



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química

"AS CUMARINAS DO Pterocaulon lanatum O.Kuntze
E SÍNTESE DE CUMARINAS TRIOXIGENADAS".

ROSA TOYOKO SHIRAISHI FRIGHETTO

Tese de Doutorado

Orientador: Prof. Dr. ADERBAL FARIAS MAGALHÃES

CAMPINAS

1983

UNICAMP
BIBLIOTECA

O trabalho descrito nesta Tese foi
realizado sob a orientação do Prof.
Dr. ADERBAL FARIAS MAGALHÃES.

Ao meu pai(em memória) e a minha mãe
minha eterna gratidão

Aos meus irmãos
pelo incentivo e amizade

Ao Nelson, meu esposo
pelo amor e incentivo

Aos meus filhos, Eduardo e Patrícia
pelas alegrias

À Deus

Agradecimentos

A autora deseja expressar seu agradecimento:

- Ao Prof.Dr. Aderbal Farias Magalhães por ter-me aceito no seu laboratório e ter-me confiado o assunto desta tese.
- À Direção do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do Prof.Dr. Wallace Alves de Oliveira, por proporcionar condições para que este trabalho fosse realizado.
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelas bolsas de estudo concedidas.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de estudo concedidas e pelo auxílio financeiro ao projeto.
- Ao Prof. Dr. Hermôgenes F. Leitão Filho pela identificação das espécies Achyrocline vargasiana e Pterocaulon lanatum.
- À Profa.Dra. Anita Jocelyne Marsaioli pela disponibilidade na obtenção dos espectros de RMN- ^{13}C .
- Ao Prof.Dr. Fred Yukio Fujiwara pela disponibilidade na obtenção dos espectros de RMN- ^1H em 100MHz.
- À Profa.Dra. Concetta Kascheres e Prof. Lawrence T. Nielsen pela disponibilidade na obtenção dos espectros de massa a 70 eV e MIKES.
- À Profa.Dra. Eva Gonçalves Magalhães pelas valiosas discussões durante a realização deste trabalho.
- À Direção do Centro de Pesquisas da Rhodia S/A -Paulínia através do Sr. Nelson Frighetto, pelas análises elementares obtidas, e do Sr. Lawrence T. Nielsen, pelos aparelhos de reação fotoquímica gentilmente emprestados.

- À Sra. Dirce M.Koga pela obtenção dos espectros na região do infravermelho.
- Ao Lourival D. Pimpim e Da. Nena, nossos técnicos, pela amizade e valioso auxílio durante o trabalho experimental.
- À Maria Dirce Ferreira Pedrazzoli pela paciência no serviço dactilográfico.
- À todos os professores e funcionários que direta ou indiretamente contribuíram na realização do presente trabalho.
- Aos colegas de laboratório: Durval, Maria Helena, Lúcia, Márcia, Maria Amélia, Mary Ann, Adriana, Mirtes, Mércia, Dena, Marcos, Mara, Milton, Helena, Norberta e Lourivaldo, que compartilhando os momentos de trabalho, tornaram-no muito mais agradável e gratificante.
- E aos colegas e amigos que aqui não citei, reservo um espaço especial neste agradecimento.

Índice Geral

Índice Numérico de Espectros, Tabelas e Esquemas.....	iv
Símbolos e Abreviações.....	viii
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
I. Introdução.....	1
II. <u>P.lanatum</u> O.Kuntze e seus constituintes.....	3
II.1 Classificação Botânica.....	3
II.2 Constituintes isolados de <u>P.lanatum</u>	5
III. Identificação e Elucidação estrutural dos constituintes de <u>P.lanatum</u>	8
III.1 - PL-1.....	8
III.2 - PL-2.....	16
III.3 - PL-3.....	31
III.4 - PL-4.....	34
III.5 - PL-5.....	40
III.6 - PL-6.....	43
III.7 - PL-7.....	47
IV. Síntese total de 7-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxido)-5,6-me- tilenodióxido cumarina(19).....	50
V. Tentativas de síntese de 5-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxido) 6,7-metilenodióxido cumarina(20).....	87
VI. Parte Experimental.....	94
VI.1 Especificações dos materiais e dos instrumentos utili- zados.....	94
VI.2 Coleta da planta.....	96
VI.3 Extração.....	96
VI.4 Isolamento e Purificação.....	96

VI.5 Dados espectroscópicos e constantes físicas dos compostos isolados.....	100
VI.6 Transformações químicas efetuadas.....	103
VI.7 Síntese.....	106
7.1 -Síntese de ácido β -piperonil acrílico (<u>23</u>).....	106
7.2 -Síntese de 6,7-metilenodióxido cumarina (<u>24</u>).....	106
7.3 -Nitração do composto <u>23</u>	107
7.4 -Nitração de piperonal <u>23</u>	107
7.5 -Aminação de O-nitropiperonal (<u>27</u>).....	108
7.6 -Reação de diazotação e iodação do composto <u>28</u>	108
7.7 -Reação de condensação de Doebner-Knoevenagel do com posto <u>29</u>	109
7.8 -Reação fotoquímica do composto <u>30</u>	109
7.9 -Síntese do triacetato de hidroxí-hidroquinona (<u>33</u>).....	109
7.10-Reação de Condensação de von Pechmann do composto (<u>33</u>).....	110
7.11-Síntese do diacetato de daphnetina(<u>37</u>).....	110
7.12-Síntese de 7-benzilóximo-8-acetoxicumarina(<u>38</u>).....	110
7.13-Síntese de 7-benzilóximo-8-hidroxí-cumarina(<u>39</u>).....	111
7.14-Síntese de 7-benzilóximo-8-hidroxí-5-nitrocumarina (<u>40</u>).....	111
7.15-Síntese de diacetato de esculetina(<u>41</u>).....	111
7.16-Síntese de 7-benzilóximo-6-acetoxi-cumarina(<u>42</u>).....	112
7.17-Síntese de 7-benzilóximo-6-hidroxícumarina(<u>43</u>).....	112
7.18-Síntese de 5-formil-6-hidroxí-7-benzilóximo-cumari- na (<u>44</u>).....	112
7.19-Síntese de 5,6-diidroxí-7-benzilóximo cumarina(<u>45</u>).....	113
7.20-Síntese de 7,8-metilenoxióxido cumarina(<u>46</u>).....	114
7.21-Síntese de 5,6-metilenodióxido-7-benzilóximo cumari	

na (47).....	114
7.22 -Síntese de 5,6-metilenodióxido-7-hidroxycumarina - (48).....	114
7.23 -Síntese de 5,6-metilenodióxido-7-0-prenil-cumarina (49).....	115
7.24 -Epoxidação do composto 49.....	116
VII - Conclusões.....	117
VIII- Espectros.....	118
IX - Bibliografia.....	156

ÍNDICE NUMÉRICO DE ESPECTROS, TABELAS E ESQUEMAS

ESPECTROS	<u>Páginas</u>
E.01 - Espectro no IV de PL-1(<u>2</u>).....	119
E.02 - Espectro no UV de PL-1(<u>2</u>).....	120
E.03 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) de PL-1(<u>2</u>).....	121
E.04 - Espectro de massa de PL-1(<u>2</u>).....	120
E.05 - Espectro no UV de PL-2(<u>4</u>).....	122
E.06 - Espectro de IV de PL-2(<u>4</u>).....	123
E.07 - Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃) de PL-2(<u>4</u>).....	122
E.08 - Espectro de massa de PL-2(<u>4</u>).....	124
E.09a- Espectro de RMN- ¹³ C(CDCl ₃) do composto <u>5</u> (DFL).....	125
E.09b- Espectro de RMN- ¹³ C(CDCl ₃) do composto <u>5</u> (FDFE)....	125
E.10a- Espectro de RMN- ¹³ C(CDCl ₃) de PL-2(<u>4</u>) (DFL).....	126
E.10b- Espectro de RMN- ¹³ C(CDCl ₃) de PL-2(<u>4</u>) (FDFE).....	126
E.11 - Espectro de RMN- ¹³ C(CDCl ₃) de PL-2(<u>4</u>) (DA).....	127
E.12 - Espectro no IV de PL-3(<u>14</u>).....	128
E.13 - Espectro no UV de PL-3(<u>14</u>).....	129
E.14 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) de PL-3(<u>14</u>).....	129
E.15 - Espectro de massa de PL-3(<u>14</u>).....	130
E.16 - Espectro no UV de PL-4(<u>17</u>).....	130
E.17 - Espectro no IV de PL-4(<u>17</u>).....	131
E.18 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) de PL-4(<u>17</u>).....	132
E.19 - Espectro de massa de PL-4(<u>17</u>).....	132
E.20 - Espectro no UV de PL-5(<u>20</u>).....	155
E.21 - Espectro no IV de PL-5(<u>20</u>).....	133
E.22 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) de PL-5(<u>20</u>).....	134
E.23 - Espectro de massa de PL-5(<u>20</u>).....	135

