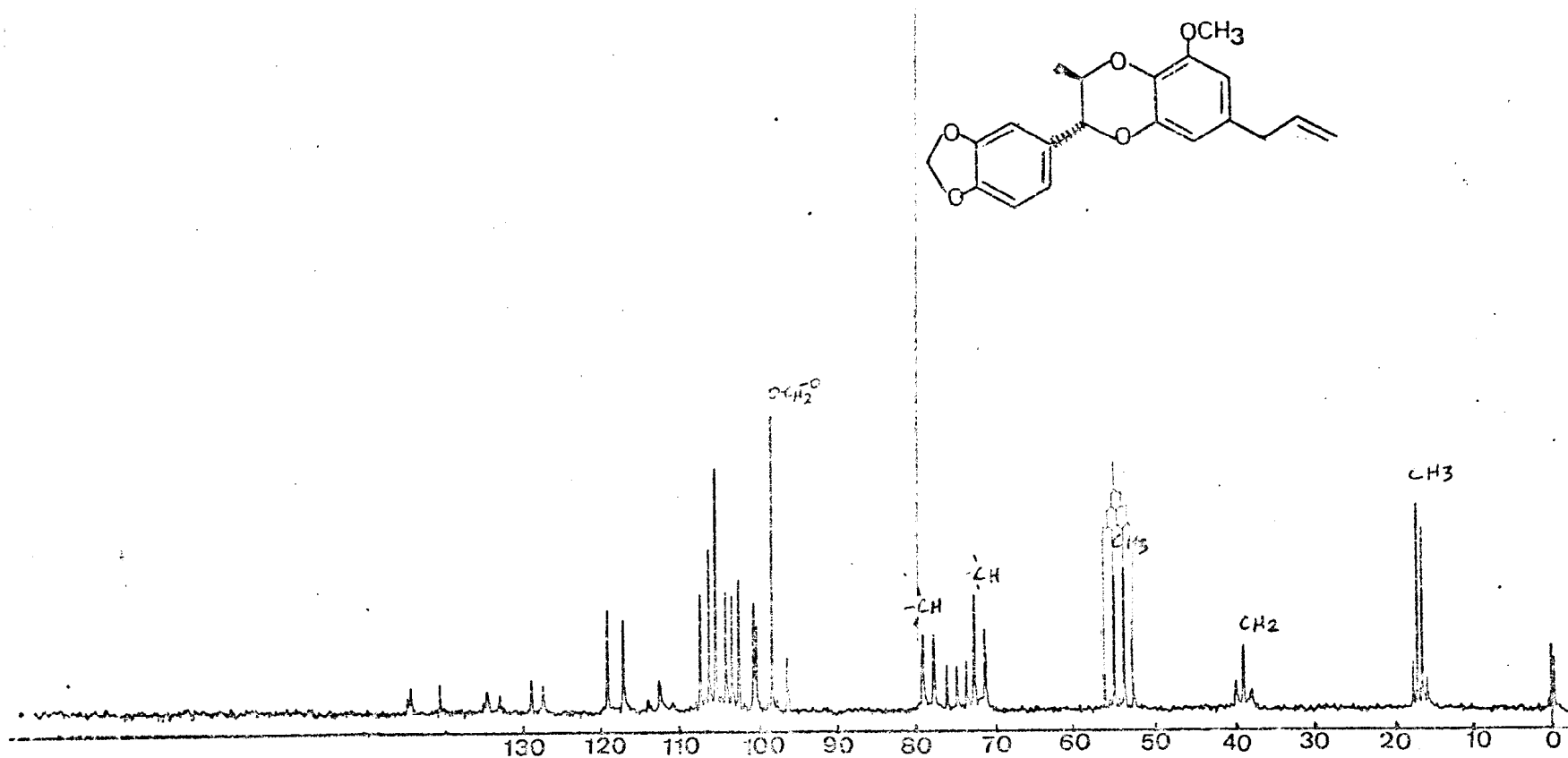


Fig. I-5 . Espectro de r.m.n. ^{13}C com acoplamento residual da substância I em CDCl_3 e TMS como referência interna.

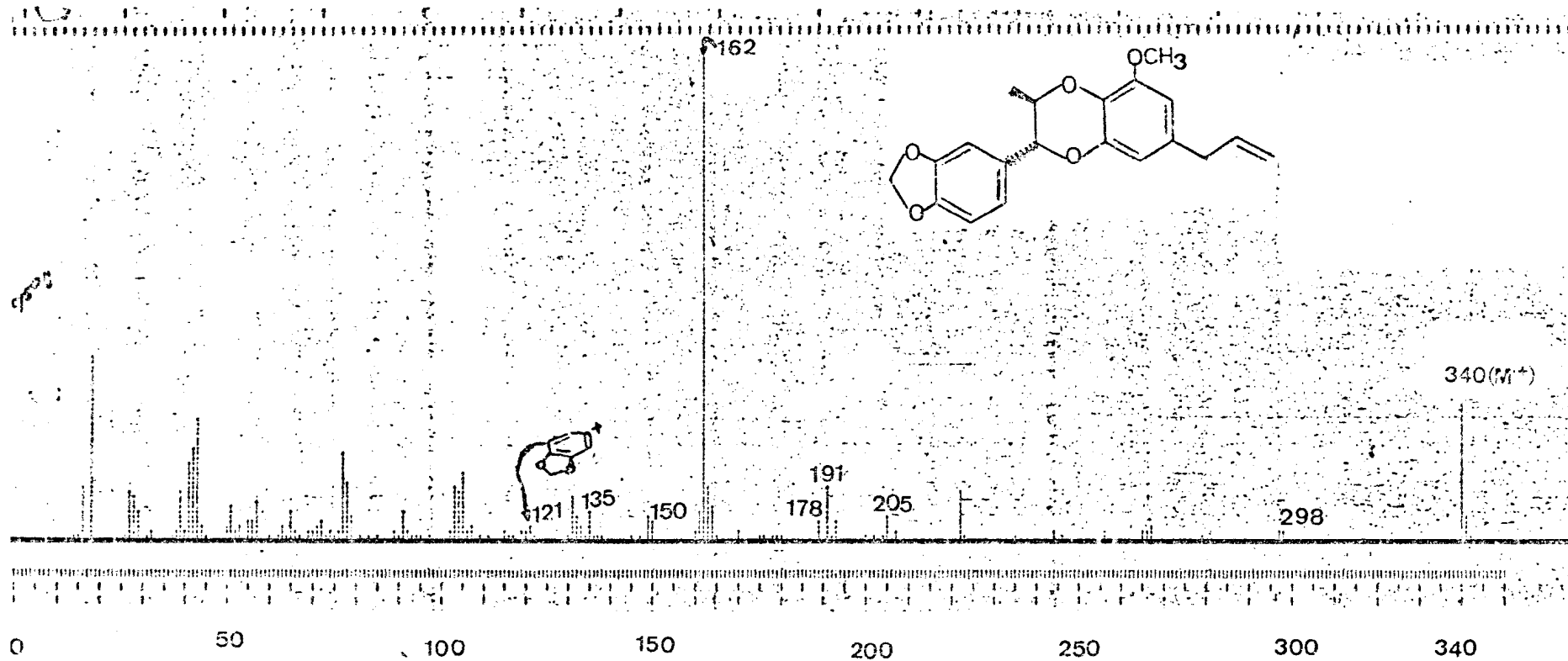
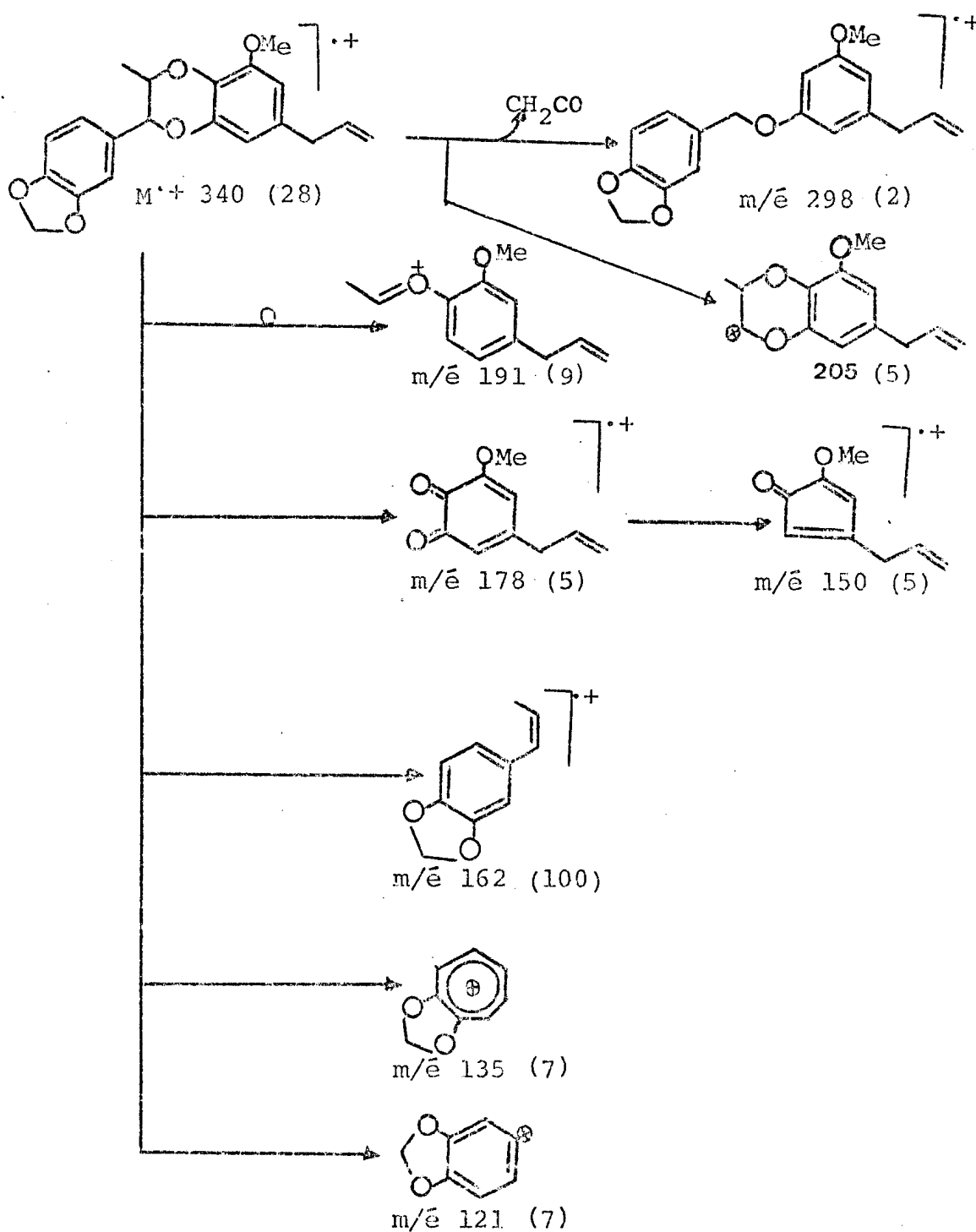


Fig. I-6 . Espectro de massa da substância I.

Esquema I-1. Interpretação do espectro de massa da substância I.



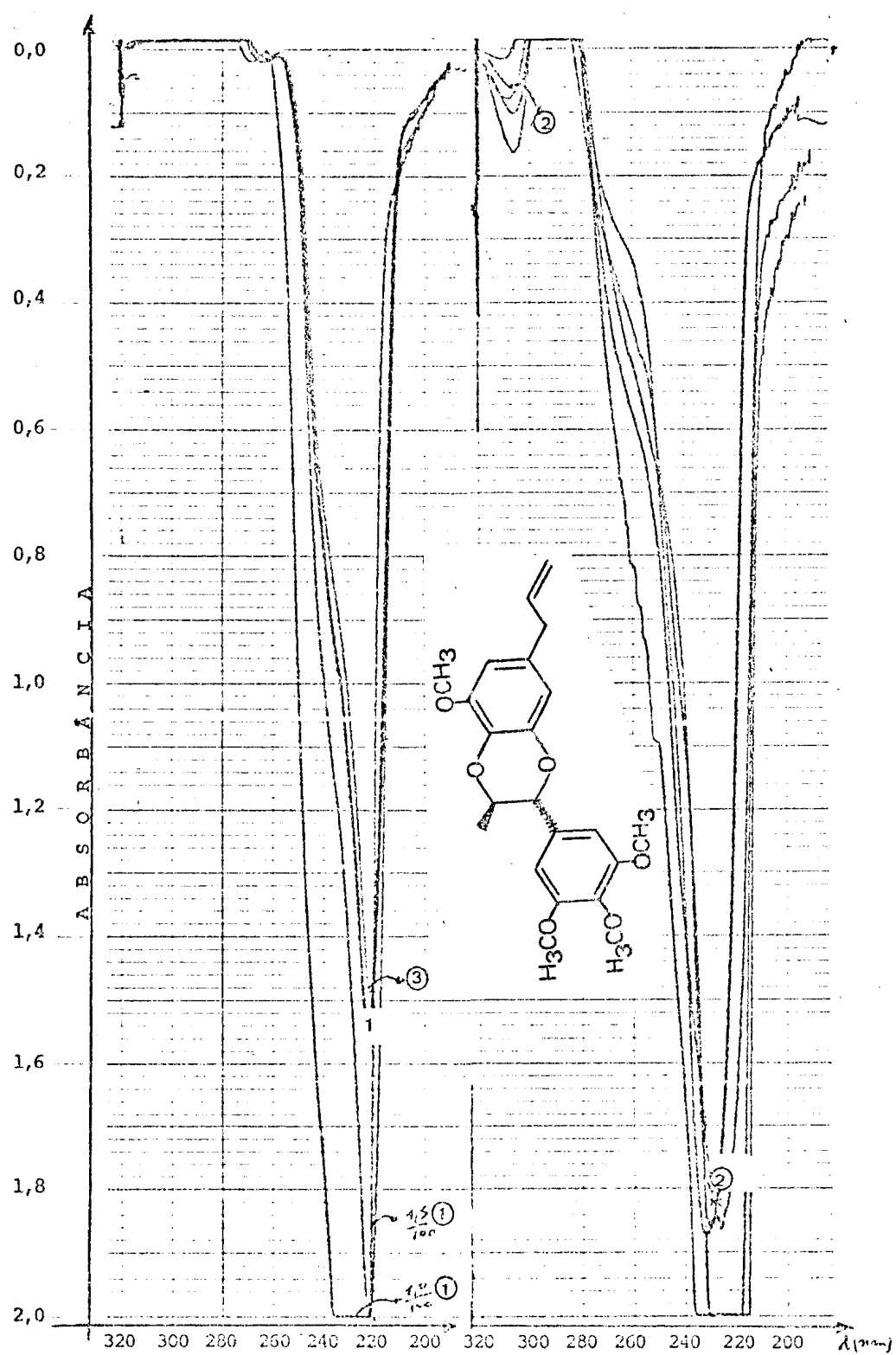


Fig. III-1 • Espectro u.v. de III com EtOH(1); III com NaOH(2) e III com NaOH + HCl(3).
 Concentração: 1mg/10ml

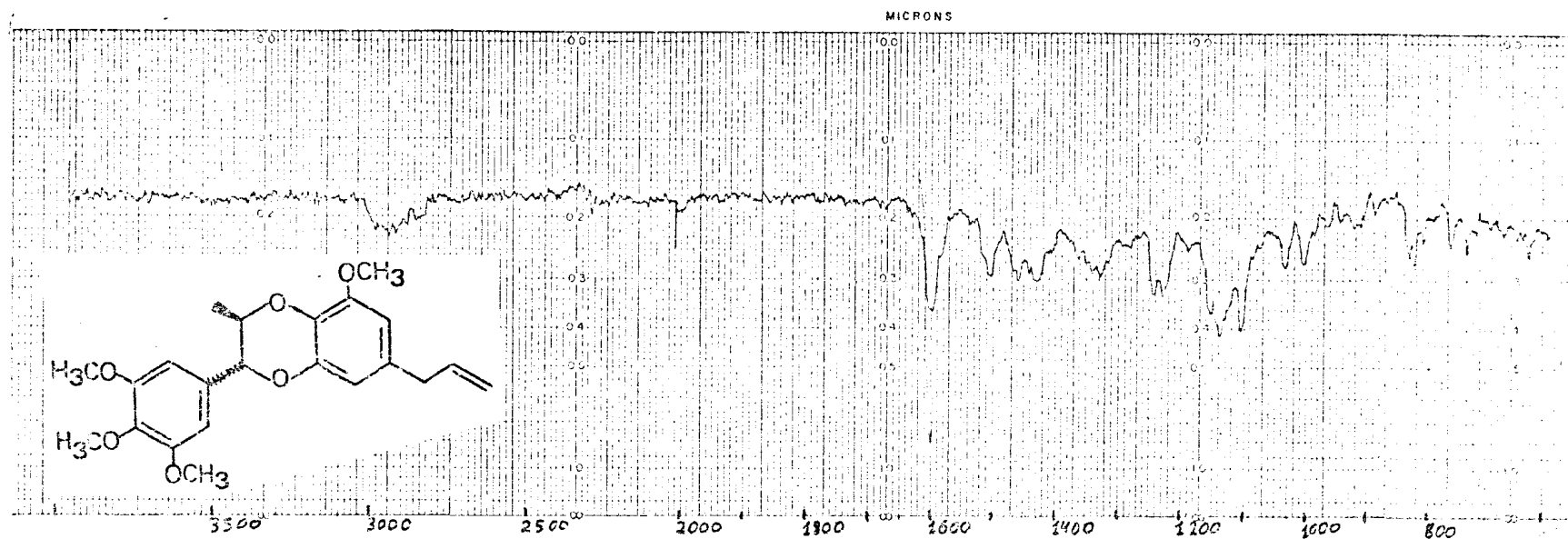


Fig. III-2 . Espectro i.v. da substância III em KBr.

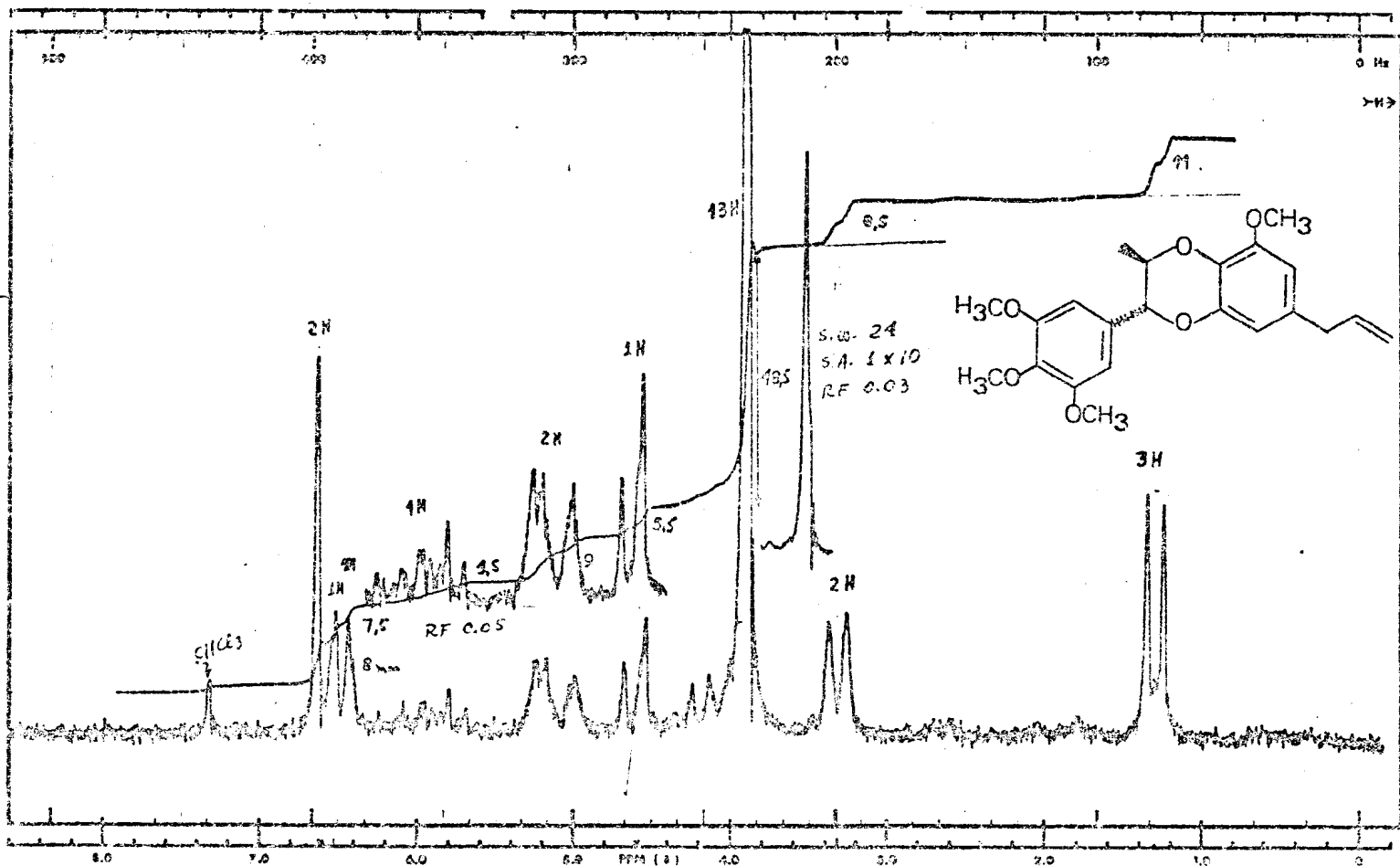


Fig. III-3 . Espectro de r.m.n. ^1H (60 MHz) da substância III em CDCl_3 e TMS como referência interna.

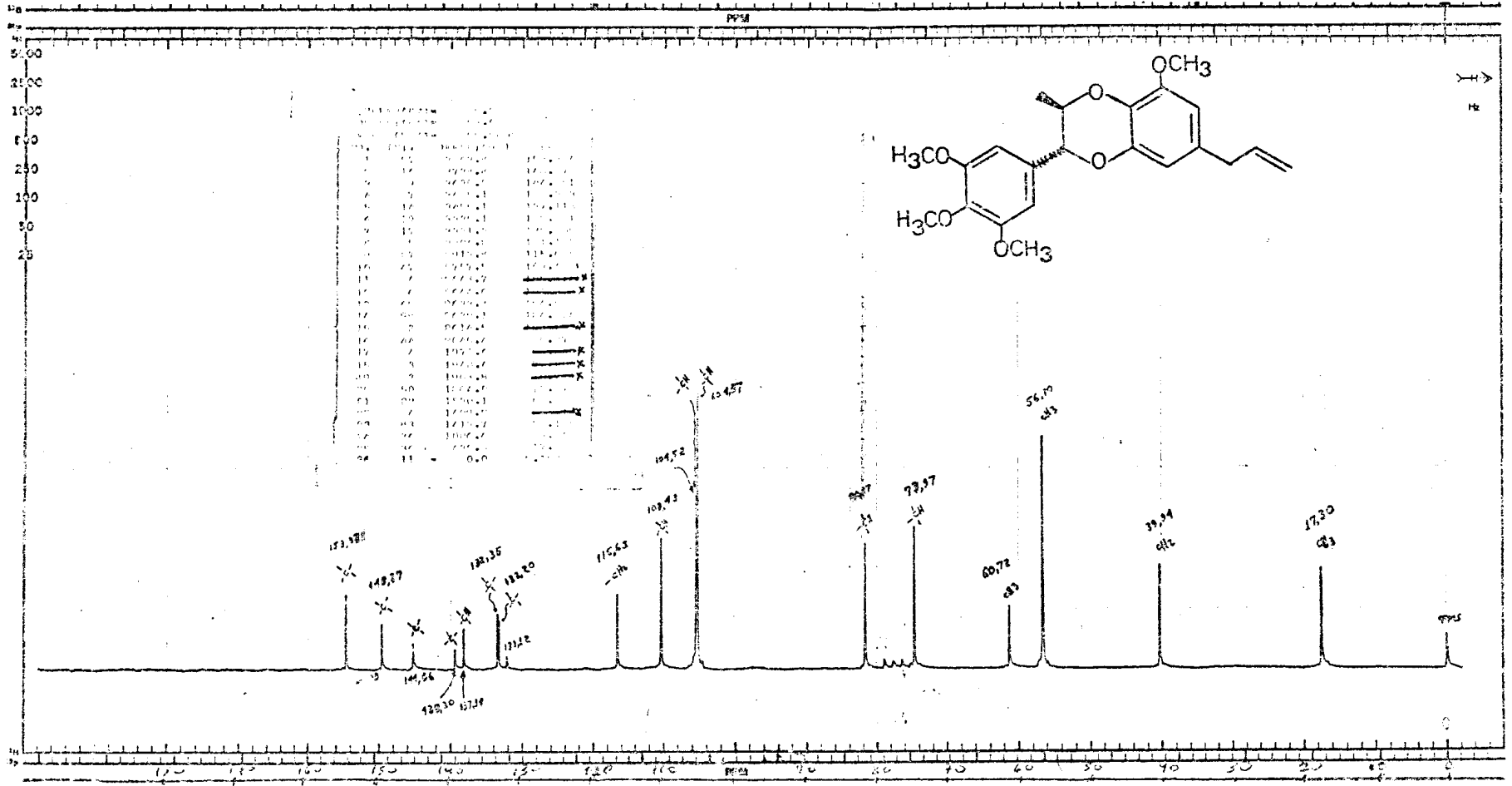


Fig. III-4 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25.2 MHz), totalmente desacoplado, da substância III em CDCl_3 e TMS como referência interna.

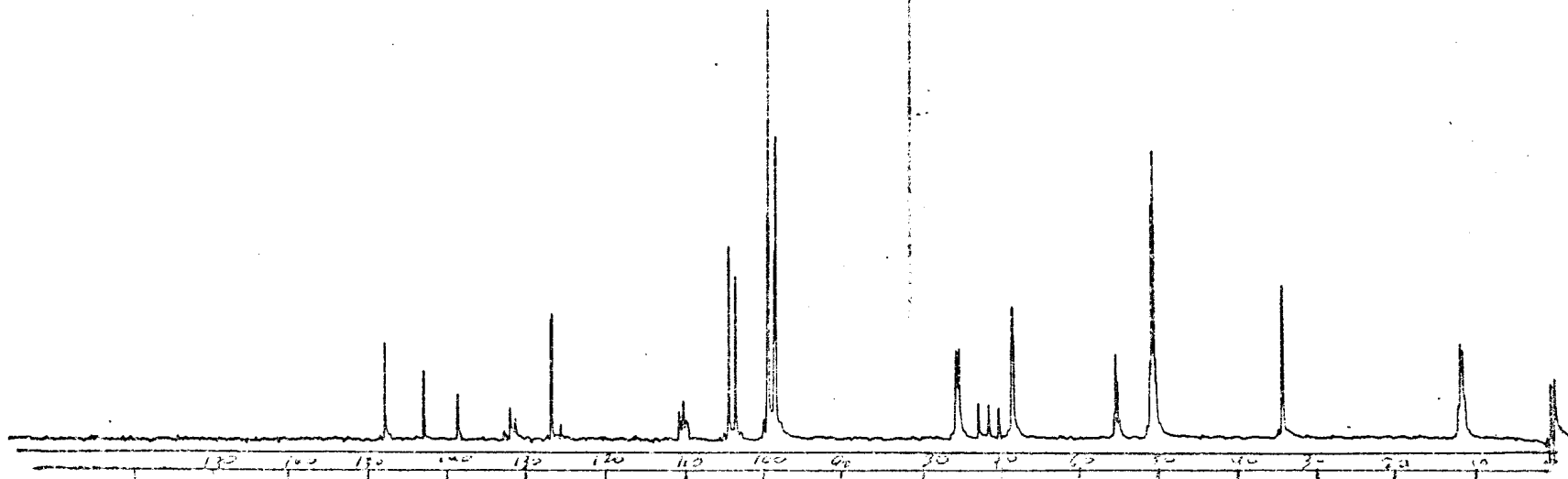
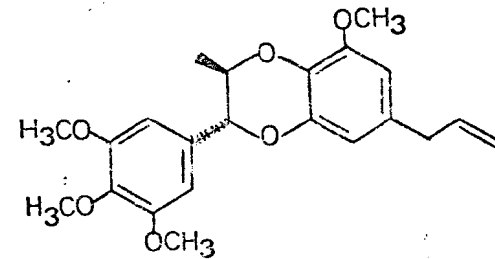


Fig. III-5 . Espectro de r.m.n. ¹³C (25,2 MHz), com acoplamento residual, da substância III em CDCl₃ e TMS como referência interna.

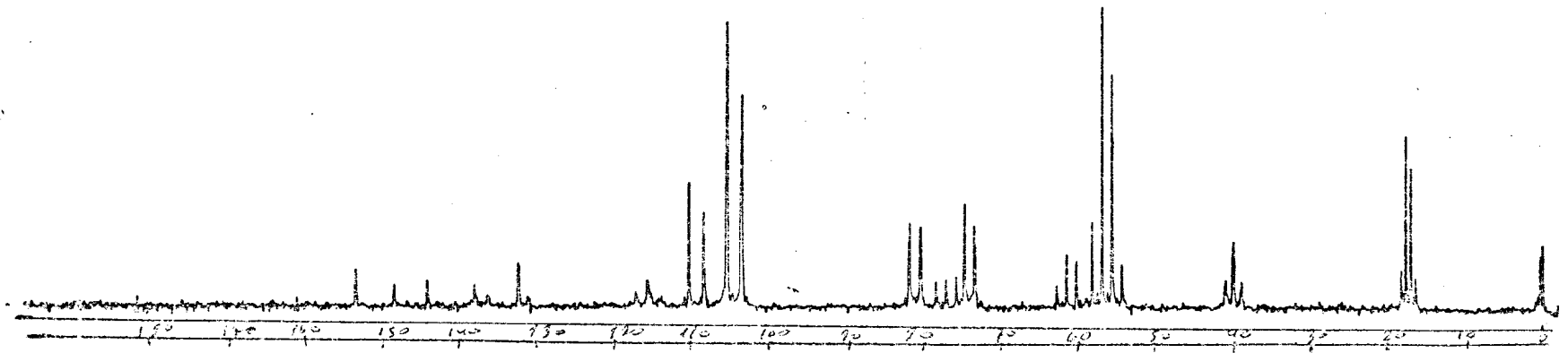
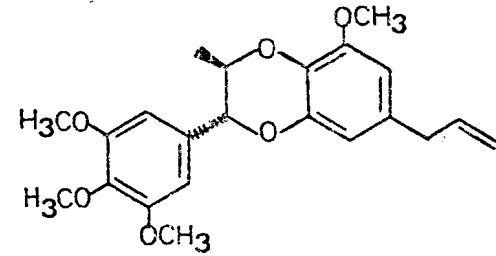


Fig. III-6 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz), com acoplamento residual, da substância III em CDCl_3 e TMS como referência interna.

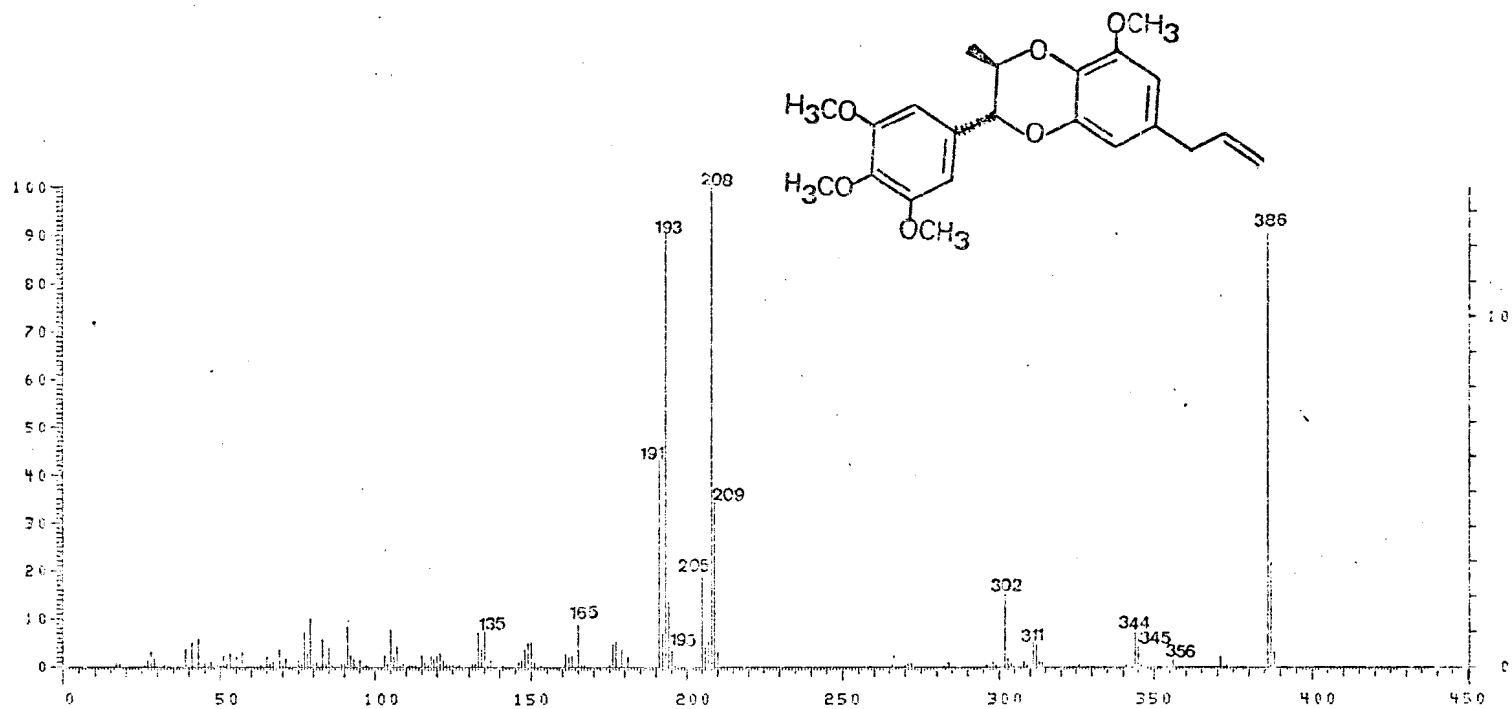
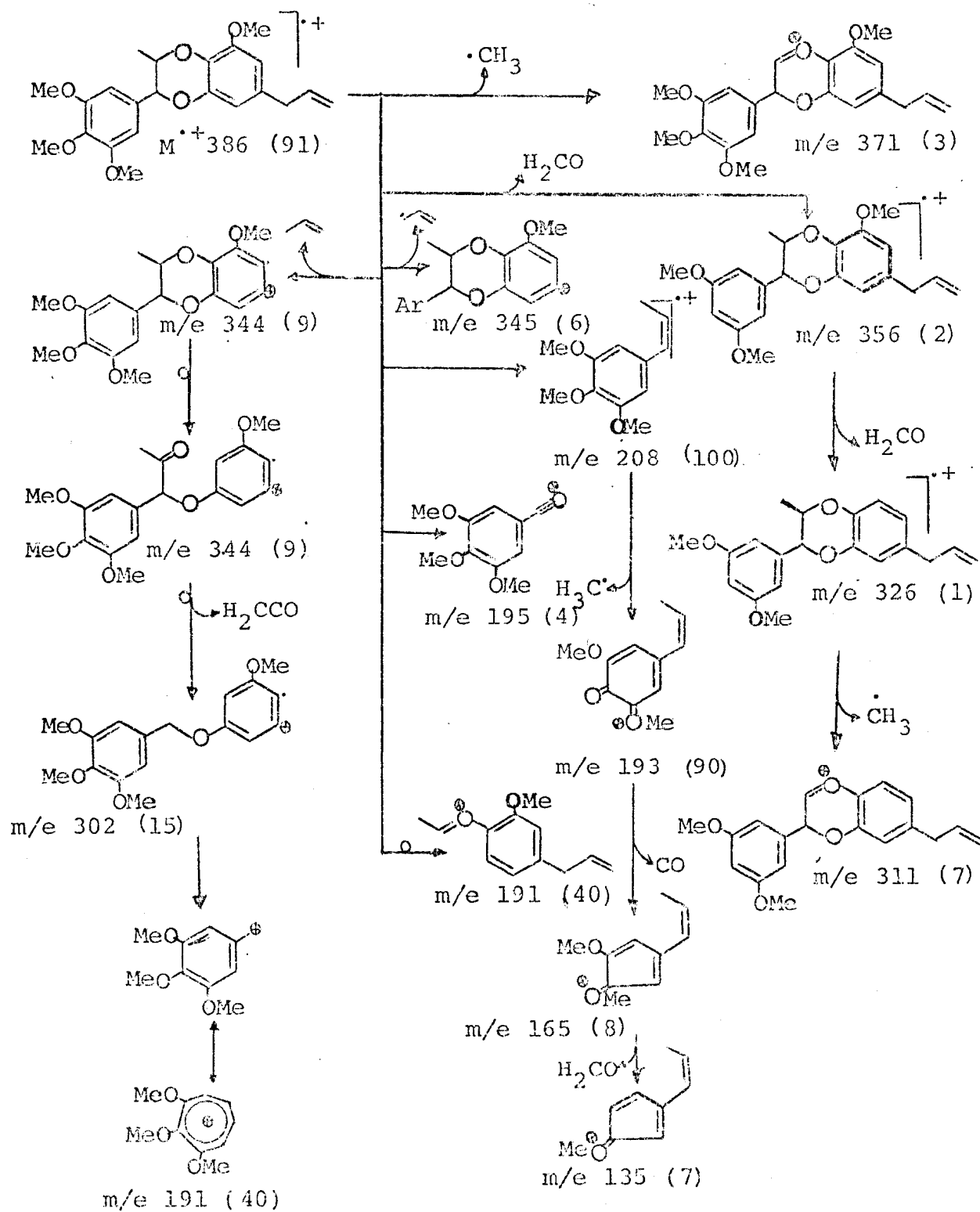


Fig. III-7 . Espectro de massa da substância III.

Esquema III-1. Interpretação do espectro de massa da substância III.



1.2.2 - A substância II foi identificada como sitosterol com base na comparação com amostra autêntica, envolvendo espectros i.v., de r.m.n. ^1H , além de P.F. e cromatografia de adsorção em camada delgada de sílica utilizando vários sistemas de solventes.

1.2.3 - Elucidação estrutural das neolignanas IV e V

Os sinais de absorção mais informativos dos espectros i.v. destas duas substâncias (Figs. IV-2 e V-2) permitiram sugerir [2] a presença de grupos funcionais (Tab. 8), reconhecendo-se a existência de grupo carbonila somente na substância V.

Tab. 8 - Bandas de absorção registradas no i.v. ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}) das substâncias IV e V.

IV, (cm^{-1})	V, (cm^{-1})	Grupos funcionais
3500	3500	ν -OH
	1720	ν C=O
1613	1610	} Aromático
1490		
1242	1240	} ν C-O
1227	1150	
1083	1100	
1036	1050	} RCH=CH ₂
1640	1640	
990	1000	
935	940	

Os espectros u.v. da substância IV [$\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 290 (ϵ :4550) e 235 (ϵ :4640), Fig. I-1] e da substância V [$\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 285 (ϵ :3310) e 235 (ϵ :3170), Fig. V-1] confirmaram a presença de sistema aromático.

Inalteração do espectro de u.v. após adição de hidróxido de sódio revelou a ausência de hidroxila fenólica.

A fórmula $C_{21}H_{28}O_6$ para a substância IV foi deduzida pela contagem do número de átomos de carbono e hidrogênio por espectrometria de r.m.n. (Figs. IV-3, IV-5 e IV-6, Tab. 9) e pela determinação do peso molecular (M^+ 376) por espectrometria de massa (Fig. IV-4). Esta fórmula foi ampliada para $C_5(CH)_9(CH_2)_3(CH_3)(OCH_2O)(OCH_3)_2(OH)_2$ com base na interpretação de dados espectrais, assumindo importância fundamental a análise comparativa dos espectros de r.m.n. ^{13}C . totalmente desacoplado (Fig. IV-5) e acoplamento residual (Fig. IV-6) [16]. A formulação parcial $C_5(CH)_9(CH_2)_3CH_3 = C_{18}H_{18}$, extraída da formulação acima, se coaduna com um esqueleto básico neolignânico ($C_6C_3 + C_6C_3$).

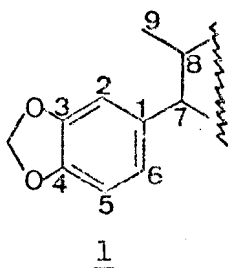
O espectro de massa (Fig. V-6) da substância V revelou peso molecular 360, diferindo de 16 u.m.a. do peso molecular da substância IV (M^+ 376). Já que o espectro de r.m.n. 1H de V (Fig. V-3) revelou somente um grupo metoxila (3,3 δ , s, 3H) e o espectro i.v. (Fig. IV-2) sugeriu a presença de carbonila (ν C=O, 1720 cm^{-1}), foi possível deduzir a fórmula $C_{20}H_{24}O_6$ para esta substância.

A análise dos espectros de massa (Figs. IV-4 e V-6) e de r.m.n. 1H (Figs. IV-3 e V-3-V-5) permitiu, ainda, a classificação das duas substâncias como neolignanas biciclo [3,2,1] octônicas, através de comparação com dados descritos na literatura [4].

Tab. 9 - Deslocamentos químicos, em ppm (δ), correspondentes aos carbonos tri-, di-, mono- e não protonados da substância IV registrados a 20 MHz (CDCl_3).

Protonação Carbonos	CH_3	CH_2	CH	C	feição
C-1				135,6	s
C-2			107,5		d
C-3				147,4	s
C-4				145,8	s
C-5			110,5		d
C-6			123,3		d
C-7			51,9		d
C-8			47,4		d
C-9	11,8				q
C-1'				47,4	s
C-2'			78,3		d
C-3'				85,3	s
C-4'			71,4		d
C-5'			77,2		d
C-6'		30,4			t
C-7'		38,9			t
C-8'			135,6		d
C-9'		117,4			t
O_2CH_2		100,7			t
OCH_3	52,2				q
OCH_3	57,4				q
Total	$\text{C}_3\text{H}_9\text{O}_2$	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$	C_9H_9	C_5	

A presença da unidade constitucional (1) nas duas substâncias foi deduzida através dos seguintes dados:



1. A existência de sinais duplos em $0,88\delta$ e $0,83\delta$ nos espectros de r.m.n. ^1H (Figs. IV-3 e V-3, Tabs. 10 e 11), indicaram os três prótons do grupo metila 9 nas substâncias IV e V, respectivamente, interagindo com H-8. O sinal do átomo de carbono do grupo CH_3 da substância IV aparece em $11,8\delta$ (q) no espectro de r.m.n. ^{13}C . (Fig. IV-6, Tab. 9).

2. O multiplete que aparece em torno de $2,46\delta$ no espectro de r.m.n. ^1H (Fig. IV-3, Tab. 10) da substância IV foi atribuído ao próton 8, já que irradiação na frequência de absorção do CH_3 -9 converteu este sinal num dubleto ($J = 8,5$ Hz). O valor desta constante de acoplamento indica que H-8 e H-7 mantêm entre si relação trans. O sinal do átomo de carbono 8 aparece em $47,4\delta$ (d) no espectro de r.m.n. ^{13}C da substância IV (Fig. IV-5, Tab. 9).

3. Os sinais correspondentes, aos H-7 das duas substâncias devem estar localizados entre $3,6$ e $3,3\delta$ nos espectros de r.m.n. ^1H (Fig. IV-3, Tab. 10), indicando que o carbono 7 não é carbinólico.

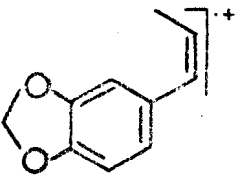
4. Os singletos em $5,9\delta$ (Tab. 10) que aparecem nos espectros de r.m.n. ^1H da substância IV (Fig. IV-3) e V (Fig. V-3) e o sinal em $100,85\delta$ (Tab. 9) no espectro de r.m.n. ^{13}C da substância IV (Fig. IV-5) indicaram a presença de grupo metileno-dioxi (O_2CH_2).

Tab. 10 - Dados de r.m.n. ^1H (δ) das substâncias IV e V, em CDCl_3 (100 MHz) e TMS como referência interna.

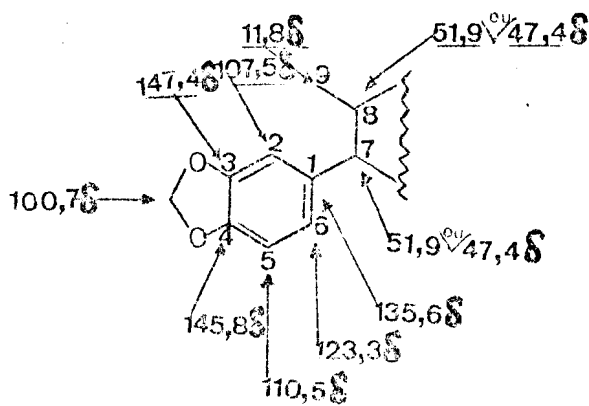
Prótons	IV				V			
	δ	feição	[H]	J(Hz)	δ	feição	[H]	J(Hz)
Me-9	0,88	d	3	8,0	0,83	d	3	7,0
CH_2 -6' $\left\{ \begin{array}{l} \text{H}_\beta \text{ (ax)} \\ \text{H}_\alpha \text{ (eq)} \end{array} \right.$	1,56	dd	1	16,0;5,0	2,48	s	2	
	1,84	d	1	16,0				
CH_2 -7'	2,4 e 2,08	dd	2	14,0;8,0	2,09	d	2	14,0;8,0
H-8	2,42	m	2		2,6-2,3	m	1	
OCH_3 -3'	3,22	s	3		3,3	s	3	
H-7	3,35	d	1	8,5	3,5	d	1	8,0
OCH_3	3,42	s	3					
H-2'	3,50	s	1		4,14	s	1	
H-5'ax	3,62	dd	1	5,0;6,5				
H-4'	4,06	d	1	6,5	4,3	s	1	
CH_2 -9'	5,24-5,0	m	2		5,3-5,0	m	2	
O_2CH_2	5,9	s	2		5,9	s	2	
CH-8'	6,15-5,75	m	1		6,2-5,7	m	1	
H-5	6,68	d	1	8,5	6,65	d	1	8,0
H-6	6,75	dd	1	3,5;2,0	6,95	dd	1	8,0;2,0
H-2	6,96	d	1	2,0	7,2	d	1	2,0

5. O pico em m/e 162 (Quadro 2) presente nos espectros de massa das duas substâncias (Figs. IV-4 e V-6 - Esquemas IV-V-1) confirmaram a presença desta unidade.

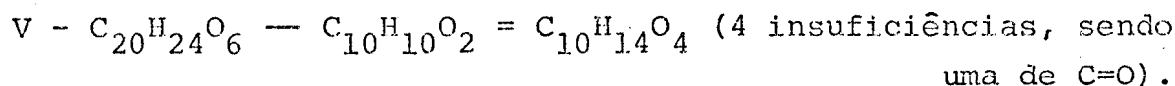
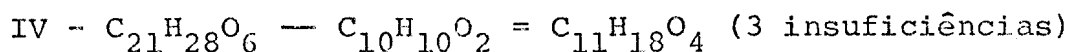
Quadro 2 - Dedução da presença do grupo piperonila nas substâncias IV e V por espectrometria de massa.

Substância	M ⁺	m/e	%	Fragmento
IV C ₂₁ H ₂₈ O ₆	376	162	40	 C ₁₀ H ₁₀ O ₂
V C ₂₀ H ₂₄ O ₆	360	162	30	

6. A localização do grupo metilenodioxo nos átomos de carbono 3 e 4 (2) decorreu da análise dos espectros de r.m.n.¹H das duas substâncias (Figs. IV-3 e V-3), sendo confirmada pelo espectro de r.m.n.¹³C da substância IV (Fig. IV-5). A atribuição dos deslocamentos químicos desta unidade foi feita com base na feição dos sinais e na comparação com modelos [7].



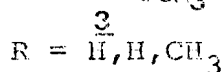
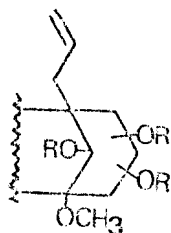
Tratando-se de produtos naturais com fórmula molecular estabelecida (Quadro 2), tornou-se possível deduzir que a outra unidade C_6C_3 não é aromática.



A formulação $C_{11}H_{18}O_4$ para a unidade não aromática da substância IV corresponde a $C_2(CH)_4(CH_2)_3(OCH_3)_2(OH)_2$. Esta dedução resultou da análise comparativa dos espectros de r.m.n. ^{13}C totalmente desacoplada e com acoplamento residual (Figs. IV-5 e IV-6). As feições dos sinais (Fig. IV-6) e os deslocamentos químicos dos átomos de carbono desta unidade permitiram classificar, além dos 2 carbonos metoxílicos (57,8 e 52,3 δ), os 4 átomos de carbono ligados a oxigênio: 3 monoprotônados (78,3, 77,3 e 71,4 δ) e um não protonado (85,3 δ).

A presença de grupo alila nas substâncias IV e V foi revelada pelas absorções em 5,24-5,0 δ (m, CH_2-9'), 6,15-5,75 δ (m, $CH-8'$) e 2,58-2,40 δ (m, CH_2-7') que aparecem nos espectros de r.m.n. 1H (Figs. IV-3 e V-3, Tabs. 8 e 9). O espectro de r.m.n. ^{13}C de IV confirmou a existência deste grupo: 117,46 δ (t, CH_2-9'), 135,6 δ (d, $CH-8'$) e 38,9 δ (t, CH_2-7').

Estes dados e o aparecimento de sinais em 3,3 δ nos espectros de r.m.n. 1H das duas substâncias (Figs. IV-3 e V-3), correspondente a grupo metoxila terciária, permitiram postular a estrutura parcial 3.

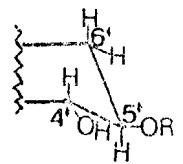


Confirmação adicional do grupo alila foi obtida por experiência de dupla irradiação. Irradiação na frequência do próton 8', 6,2-5,7 δ (Fig. IV-3), converteu o duplo dubleto que aparece em 2,18 δ num dubleto ($J_{gem} = 14$ Hz) e revelou um dubleto ($J_{gem} = 14$ Hz) em 2,45 δ . Conseqüentemente, estas absorções correspondem aos prótons do grupo metilênico 7'.

O singlete largo em 3,50 δ , na região de prótons oximetínicos, foi correlacionado com o 2'.

O espectro de r.m.n. 1H mostrou ainda um sistema ABXY (4, Quadro 3). A presença deste sistema foi confirmada por experiência de dupla irradiação (Fig. IV-3).

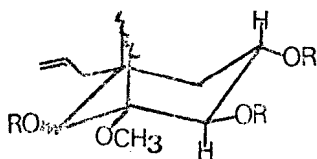
Quadro 3 - Dados de r.m.n. 1H dos prótons do sistema ABXY de IV.

Sistema	Prótons	δ	feição	J	J	J
 4	H-6'eq	1,84	dd	16,0		1,0
	H-6'ax	1,56	dd	16,0	5,0	
	H-5'ax	3,62	dd	5,0	6,5	1,0
	H-4'ax	4,06	d	6,5		

a) Com irradiação na frequência do próton H-6'eq' que absorve em 1,84 δ (Fig. IV-3), o multipletto em 3,62 δ , correspondente ao próton oximetínico H-5', sofreu modificação para duplo dubleto (dd), com $J = 5,0$ e $6,5$. O valor de constante de acoplamento encontrado no sinal do H-5' (3,62 δ) e no sinal do H-4' (4,06 δ , $J = 6,5$ Hz) revela interação axial-axial, indicando que o H-5' e o H-4' ocupam posição axial.

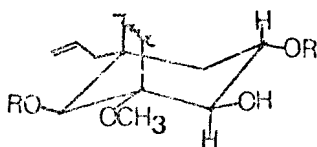
b) Irradiação na frequência de absorção do próton H-6'ax, que absorve em 1,56 δ , converteu o multipletto em 3,62 δ

(H-5') num duplo dubleto ($J = 6,5$ e $J = 1,0$ Hz), revelando interação axial-axial (H-5'_{ax} e H-4'_{ax}) e axial-equatorial (H-5'_{ax} e H-6'_{eq}). Comparando-se este resultado com aquele descrito no item a acima, deduziu-se que a interação entre H-5'_{ax} e H-4'_{ax} corresponde à constante de acoplamento de 6,5 Hz. A interação H-5'_{ax} e H-6'_{eq} é representado por $J = 1,0$ e a interação H-5' e H-6'_{ax} por $J = 5,0$ Hz (Quadro 3). Conseqüentemente, o próton H-5' ocupa posição axial e o ângulo diedro entre H-5'_{ax} e H-6'_{eq} é, aproximadamente, de 90° . Estes dados permitiram ampliar a formulação 3 para 5.



5 R = H, H, CH₃

A feição do sinal do próton H-4' em $4,06\delta$, revelou interação com H-5' ($J = 6,5$ Hz) e, provavelmente, com o próton hidroxílico. Com base neste argumento, foi possível deduzir que o átomo de carbono 4' sustenta um grupo hidroxila (6).



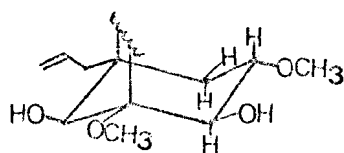
6 R = H, CH₃

De fato, o espectro de r.m.n. ¹H (Fig. IV-8, Tab. 11) do derivado monoacetilado revelou o sinal correspondente a H-4' em $4,95\delta$ (d, $J = 6,5$ Hz), ocorrendo deslocamento paramagnético de $0,89\delta$. Este resultado confirmou a existência de grupo OH em 4'.

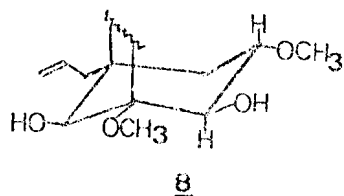
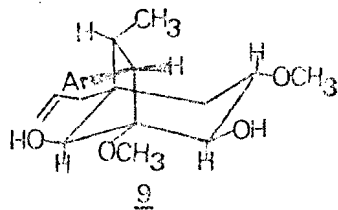
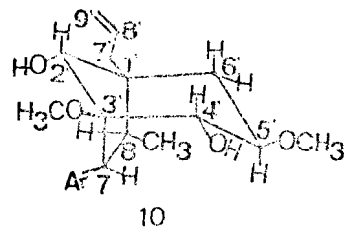
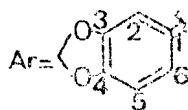
Tab. 11 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons de IV, IV-Ac e IV-di-Ac em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Prótons	IV			IV-OAc			IV (OAc) ₂		
	δ (100MHz)	feição	J	δ (60MHz)	feição	J	δ (100MHz)	feição	J
Me-9	0,88	d	8,0	0,90	d	8,0	0,95	d	7,0
CH ₂ -6' $\left\{ \begin{array}{l} \text{H}_\beta \text{ (ax)} \\ \text{H}_\alpha \text{ (eq)} \end{array} \right.$	1,56	dd	16,0;5,0	1,50-1,90	m		1,65	dd	16;6,0
	1,84	d	16,0				1,94	d	16,0
CH ₂ -7'	2,4 e 2,08	dd	14,0;8,0	2,10-2,40	m		2,1-2,4	m	
H-8	2,42	m		2,40-2,60	m		2,1-2,4	m	
OCH ₃ -3'	3,22	s		3,05	s		3,05	s	
H-7	3,36	d	8,5				3,72	d	8,5
OCH ₃ -5'	3,42	s		3,30	s		3,32	s	
H-2'	3,50	s		3,54	s		5,06	s	
H-5'	3,62	dd	5,0;5,5	3,65-4,00	m		3,95	dd	5,0;6,5
H-4'	4,06	d	6,5	4,95	d	6,5	5,13	d	6,5
CH ₂ -9'	5,24-5,0	m		5,20	m		5,22-4,88	d	6,0
O ₂ CH ₂	5,9	s		5,90	s		5,93	s	
CH-8'	6,15-6,75	m		5,60-6,00	m		6,0-5,6	m	
H-5	6,68	d	8,5	6,70	s(1)		6,68	d	8,0
H-5	6,75	dd	8,5;2,0				6,8	dd	8,0;2,0
H-2	6,96	d	2,0	6,90	s(1)		7,04	d	2,0
OH-4'				—	—	—	—		
OH-2'				—	—	—	—		
OAc-4'				2,14	s	—	2,16	s	
OAc-2'				—	—	—	2,26	s	

Neste derivado monoacetilado os dois grupos metoxila absorvem em 3,3 e 3,05 δ (Fig. IV-8, Tab. 11), indicando efeito protetor do grupo acetoxila, já que na substância original estes grupos absorvem em 3,42 δ e 3,22 δ (Tab. 10, Fig. IV-3). Este resultado sugeriu a localização do grupo metoxila restante no átomo de carbono 5' e confirmou a presença de OCH₃ em 3', surgindo a formulação 7.

7

O espectro de r.m.n. ¹H do derivado diacetilado (Fig. IV-11, Tab. 11) confirmou estas deduções, já que o sinal simples em 3,5 δ , correspondente ao H-2', foi deslocado para 5,06 δ . A dificuldade de acetilação da hidroxila do carbono 2' revela impedimento estérico, sugerindo posição equatorial para esta função. A comparação deste espectro com o da substância original revelou deslocamentos paramagnéticos para os sinais dos prótons aromáticos do grupo arila, sugerindo que estes prótons e o grupo acetoxila do C-2' mantêm entre si relação cis, em acordo com o grupo OH do carbono 2' em posição equatorial (8). Neste ponto duas possibilidades estruturais enantioméricas puderam ser propostas para a substância em estudo (9 e 10), já que o deslocamento químico do CH₃-9 (0,18 δ) revelou-se compatível com relação a CH₃-9/Ar trans.

8910

A Tab. 12 faz a comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de IV (Fig. IV-5 e IV-6) e do derivado monoacetilado (Fig. IV-9 e IV-10). A análise dos dados desta tabela permitiu confirmar a presença de hidroxila em 4'. Esta dedução baseou-se nas seguintes observações:

a) o C-4' do derivado monoacetato absorve em 72,7 δ , indicando como previsto [17] deslocamento paramagnético de 1,3 ppm, já que na substância original este carbono absorve em 71,4 δ .

b) o C-5' absorve em 74,5 δ , mostrando o efeito gama protetor do carbono carbonílico do grupo acetoxila sustentado pelo carbono 4', pois na substância original o C-5' absorve em 77,2 δ . Fato semelhante acontece com o C-3', ocorrendo deslocamento diamagnético de 1,6 ppm.

Estas modificações espectrais foram também utilizadas para assinalar os deslocamentos químicos dos carbonos.

A dificuldade de acetilação da hidroxila em 2' evidenciou a existência de impedimento estérico, sugerindo a exo-orientação do grupo arila. Com base neste argumento, a estrutura 10 aparece como a mais provável.

Esta estrutura corresponde à Canelina A, substância isolada da Licaria canela [8]. Comparação direta com amostra autêntica, através de dados espectrais e cromatografia em camada delgada, ponto de fusão e dispersão ótica rotatória (Fig. IV-7) confirmou a identidade das duas substâncias.

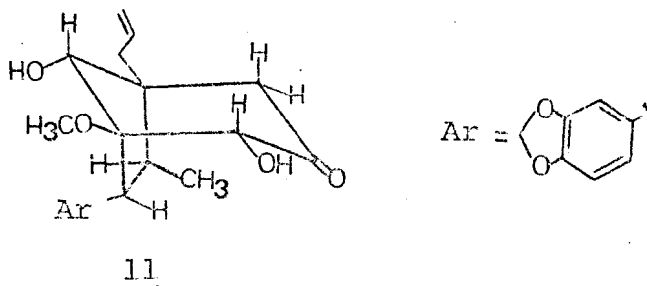
Deduzida a estrutura da substância IV, tornou-se relativamente fácil propor a estrutura 11 para a substância V, com base nos seguintes argumentos:

a) O espectro i.v. mostrou sinal correspondente a estiramento de grupo carbonila (Tab. 8).

Tab. 12 - Deslocamentos químicos (δ) dos carbonos de IV e IV-Ac em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Carbonos	IV		IV-Ac	
	δ	feição	δ	feição
C-1	135,6	s	135,0	s
C-2	107,5	d	107,3	d
C-3	147,4	s	147,1	s
C-4	145,8	s	145,6	s
C-5	110,5	d	110,4	d
C-6	123,3	d	122,8	d
C-7	51,9	d	52,2	d
C-8	47,4	d	47,0	d
C-9	11,8	q	11,6	q
C-1'	47,4	s	47,7	s
C-2'	78,3	d	77,6	d
C-3'	85,3	s	83,7	s
C-4'	71,4	d	72,7	d
C-5'	77,2	d	74,5	d
C-6'	30,4	t	31,1	t
C-7'	38,9	t	38,8	t
C-8'	135,6	d	135,2	d
C-9'	117,4	t	117,3	t
OMe-3'	52,2	t	51,6	t
OMe-5'	57,4	q	57,5	q
O_2CH_2	100,7	q	100,5	q
OCOCH ₃	-	-	170,5	s
	-	-	21,0	q

b) Informações do espectro de r.m.n. ^1H (Fig. V-3, Tab. 13).



b.1 - Na região de prótons oximetínicos apareceram dois singletos, correspondendo a um próton cada um, mostrando que não há prótons vizinhos.

b.2 - Em 2,48 δ há um singlete, representando 2H, que pode ser atribuído aos dois prótons alfa à carbonila.

b.3 - O sinal do grupo metoxila em 3,3 δ está em acordo com a localização desta função no carbono 3'.

c) Fragmentos comuns à substância IV, registrados no espectro de massa (Fig. IV-4 e V-6, Esquema IV-V-1).

Esta estrutura corresponde à estrutura da Canelina C, isolada de Licaria canela [8]. Comparação direta com amostra autêntica, através de dados espectrais, cromatografia em camada delgada e ponto de fusão confirmou a identidade das duas substâncias.

Tab. 13 - Deslocamentos químicos dos prótons de V, registrados a 100 MHz (CDCl_3) comparados com os da Canelina C [8] a 220 MHz em CDCl_3 .

Prótons	V				Canelina C			
	δ	feição	H	J(Hz)	δ	feição	H	J(Hz)
Me-8	0,83	d	3	7,0	0,77	d	3	7,0
CH_2 -7'	2,09	dd	2	14,0;8,0	0,04	dd	2	13,9
CH_2 -6'	2,48	s	2		2,6-2,35	m	2	
H-8	2,6-2,3	m	1		2,6-2,35	m	1	
OCH_3	3,3	s	3		3,28	s	3	
H-7	2,5	d	1	8,0	2,6-2,35	m	1	
H-2'	4,14	s	1		4,08	s	1	
H-4'	4,3	s	1		4,35	s	1	
CH_2 -9'	5,3-5,0	m	2		5,17-5,05	m	2	
O_2CH_2	5,9	s	2		5,86-5,85	s	2	
H-8'	6,2-5,7	m	1		5,98-5,28	m	1	
H-5	6,65	d	1	8,0	6,63	s	1	
H-6	6,95	dd	1	8,0;2,0	6,63	s	1	
H-2	7,2	d	1	2,0	6,88	s	1	
OH-2'					2,42 ^a	s		
OH-4'					3,77 ^a	s		

(a) Ausente em presença de D_2O .