E.24 - Espectro no UV de PL-6(21).....	136
E.25 - Espectro no IV de PL-6(21).....	137
E.26 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) de PL-6(21).....	135
E.27 - Espectro de massa de PL-6(21).....	138
E.28 - Espectro no IV do composto 27.....	139
E.29 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 27	136
E.30 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 28	138
E.31 - Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃) do composto 29.....	124
E.32 - Espectro de RMN- ¹ H (CDCl ₃) do composto 30a.....	140
E.33 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 33	140
E.34 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 37	141
E.35 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 41	141
E.36 - Espectro no IV do composto 41.....	142
E.37 - Espectro no IV do composto 42.....	143
E.38 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 42.....	144
E.39 - Espectro no IV do composto 43.....	145
E.40 - Espectro no UV do composto 43.....	144
E.41 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 43.....	146
E.42 - Espectro no IV do composto 44.....	146
E.43 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 44.....	147
E.44 - Espectro no IV do composto 45.....	148
E.45 - Espectro de massa do composto 45.....	147
E.46 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 47.....	149
E.47 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 49.....	149
E.48 - Espectro de RMN- ¹ H(CDCl ₃) do composto 19.....	150
E.49 - Espectro de massa do composto 19.....	150
E.50 - Espectro de RMN- ¹³ C(CHCl ₃) do composto 49(DFL)...	151
E.51 - Espectro de RMN- ¹³ C(CHCl ₃) do composto 49(FDFF)...	152
E.52 - Espectro de RMN- ¹³ C(CDCl ₃) do composto 20(DFL)...	153

E.53 - Espectro de RMN- ^{13}C (CDCl_3) do composto <u>20</u> (FDFP)...	153
E.54 - Espectro no IV do composto <u>55</u>	154
E.55 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto <u>55</u>	155
Tabela 1 . Dados de RMN- ^1H de PL-1(<u>2</u>).....	15
Tabela 2 . Dados de RMN- ^1H de PL-2(<u>4</u>).....	21
Tabela 3 . Deslocamento químico de $^{13}\text{C}(\delta)$ e acoplamento $^{13}\text{C}-^1\text{H}(\text{Hz})$ da cumarina PL-2(<u>4</u>).....	25
Tabela 4 . Dados de RMN- ^1H de PL-5(<u>20</u>) e de <u>19</u> (Bohlmann).....	43
Tabela 5.. Dados de RMN- ^1H de PL-6(<u>2</u>).....	47
Tabela 6 . Tabela comparativa dos dados de RMN- ^1H do composto <u>49</u> e a cumarina <u>50</u>	79
Tabela 7 . Tabela comparativa dos dados de RMN- ^1H dos compos- tos <u>19</u> (sintético), PL-5 e da cumarina isolada por Bohlmann(<u>19</u>).....	82
Tabela 8 . Quadro comparativo dos comportamentos espectroscó- picos do grupo metilenodióxido no anel cumarínico.	84
Esquema I.....	17
Esquema II.....	22
Esquema III.....	35
Esquema IV.....	39
Esquema V.....	44
Esquema VI.....	48
Esquema VII.....	51
Esquema VIII.....	53
Esquema IX.....	54

Esquema X.....	60
Esquema XI.....	64
Esquema XII.....	70
Esquema XIII.....	80
Esquema XIV.....	92

Simbolos e Abreviações

ccd	- cromatografia em camada delgada	
DFL	- desacoplamento em faixa larga	
FDFD	- Frequência de desacoplamento fora de faixa	
DA	- Desacoplamento alternado	
IV	- Infravermelho	
UV	- Ultravioleta	
J	- constante de acoplamento	
max	- máximo	
m/e	- relação massa/carga	
P.f.	- ponto de fusão	
ppm	- parte por milhão	
RMN	- Ressonância magnética nuclear	
EM	- Espectro de massa	
δ	- deslocamento químico em ppm	
γ	- efeito ou posição relativa a um grupo funcional	
β	- efeito, configuração ou posição relativa a um grupo funcional	
$\Delta\delta$	- variação de deslocamento químico	
ϕ	- diâmetro	
ϕ_i	- diâmetro interno	
s	- singleto	
d	- dubleto	
dd	- duplo dubleto	M^+ -íon molecular
l	- largo	Ac -acetato
t	- tripleto	Ph -grupo fenila
q	- quadrupletto	sh -ombro
m	- multipletto	ν_{sim} -estiramento simétrico
m/m	- relação massa/massa	mmol-milimol

RESUMO

Do extrato em hexano/éter etílico(1:1) da parte aérea da espécie Pterocaulon lanatum O.Kuntze, isolamos seis cumarinas [6,8-dimetoxi-7-O-prenil cumarina ou Puberulina (2); 6,8-dimetoxi-7-(3-metil-2,3-epoxibutilóxido)cumarina (4); 6-metoxi-7(2,3-diidroxí-3-metilbutilóxido)cumarina (14); 5-(2,3-diidroxí-3-metilbutilóxido)-6,7- metilenodióxido cumarina (17); 5-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxido)-6,7-metilenodióxido cumarina (20) e 6,8-dimetoxi-7-(2,3 - diidroxí-3-metilbutilóxido)cumarina (21)] , quatro das quais até então inéditas, além de uma fração esteroídica identificada, através da técnica de MIKES (Espectro de energia cinética dos íons analisados por massa) em espectrometria de massa, como sendo uma mistura de β -sitosterol e estigmasterol.

Propusemos as estruturas moleculares das cumarinas com base em métodos espectroscópicos (IV, UV, RMN- ^1H e ^{13}C e EM) , síntese e interconversões convergentes.

Na tentativa de sintetizarmos os produtos naturais inéditos, preparamos vários modelos de cumarinas trioxigenadas, tendo chegado aos isômeros de dois deles.

No estudo de RMN- ^1H dos produtos naturais e sintéticos dedicamos especial atenção à aplicação da técnica de deslocamento químico induzido por C_6D_6 , em relação às soluções deutero-clorofórmicas. E no estudo de RMN- ^{13}C , ressaltamos os efeitos de substituintes sobre os deslocamentos químicos dos carbonos dos esqueletos cumarínicos.

Abstract

From an hexane/diethyl ether(1:1) aereal extract, of Pterocaulon lanatum O.Kuntze, we isolated six coumarins [Puberulin (2); 2',3'-epoxypuberulin (4); scopoletin (2',3'-dihydroxy-3'-methylbutyl-(1') ether (14); 5-(3-methyl-2,3-epoxybutyloxy)-6,7-methylene dioxycoumarin (20); 5-(3-methyl-2,3-dihydroxybutyloxy)-6,7-methylene dioxycoumarin (17) and 2',3'-dihydroxypuberulin (21)] and a steroidal fraction. Four coumarins were found to be new compounds while the steroids were identified using MIKES (Mass Analyzed Ion Kinetic Energy Spectra) as being a mixture of β -sitosterol and stigmasterol.

We proposed the molecular structures of the coumarins based on spectroscopic methods (IR, UV; NMR- ^1H and ^{13}C and MS) synthesis and convergent interconversions.

With the objective of attaining the total synthesis of the new compounds, we prepared several models of trioxxygenated coumarins, obtaining two of them as their isomers.

The application of solvent-induced chemical shift technique in the NMR- ^1H spectra of natural and synthetic products was especially valuable comparing data obtained in C_6D_6 with those in CDCl_3 solutions.

Analysing NMR- ^{13}C spectral data we observed substituents effects on the chemical shifts of the coumarinic skeleton carbons.

I- INTRODUÇÃO

A família Compositae é constituída por uma rica variedade de plantas , com distribuição cosmopolita. Num mesmo gênero encontram-se exemplares de características extremas abrangendo desde os xerófitos até os mesófitos (p.ex. Erigeon e Coreopsis), englobando plantas rasteiras (Cuchamatanea, de 1cm de altura) e árvores tropicais frondosas (p.ex. Brachyleana, 20m de altura).