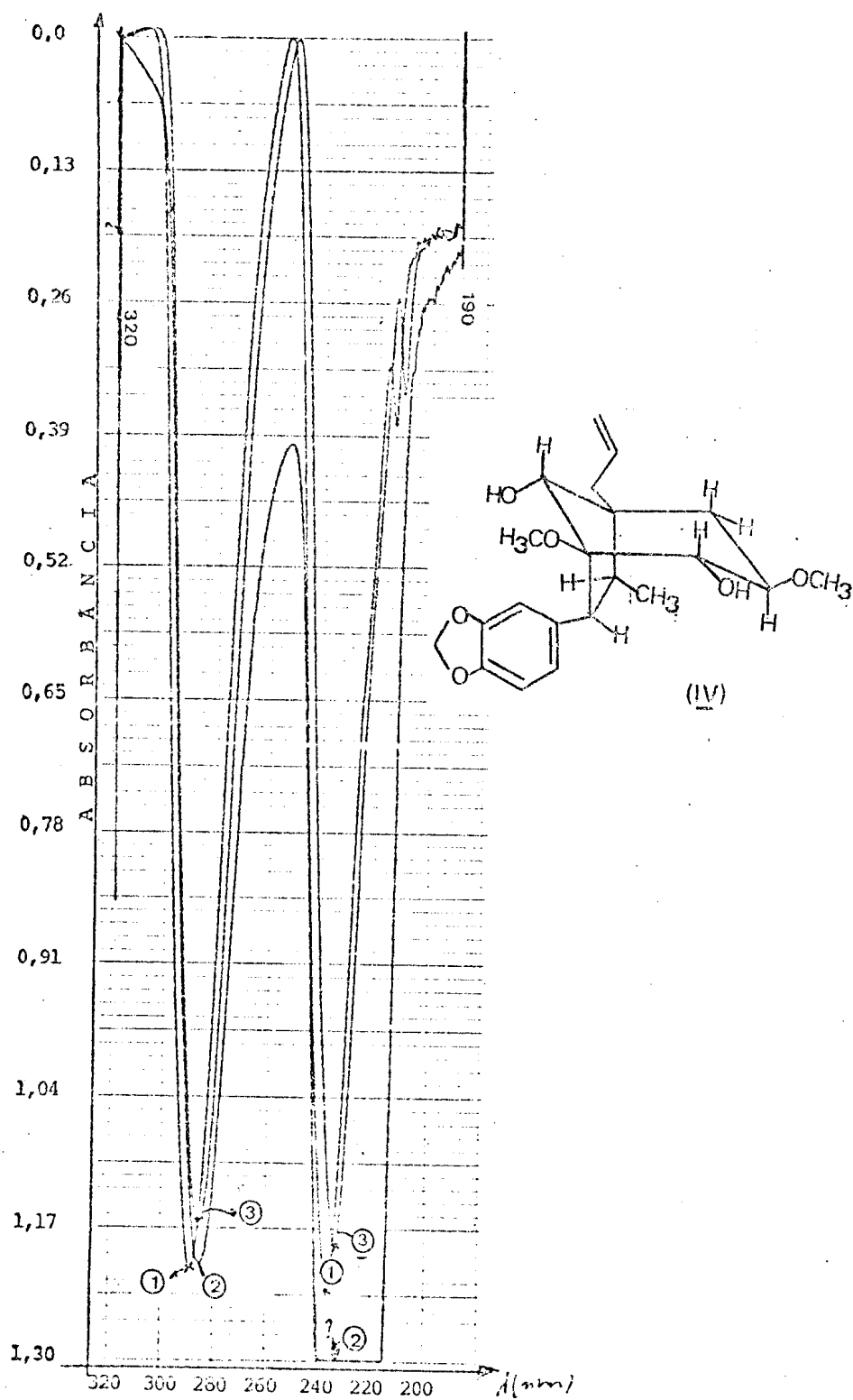


Fig. IV-1 → Espectro . u.v. de IV com EtOH(1); IV com NaOH(2) e IV com NaOH + HCl(3).
Concentração: 1mg/10ml

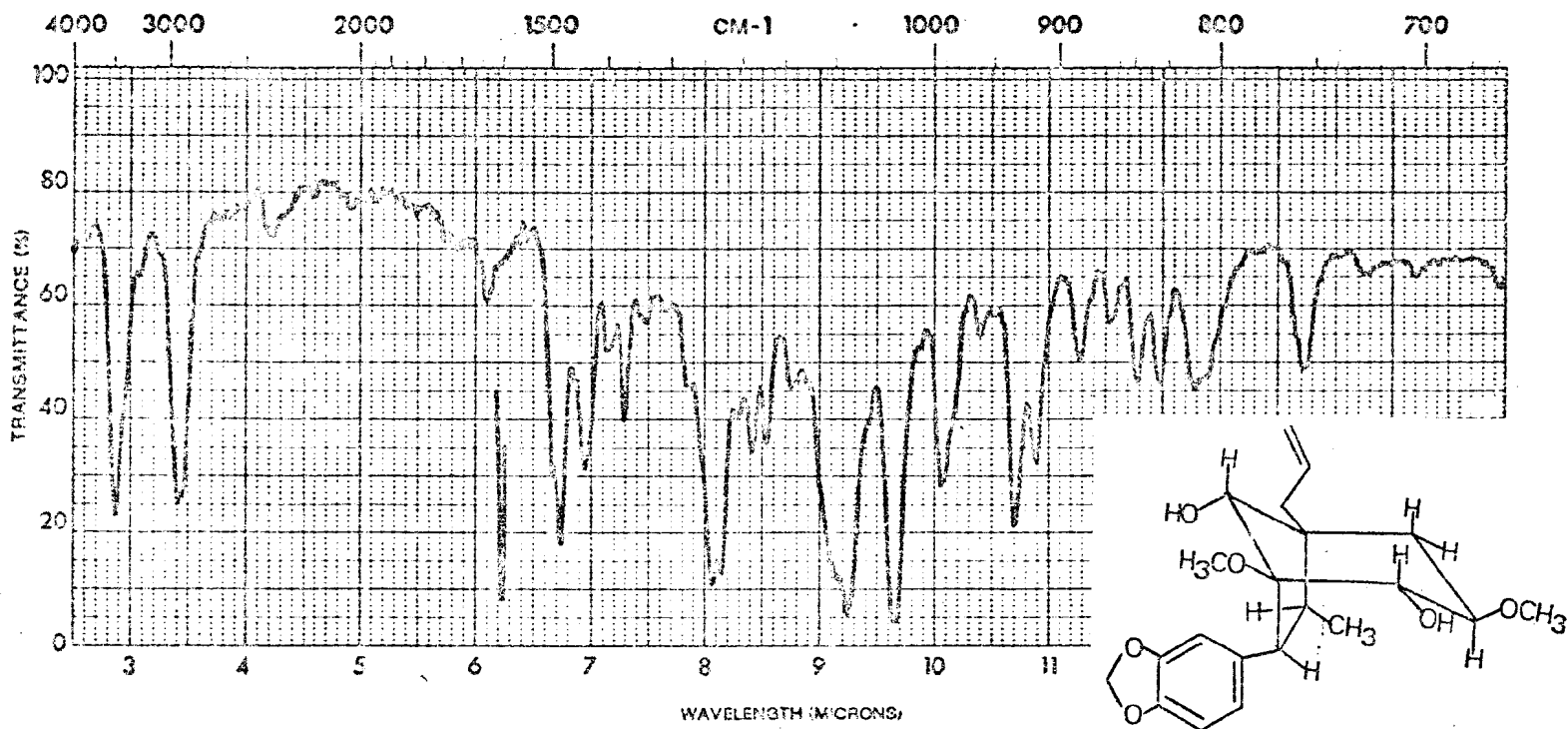


Fig. IV-2 . Espectro i.v. da substância IV em KBr.

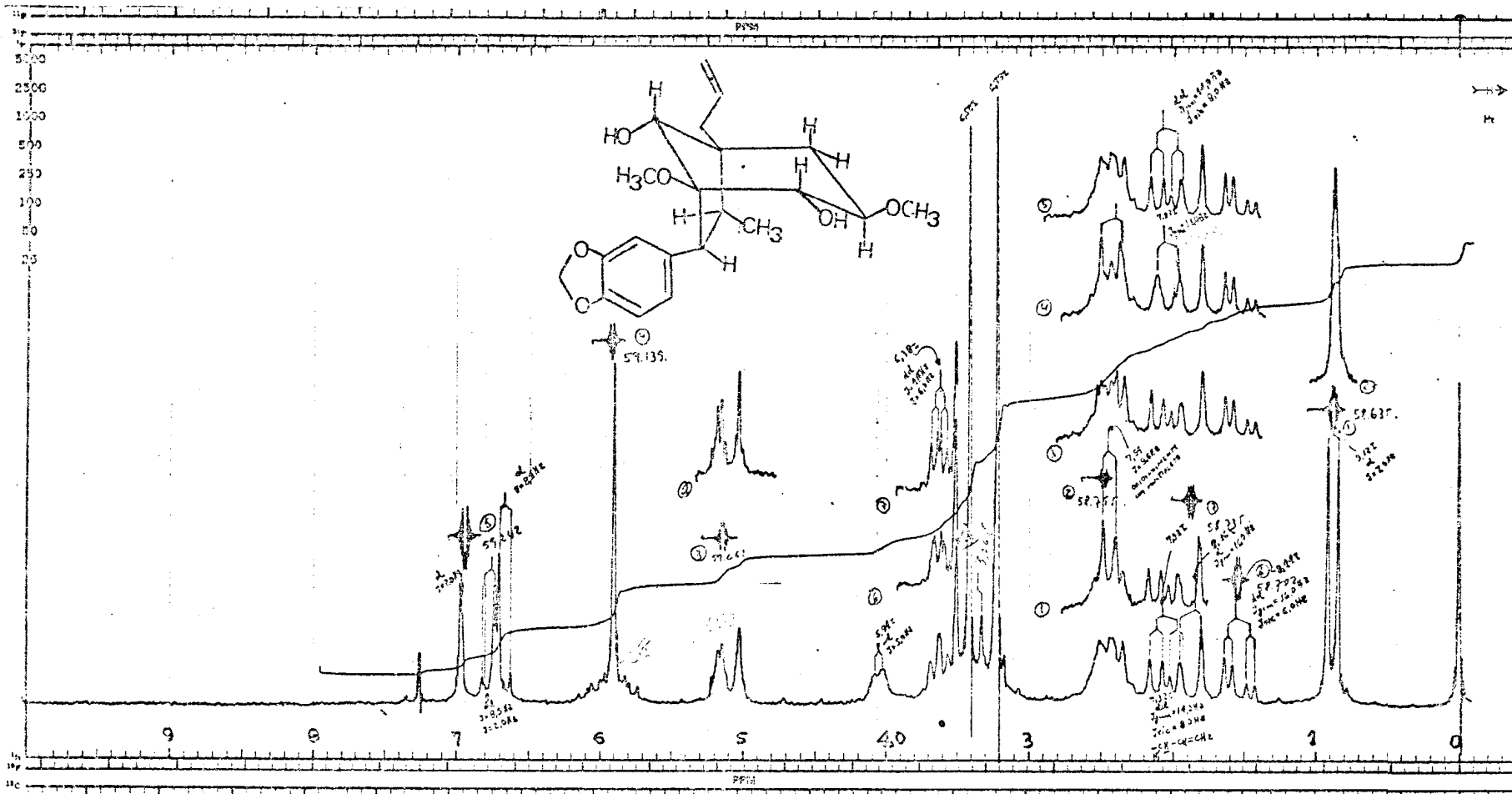


Fig. IV-3 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância IV em CDCl_3 , com dupla irradiação.

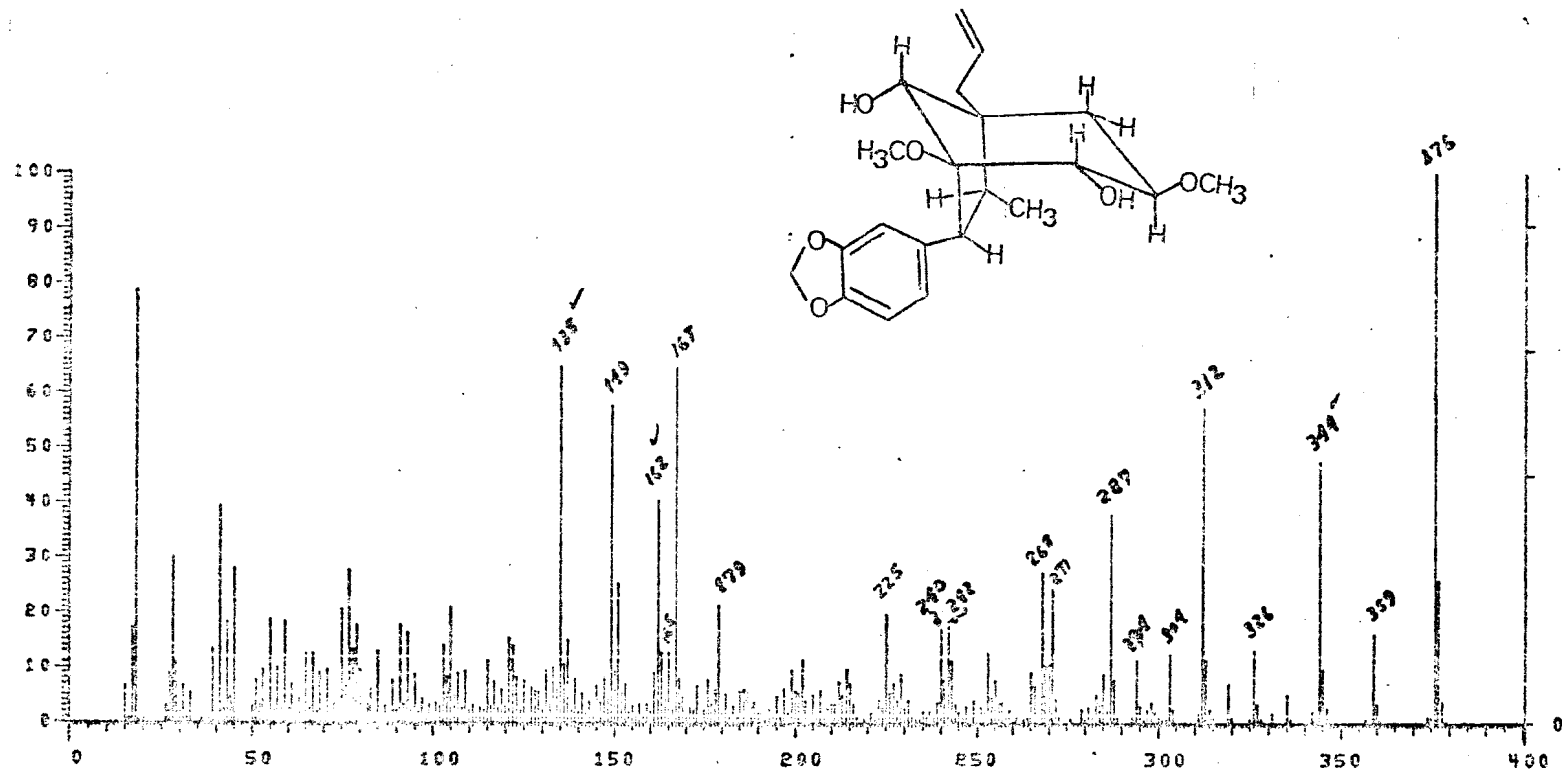


Fig. IV-4 . Espectro de massa da substância IV.

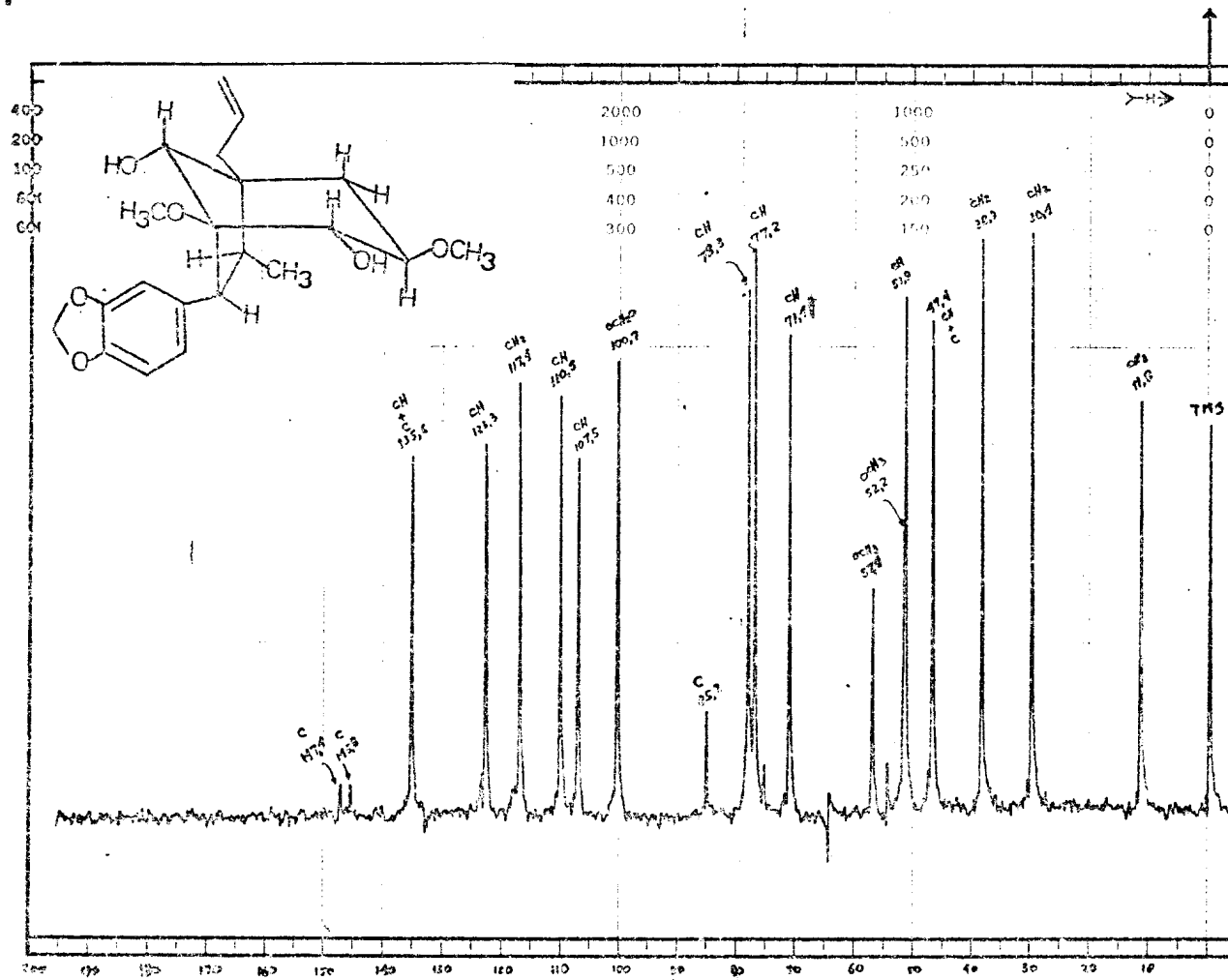


Fig. IV-5 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (20 MHz) da substância IV, totalmente desacoplado, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

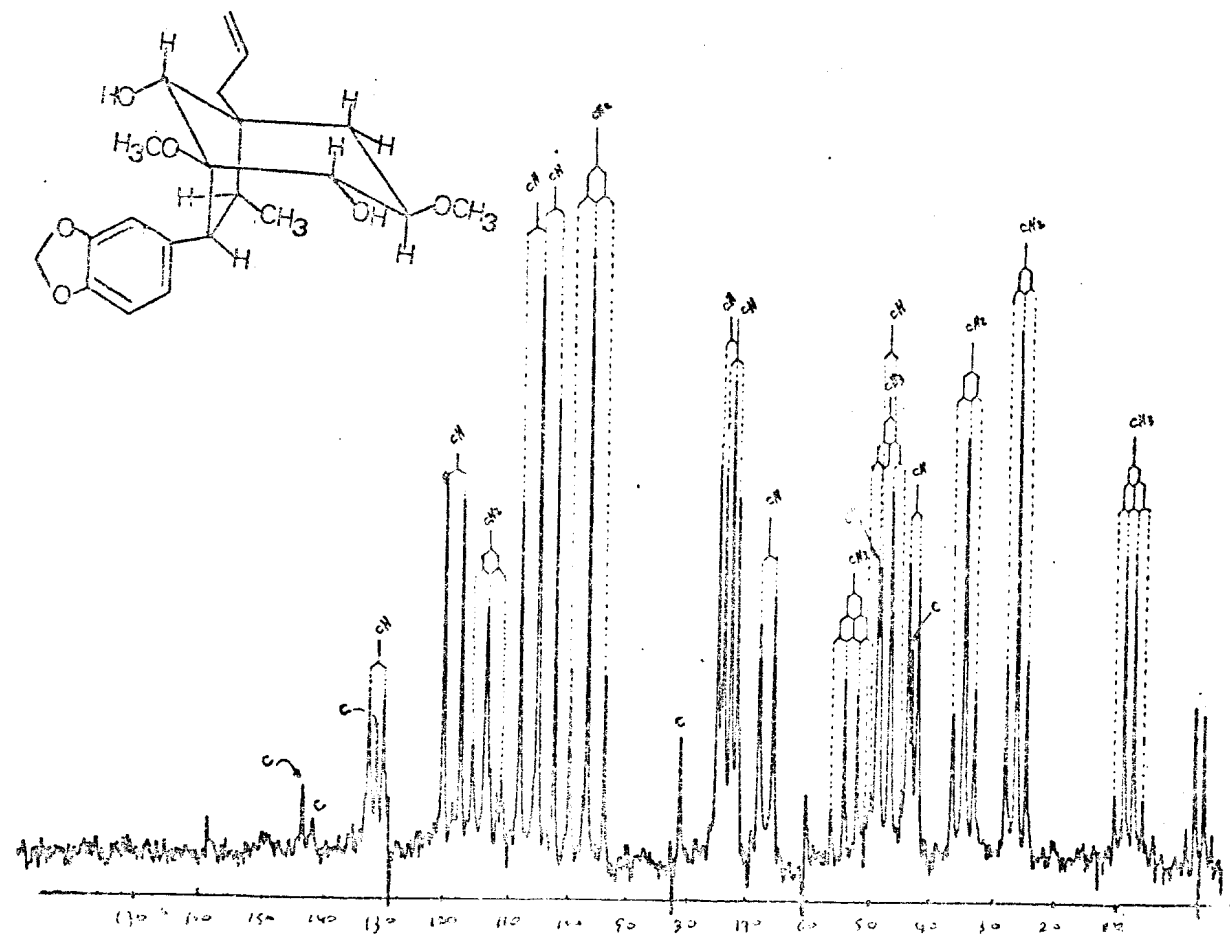


Fig. IV-6 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (20 MHz) da substância IV com acoplamento residual em CDCl_3 .

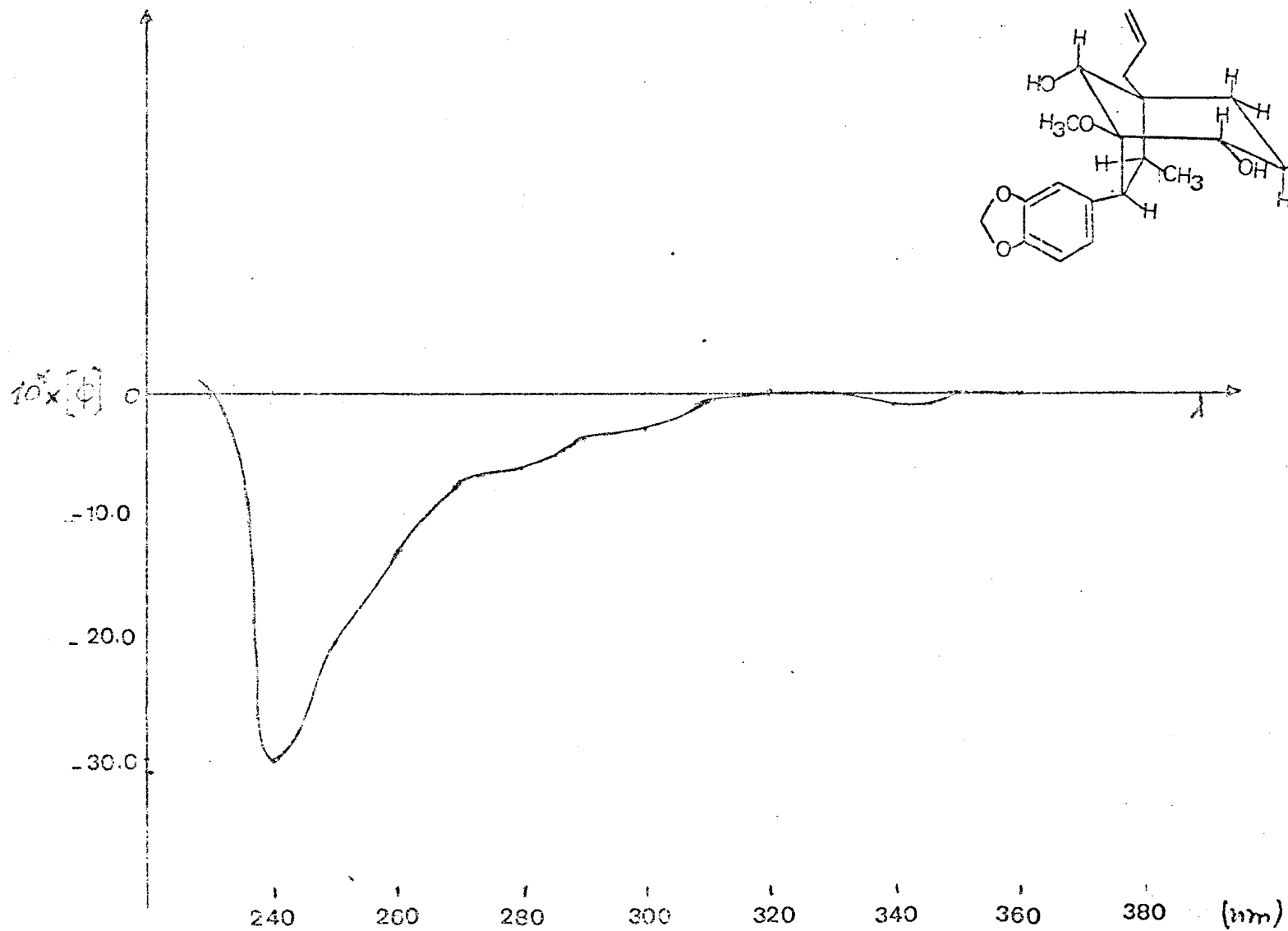


Fig. IV-7 . Espectro de D.O.R. da substância IV

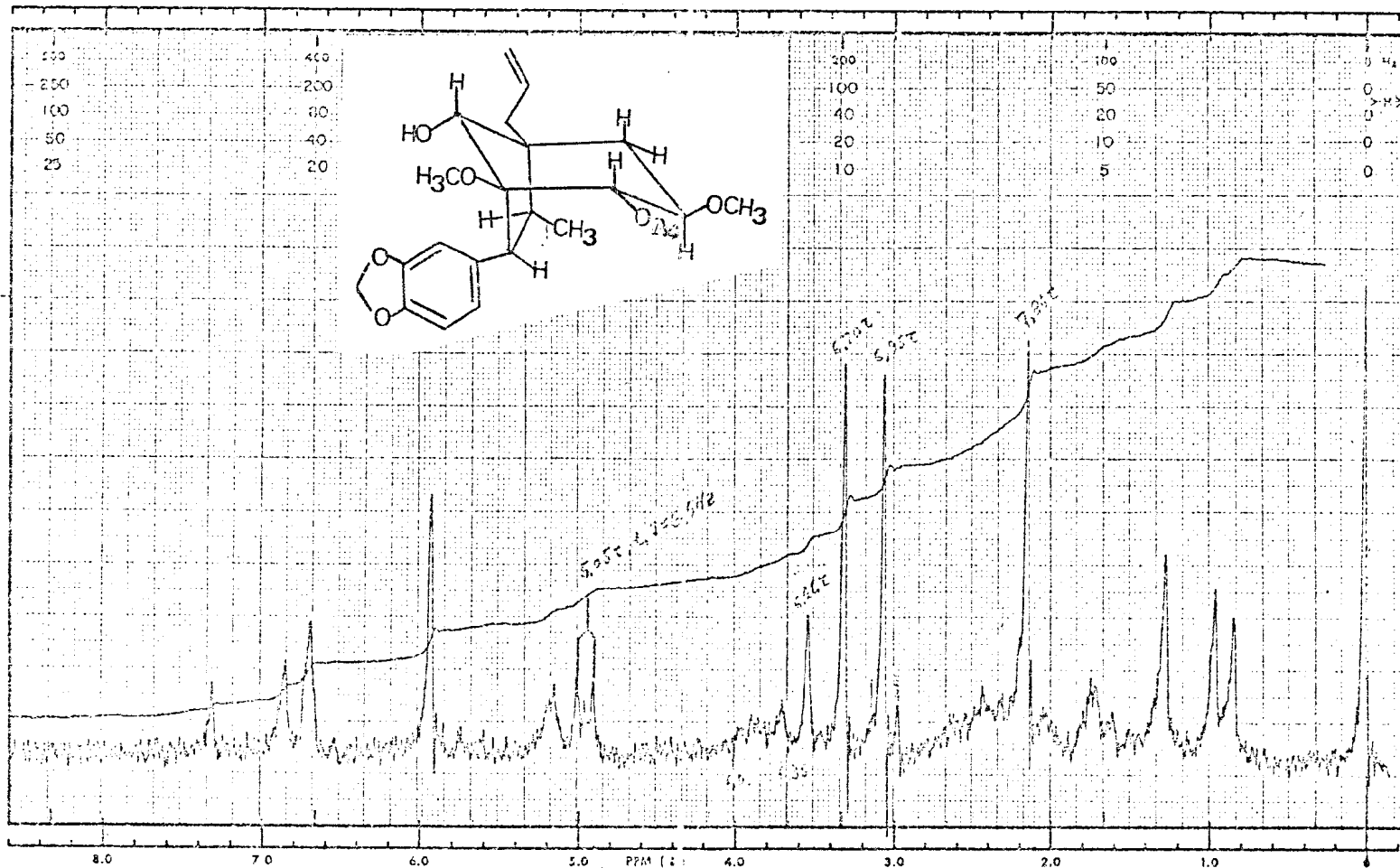


Fig. IV-8 . Espectro de r.m.n. ^1H (60 MHz), em CDCl_3 , do derivado monoacetilado da substância IV e TMS como referência interna.

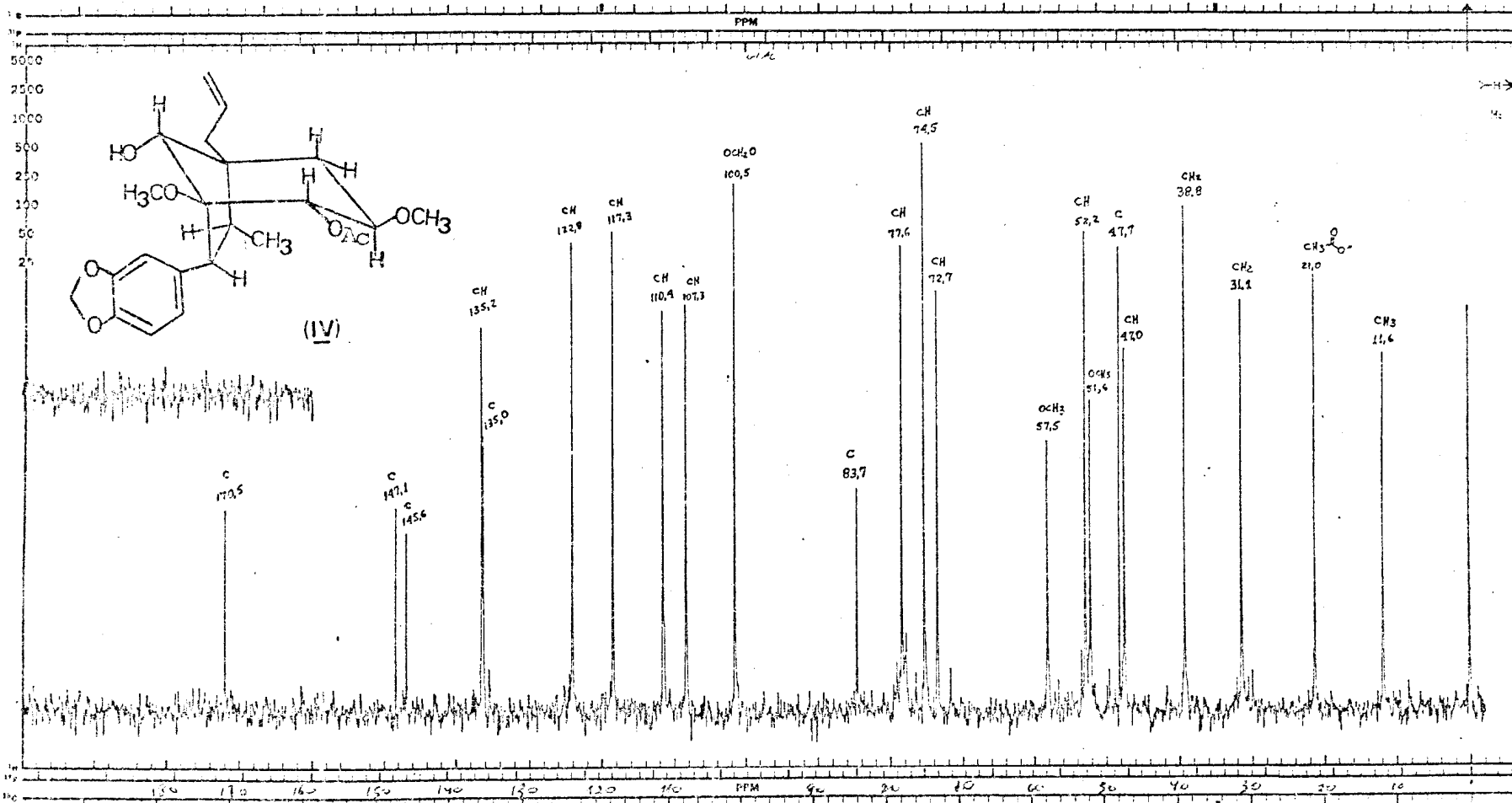


Fig. IV-9 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) do derivado monoacetilado da substância IV, totalmente desacoplado, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

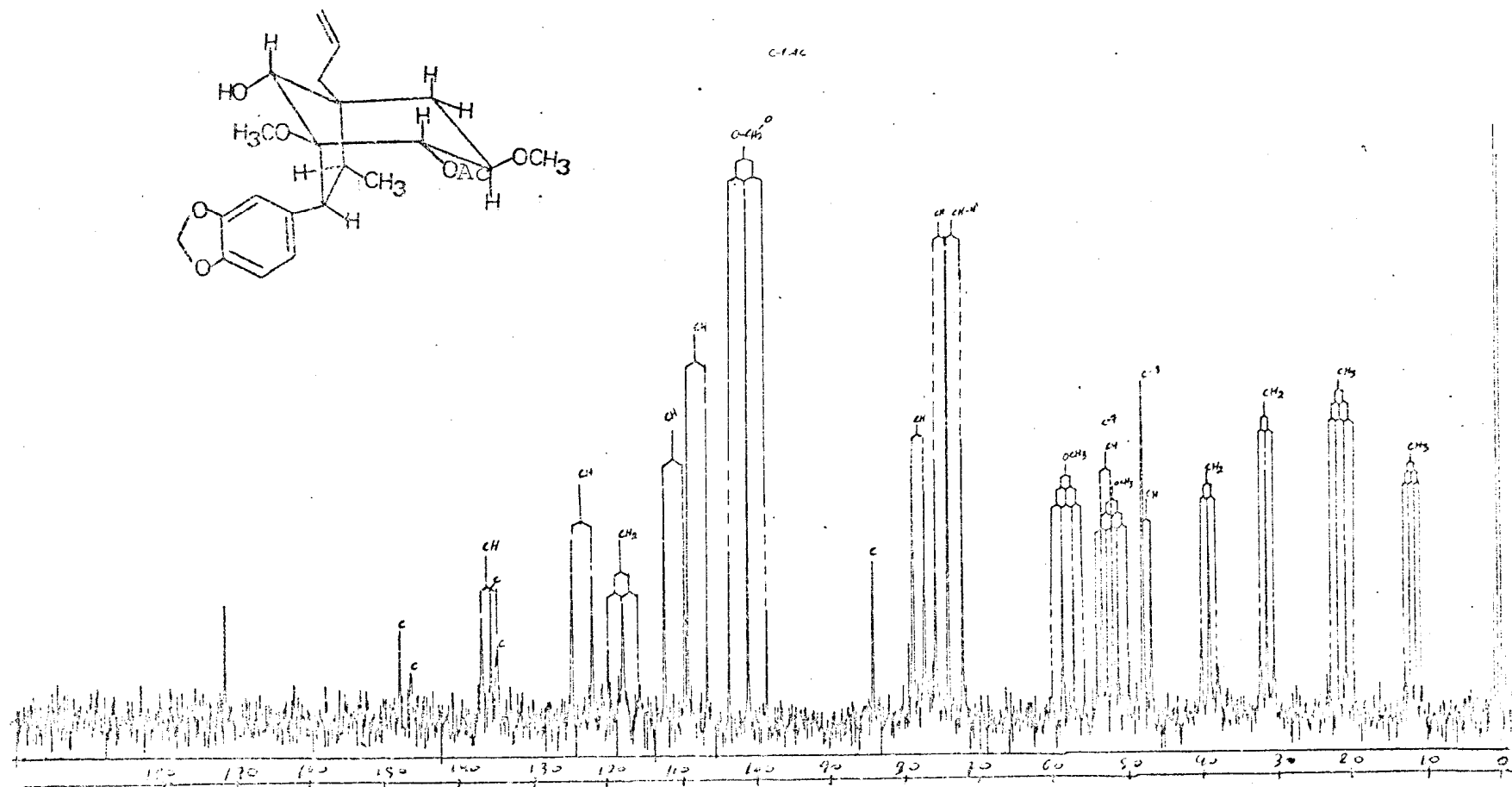


Fig. IV-10 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) do derivado monoacetilado da substância IV em CDCl_3 , com acoplamento residual, e TMS como referência interna.

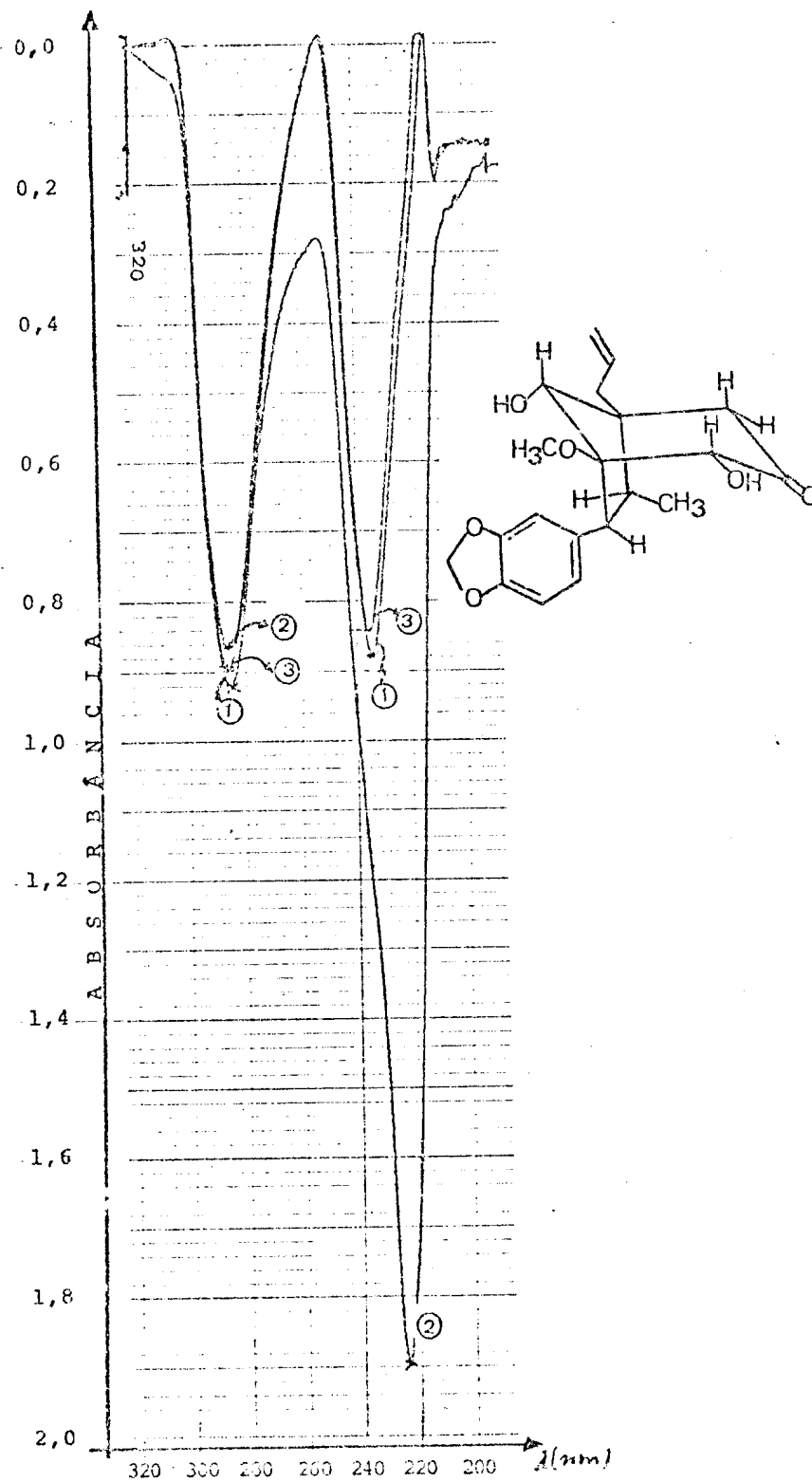


Fig. V.1 - Espectro u.v. de IV + V com EtOH(1); IV + V com NaOH(2) e IV + V com NaOH + HCl(3).
Concentração: 1mg/10ml

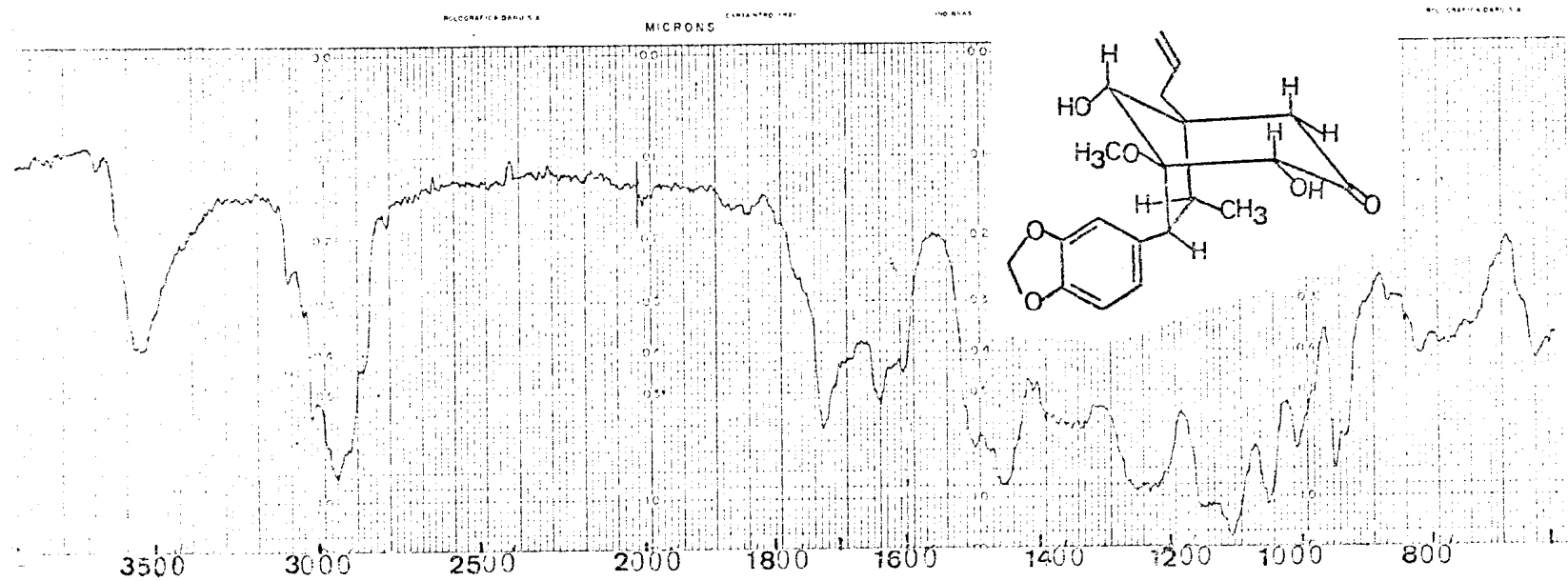


Fig. V-2 . Espectro i.v. da substância V, impurificada com IV.

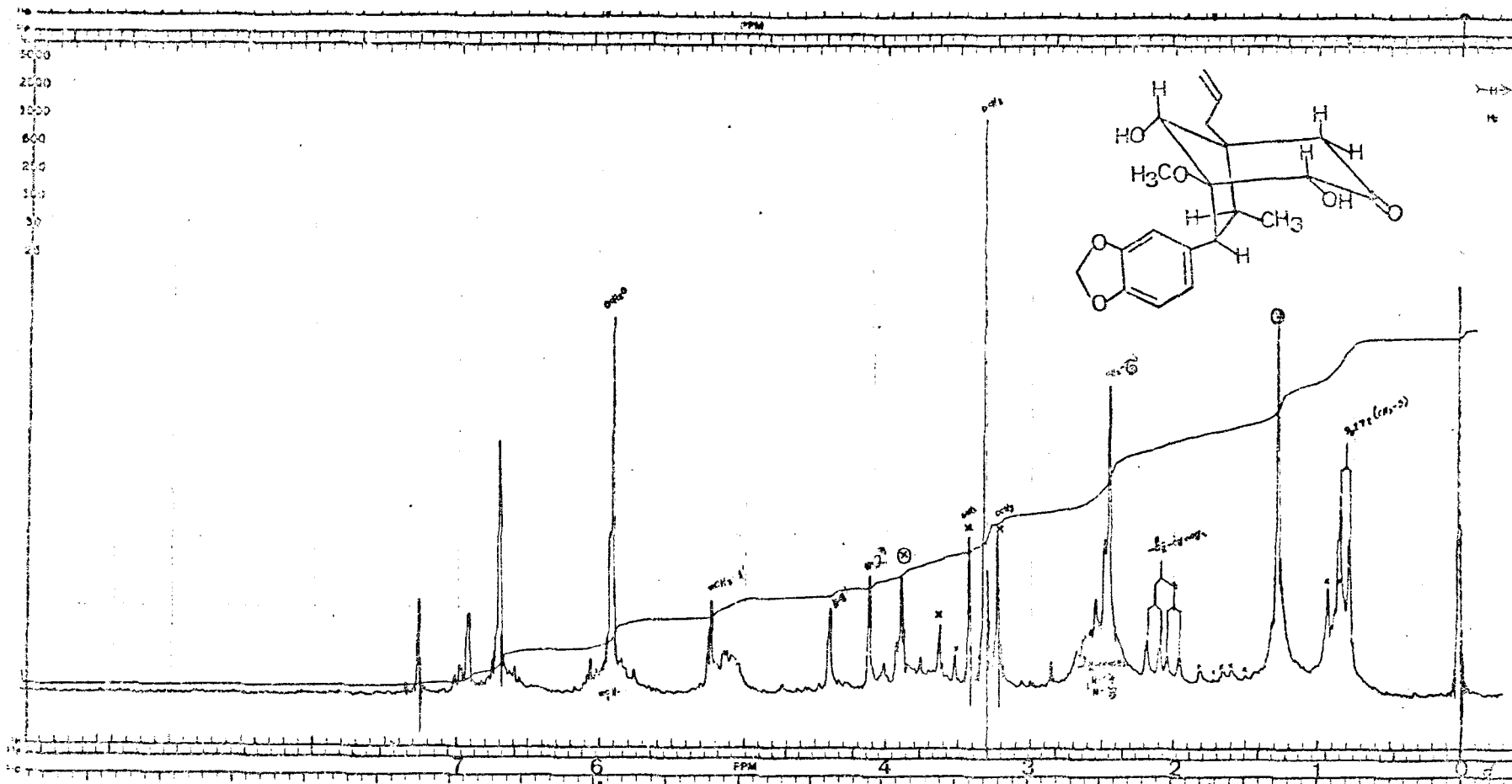


Fig. V-3 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância V, em CDCl_3 e TMS como ref. interna
 *sinais da substância IV. ⊕outra impureza.

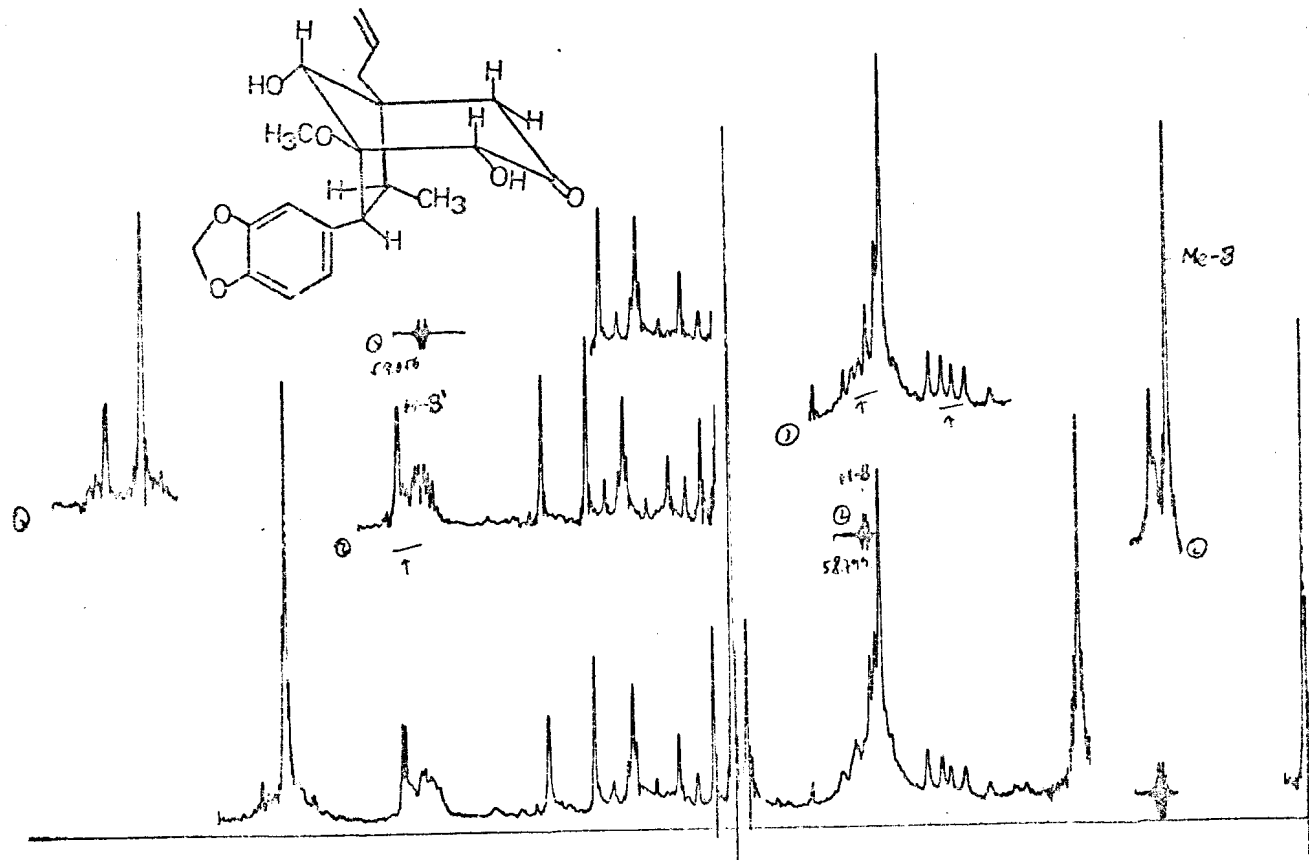


Fig. V-4 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância V, em CDCl_3 , com dupla irradiação, e TMS como referência interna.

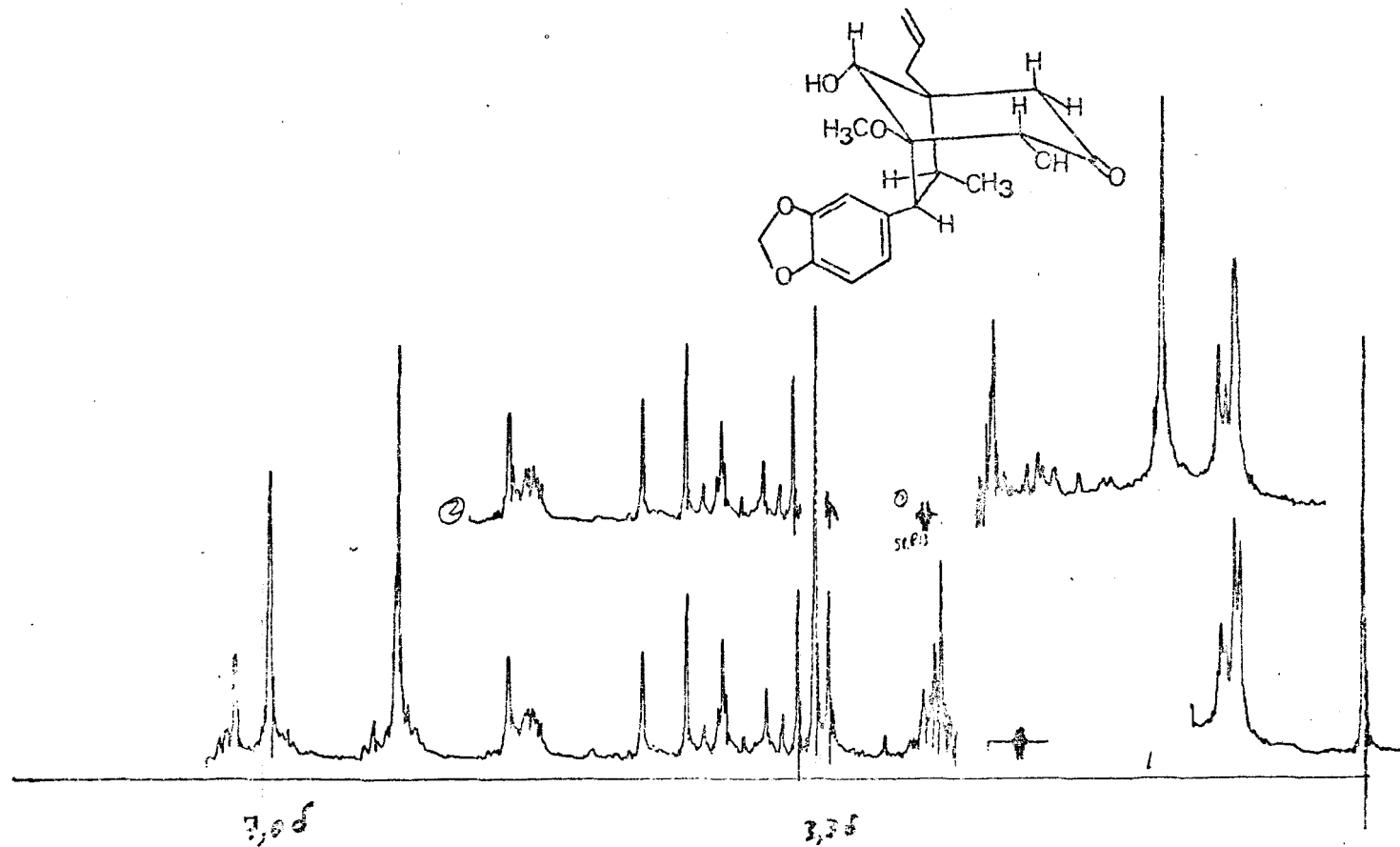


Fig. V-5 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância V, em CDCl_3 , com dupla irradiação, e TMS como referência interna.

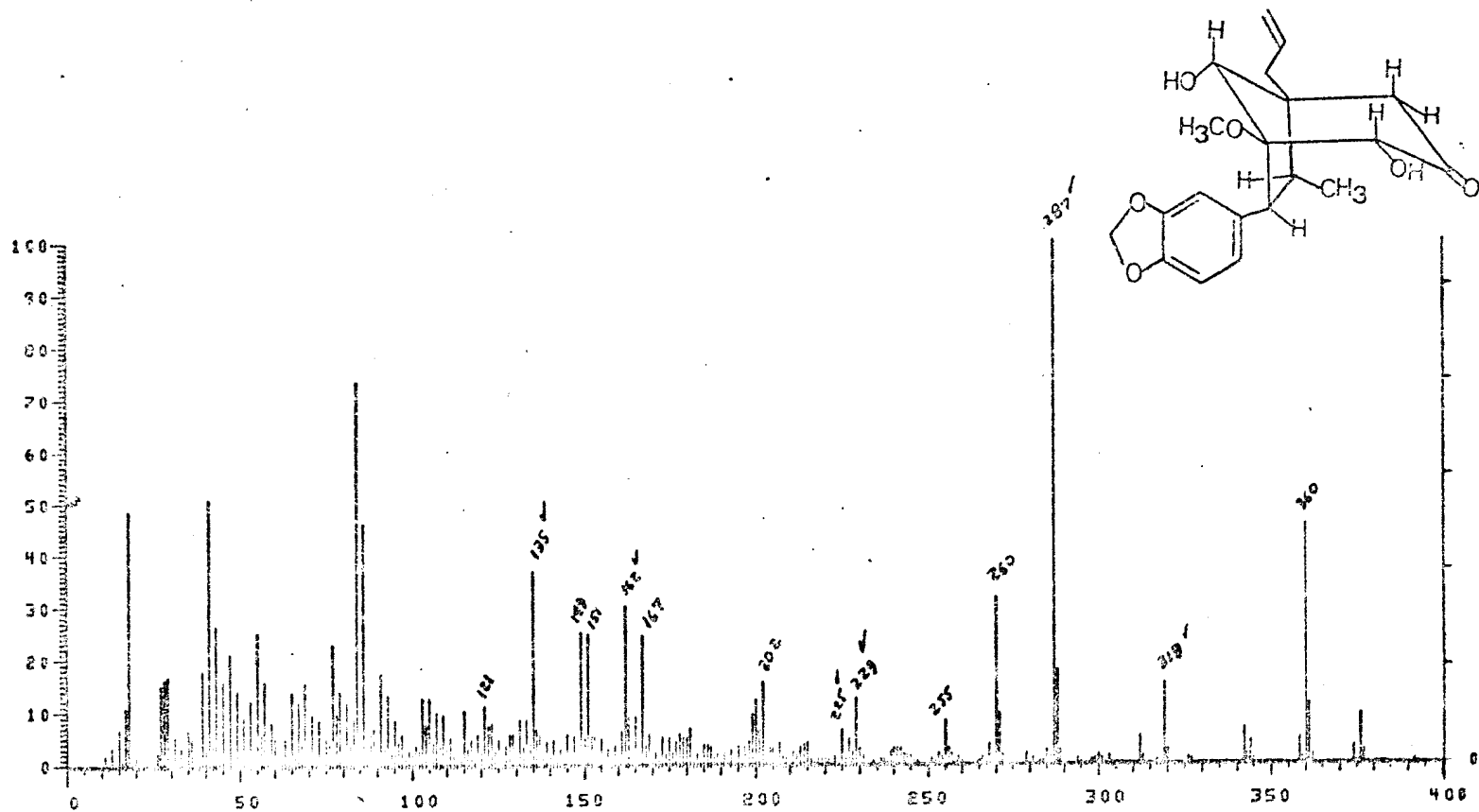
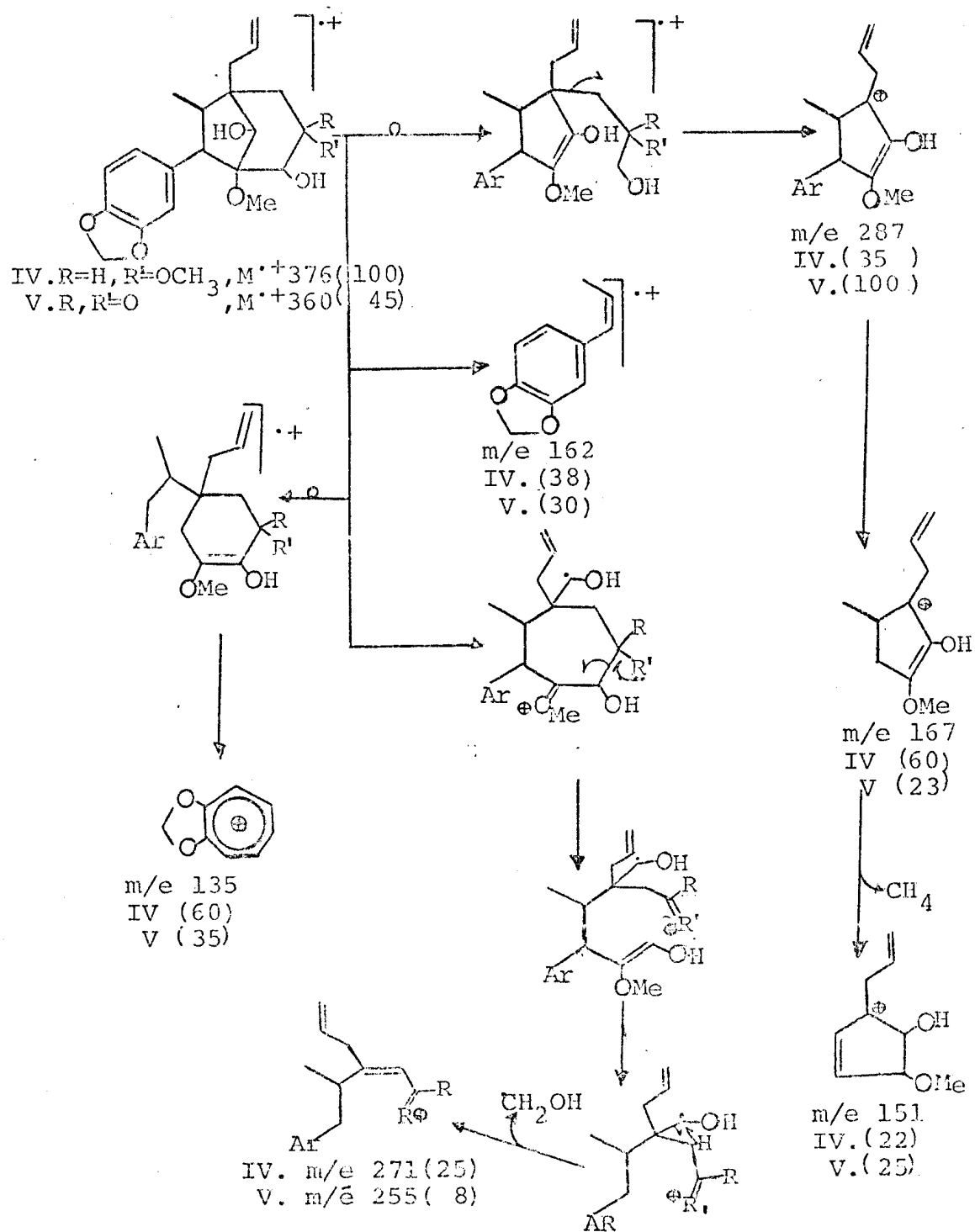


Fig. V-6 . Espectro de massa da substância V.

Esquema IV-V-1. Interpretação dos espectros de massa das substâncias IV e V.



1.3 - Parte Experimental

1.3.1 - Material e Métodos

1. As separações por cromatografia em coluna (C.C.) foram efetuadas utilizando-se sílica Kieselgel Merck (0,05-0,20 mm) como adsorvente.
2. Para cromatografia em camada delgada (C.C.D.) analítica, espessura 0,25 mm, utilizou-se sílica Kieselgel G e Kieselgel H (Tipo 60) Merck, e nas preparativas, espessura 0,5 mm, sílica Kieselgel Merck 60 PF 254. A suspensão da sílica em água destilada foi distribuída sobre placas de vidro por meio de um espalhador Quickfit. As placas analíticas foram reveladas com vapor de iodo e irradiação com luz u.v. de comprimento de onda de 254 nm. As cromatoplaças preparativas foram reveladas com irradiação com luz u.v. de comprimento de onda de 254 nm.
3. Utilizou-se solventes da Merck, Carlo Erba e Alquim.
4. Os solventes de soluções foram destilados sob pressão reduzida, usando-se evaporador rotativo Janke e Hunkel, Mod. RV.05 (ASCA).
5. As identificações por comparação direta com padrões envolveu ponto de fusão, cromatografia em camada delgada de sílica variando-se os sistemas de solventes e espectros i.v. e de r.m.n. ¹H.
6. Os pontos de fusão foram determinados em blocos de Kofler e não foram corrigidos.
7. Os espectros u.v. foram registrados em espectros Perkin-Elmer, Mod. 402, existente na UFRJ; V-552, por cortesia de Feiga Rifka Sochatcheviski, existente no I.M.L.. Como

solvente utilizou-se etanol.

8. Os espectros i.v. foram registrados em espectrômetros Perkin-Elmer, Mod. 257, existente na UFRRJ; Mod. 137, existente no NPPN (UFRJ). Utilizou-se comprimido em KBr, contendo aproximadamente 1% da amostra, ou filme sobre pastilhas de NaCl.
9. Os espectros de r.m.n. ^1H a 60 MHz foram registrados em espectrômetro da Varian, Mod. T-60, existente na UFRRJ. Os espectros de r.m.n. ^1H a 100 MHz em espectrômetro Varian, Mod. XL-100, existente no NPPN (UFRJ), por cortesia do Prof. Paul M. Baker. Os deslocamentos químicos foram anotados em unidades δ (ppm). Como solvente utilizou-se CDCl_3 ou CD_3COCD_3 , dependendo da solubilidade, e TMS foi usado como referência interna. As constantes de acoplamento (J) foram dadas em Hz.
10. Os espectros de r.m.n. ^{13}C foram registrados em espectrômetros Varian, Mod. XL-100 (25,2 MHz) ou CFT-20 (20 MHz), existentes no NPPN (UFRJ), por cortesia do Prof. Paul M. Baker. Os deslocamentos químicos foram anotados em δ (ppm). Como solvente foi utilizado CDCl_3 e TMS como referência interna.
11. Os espectros de massa foram registrados em espectrômetros da Varian, Mod. CH-5, existente no NPPN (UFRJ), por cortesia do Prof. Paul M. Baker.
12. A curva de dispersão ótica rotatória foi registrada em espectropolarímetro Cary-60, existente no Instituto de Química da USP, por cortesia do Prof. Massayoshi Yoshida.