Algumas espécies, como as vulgarmente conhecidas por margarida, dente-de-leão, espirradeira, alcachofra etc., são famosas pela suas propriedades curativas, enquanto outras, tais como, alface, chicória, girassol e couve são muito apreciadas na alimentação.

Sem dúvida, o largo uso medicinal de várias espécies foi a grande motivação para os primeiros químicos orgânicos se dedicarem ao estudo químico desta família de plantas, quanto à identificação de seus constituintes e determinação de seus princípios ativos. Apesar da família Compositae ser a mais estudada, sob o ponto de vista químico (cerca de 2000 espécies já exploradas constituindo quase 15% das espécies classificadas /1/), um grande número de espécies brasileiras, e mesmo alguns gêneros inteiros , ainda permanecem inexplorados.

Embora sejam espécies vegetais quimicamente muito distintas, fornecendo triterpenos, flavonoídes, diterpenoídes, amidas, alcalóides, cumarinas e vários outros tipos de constituintes fenólicos distribuídos em diversos gêneros, a ocorrência combinada de sesquiterpenos-lactonas, poliacetilenos e polissacarídeos, do tipo inulina, é praticamente uma característica da fami

lia /2/. Até agora, entretanto, a presença de cumarinas só foi constatada em 4 espécies, todas pertencentes à tribo Inuleae, ou sejam: Phaenocoma prolífera L./3/, Pterocaulon sphacelatum B. & H. /4/, P. virgatum /5/ e P. balansae Chodat /6/.

A tribo Inuleae congrega 180 gêneros, com cerca de 2100 espécies /7/, das quais poucas foram detalhadamente investigadas quanto à composição química, sendo que os tipos de compostos mais encontrados foram sesquiterpenos-lactonas, diterpenos-lactonas, pigmentos flavonóides, poliacetilenos simples e acetilenos mono- e di- tiofênicos/8/.

As cumarinas acham-se amplamente distribuídas no reino vegetal, sendo particularmente abundantes nas famílias Umbelliferae e Rutaceae /9/.

A cumarina propriamente dita, denominada 2H-1-benzopiran-2-ona(1) foi isolada por Vogel, em 1820, da espécie Dypterix odorata /10/. Na natureza as cumarinas agem como fotosensibilizadores. Recentemente introduziu-se o uso da cumarina como matiz de laser azul-verde /11/.

Inicialmente, nosso trabalho visava o estudo de duas espécies do gênero Gnaphalium, pertencente à sub-tribo Inuleae que é extremamente complexo /7/. Suas espécies são frequentemente confundidas com aquelas dos gêneros Achyrocline e Stenocline, a ponto de os autores /7/ incluírem-as no gênero Gnaphalium.

Coletamos uma espécie primeiramente identificada como sendo uma Gnaphalium mas posteriormente classificada como Achyrocline vargasiana. O gênero Achyrocline é praticamente inexplorado. O estudo químico de A. vargasiana entretanto não forneceu material suficiente para uma tese de doutoramento.

O gênero Pterocaulon, que também pertence à tribo Inu

leae da família Compositae, tem uma distribuição geográfica muito interessante. É composto por 18 espécies das quais, doze são americanas e encontram-se espalhadas desde o sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina. As outras seis, são australianas e podem ser localizadas na Nova Caledônia, Indonésia e Sudeste da Ásia. Não ocorrem em regiões temperadas e frias da América /12/.

Uma breve abordagem do extrato de Pterocaulon lanatum O. Kuntze, espécie coletada nas vizinhanças do campus da Universidade Estadual de Campinas, indicou uma surpreendente abundância de cumarinas. Por esta razão iniciamos o seu estudo químico visando estabelecer relações biogenéticas entre as espécies de Pterocaulon que ocorrem em S. Paulo e adjacências.

A espécie P. lanatum O. Kuntze (tribo Inuleae) distribuiu-se também pelo sudeste da Bolívia, Paraguai e Argentina. No Brasil pode ser localizada nos estados do Paraná, S. Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul.

Trabalhamos em colaboração com o grupo do Dr. Hermógenes Leitão Filho, do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetal. Esperamos, desta maneira, dar alguma contribuição através da quimiotaxonomia.

II. P. lanatum O. Kuntze e seus constituintes

II.1 - Classificação Botânica /7,12/

Divisão: Angiospermae

Classe: Dicotyledoneae

Família: Compositae

Tribo: Inuleae

Gênero: *Pterocaulon*

Espécie: *lanatum*

É um subarbusto de 60-120cm de altura, erecto, ramoso e denso. As flores são sempre reunidas em inflorescência característica constituindo o capítulo. Numerosos capítulos dispõem-se em densas espigas de glomérulos. As folhas são alturno-opostas, espatuladas, de ápice agudo, verde-claro na face superior com pelos simples, curtos e brancos. Na face inferior com densa e compacta pilosidade branco-lanuginosa.

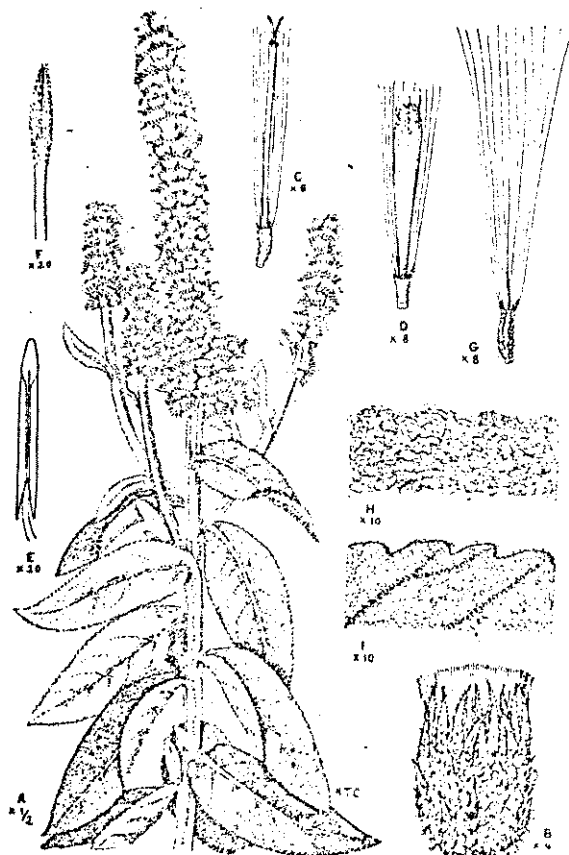


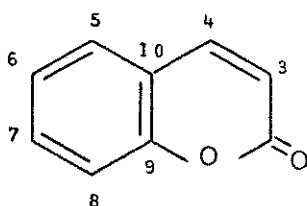
Fig. 34. — *Pterocaulon lanatum* O.K.: A. parte superior de la planta; B. capítulo; C. flor marginal; D. flor del disco; E. antera; F. parte superior del estilo; G. ovario; H e I, detalles de las zonas superiores e inferiores de la hoja. (Rojas 6813).

II-2 - Constituintes isolados de P.lanatum

A cromatografia em coluna do extrato hexano/éter(1:1) das partes aéreas de P.lanatum resultou no isolamento de seis cumarinas principais designadas por: PL-1(2), PL-2(4), PL-3(14), PL-4(17), PL-5(20) e PL-6(21) de acordo com a ordem de identificação feita, além de uma fração esteroídica, PL-ES, identificada posteriormente como sendo uma mistura de β -sitosterol e estigmasterol.

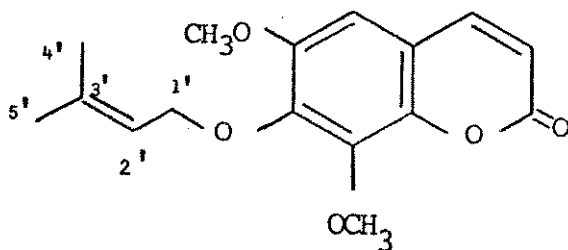
Foram também encontrados uma rica variedade de óleos e sólidos apolares, em grande abundância, cuja identificação não nos interessou.

O sistema básico de numeração para os elementos do a nel é extensivo a todos os compostos da classe de cumarina (1).