1.3.2 - Isolamento dos Constituintes Químicos de Licaria rigida.

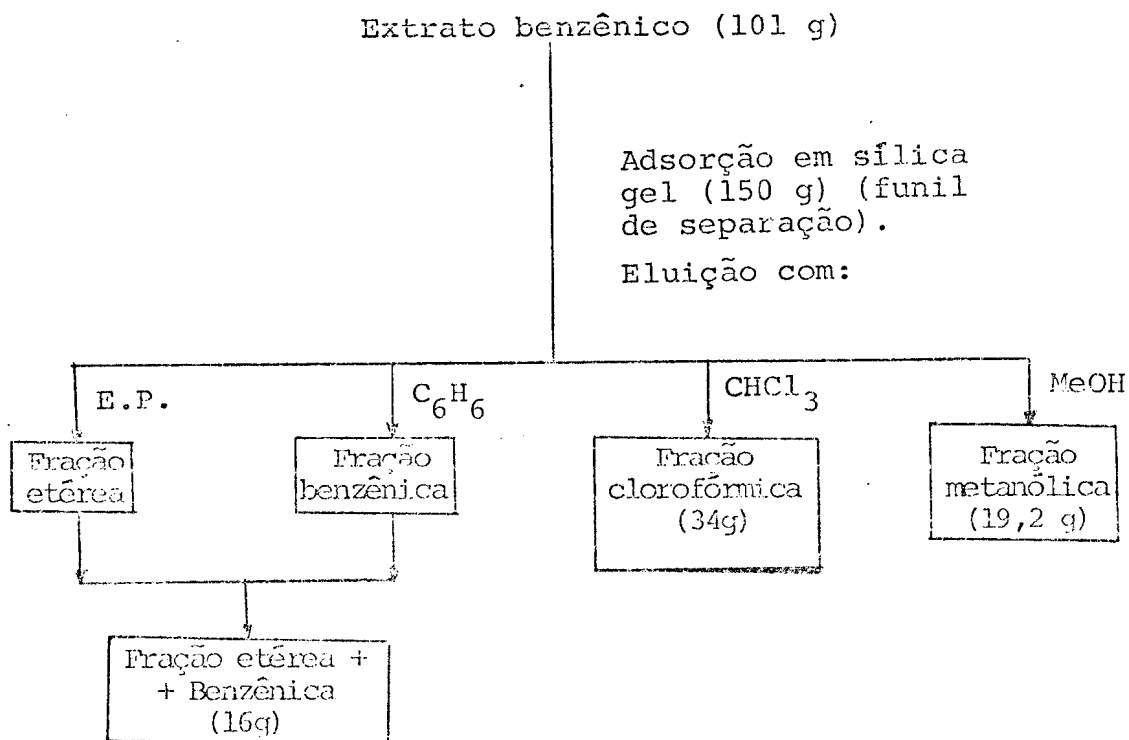
a) Extração

A madeira do tronco (13 kg), seca e moída, foi extraída exaustivamente com benzeno e etanol em aparelho tipo Soxhlet.

b) Elaboração do extrato benzênico (150 g)

Parte deste extrato benzênico (101 g) foi adsorvido em sílica gel para coluna (150 g), colocado em funil de separação e eluído sucessivamente com éter de petróleo, benzeno, clorofórmio e metanol (Esquema 2).

Esquema 2 - Fracionamento do extrato benzênico (101 g) absorvido em sílica gel (150 g).



A. Fração éter de petróleo + benzênica (16 g)

Comparação das frações eluidas com éter de petróleo e benzeno, por cromatografia em camada delgada de sílica, revelou composições análogas. Em face disto, foram reunidas e submetidas a cromatografia em coluna de sílica, utilizando benzeno como eluente inicial. Foram recolhidas 344 frações de 150 ml cada uma. Estas frações foram reunidas em 8 grupos, com base em análise comparativa por cromatografia em camada delgada de sílica, usando-se como solvente benzeno 9:1 acetona (Quadro 3).

Quadro 4 - Resultados das análises das frações da coluna do eluato éter de petróleo + benzênico.

Frações	Análise e Purificação	Substâncias	PF	Quantidade ^d das substâncias isoladas
1-12	1. CCD ^a 2. Espectro i.v.	Alifático ^c	-	-
13-33	1. CCD comparativa 2. CC ^b 3. Recrist. em éter de petróleo.	I	82-84	1,48 g
34-72	1. CCD comparativa	I + II	-	0,0725g
73-110	1. CCD 2. Recrist. em metanol.	II	135-140	2,5 g
111-192	1. CCD	III	102-104	0,34 g

...Continua...

...Continuação do Quadro 4...

193-216	1. CCD	Material ^c Alifático	-	-
222-244	2. CC			
245-344	3. Recrist. em éter de petróleo, benzeno, metanol, acetona			
	4. Espectro i.v.			

^aCCD = Cromatografia em camada delgada de sílica

^bCC = Cromatografia em coluna de sílica

^c Material oleoso de difícil cristalização, constituindo praticamente todo o resto do extrato, com vários componentes em pequena proporção.

^d As quantidades não incluem o máximo de material que poderia ser isolado de cada fração.

B. Fração clorofórmica (34 g)

Análise por cromatografia em camada delgada de sílica da fração clorofórmica (Esquema 2) mostrou, além de material alifático (óleo), canelina A (IV) e canelina C (V).

Para se conseguir isolar estas substâncias submeteu-se a fração clorofórmica (34 g) a cromatografia em coluna de sílica (330 g), utilizando-se clorofórmio como eluente inicial. Foram recolhidos 158 frações de 250 ml cada uma. Estas frações, após concentração sob vácuo, foram analisadas através de cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando como solvente misturas de clorofórmio e metanol em polaridade crescente. Esta análise cromatográfica permitiu reunir as frações recolhidas em 6 grupos (Quadro 5).

Quadro 5 - Frações reunidas da coluna cromatográfica do extrato clorofórmico.

Frações	Análise e Purificação	Substâncias	PF	Quantidade das Substâncias isoladas
1-4	1. CCD 2. Recristalização	IV + outro aromático + alifáticos.	-	750 mg
5-18	1. CC de Sílica Solvente Benzeno 7:3 Acetato etila 2. CCD 3. Recristalização em éter de petróleo + Benzeno.	IV + V V impura (óleo)	125-130	20 mg
19-22 ^e	1. CC 2. CCD 3. Recristalização em Benzeno + + éter de petróleo.	V+impurezas	70-75	10 mg
23-36	1. CC 2. CCD preparativa (Benzeno 7:3 Acetato de etila. 3. Recristalização em ciclohexano.	IV e IV + V	131-133 125-130	10 mg 10 mg
37-42	1. CC 2. CCD 3. Recristalização em ciclohexano.	IV e IV + V	131-133 125-130	210 mg 10 mg
43-59 ^e 70-158 ^e	1. CC 2. CCD 3. Recristalização em éter de petróleo, benzeno, hexano, metanol, etc.	IV + V + material muito polar.	-	-

^eTentativas de purificação não levou a resultado satisfatório.

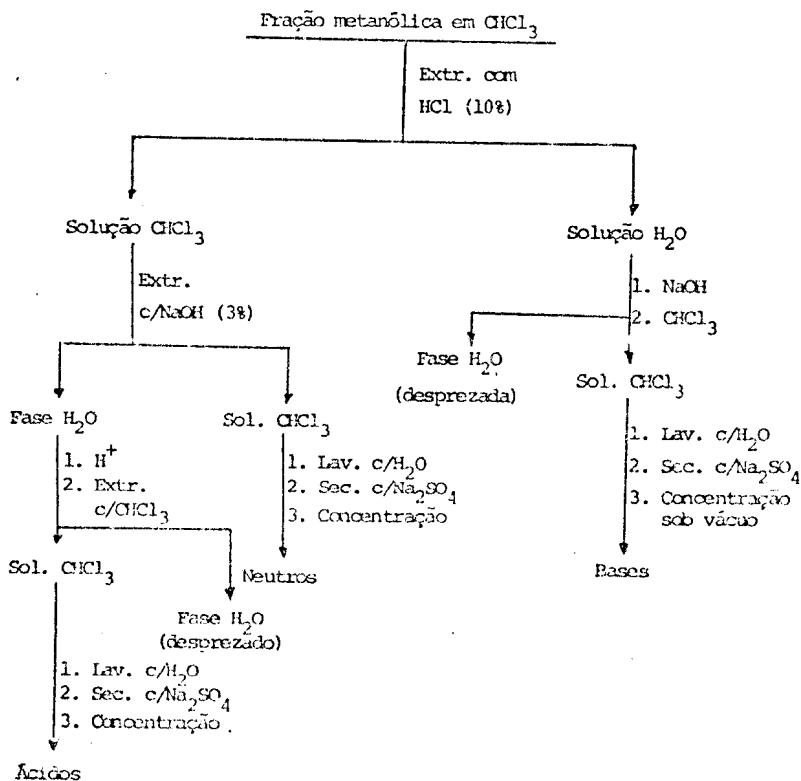
Como se deduz do Quadro 5, não se conseguiu obter a substância V pura. Os dados espectrais foram obtidos através da análise comparativa de espectros de IV e da mistura IV + V.

C. Fração metanólica (19,2 g)

A fração metanólica (Esquema 2) foi submetida a análise por cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando-se clorofórmio-metanol 7:3 como solvente. Trata-se de uma mistura de substâncias muito polares. Esta fração foi submetida a fracionamento químico (Esquema 3), obtendo-se três frações: Bases, Neutros e Ácidos.

Tentativas de purificação destas frações, através de cromatografia em coluna, cromatografia em camada delgada, cristalização e preparação de derivados, não ofereceu resultado satisfatório. Conseguiu-se uma grande quantidade (10 g) de cristais escuros ainda impuros, de alto ponto de fusão.

Esquema 3 - Fracionamento químico da fração metanólica



1.3.3 - Dados físicos e espectrais dos constituintes

Eusiderina B (I) -rel-(7R,8R)- $\Delta^{8'}$ -5'-metoxi-3,4-metile nodioxi-7.O.3',8.O.4'-lignana [1]. Cristais incolores, P.F. 82-84°C (éter de petróleo). u.v.: $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 283 (ϵ : 4320) e 240 (ϵ : 7270) (Fig. I-1); i.v.: $\lambda_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3050-3000, 2850, 2800, 1600, 1500, 1450, 1350, 1320, 1250, 1200, 1150, 1120, 930, 840, 740 (Fig. I-2); r.m.n. ^1H (60 MHz, δ , CDCl_3): 1,30 (d, $J = 6\text{Hz}$, CH_3), 3,30 (d, $J = 7\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-$); 3,90 (s, OCH_3), 4,40-3,90 (m, H-8), 4,58 (d, $J = 8\text{Hz}$, H-7), 5,30-4,90 (m, $=\text{CH}_2$), 6,30-5,60 (m, $-\text{CH}=\text{}$), 6,00 (s, OCH_2O), 6,50 (d, $J = 2\text{Hz}$, H-6' ou H-2'), 6,51 (d, $J = 2\text{Hz}$, H-2' ou H-6'), 6,90 (s, H-2, H-3, H-6) (Fig. I-3); r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz, ppm (δ), CDCl_3): 148,35 (C-5'), 147,9 (C-3 e C-4), 144,17 (C-3'), 137,15 (C-8'), 132,18 (C-1'), 130,11 (C-4'), 130,70 (C-1), 121,32 (C-6), 115,62 (C-9'), 109,42 (C-2'), 108,23 (C-5), 107,13 (C-2), 104,45 (C-6'), 101,13 (O_2CH_2), 80,64 (C-7), 74,05 (C-8), 56,01 (OMe-5'), 39,97 (C-7'), 17,21 (C-9) (Figs. I-4 e I-5); e.m. (m/e): 340 (28, $\text{M}^{+\cdot}$), 298 (2), 205 (5), 191 (9), 178 (5), 162 (100), 150 (5), 135 (7), 121 (7) (Fig. I-6, Esquema I-1).

Sitosterol (II)-3 β -hidroxi-24(R)-etil- Δ^5 -colesteno. cristais incolores, P.F.: 135-137 (MeOH).

Eusiderina A (III) -rel-(7R,8R)- $\Delta^{8'}$ -5'-metoxi-3,4,5-trimetoxi-7.O.3',8.O.4'-lignana [1]. Cristais incolores, P.F.: 102-104 (ciclohexano). u.v.: $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 220 (ϵ : 8910) (Fig. III-1); i.v.: $\lambda_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3040, 3000, 2800, 1600, 1500, 1460, 1430, 1240, 1230, 1150, 1120, 1000, 830 (Fig. III-2); r.m.n. ^1H (60 MHz, δ , CDCl_3): 1,30 (d, $J = 6\text{Hz}$, CH_3), 3,32 (d, $J = 7,0\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-$), 3,90 (s, 4 (OCH_3)), 4,40-3,90 (m, H-8), 4,58 (d, $J = 8\text{Hz}$, H-7), 5,30-4,90 (m, $=\text{CH}_2$), 6,30-5,60 (m, $\text{CH}=\text{}$), 6,40 (d, $J = 2\text{Hz}$, H-2' ou H-6'), 6,52 (d, $J = 2\text{Hz}$, H-2' ou H-6'), 6,62 (s, H-2 e H-6) (Fig. III-3); r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz, ppm (δ), CDCl_3): 153,38 (C-3

e C-5), 148,37 (C-5'), 143,8 (C-3'), 138,3 (C-4), 137,11 (C-8'), 132,35 (C-1), 132,2 (C-1'), 131,12 (C-4'), 115,63 (C-9'), 109,43 (C-2'), 104,52 (C-6'), 104,37 (C-2 e C-6), 80,97 (C-7), 73,97 (C-8), 60,72 (OMe-4), 56,10 (OMe), 39,94 (C-7'), 17,3 (C-9) (Figs. III-4, III-5 e III-6); e.m. (m/e): 386 (91, M^{+}); 371 (3), 356 (2), 345 (6), 344 (9), 311 (7), 302 (15), 208 (100), 195 (4), 193 (91), 191 (42), 165 (8), 135 (7) (Fig. III-7, Esquema III-1.

Canelina A (IV)-(7R,8S,1'S,2'R,3'S,4'S,5'R)- Δ^8 -2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetoxi-3,4-metilenodioxi-8.1',7.3'-lignana.

[1]. Cristais incolores, P.F. 143-145 (Benzeno + eter de petróleo). u.v.: $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 290 (ϵ :4550) e 235 (ϵ :4640) (Fig. IV-1); i.v.: ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 3500, 2900, 1640, 1500, 1490, 1440, 1370, 1240, 1190, 1170, 1090, 1040, 990, 940, 850 (Fig. IV-2); r.m.n. ^1H , 100 MHz, δ , CDCl_3 : 0,88 (d, $J = 7\text{Hz}$, CH_3); 1,56 (dd, $J = 16\text{ Hz}$ e $J = 5,0\text{ Hz}$, $\text{H-6}'_{\text{ax}}$); 1,84 (dd, $J = 16\text{Hz}$, $J = 1,0\text{Hz}$, $\text{H-6}'_{\text{eq}}$), 2,40 e 2,08 (dd, $J = 14\text{Hz}$ e $J = 8\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-7}'$), 2,42 (m, H-8); 3,22 (s, OCH_3); 3,56 (d, $J = 8,5$, H-7); 3,42 (s, OCH_3); 3,50 (s, $\text{H-2}'$); 3,62 (ddd, $J = 6,5$, $J = 5,0$ e $J = 1,0\text{ Hz}$, $\text{H-5}'_{\text{ax}}$); 4,06 (d, $J = 6,5\text{ Hz}$, $\text{H-4}'_{\text{ax}}$); 5,24-5,0 (m, $=\text{CH}_2$); 5,9 (s, O_2CH_2); 6,15-5,75 (m, $\text{H-8}'$); 6,68 (d, $J = 8,5\text{ Hz}$, H-5); 6,75 (dd, $J = 8,5\text{ Hz}$ e $J = 2,0\text{ Hz}$, H-6); 6,96 (d, $J = 2\text{Hz}$, H-2); 4,06 (d, $J = 5\text{ Hz}$, $\text{OH-4}'$) (Fig. IV-3); r.m.n. ^{13}C (20 MHz, ppm (δ), CDCl_3): 14,74 (C-3), 145,8 (C-4), 135,6 (C-1 e C-8'), 123,3 (C-6), 117,4 (C-9'), 110,5 (C-5), 107,5 (C-2), 100,7 (O_2CH_2), 85,3 (C-3'), 78,3 (C-2'), 77,2 (C-4'), 71,4 (C-5'), 57,4 (OCH_3), 52,2 (OCH_3), 51,9 (C-7), 47,4 (C-1' e C-8), 38,9 (C-6'), 30,4 (C-7'), 11,8 (CH_3) (Figs. IV-5 e IV-6); e.m. (m/e): 376 (100, M^{+}), 359 (15), 344 (47), 312 (57), 287 (38), 271 (24), 268 (28), 242 (19), 240 (18), 225 (20), 179 (22), 167 (64), 149 (57), 135 (64) (Fig. IV-4, Esquema IV-V-1). DOR (C: 8,06mg/25ml; MeOH, 220-360 nm): $[\phi]_{350}^{\text{C}}$ 0; $[\phi]_{340}^{\text{C}}$ $-1,25 \cdot 10^{+1}$, $[\phi]_{320}^{\text{C}}$ 0, $[\phi]_{310}^{\text{C}}$ $-1,25 \cdot 10^{+1}$, $[\phi]_{300}^{\text{C}}$ $-5,01 \cdot 10^{+1}$, $[\phi]_{280}^{\text{C}}$ $-7,5 \cdot 10^{+1}$, $[\phi]_{270}^{\text{C}}$ $-7,5 \cdot 10^{+1}$, $[\phi]_{240}^{\text{C}}$ $-30 \cdot 10^{+1}$, $[\phi]_{230}^{\text{C}}$ 0 (Fig. IV-7).

Canelina C (V) rel (7R, 8S, 1'S, 2'R, 3'S, 4'R) - $\Delta^{8'}$ - 2'.4' - dihidroxi-5'-oxo-3,4-metilenocioxi-8.1',7.3'-lignana [1]. Cristais incolores (impurificados com IV), P.F. 125-130 (éter de petróleo). u.v.: $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 285 (€3310) e 235 (€3170) (Fig. V-1); i.v.): $\lambda_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3500, 3050, 2980, 1720, 1640, 1600, 1500, 1450, 1240, 1100, 940, 820 (Fig. V-2); r.m.n. ^1H (100 MHz, CDCl_3): 0,83 (d, J = 7,0 Hz, CH_3), 2,09 (dd, J = 14,0 e J = 8,0 Hz, H-7'), 2,48 (s, CH_2 -6'), 2,6-2,3 (m, H-8), 3,3 (s, OCH_3), 3,5 (d, J = 8Hz, H-7), 4,14 (s, H-2'), 4,3 (s, H-4'), 5,3-5,0 (m, CH_2 -9'), 5,9 (s, O_2CH_2), 6,2-5,7 (m, H-8'), 6,65 (d, J=8,0, H-5), 6,95 (dd, J = 8,0 e J = 2,0 Hz, H-6), 7,2 (d, J = 2Hz, H-2), (Figs. V-3, V-4 e V-5); e.m. (m/e): 360 (45, M^{+}), 319 (15) 287. (100), 260 (32), 255 (9), 229 (12), 225 (5), 202 (15), 167 (25), 162 (30), 151 (24), 149 (25), 135 (45) (Fig. V-6, Esquema IV-V-1).

Canelina A_{Ac} (IV-Ac) - Derivado monoacetilado da canelina A (IV).

Dissolveu-se 100 mg de IV em piridina (2 ml) e adicionou-se anidrido acético (2 ml). A solução ficou em repouso durante 24 horas à temperatura ambiente e depois adicionou-se água gelada (5 ml) e extraiu-se com clorofórmio. Lavou-se a solução clorofórmica com HCl 10%, para eliminar o excesso de piridina e depois com água. Após secagem em sulfato de sódio anidro e evaporação do clorofórmio sob vácuo obteve-se 116 mg de óleo, correspondente a IV-Ac. r.m.n. ^1H (Tab. 9, Fig. IV-8); r.m.n. ^{13}C (Tab. 10, Fig. IV-9 e IV-10).

Canelina $\text{A}_{(\text{Ac})_2}$ (IV-(Ac) $_2$) - derivado diacetilado da canelina A (IV).

Dissolveu-se 20 mg de IV em piridina (2 ml) e adicionou-se anidrido acético (2 ml). Manteve-se a solução em refluxo durante 48 horas. Após a solução fria, procedeu-se como no caso anterior e obteve-se 15,5 mg de óleo correspondente ao derivado diacetilado de IV. r.m.n. ^1H (Tab. 9, Fig. IV-11).

CAPÍTULO 2

GLICERÍDEOS E NEOLIGNANAS DE Osteophloeum platyspermum

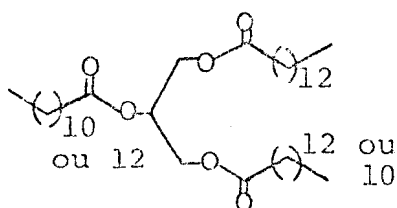
2.1 - Osteophloeum platyspermum e seus constituintes

A planta utilizada para estudo foi classificada por William A. Rodrigues como Osteophloeum platyspermum (A.D.C.) Warburg (Myristicaceae). Esta espécie, a única do gênero, é conhecida popularmente como: Uccuuba Chico de Assis, lacre da mata, uccuuba amarela, uccuuba branca, uccuubarana [31].

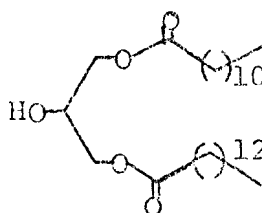
Trata-se de uma árvore grande, com tronco cilíndrico, espesso, que se desenvolve na mata terra firme; ramos novos densamente puberulentos, que passam a glabros; inflorescência masculina pubescente; flores solitárias ou em fascículos irregulares; frutos pedicelados, pericarpo rugoso quando seco; semente elipsóide com arilo aparentemente íntegro; madeira vermelha [31].

O material (60 Kg do fruto) usado para estudo foi coletado por Hipólito Paulino F. Filho em 19/1/79, no entroncamento das estradas das Cabras - Manaus-Humaitã.

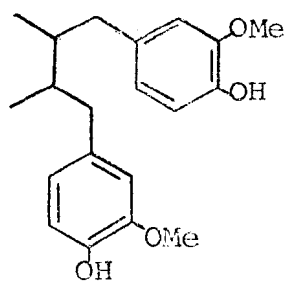
O extrato benzênico do fruto forneceu, além do sítosterol (VIII), um triglicerídeo (Lauro -dimiristato de glicerila, I), um diglicerídeo (1,3-Lauro-miristato de glicerila, II) e cinco neolignanas: ácido dihidroguaiarético (4,4'-dihidroxi-3,3'-dimetoxi-8,8'-lignana, III), um isômero da guaiacina [rel. (7R,8R,8'S)-4,3'-dihidroxi-3,4'-dimetoxi-8.8',7.2'-lignanas, IV]; um isômero da otobafenol [rel. (7R,8R,8'S)-4'-metoxi-3'-hidroxi-3,4-metilenodioxo-8.8',7.2'-lignana, V]; hidroxiotobaina - [rel. (7R,8R,8'S)-3,4-3',4'-dimetilenodioxo-7-hidroxi-8.8',7.2'-lignana, VI] e hidroxioxo-otobaina [rel. (7S,8R,8'R)-3,4-3',4'-dimetilenodioxo-7-hidroxi-7'-oxo-8,8',7.2'-lignana, VII].



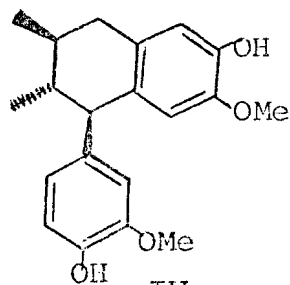
I



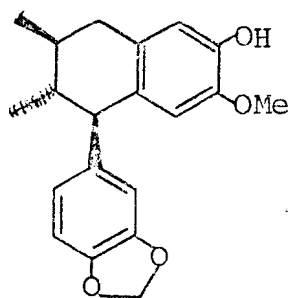
II



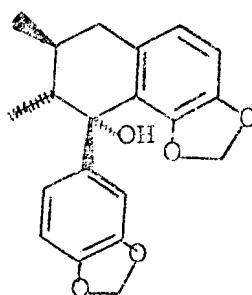
III



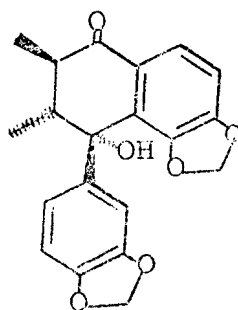
IV



V



VI



VII

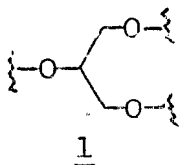
2.2 - Elucidação estrutural dos constituintes da planta.

2.2.1 - Elucidação Constitucional dos Glicerídeos (I e II)

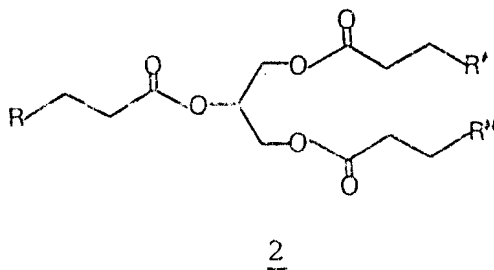
Elucidação Constitucional da Substância I

As absorções que aparecem em 1740, 1174 e 720 cm^{-1} no espectro i.v. da substância I (Fig. I-1) sugeriram tratar-se de éster alifático com número de grupo CH_2 maior do que 4 [2].

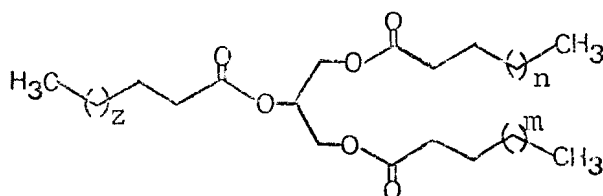
O espectro de r.m.n. ^1H (Fig. I-2, Tab. 1) apresentou um multipletto em 5,32 δ , correspondente a um próton oximetínico, duplo-dubletos em 4,3 δ ($J = 12$ e $J = 6\text{Hz}$) e 4,16 δ ($J = 12$ e $J = 4\text{Hz}$), correspondente a dois prótons carbinólicos cada um, em acordo com a unidade glicerol 1 de um triglicerídeo.



O tripleto em 2,32 δ ($J = 7\text{Hz}$) representa os prótons alfa à carbonila, interagindo com os prótons beta que absorvem em 1,40-1,75 δ (2).



O tripleto em 0,89 δ ($J = 7,0\text{Hz}$) corresponde aos 3 CH_3 terminais e o sinal em 1,28 δ representa os grupos CH_2 restantes (Tab. 1). Assim, tornou-se possível ampliar a formulação parcial 2 para 3.



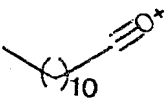
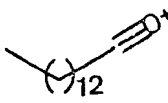
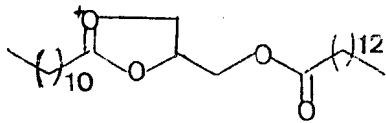
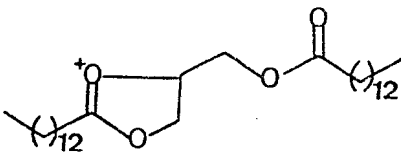
3

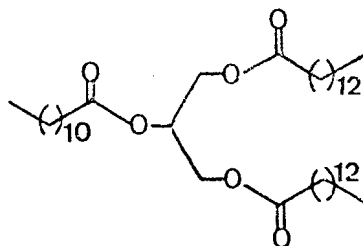
Tab. 1 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância I, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Prótons	δ	feição	[H]	J (H_z)
CH-0	5,32	m	1	
2 CH_2 -0	4,32	dd	2	12,0; 4,0
	4,16	dd	2	12,0; 6,0
3 CH_2 - α	2,32	t	6	7,0
3 CH_2 - β	1,40-1,75	m	6	
$n+m+z$ (CH_2)	1,28	m	56	
CH_3	0,89	t	9	7,0

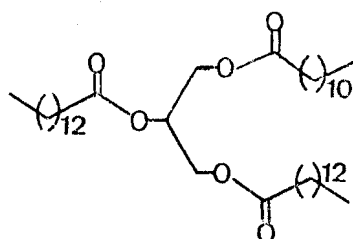
Os picos mais significativos registrados no espectro de massas (Fig. I-5, Esquema I-1) correspondem aos descritos no Quadro 1 [18]. A análise destes dados permitiu propor duas alternativas constitucionais (4 e 5) para a substância I.

Quadro 1 - Fragmentos correspondentes aos picos mais significativos registrados no espectro de massa da substância I.

m/e	%	Fragmentos
183	81,1	
211	99,0	
467	100,0	
495	33,0	

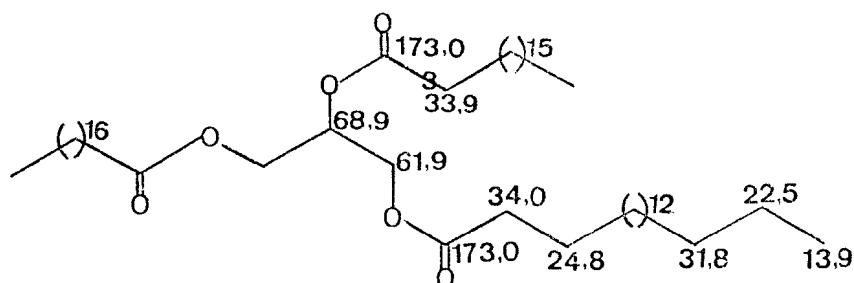


4



5

A análise dos espectros de r.m.n. ^{13}C (Fig. I-3 e I-4, Tab. 2), em comparação com o modelo 6 descrito na literatura [19], apoiou estas deduções.



6

Tab. 2 - Deslocamentos químicos (δ) dos carbonos tri-, di-, mono- e não protonados da substância I, CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna (25,2 MHz).

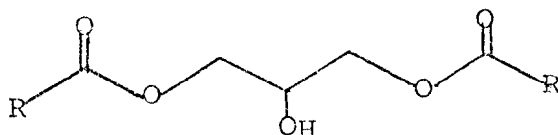
Carbono	CH_3	CH_2	CH	C
$-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-\text{R}$				172,9
CH-O			68,9	
CH_2-O		62,1		
$\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CH}_3$		32,0		
$\text{CH}_2-\alpha$		34,1		
$\text{CH}_2-\beta$		25,0		
$(\text{CH}_2)_n$		29,7		
		29,4		
		29,2		
CH_2-CH_3		22,8		
CH_3	14,1			

Para decidir entre as duas alternativas 4 e 5 pode-se submeter a substância a hidrólise parcial, para obter produtos com grupamento $-\text{CH}_2\text{OH}$. A análise deste produto por r.m.n. e espectrometria de massa permitirá definir a constituição da substância natural.

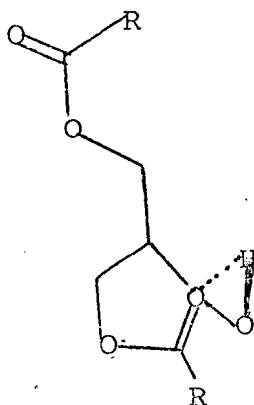
2.2.2 - Elucidação Constitucional da Substância II

As absorções do espectro i.v. em 3450 (OH), 1730 e 1190 (COOR) e 720 $[(\text{CH}_2)_n]\text{cm}^{-1}$ (Fig. II-1) sugeriram tratar-se de um glicerídeo possuindo um grupo hidroxila [2]. A presença do grupo hidroxila foi confirmada por reação de acetilação com anidrido acético em presença de piridina. O espectro i.v. (Fig. II-2) revelou o desaparecimento do sinal em 3450 cm^{-1} correspondente ao estiramento do grupo OH.

A comparação do espectro de r.m.n. ^1H (Fig. II-3, Tabela 3) com o da substância I (Fig. I-2, Tabela 1) revelou a ausência do multiplete em 5,32 δ correspondente ao C-H metínico, surgindo a formulação parcial 7.



Aliás, o sinal do espectro i.v. (Fig. II-1) em 1690 cm^{-1} colabora com esta dedução, já que esta absorção pode ser atribuída a estiramento de carbonila envolvida em ponte de hidrogenio, provavelmente intramolecular em heptanel (7a).



7a

A análise do espectro de r.m.n.¹H do derivado acetilado (Fig. II-4, Tab. 3) confirmou esta dedução:

a) o multipletto do próton oximetínico aparece em $5,25\delta$, revelando deslocamento paramagnético em torno de $1,25\delta$.

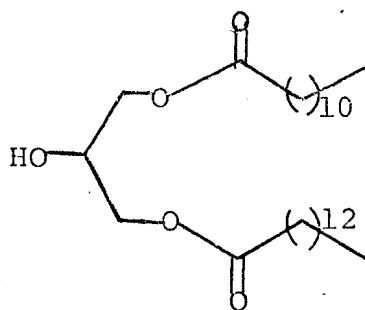
b) a presença do singletto em $2,08\delta$, correspondente ao grupo CH_3 do grupo acetila.

c) a presença de duplo dubleto em $4,14\delta$ ($J = 12$ e $J = 6,0\text{ Hz}$) e $4,28\delta$ ($J = 12$ e $J = 4,0\text{ Hz}$), correspondentes aos prótons dos grupos $-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{R}$.

Tab. 3 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância II, CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

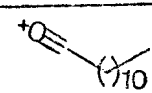
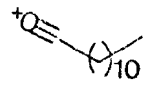
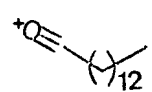
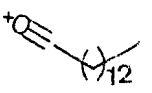
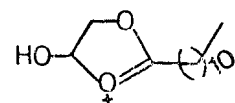
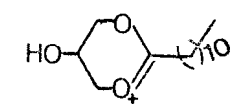
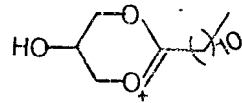
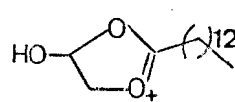
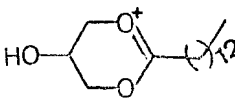
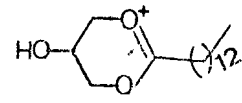
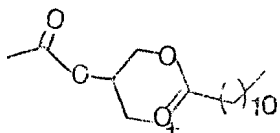
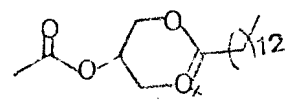
Prótons	II				II-Ac			
	δ	feição	[H]	J(H_z)		feição	[H]	J(H_z)
CH-O	4,0-4,3	m	1		5,25	≈q	1	
CH ₂ -O	4,0-4,3	m	4		4,12	dd	2	12,0; 6,0
	-	-	-		4,28	dd	2	12,0; 4,0
CH ₂ -α	2,35	t	4	7,0	2,3	t	4	7,0
CH ₂ -β	1,4-1,7	m	4		1,4-1,7	m	4	
(CH ₂) _x	1,1-1,4	m	-		1,2-1,35	m	-	
CH ₃	0,9	t	6	7,0	0,9	t	6	7,0
OH	indet.			-	-	-	-	-
H ₃ C-C=O	-	-	-	-	2,08	s	3	-

A interpretação dos picos mais significativos que aparecem nos espectros de massa (Figs. II-5 e II-6, Quadro 2, Esquemas II-1 e II-2) permitiu deduzir a constituição 8 para a substância II.



8

Quadro 2 - Fragmentos correspondentes aos picos mais significativos registrados nos espectros de massa da substância II e do derivado acetilado (II-Ac).

m/e	II		II-Ac	
	%	Fragmento	%	Fragmento
183	32		30	
211	45		41	
243	13		—	—
257	18		7	
271	18		—	—
285	20		13	
299	—	—	35	
327	—	—	55	

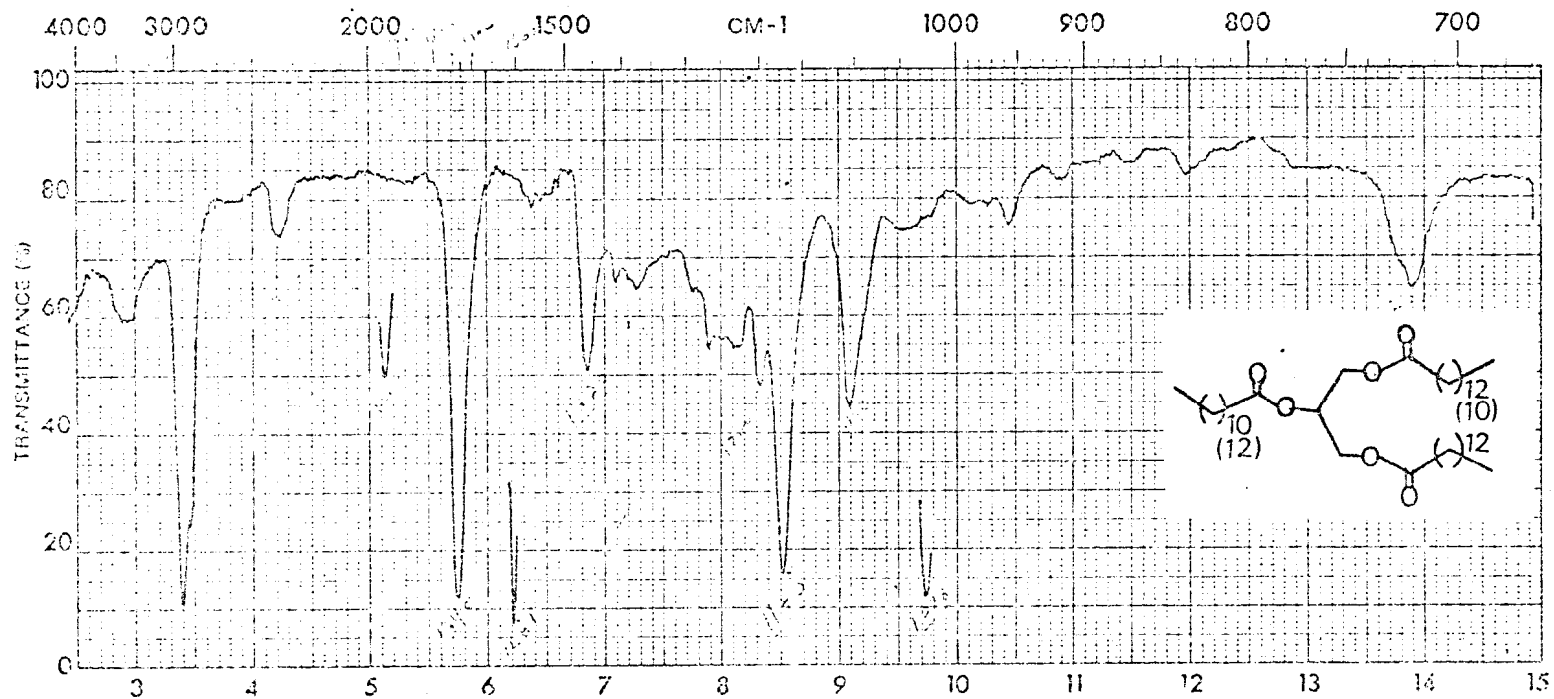


Fig. I-1 - Espectro i.v. da substância I em KBr

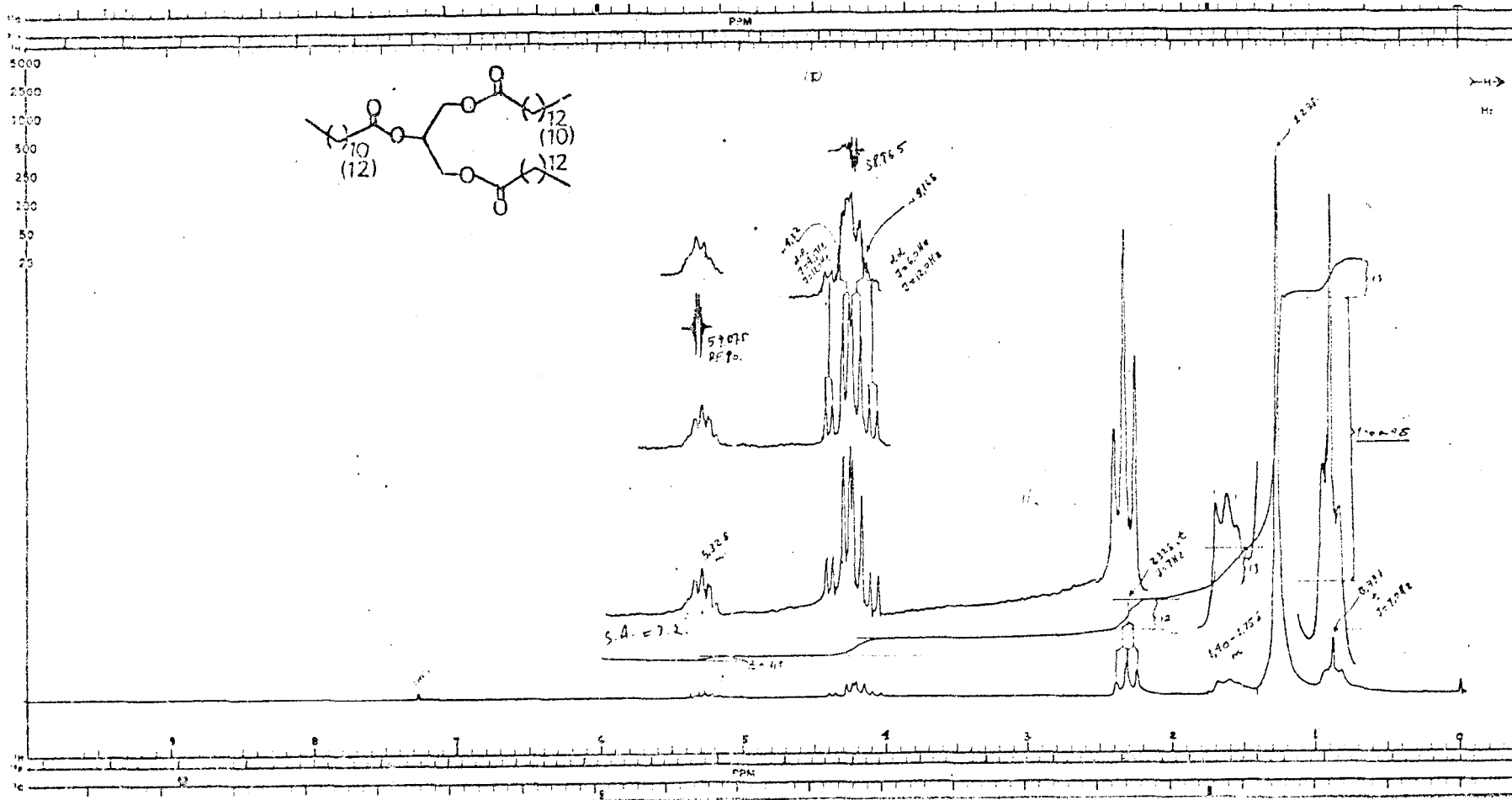


Fig. I-2 - Espectro de r.m.n. ^1H da substância I, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

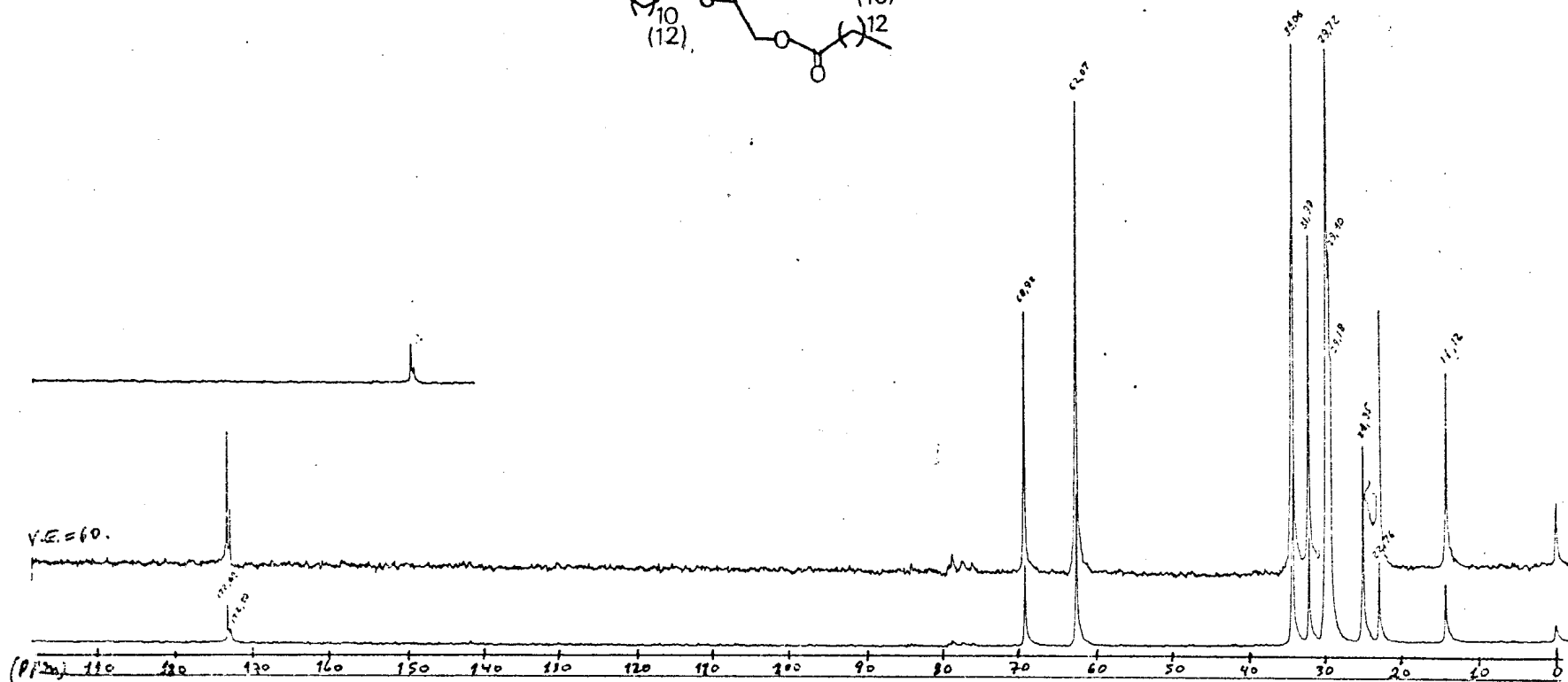
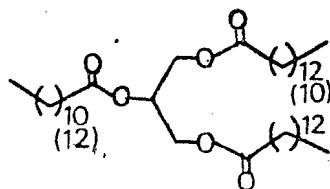


Fig. I-3. Espectro de r.m.n. ^{13}C totalmente desacoplado, da substância I em CDCl_3 e TMS como referência interna.

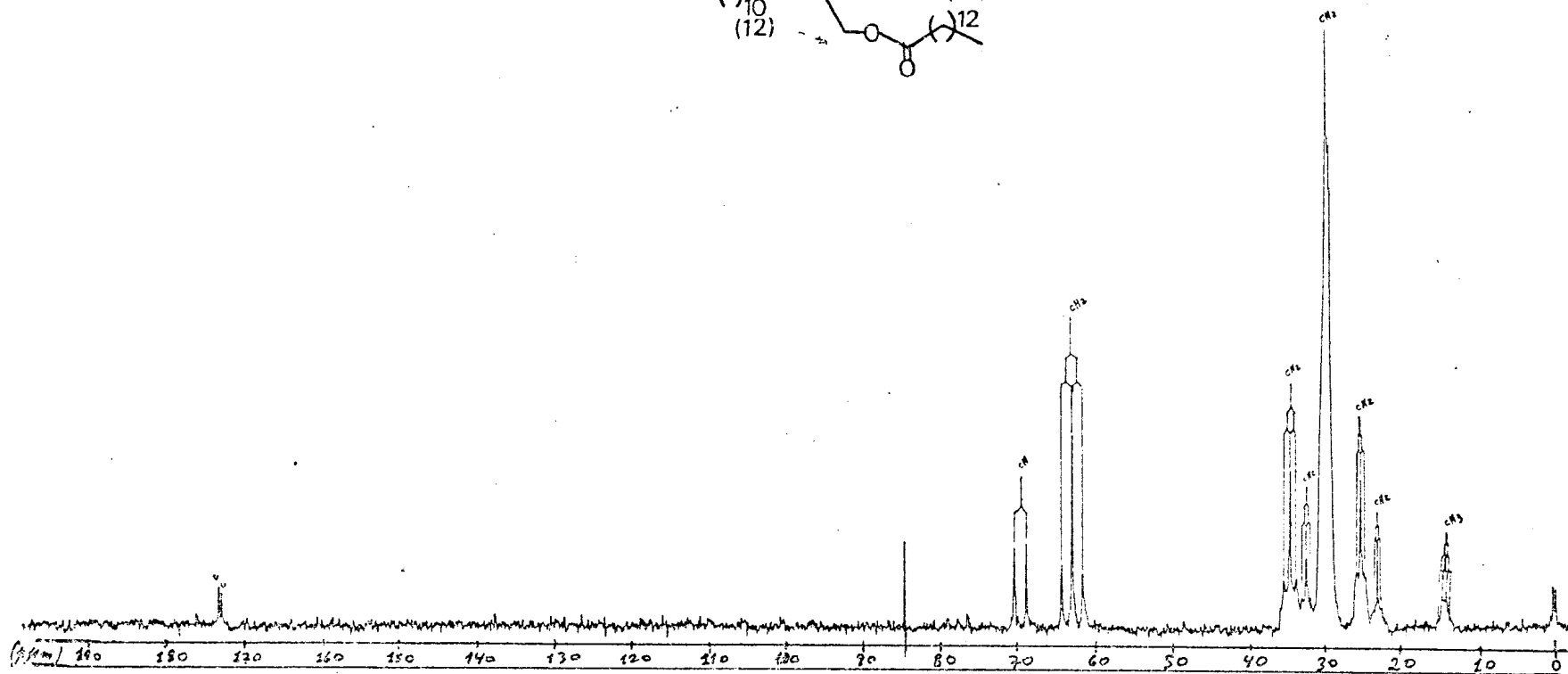
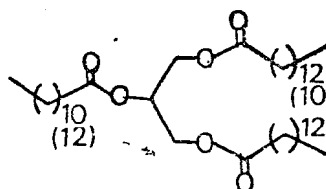


Fig. I-4 • Espectro de r.m.n. ^{13}C com acoplamento residual, da substância I em CDCl_3 e TMS como referência interna.

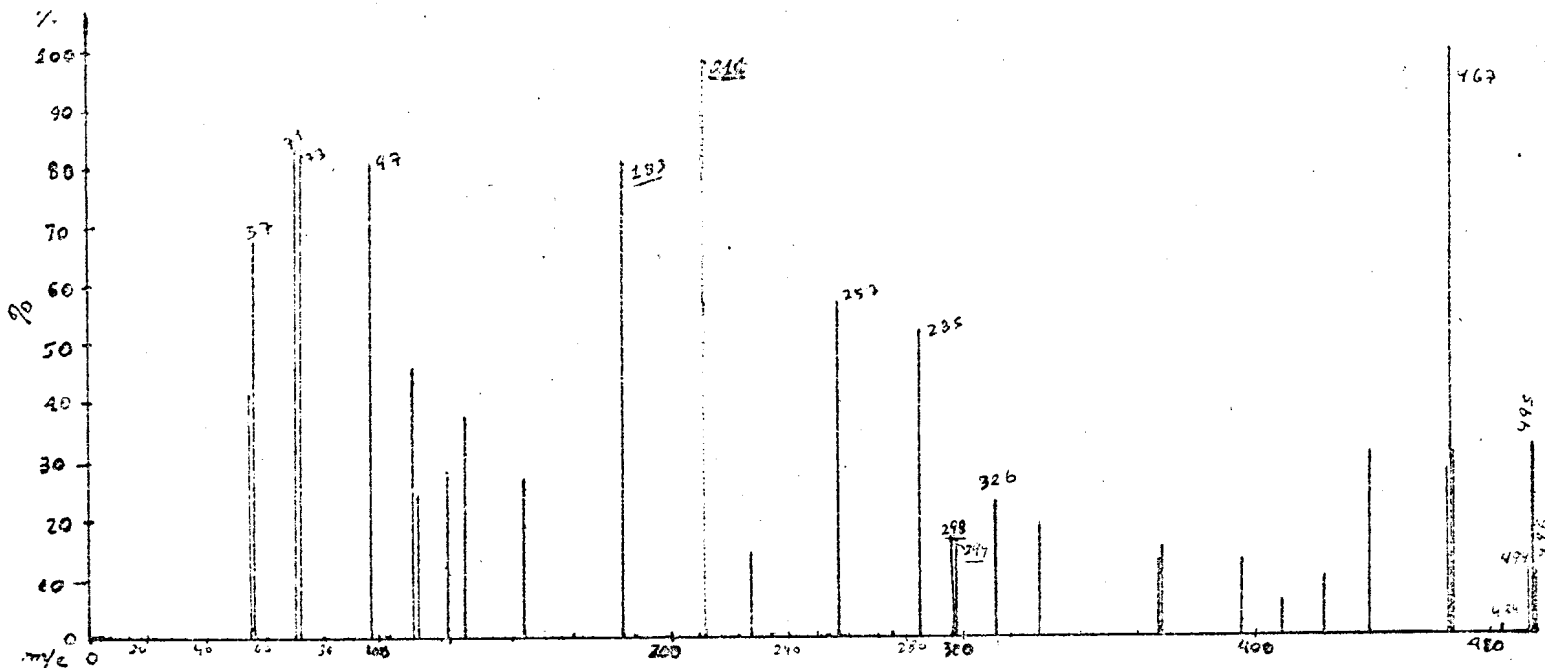
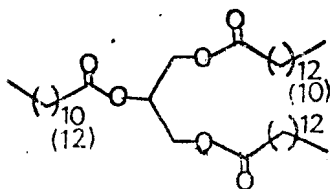
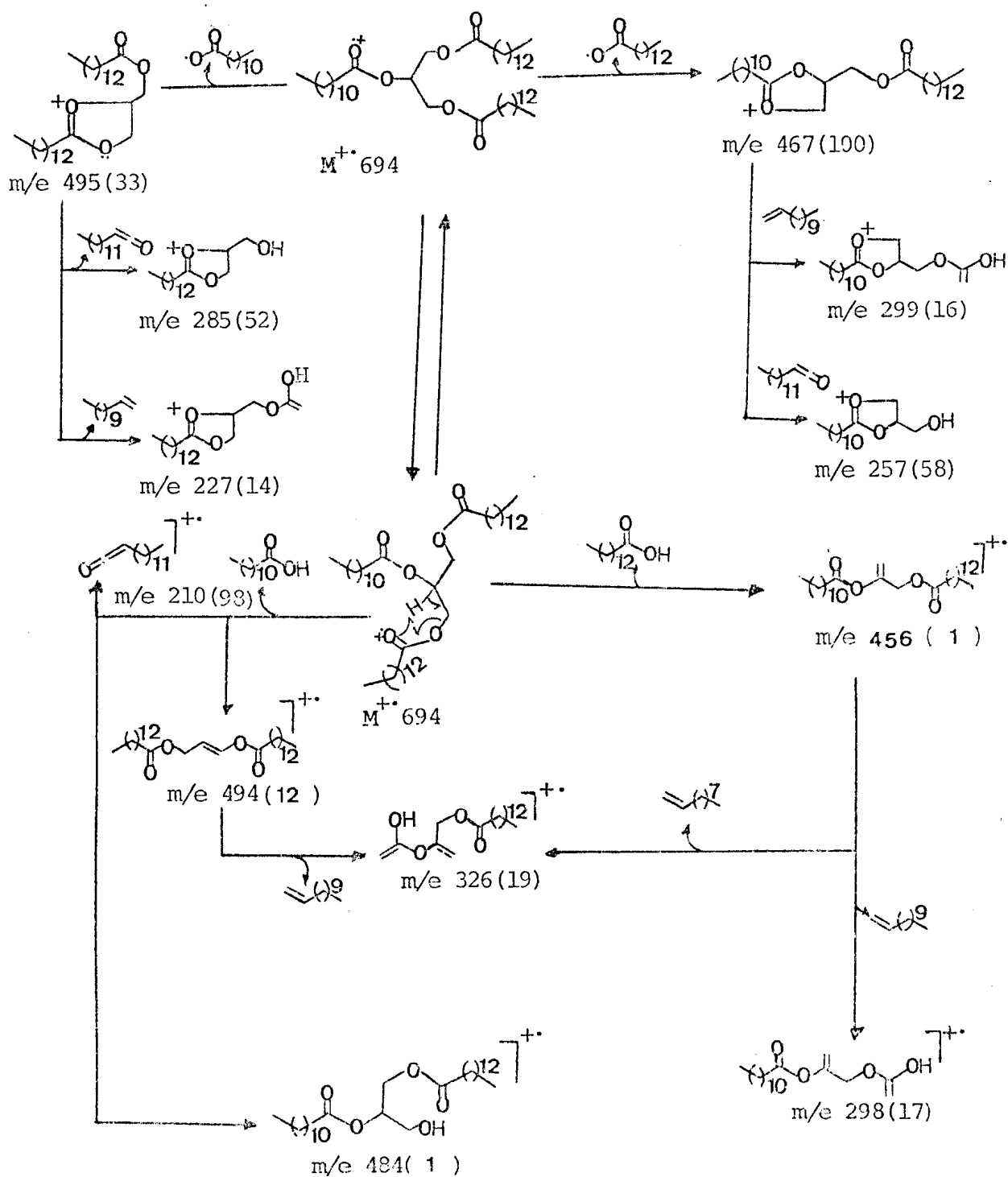


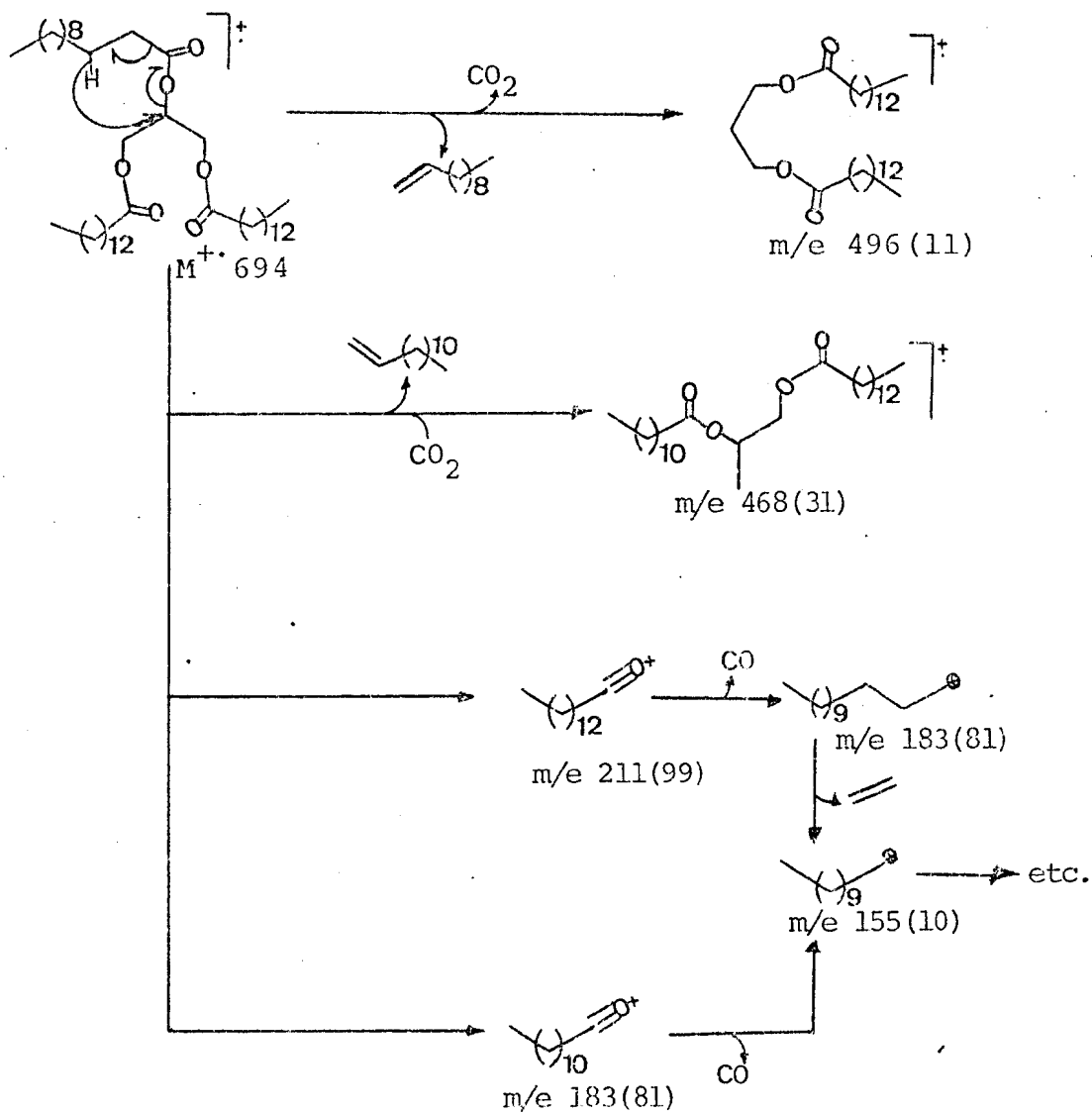
Fig. I-5 • Espectro de massa da substância I

Esquema I-1. Interpretação do espectro de massa da substância I



Continua...

Esquema I-1. (continuação)



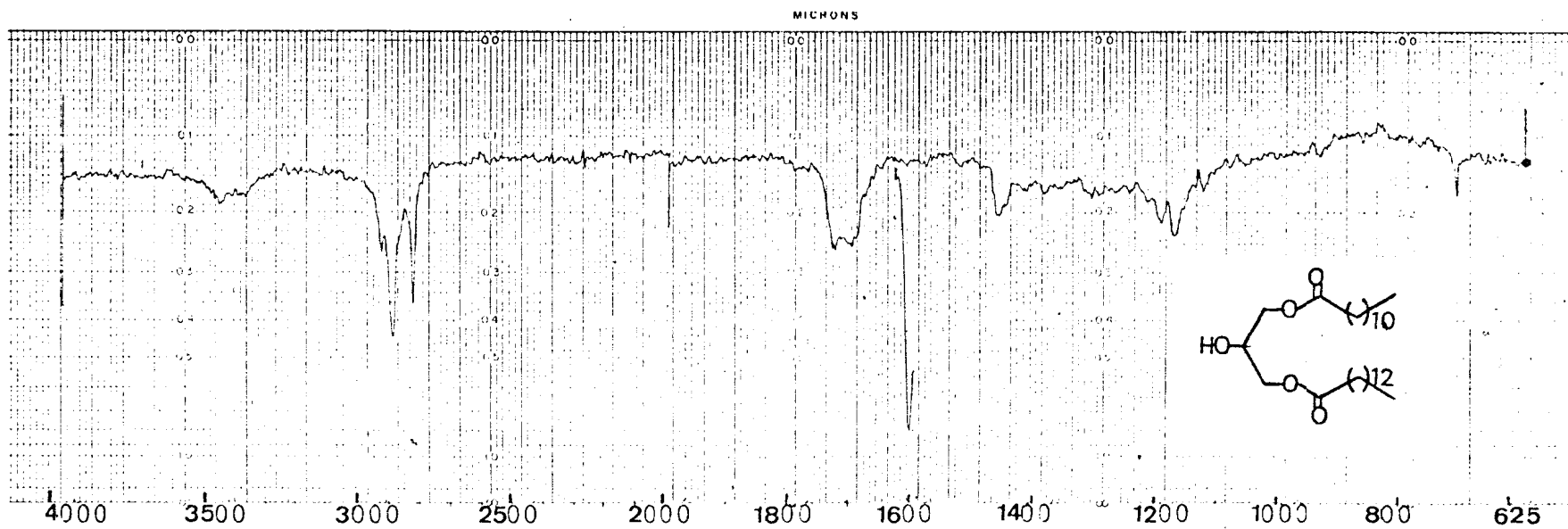


Fig. II-1 • Espectro i.v. da substância II em KBr.