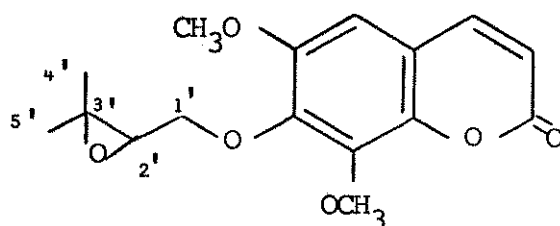
1

PL-1: Isofraxidina(3',3'-dimetil alil éter) ou Puberulina/27,33)



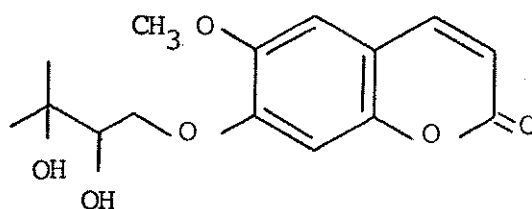
2

PL-2: 6,8-dimetoxi-7-(3 -metil-2 ,3 -epoxibutilóxido)cumarina.



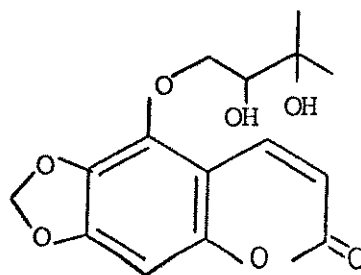
4

PL-3: 6-metoxi-7(2,3-diidroxi-3-metilbutilóxido)cumarina/46/.



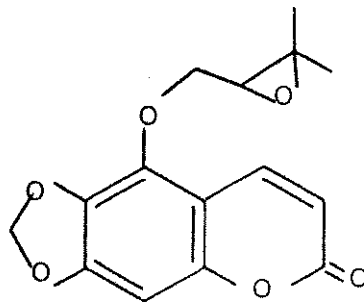
14

PL-4: 5-(2 ,3 -diidroxi-3 -metilbutilóxido)-6,7-metilenodióxido
cumarina.



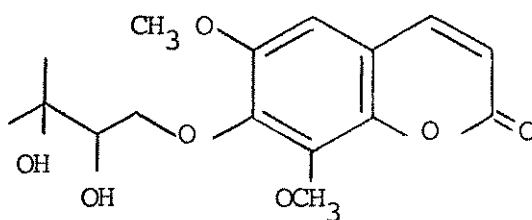
17

PL-5: 5-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxico)-6,7-metilenodióxido
cumarina.



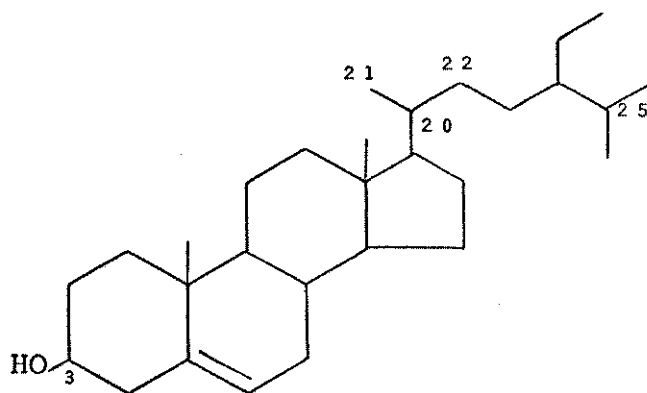
20

PL-6: 6,8-dimetoxi-7-(2,3-diidroxibut-3-metilbutilóxico)cumarina.



21

PL-ES : Estigmasterol e β - sitosterol /50/



β - sitosterol
stigmasterol Δ^{22}

III - Identificação e Elucidação estrutural dos constituintes de P.lanatum.

III. 1 PL-1

O composto PL-1 é um sólido incolor recristalizado em hexano/éter etílico, na forma de placas, com ponto de fusão 87,8-89,3°C. A análise em cromatografia de camada delgada (ccd) apresentou uma mancha com fluorescência azul sob irradiação ultravioleta (366 nm).

Seu espectro no infravermelho (E.01, pag.119) mostra absorções características de anel cumarínico, através da banda intensa em 1720 cm^{-1} relativa ao grupo carbonílico de uma α -pirona, e das bandas em $1610, 1570$ e 1490 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos C=C do anel aromático/13,14,15/.

Sabe-se pela literatura/16/ que as cumarinas tem absorções características na região do ultravioleta, variando de acordo com a natureza e localização dos substituintes no anel.

O espectro de absorção na região do ultravioleta (E.02, pag.120) mostra máximos em $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}(\epsilon)$: 335(6086), 295(8725), 225 sh(16957) e 205(24495)nm, característicos de um cromóforo cumarínico trioxigenado /17/. As absorções não sofreram alteração em solução alcalina indicando, pois, ausência de hidroxila fenólica/15,16/.

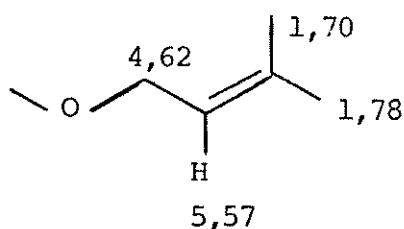
O espectro de ressonância magnética nuclear de prótons (E.03, pag.121) mostra dois dubletos em δ 7,62 ($J = 9,5\text{Hz}$; 1H) e δ 6,32 ($J = 9,5\text{Hz}$; 1H) característicos, respectivamente, dos

prótons olefínicos em C-4 e C-3 do anel lactônico de cumarinas/18,19,20/.

O sinal devido ao H-4 em campo relativamente alto (δ 7,62) indica a ausência de um substituinte oxigenado em C-5, caso contrário, o sinal deveria aparecer em δ 7,8-8,2 /19,20/. Consequentemente, ao singlete em δ 6,69 atribuímos o próton H-5.

Observamos ainda dois singletos em δ 4,06 e δ 3,90, característicos dos grupos metoxílicos.

Evidenciamos a presença do grupo isoprênico, através dos dois singletos largos em δ 1,78 e δ 1,70, equivalendo a tres prótons cada um, característicos dos grupos metílicos ligados ao C_{sp^2} e também pelo tripleto largo em δ 5,57 (1H), correspondente ao próton metínico, e o dubleto largo em δ 4,62 (2H) devido ao grupo metilênico quimicamente desprotegido /19,21/.

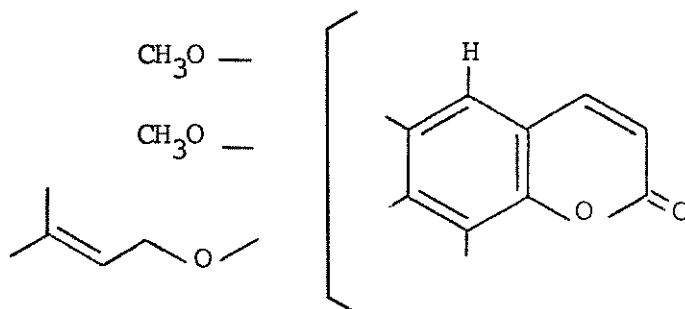


Confirmamos essas atribuições através do experimento de dupla irradiação. A incidência de uma radiofrequência H_2 na frequência de ressonância do próton que absorve em δ 5,57 (tripleto largo), resultou na simplificação do sinal duplo em δ 4,62. Ficaram também evidenciados dois singletos agudos em δ 1,78 e δ 1,70, os quais apareciam como dois singletos largos antes do desacoplamento, ficando assim comprovada a presença de um sistema de acoplamento do tipo AA'X/37/.

Outra evidência da presença do grupo isoprênico é a baixa abundância do íon molecular, no espectro de massa (E.04, pag 120), em m/e 290(0,6) e os fragmentos intensos em m/e 69 (isoprenila; 35,5) e m/e 222(100). Estes fragmentos são consistentes com uma cumarina O-prenilada/2 /.

A análise elementar do composto forneceu $C_{16}H_{18}O_5$ como fórmula molecular e o espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 290.