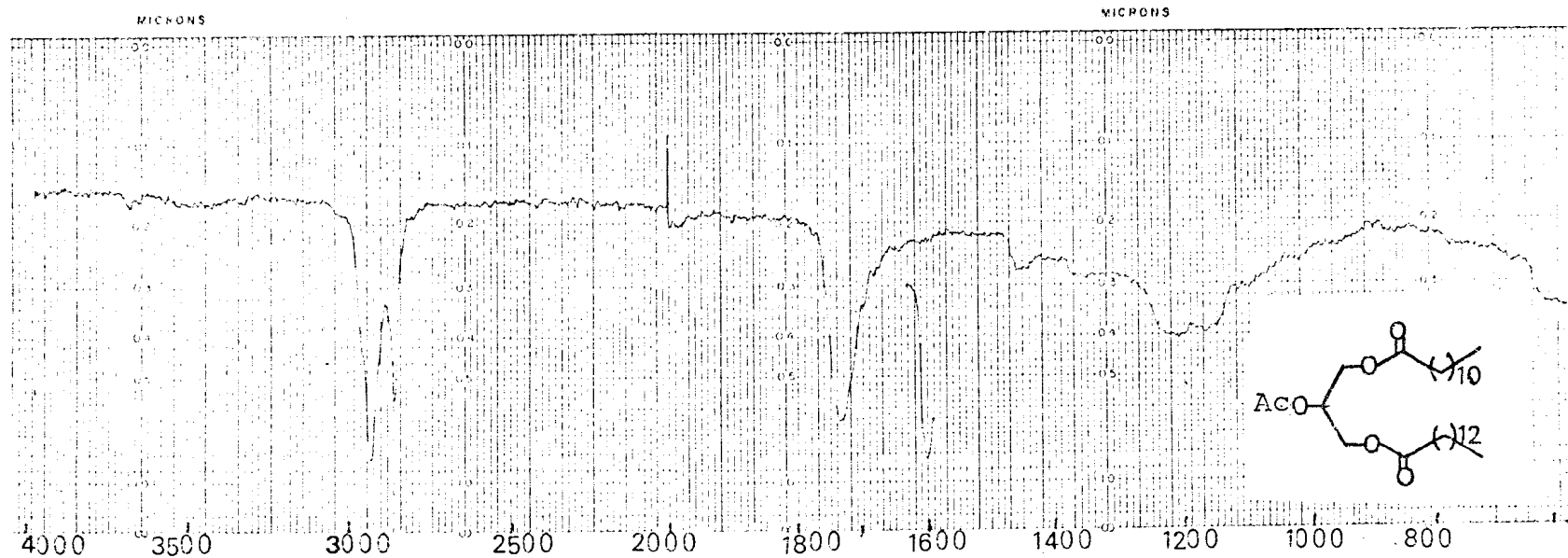


Fig. II-2 • Espectro i.v. do derivado acetilado da substância II, filme.

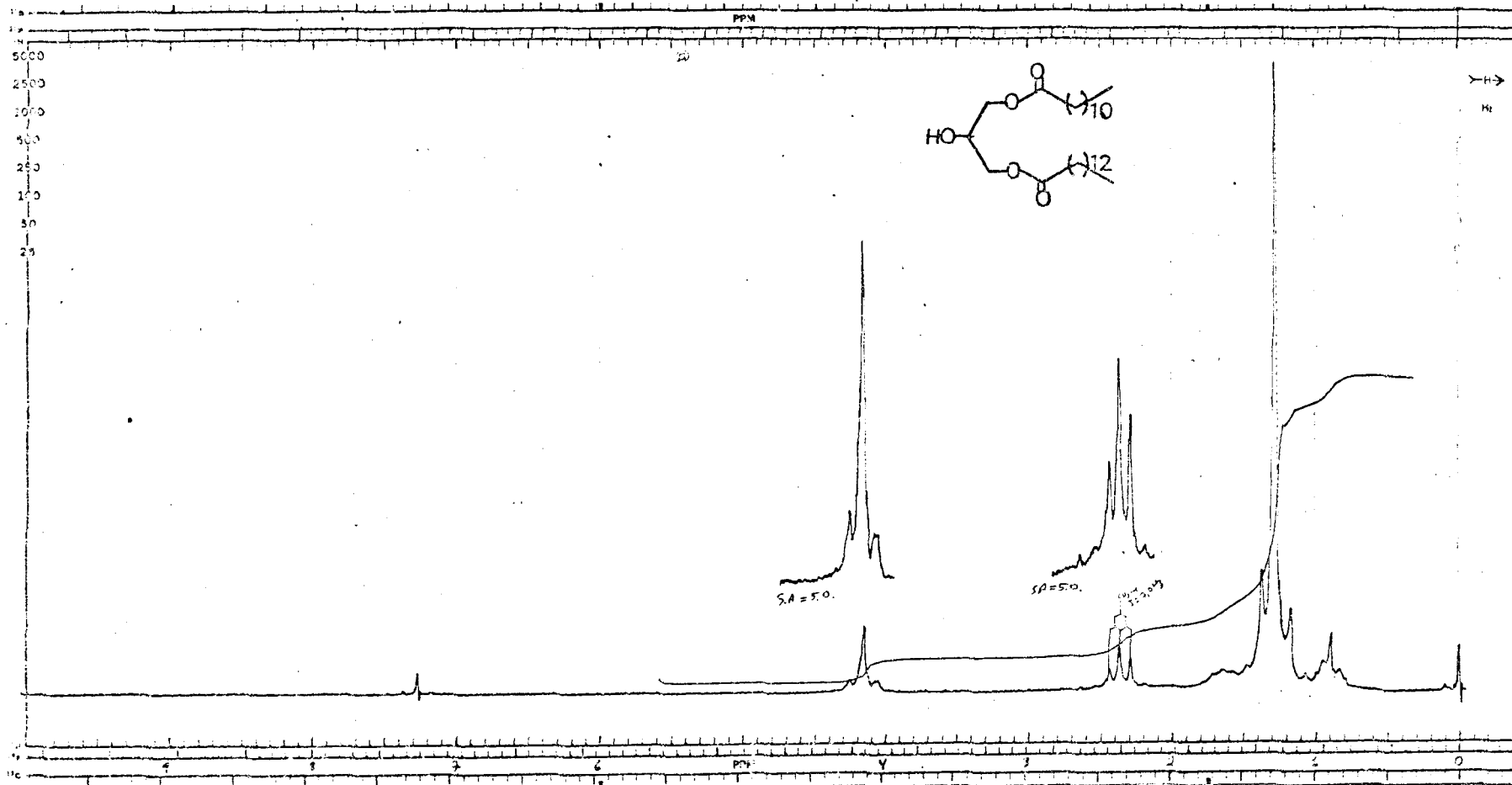


Fig. II-3 • Espectro de r.m.n.¹H da substância II em CDCl₃ e TMS como referência interna.

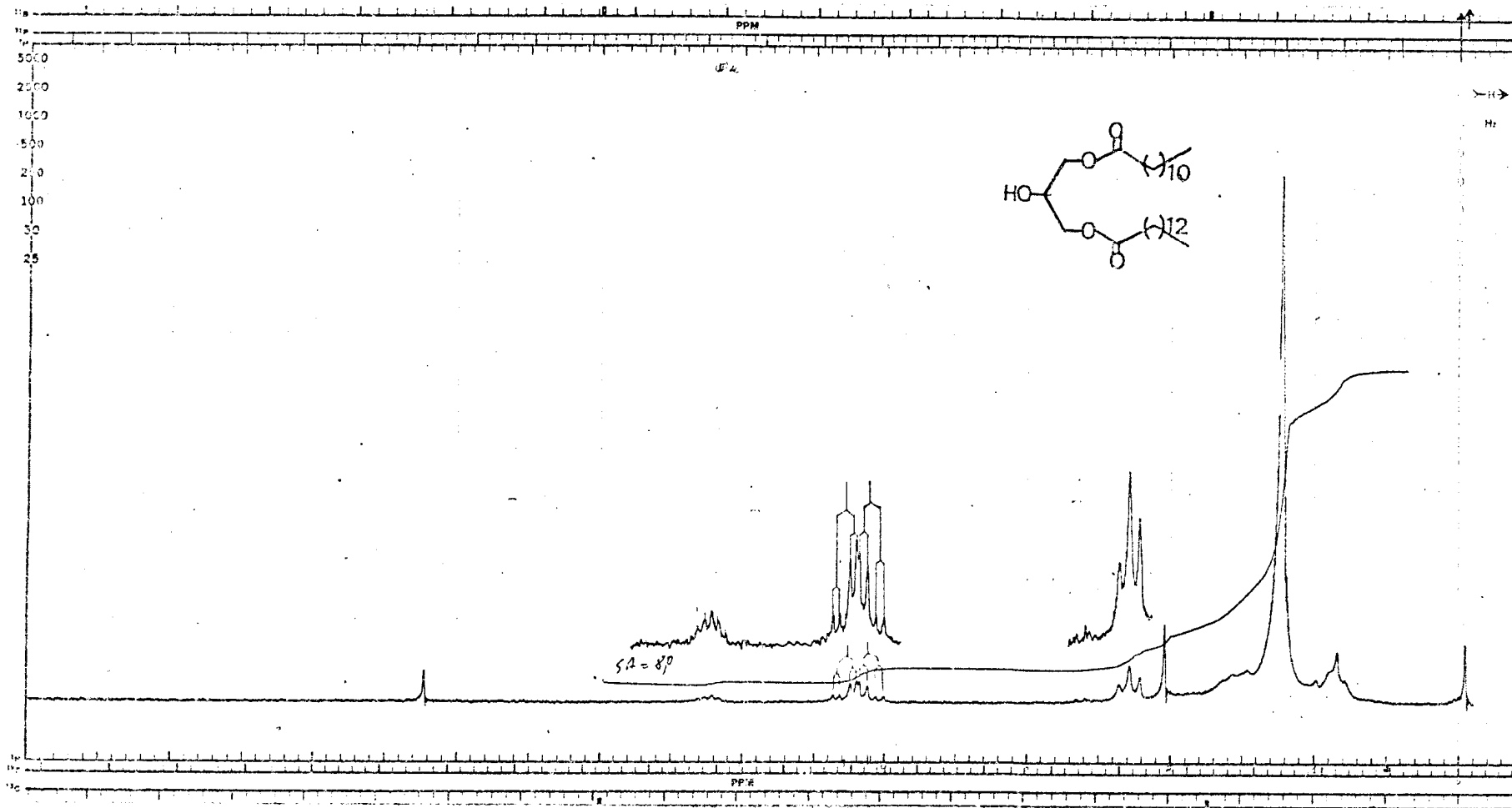


Fig. II-4 • Espectro de r.m.n. ^1H do derivado acetilado da substância II em CDCl_3 e TMS como referência interna.

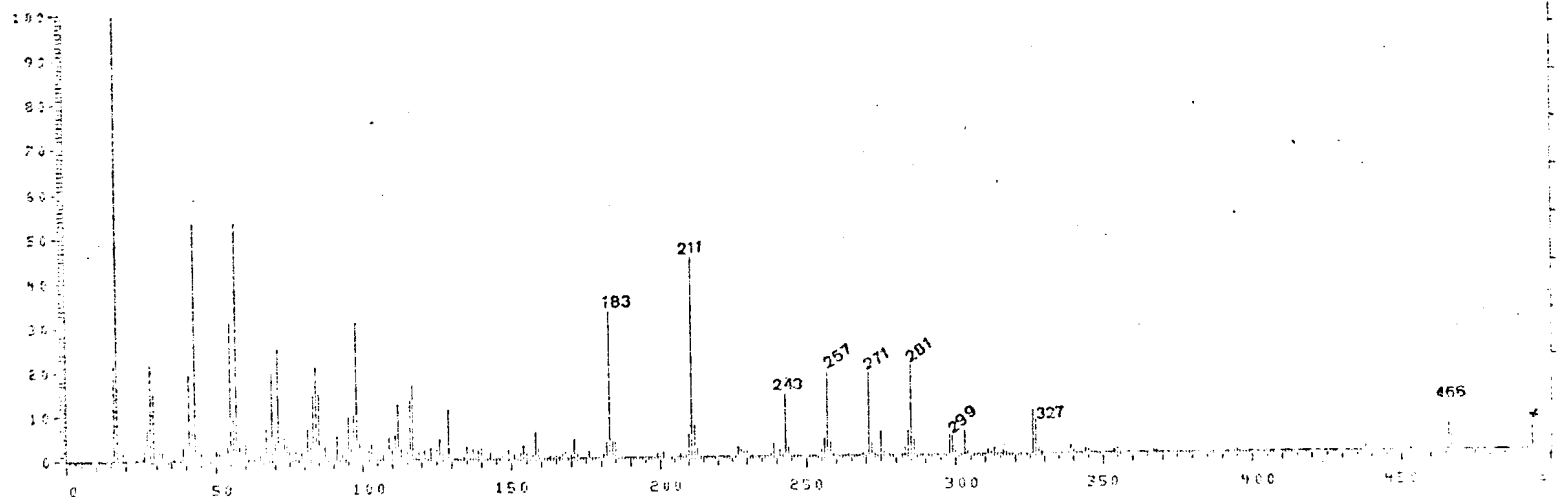
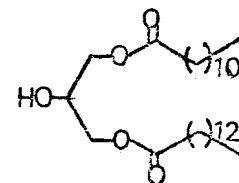


Fig. II-5 • Espectro de massa da substância II

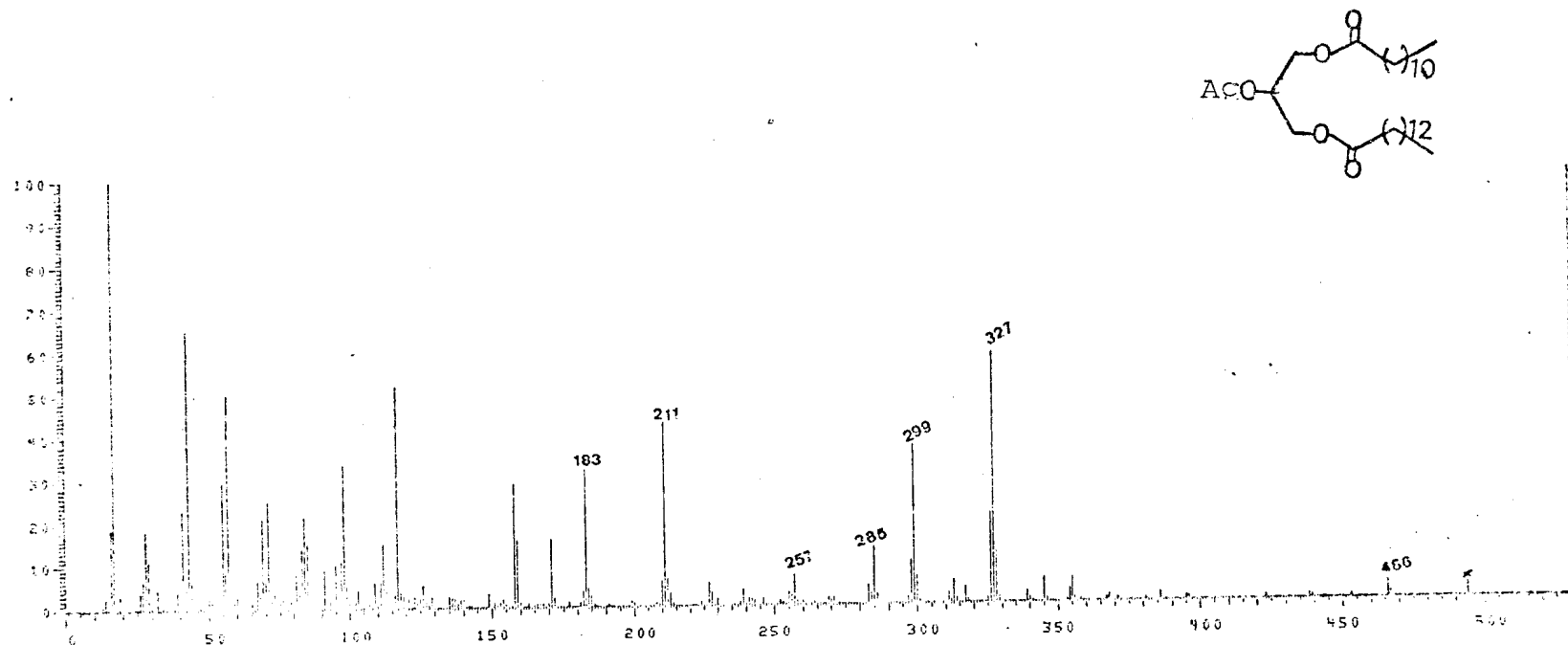
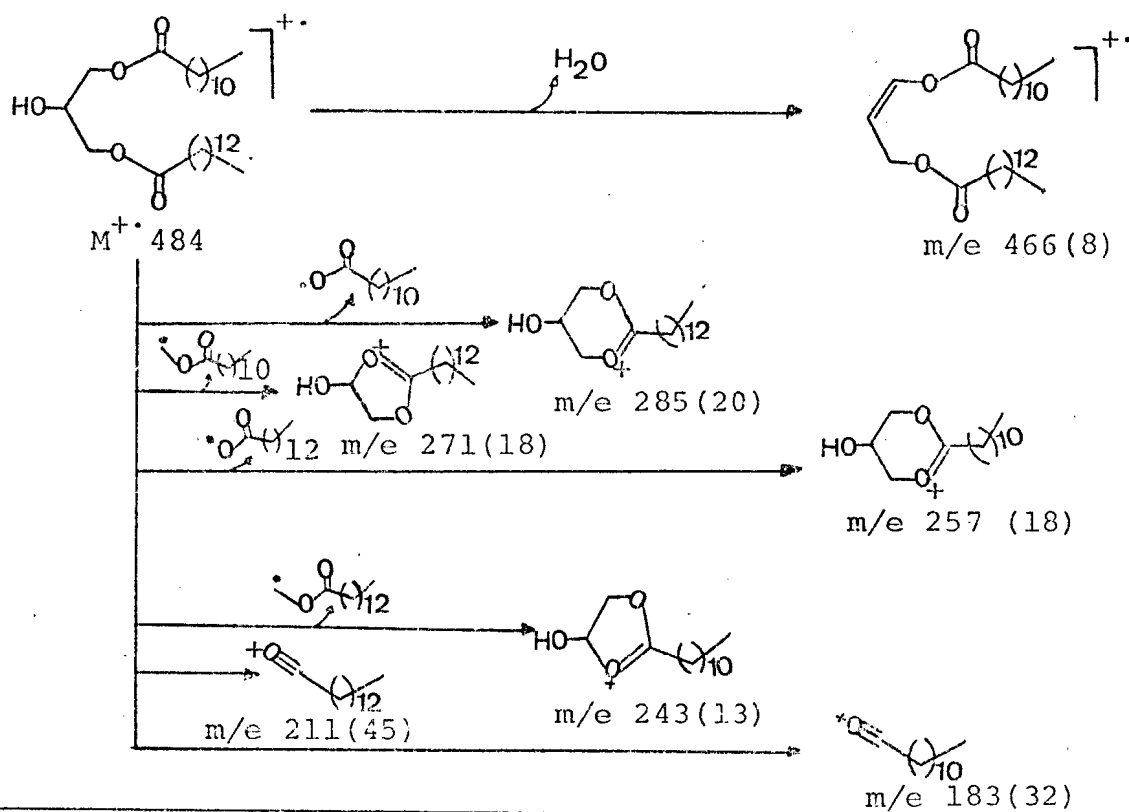
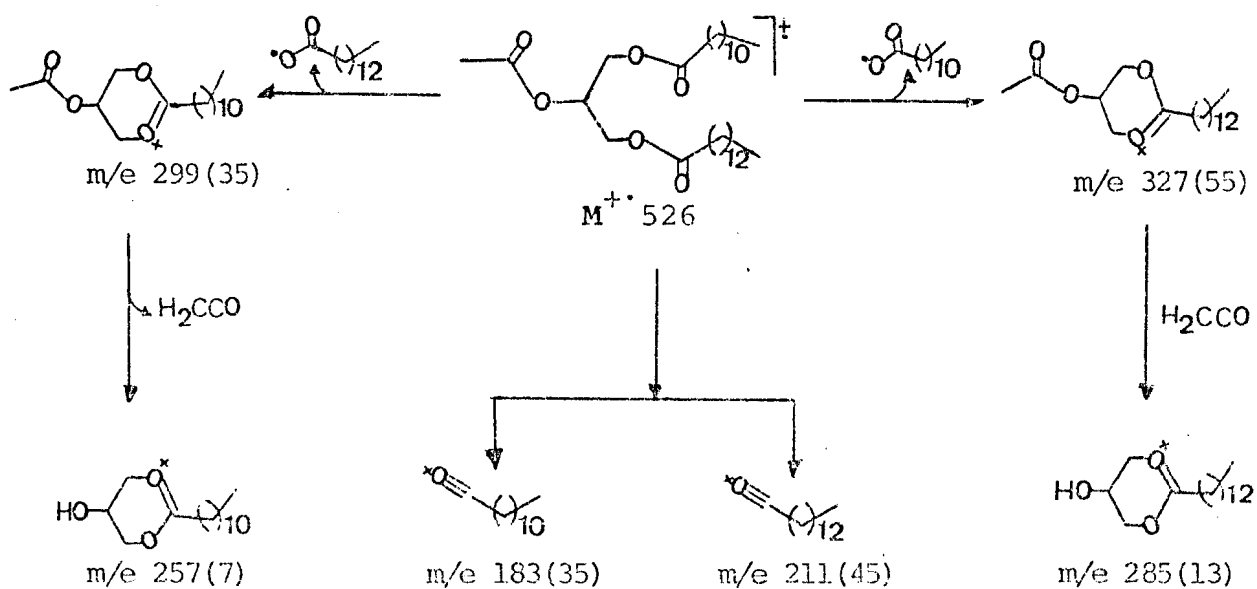


Fig. II-6 • Espectro de massa do derivado acetilado da substância II

Esquema II-1. Interpretação do espectro de massa da substância II.



Esquema II-2. Interpretação do espectro de massa do derivado acetilado da substância II (II-Ac).



2.2.3 - Elucidação constitucional da substância III

Os espectros de r.m.n. ^{13}C da substância III (Figs. III-6 e III-7) permitiram assinalar o número de átomos de carbono mono-, di-, tri- e não protonados, com base na comparação de espectros totalmente desacoplado (Fig. III-7) e com acoplamento residual (Fig. III-6, Tab. 4). Estes dados permitiram deduzir a formulação parcial $(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)(\text{CH})_4\text{C}_3(\text{OCH}_3)$ que, em conjunto com os dados de i.v. (Fig. III-2, Tab. 5) e u.v. (Fig. III-1), que sugeriram a presença de hidronila fenólica, permitiram ampliar esta formulação para $(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)(\text{CH})_4\text{C}_3(\text{OCH}_3)(\text{OH})$.

Tab. 4 - Valores dos deslocamentos químicos em ppm (δ) dos carbonos da substância III, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

CH_3	CH_2	CH	C
14,2	40,6	36,8	133,9
56,0 (OCH_3)		112,0	144,9
		114,0	146,2
		122,0	
<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
$\text{CH}_3(\text{OCH}_3)$	CH_2	$(\text{CH})_4$	C_3

A análise do espectro no i.v. (Fig. III-2) de III permitiu ainda as deduções [2] descritas na Tab. 5.

Tab. 5 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro na região i.v. da substância III.

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$	Grupos funcionais
3440	νOH
2980-2940	$\nu\text{C-H} (\text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{CH}_2, \text{etc})$
1600	} Aromático
1520	
1450	
1270-1040	$\nu\text{C-O}$

O espectro de massa (Fig. III-10, Esquema III-1) forneceu pico molecular em m/e 330, correspondente a duas vezes a massa da formulação parcial acima descrita, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$, ou seja $\text{C}_6(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_2)_2(\text{CH})_8(\text{OCH}_3)_2(\text{OH})_2$. O número de átomos de hidrogênio foi confirmado por r.m.n.¹H (Fig. III-4, Tab. 6).

Subtraindo-se os átomos de carbono de duas metoxilas restam 18 átomos de carbono, podendo corresponder a um esqueleto básico lignoide dimérico ($\text{C}_6\text{C}_3 + \text{C}_6\text{C}_3$).

O espectro u.v. (Fig. III-1) desta substância $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 234 (ϵ 3560), 280 (ϵ 3760) apresentou deslocamento batocrômico quando adicionou-se hidróxido de sódio, sugerindo presença de hidroxila fenólica. O espectro não revelou alteração após adição de ácido bórico e acetato de sódio, o que está em acordo com a ausência de sistema orto-dihidroxilado.

O espectro de r.m.n.¹H da substância III (Fig. III-4, Tab. 6) confirmou a natureza neolignânica, com designação 8.8'

Tab. 6 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons das substâncias III e III-Ac, CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

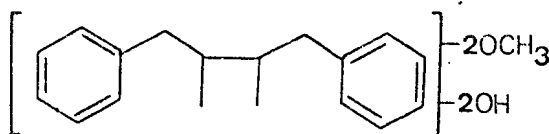
Prótons *	III				III-Ac			
	δ	feição	H	J (H_3)	δ	feição	H	J (H_3)
Me-9 e 9'	0,80	d	6	7,0	0,88	d	6	7,0
H-8 e 8'	1,6-1,8	m	2		1,6-1,9	m	2	
H-7 e 7'	2,36	dd	2	14,0 e 6,0	2,3-2,7	m	4	-
	2,5	dd	2	14,0 e 6,0				
OCH_3	3,78	s	6	-	3,8	s	6	-
OH	5,48	s(l)	2	-	-	-	-	-
H-5 e H-5'	6,77	d	2	8,0	6,92	d	2	8,0
H-6 e H-6'	6,56	dd	2	8,0 e 2,0	6,6-6,75	m	2	
H-2 e H-2'	6,54	d	2	8,0	6,6-6,75	m	2	
$\text{H}_3\text{C-C}^{\text{O}}$	-	-	-	-	2,3	s	6	-

* A numeração utilizada foi baseada na origem biogenética [1].

[1], conforme revelam os seguintes dados (Tab. 6):

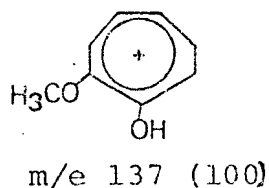
- os grupos metila (CH_3 -9 e CH_3 -9') estão representados por um único dubleto em $0,8\delta$ ($J = 7,0\text{Hz}$);
- a presença de um multipeto em $1,20$ a $1,90\delta$, correspondente a dois prótons metínicos;
- dois duplo dubletos em $2,36\delta$ ($J = 14$ e $J = 6\text{Hz}$) e $2,50\delta$ ($J = 14$ e $J = 6,5\text{Hz}$) correspondentes a quatro prótons benzílicos.

Os dados discutidos permitiram estabelecer a formulação parcial 8.

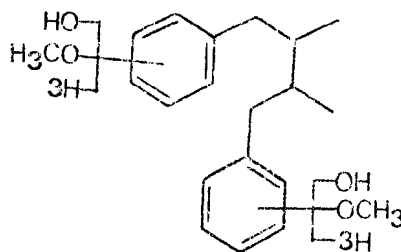


8

A presença do pico em m/e 137, com abundância relativa 100% (pico base), no espectro de massa (Fig. III-10, Esquema III-1), correspondente ao fragmento 9, permitiu deduzir que os dois anéis aromáticos são idênticos, sustentando uma hidroxila e uma metoxila cada um (10).



9

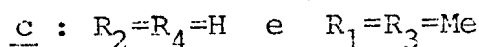
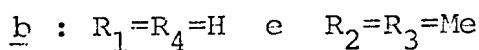
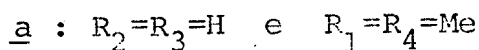
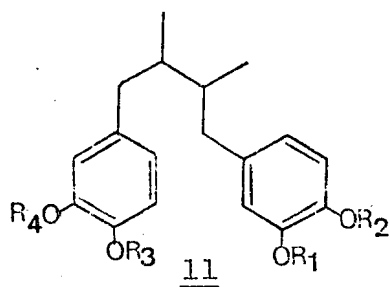


10

A presença das duas hidroxilas fenólicas foi confirmada pela comparação dos espectros de massa da substância original (Fig. III-10) e do derivado acetilado (Fig. III-11).

O espectro de massa do derivado acetilado (Fig. III-11, Esquema III-2) revelou o pico correspondente ao ion molecular em m/e 414, peso molecular 84 u.m.a. maior do que o de III (M^+ 330, Fig. III-10).

Os deslocamentos químicos e as feições dos sinais correspondentes aos prótons aromáticos no espectro de r.m.n.¹H (Fig. III-4, Tab. 6) permitiram sugerir três alternativas estruturais (11a-c).



A estrutura 11a foi considerada mais provável pelos seguintes argumentos:

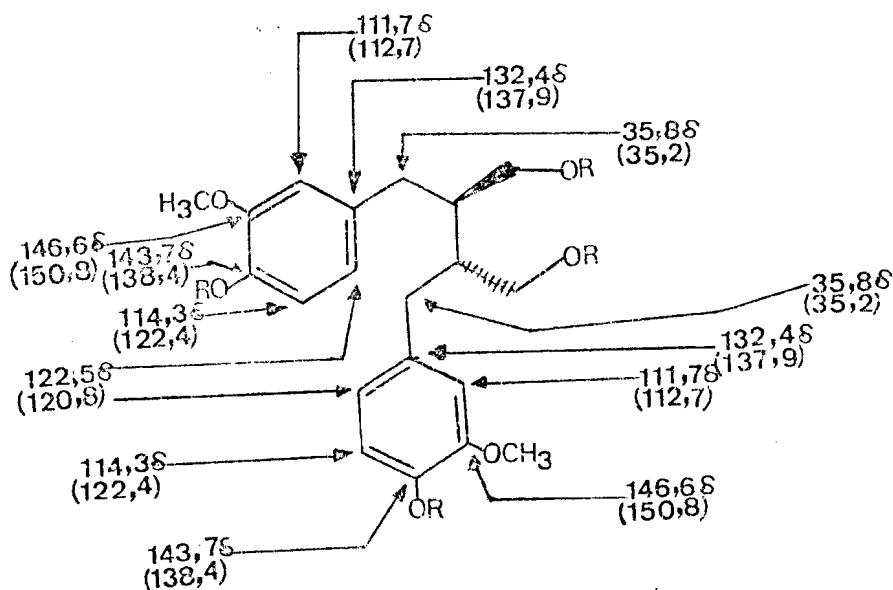
- Biogeneticamente [9] a hidroxila localiza-se preferencialmente em posição para à cadeia lateral.
- O sinal dos prótons H-5 e H-5' ($J = 8\text{Hz}$) no espectro de r.m.n.¹H do derivado acetilado (Fig. III-5, Tab. 6) apresentou deslocamento paramagnético de 0,15 ppm, em acordo com a localização em posição orto a grupo OH.
- O sinal dos carbonos 5 e 5' no derivado acetilado sofreu deslocamento paramagnético de 8,1 ppm (Fig. III-8 e III-9, Tab. 7), em comparação com a substância original (Fig. III-6 e III-7, Tab. 7), devido a atenuação do efeito mesomérico doador de elétrons do átomo de oxigênio ligado ao sistema aromático.

d) Outro dado em favor da estrutura 11a como mais provável originou do deslocamento diamagnético do sinal dos carbonos 4 e 4' do derivado acetilado (Fig. III-8 e III-9, Tab. 7), deduzido da comparação do deslocamento químico destes carbonos com os da substância original III (Fig. III-6 e III-7, Tab. 7). A proteção observada decorre da presença do CH₃ e do oxigênio da carbonila do grupo acetoxila, originando efeito γ (proteção).

Tab. 7 - Deslocamentos químicos dos carbonos, em ppm (δ), de III e do derivado acetilado (III-Ac), 25,2 MHz (CDCl₃) e TMS como referência interna.

Carbonos	CH ₃		CH ₂		CH		C	
	III	III-Ac	III	III-Ac	III	III-Ac	III	III-Ac
1,1'							133,9	140,2
2,2'					112,0	113,2		
3,3'							146,2	150,7
4,4'							144,9	138,0
5,5'					114,0	122,1		
6,6'					122,0	121,0		
7,7'			40,6	41,3				
8,8'					36,8	37,4		
9,9'	14,2	14,0						
OCH ₃ (3 e 3')	56,0	55,8						
Ac{ -O-C-O CH ₃		20,4						168,7

A atribuição dos deslocamentos dos átomos de carbono de III envolveu comparação com o modelo 12 descrito na literatura [20].



12

R = H

R = H₃C-C(=O)- ()

A estrutura lla proposta para III corresponde ao ácido dihidroguaiarético, obtido pela primeira vez por F.E. King e J. G. Wilson [21] através da hidrólise do ácido acetildihidroguaiarético, isolado da madeira do tronco da Guaiacum officinale L..

P.L. Majunder, A. Chatterjee e G.C. Sengupta [22] isolaram o ácido dihidroguaiarético em pequena quantidade, ao lado de outras lignanas, da casca da Machilus edulis King (Lauraceae).

A comparação com dados descritos na literatura está em acordo com a identidade das duas substâncias.

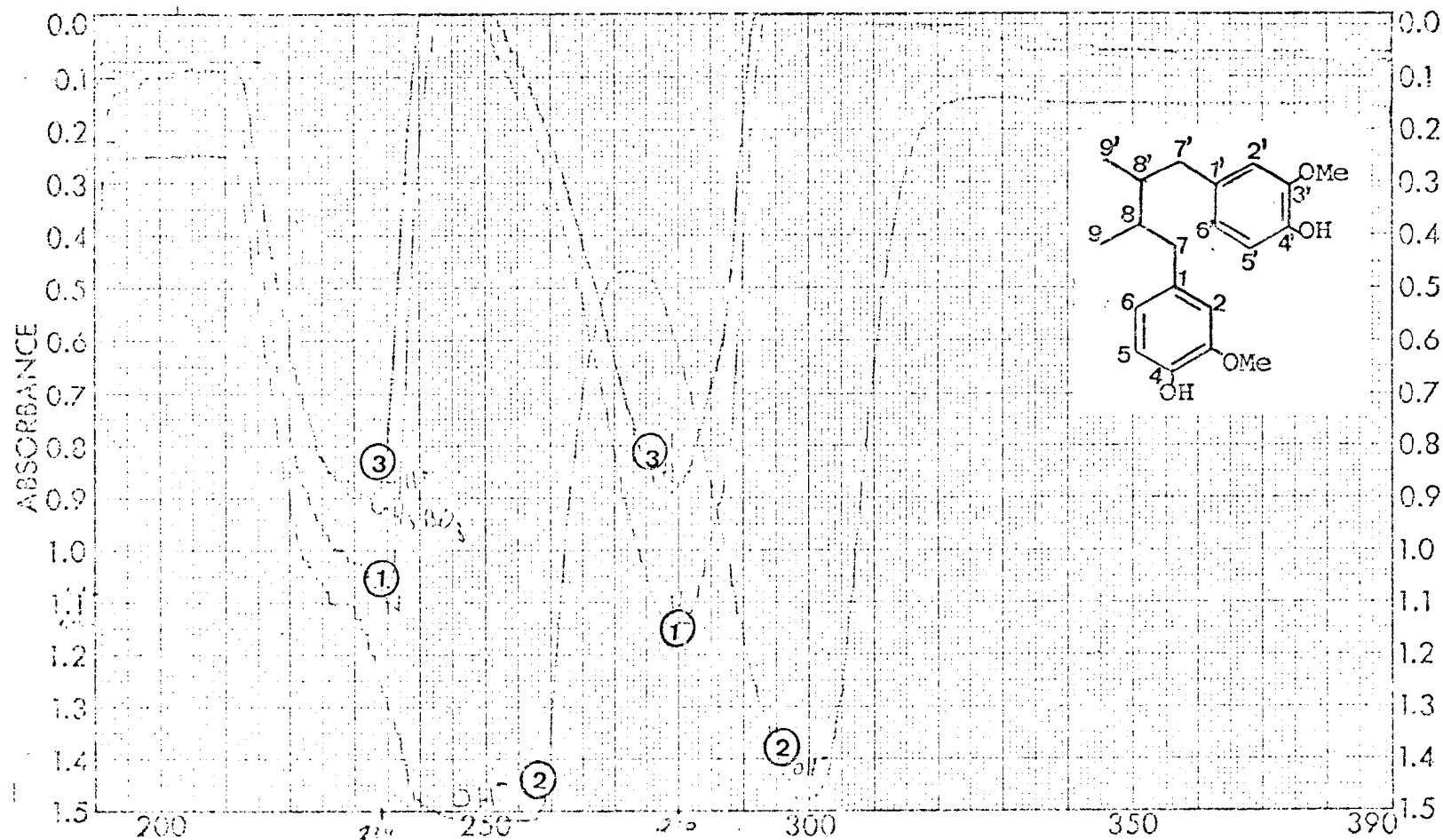


Fig. III-1 . Espectro u.v. da substância III em EtOH (1), e com aditivos NaOH (2) e AcONa + ácido bórico (3).

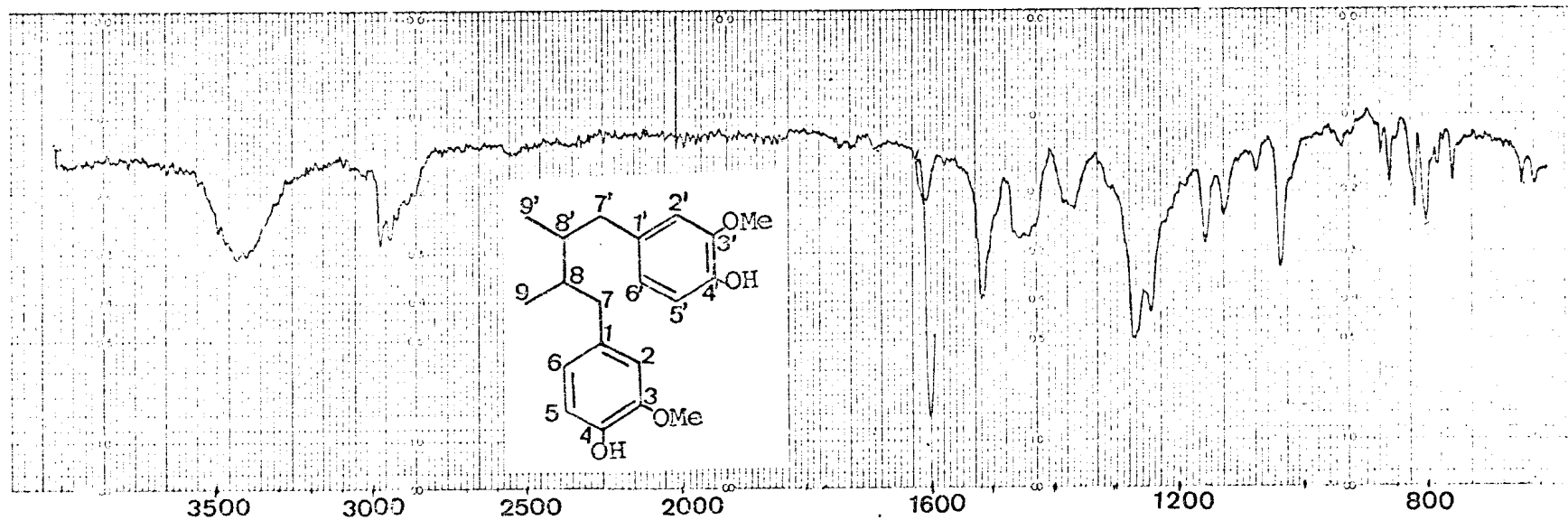


Fig. III-2 . Espectro i.v. da substância III em KBr.

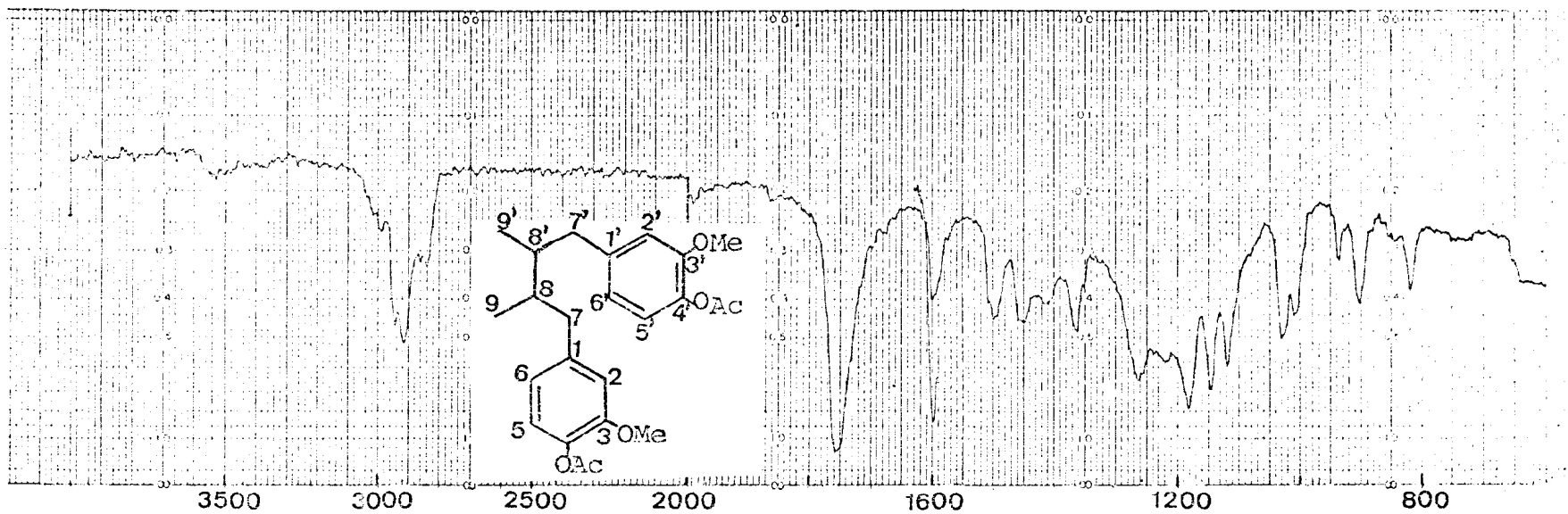


Fig. III-3 . Espectro i.v. do derivado acetilado de III, Filme.

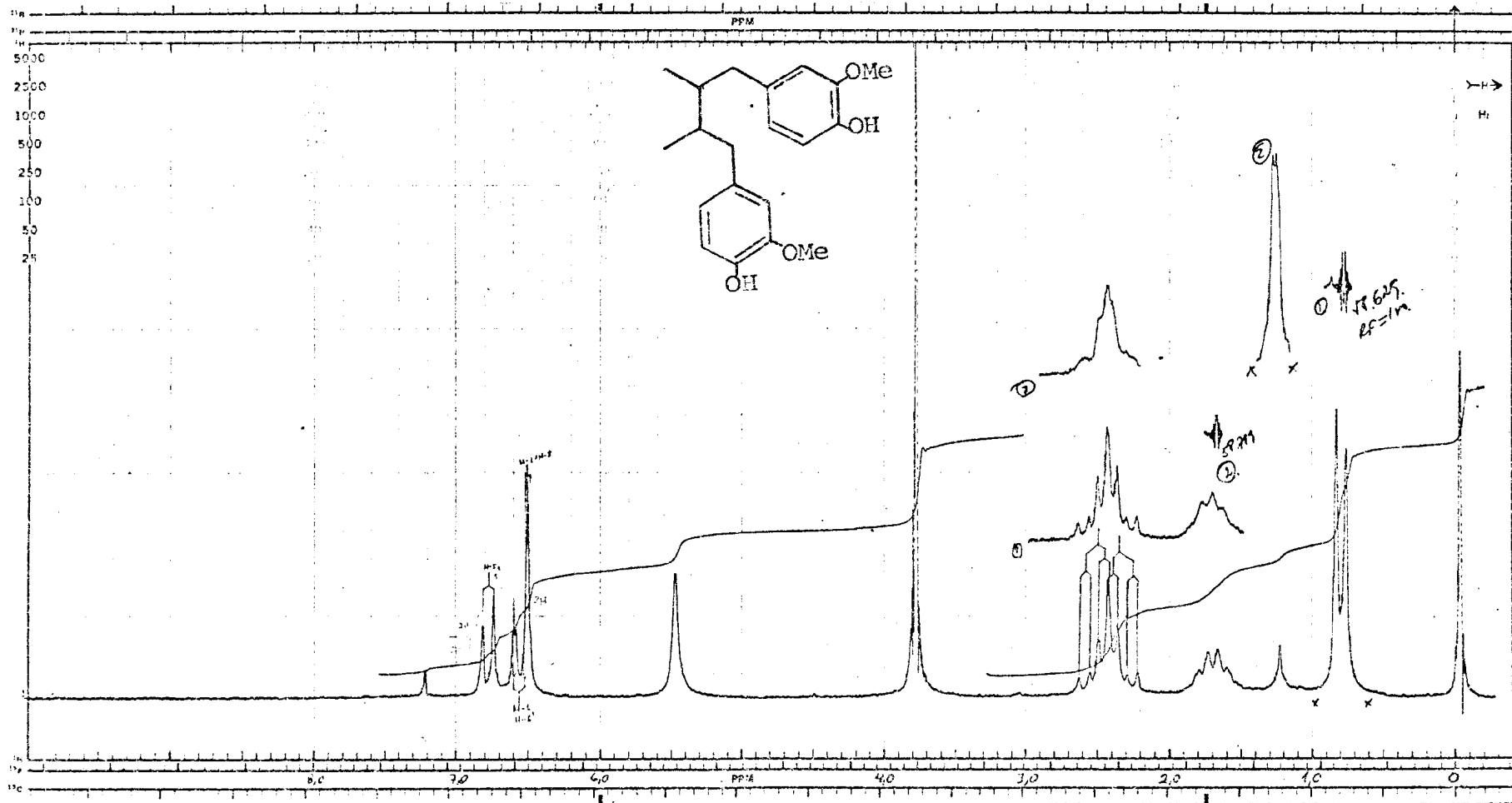


Fig. III-4 . Espectro de r.m.n.¹H (100 MHz) da substância III em CDCl₃ e TMS como referência interna.

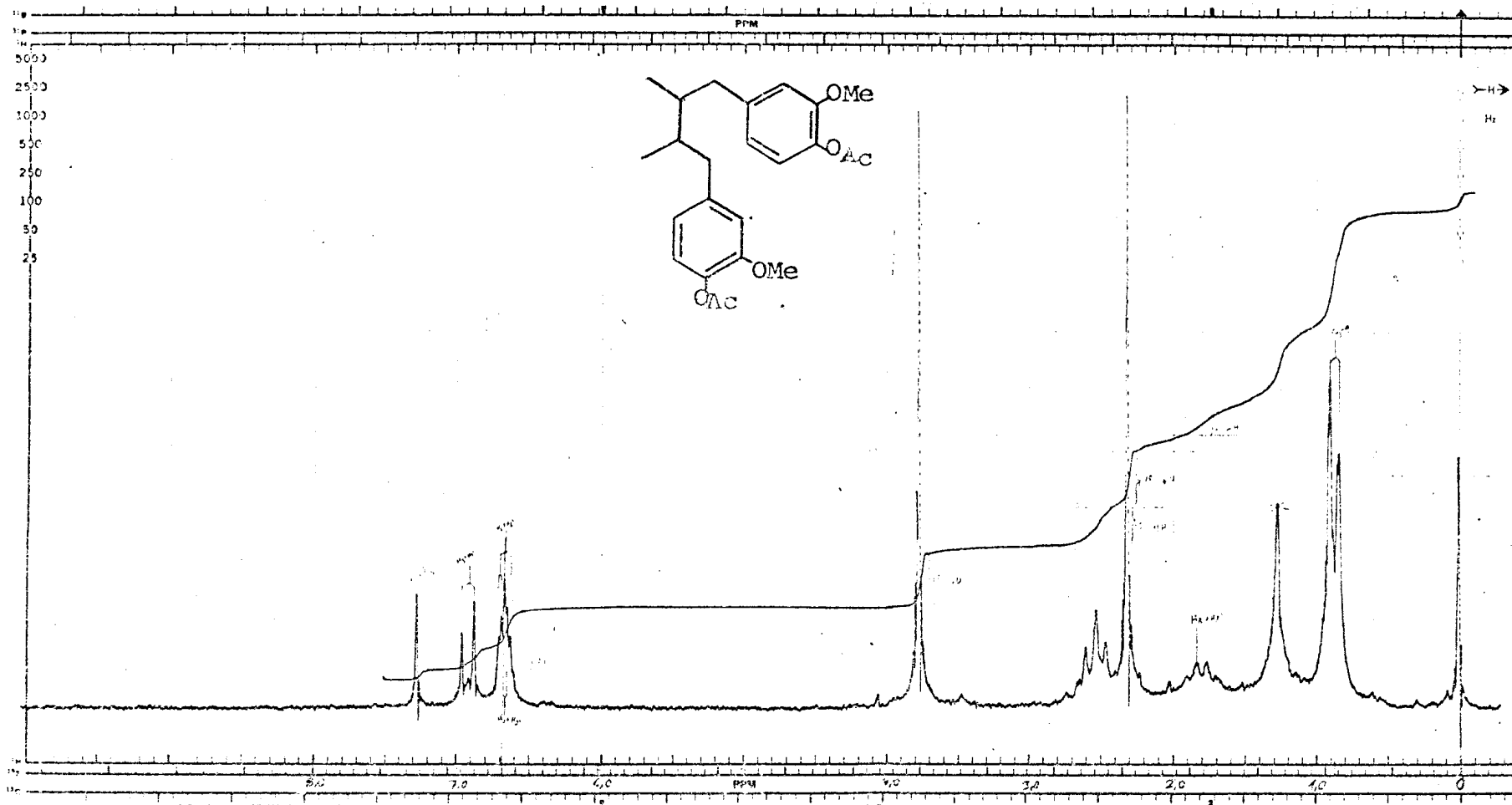


Fig. III-5 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) do derivado acetilado de III em CDCl_3 e TMS como referência interna.

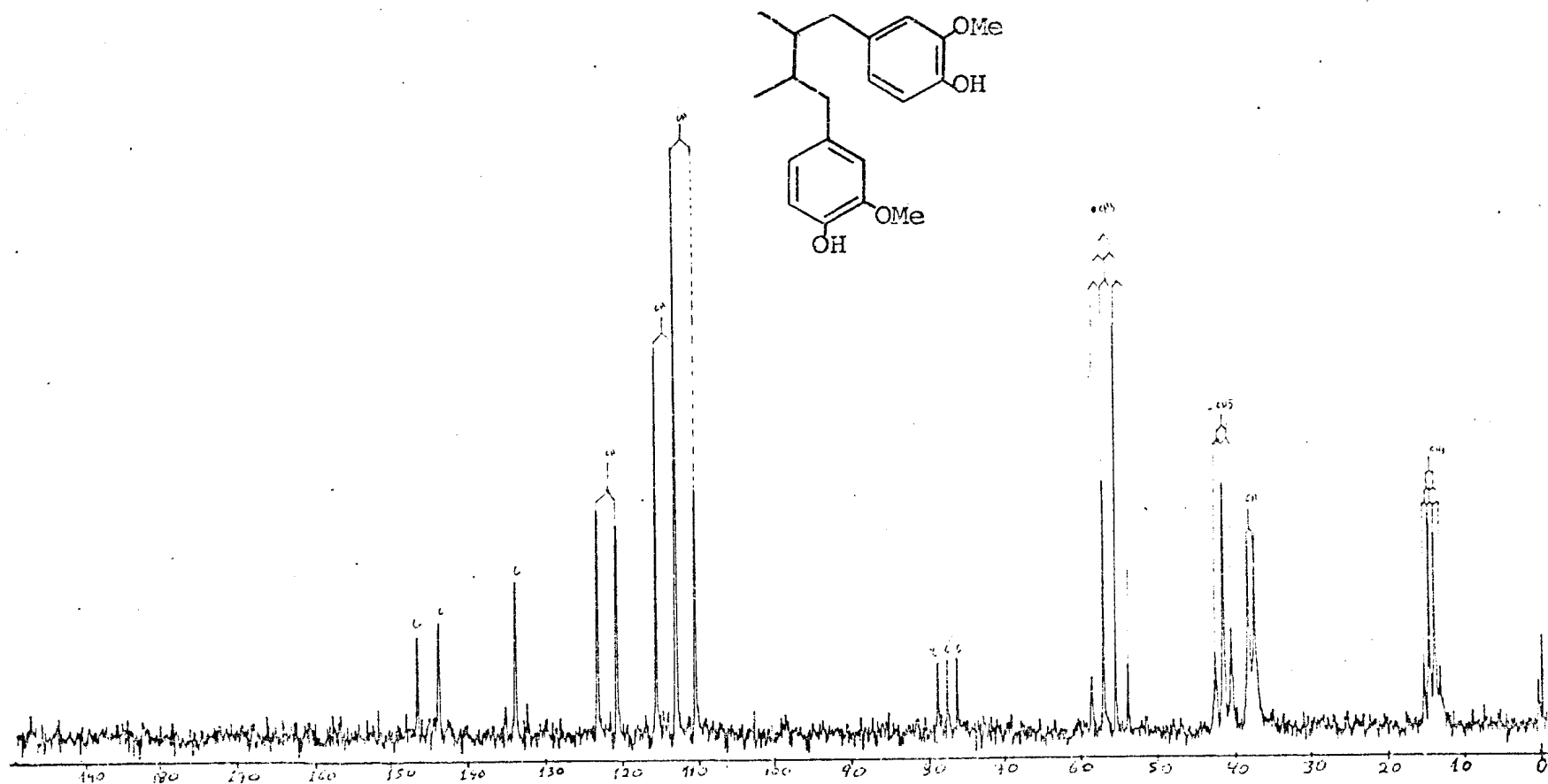


Fig. III-6 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) da substância III, com acoplamento residual em CDCl_3 e TMS como referência interna.

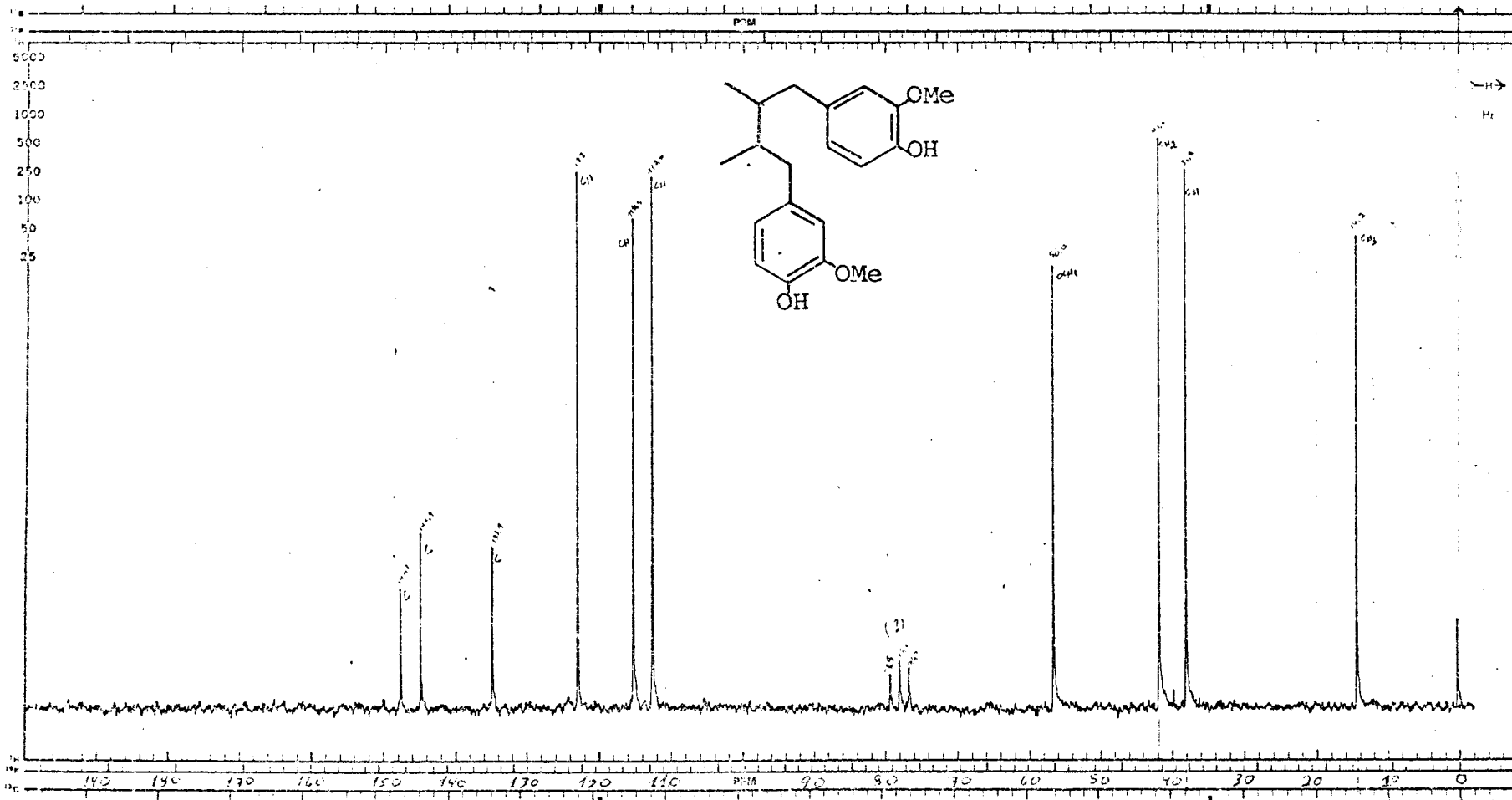


Fig. III-7 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) da substância III, totalmente desacoplado, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

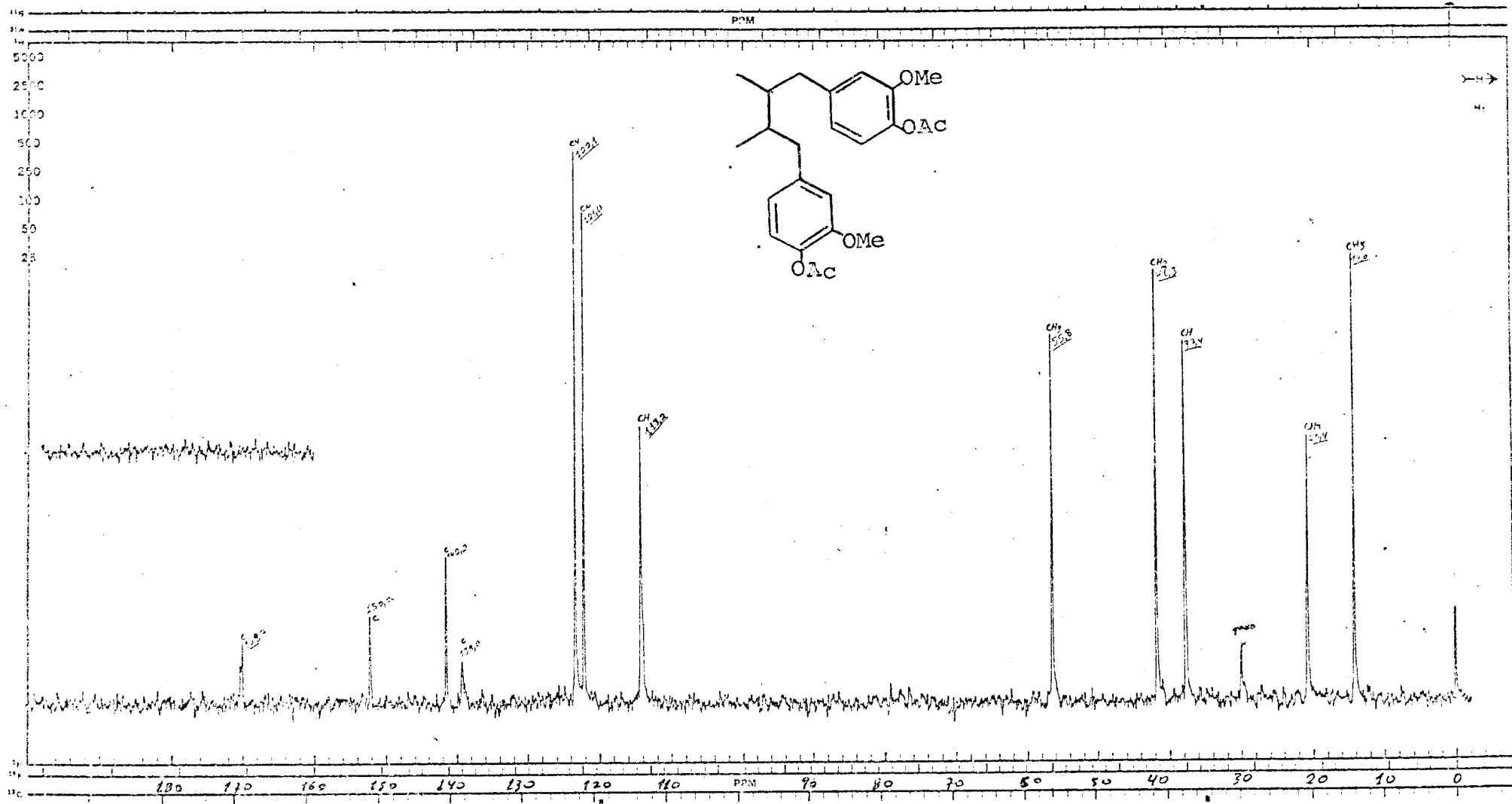


Fig. III-8 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) do derivado acetilado de III, totalmente desacoplado, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

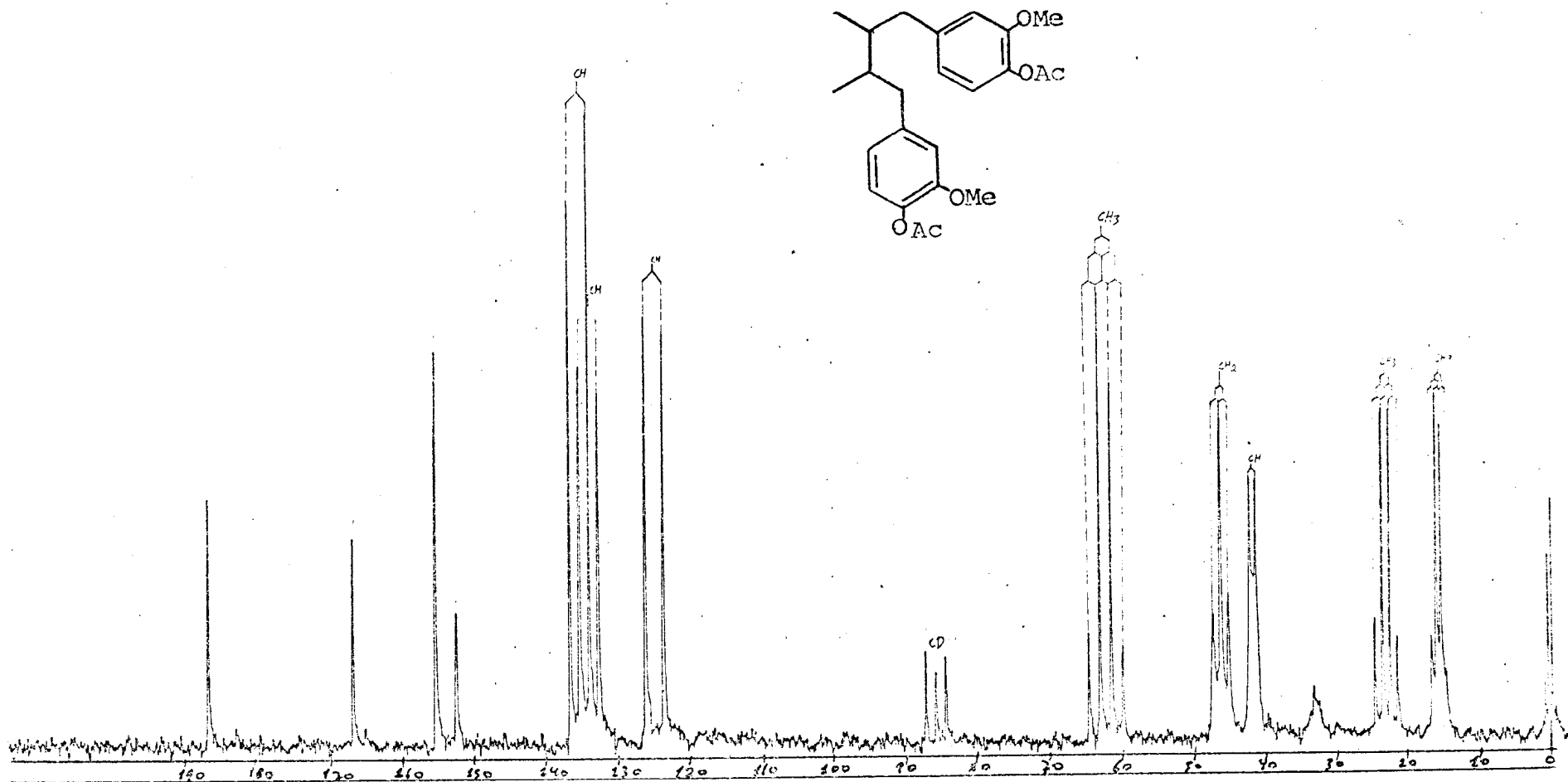


Fig. III-9 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) do derivado acetilado de III, com acoplamento residual, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

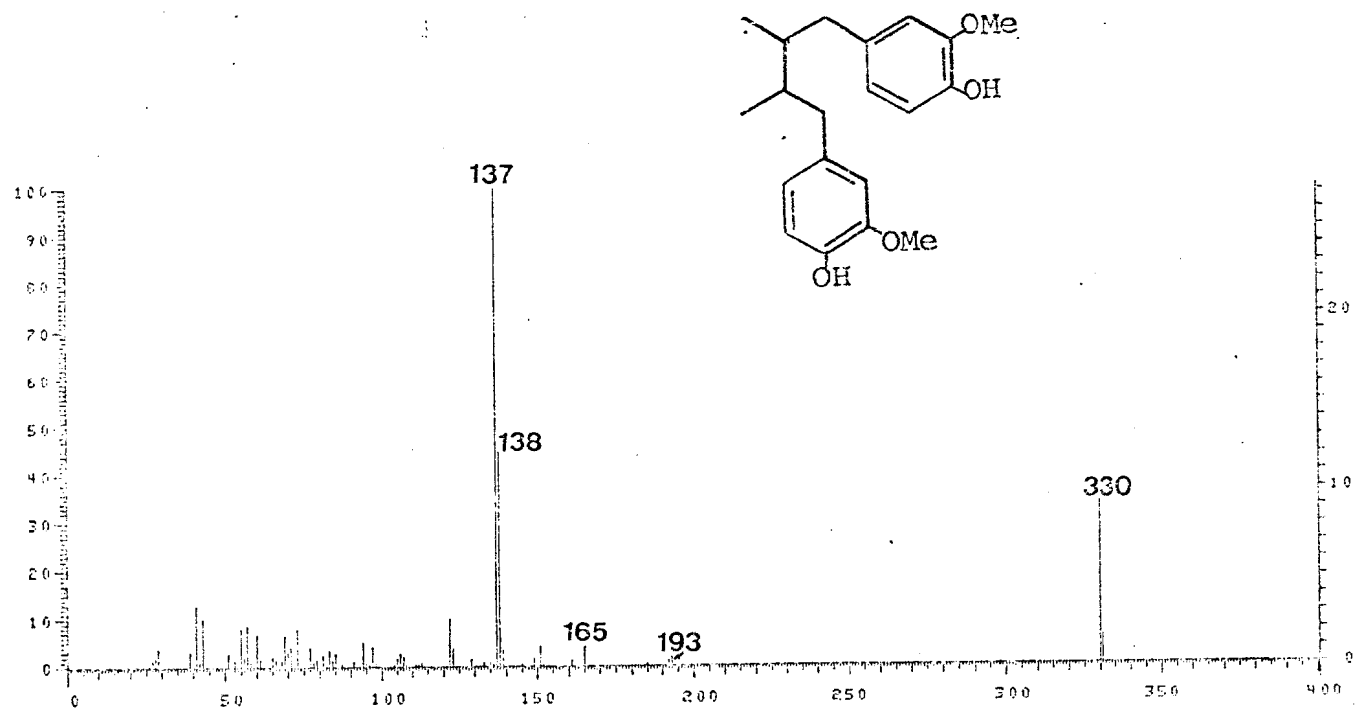


Fig. III-10 . Espectro de massa da substância III

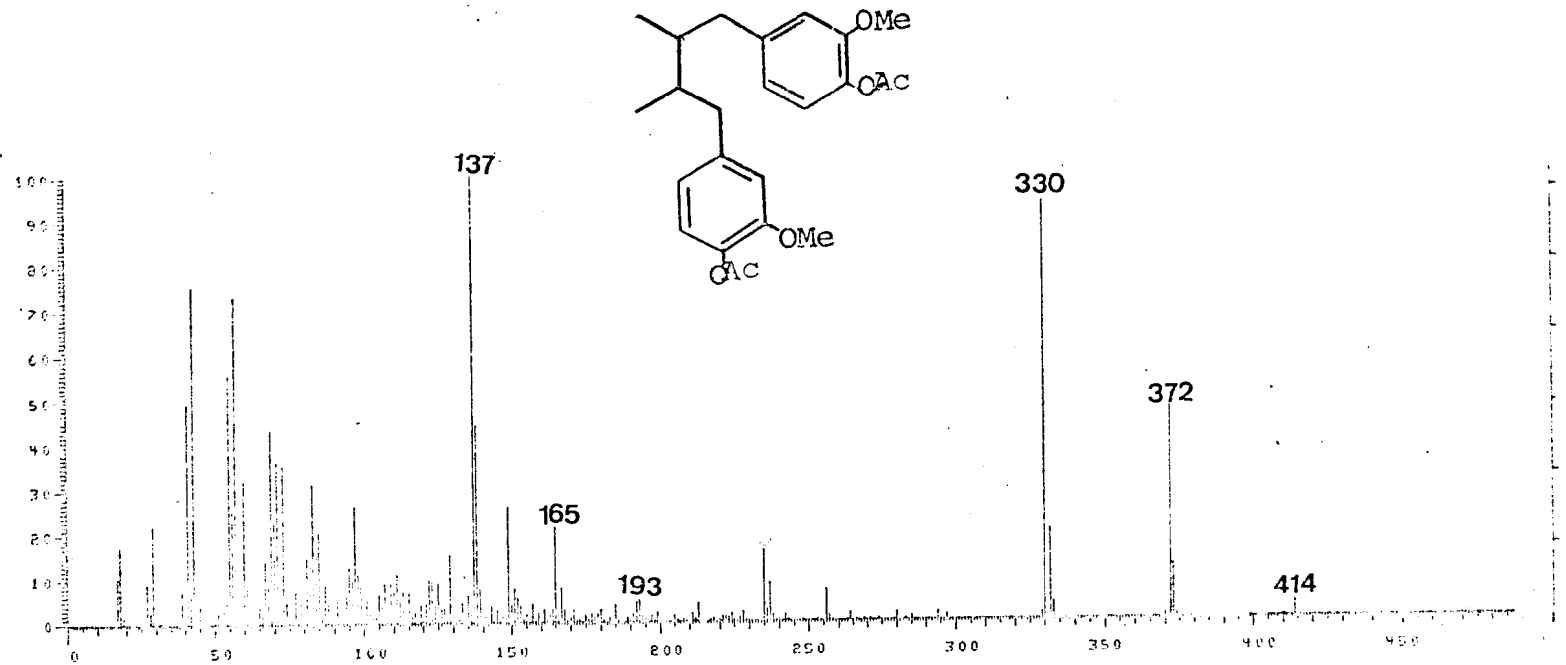
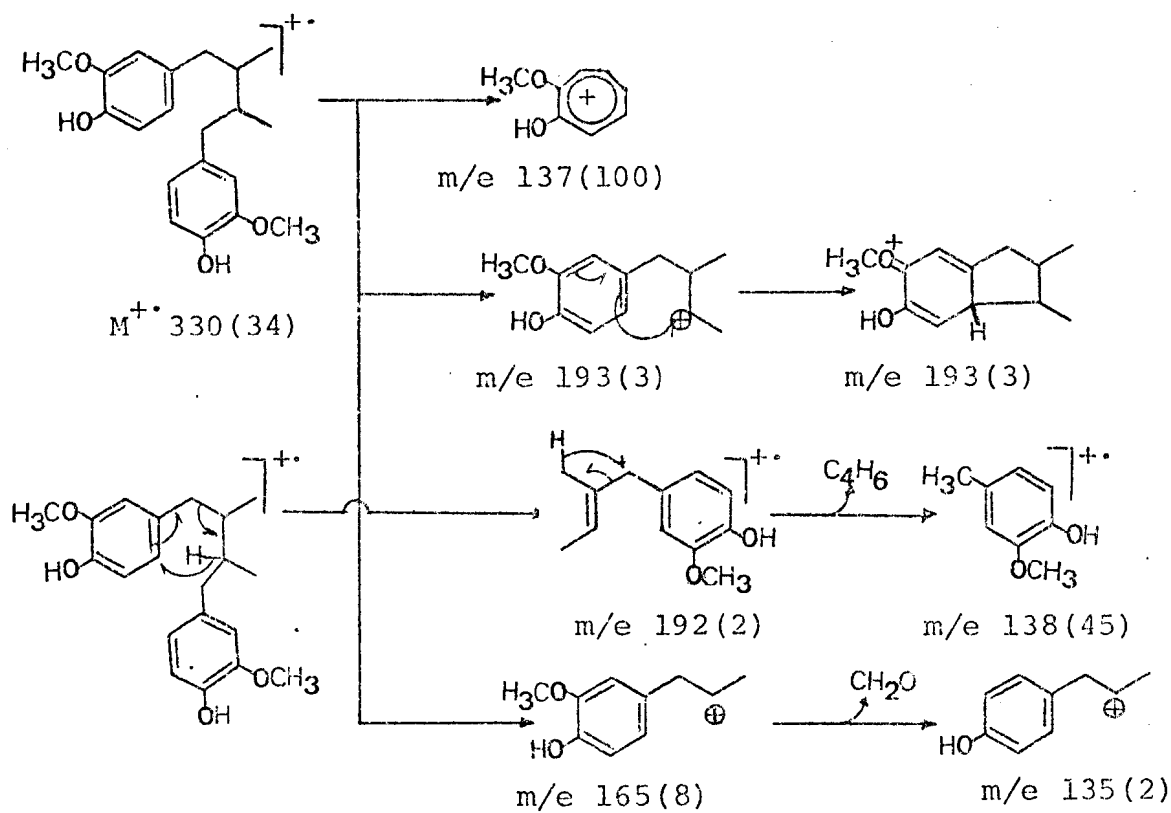


Fig. III-11 . Espectro de massa do derivado acetilado da substância III

Esquema III-1 . Interpretação do espectro de massa da substância III.



2.2.4 - Elucidação estrutural da substância IV

A substância IV possui fórmula molecular $C_{20}H_{24}O_4$, deduzida do espectro de massa (Fig. IV-8) através do ion molecular m/e 328.

A análise do espectro i.v. (Fig. IV-2) de IV permitiu reconhecer os grupos funcionais [2] descritos na Tab. 8.

Tab. 8 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância IV.

ν KBr max (cm^{-1})	Grupos funcionais
3500	ν -H
2900-3000	ν C-H (C-H, CH_2 , CH_3 , OCH_3)
1620	} ν C=C (Aromático)
1520	
1460	
1260	ν_{as} C-O
1020	ν_s C-O

O espectro u.v. (Fig. IV-1) da substância IV (λ_{max}^{EtOH} (nm): 240 (ϵ 4100) e 283 (ϵ 4360) apresentou deslocamento batocrômico quando registrado em presença de hidróxido de sódio, sugerindo a presença de hidroxila fenólica. A existência de sistema orto-dihidroxilado foi afastada porque o espectro u.v. não sofreu alteração quando registrado em presença de ácido bórico mais acetato de sódio.

O espectro i.v. do derivado acetilado de IV (Fig. IV-3) não mostrou a absorção em 3500 cm^{-1} e apresentou, além das demais absorções (Tab. 8), uma banda em 1760 cm^{-1} , correspondente ao estiramento da carbonila do grupo acetoxila.

O espectro de massa do derivado acetilado de IV (Fig. IV-9) apresentou $M^+ 412$, permitindo reconhecer a presença de duas hidroxilas e ampliar a fórmula molecular da substância original para $C_{20}H_{22}O_2(OH)_2$.

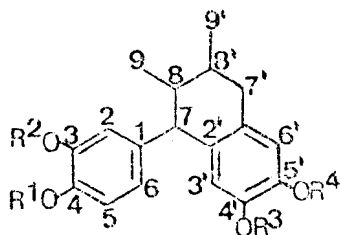
Estas informações e a presença de duas metoxilas, reveladas pelo espectro de r.m.n. 1H de IV (Fig. IV-6, Tab. 9), permitiram ampliar a fórmula molecular para $C_{18}H_{16}(OH)_2(OCH_3)_2$. A presença de 18 átomos de carbono (C_{18}) permitiu classificar a substância como um lignoide dimérico ($C_6C_3 + C_6C_3$) [9].

A análise do espectro de r.m.n. 1H , registrado a 100 MHz (Fig. IV-6, Tab. 9), permitiu propor a estrutura parcial 13 para IV, com base nos seguintes argumentos:

- a) A substância possui duas metilas representadas por dois dubletos em $0,86\delta$ (3H, $J = 6\text{Hz}$) e $1,08\delta$ (3H, $J = 6\text{Hz}$) (Fig. IV-6), Tab. 9).
- b) Um multiplete em $2,30-2,76\delta$, correspondente a absorção de dois prótons benzílicos.
- c) Um dubleto ($J = 10\text{Hz}$) em $3,36\delta$ correspondente a um próton duplamente benzílico.
- d) Um sinal múltiplo em $1,46-1,78\delta$ correspondente a dois prótons metínicos (2CH).
- e) A integração do espectro mostrou a presença de cinco prótons aromáticos.

Tab. 9 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância IV, registrados em CDCl_3 e TMS como referência interna (100 MHz).

Prótons	δ	feição	[H]	J (Hz)
CH_3 -9'	0,86	d	3	6,0
CH_3 -9	1,08	d	3	6,0
H-8 e 8'	1,46-1,78	m	2	
CH_2 -7'	2,30-2,76	m	2	
CH-7	3,36	d	1	10,0
OCH_3	3,76	s	3	-
OCH_3	3,74	s	3	-
OH	2,52	s(1)	1	-
OH	6,50	s(1)	1	-
H-3'	6,24	s	1	-
H-6'	6,55	s	1	-
H-2	6,57	d	1	2,0
H-6	6,63	dd	1	8,0; 2,0
H-5	6,81	d	1	8,0



13

a : $\text{R}^1=\text{R}^3=\text{H}$; $\text{R}^2=\text{R}^4=\text{CH}_3$

b : $\text{R}^1=\text{R}^3=\text{CH}_3$; $\text{R}^2=\text{R}^4=\text{H}$

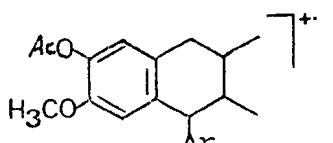
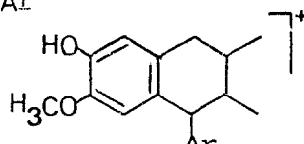
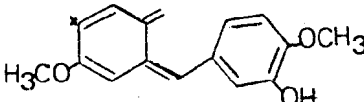
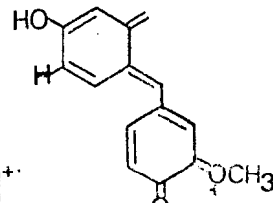
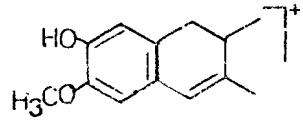
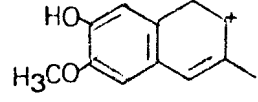
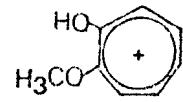
c : $\text{R}^1=\text{R}^4=\text{H}$; $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{CH}_3$

d : $\text{R}^1=\text{R}^4=\text{CH}_3$; $\text{R}^2=\text{R}^3=\text{H}$

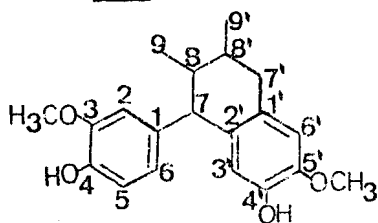
e : $\text{R}^1=\text{R}^2=\text{CH}_3$; $\text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$

Os picos mais significativos registrados no espectro de massa de IV (Fig. IV-8, Esquema IV-1) e de seu acetato (Fig. IV-9, Esquema IV-2) relacionados no Quadro 3, eliminaram a possibilidade estrutural 13e, em acordo com o espectro u.v. em presença de ácido bórico mais acetato de sódio.

Quadro 3 - Fragmentos mais significativos registrados no e.m. de IV e de seu acetilado.

IV		Fragmentos	IV(Ac) ₂	
m/e	%		m/e	%
-	-	M ⁺ (IV(Ac) ₂)	412	12
-	-		370	65
328 (M ⁺)	55		328	100
255	35		255	10
241	100		241	20
204	40		204	15
189	56		189	10
137	20		137	8

Os fragmentos mostrados no Quadro 3 e a origem biogenética [9] sugerem a estrutura 13a como mais provável, podendo corresponder à estrutura da (+) guaiacin (14a) ou da isoguaiacin (14b) [21].



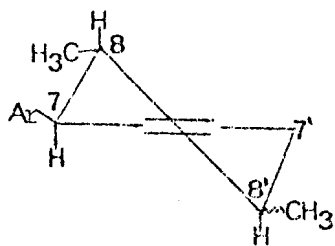
14a : CH₃/CH₃ trans , Ar/CH₃ trans

14b : CH₃/CH₃ cis , Ar/CH₃ trans

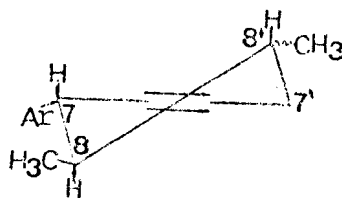
Mas a análise comparativa dos deslocamentos químicos dos prótons de IV e do derivado acetilado IV(Ac)₂ (Figs. IV-4, IV-5, IV-6 e IV-7) e do padrão 14a [22] (Tab. 10) sugeriu a estrutura 13c como mais provável. Esta dedução baseou-se nas seguintes observações:

- O próton H-6' em IV(Ac)₂ revelou deslocamento paramagnético de 0,16 δ, o que não aconteceu com o derivado diacetilado de 14 (14(Ac)₂) [22].
- O próton H-5 de IV(Ac)₂ sofreu deslocamento paramagnético de 0,15 δ, como ocorreu com o H-5 de 14a(Ac)₂.

A constante de acoplamento de 10 Hz do próton H-7 com H-8 permitiu deduzir que o H-7 ocupa posição axial, adotando à molécula a conformação indicada em 15 (trans Ar/CH₃). A conformação 16 corresponde ao enantiômero de 15 e, por isto, não pode ser distinguida pelos dados utilizados.



15



16

Tab. 10 - Deslocamentos^a químicos (δ) dos prótons da substância IV e IV(Ac)₂ (60 MHz), em CDCl₃ e TMS como referência interna.

Prótons	IV	IV(Ac) ₂	<u>14a</u>	<u>14(Ac)₂</u>
CH ₃ -9'	0,82	0,80	0,84	0,84
CH ₃ -9	1,02	1,08	1,05	1,02
H-8 e 8'	1,30-1,60	1,40-1,70	1,53	1,55
CH ₂ -7'	2,40-2,70	2,60-2,90	} 2,65	2,70
CH-7	3,40	3,45		
OCH ₃	3,80	3,82	} 3,80	3,81
OCH ₃	3,82	3,84		
OH	5,3	-		-
OH	5,5	-		-
H-3'	6,32	6,36	6,21	6,34
H-6'	6,52	6,68	} 6,50-6,68	6,55-6,81
H-6	6,66	6,70		
H-2	6,70	6,70	6,61	
H-5	6,80	6,95	6,69	6,88
H ₃ C-CO	-	2,26	-	2,18
H ₃ C-CO	-	2,38	-	2,21

^aDeslocamentos químicos corrigidos de acordo com a comparação entre os espectros a 60 MHz (Figs. IV-4 e IV-5) com os espectros a 100 MHz (Figs. IV-6 e IV-7) pois o espectro da Fig. IV-6 (Tab. 9) não apresenta o sinal do CHCl₃ (impureza do CDCl₃) na posição correta (7,23 δ).

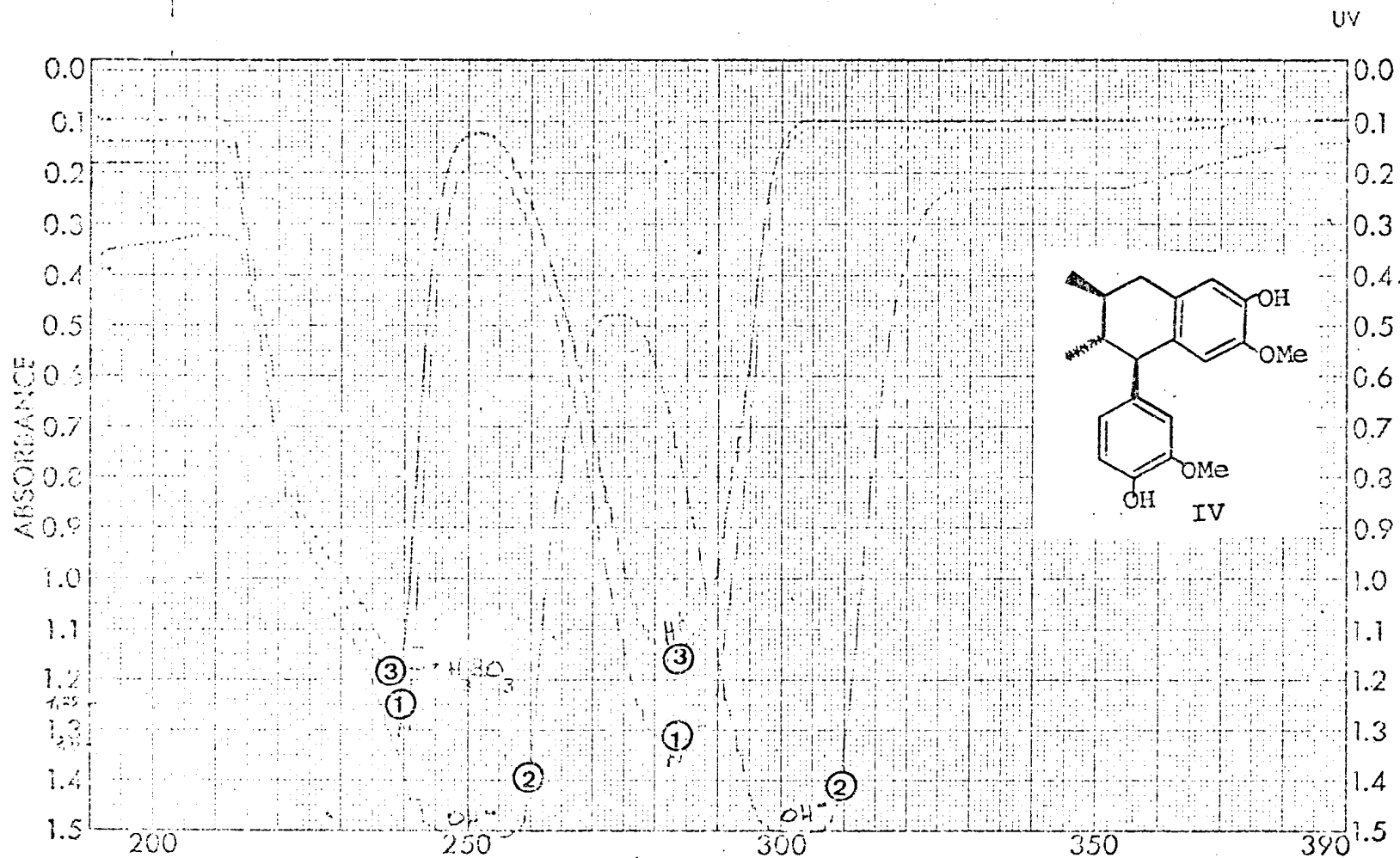


Fig. IV-1 . Espectro u.v. da substância IV em etanol (1) e com aditivos: NaOH (2) e AcONa + ácido bórico (3).

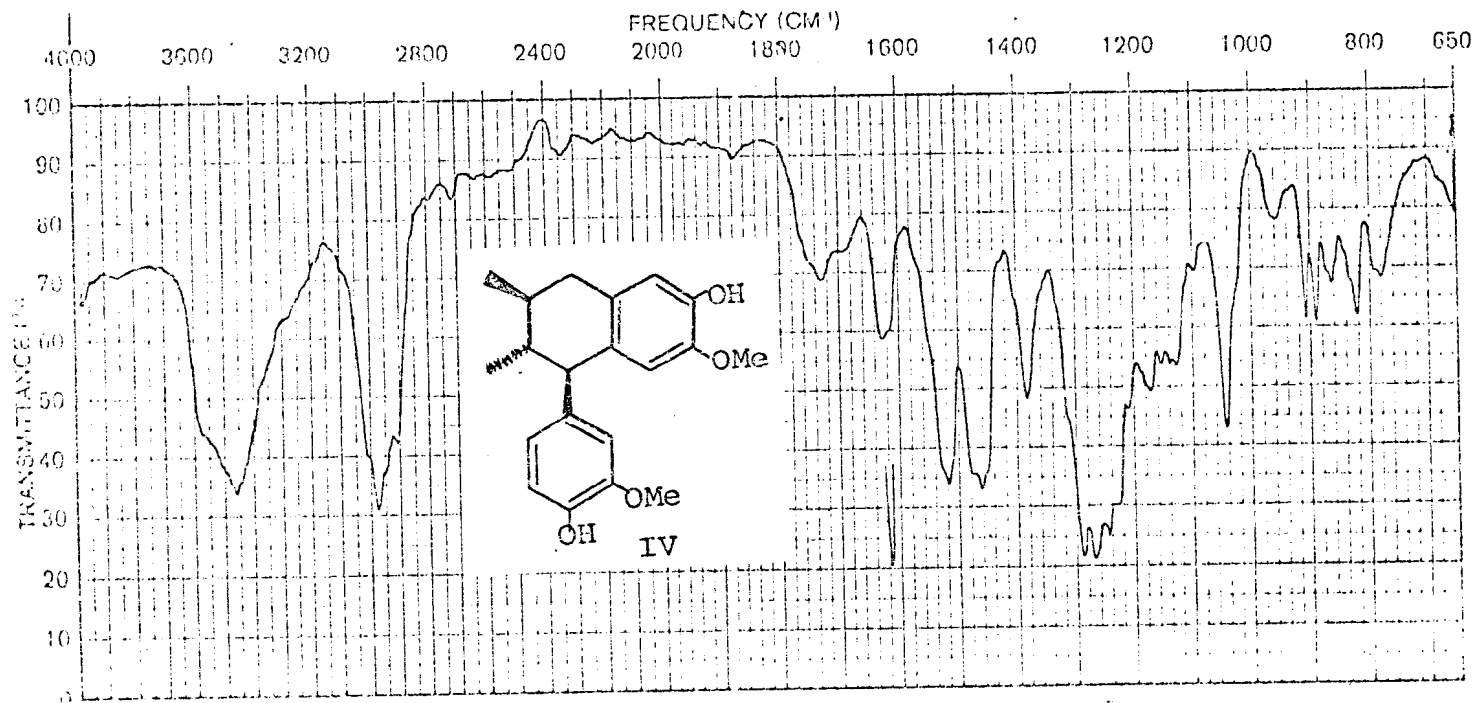


Fig. IV-2 . Espectro i.v. da substância IV, em KBr

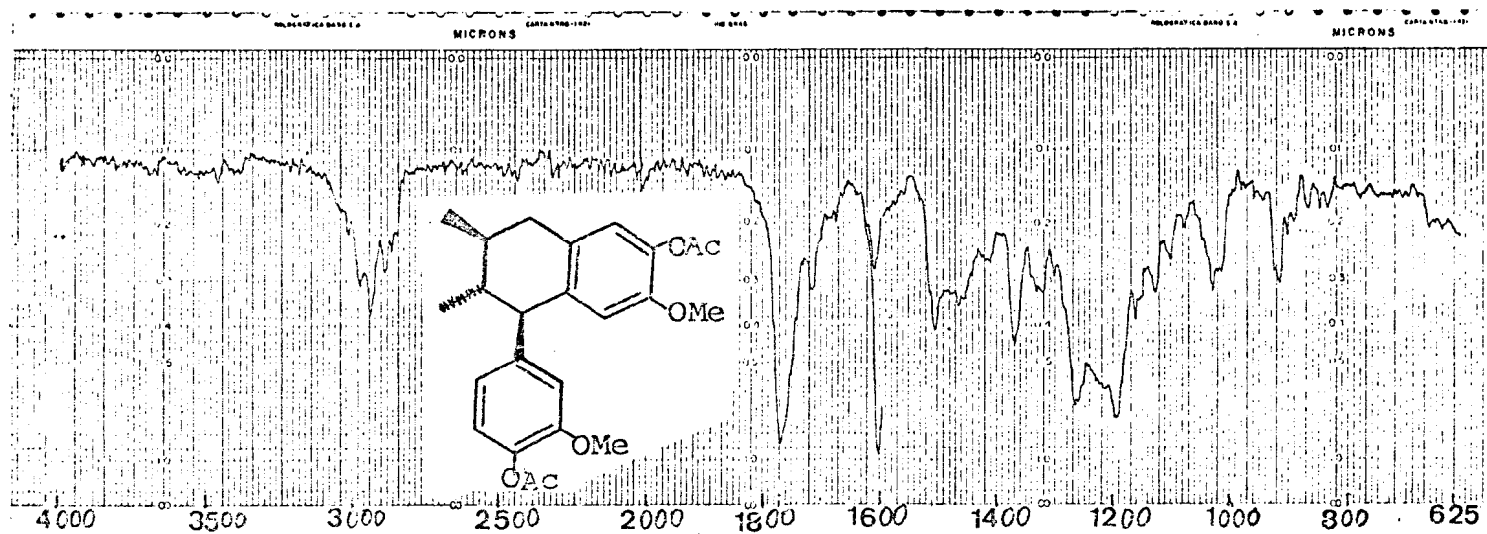


Fig. IV-3 . Espectro i.v. do derivado acetilado de IV, Filme.

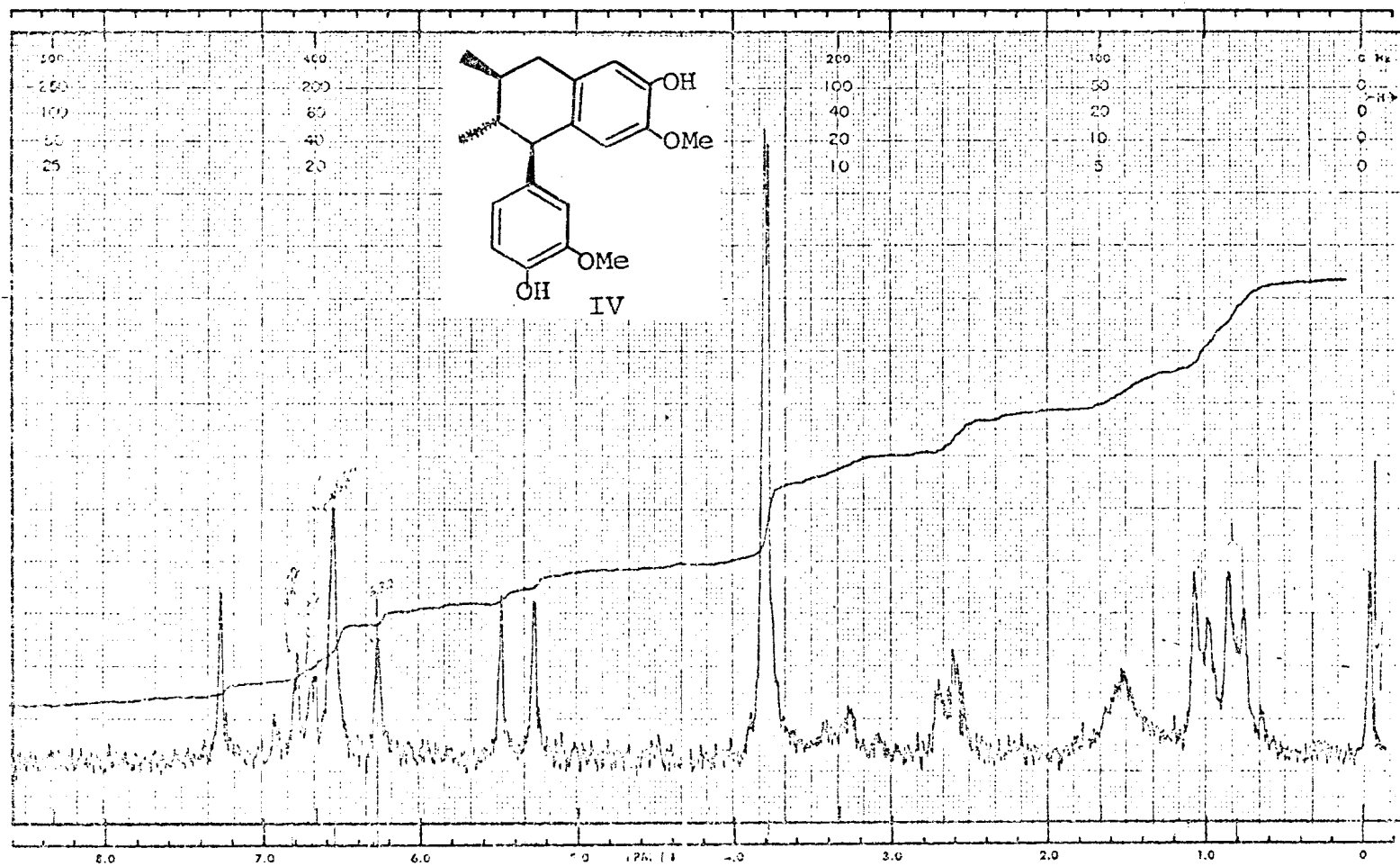


Fig. IV-4 . Espectro de r.m.n. ^1H (60 MHz) de IV, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

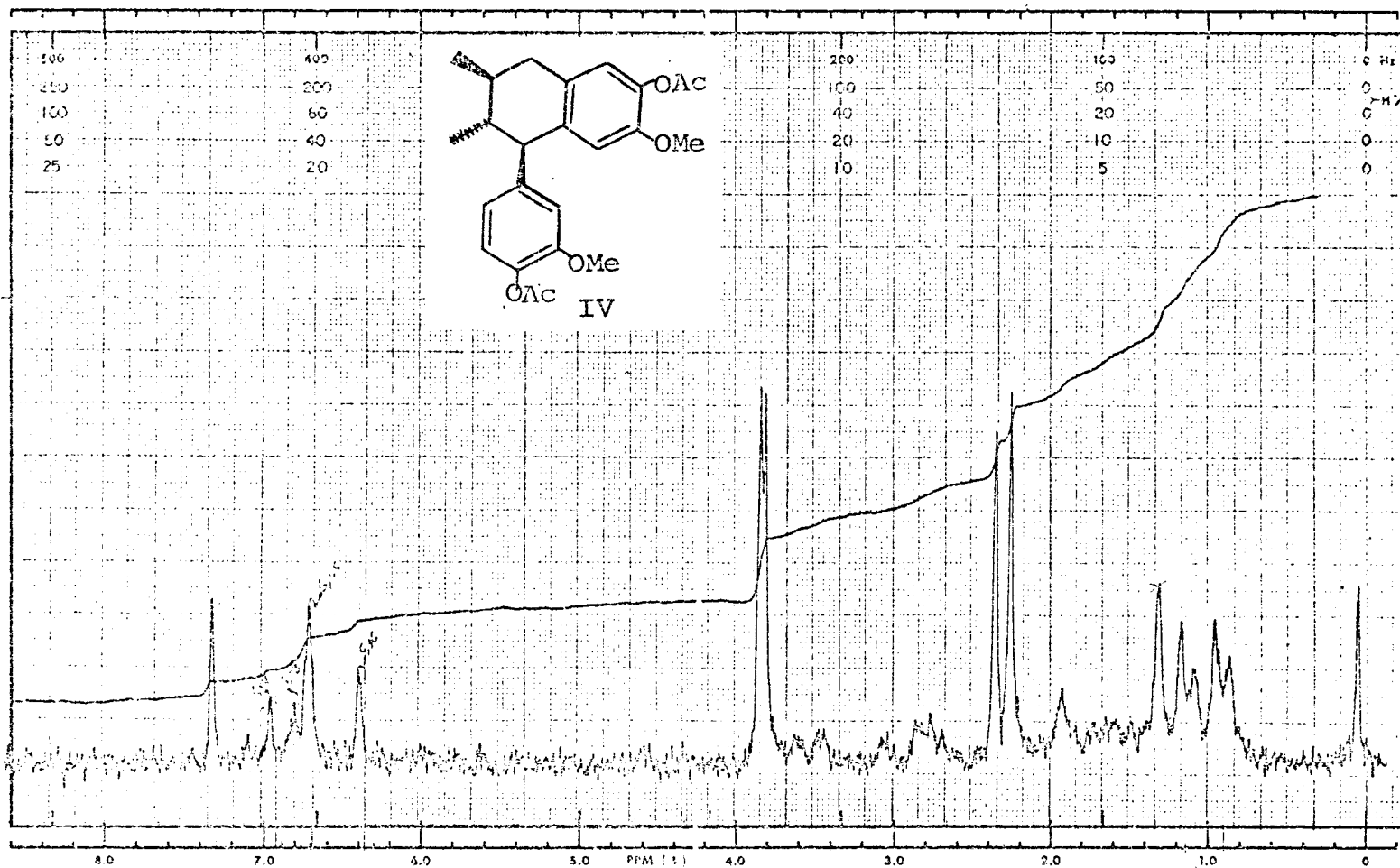


Fig. IV-5 . Espectro de r.m.n. ^1H (60 MHz) do derivado acetilado de IV, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

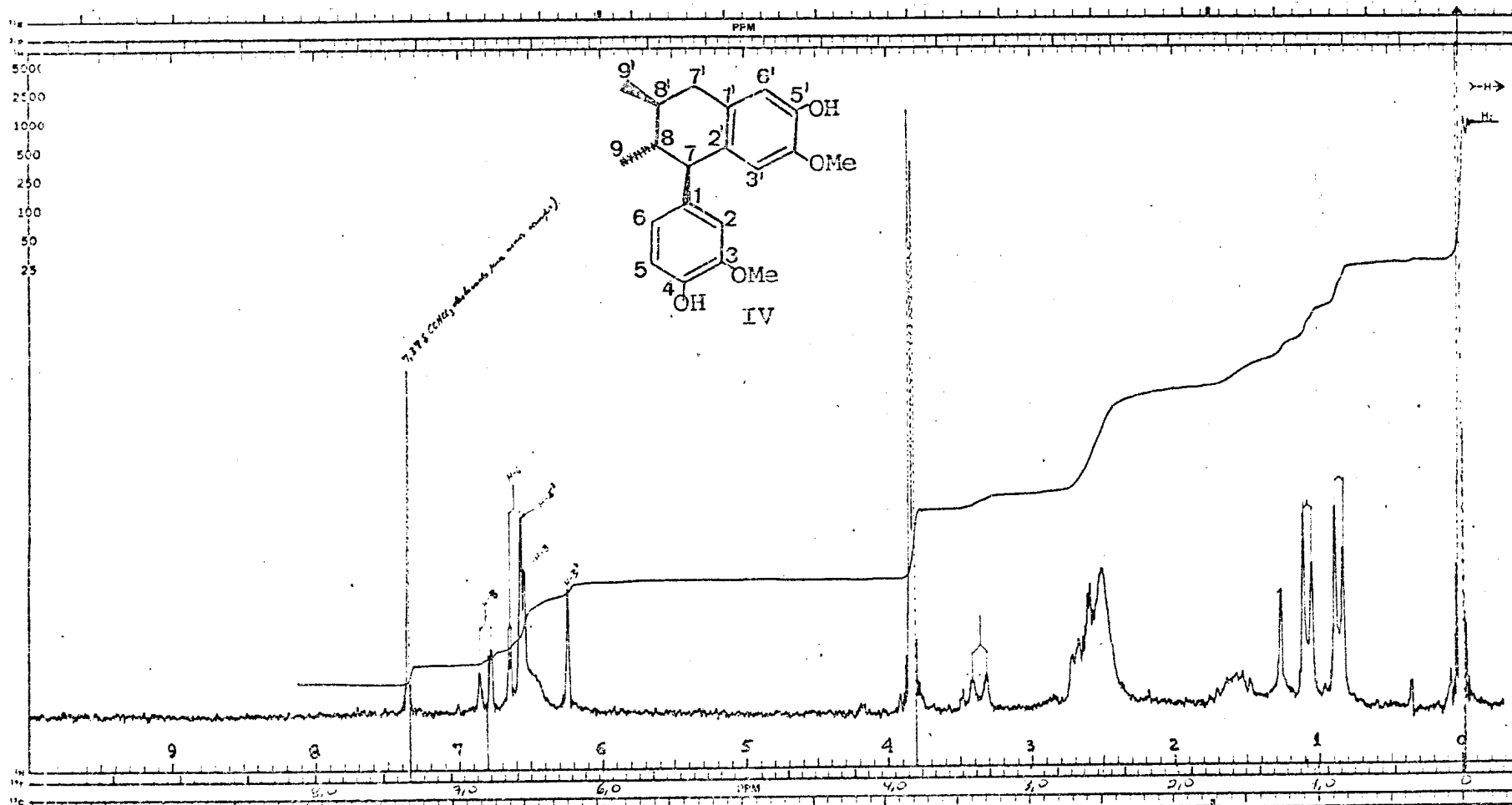


Fig. IV-6 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância IV em CDCl_3 e TMS como referência interna.

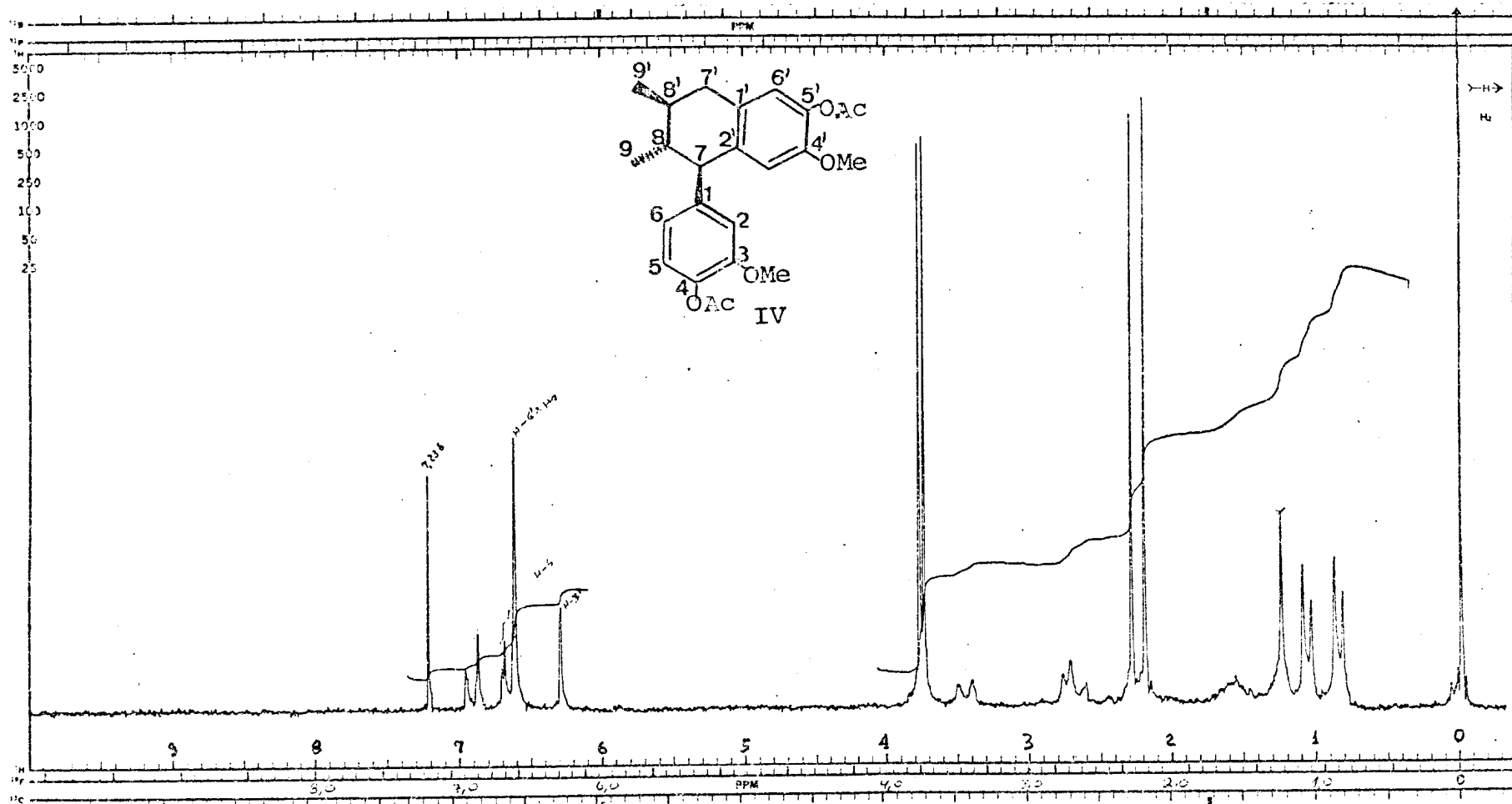


Fig. IV-7 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz), do derivado acetilado da substância IV em CDCl_3 e TMS como referência interna.

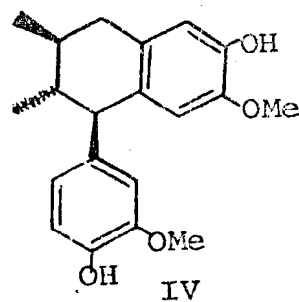
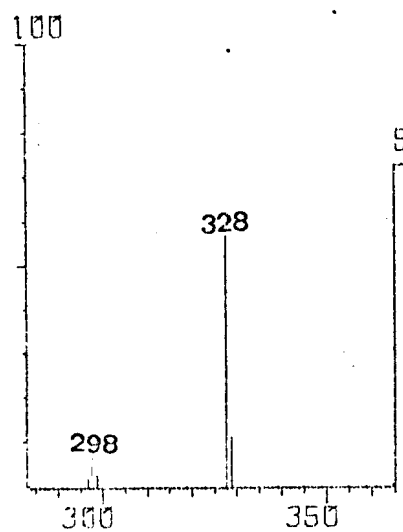
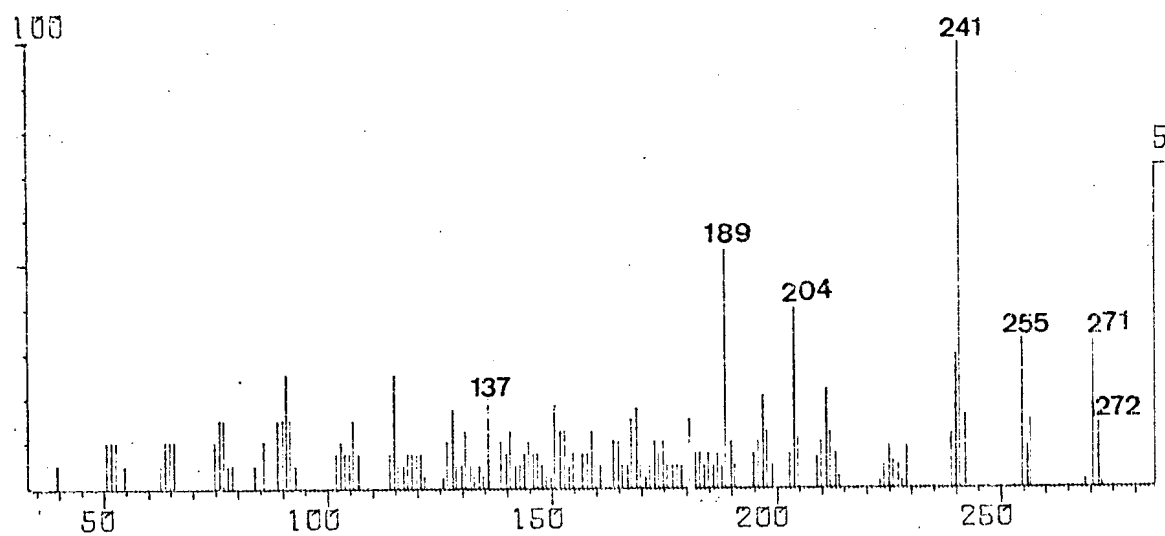


Fig. IV-8 . Espectro de massa da substância IV

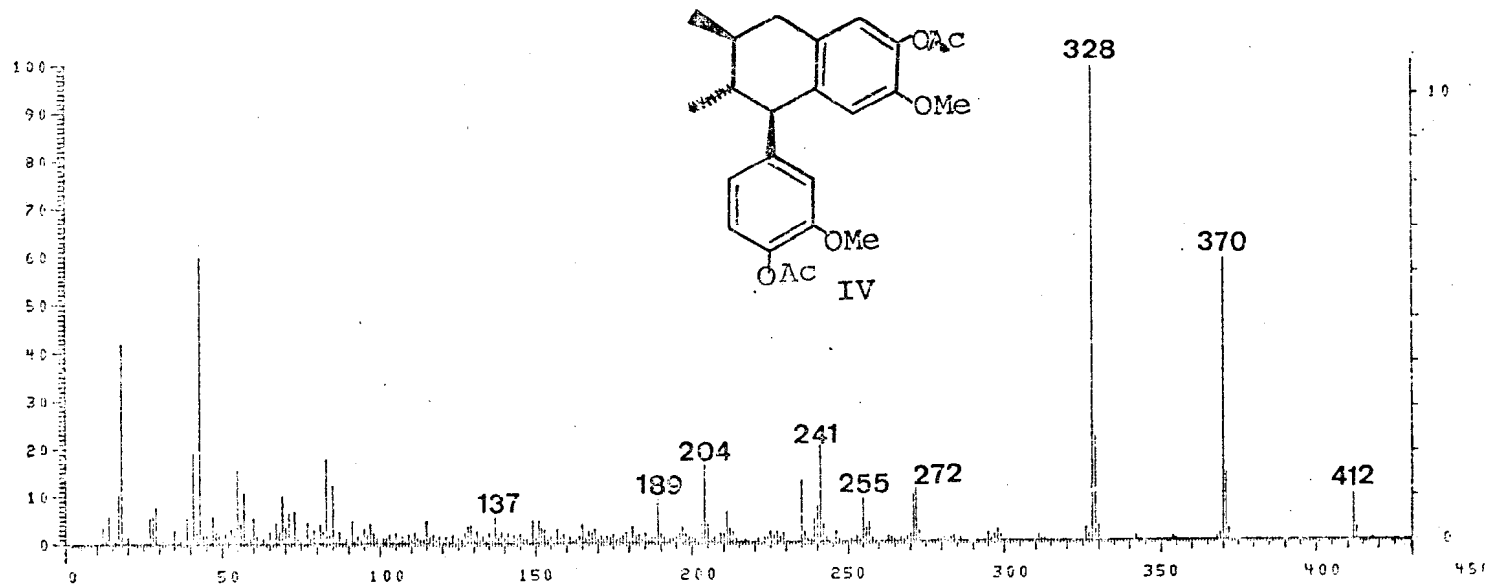
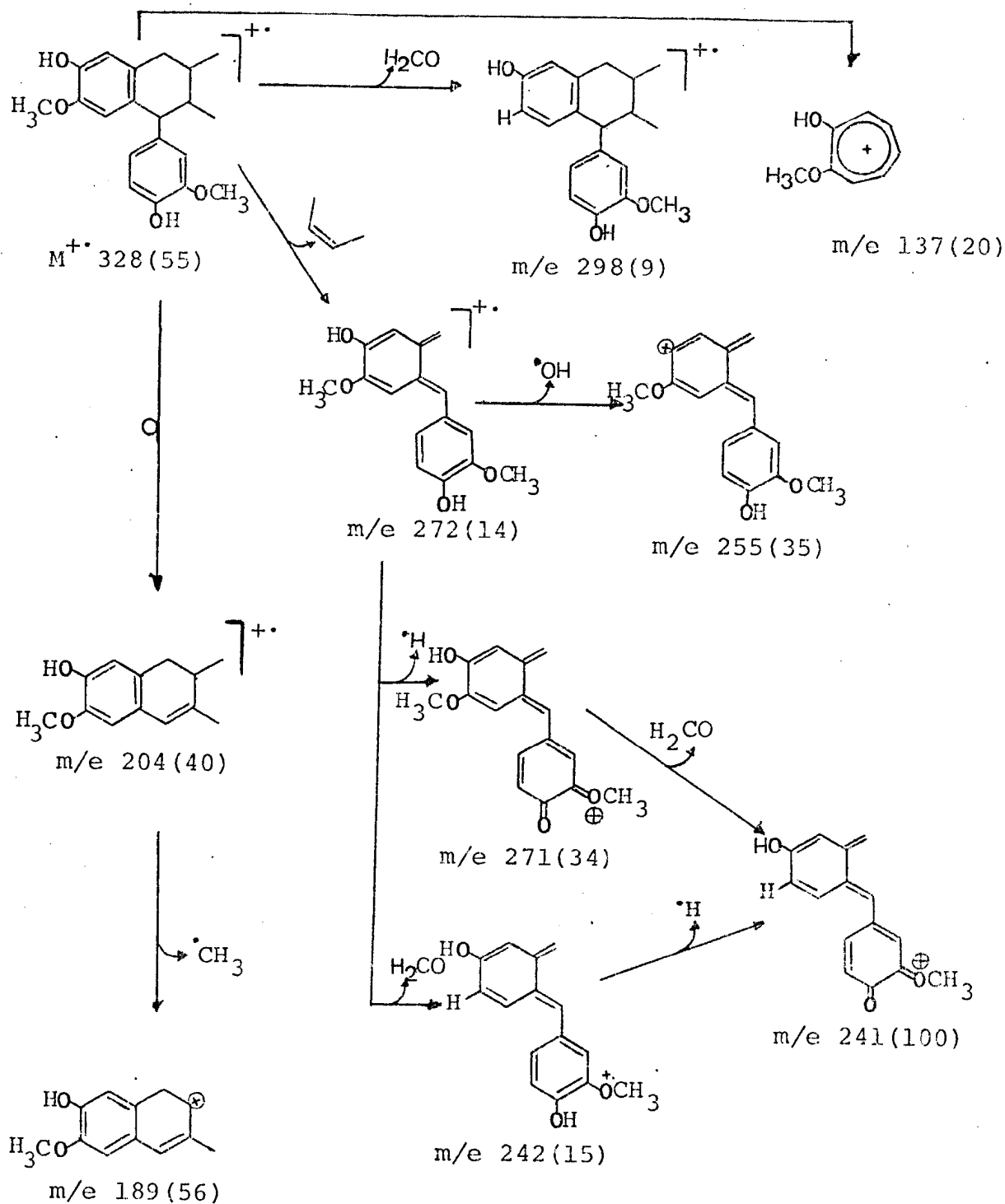
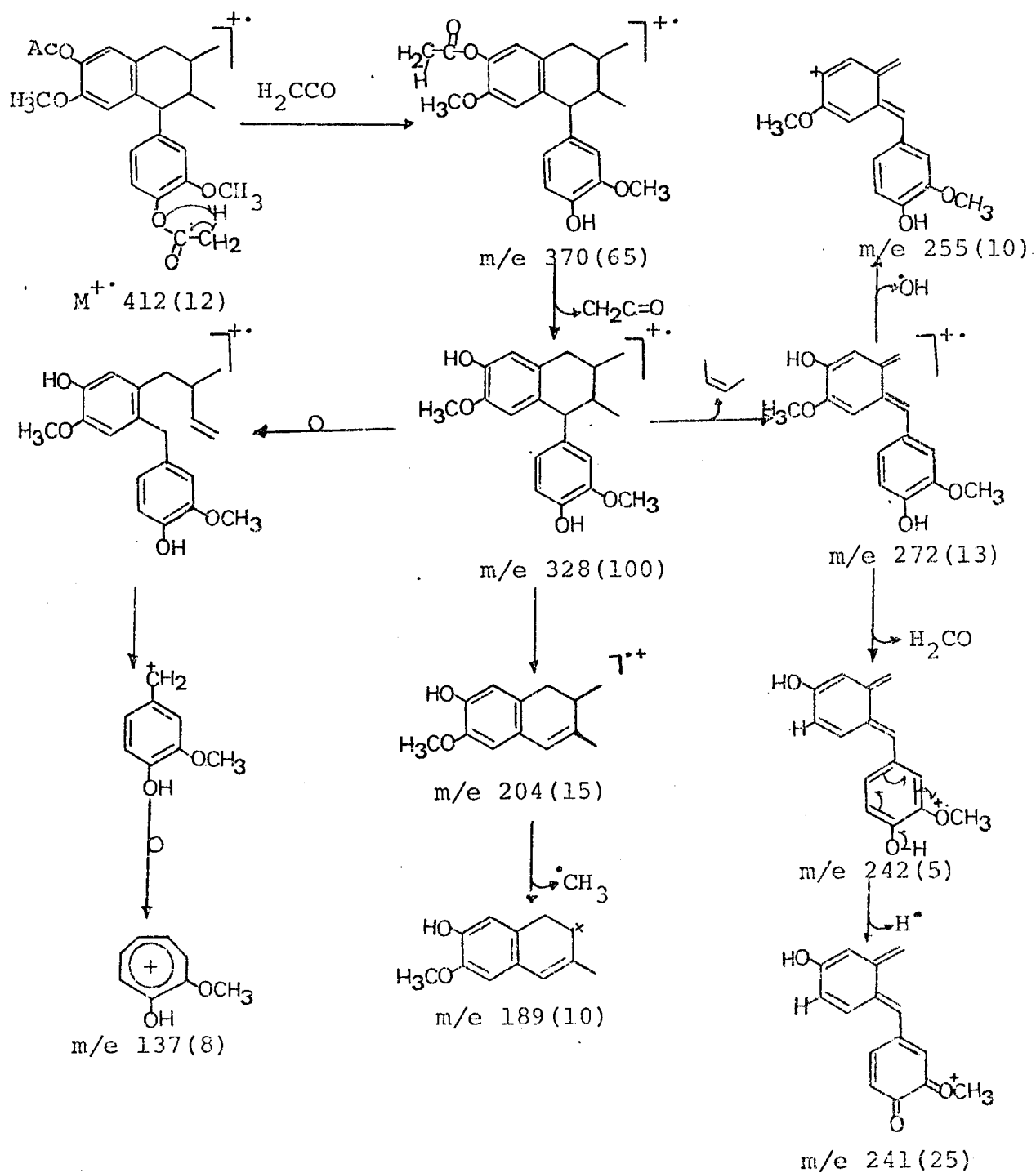


Fig. IV-9 . Espectro de massa do derivado acetilado da substância IV

Esquema IV-1 . Interpretação do espectro de massa da substância IV.



Esquema IV-2 . Caminhos principais de fragmentação do derivado acetilado da substância IV (IV-Ac) no espectrometro de massa.



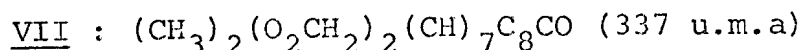
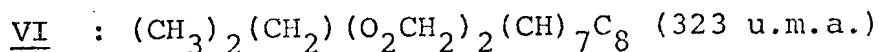
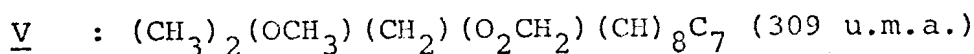
2.2.5 - Elucidação estrutural das substâncias V, VI e VII

Os espectros de r.m.n. ^{13}C das substâncias V (Figs. V-6 e V-7), VI (Figs. VI-4 e VI-5) e VII (Figs. VII-4 e VII-5) permitiram assinalar o número de átomos de carbono mono-, di-, tri- e não protonados, com base na comparação de espectros totalmente desacoplados (Figs. V-6, VI-4 e VII-4) e com acoplamento residual (Figs. V-7, VI-5 e VII-5, Tab. 11).

Tab. 11 - Valores dos deslocamentos químicos, em ppm (δ), dos átomos de carbono das substâncias V, VI e VII, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

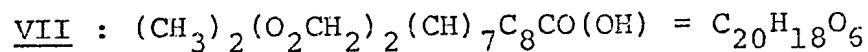
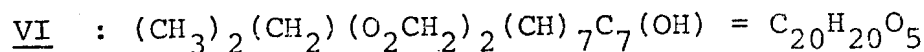
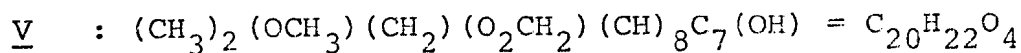
V				VI				VII			
CH_3	CH_2	CH	C	CH_3	CH_2	CH	C	CH_3	CH_2	CH	C
17,2	39,2	35,6	128,4	10,5	39,8	31,4	75,7	12,1	100,8	43,4	74,8
20,0	100,6 (O_2CH_2)	43,8	133,1	19,5	100,7	49,5	126,1	12,1	101,8	47,0	126,6
55,9 (OCH_3)	$(\text{CH}_2) (\text{O}_2\text{CH}_2)$	54,2	140,3	$(\text{CH}_3)_2$	100,7	106,8	131,0	$(\text{CH}_3)_2$	$(\text{O}_2\text{CH}_2)_2$	106,0	128,6
$(\text{CH}_3)_2\text{OCH}_3$		107,6	143,3		$\text{CH}_2 (\text{O}_2\text{CH}_2)_2$	107,0	142,3			107,3	140,5
		109,1	144,7			108,0	144,9			108,7	144,5
		110,0	145,7			118,3	145,6			118,9	146,2
		115,4	147,6			120,7	145,9			122,8	147,2
	122,6				146,8			152,2			
	$(\text{CH})_8$	C_7			$(\text{CH})_7$	C_8		$(\text{CH})_7$	198,1 (∞)		
									$\text{C}_8 (\text{CO})$		

Os dados registrados na Tab. 11 permitiram deduzir as formulações parciais para as três substâncias:



Os espectros i.v. das três substâncias (Figs. V-2, Tab. 12; VI-2, Tab. 15; VII-2, Tab. 18) mostraram a presença de hidroxila.

Os espectros de massa de V (Fig. V-8), VI (Fig. VI-6) e VII (Fig. VII-6) mostraram pico correspondente ao ion molecular em m/e 326, 340 e 354, respectivamente. Consequentemente as tres substâncias possuem 17 unidades de massa além das correspondentes às formulações parciais descritas acima. Estes dados permitiram ampliar as formulações parciais para:



O número de átomos de hidrogênio foi confirmado pelos espectros de r.m.n.¹H (Figs. V-3, Tab. 13; VI-3, Tab. 16 e VII-3, Tab. 19).

Subtraindo-se os carbonos dos grupos metoxi e metilenodioxo das formulações parciais acima, restam 18 átomos de carbono, podendo corresponder a um esqueleto lignoide dimérico ($\text{C}_6\text{C}_3 + \text{C}_6\text{C}_3$).

2.2.5.1 - Substância V

A análise do espectro na região i.v. (Fig. V-2) de V permitiu ainda as deduções [2] descritas na Tab. 12.

Tab. 12 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância V.

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1})	Grupos funcionais
3400	$\nu_{\text{O-H}}$
2900-3000	$\nu_{\text{C-H}}$ ($\text{CH}_3, \text{CH}_2, \text{CH}, \text{OCH}_3$, etc)
1600	} $\nu_{\text{C=C}}$ (aromático)
1500	
1450	
1250	} $\nu_{\text{C-O}}$
1050	

O espectro de r.m.n.¹H de V (Fig. V-4 e V-5, Tab. 13) confirmou a natureza neolignânica, com designação 8.8', 7.2' [1], conforme demonstram os seguintes dados:

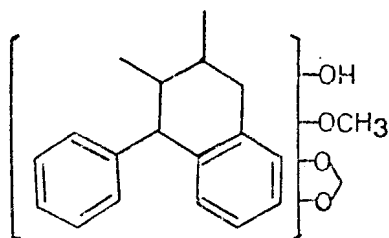
- A presença de dois sinais duplos em 0,86 δ ($J = 7,0$ Hz, 3H) e 1,06 δ ($J = 7,0$ Hz, 3H) correspondentes a dois grupos metila;
- Um multiplete em 1,3-1,8 δ correspondente a dois prótons metínicos;
- Dois duplos dubletos, um em 2,53 δ ($J = 11,0$ Hz e $J = 15,0$ Hz, 1H) e outro em 2,73 δ ($J = 4,0$ e $J = 15,0$ Hz, 1H), correspondente a dois prótons benzílicos, H_{ax} e H_{eq} respectivamente.

Tab. 13 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância V e V-Ac (100 MHz), em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Prótons	V				V-Ac			
	δ	feição	[H]	J(Hz)	δ	feição	[H]	J(Hz)
$\text{CH}_3\text{-9}'$	0,86	d	3	7,0	0,86	d	3	7,0
$\text{CH}_3\text{-9}$	1,06	d	3	7,0	1,08	d	3	7,0
H-8 e 8'	1,3-1,8	m	2		1,40-1,90	m	2	
$\text{H}_{\text{ax}}\text{-7}'$	2,53	dd	1	11,0;15,0	2,60	dd	1	11,0;15,0
$\text{H}_{\text{eq}}\text{-7}'$	2,73	dd	1	4,0;15,0	2,82	dd	1	4,0;15,0
$\text{H}_{\text{ax}}\text{-7}$	3,4	d	1	10,0	3,45	d	1	10,0
OCH_3	3,84	s	3	-	3,82	s	3	-
O_2CH_2	5,90	s	2	-	5,94	s	2	-
OH	5,32	s(1)	1	-	-	-	-	-
H-3'	6,27	s	1	-	6,35	s	1	-
H-2	6,54	s(1)	1	-	6,55	s(1)	1	-
H-6'			1	-	6,66	s	1	-
H-6	6,62	dd	1	8,0; 2,0	6,60-6,64	dd	1	8,0; 2,0
H-5	6,74	d	1	8,0	6,74	d	1	8,0
$\text{H}_3\text{C-C-O}$	-	-	-	-	2,25	s	3	

d) Um dubleto em 3,4 δ ($J = 10,0$ Hz, 1H) atribuído a próton duplamente benzílico.

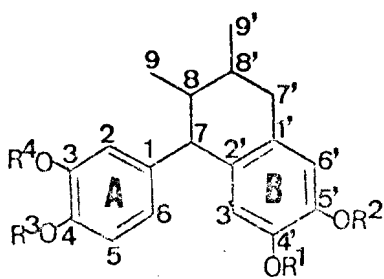
Os dados descritos permitiram sugerir a constituição parcial 17 para a substância V.