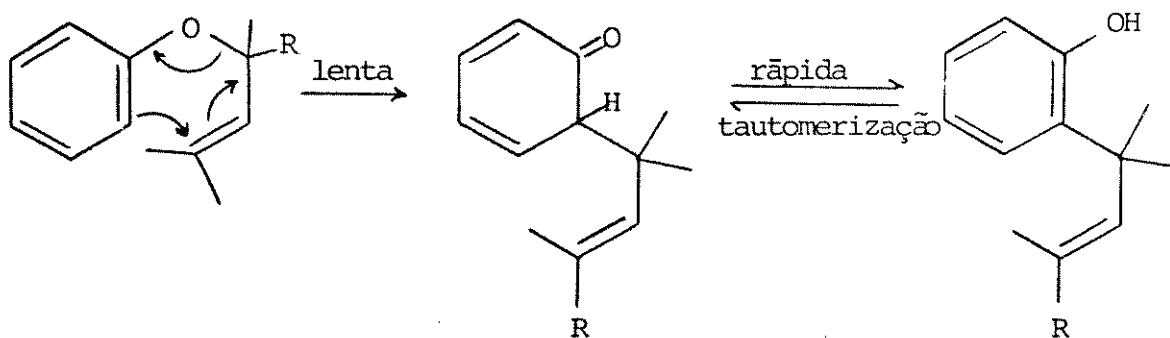
Com os dados obtidos até aqui podemos propor a seguinte estrutura parcial



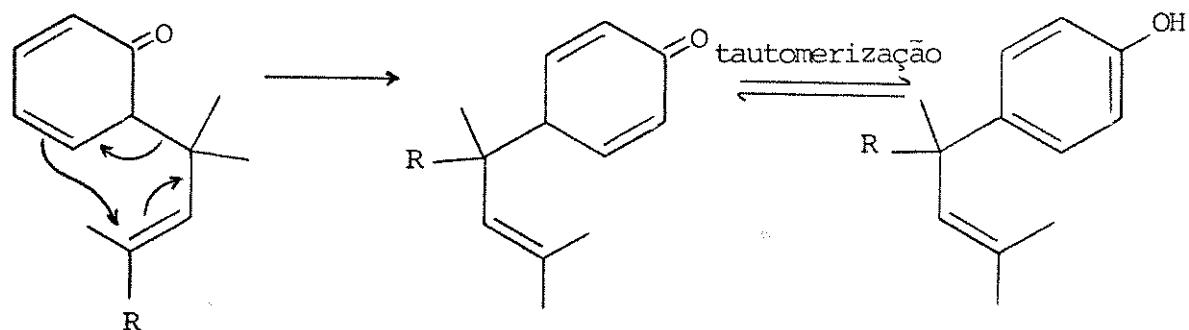
Podemos resolver a localização dos substituintes no anel, através da análise do produto de rearranjo de Claisen/22/ . Esta reação consiste no rearranjo de alil éteres para O-alil fenóis. Se as posições orto estão ocupadas, o grupo alil migra para a posição para /23a/. O mecanismo é cíclico de acordo com as equações (1) e (2).

Pode ocorrer uma segunda migração levando o grupo alil a uma posição para em relação à hidroxila (eq. 2).

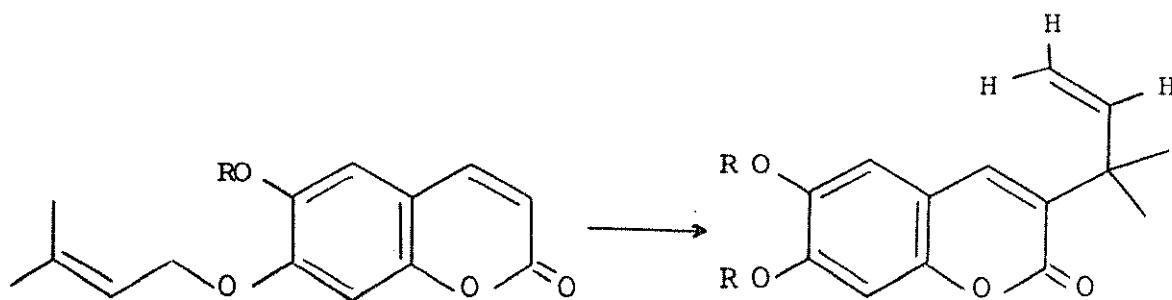
Equação 1



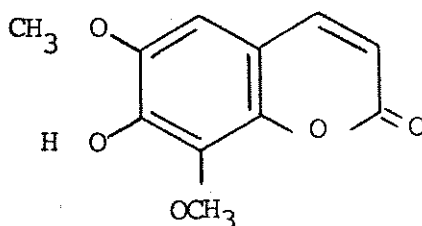
Equação 2



Hã ainda, no caso de cumarinas, um rearranjo anormal em que se observa a migração de 7-O- prenila para 1,1-dimetil ali la ligado em C-3 da cumarina /24,25/.



Analisando o espectro na região do ultravioleta do produto de rearranjo de Claisen (3) constatamos a presença de hidroxila fenólica, mediante o deslocamento batocrômico em meio alcalino característico de 7-hidroxicumarinas, absorvendo em 245 e 402 nm, diferente de 6-hidro-7,8-dimetoxi cumarina /26/. No espectro de RMN- ^1H de fato constatamos a ausência do grupo prenila. Em δ 5,70 observamos um sinal largo devido à hidroxila, o qual desaparece com a adição de água deuterada.



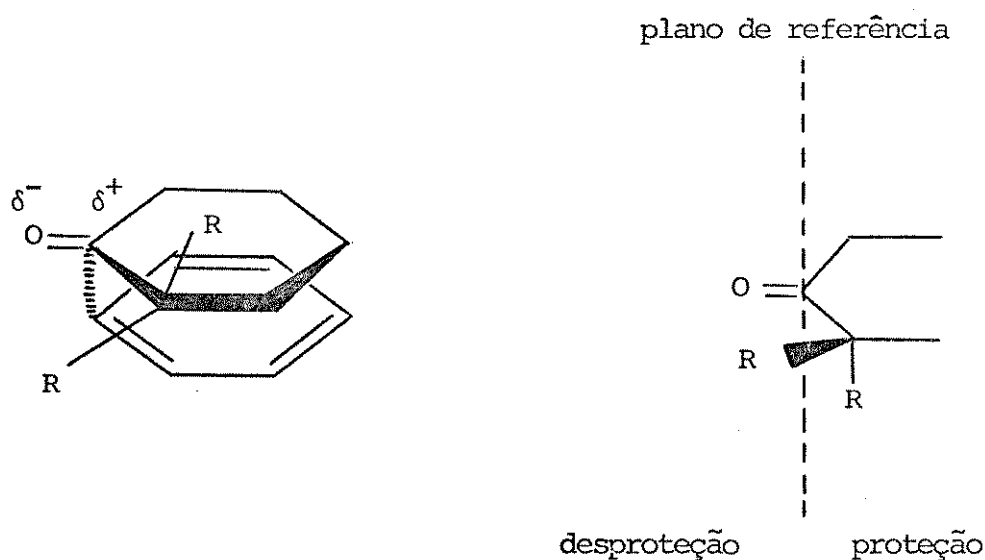
3

Provavelmente ocorreu apenas uma pirólise do grupo prenila originando o fenol. O produto da reação de Claisen (3) apresentou ponto de fusão 146-148 $^{\circ}$, indicando tratar-se de 6,8-dimetoxi-7-hidroxicumarina por comparação com os pontos de fusão das três 6,7,8-dimetoxi-hidroxicumarinas possíveis e conhecidas por síntese /27/: 6,7-dimetoxi-8 hidroxicumarina (p.f.195 $^{\circ}$); 7,8-dimetoxi-6-hidroxicumarina (p.f 184 $^{\circ}$) e 6,8-dimetoxi-7-hidroxicumarina (p.f.148-9 $^{\circ}$).

Assim, embora não tenhamos obtido uma migração orto ou para , nem o produto de rearranjo anormal para C-3, como seria esperado para qualquer que fosse a localização do grupo prenila, o resultado obtido nos deu uma boa indicação de que este grupo estava localizado em C-7.

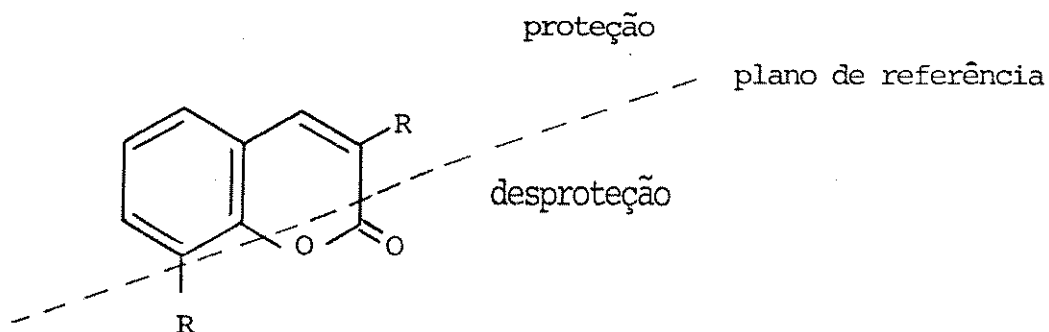
Por outro lado, o emprego da técnica de deslocamento induzido por solvente, em RMN- ^1H , nos possibilitou a determinação das posições de metilas, metoxilas e dos prótons aromáticos em cumarinas, sendo muito útil na elucidação estrutural desta classe de compostos.