17

Alteração do espectro u.v. ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 240 (ϵ :4660), 290 (ϵ :4830)) após adição de hidróxido de sódio indicou a presença de hidroxila fenólica na substância V, sendo confirmada pelo espectro de r.m.n. ^1H do derivado acetilado (Fig. V-5, Tab. 13).

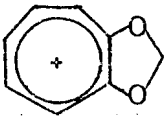
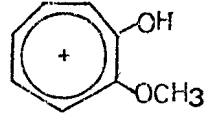
As feições dos sinais correspondentes aos prótons aromáticos (Tab. 13) e os picos em m/e 135 e 137 do espectro de massa (Fig. V-8) (Quadro 4), permitiram ampliar a constituição parcial 17 para 18.



- a : $R^1, R^2 = -\text{CH}_2-$; $R^3 = \text{CH}_3$ e $R^4 = \text{H}$
b : $R^1, R^2 = -\text{CH}_2-$; $R^3 = \text{H}$ e $R^4 = \text{CH}_3$
c : $R^3, R^4 = -\text{CH}_2-$; $R^1 = \text{H}$ e $R^2 = \text{CH}_3$
d : $R^3, R^4 = -\text{CH}_2-$; $R^1 = \text{CH}_3$ e $R^2 = \text{H}$

18

Quadro 4 - Interpretação dos picos em m/e 135 e 137 que aparecem no espectro de massa da substância V.

Fragmentos	m/e	%
	135	24
	137	4

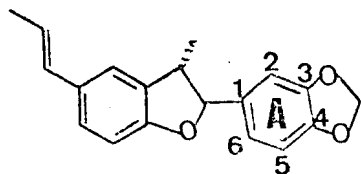
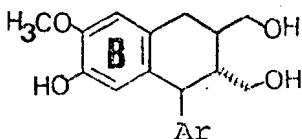
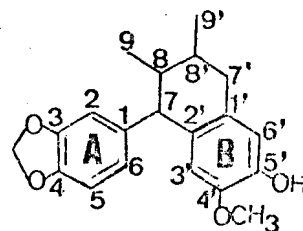
As constituições 18.b e 18.c são biogeneticamente [9] mais prováveis, correspondendo, respectivamente, à isotobafenol e à isotobafenol [23], devido a localização da hidroxila em posição para à cadeia lateral.

A análise comparativa dos deslocamentos químicos dos prótons de V e do derivado acetilado (V-Ac) (Figs. V-4 e V-5, Tab. 13) mostrou que o sinal do próton H-6' sofreu deslocamento paramagnético de 0,12 δ e os sinais dos demais prótons praticamente não sofreram modificação, surgindo, assim, a constituição 18d como mais provável, ainda não descrita na literatura.

A análise dos dados do espectro de r.m.n. ^{13}C (Fig. V-6 e V-7, Tab. 14), em comparação com modelos descritos na literatura (19) [7] e (20) [20], confirmou a presença do grupo piperonila, devido à semelhança dos deslocamentos químicos dos carbonos 1'-6' de V com os do modelo 19 [7].

A Tabela 14 mostra, ainda, as diferenças nos deslocamentos químicos dos carbonos 3'-6' do anel B de V e do anel B do modelo 20 [20], concordando, mais uma vez, com a cons-

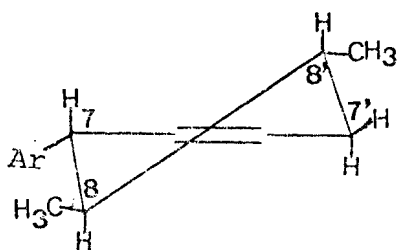
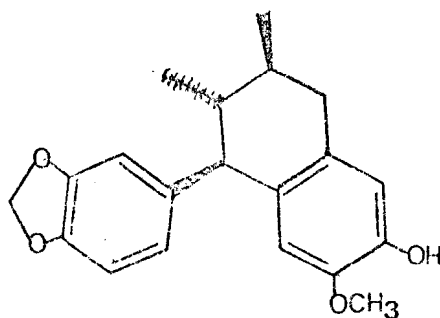
tituição 18d como mais provável.

192018d

Tab. 14 - Comparação dos deslocamentos químicos, em ppm (δ), dos carbonos de V com modelos citados na literatura [20] e [7].

Carbonos	δ		
	δ (18d)	<u>19</u>	<u>20</u>
1'	128,4		127,2
2'	140,3		136,8
3'	110,0		115,8
4'	144,7		144,1
5'	143,3		147,1
6'	115,4		110,6
7'	39,2		
8'	35,6		
9'	20,0		
1	133,1	134,0	
2	107,6	106,3	
3	147,6	147,5	
4	145,7	147,2	
5	109,9	107,7	
6	122,6	119,7	
7	54,2		
8	43,8		
9	17,2		
OCH ₃	55,9	-	
O ₂ CH ₂	100,6	100,7	

A constante de acoplamento ($J = 10$ Hz) observado no sinal correspondente ao próton H-7 (3,4 δ), interagindo com H-8, permitiu deduzir que o H-7 e H-8 ocupam posições axiais. As constantes de acoplamento encontradas nos sinais dos prótons benzílicos ($H_{eq}^{-7'}$: 2,73 δ , dd, $J_{e,a} = 4,0$ e $J_g = 15,0$ Hz; $H_{ax}^{-7'}$: 2,53 δ , dd, $J_{a,a} = 11,0$ Hz e $J_g = 15,0$ Hz) indicaram para o próton H-8' posição axial. Estes dados possibilitaram propor a configuração relativa 21 para a substância V. Aliás, a conformação adotada pela molécula envolve menor conteúdo energético, já que os substituintes ocupam posições equatoriais.

2121a

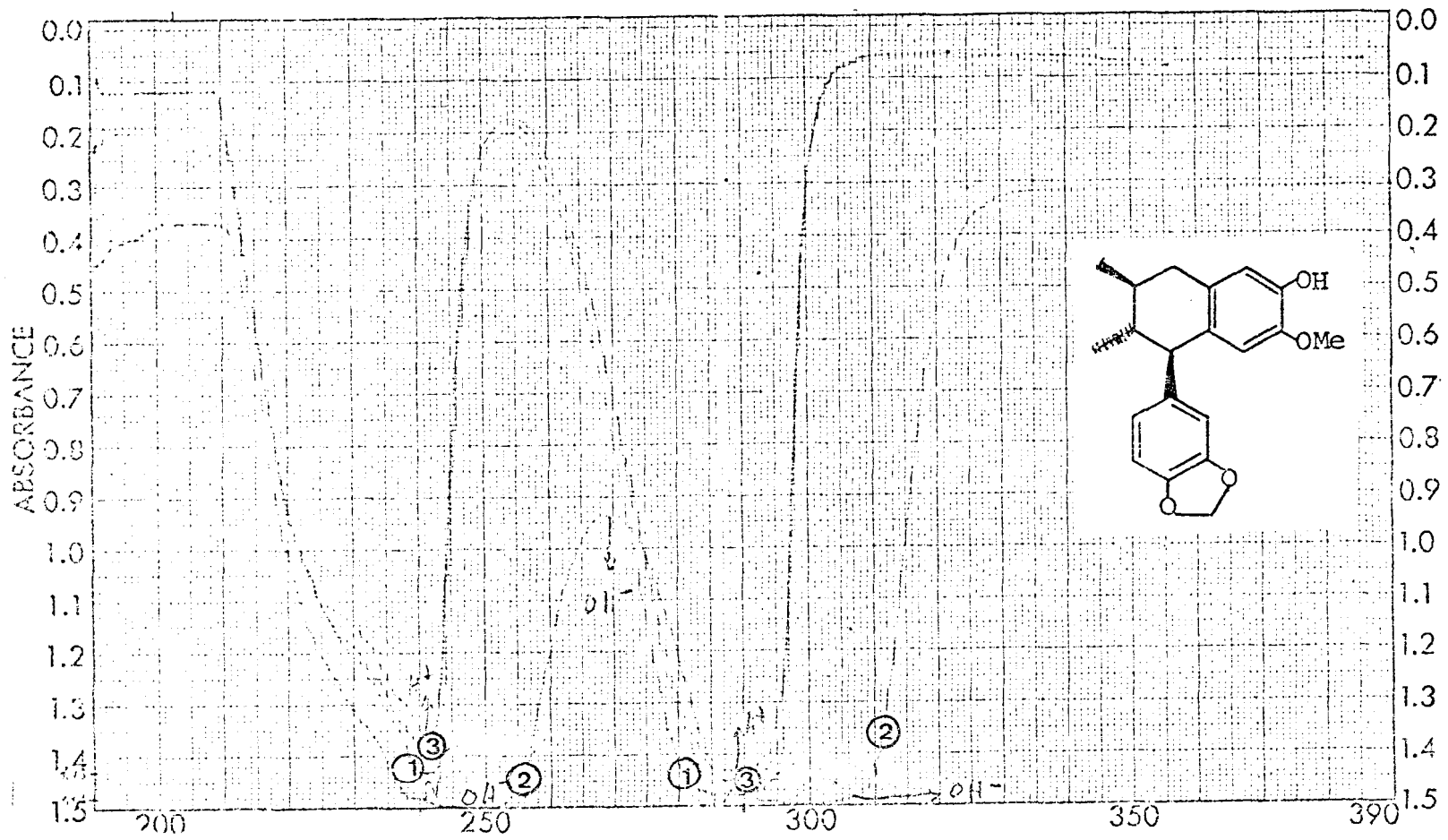


Fig. V-1 . Espectro u.v. da substância V em EtOH(1) e com aditivos: NaOH(2) e NaOH + HCl(3). Conc. 1mg/10ml.

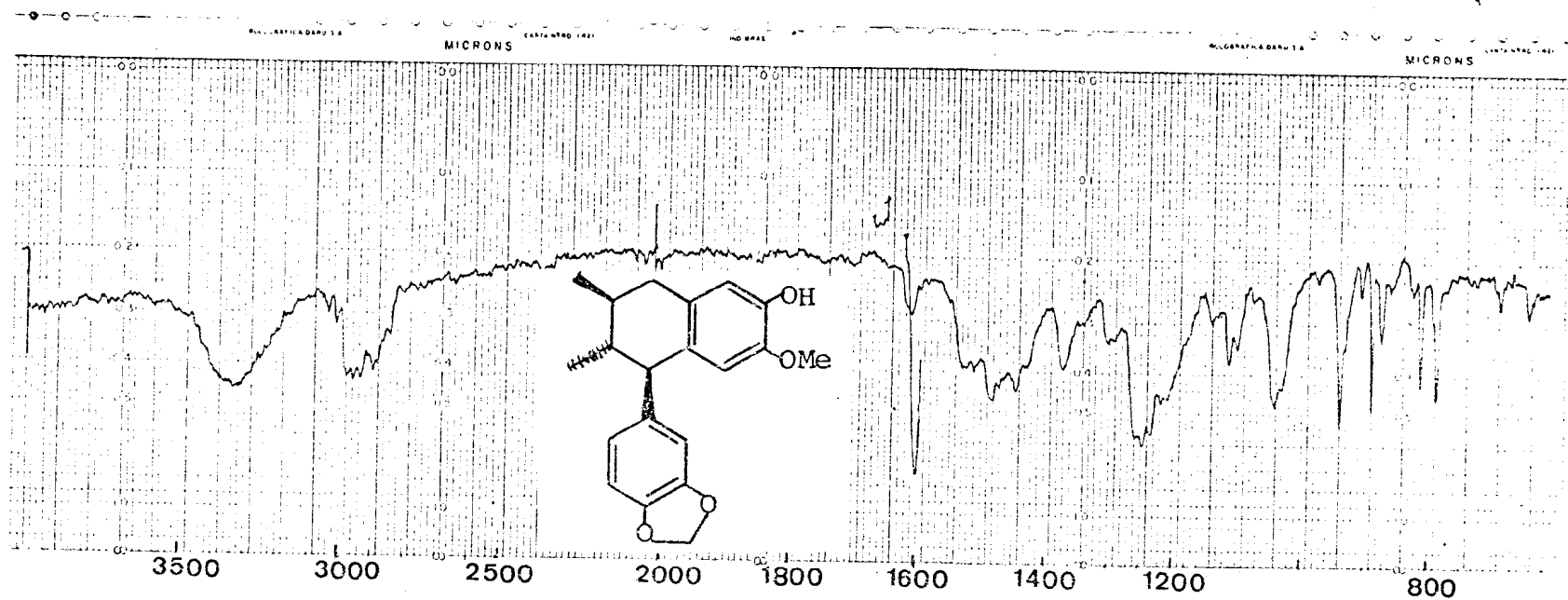


Fig. V-2 . Espectro i.v. da substância V, em KBr.

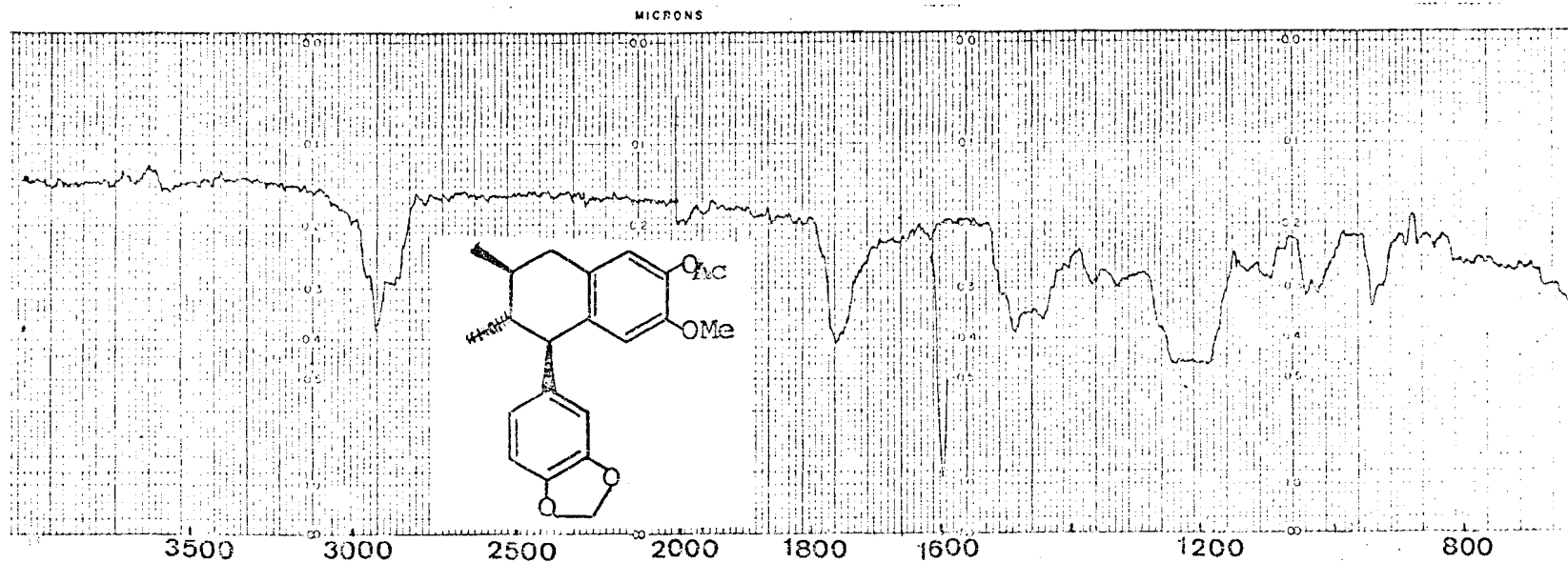


Fig. V-3 . Espectro i.v. do derivado acetilado de V, Filme.

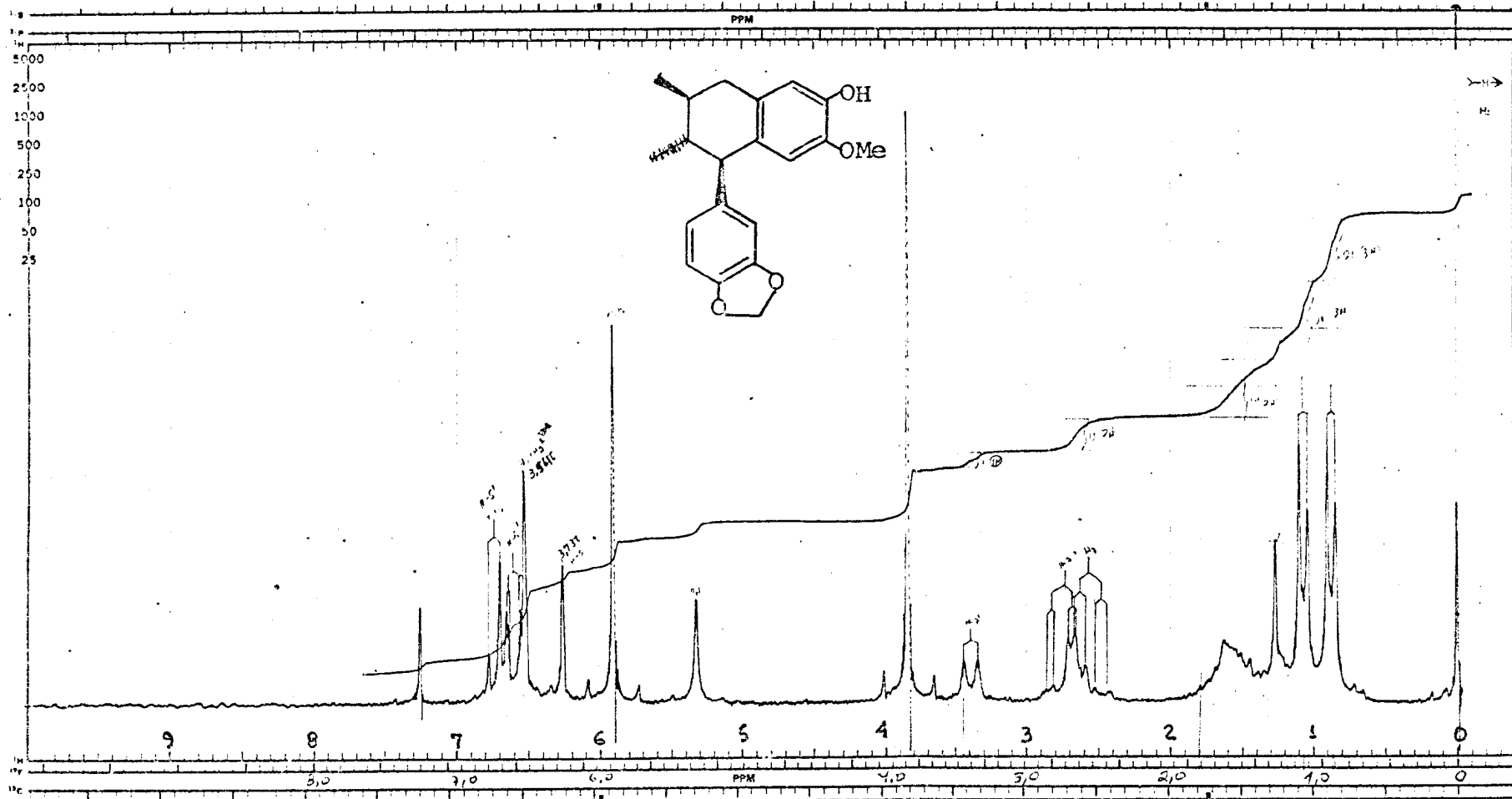


Fig. V-4 . Espectro de r.m.n.¹H (100 MHz) da substância V, em CDCl₃ e TMS como referência interna.

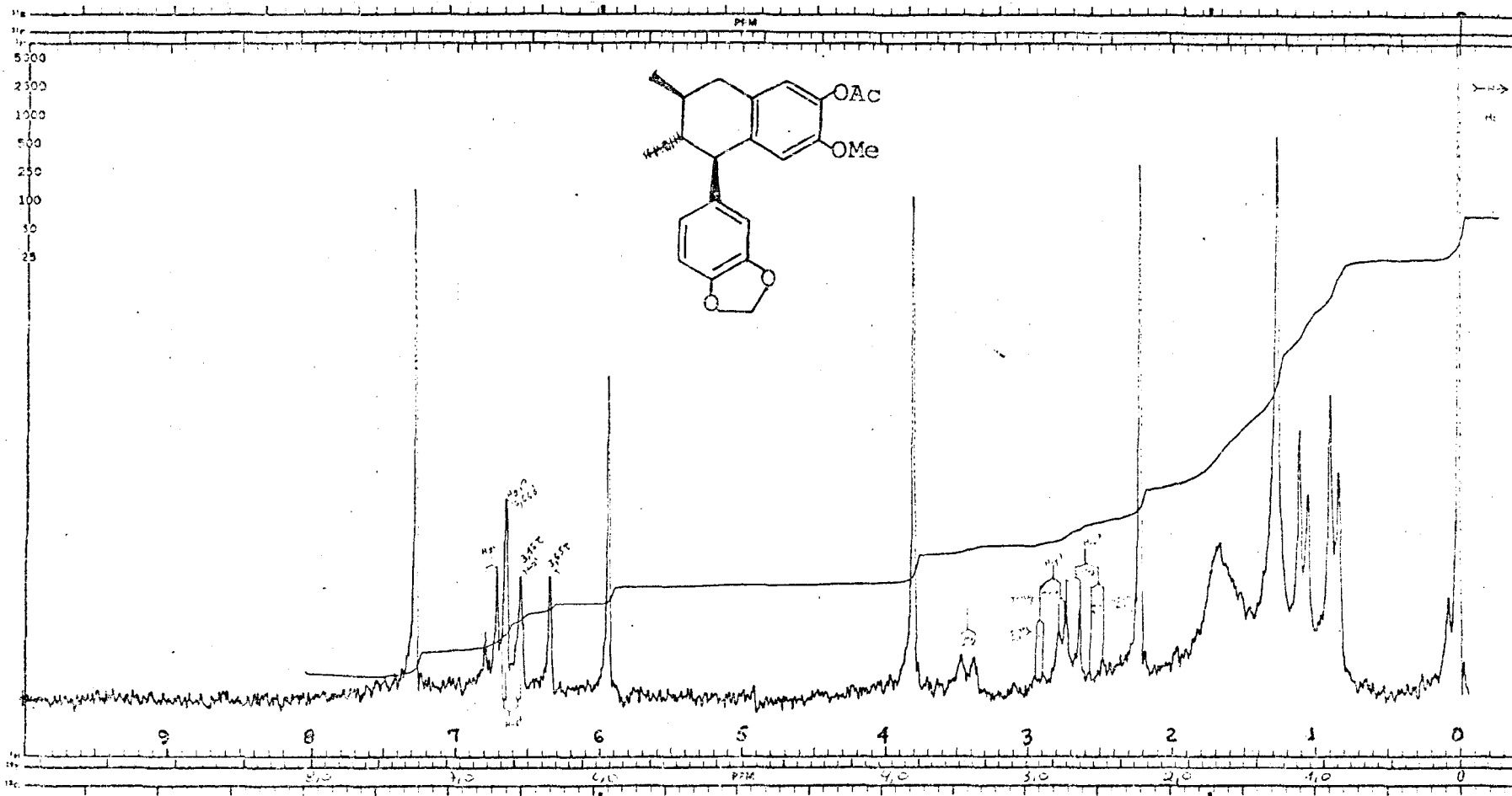


Fig. V-5 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) do derivado acetilado da substância V, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

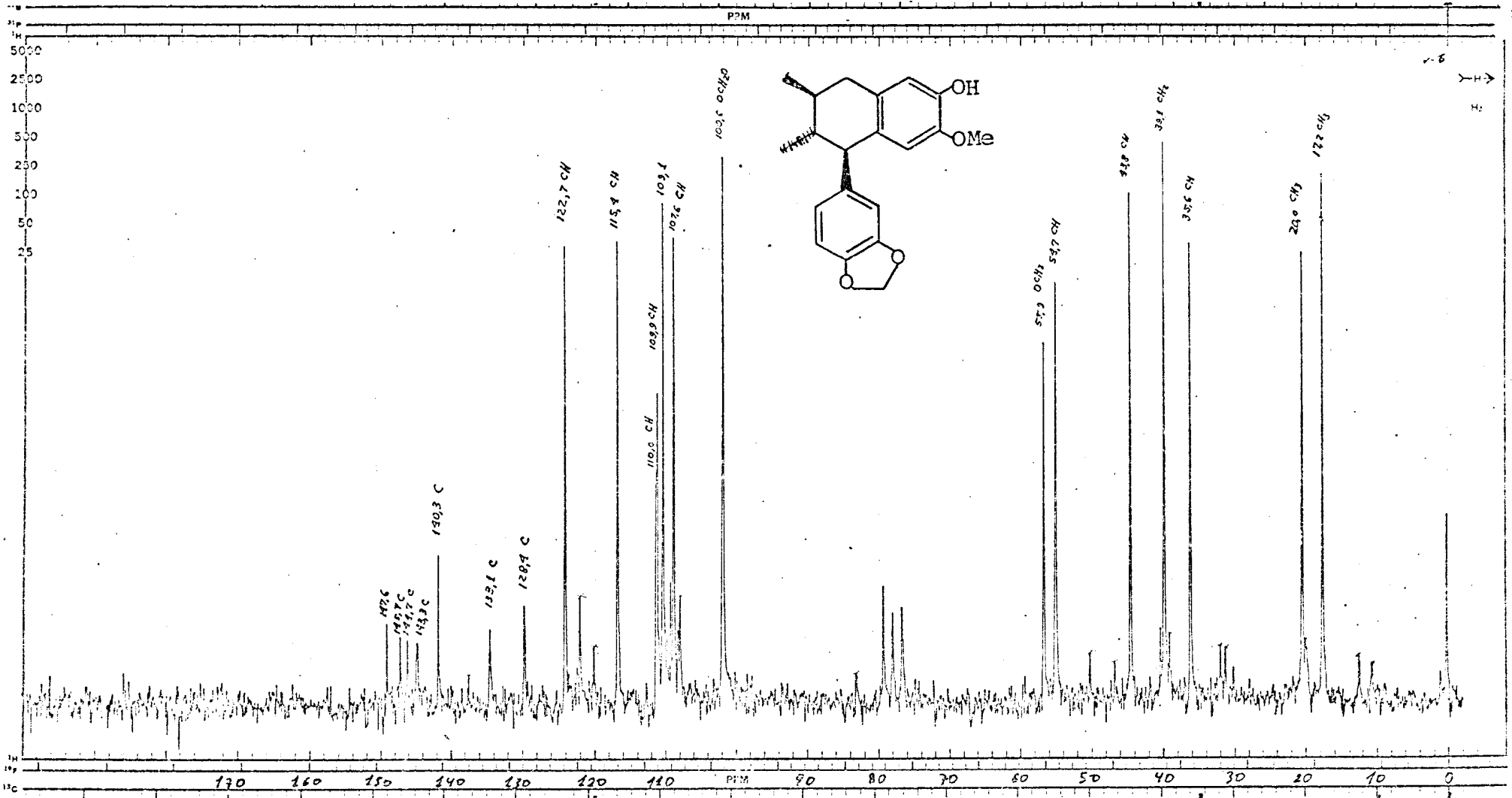


Fig. V-6 . Espectro de r.m.n.¹³C (25,2 MHz) da substância V, totalmente desacoplado, em CDCl₃ e TMS como referência interna.

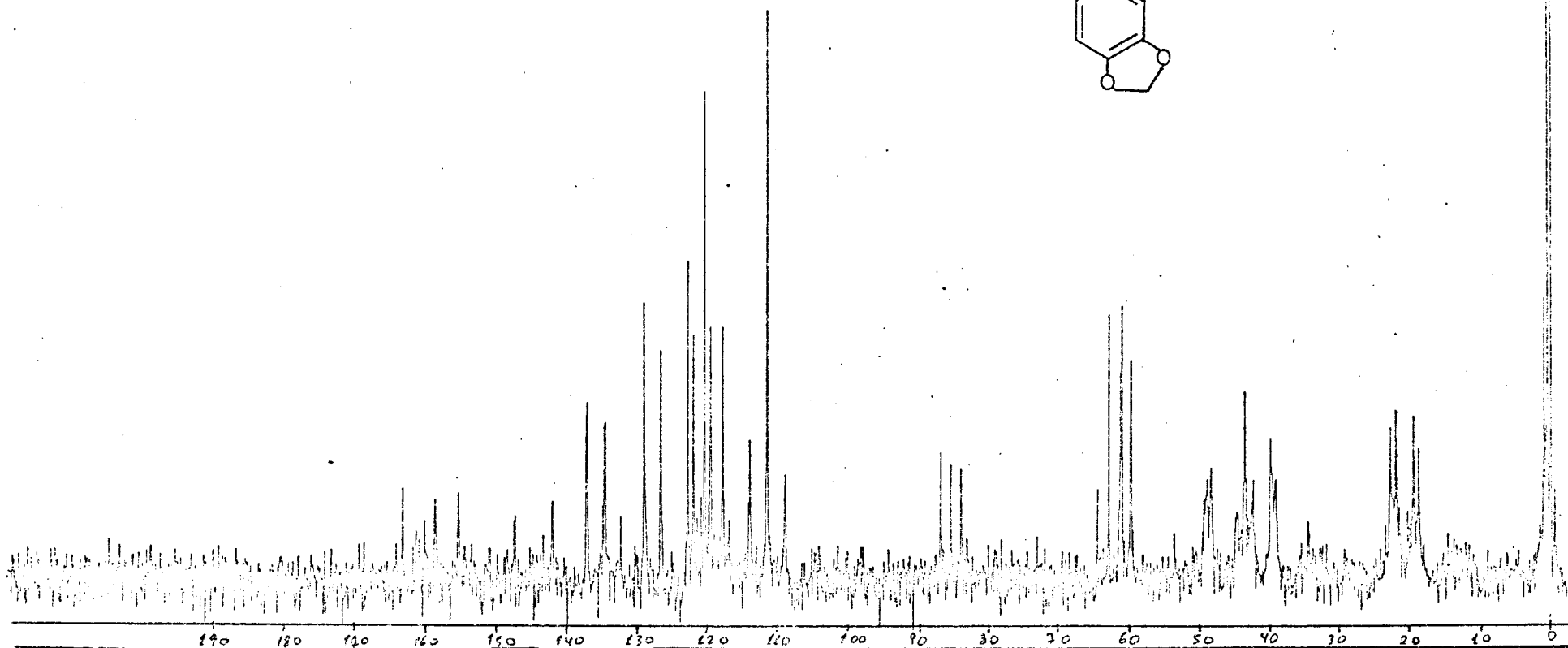
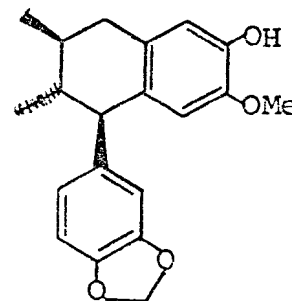


Fig. V-7 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) da substância V, com acoplamento residual, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

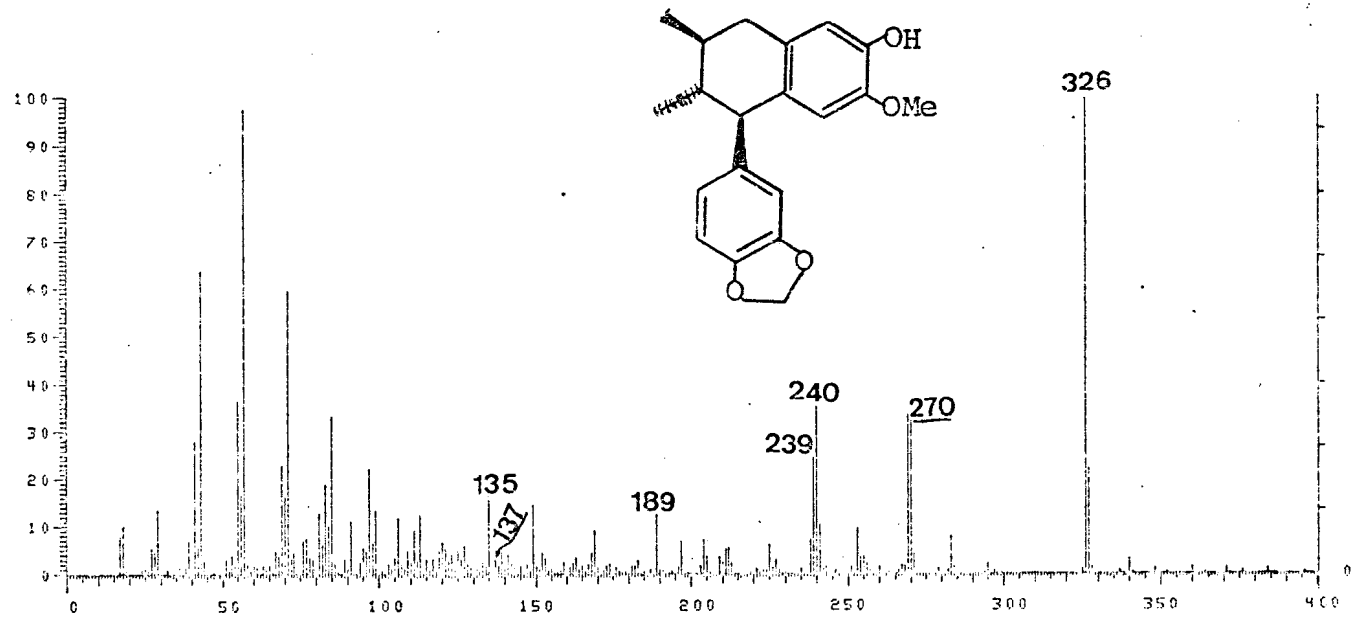


Fig. V-8 . Espectro de massa da substância V.

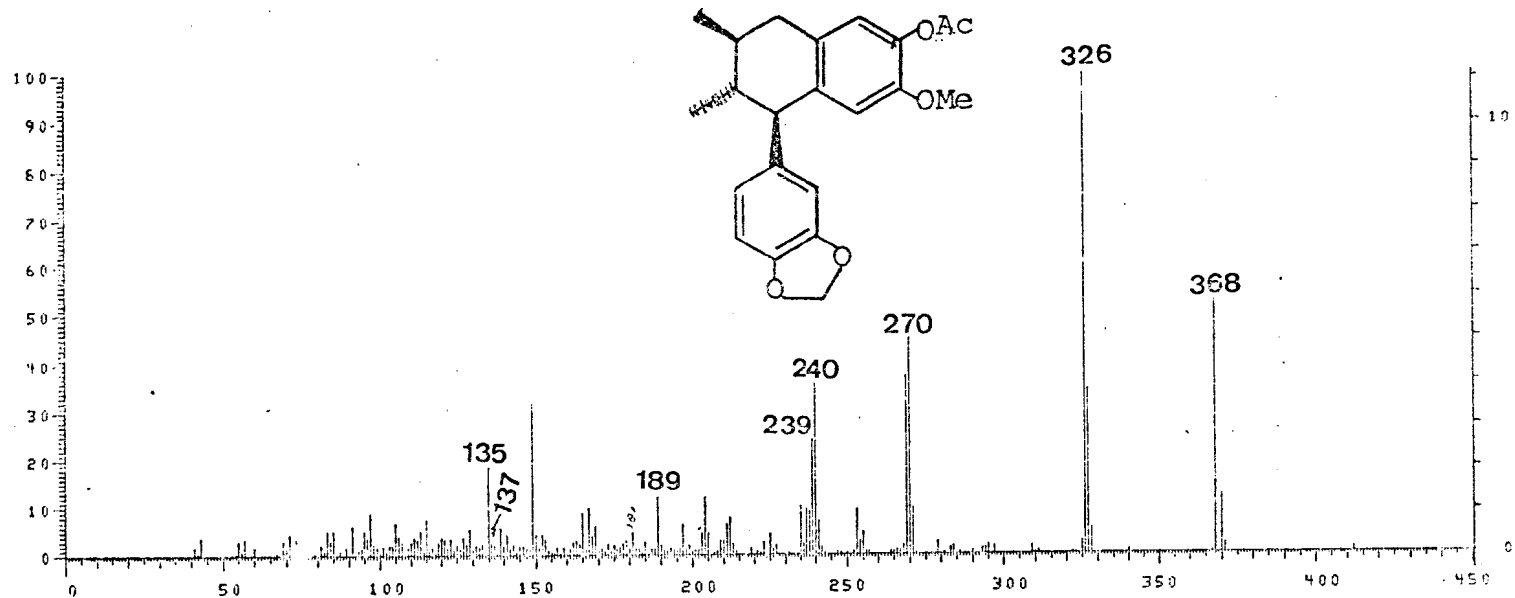
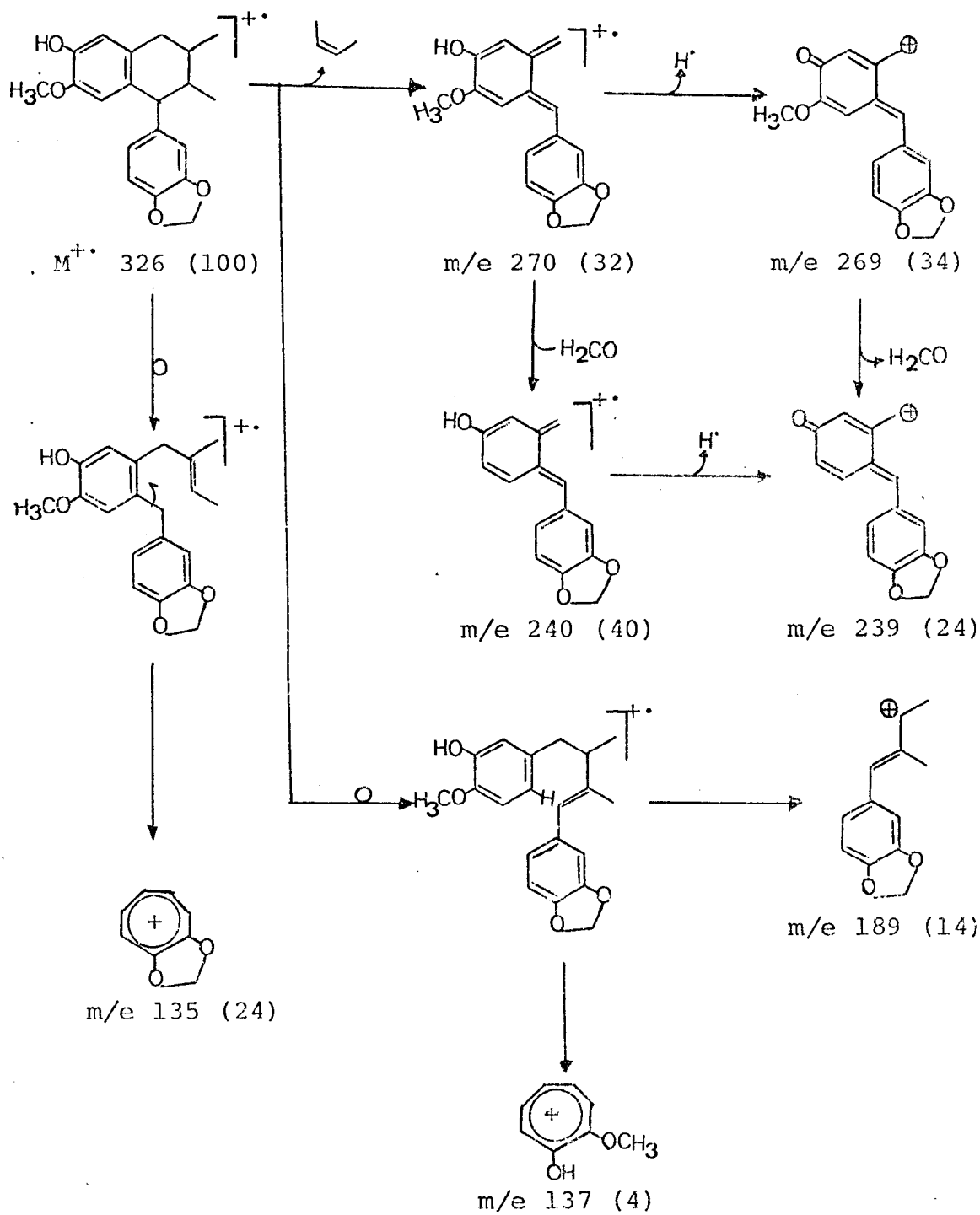
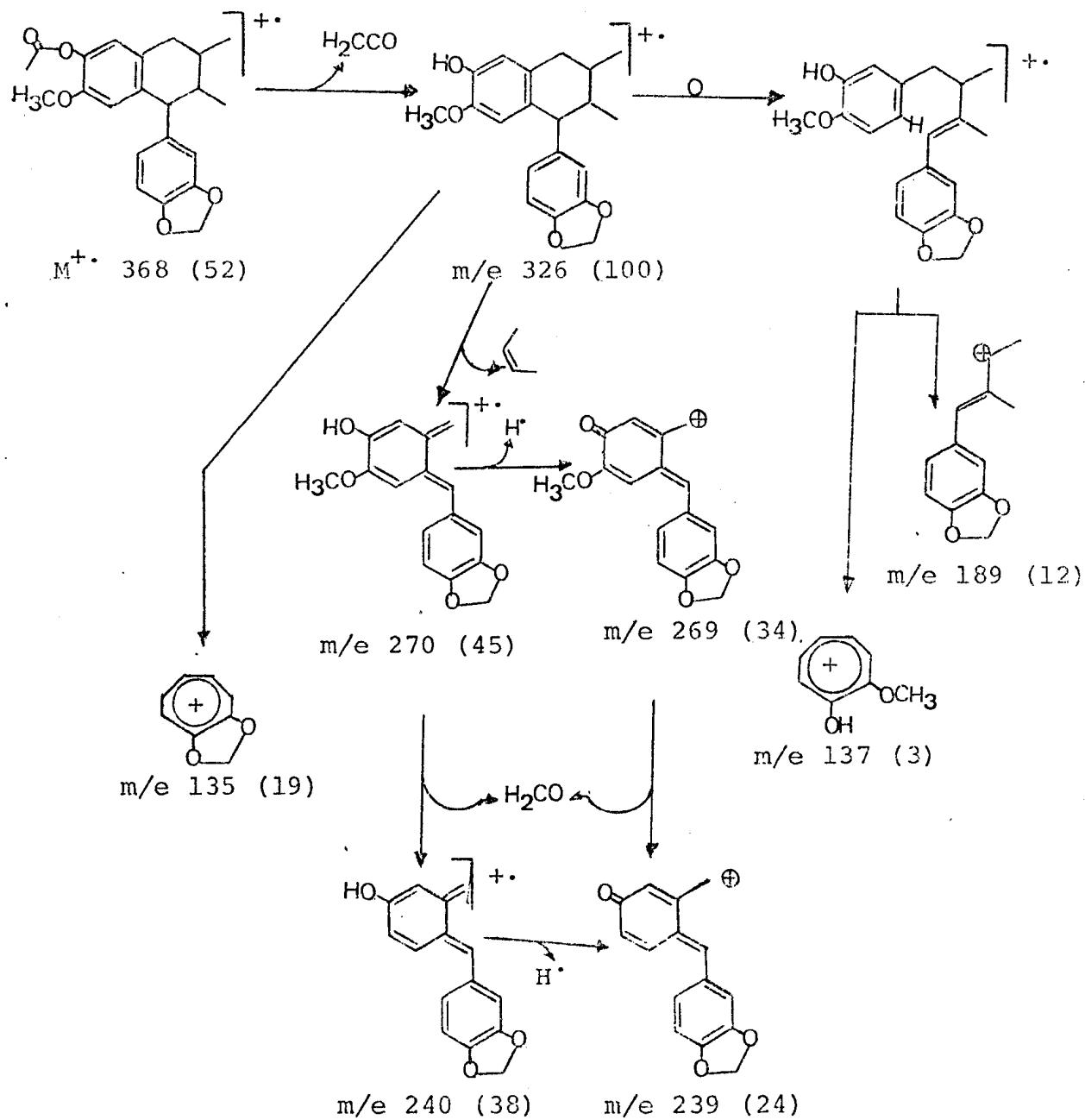


Fig. V-9 . Espectro de massa do derivado acetilado da substância V.

Esquema V-1. Interpretação do espectro de massa da substância V.



Esquema V-2. Interpretação do espectro de massa do derivado acetilado da substância V (V-Ac).



2.2.5.2 - Substância VI

A análise do espectro i.v. (Fig. VI-2, Tab. 15) da substância VI permitiu as deduções [2] descritas na Tab. 15 e confirmou a presença do grupo hidroxila.

Tab. 15 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro i.v. da substância VI.

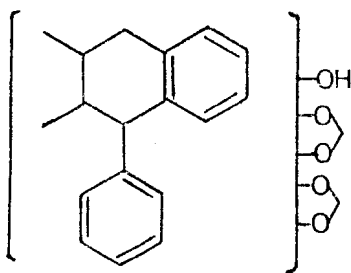
$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1})	Grupos funcionais
3500	$\nu_{\text{O-H}}$
2850-3000	$\nu_{\text{C-H}} (\text{CH}_3, \text{CH}_2, \text{CH}, \text{etc.})$
1600	} $\nu_{\text{C=C}}$ (aromático)
1470	
1230	} $\nu_{\text{C-O}}$
1050	

O espectro de r.m.n. ^1H (Fig. VI-3, Tab. 16) confirmou a natureza neolignânica, com designação 8.8', 7.2' [1]. Esta dedução baseou-se nas seguintes observações:

- A presença de dois sinais duplos em 0,91 δ ($J = 6 \text{ Hz}$, 3H) e 1,05 δ ($J = 6 \text{ Hz}$, 3H), representando dois grupos metílicos;
- Um multiplete em 1,5-2,0 δ correspondente a dois prótons metínicos;
- Dois duplos dubletos, um em 2,56 δ ($J = 10,0 \text{ Hz}$ e $J = 15,0 \text{ Hz}$) e outro em 2,76 δ ($J = 4,0 \text{ Hz}$ e $J = 15,0 \text{ Hz}$), corres-

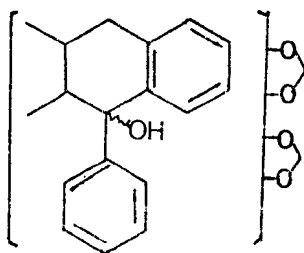
pendentes a dois prótons benzílicos, sendo um axial (2,56 δ) e outro equatorial (2,76 δ).

Os dados discutidos permitiram sugerir a constituição parcial 22 para a substância VI.

22

Inalteração do espectro u.v. ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 240 (ϵ : 4420), 290 (ϵ : 4350)) após adição de hidróxido de sódio indicou a ausência de hidroxila fenólica na substância VI.

A ausência de absorção em torno de 3,4 δ no espectro de r.m.n. ^1H (Fig. VI-3, Tab. 16), correspondente ao próton duplamente benzílico, sugeriu a localização do grupo hidroxila no átomo 7 (23).

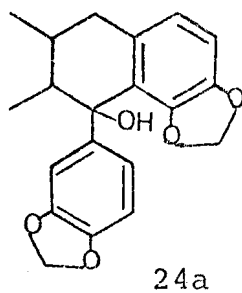
23

A presença do pico m/e 284 (47%), entre outros, apoiou esta dedução (Fig. VI-6, Esquema VI-1).

Tab. 16 - Dados espectrais de r.m.n.¹H (100 MHz) da substância VI comparados com os da hidroxiotobaina [25] (60 MHz), em CDCl₃ e TMS como referência interna.

	VI				hidroxiotobaina (24b)			
	δ	feição	[H]	J(Hz)	δ	feição	[H]	J(Hz)
CH ₃ -9'	0,90	d	3	6,0	0,86	d	3	6,0
CH ₃ -9	1,05	d	3	6,0	1,03	d	3	6,0
H-8 e 8'	1,50-2,00	m	2		1,62	m	2	
H _{ax} -7'	2,56	dd	1	10,0;15,0	} 2,58	m	2	
H _{eq} -7'	2,78	dd	1	4,0;15,0				
OH	2,26	s(1)	1	-	2,10			
O ₂ CH ₂ (3',4')	5,58	s(1)	1		5,48	d	1	1,0
	5,74	s(1)	1		5,62	d	1	1,0
O ₂ CH ₂ (3,4)	5,95	s	2	-	5,84	s	2	
H-2,5 e 6	} 6,55-6,90	m	5		6,7	} m	5	
H-5' e H-6'					6,6			
					6,5			

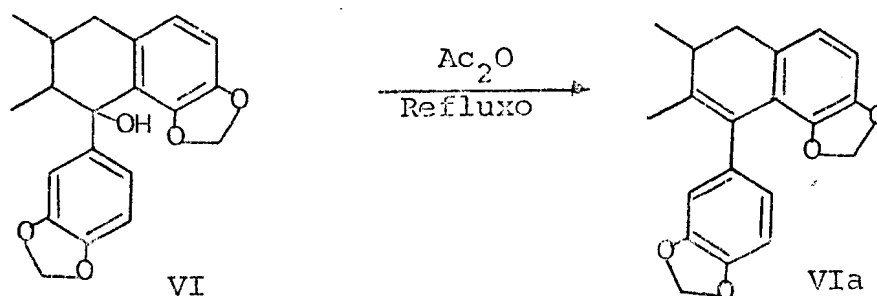
Os sinais em 5,74 δ , 5,58 δ (Sistema AB) e 5,95 δ dos grupos metilenodioxil, no espectro de r.m.n.¹H (Fig. VI-3, Tab. 16), permitiram sugerir a constituição 24a, semelhante à hidroxiotobaina (24b), substância isolada da Miristica otoba por Fortune Kohen et. al. [25]. Comparação dos dados de r.m.n.¹H da substância VI com a hidroxiotobaina (Tab. 16) revelou a semelhança entre as duas substâncias.



b. Ar/CH₃-9 : cis } hidroxiotobaina
 CH₃/CH₃: trans }

Com o objetivo de confirmar a posição da hidroxila em 7, submeteu-se a substância VI a desidratação (Equação 1).

Equação 1:



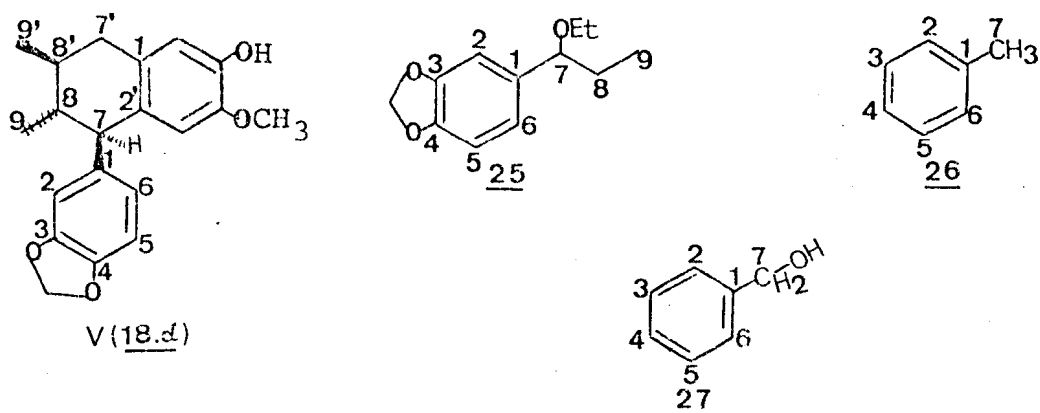
Os dados dos espectros i.v. (Fig. VI-7), de r.m.n.¹H (Fig. VI-8) e de massa (Fig. VI-9, Esquema VI-2) do derivado obtido (VIa) permitiram as seguintes deduções:

- a) Ausência da absorção em 3500 cm⁻¹ no espectro i.v. (Fig. VI-7), correspondente ao estiramento do grupo OH;

- b) Presença de um singlete em $1,78 \delta$ (3H) no espectro de r.m.n. ^1H (Fig. VI-8), correspondente ao CH_3 -9 ligado a carbono sp^2 olefínico;
- c) Ausência do singlete largo em $2,26 \delta$, correspondente a absorção do próton da hidroxila;
- d) O espectro de massa (Fig. VI-9, Esquema VI-2) mostrou o pico correspondente ao ion molecular em m/e 322, correspondente à massa de VI menos 18 unidades (H_2O);
- e) O espectro de massa não apresentou picos em m/e 283 e 284, presentes no espectro da substância original.

A estrutura VIa corresponde à otobaena, substância também isolada da Miristica otoba por Fortune Kohen et al. [25], que sugeriram tratar-se de um artefato originado da hidroxiotobaina durante o processamento cromatográfico em alumina.

A análise comparativa dos deslocamentos químicos dos carbonos de VI (Fig. VI-4 e VI-5, Tab. 17) com modelos da literatura, (25) [7] e 26 e 27 [26], permitiram confirmar a estrutura (24a) proposta. A semelhança dos deslocamentos químicos dos carbonos do grupo piperonila de VI com os do padrão 25 [7] (Tab. 17) confirmou a presença deste grupo. Os deslocamentos diamagnéticos observados nos átomos de carbono 2 e 6 decorreram da presença do grupo OH em 7, como verificado na comparação entre 25, 26 e 27 (Tab. 18). Fenômeno análogo é observado na comparação dos deslocamentos químicos destes carbonos nas substâncias VI e V.



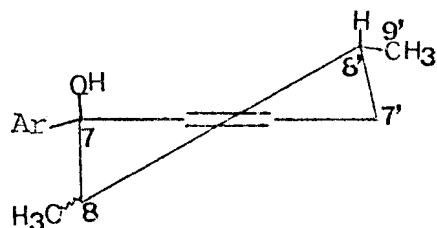
As diferenças entre os deslocamentos químicos dos carbonos 3' e 5', e as feições dos sinais, das substâncias VI e V justificam a posição do metilenodioxí em 3',4' na substância VI.

Tab. 17 - Comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de V e VI com os padrões 25, 26 e 27.

Carbonos	VI	V	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>27</u>
1'	131,0	128,4			
2'	126,1	140,3			
3'	144,9	110,0			
4'	145,6	144,7			
5'	108,0 ^a	143,3			
6'	120,7	115,4			
7'	39,8	39,2			
8'	31,4	35,6			
9'	19,7	20,0			
1	142,3	133,1	} [136,9 106,5 147,6 146,5 107,6 120,0	137,8	141,0
2	106,8	107,6		129,3	127,3
3	146,8	147,6		128,5	127,3
4	145,9	145,7		125,6	127,3
5	107,0 ^a	109,9		107,6	
6	118,8	122,6		120,0	129,3
7	75,7	54,2	83,2		
8	49,5	43,8	31,0		
9	10,5	17,2	10,2		
O ₂ CH ₂	100,7	100,6	100,7		

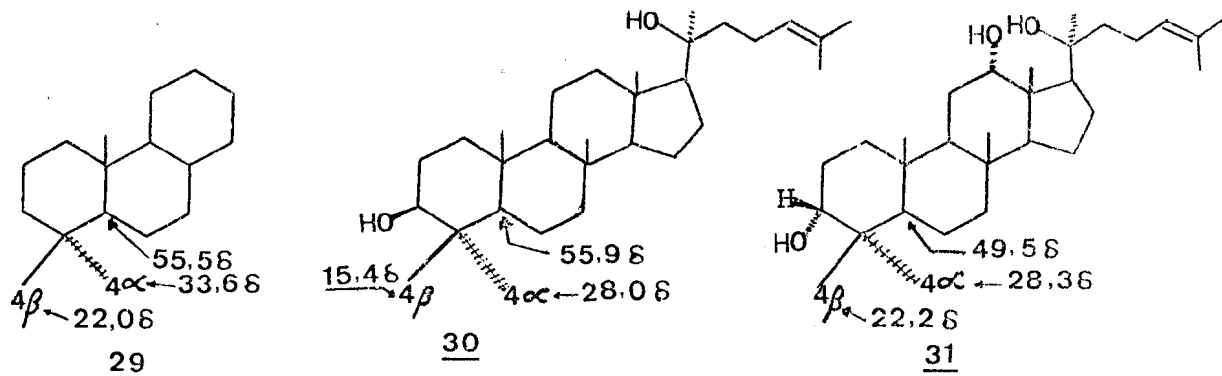
^aOs valores podem ser trocados.

O deslocamento químico do átomo de carbono 8' (31,4 δ) da substância VI, comparado com o da substância V (35,6 δ), (Tab. 17), reflete a localização axial da hidroxila em C-7. O deslocamento diamagnético (31,4-35,6 = -4,2 δ) traduz o efeito γ exercido pela hidroxila sobre o átomo de carbono 7 em VI (28).



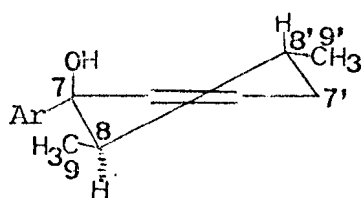
28 Ar = Piperonila

Esta dedução apoiou-se nos deslocamentos químicos do C-5' em 29 [27], 30 e 31 [28].



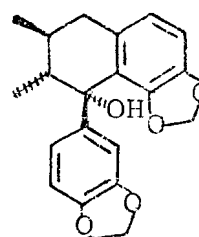
Os deslocamentos químicos dos CH₃-9' em VI (19,7 δ) e em V (20,0 δ), estrutura 18d, estão em completo acordo com a orientação equatorial deste grupo metila, como indicado em 28. Os valores de constantes de acoplamento observados nos sinais referentes aos prótons benzílicos, H_{ax}-7' (2,56 δ , dd, J = 10,0 e J = 15,0 Hz) e H_{eq}-7' (2,78 δ , dd, J = 4,0 e J = 15,0 Hz), confirmaram definitivamente esta dedução, já que a constante de acoplamento vicinal de 10,0 Hz indica interação axial-axial entre H_{ax}-7' e H_{ax}-8'.

Neste ponto restava considerar a estereoquímica do centro quiral 8. Os deslocamentos químicos dos átomos de carbono 7' em VI (39,8 δ) e em V (39,2 δ) indicaram a mesma disposição espacial do CH₃-9 nas duas substâncias. Como na substância V este grupamento ocupa posição equatorial (21), a posição do CH₃-9 da substância VI ficou definida como equatorial (32).

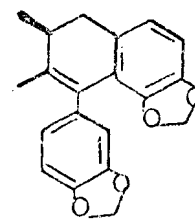


32

Ar = Piperonila



32a



33

Se o CH₃-9 ocupasse posição axial, o C-7' absorveria em campo mais alto, já que neste caso sentiria efeito γ do CH₃-9.

O aparecimento do sinal do C-9 (10,5 δ) em campo mais alto em relação ao C-9 de V (17,2 δ), resulta da introdução do grupo OH em 7. Comportamento análogo observa-se na comparação dos deslocamentos químicos dos CH₃-4 β e CH₃-4 α dos modelos 29, 30 e 31.

Assim, a estrutura 32a representa a configuração relativa da substância VI, correspondente a hidroxiotobaina descrita na literatura [23].

Conseqüentemente, o produto de desidratação (VIa) possui a configuração relativa 33, o que está em acordo com os valores das constantes de acoplamento registrados, nos sinais em 2,54 δ (dd, J = 14,0 e J = 3,6 Hz, H_{eq}-7') e em 3,0 δ (dd, J = 14,0 e J = 7 Hz, H_{ax}-7') que aparecem no espectro de r.m.n. ¹H (Fig. VI-8), prótons benzílicos. O próton axial absorve em campo mais baixo devido ao efeito anisotrópico adicional exercido pela ligação dupla olefínica.

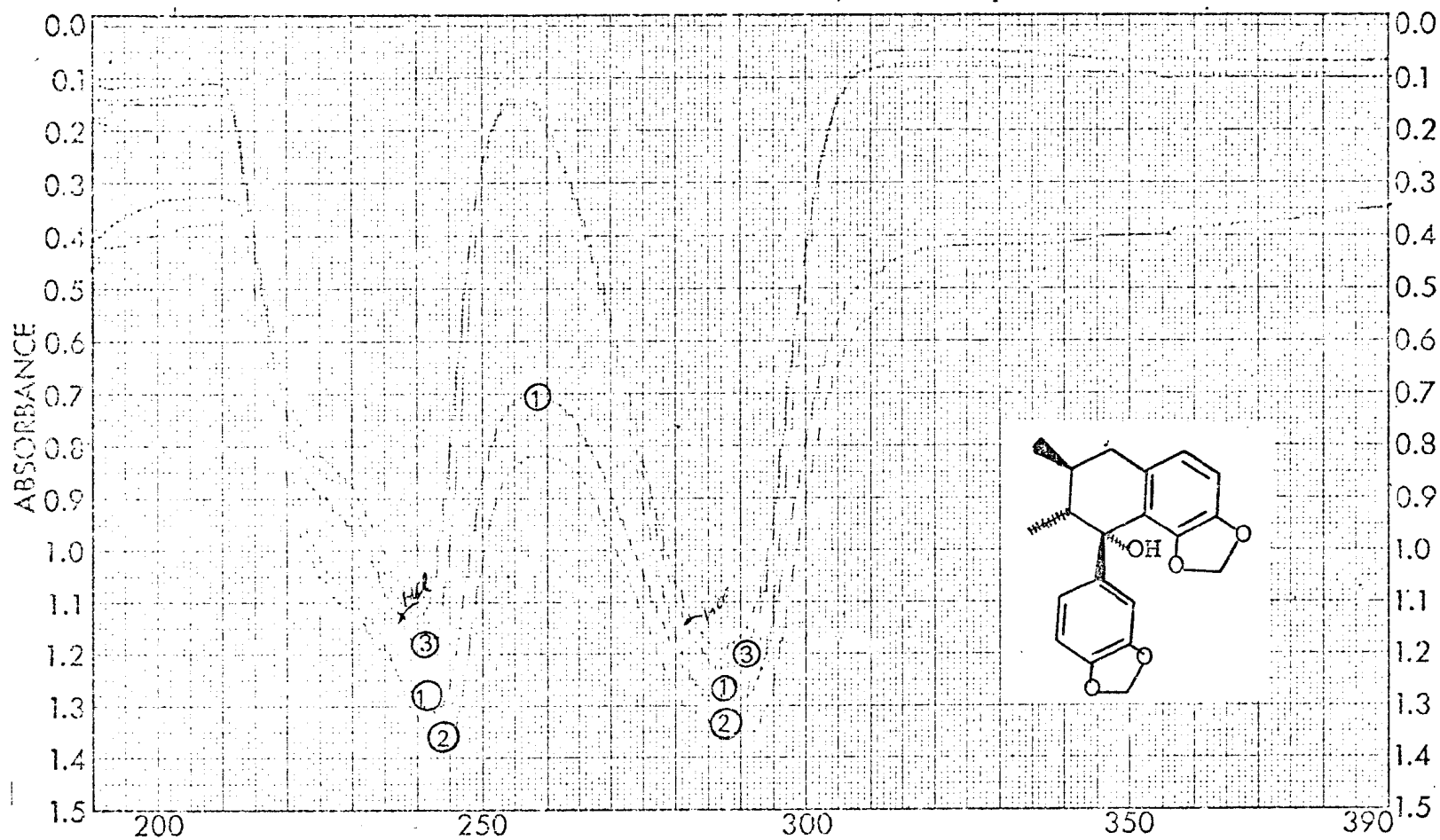


Fig. VI-1 . Espectro u.v. da substância VI em etanol (1) e com aditivo:
NaOH(2) e NaOH + HCl (3).

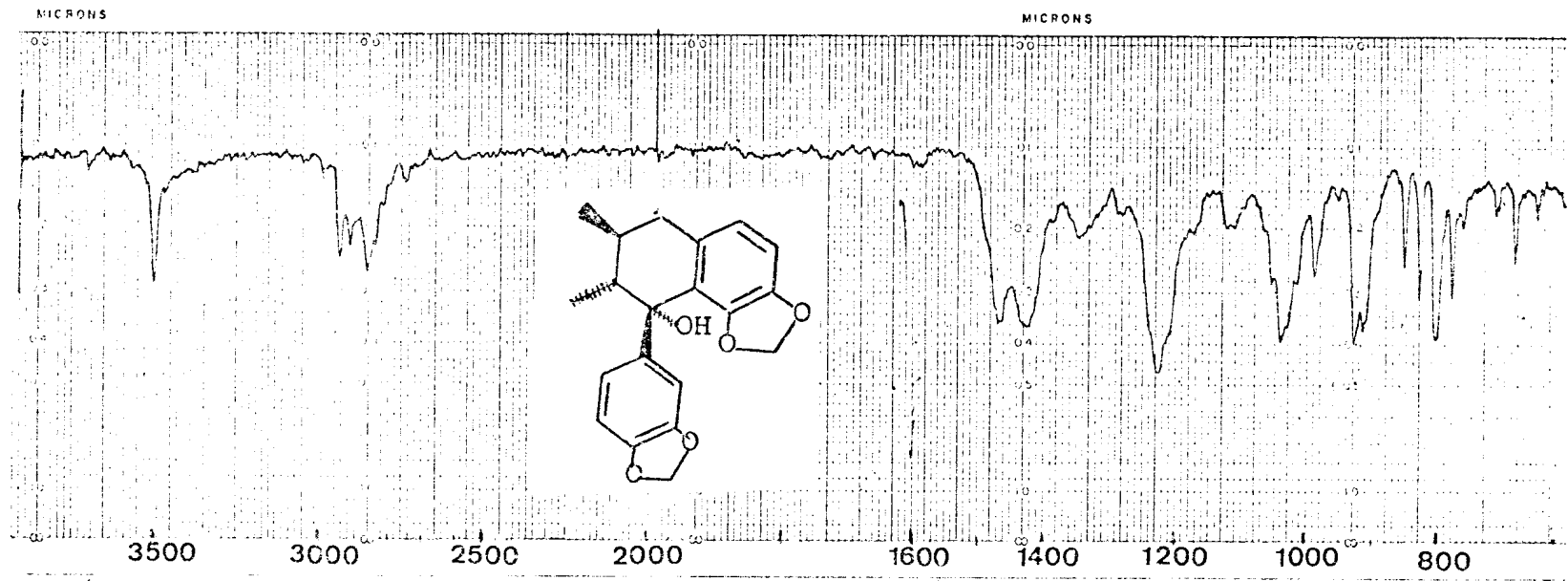


Fig. VI-2 . Espectro i.v. da substância VI, em KBr

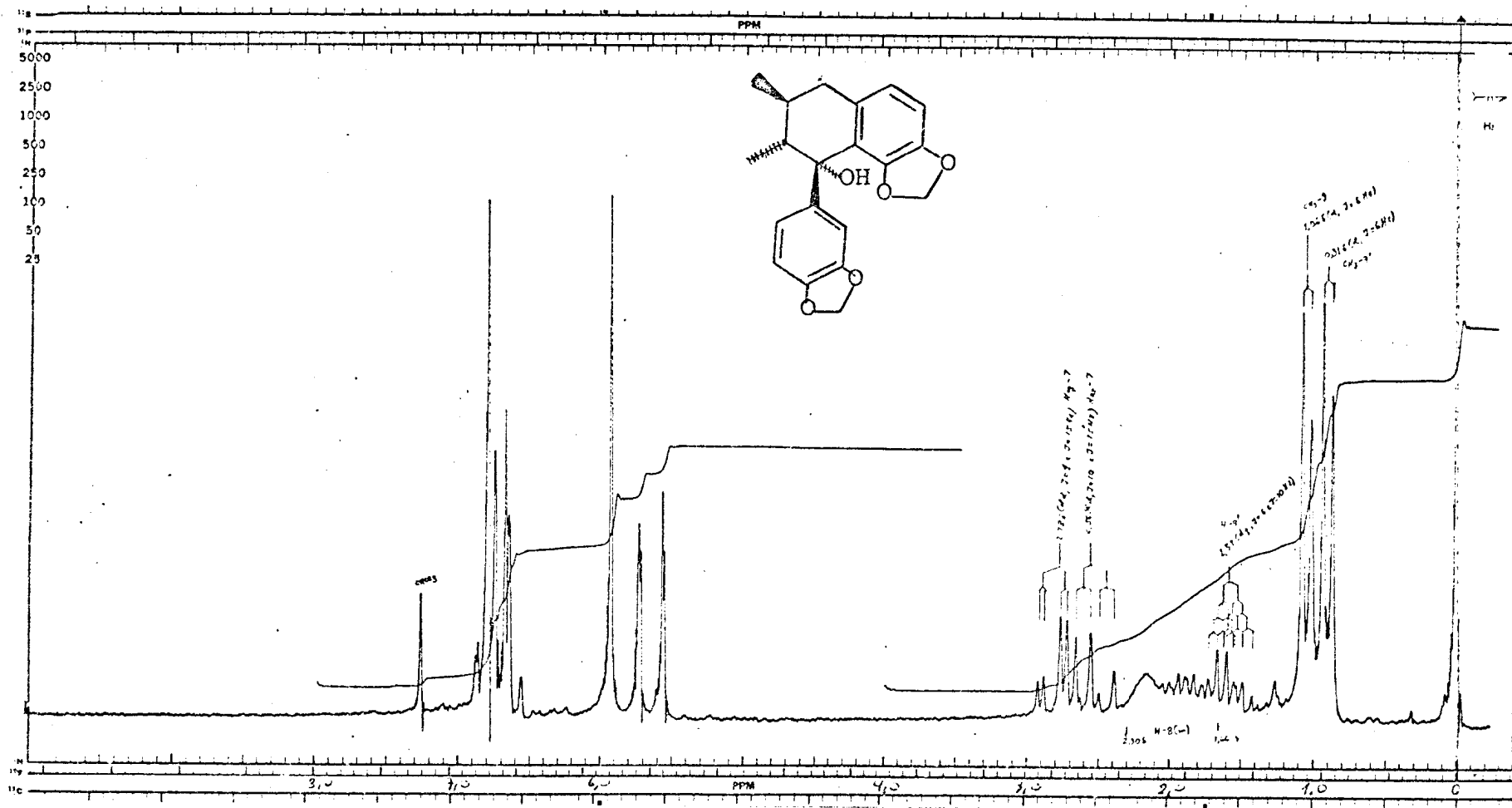


Fig. VI-3 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância VI, em CDCl_3 e TMS como referênci

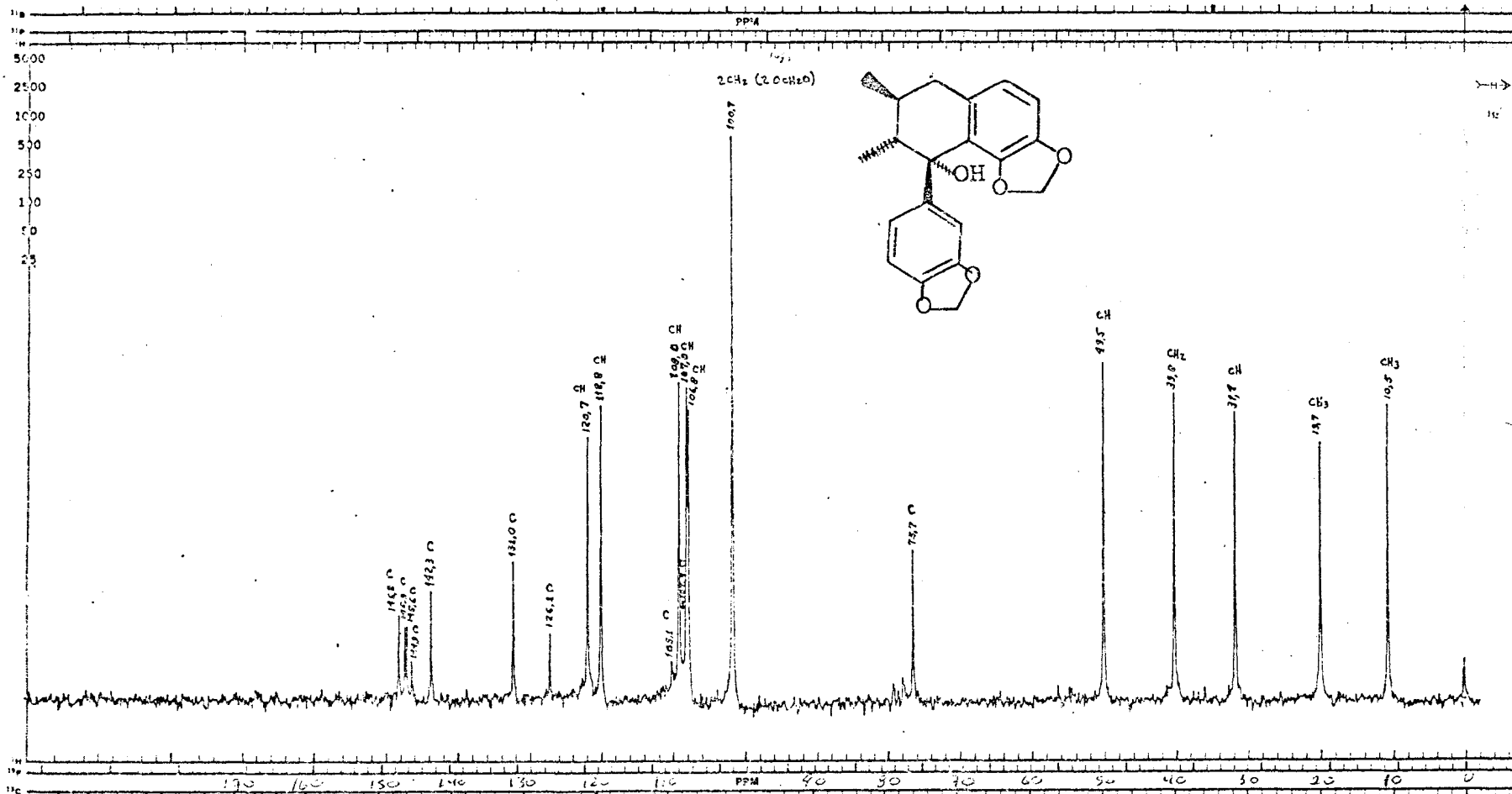


Fig. VI-4 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) totalmente desacoplado da substância VI, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

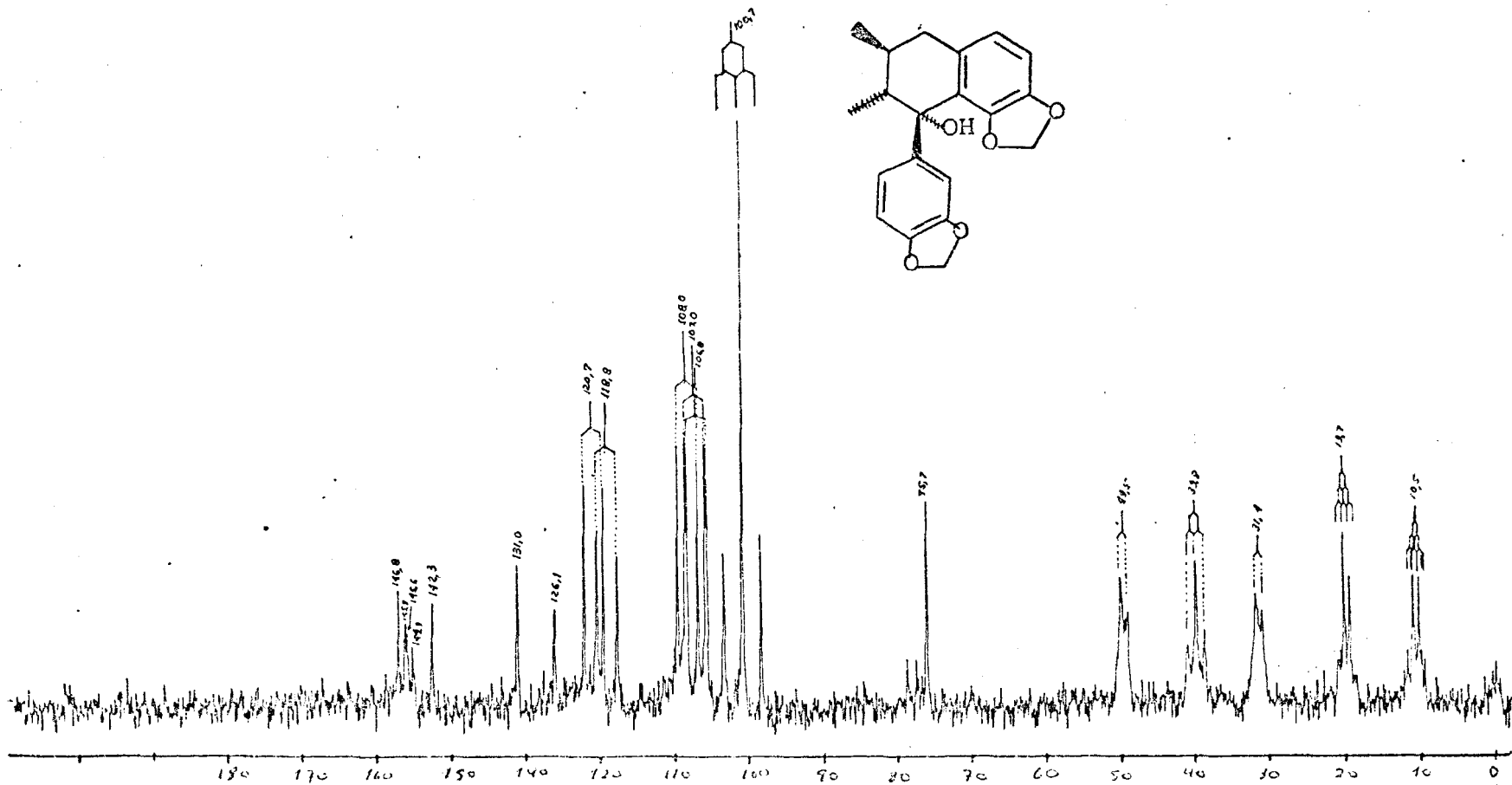


Fig. VI-5 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) com acoplamento residual da substância VI, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

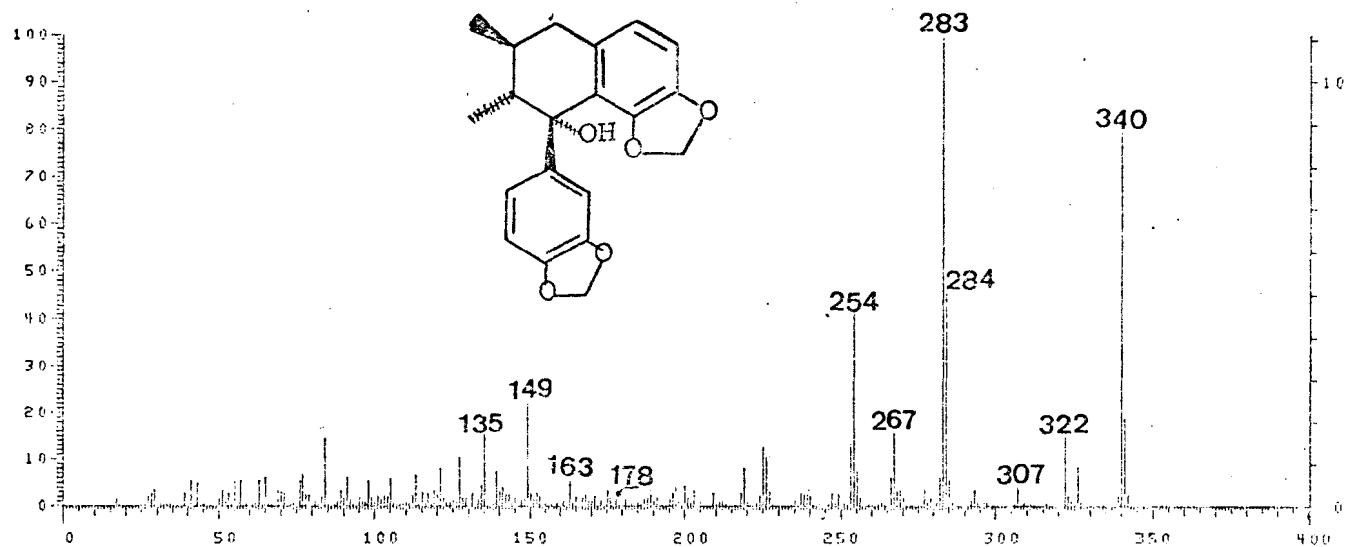


Fig. VI-6 . Espectro de massa da substância VI

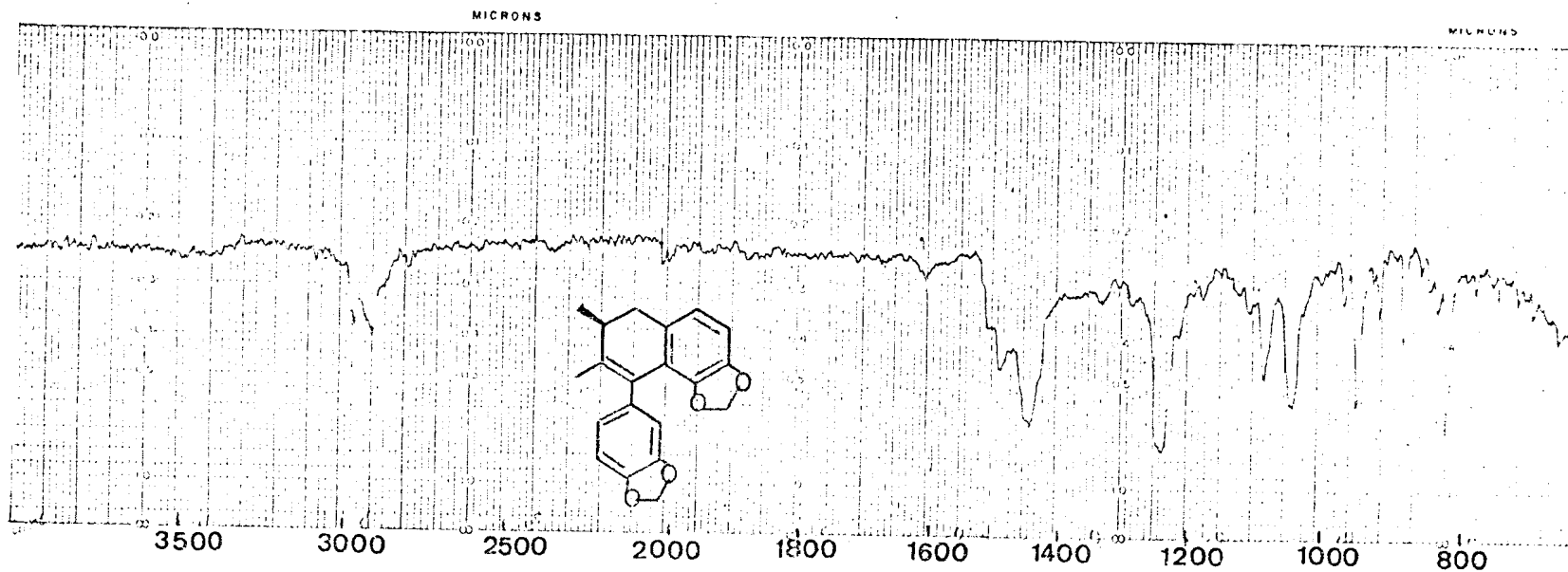


Fig. VI-7 . Espectro i.v. do produto de desidratação da substância VI (VIa), em KBr.

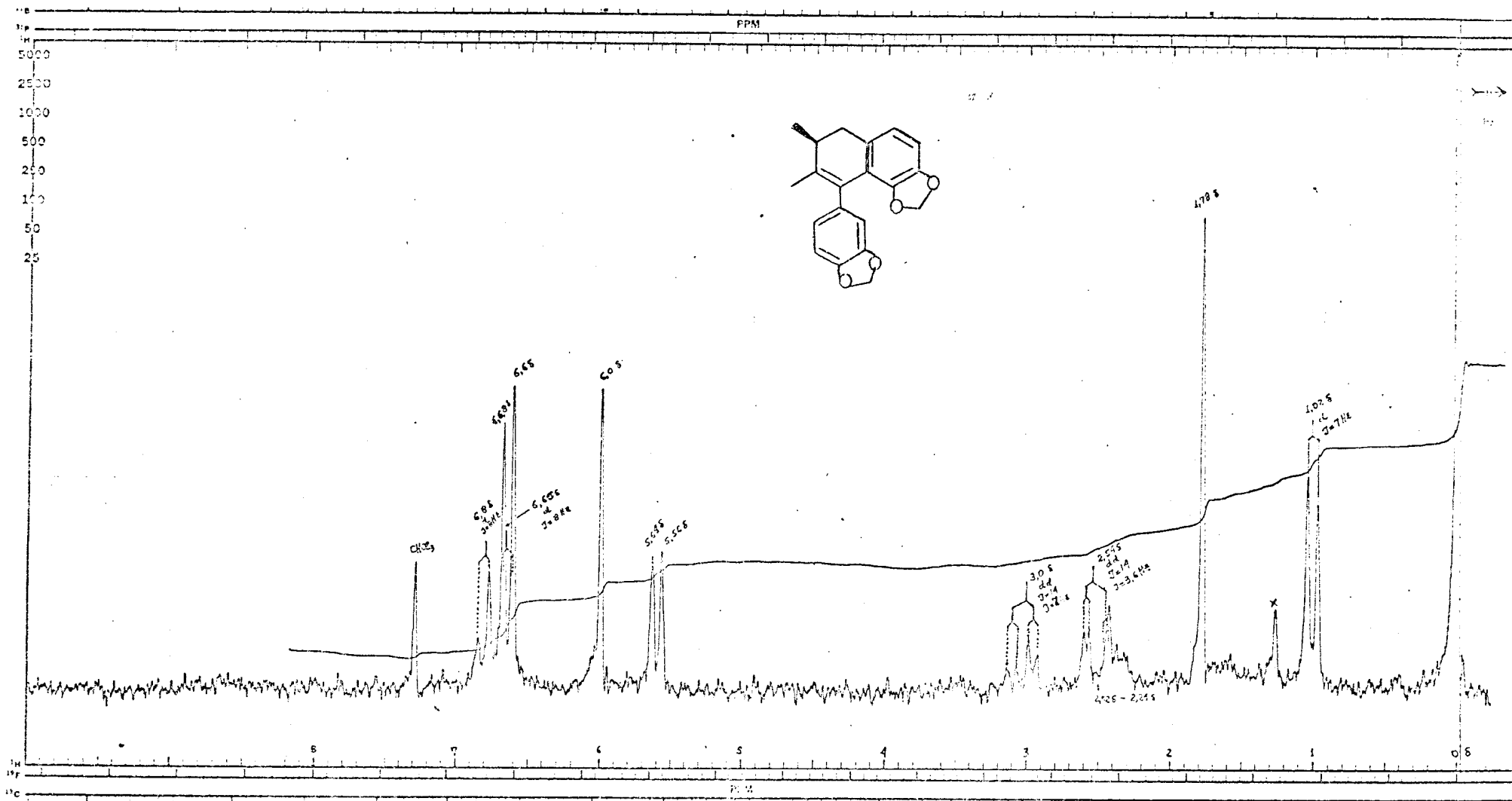


Fig. VI-8 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) do produto de desidratação de VI (VIa), em CDCl_3 e TMS como referência interna.

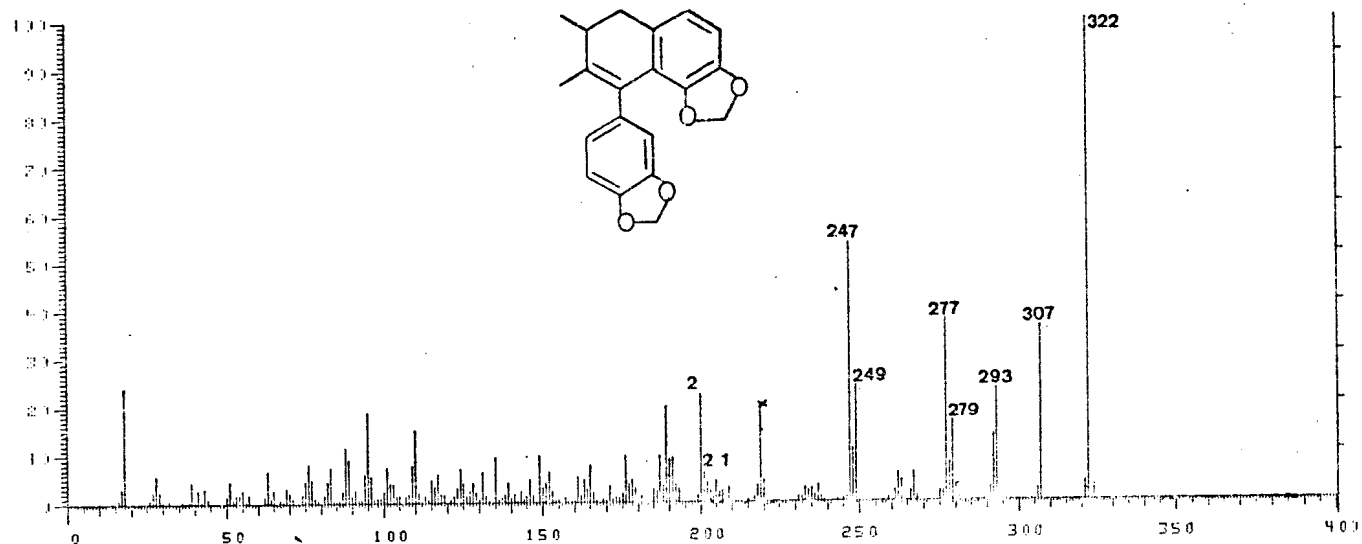
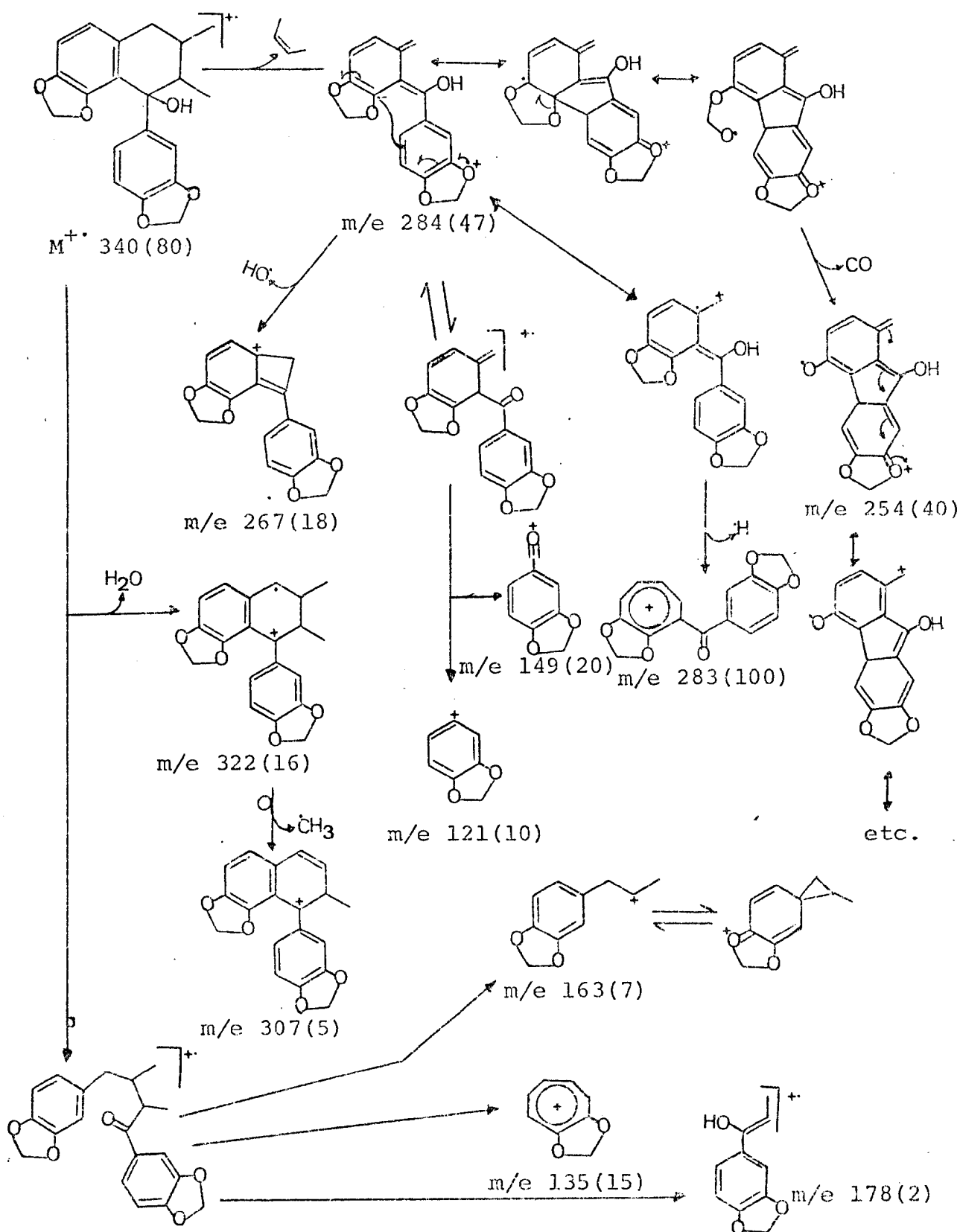
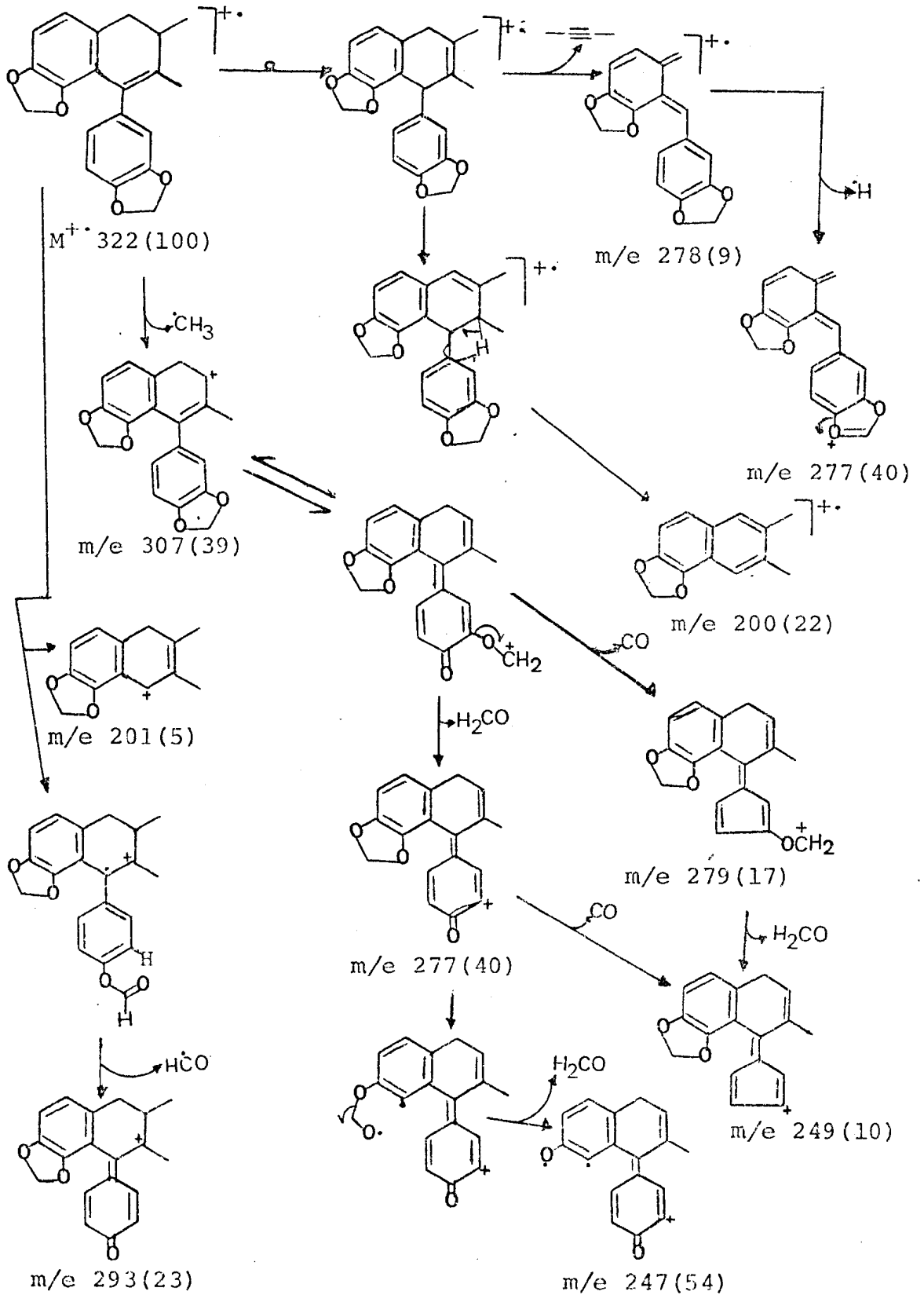


Fig. VI-9 . Espectro de massa do produto de desidratação da substância VI (VIa)

Esquema VI-1 . Interpretação do espectro de massa da substância VI.



Esquema VI-2 . Interpretação do espectro de massa do produto de desidratação da substância VI (VIa).



2.2.5.3 - Substância VII

A análise do espectro i.v. (Fig. VII-2) de VII permitiu, ainda, as deduções [2] descritas na Tab. 18.

Tab. 18 - Interpretação dos sinais de absorção do espectro na região i.v. da substância VII.

ν_{max} KBr	Grupos funcionais
3460	ν O-H
2880-3000	ν C-H (CH ₃ , CH ₂ , CH, etc.)
1670	ν C=O (conjugado)
1610	} ν C=C (aromático)
1490	
1440	
1250	} ν C-O
1050	

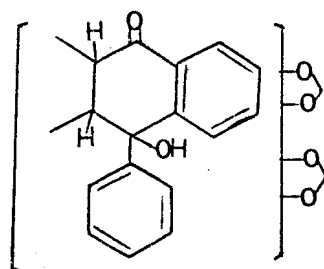
A absorção em 1670cm^{-1} no espectro i.v. (Fig. VII-2, Tab. 18) confirmou a presença de carbonila conjugada. A existência do grupo OH foi revelada pelo espectro i.v. (ν O-H 3460cm^{-1}).

O espectro u.v. (Fig. VII-1) da substância VII ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 240 (ϵ :5270), 285 (ϵ :5130) e 315 (ϵ :4810)) confirmou a presença da carbonila conjugada, através da banda em 315nm devido à transição $n-\pi^*$. A ausência de hidroxila fenólica foi deduzida da inalteração do espectro u.v. após adição de solução aquosa de hidróxido de sódio.

O espectro de r.m.n.¹H (Fig. VII-3, Tab. 19) confirmou a natureza neolignânica, com designação 8.8', 7.2'[1], conforme revelam os seguintes dados (Tab. 19):

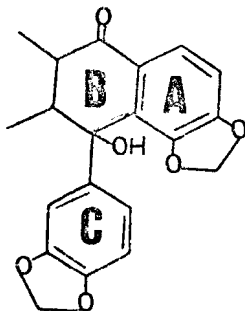
- Dois grupos metila (CH₃-9 e CH₃-9') estão representados por dois dubletos, um em 0,95 δ (3H, J = 7,0 Hz) e outro em 1,20 δ (3H, J = 7,0 Hz);
- Um duplo quarteto em 2,17 δ (J = 7,0 Hz e J = 12,0 Hz) correspondente a um próton metínico;
- Um duplo quarteto em 2,86 δ (J = 7,0 Hz e J = 12,0 Hz) correspondente a um próton alfa à carbonila;
- Presença de um dubleto (J = 8,0 Hz) em 7,7 δ correspondente a um próton desprotegido, orto à carbonila.

Os dados descritos e a ausência de sinal na região de absorção de próton duplamente benzílico no espectro de r.m.n.¹H (Fig. VII-3), permitiram estabelecer a formulação parcial 34.



34

As feições dos sinais 5,71 e 5,84 δ (sistema AB) e 5,9 δ, correspondentes aos grupos metilenodioxí, e dos prótons aromáticos (Fig. VII-3, Tab. 19) sugeriram uma constituição semelhante a estrutura da otobaina [25], possibilitando propor a constituição 35 para a substância VII, semelhante a estrutura da hidroxí-oxo-otobaina [29].



35

A presença da hidroxila foi confirmada através do registro do espectro de r.m.n. ^1H de VII em presença de D_2O (Fig. VII-7), que mostrou o desaparecimento do sinal entre 1,9 e 2,6 δ .

Tentativa de acetilação de VII com $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ não forneceu o derivado acetilado, confirmando a presença de álcool terciário.

Os picos em m/e 298, 269 e 149 registrados no espectro de massa (Fig. VII-6, Esquema VII-1) justificaram, também, a presença de funções oxigenadas em 7 e 7' (Quadro 5).

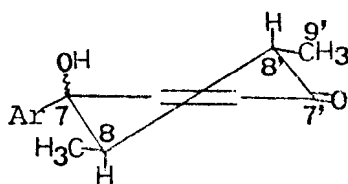
Quadro 5 - Fragmentos correspondentes a picos significativos que aparecem no espectro de massa da substância VII.

m/e	%	Fragmentos
298	100	
269	10	
149	37	

Tab. 19 - Deslocamentos químicos (δ) dos prótons da substância VII (100 MHz) comparados com os da hidroxí-oxo-otobaina (60 MHz) [29], em CDCl_3 e TMS como referência interna.

Protons	VII				Hidroxí-oxo-otobaina			
	δ	feição	[H]	J (Hz)	δ	feição	[H]	J (Hz)
CH_3 -9	0,95	d	3	7,0	0,95	d	3	6,5
CH_3 -9'	1,20	d	3	7,0	1,18	d	3	6,5
H-8'	2,17	dq	1	7,0;12,0	2,12	dq	1	6,5;12,0
OH-7	1,90-2,60	s(1)	1	-	2,33	s	1	-
H-8	2,86	dq	1	7,0;12,0	2,87	dq	1	6,5;12,0
O_2CH_2 (3',4')	5,71	s	1	-	5,71	d	1	2,0
	5,84	s	1	-	5,86	d	1	2,0
O_2CH_2 (3,4)	5,90	s	2	-	6,00	s	2	-
H-2',5',6' e 5	6,70-6,90	m	4	-	6,65-6,96	m	4	-
H-6	7,70	d	1	8,0	7,73	d	1	8,0

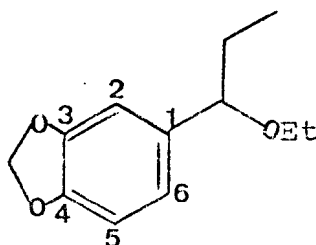
O valor da constante de acoplamento ($J = 12,0\text{Hz}$) entre os átomos de hidrogênio 8 e 8' indicam interação axial-axial (35a).

35a

Ar = Piperonila

Os espectros de r.m.n. ^{13}C (Figs. VII-4 e VII-5 estão em acordo com a constituição 35 para a substância VII. O correlacionamento do deslocamento químico de cada carbono foi feito através de comparação com modelos, aplicação das regras teóricas para deslocamento químico e desdobramento de sinais (SFORD) (Tab. 20).

A semelhança entre os deslocamentos químicos dos carbonos do modelo 25 [7] e os registrados nos espectros (Fig. VII-4 e VII-5), Tab. 11) de VII permitiu assinalar os deslocamentos químicos dos carbonos do anel piperonila de VII (Tab. 20), que são análogos aos da substância VI.

25

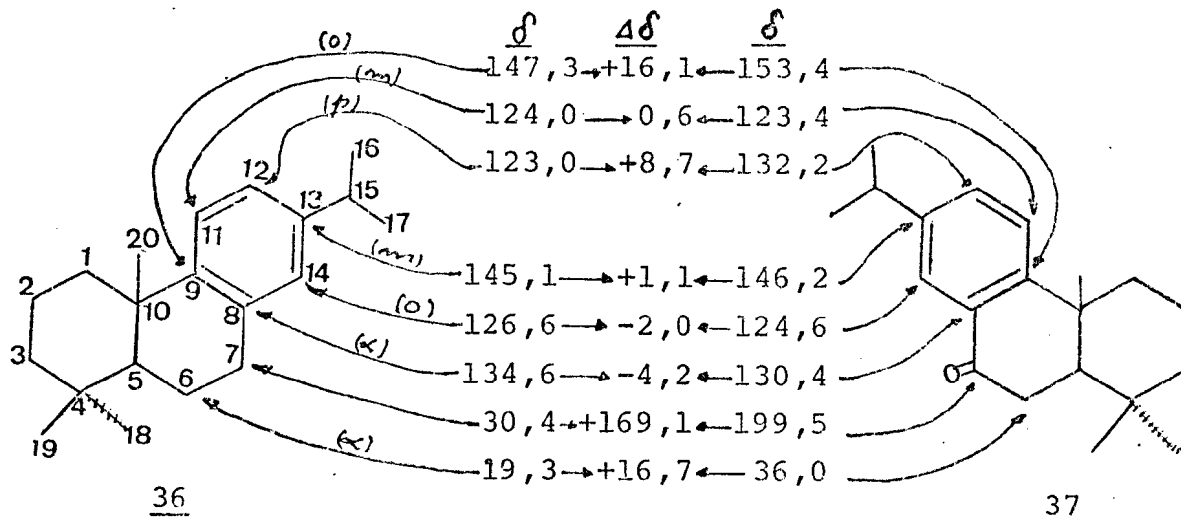
As modificações ($\Delta \delta$) decorrentes da conversão de um CH_2 benzílico em grupo carbonila, reveladas pelos modelos 36 e 37 [30], permitiram assinalar os deslocamentos químicos dos

Tab. 20 - Deslocamentos químicos, em ppm (δ), de VI e VII comparados com os padrões 25 [7], 36 e 37[30].

Carbonos	δ			$\Delta\delta$	
	VI	VII	25	VI/VII	36/37
1'	131,0	126,6		-4,4	-4,2 (C-8)
2'	126,0	128,6		+2,5	+16,1 (C-9)
3'	144,9	144,5		-0,4	-0,6 (C-11)
4'	145,6	152,3		+6,7	+8,7 (C-12)
5'	108,0 ^a	108,7 ^a		+0,7	+1,1 (C-13)
6'	120,7	122,8		+2,1	-2,0 (C-14)
7'	39,8	198,1		+158,3	+169,1 (C-7)
8'	31,4	43,3		+11,9	+16,7 (C-6)
9'	19,4	12,1		-7,6	
1	142,3	140,5	136,9		
2	106,8	106,6	106,5		
3	146,8	147,2	147,6		
4	145,9	146,2	146,5		
5	107,0 ^a	107,3 ^a	107,6		
6	118,8	118,9	120,0		
7	75,3	74,8	83,0		
8	49,5	47,0	31,0		
9	10,5	12,1	10,2		
O ₂ CH ₂ (3',4')	100,7	101,8			
O ₂ CH ₂ (3,4)	100,7	100,8	100,7		

^aPodem ser trocados.

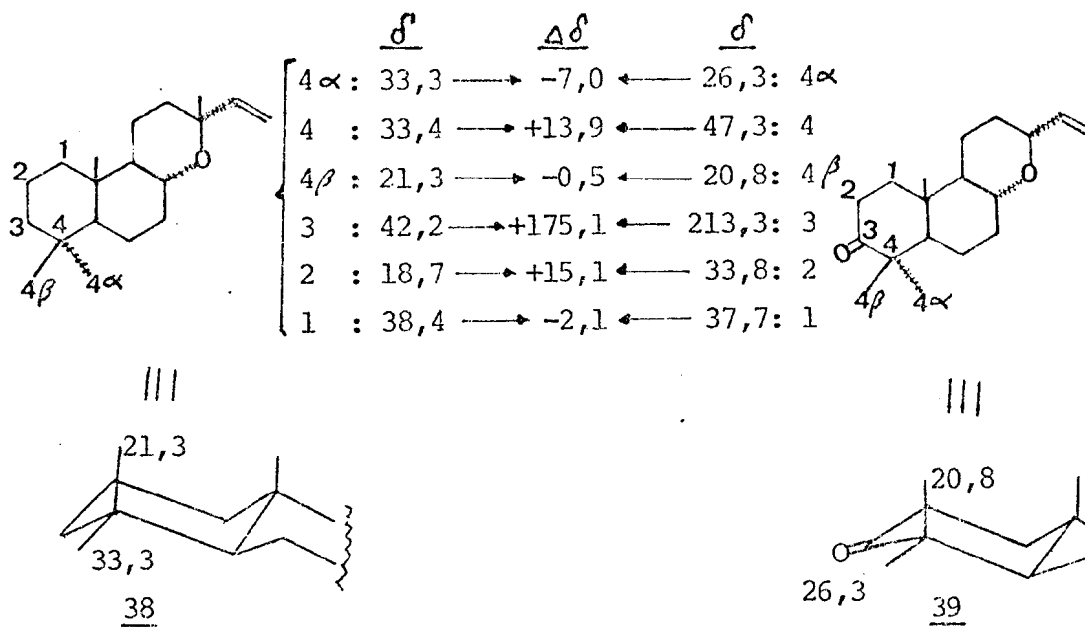
carbonos do anel A da substância VII (35). Os deslocamentos químicos dos carbonos de VI e VII (Tab. 20) revelam a mesma tendência em modificação ($\Delta \delta$), como é observado nos carbonos 1', 2', 3', 4', 5' e 7'.



O aparecimento do sinal do C-8 em 47,0 δ mostra o efeito β (desprotetor) do grupo hidroxila em 7, como verificado na substância VI (Tabs. 11 e 20), sugerindo idêntica orientação estereoquímica do grupo hidroxila (axial) nas duas substâncias (42). Esta dedução está apoiada nos deslocamentos químicos 75,3 e 74,8 δ correspondentes aos carbonos 7 das substâncias VI e VII, respectivamente.

Consequentemente, o sinal em 43,3 δ corresponde ao carbono 8' que, comparado com o C-8' da substância VI (Tab. 20), apresenta um deslocamento paramagnético ($\Delta \delta$ (VI/VII)) de 11,9 δ , como observado nos modelos 36 e 37 (C-6 : $\Delta \delta$ + 16,7 ppm) e nos modelos 38 e 39 (C-4 : $\Delta \delta$ + 13,9 ppm).

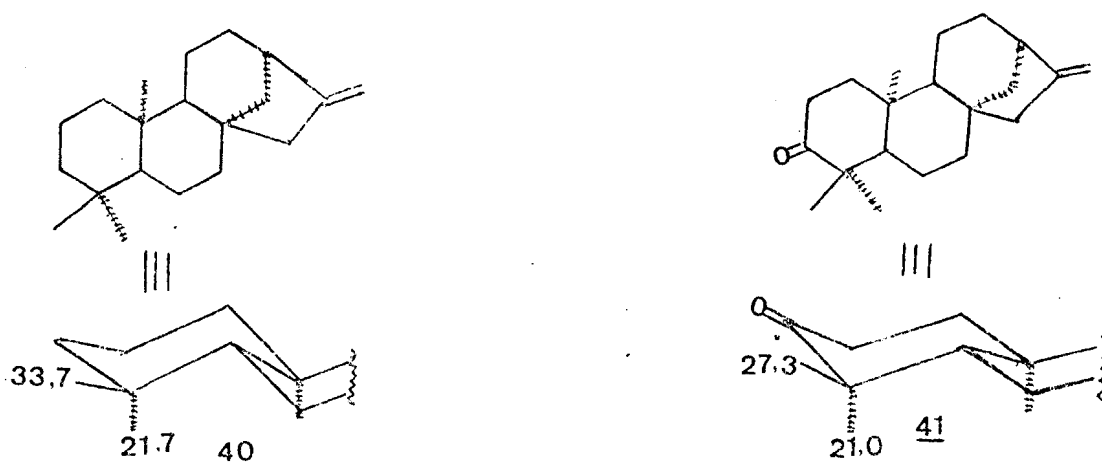
A maior constante de acoplamento residual (Fig. VII-5) observada no sinal do carbono 8' da substância VII confirmou definitivamente esta dedução.



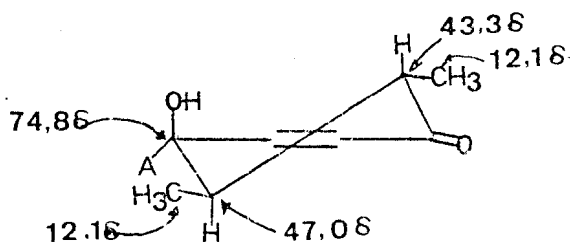
Os dois grupos metila (C-9 e C-9') em VII absorvem na mesma posição (12,1 δ). O grupo CH_3 -9 equatorial recebe o efeito protetor do oxigênio carbonílico (efeito γ) e, por isto, aparece em campo mais alto. Comportamento análogo observou-se na comparação dos deslocamentos químicos dos CH_3 equatoriais dos modelos 38 e 39 [27] e 40 e 41 [27] (Quadro 6).

Quadro 6 - Modificações ($\Delta\delta$) dos deslocamentos químicos dos grupos metila de 38 e 39, 40 e 41 comparados com o $\Delta\delta$ de VI e VII (Tab. 20).

Carbonos	$\Delta\delta$ (38/39)	$\Delta\delta$ (40/41)	$\Delta\delta$ (VI/VII)
CH_3 (ax)	-0,5	-0,7	
CH_3 (eq)	-7,0	-6,4	
CH_3 -9			-7,3

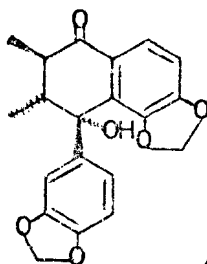


Os dados descritos permitiram propor a configuração relativa 42 para a substância VII.

42

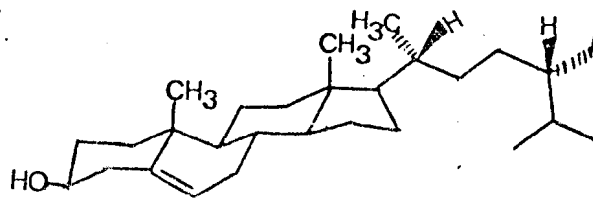
Ar = Piperonila

Conseqüentemente, a substância VII possui a estrutura 43, que corresponde à hidroxí-oxo-otobaina já descrita na literatura [29].

43

2.2.6 - A substância VIII foi identificada como sitosterol com base na comparação com amostra autêntica, envolvendo espectros i.v., de r.m.n. ^1H , além de P.F. e cromatografia de adsor

ção em camada delgada de sílica utilizando vários sistemas de solventes.



VIII

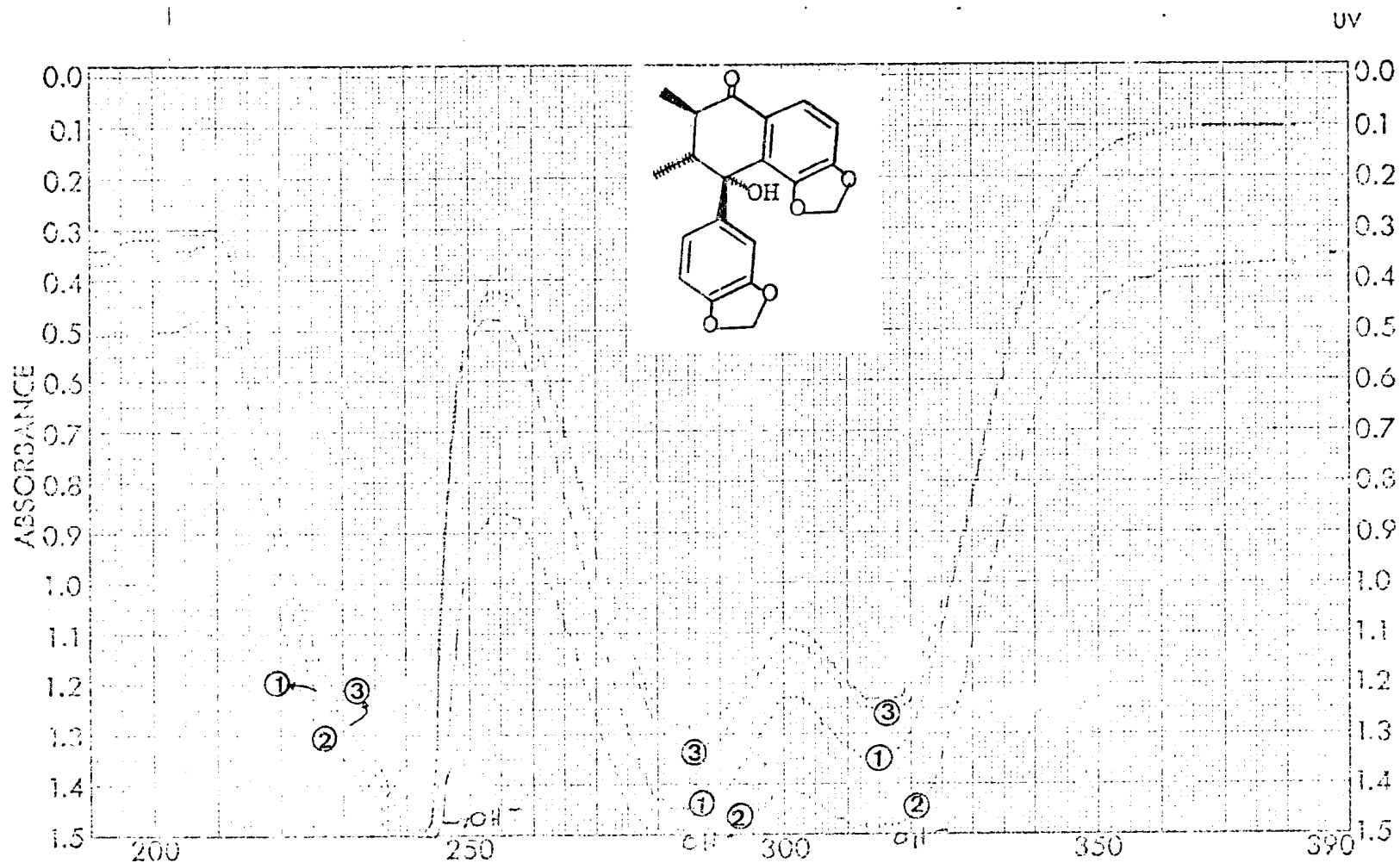


Fig. VII-1 . Espectro u.v. de VII em EtOH (1) e com aditivos: NaOH (2); NaOH + HCl (3). Conc. 1mg/10ml.

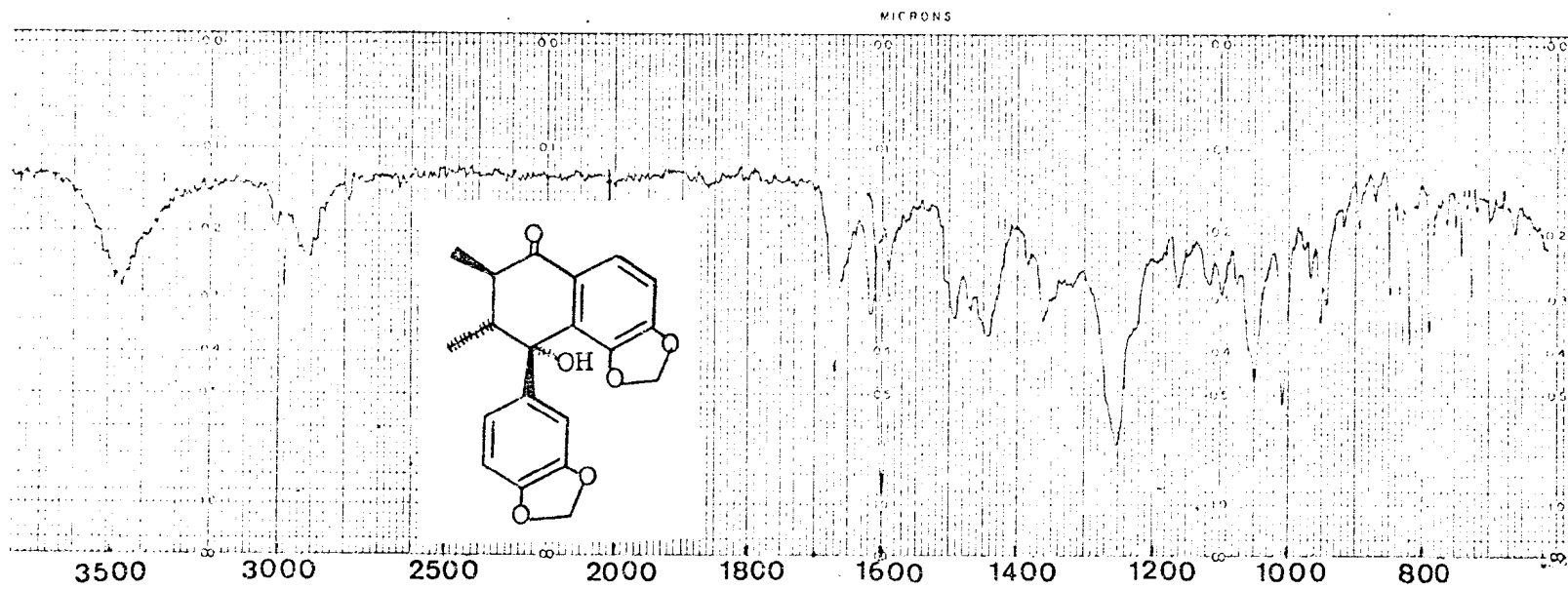


Fig. VII-2 . Espectro i.v. da substância VII, em KBr.

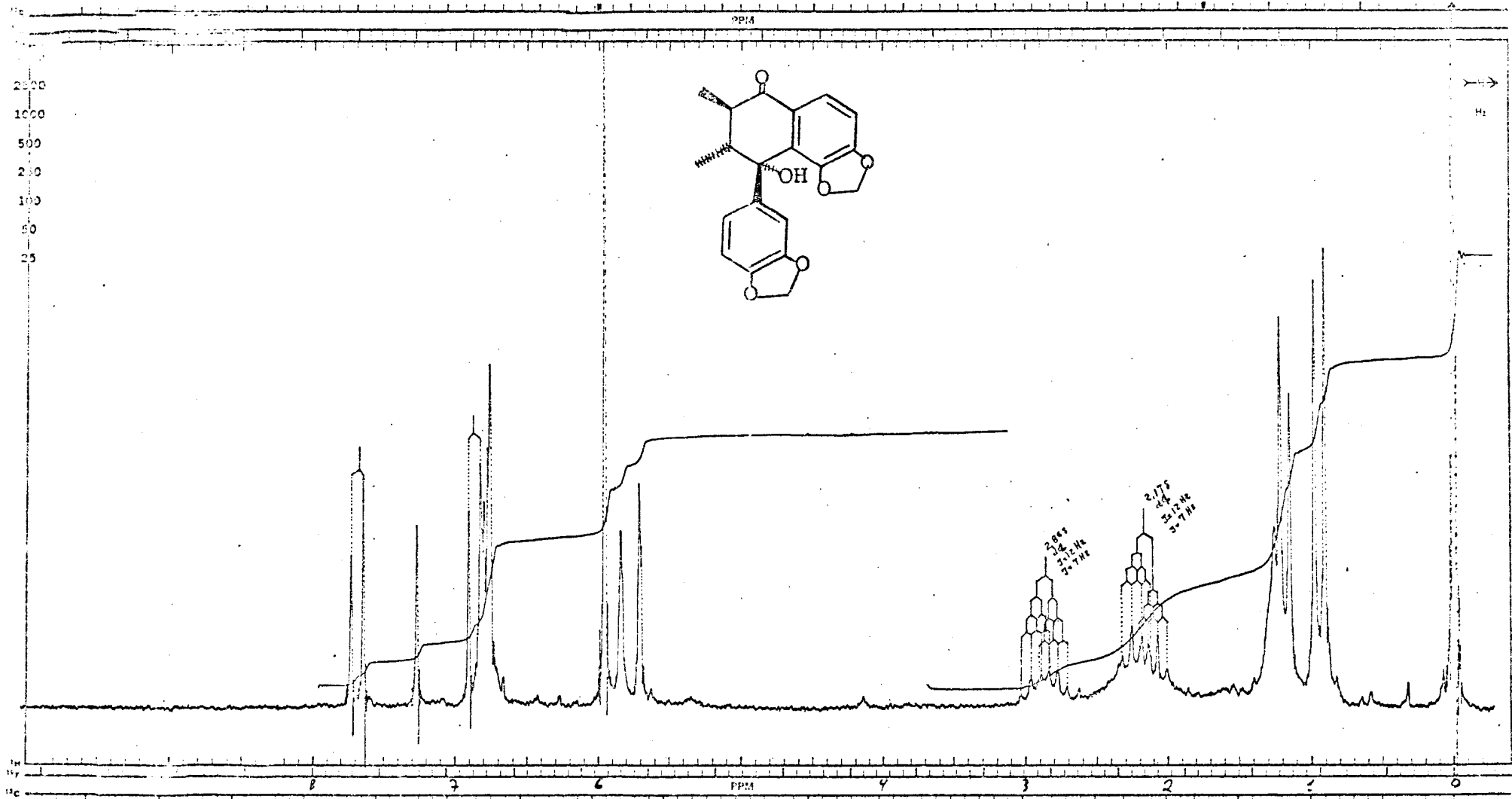


Fig. VII-3 . Espectro de r.m.n.¹H (100 MHz) da substância VII, em CDCl₃ e TMS 191
 como referência interna.

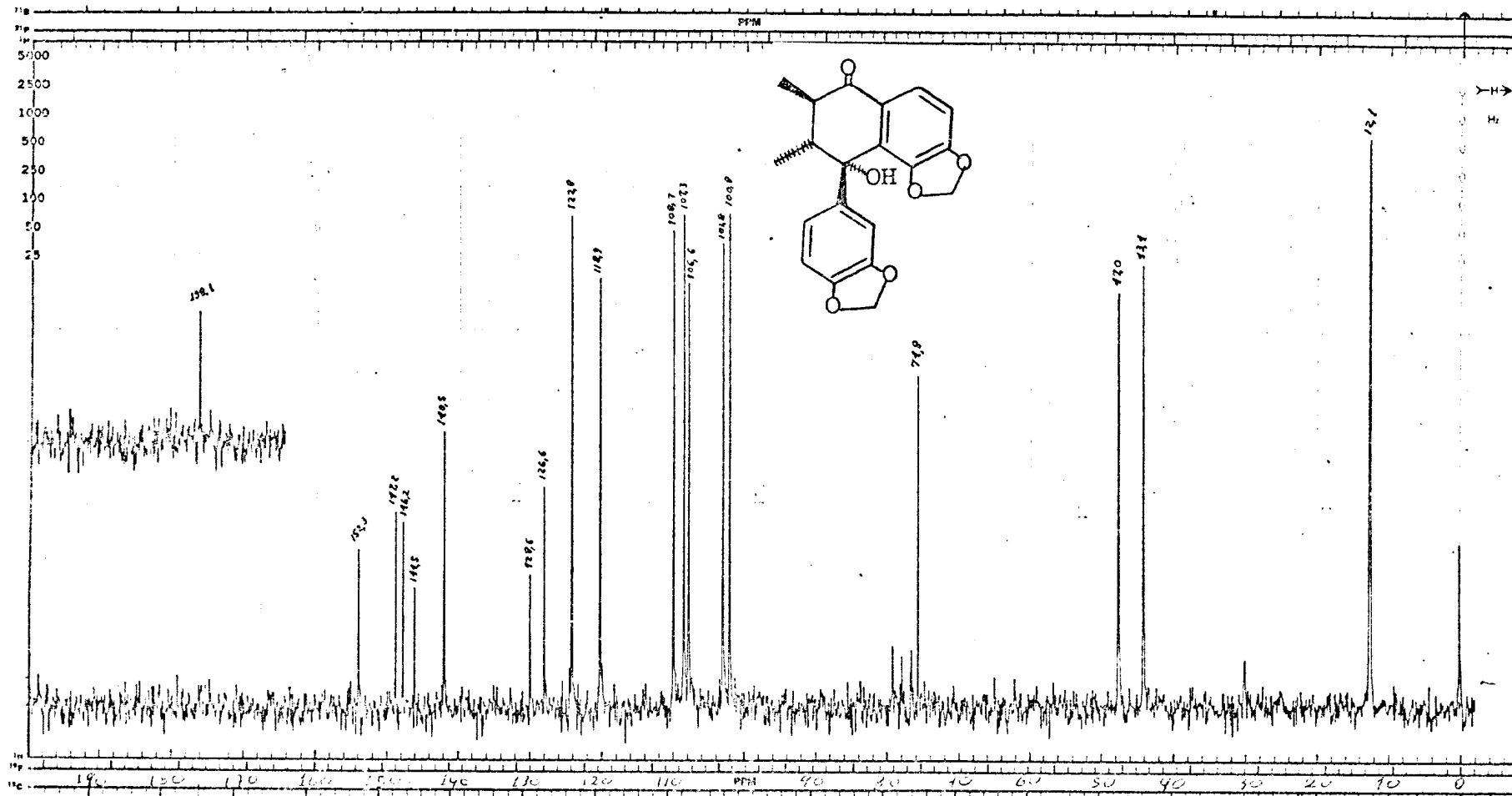


Fig. VII-4 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) da substância VII, completamente desacoplado, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

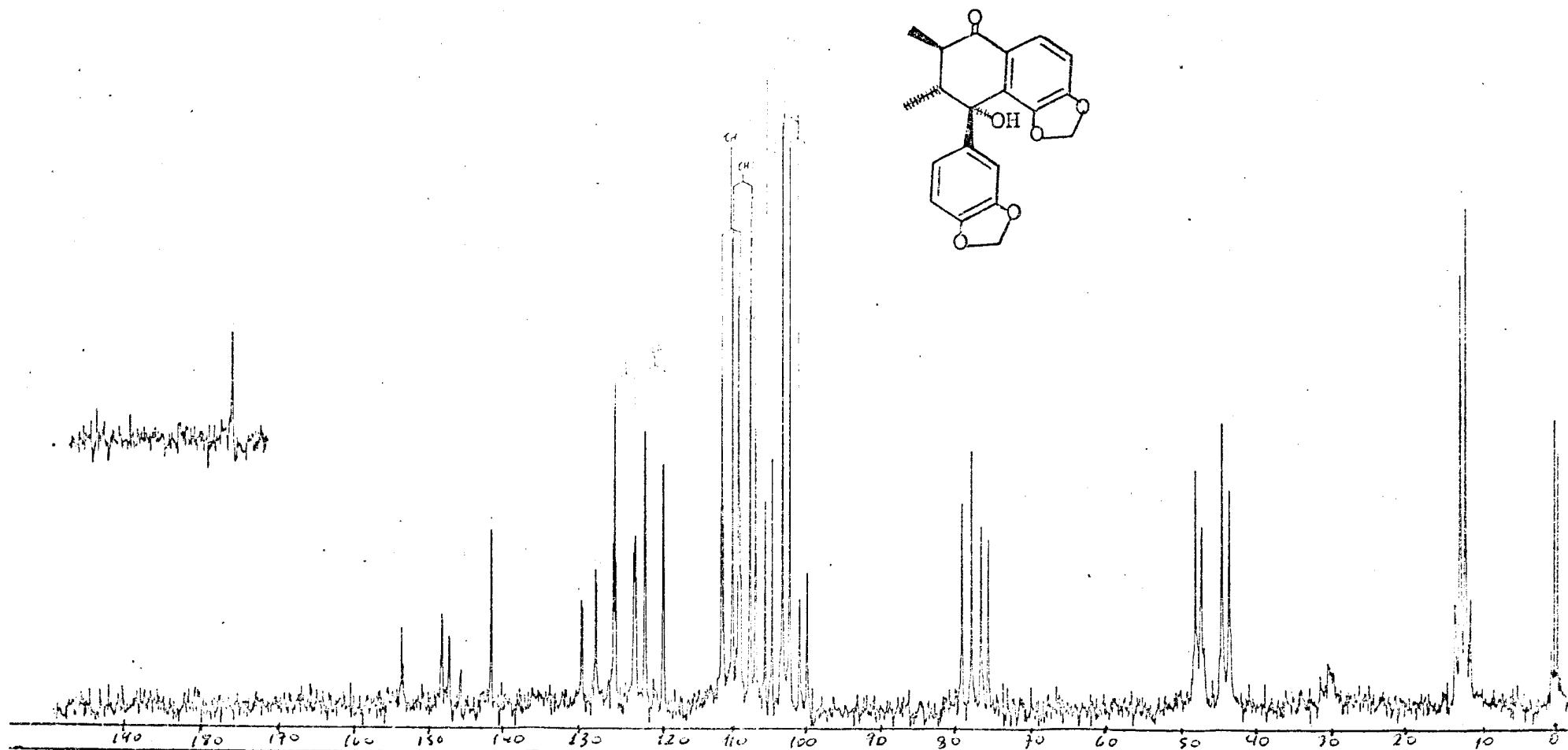


Fig. VII-5 . Espectro de r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) da substância VII, com acoplamento residual, em CDCl_3 e TMS como referência interna.