Grigg e colaboradores/28/ estabeleceram valiosas correlações entre cumarinas e cetonas esteroidais /29/. As cetonas, em solução benzênica, formam o complexo de colisão soluto-solvente, onde os elétrons π do anel benzênico interagem com a carga parcialmente positiva do carbono carbonílico, de tal maneira que os elétrons ficam o mais afastados possível da carga parcialmente negativa do oxigênio, como se observa no esquema abaixo /29/. Neste caso, o plano de referência passa pelo grupo carbonílico e os prótons situados atrás deste plano são protegidos e aqueles na frente desprotegidos.

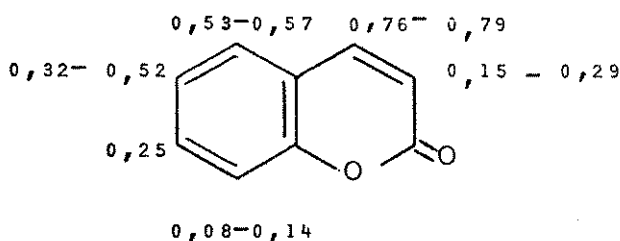


No caso das cumarinas, os deslocamentos químicos induzidos por hexadeuterobenzeno foram medidos com relação ao deuterocloroformio. O deslocamento induzido por solvente, $\Delta\delta$ (ppm), é definido como $\delta(\text{CDCl}_3) - \delta(\text{C}_6\text{D}_6)$.

Desta maneira, os autores /28/ concluíram que todos os prótons do esqueleto cumarínico situados atrás de um plano traçado um pouco acima do oxigênio do heterociclo sofrem proteção e a queles situados na frente deste plano desproteção.



Num grande número de cumarinas testadas os resultados mostraram que todos os prótons aromáticos sofrem proteção em hexadeuterobenzeno medido em relação ao deuteroclorofórmio. A proteção decresce de C-4 para C-8 conforme pode-se observar na estrutura a seguir /28/.



A grandeza da proteção pode variar, sendo que em uma das cumarinas a máxima chegou a 1,06 ppm no C-4/28/.

Substituintes metílicos apresentaram este mesmo tipo de comportamento naquelas posições. Já os substituintes metoxílicos apresentaram uma proteção muito grande (0,60-0,70 ppm) nas

posições C-5 e C-7, o que os distinguem facilmente do substituinte metoxílico em C-8 /28,30/.

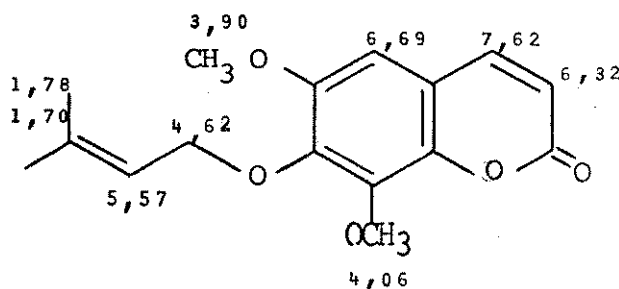
Baseando-nos neste trabalho de Grigg e colaboradores /28/, fizemos um estudo de deslocamento químico induzido por hexadeuterobenzeno em relação ao deuterochloroformio. Os resultados estão registrados na Tabela 1.

Este experimento nos confirmou, mais uma vez, a presença do próton aromático no C-5. Os substituintes metoxílicos em C-6 (0,58ppm) e C-8(0,31 ppm) sofreram proteções bem distintas conforme Grigg e colaboradores haviam afirmado.

Tabela 1. Dados de RMN-¹H de PL-1

Próton	PL-1, 60MHz		
	CDCl ₃ /TMS	C ₆ D ₆ /TMS	Δ (ppm)
3	d 6,32 J=9,5Hz	d 6,03	0,29
4	d 7,62 J=9,5Hz	d 6,68	0,94
5	s 6,69 dl=4,62	s 6,11	0,58
2'	tl=5,57		
4'	s 1,78		0,27
5'	s 1,70	1,51	0,19
6-OCH ₃	s 3,90	s 3,33	0,58
8-OCH ₃	s 4,06	s 3,75	0,31

Reunindo estas informações propusemos a estrutura(2) para a cumarina PL-1. Apresentamos no Esquema I os principais fragmentos e os prováveis mecanismos de fragmentação de PL-1/31,32/.



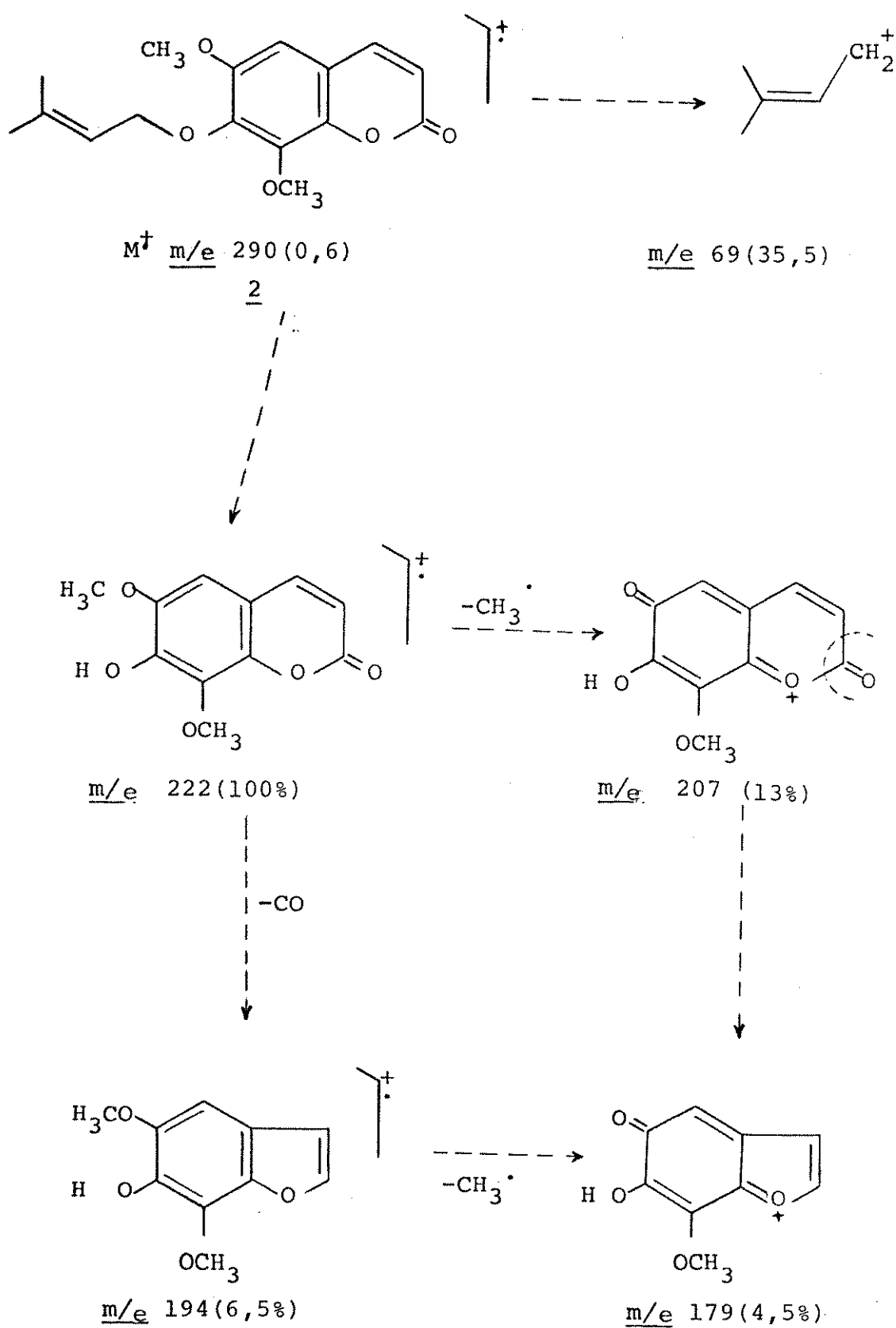
PL-1(2)

Esta cumarina foi originalmente isolada de Pteronia ciliata Thumb (Compositae) na forma de óleo impuro sem comprovação estrutural /33/, e de Agasthoma puberula Fourc(Rutaceae) com as seguintes características p.f.90-92° UV ^{EtOH} λ_{max} (ϵ):342(7200),298(10400),228 sh (1800) e 210(35600)nm/27/.