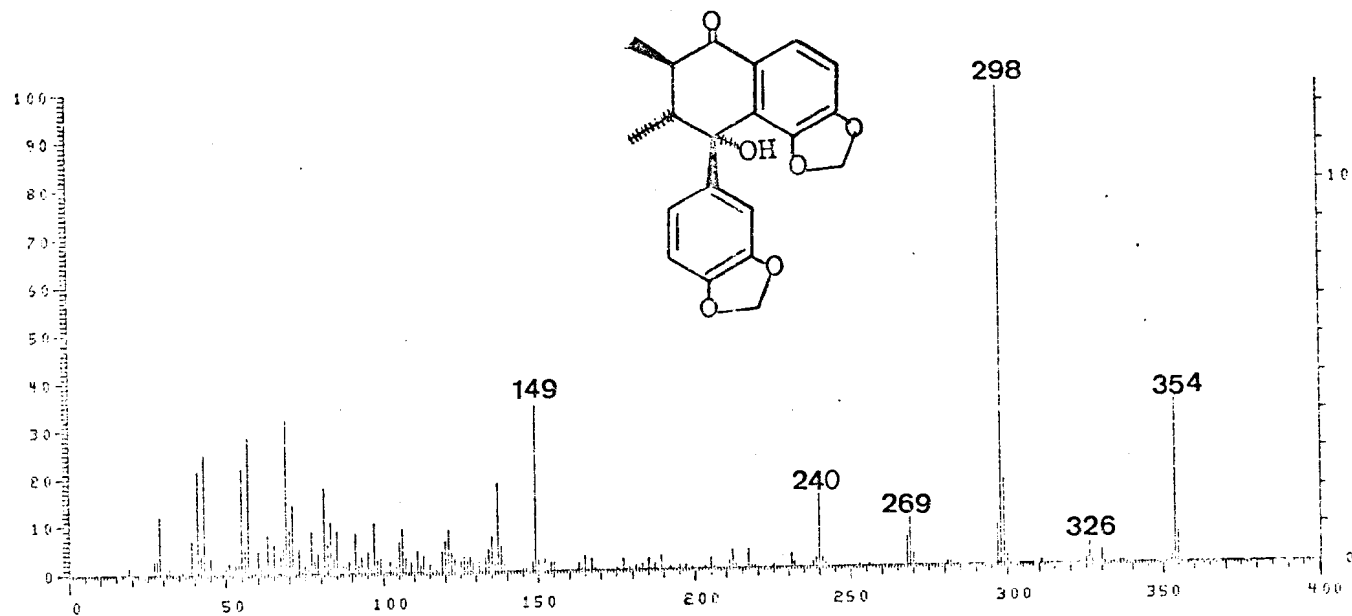


Fig. VII-6 . Espectro de massa da substância VII

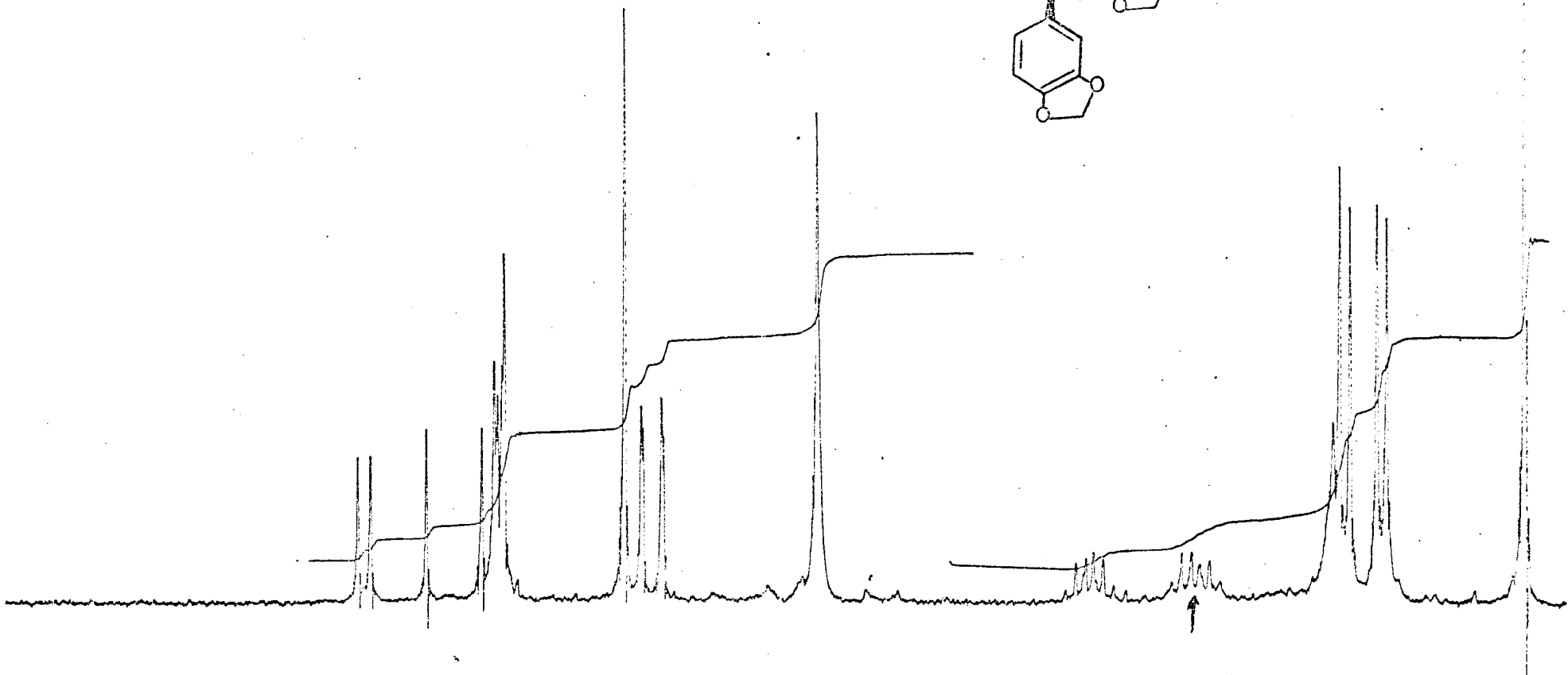
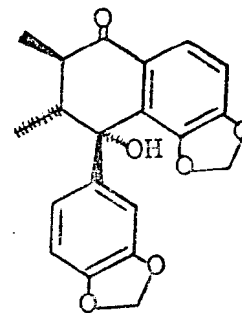
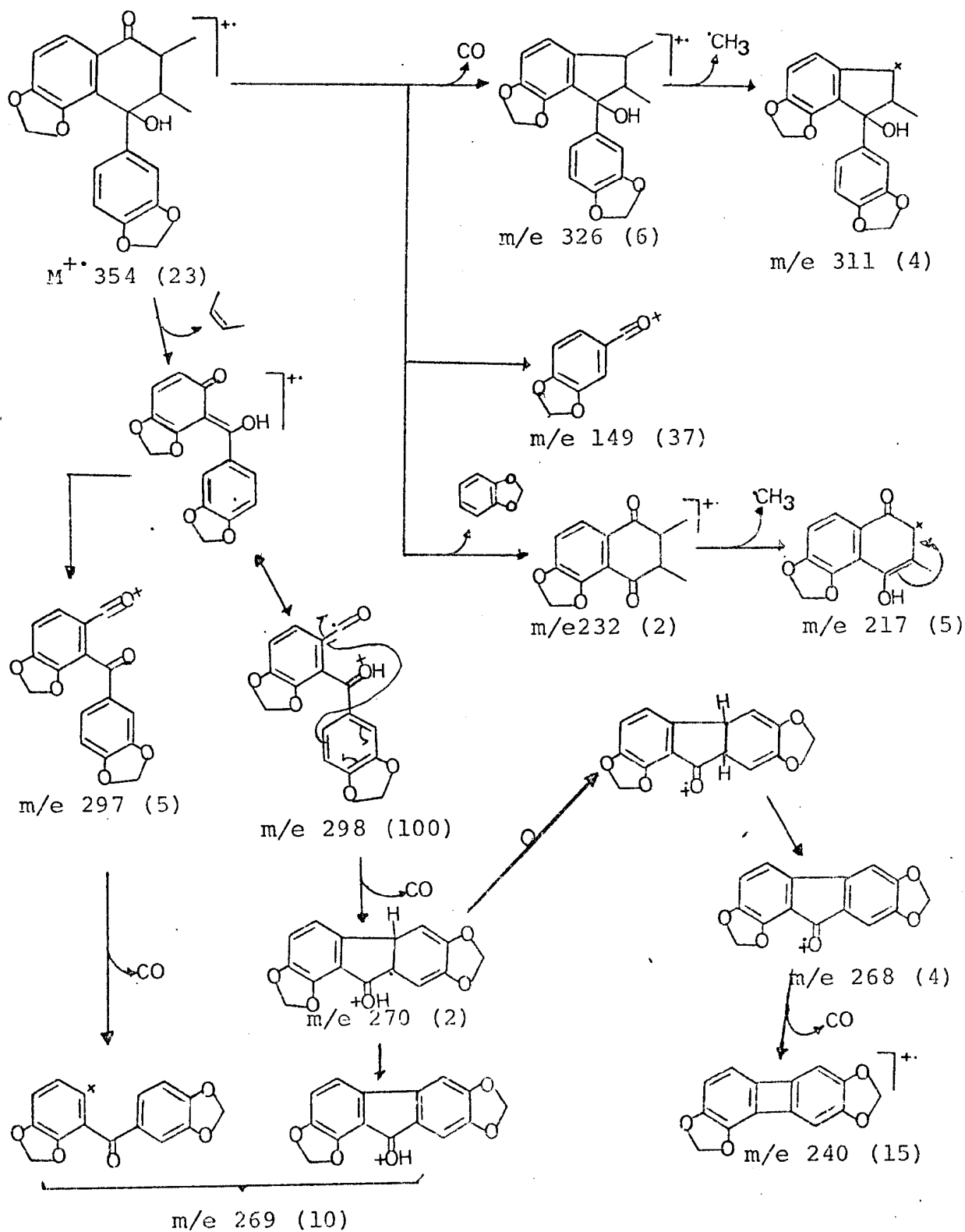


Fig. VII-7 . Espectro de r.m.n. ^1H (100 MHz) da substância VII, em CDCl_3 mais D_2O e TMS como referência interna.

Esquema VII-1. Interpretação do espectro de massa da substância VII.



2.3 - Parte experimental

2.3.1 - Material e Métodos (vide Cap. 1, Pág. 68)

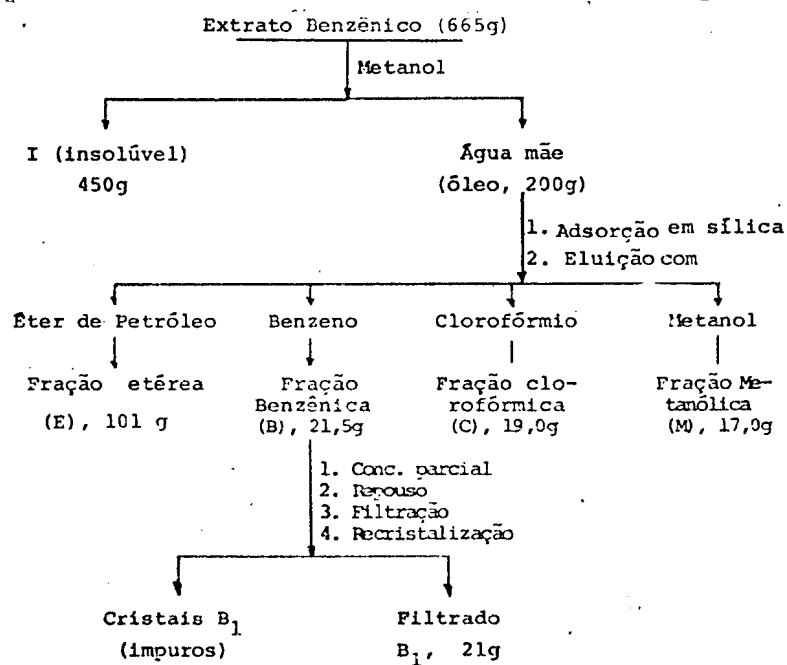
2.3.2 - Isolamento dos constituintes da planta

a) Extração: os frutos frescos moidos (60 kg) foram submetidos a extração exaustiva com benzeno, a frio. Destilação do solvente forneceu 665 g de material.

b) Elaboração do extrato: o material obtido foi analisado por cromatografia em camada delgada de sílica, utilizando-se vários sistemas de solvente. Verificou-se a presença de vários constituintes, sendo um predominante.

Tratamento do material com metanol forneceu duas frações, uma fração solúvel e uma fração insolúvel. A fração insolúvel foi adsorvida em sílica e eluída com éter de petróleo, benzeno, clorofórmio e metanol. O Esquema 1 resume estas operações.

Esquema 1. Tratamentos do extrato benzênico.



A fração etérea (E), 101 g, foi submetida a cromatografia em coluna de sílica (850 g). Foram recolhidas 158 frações de 250 ml cada uma. O resultado da análise destas frações está descrito no Quadro 7.

Quadro 7 - Análise das frações reunidas da coluna do eluato etéreo (E).

Frações Reunidas	Tratamento	Material	P.F.	Quantidade (g)
1-3	1. C.C.D. ^a	Óleo (impuro)	-	—
4-10	1. C.C.D. 2. Recristalização em metanol	Óleo ^I Óleo ^C + I	-	—
11-15	1. C.C.D. 2. Recristalização em metanol	Óleo ^I Óleo ^C + I	40-41°C -	4,0 —
16-27	1. C.C.D. 2. Cristalização em éter de petróleo + + Benzeno	VI VI + Óleo ^C	105-106°C -	0,608 —
28	1. Cristalização em éter de petróleo + + Acetona	VI	105-106°C	0,002
29-33 34-38 39-49 50-69 70-91 92-100 101-139	1. C.C.D. 2. Cristalização ^d em vários solventes 3. Teste c/base (NaOH)	Óleo ^C (ésteres e ácidos alifá- ticos) — cas- tanho.	-	—
140-147	1. C.C.D. 2. C.C. ^b 3. Cristalização em metanol	II II + Óleo ^C	50-52°C -	0,0468 —
148-158	1. C.C.D. 2. Cristalização ^d em diversos solventes	Óleo ^C escuro (muito polar)	-	—

^aCCD: Cromatografia em camada delgada de sílica

^bCC : Cromatografia em coluna

^c : Material oleoso não cristalizável, constituindo-se principalmente de ácidos alifáticos.

^d : Solventes utilizados: éter de petróleo, ciclohexano, benzeno, etanol, acetona, metanol.

O filtrado B₄ da fração benzênica (B, Esquema 1), (20,0 g) foi submetido a cromatografia em coluna de sílica (380 g), usando-se benzeno como eluente inicial. Foram recolhidas 380 frações de 250 ml cada uma. Após concentração sob vácuo, as frações foram submetidas a comparação por cromatografia em camada delgada de sílica. As frações foram reunidas em grupos e submetidas a novos processos analíticos (Quadro 8).

Quadro 8 - Estudo das frações reunidas da cromatografia em coluna de sílica do filtrado B, (Esquema 1).

Frações Reunidas	Tratamento	Material	P. F. (°C)	Quantidade (mg)
1-2 3-10	1. C.C. ^b 2. C.C.D ^a 3. Cristalização em diversos solventes ^d	Óleo ^c	-	—
11-15	1. C.C.D ^a 2. Cristalização em metanol	VI	105-106	5,0
16-20	1. C.C.D ^a 2. Cristalização em éter de petróleo	V	130-132	21,7
21-30	1. C.C.D ^a 2. Cristalização em éter de petróleo + + Benzeno	V	130-132	65,5
31-55 56-100	1. C.C. ^b 2. C.C.D ^a 3. Cristalização em diversos solventes	V + + Óleo ^c	-	—
101-116	1. C.C. ^b 2. C.C.D ^a 3. Recristalização em metanol	VIII	132-134	30,0
117-127 128-152	1. C.C. ^b 2. C.C.D. 3. Recristalização ^d	Óleo ^c Óleo + III	-	—
153-178	1. C.C.D ^a 2. Recristalização em metanol e em éter de petróleo	III	76-77	180,0
179-192	1. C.C.D. 2. Recristalização em éter de petróleo + + Benzeno 3. Recristalização em Benzeno	III IV	76-77 169-171	20,0 80,0
179 (água mãe)- -220	1. C.C. 2. C.C.D ^a 3. C.C. delgada preparativa	IV + VII VII	- 168-170	— 79,0
221-242	1. C.C.D. 2. Recristalização em éter de petróleo + + Benzeno	VII	168-170	68,0
243-272	1. C.C.D ^a 2. Recristalização ^d	VII + + Óleo	-	—
273-296 297-350	1. C.C. ^b 2. C.C.D ^c 3. Recristalização ^d 4. Recristalização em metanol	II + Óleo II	- 50-52	— 20,0
351-380	1. C.C. ^b 2. C.C.D ^a 3. Recristalização	Óleo ^c escuro muito polar	-	—

^aCCD : Cromatografia em camada delgada de sílica

^bCC : Cromatografia em coluna de sílica

^c : Material oleoso não cristalizável, constituindo-se principalmente de ácidos alifáticos

^d : Solventes utilizados: éter de petróleo, ciclohexano, hexano, benzeno, etanol, acetona, metanol, acetato de etila.

Os cristais B₁ obtidos da fração benzênica (B, Esquema 1) foram submetidos a fracionamento cromatográfico e cristalização, obtendo-se mais 50 mg de IV e 2 mg de VII .

As frações clorofórmica (C) e metanólica (M) (Esquema 1) estão sendo estudadas.

2.3.3 - Transformações químicas

1. Reações de acetilação:

Dissolveu-se substância em piridina e anidrido acético e a solução foi deixada em repouso durante 24 horas, à temperatura ambiente. A solução foi vertida sobre água gelada e extraída com clorofórmio. A solução clorofórmica foi lavada com HCl 10%, para eliminar o excesso de piridina, depois com água e seca com sulfato de sódio anidro. Destilação do clorofórmio, sob pressão reduzida, forneceu o derivado acetilado. O Quadro 9 revela os derivados obtidos por reação de acetilação.

Quadro 9 - Reações de acetilação das substâncias II, III, IV e V.

Substância	Quantidade	Piridina	Ac ₂ O	Acetato
II	20,0	1,0	1,0	15,5
III	100,0	3,0	3,0	78,0
IV	20,0	1,0	1,0	18,0
V	20,0	1,0	1,0	16,5

2. Desidratação da substância VI

A substância VI (100 mg) foi dissolvida em anidrido acético (5 ml) e a solução foi aquecida em banho de glicerina e refluxo durante 48 horas. O volume de Ac_2O foi mantido constante.

A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada de sílica. O material escuro obtido foi submetido a extração com clorofórmio. A solução clorofórmica foi lavada com solução aquosa de NaHCO_3 , seco em sulfato de sódio anidro e destilada sob vácuo. O resíduo foi filtrado em coluna de sílica, obtendo-se 30 mg do produto de desidratação (VI -a), cristais incolores, P.F. 121-122°C.

2.3.4 - Dados físicos e espectrais dos constituintes e derivados.

Triglicerídeo (I)-(Lauro-dimiristato de glicerila). Cristais incolores, p.f. 40-41°C (Metanol). i.v. ($\nu_{\max}^{\text{KBr}}, \text{cm}^{-1}$): 3000-2900, 1740, 1420, 1200, 1170, 1130, 720 (Fig. I-1); r.m.n.¹H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,89 (t, J = 7,0 Hz, CH_3), 1,28 (m, CH_2); 1,40-1,77 (m, $\text{CH}_2-\beta$); 2,32 (t, J = 7,0 Hz, $\text{CH}_2-\alpha$); 4,16 (dd, J = 6,0 e J = 12,0 Hz) e 4,32 (dd, J = 4,0 e J = 12,0 Hz) ($\text{CH}_2\text{-O}$); 5,32 (m, CH-O) (Fig. I-2); r.m.n.¹³C (25,2 MHz, δ , CDCl_3): 172,9 ($-\overset{\text{O}}{\text{C=O}}$), 68,9 (CH-O), 62,1 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 34,1 ($\text{CH}_2\text{-2}$), 32,0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_3$), 29,7, 29,4 e 29,2 ($(\text{CH}_2)_x$), 22,8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 14,1 (CH_3) (Fig. I-3 e I-4); e.m. m/e (%): 694 (M^+); 496(11), 495(31), 494(12), 468(31), 467(100), 326(19), 299(16), 298(17), 285(52), 257(58), 227(14), 211(99), 210(98), 183(81), 155(10), etc. (Fig. I-5, Esquema I-1).

Diglicerídeo (II)-(1,3-Lauro-miristato-de-glicerila). Cristais incolores, P.F. 50-52°C (Metanol). i.v. ($\nu_{\max}^{\text{KBr}}, \text{cm}^{-1}$): 3450, 3000-2900, 1730, 1690, 1190, 720 (Fig. II-1), r.m.n.¹H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,9 (t, J = 7,0, CH_3), 1,1-1,4 (m, $(\text{CH}_2)_x$), 1,4-1,7 (m, $\text{CH}_2-\beta$), 2,35 (t, J = 7,0 Hz, $\text{CH}_2-\alpha$), 4,0-4,3 (m, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4,0-4,3 (m, CH-O) (Fig. II-3); e.m. m/e (%): 484 (M^+), 466 (8), 285 (20), 271 (18), 257 (18), 243 (13), 211 (45), 183 (32) (Fig. II-5, Esquema II-1).

Acetato do diglicerídeo (II-Ac)-(Acetato de 1,3-Lauro-miristato de glicerila). Óleo i.v. ($\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}, \text{cm}^{-1}$):

3000-2900, 1740, 1200 (Fig. II-2), r.m.n. ^1H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,9 (t, $J = 7,0$ Hz, CH_3), 1,2-1,35 (m, $(\text{CH}_2)_x$), 1,4-1,7 (m, $\text{CH}_2-\beta$), 2,08 (s, $\text{H}_3\text{C}-\text{CO}$), 2,3 (t, $J = 7,0$ Hz, $\text{CH}_2-\alpha$), 4,12 (dd, $J = 6,0$ e $J = 12,0$ Hz) e 4,28 (dd, $J = 4,0$ e $J = 12,0$ Hz) (CH_2-O), 5,25 (q, $\text{CH}-\text{O}$) (Fig. II-4); e.m. m/e (%): 526 (M^+), 327 (55), 299 (35), 285 (13), 257 (7), 211 (45), 183 (35), etc. (Fig. II-6, Esquema II-2).

Ácido dihidroguaiarético (III)-4,4'-*dihidrox*i-3,3'-*dimetoxi*-8,8'-*lignana* 1 ou 1,4-*di*-(4-*hidrox*i-3-*metoxifenil*)-2,3-*dimetilbutano*. Cristais incolores P.F. 76-77°C (éter de petróleo + benzeno). u.v. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$, nm, (ϵ): 234 (3560), 280 (3760) (Fig. III-1); i.v. ($\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}): 3440, 2980-2940, 1600, 1520, 1450, 1270-1040 (Fig. III-2); r.m.n. ^1H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,80 (d, $J = 7,0$ Hz, CH_3-9 e $9'$), 1,6-1,8 (m, H-8 e H-8'), 2,36 (dd, $J = 6,0$) e 2,5 (dd, 6,0) (H-7 e 7'), 3,78 (s, OCH_3), 5,48 (s(1), OH), 6,77 (d, $J = 8,0$, H-5 e 5'), 6,56 (dd, $J = 8,0$ e $J = 2,0$, H-6 e 6'), 6,54 (d, $J = 8,0$, H-2 e 2') (Fig. III-4); r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz, δ , CDCl_3): 146,2 (C-3 e 3'), 144,9 (C-4 e 4'), 133,9 (C-1 e 1'), 122,0 (C-6 e 6'), 112,0 (C-2 e 2'), 114,0 (C-5 e 5'), 56,0 (OCH_3-3 e 3'), 40,6 (C-7 e 7'), 36,8 (C-8 e 8'), 14,2 (C-9 e 9'); e.m. m/e (%): 330 (M^+ , 14), 193 (3), 192 (2), 165 (8), 138 (47), 137 (100), 135 (2).

Diacetato do ácido dihidroguaiarético (III-Ac) $_2$ -4,4'-*diacetoxi*-3,3'-*dimetoxi*-8,8'-*lignana* 1 ou 1,4-*di*-(4-*acetoxi*-3-*metoxifenil*)-2,3-*dimetilbutano*. Óleo i.v. ($\gamma_{\text{max}}^{\text{CDCl}_3}$, cm^{-1}):

3000-2860; 1750, 1600, 1500, 1450, 1260, 1200, 1030, 900, 800 (Fig. III-3); r.m.n. ^1H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,88 (d, $J = 7,0\text{Hz}$, CH_3^9 e $9'$), 1,6-1,9 (m, H-8 e $8'$), 2,3 (s, $\text{H}_3\text{C}-\text{C}^{\text{O}}$), 2,3-2,7 (m, H-7 e $7'$), 3,8 (s, OCH_3), 6,92 (d, $J = 8,0$ H-5 e $5'$), 6,6-6,75 (m, H-6, $6'$, 2 e $2'$); r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz, δ , CDCl_3): 168,7 ($-\text{O}-\overset{\text{O}}{\text{C}}-$), 150,7 (C-3 e $3'$), 140,2 (C-1 e $1'$), 138,0 (C-4 e $4'$), 122,1 (C-5 e $5'$), 121,0 (C-6 e $6'$), 55,8 (OCH_3 -3 e $3'$), 41,3 (C-7 e $7'$), 37,4 (C-8 e $8'$), 20,4 ($\text{H}_3\text{C}-\text{CO}$), 14,0 (C-9 e $9'$); e.m. m/e (%): 414 (M^{+} , 5), 372 (45), 330 (98), 193 (8), 192 (7), 165 (22), 138 (45), 137 (100), 135 (8).

Rel - (7R,8R,8'S)-4,5'-dihidroxi-3,4'-dimetoxi-8.8', 7.2'-lignana 1 ou rel. (1R,2R,3S)-2,3-dimetil-6-hidroxi-7-metoxi-1-piperonil-tetralina (IV). Cristais incolores P.F. 169-171 (éter de petróleo + benzeno). u.v. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$, nm(ϵ): 240 (4100) e 283 (4360) (Fig. IV-1); i.v. ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}): 3500, 3000-2900, 1620, 1520, 1460, 1260, 1020 (Fig. IV-2); r.m.n. ^1H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,82 ($J = 6,0$ Hz, CH_3 -9'), 1,02 (d, $J = 6,0$ Hz, CH_3 -9), 1,30-1,60 (m, H-8 e $8'$), 2,40-2,70 (m, CH_2 -7'), 5,3 (s(1), OH), 5,5 (s(1), OH), 3,40 (d, $J = 10,0$ Hz, H-7), 3,80 (s, OCH_3), 3,82 (s, OCH_3), 6,32 (s, H-3'), 6,52 (s, H-6'), 6,66 (dd, $J = 2,0$ e $J = 8,0$ Hz, H-6), 6,70 (d, $J = 2,0$ Hz, H-2), 6,80 (d, $J = 8,0$, H-5) (Figs. IV-4 e IV-6); e.m. m/e (%): 328 (M^{+} , 55), 298 (9), 272 (14), 271 (34), 255 (35), 242 (15), 241 (100), 204 (40), 189 (56), 137 (20) (Fig. IV-8, Esquema IV-1).

Rel - (7R,8R,8'S)-4,5'-diacetoxi-3,4'-dimetoxi-8.8', 7.2'-lignana 1 ou Rel. (1R,2R,3S)-2,3-dimetil-6-acetoxi-7-metoxi-

xi-1-acetato de guaiacila-tetralina (IV-(Ac)₂). Óleo. i.v.

(γ)_{max}^{CHCl₃}, cm⁻¹): 3000-2900, 1760, 1600, 1500, 1450, 1280, 1200, 1020, 920 (Fig. IV-3); r.m.n.¹H (60 MHz), δ , CDCl₃): 0,80 (d, J = 6,0 Hz, CH₃-9'), 1,08 (d, J = 6,0 Hz, CH₃-9), 1,40-1,70 (m, H-8 e 8'), 2,26 (s, H₃C-C^O), 2,38 (s, H₃C-C^O), 2,60-2,90 (m, CH₂-7'), 3,45 (d, J = 10,0 Hz, H-7), 3,82 (s, OCH₃), 3,84 (s, OCH₃), 6,36 (s, H-3'), 6,68 (s, H-6'), 6,70 (dd, J = 2,0 e J = 8,0 Hz, H-6), 6,70 (d, J = 2,0 Hz, H-2), 6,95 (d, J = 8,0 Hz, H-5) (Fig. IV-5 e IV-7); e.m. m/e(%): 412 (M⁺, 12), 370 (65), 328 (100), 272 (13), 255 (10), 242 (5), 241 (25), 204 (15), 189 (10), 137 (8) (Fig. IV-9, Esquema IV-2).

Rel. (7R,8R,8'S)-4'-Metoxi-5'-hidroxi-3,4-metileno dioxi-8.8,7.2'-lignana ou rel. (7R,8R,8'S)-2,3-dimetil-6-hidroxi-7-metoxi-1-piperonil-tetralina (V). Cristais incolores P.F.

130-132 (éter de petróleo + benzeno). u.v. λ _{max}^{EtOH}, nm(ε) 240 (4660), 290 (4825) (Fig. V-1); i.v. (γ)_{max}^{KBr}, cm⁻¹): 3400, 3000-2900, 1600, 1500, 1450, 1250, 1050 (Fig. V-2); r.m.n.¹H (100 MHz, δ , CDCl₃): 0,86 (d, J = 7,0 Hz, CH₃-9'), 1,06 (d, J = 7,0 Hz, CH₃-9), 1,3-1,8 (m, H-8 e 8'), 2,53 (dd, J = 11,0 e J = 15,0 Hz, H_{ax}-7'), 2,73 (dd, J = 4,0 e J = 15,0 Hz, H_{eq}-7'), 3,4 (d, J = 10,0 Hz, H_{ax}-7), 3,84 (s, OCH₃), 5,90 (s, O₂CH₂), 5,32 (s(l), OH), 6,27 (s, H-3'), 6,54 (s(l), H-2 e H-6'), 6,62 (dd, J = 8,0 e J = 2,0 Hz, H-6), 6,74 (d, J = 8,0 Hz, H-5) (Fig. V-4); r.m.n.¹³C (25,2 MHz, δ , CDCl₃): 147,6 (C-3), 145,7 (C-4), 144,7 (C-4'), 143,3 (C-5'), 140,3 (C-2'), 133,1 (C-1), 128,4 (C-1'), 122,6 (C-6), 115,4 (C-6'), 110,0 (C-3'), 109,9 (C-5), 107,6 (C-2), 100,6

(O₂CH₂), 55,9 (OCH₃), 54,2 (C-7), 43,8 (C-8), 39,2 (C-7'), 35,6 (C-8'), 20,0 (C-9'), 17,2 (C-9) (Fig. V-6 e V-7); e.m. m/e(%) 326 (M⁺, 100), 270 (32), 269 (34), 240 (40), 239 (24), 189 (14), 137 (4), 135 (24) (Fig. V-8, Esquema V-1).

Rel - (7R,8R,8'S)-4'-metoxi-5'-acetoxi-3,4-metilenodioxi-8.8',7.2'-lignana ou rel. (7R,8R,8'S)-2,3-dimetil-6-acetoxi-7-metoxi-1-piperonil-tetralina (V-Ac). Óleo. i.v. ($\gamma_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$, cm⁻¹): 3000-2900, 1750, 1500, 1450, 1200, 1060, 930 (Fig. V-3), r.m.n.¹H (100 MHz, δ , CDCl₃): 0,86 (d, J = 7,0 Hz, CH₃-9'), 1,08 (d, J = 7,0 Hz, CH₃-9), 1,40-1,90 (m, H-8 e H-8'), 2,25 (s, H₃C-CO), 2,60 (dd, J = 11,0 e J = 15,0 Hz, H_{ax}-7'), 2,82 (dd, J = 4,0 e J = 15,0 Hz, H_{eq}-7'), 3,45 (d, J = 10,0 Hz, H_{ax}-7), 3,82 (s, OCH₃), 5,94 (s, O₂CH₂), 6,35 (s, H-3'), 6,55 (s(1), H-2), 5,66 (s, H-6'), 6,60-6,64 (dd, J = 8,0 e J = 2,0 Hz, H-6), 6,74 (d, J = 8,0 Hz, H-5) (Fig. V-5); e.m. m/e(%) : 368 (52), 326 (100), 270 (45), 269 (34), 240 (38), 239 (24), 189 (12), 137 (3), 135 (19) (Fig. V-9, Esquema V-2).

Hidroxiotobaina (VI) - rel - (7R,8R,8'S)-3,4-3',4'-dimetilenodioxi-8.8',7.2'-lignana ou rel. (1R,2R,3S)-2,3-dimetil-7,8-metilenodioxi-1-piperonil-tetralina. Cristais incolores P.F. 105-106 (éter de petróleo + acetona). u.v. ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$, nm(ε) : 240 (4420), 290 (4350) (Fig. VI-1); i.v. ($\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$, cm⁻¹): 3500, 3000-2850, 1600, 1470, 1230, 1050 (Fig. VI-2); r.m.n.¹H (100 MHz, δ , CDCl₃): 0,9 (d, J = 6,0 Hz, CH₃-9'); 1,05 (d, J = 6,0 Hz, CH₃-9), 1,5-2,0 (m, H-8 e 8'), 2,56 (dd, J = 10,0 e

$J = 15,0$ Hz, $H_{ax}^{-7'}$), 2,75 (dd, $J = 4,0$ e $J = 15,0$ Hz, $H_{eq}^{-7'}$), 2,26 (s(1), OH), 5,58 e 5,74 (s(1), $O_2CH_2-3',4'$), 5,95 (s, $O_2CH_2-3,4$), 6,55-6,9 (m, H-2,5,6,5' e 6') (Fig. VI-3); r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz, δ , $CDCl_3$): 146,8 (C-3), 145,9 (C-4), 145,6 (C-4'), 144,9 (C-3'), 140,3 (C-1), 131,0 (C-1'), 126,1 (C-2'), 120,7 (C-6'), 118,8 (C-6), 108,0 (C-5'), 107,0 (C-5), 106,8 (C-2), 100,7 (O_2CH_2), 75,7 (C-7), 49,5 (C-8), 39,8 (C-7'), 31,4 (C-8'), 19,7 (C-9'), 10,5 (C-9) (Figs. VI-4 e VI-5); e.m. m/e(%) : 340 (80), 322 (16), 307 (5), 284 (47), 283 (100), 254 (40), 178 (2), 163 (7), 149 (20), 135 (15), 121 (10) (Fig. VI-6, Esquema VI-1).

Otobaina (VI-a) - rel- (8S)- $\Delta^7-3,4-3',4'$ -dimetile
nodioxi-8.8',7.2'-lignana ou rel. (35)- $^1-2,3$ -dimetil-7,8-me
tilenodioxi-1-piperonil-tetralina. Cristais incolores P.F. 102-
-104 (éter de petróleo). i.v. ($\gamma_{max}^{KBr}, cm^{-1}$): 3000-2900, 1500,
1450, 1240, 1040 (Fig. VI-7); r.m.n. 1H (100 MHz, δ , $CDCl_3$): 1,02
(d, $J = 7,0$ Hz, CH_3-9'), 1,78 (s, CH_3-9), 2,52-2,26 (m, H-8), 2,54
(dd, $J = 4,0$ e $J = 14,0$ Hz, $H_{eq}^{-7'}$), 3,0 (dd, $J = 7,0$ e $J = 14,0$
Hz, $H_{ax}^{-7'}$), 5,56 (s(1)) e 5,64 (s(1)) ($O_2CH_2-3',4'$), 6,0 (s,
 $O_2CH_2-3,4$), 6,55-6,85 (m, 5 H-Ar) (Fig. VI-8); e.m. m/e(%) :
322 (M^+ , 100), 307 (39), 293 (23), 279 (17), 278 (9), 277 (40),
249 (10), 247 (54), 201 (15), 200 (22) (Fig. VI-9, Esquema VI-2).

Hidroxi-oxo-otobaina (VII) - rel- (7R,8R,8'S)-3,4-
-3',4'-dimetilenodioxi-7-hidroxi-4-oxo-8.8',7.2'-lignana ou rel.
(7R,8R,8'S)-2,3-dimetil-7.8-metilenodioxi-1-hidroxi-4-oxo-1-pi
peronil-tetralina. Cristais incolores P.F. 168-170 (éter de

petróleo + benzeno). u.v. $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, nm(ϵ) : 240 (5275), 285 (5130) e 315 (4810) (Fig. VII-1); i.v. ($\gamma_{\max}^{\text{KBr}}$, cm^{-1}): 3460, 3000-2880, 1670, 1610, 1490, 1440, 1250, 1050 (Fig. VII-2), r.m.n. ^1H (100 MHz, δ , CDCl_3): 0,95 (d, $J = 7,0$ Hz, CH_3 -9), 1,20 (d, $J = 7,0$ Hz, CH_3 -9'), 2,17 (dq, $J = 7,0$ e $J = 12,0$ Hz, H-8'), 1,9-2,6 (s(1), OH), 2,86 (dq, $J = 7,0$ e $J = 12,0$ Hz, H-8), 5,71 (s(1)) e 5,84 (s(1)) (O_2CH_2 -3',4'), 5,90 (s, O_2CH_2 -3,4), 6,70-6,90 (m, H-2',5',6' e 5), 7,7 (d, $J = 8,0$ Hz, H-6) (Fig. VII-3); r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz, δ , CDCl_3): 198,1 (C-7'), 152,3 (C-4'), 147,2 (C-3), 146,2 (C-4), 144,5 (C-3'), 140,5 (C-1), 128,6 (C-2'), 126,6 (C-1), 122,8 (C-6'), 118,9 (C-6), 108,7 (C-5'), 107,3 (C-5), 106,6 (C-2), 100,8 (O_2CH_2), 101,8 (O_2CH_2), 74,8 (C-7), 47,0 (C-8), 12,1 (CH_3 -9 e 9') (Figs. VII-4 e VII-5); e.m. m/e(%) : 354 (23), 326 (6), 311 (4), 298 (100), 297 (5), 270 (2), 269 (10), 268 (4), 240 (15), 232 (2), 217 (5), 149 (37) (Fig. VII-6, Esquema VII-1).

Sitosterol (VII)-3 β -^{hidroxil}-24(R)-etil- Δ^5 -colesteno.

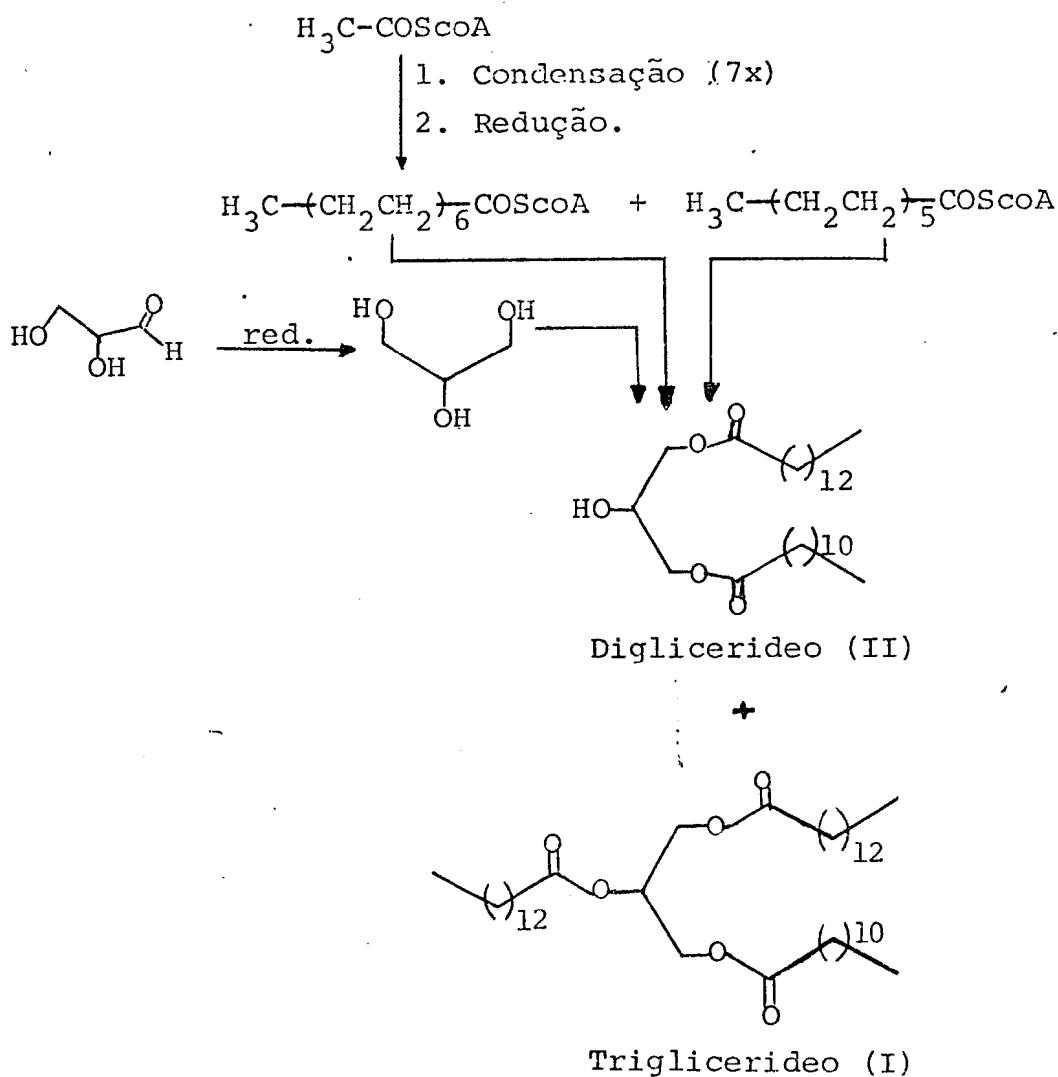
Cristais incolores P.F. 132-134.

3 - BIOGENESE DOS GLICERIDEOS E NEOLIGNANAS

3.1 - Biogenese dos glicerideos.

Os glicerideos são produzidos biogeneticamente pela esterificação de ácidos graxos, policetideos oriundos da reação de condensação tipo Claisen de várias unidades de acetil coenzima A [24], com uma unidade de glicerol, produto de redução do gliceraldeído (Esquema 3.1)

Esquema 3.1 - Proposição biogenética para os glicerideos I e II.

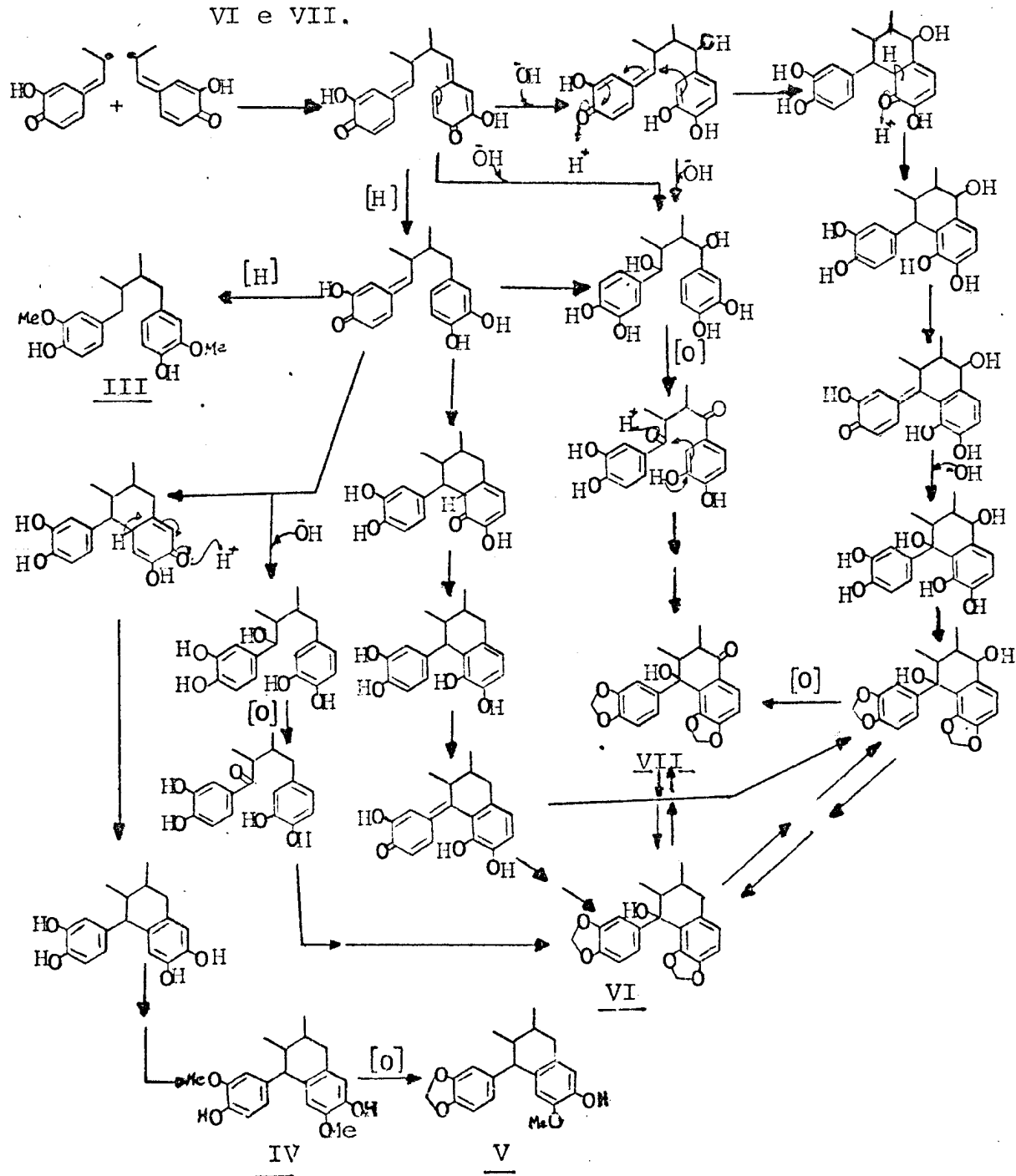


3.2 - Biogenese das neolignanas.

3.2.1 - Neolignanas 8.8' e 8.8',7.2':

Considerando-se as diferentes possibilidades de acoplamento oxidativo entre duas unidades derivadas de propenil fenóis[1], pode-se propor a produção biogenética das substâncias III, IV, V, VI e VII (Esquema 3.2).

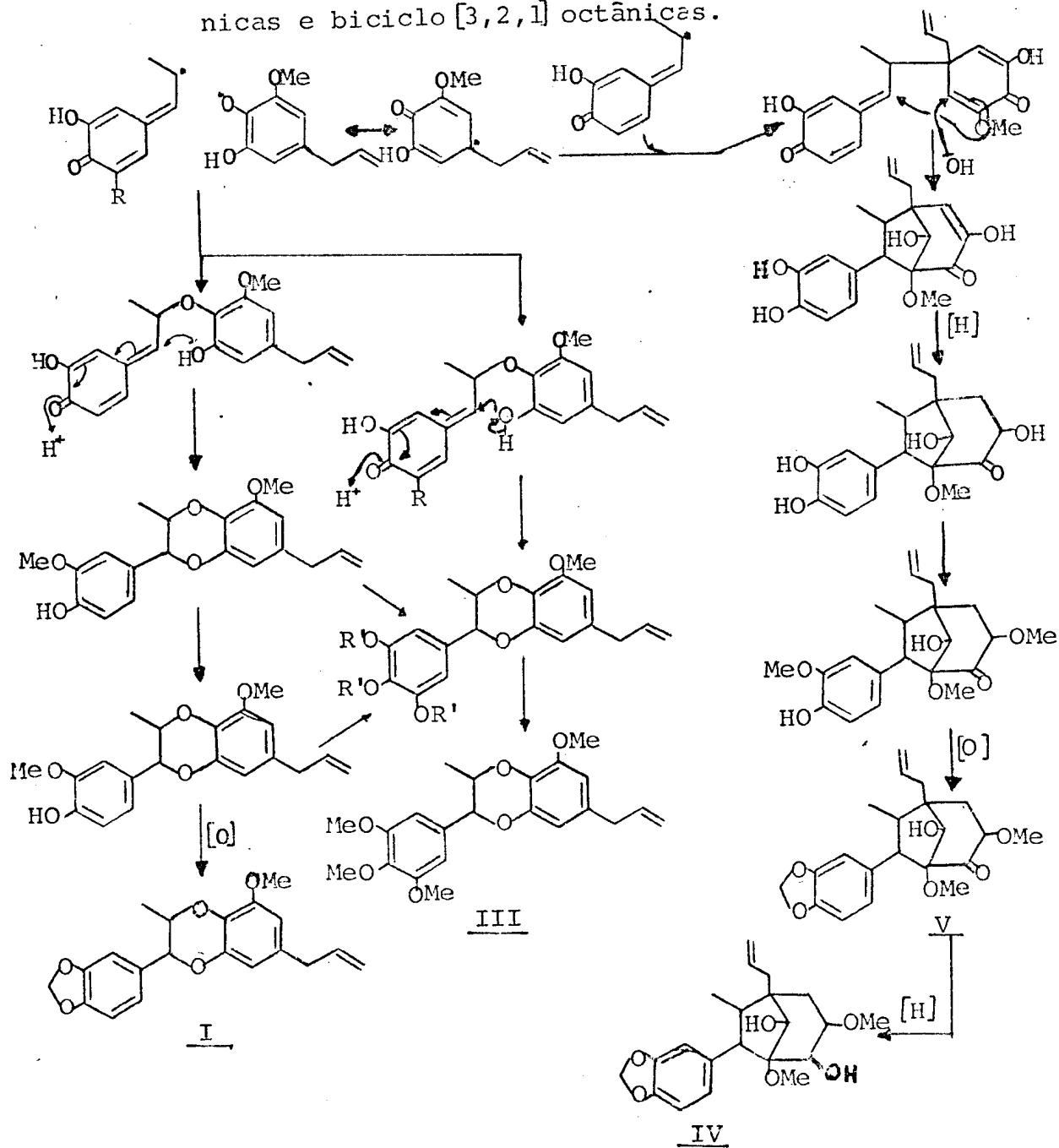
Esquema 3.2 - Proposta biogenética para as neolignanas III, IV, V, VI e VII.



3.2.2 - Neolignanas benzodioxanicas e biciclo[3,2,1] octânicas.

O acoplamento oxidativo de alilfenol com propenilfenol pode fornecer biogeneticamente [1] as neolignanas I (Eusiderina B), III (Eusiderina A), IV (Canelina A) e V (Canelina C), como representado resumidamente no Esquema 3.3 [1].

Esquema 3.3 - Proposta biogenética para as neolignanas benzodioxanicas e biciclo[3,2,1] octânicas.



4. RESUMO

O extrato benzênico da madeira do tronco da Licaria rigida Kosterm (Lauraceae) após fracionamento cromatográfico forneceu, além do sitosterol, quatro neolignanas, duas benzo-dioxânicas: eusiderina B rel-(7R, 8R)- Δ^8 '-5'-metoxi-3,4-metilenodioxido-7.0.3',8.0.4'-lignana e eusiderina A rel-(7R, 8R)- Δ^8 '-5'-metoxi-3,4,5-trimetoxi-7.0.3',8.0.4'-lignana e duas biciclo [3,2,1] octânicas: canelina A (7R,8S,1'S,2'R,3'S,4'S,5'R) - Δ^8 '-2',4'-dihidroxi-3',5'-dimetoxi-3,4-metilenodioxido-8,1',7.3'-lignana e canelina C rel-(7R,8S,1'S,2'R,3'S,4'R)- Δ^8 '-2',4'-dihidroxi-5'-oxo-3,4-metilenodioxido-8,1',7.3'-lignana .

As propostas estruturais resultaram de análise de dados espectrais (u.v., i.v., r.m.n.¹H, r.m.n.¹³C, massa e D.O. R.) das substâncias originais e derivados acetilados.

Obteve-se os derivados 4'-O-acetil e 2',4'-di-O-acetil de canelina A, utilizando-se Ac₂O e Piridina e controlando-se o tempo e temperatura.

O extrato benzênico do fruto da Osteophloeum platispermum (A.D.C.) Warb, (myristicaceae) forneceu, após cristalização em metanol, um triglicerídeo (90% do extrato): Lauro-dimiristato de glicerila. Fracionamento cromatográfico da água mãe do extrato forneceu, além do lauro-dimiristato de glicerila e sitosterol, um diglicerídeo-(1-lauro-3-miristato de glicerila) e cinco neolignanas: o ácido dihidroguaiarético (4,4'-dihidroxi-3,3'-dimetoxi-8.8'-lignana; um isômero da guaiacina - rel-(7R, 8R,8'S)-4,3'-dihidroxi-3,4'-dimetoxi-8.8',7.2'-lignana; um isô-

mero da otobafenol - rel-(7R,8R,8'S)-4'-metoxi-3'-hidroxi-3,4-metilenodioxo-8.8',7.2'-lignana; hidroxiotobaina - rel-(7S,8R,8'S)-3,4-3',4'-dimetilenodioxo-7-hidroxi-8.8',7.2'-lignana e a hidroxi-oxo-otobaina - rel-(7S,8R,8'R)-3,4-3',4'-dimetilenodioxo-7-hidroxi-7'-oxo-8.8',7.2'-lignana.

As propostas estruturais foram formuladas com base na análise de dados espectrais (u.v., i.v., r.m.n. ^1H , r.m.n. ^{13}C e massa) das substâncias originais e de derivados acetilados.

As configurações relativas e conformações de (7R,8R,8'S)-4,3-dihidroxi-3,4'-dimetoxi-8.8',7.2'-lignana; (7R,8R,8'S)-4'-metoxi-3'-hidroxi-3,4-metilenodioxo-8.8',7.2'-lignana; (7S,8R,8'S)-3,4-3',4'-dimetilenodioxo-7-hidroxi-8.8',7.2'-lignana e (7S,8R,8'R)-3,4-3',4'-dimetilenodioxo-7-hidroxi-7'-oxo-8.8',7.2'-lignana foram definidas através da análise dos espectros de r.m.n. ^1H e de r.m.n. ^{13}C .

A desidratação da hidroxiotobaina foi obtida por tratamento com Ac_2O e refluxo durante 48 hs.

A preparação de derivado acetilado envolveu a utilização de Ac_2O e piridina.

As estruturas das substâncias conhecidas foram confirmadas por comparação direta com amostras autênticas. A comparação direta envolveu, ponto de fusão, dados espectrais e cromatografia em camada delgada de sílica.

ABSTRACT

The benzene extract of the trunk wood of Licaria rigida Kosterm. (Lauraceae), after chromatographic fractionation, gave, besides sitosterol, four neolignans, two benzodioxanoid compounds: eusiderin B rel-(7R,8R)- Δ^8 -5'-methoxy-3,4-methylenedioxy-7.0.3',8.0.4'-lignan and eusiderin A rel-(7R,8R)- Δ^8 -5'-methoxy-3,4,5-trimethoxy-7.0.3',8.0.4'-lignan and two bicyclooctanoid compounds: canellin A (7R,8S,1'S,2'R,3'S,4'S,5'R)- Δ^8 -2',4'-dihydroxy-3',5'-dimethoxy-3,4-methylenedioxy-8.1',7.3'-lignan and canellin C rel-(7R,8S,1'S,2'R,3'S,4'R)- Δ^8 -2',4'-dihydroxy-5'-oxo-3,4-methylenedioxy-8.1',7.3'-lignan.

The structural proposals resulted from spectral (u.v., n.m.r.¹H, n.m.r.¹³C, mass and O.R.D.) analysis of the original substances and their acetylated derivatives.

The 4'-O-acetyl and 2',4'-di-O-acetyl derivatives of canellin A were obtained using pyridin and acetic anhydride, at different reaction times temperatures.

The benzene extract of the fruit from Osteophloeum platyspermum (A.DC.) Warb. (Myristicaceae) gave, after crystallization from methanol, a triglycerid (90% of extract): lauro-dimyristin. Chromatographic fractionation of the mother-licquor of the extract gave, besides lauro-dimyristin and sitosterol, a diglycerid-(glyceryl-1-lauro-3-myristate) and five neolignans: dihydroguaiaretic acid (4,4'-dihydroxy-3,3'-dimethoxy-8.8'-lignan; a guaiacin isomer, rel-(7R,8R,8'S)-4,3'-dihydroxy-3,4'-dimethoxy-8.8',7.2'-lignan; an otobaphenol isomer, rel-(7R,8R,8'S)-4'-methoxy-3'-hydroxy-3,4-methylenedioxy-7-hydroxy-8.8',7.2'-lignan, hydroxy-otobain, rel-(7R,8R,8'S)-3,4,3',4'-dimethylenedioxy-7-hydroxy-8.8',7.2'-lignan and

hydroxy-oxo-otobain, rel-(7S,8R,8'R)-3,4,3',4'-dimethylenedioxy-7-hydroxy-7'-oxo-8.8',7.2'-lignan.

The structural proposals were based on spectral (u.v., i.v., n.m.r.¹H, n.m.r.¹³C and mass) analysis of the original substances and their derivatives obtained by acetylation.

The relative configurations and conformations of (7R,8R,8'S)-4,3'-dihydroxy-3,4'-dimethoxy-8.8',7.2'-lignan; (7R,8R,8'S)-4'-methoxy-3'-hydroxy-3,4-methylenedioxy-8,2',7.2'-lignan; (7S,8R,8'S)-3,4,3',4'-dimethylenedioxy-7-hydroxy-8.8',7.2'-lignan and (7R,8R,8'R)-3,4,3',4'-dimethylenedioxy-7-hydroxy-7'-oxo-8.8',7.2'-lignan were defined by the analysis of n.m.r.¹H and n.m.r.¹³C spectra.

The dehydration of hydroxyotobain was obtained by treatment with acetic anhydride under reflux during 48 hours.

The derivative obtained by acetylation involved the use of pyridin and acetic anhydride.

The structures of the known substances were confirmed by direct comparison with authentic samples. The direct comparison involved melting point, spectral data and silica TLC.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gottlieb, O.R., Fortschr. Chem. Org. Naturst., 35, 1 (1978).
2. Nakanishi, K. e Salomon, P.H., "Infrared Absorption Spectroscopy" (2a. edição), Holden-Day, San Francisco (1977).
3. Gottlieb, O.R., Maia, J.G.S. e Mourão, J.C., Phytochemistry, 15, 1289 (1976).
4. Figliuolo, R., "Neolignanas hidrobenzofurânicas e biciclo [3,2,1] octânicas - determinação estrutural sistemática", Tese de Mestrado, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (1978), p. 17-19.
5. Gottlieb, O.R., Phytochemistry, 11, 1537 (1972).
6. Braz Filho, R., Mourão, J.C., Gottlieb, O.R. e Maia, J.G.S., Tetrahedron Letters, 1157 (1976).
7. Wenkert, E., Gottlieb, H.E., Gottlieb, O.R., Pereira, M.O. da S. e Formiga, M.D., Phytochemistry, 15, 1547 (1976).
8. Giesbrecht, A.M., Franca, N.C., Gottlieb, O.R. e Rocha, A. I. da, Phytochemistry, 13, 2285 (1974).
9. Geissman, T.A. e Grout, P.H., "Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism", Freeman Cooper & Co., San Francisco, (1969), p. 150.
10. Alvarenga, M.A., Castilho, O.C., Giesbrecht, A.M. e Gottlieb, O.R., Phytochemistry, 16, 1801 (1977).
11. Corey, E.J. e Suggs, J.W., Tetrahedron Letters, nº 31, 2647, (1975).

12. Alvarenga, M.A., Brockson, U., Gottlieb, O.R., Yoshida, M., Braz Filho, R. e Figliuolo, R., J.C.S. Chem. Commun., 831 (1978).
13. Aiba, C.J. e Gottlieb, O.R., Phytochemistry, 14, 253 (1975).
14. Hobbs, J.J. e King, F.E., J. Chem. Soc., 4732 (1960).
15. Merlini, L. e Zanarotti, A., Tetrahedron Letters, 3621 (1975).
16. Wehrli, F.W. e Wirthlin, T., "Interpretation of Carbon-13 N.M.R. Spectra", Heyden, New York (1976).
17. Abraham, R.J. e Lofters, P., "Proton and Carbon-13 N.M.R. Spectroscopy - An integrated Approach", Heyden, London (1979), p. 148.
18. Kingston, D.G.J., Rao, M.M., Spittler, T.D., Pettersen, R. C. e Gullew, D.J., Phytochemistry, 14, 2033 (1975).
19. Wenkert, E., Buckwalter, B.L., Burfitt, I.R., Gasic, Gottlieb, H.E., Hagaman, E.W., Schell, F.M. e Wovkulich, P.M., "Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substances" em "Topics in Carbon-13 N.M.R. Spectroscopy", vol. 2, George C. Levi (editor), John Wiley, New York (1976), p. 85.
20. Rúveda, E.A., Fonseca, S.F., Campello, J. de P. e Barata, L.E.S., Phytochemistry, 17, 499 (1978).
21. King, F.F. e Wilson, J.G., J. Chem. Soc., 4011 (1964).
22. Majunder, P.L., Chatterjee, A. e Sengupta, G.C., Phytochemistry, 11, 811 (1972).
23. Gottlieb, O.R., Maia, J.G.S. e Ribeiro, M.N. de S., Phytochemistry, 15, 773 (1976).

24. Referência 9, p. 75.
25. Kohen, F., Maclean, L. e Stevenson, R., J. Chem. Soc. (C), 1975 (1966).
26. Stothers, J.B., "Carbon-13 N.M.R. Spectroscopy, Academic Press, New York (1972).
27. Wehrli, F.W. e Nishida, T., "The use of Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Natural Products Chemistry" em "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products", vol. 36, W. Herz, H. Grisebach, G. W. Kirly (Eds.), Springer-Verlag, New York (1979), p. 56 e 66.
28. Asakawa, J., Kasai, R., Yamasaki, K. e Tanaka, O., Tetrahedron, 33, 1935 (1977).
29. Lopes, L.M.X., "Diariildecanoide e oxo-otobainas de Virola sebifera, Tese de Mestrado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo (1980), p. 106.
30. Referência 19, p. 77, 98, 101 e 102.
31. Lisboa, P.L.B., Silva, M.F. da, Lisboa, R.C.L., "Nomes vulgares de Plantas Amazônicas", Ed. Falangola (1977).
32. Gisvold, O. e Thaker, E., Journal of Pharmaceutical Sciences. 63, 1905 (1974).
33. Gottlieb, O.R. e Mors, W.B., Interciencia, 3, 252 (1978).
34. Gottlieb, O.R., Journal of Ethnopharmacology, 1, 309 (1979).
35. Allinger, N.L. e outros, "Química Orgânica", 2a. edição, Ed. Guanabara Dois (1978).
36. Braz Filho, R., Gottlieb, O.R., Moraes, A.A.de, Pedreira, G., Pinho, S.L.V., Magalhães, M.R., Ribeiro, M.N. de S., Lloydia, 40, 236 (1977).