III.2 PL -2

O composto PL-2 é um sólido incolor, recristalizado a partir de hexano/éter etílico na forma de placas, com ponto de fusão 103-104°C. Análise em ccd apresentou uma mancha com fluorescência azul sob irradiação ultravioleta (366nm).

O espectro de absorção no ultravioleta (E.05,pag122) mostra máximos em λ_{max} ^{EtOH} (ϵ):337 (8234), 293(12787),226(20858) e 209(35017)nm. O espectro é muito semelhante ao do composto PL-1



Esquema I. Prováveis mecanismos de fragmentação de PL-1(2)

(2), indicando tratar-se também de um cromóforo cumarínico 6,7,8-trioxigenado /16,34/.

Seu espectro no infravermelho (E.06. pag.123) com bandas intensas em 1720cm^{-1} (carbonila de α -pirona), 1610,1570 e 1490cm^{-1} (C=C do núcleo aromático) confirma, mais uma vez, a presença de um esqueleto cumarínico.

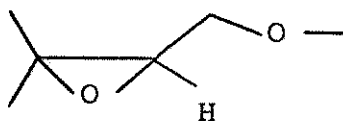
O espectro de ressonância magnética nuclear de prótons (E.07, pag.122) mostra a presença de dois dubletos em δ 7,61 ($J=10\text{Hz}; 1\text{H}$) e δ 6,36 ($J=10\text{Hz}; 1\text{H}$), característicos de prótons cis-olefínicos nas posições C-4 e C-3, respectivamente/18,19,20/. O valor do deslocamento químico do H-4 (δ 7,61) nos sugere ausência de substituinte oxigenado em C-5/19,20/. Portanto, ao singletto em δ 6,72 (1H) atribuímos o próton H-5. A localização deste sinal em campo relativamente alto sugere a presença de um grupo oxigenado adjacente a este próton /35,36/.

Os singletos em δ 4,09 e δ 3,94, equivalendo a três prótons cada um, são característicos de grupos metoxílicos ligados ao anel aromático/18,19/.

Aos dois singletos em δ 1,36 e δ 1,28, correspondendo a tres prótons cada um, atribuímos os grupos metílicos ligados ao anel de epóxido.

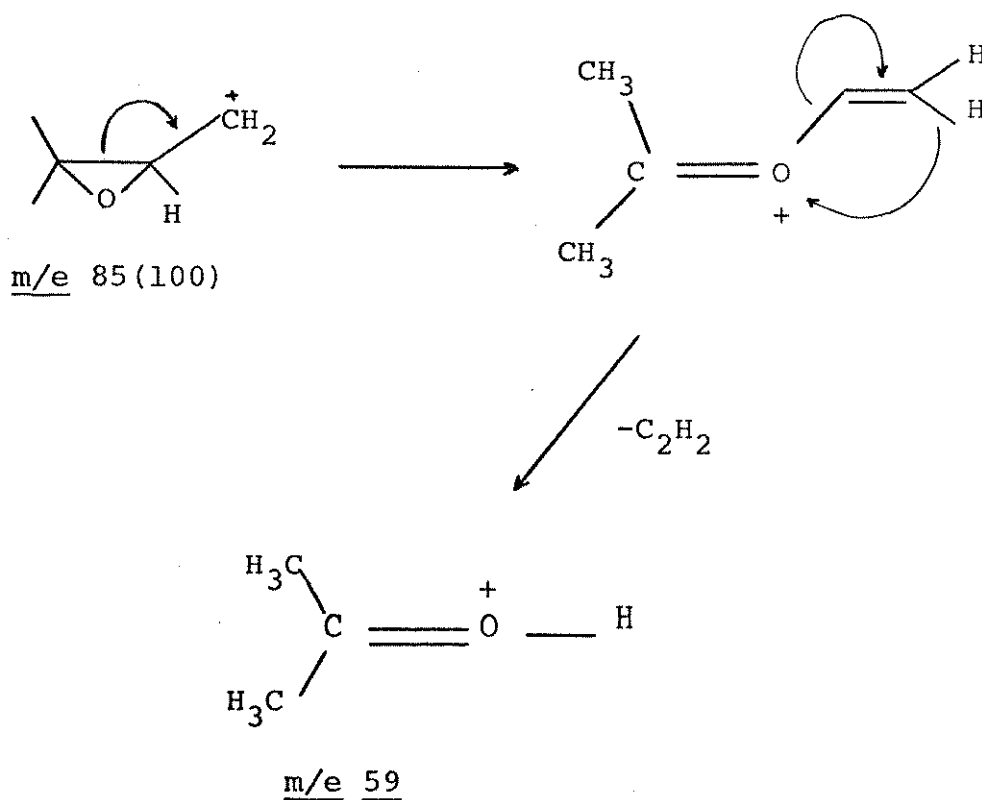
Em δ 4,29 observamos um dubleto, equivalendo a dois prótons, correspondente aos prótons metilênicos. Ao triplete em δ 3,24 (1H) atribuímos um próton metínico ligado ao metileno. Pela posição dos sinais, ambos devem estar ligados aos átomos de oxigênio.

A partir destas informações chegamos à conclusão da existência de um grupo prenila suportando um anel epóxido de acordo com a estrutura anexa .

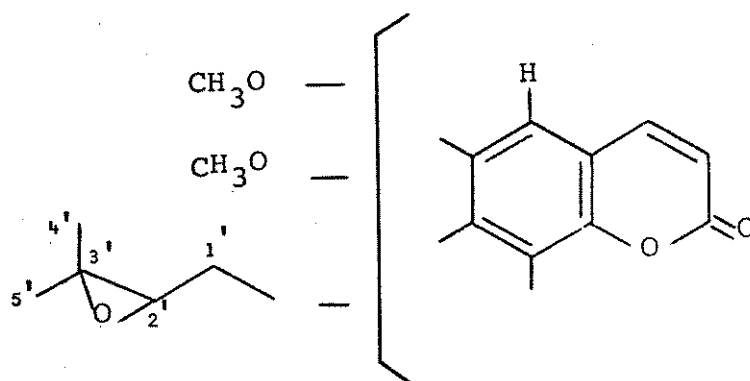


O metino constitui o centro assimétrico e, juntamente com o metileno, forma o sistema de acoplamento do tipo AA'X/37/.

A análise elementar do composto forneceu $C_{16}H_{18}O_6$ como fórmula molecular e o espectro de massa (E.08, pag.124) apresentou o íon molecular em m/e 306 (M^+ ; 30). A presença do pico base em m/e 85 nos confirmou, uma vez mais, a existência do grupo prenila epoxidado. Este íon m/e 85 pode ser formado pela clivagem- β da cadeia lateral /38/.

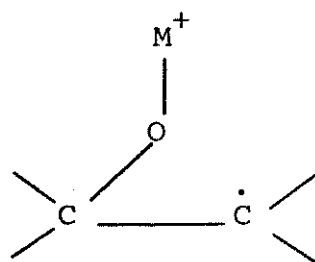


Estas informações nos permitem sugerir a seguinte estrutura parcial:



Para solucionar o problema de localização dos substituintes no anel aromático fizemos uma reação de exclusão do epóxido com o complexo Zn-Cu em etanol anidro, na esperança de convertê-lo no produto natural PL-1(2). De fato, além da substância de partida o produto da reação apresentou constantes físicas coincidentes com as de PL-1.

O mecanismo desta reação de eliminação redutiva foi sugerido/39/ como sendo via quebra da ligação C-O, levando ao radical do tipo:



Adicionalmente, efetuamos a epoxidação da cumarina PL-1(2) com ácido m-cloroperbenzôico em diclorometano a $0^{\circ}\text{C}/40/$, obtendo um produto cujos dados físicos e espectroscópicos foram

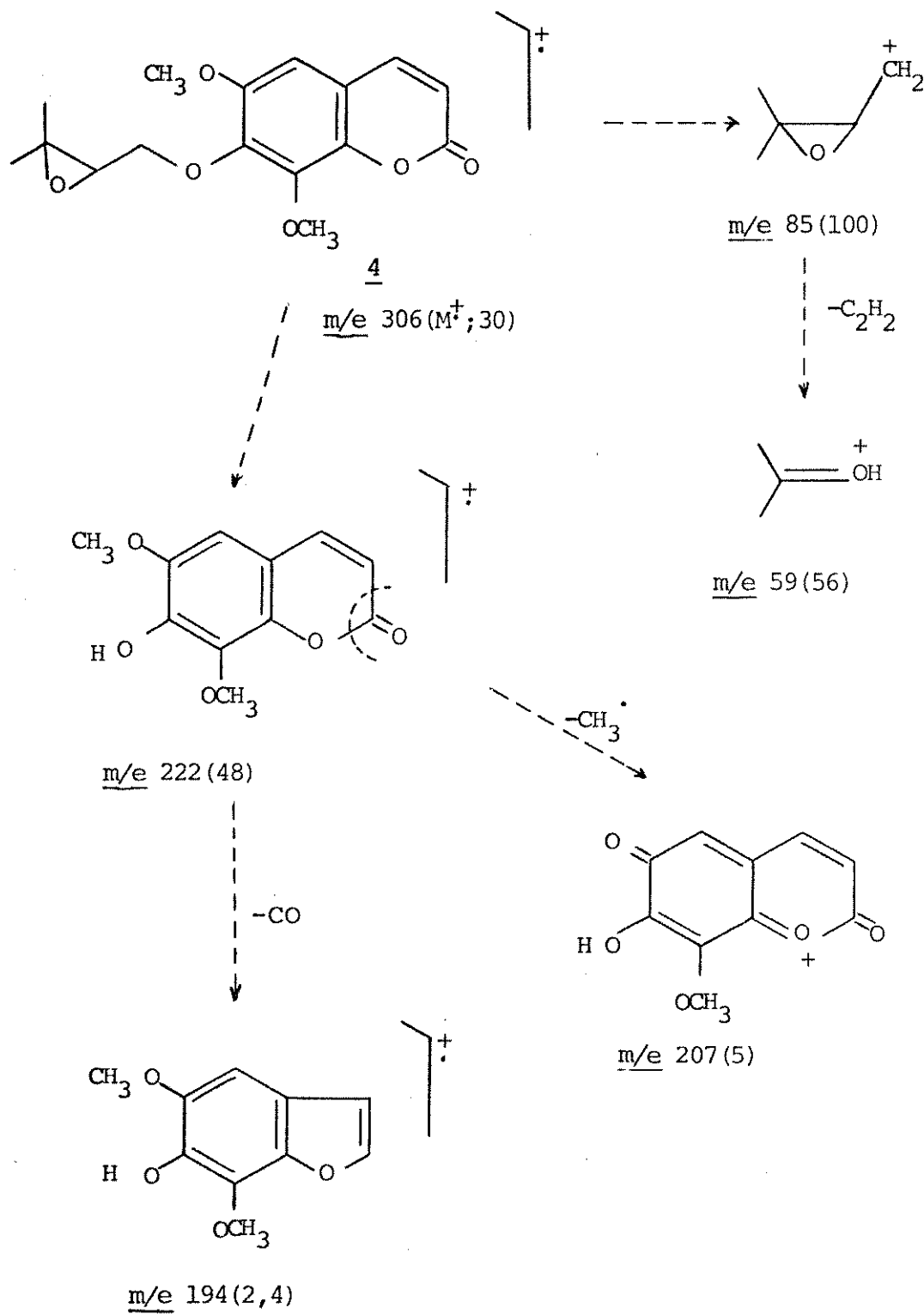
exatamente superponíveis aos do produto natural PL-2.

De posse destas informações, fizemos uma análise mais detalhada do espectro de RMN- ^1H , utilizando a técnica de deslocamento químico induzido por solvente (C_6D_6) e medido em relação ao deuterocloroformio (CDCl_3). Os resultados estão registrados na Tabela 2. Como no caso da cumarina PL-1(2), mais uma vez, confirmamos a presença do próton aromático em C-5, e como seria esperado, os grupos metoxílicos sofreram efeitos de proteção bem distintos.

A partir destas informações propusemos a estrutura 4 para PL-2. Esta cumarina não havia sido registrada anteriormente, de acordo com pesquisas da literatura. No Esquema II propusemos os prováveis mecanismos de fragmentação de PL-2(4).

Tabela 2. Dados de RMN- ^1H de PL-2 (4).

Prótons	PL-2 , 60MHz		
	CDCl_3	C_6D_6	Δ (ppm)
3	d 6,36 J=10Hz	d 6,03	0,33
4	d 7,61 J=10Hz	d 6,75	0,86
5	s 6,72	s 6,06	0,66
1'	m 4,29	m 4,25	0,04
2'	m 3,24	m 3,20	0,04
-4'	s 1,36		
-5'	s 1,28		
-CH ₃ O-6	s 3,94	s 3,36	0,58
-CH ₃ O-8	s 4,09	s 3,79	0,30



Esquema II. Prováveis mecanismos de fragmentação de PL-2(4)

Visando obter maiores informações estruturais da cumarina PL.2(4) fizemos uma análise acurada do seu espectro RMN- ^{13}C (DFL, FDFE e DA).

Inicialmente assinalamos os carbonos da cumarina 5, cujos resultados nos foram muito úteis nas atribuições de PL-2 (4).

Os carbonos quaternários podem ser reconhecidos pela altura do seu sinal no espectro DFL (E.09a, pag 125) e pela ausência de acoplamento $^1\text{J}(\text{C-H})$ no espectro FDFE (E.09b, pag 126).

Dentre os sinais devidos aos carbonos quaternários, atribuímos o sinal mais desprotegido (160,6ppm) ao carbono carbonílico da lactona C-2, por comparação com o das cumarinas 6, 7, 8 e 9 /41,42,43/.

Os sinais em 151,2; 146,0 e 57,8ppm, devidos aos carbonos quaternários restantes, o mais protegido (57,8ppm) podemos atribuí-lo ao C-3' da cadeia lateral e ao sinal 146,0ppm atribuímos o C-6, por comparação com o C-6 dos compostos 8 e 9. Consequentemente, atribuímos o sinal em 151,2ppm ao C-7.

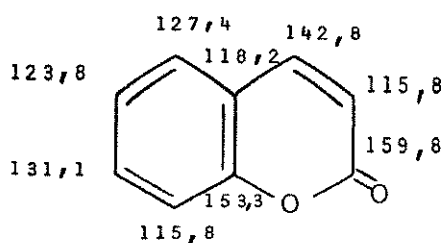
O sinal em 55,9ppm é característico do carbono metoxílico ligado ao núcleo aromático/43/.

Entre os carbonos ligados a hidrogênio, o mais protegido é o C-8 (compostos 8 e 9), portanto, ao sinal em 101,0ppm atribuímos o C-8, e o mais desprotegido (142,0ppm) é relativo ao C-4. No espectro FDFE, este sinal ainda mantém o acoplamento residual ^3J com o próton H-5.

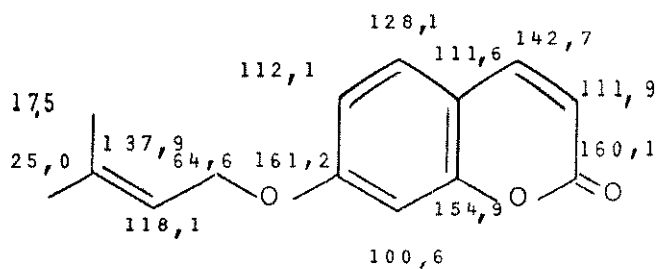
Podemos atribuir os valores correspondentes aos C-3 e C-5 por comparação com os C-3 e C-5 do composto 9. Se dispusermos do espectro de RMN- ^{13}C totalmente acoplado (DA) poderíamos distinguir estes sinais através da análise de sua estrutura fina,

pois os acoplamentos $^1J(C-H)$ são diferentes para carbono olefínico e carbono aromático.

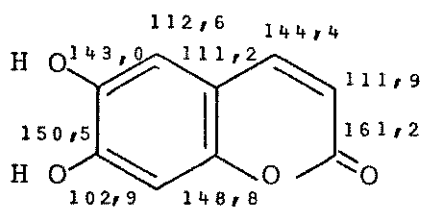
Finalmente, os sinais em 68,1; 60,4; 18,7 e 24,2ppm são característicos, respectivamente, dos carbonos C-1', C-4' e C-5' da cadeia lateral.



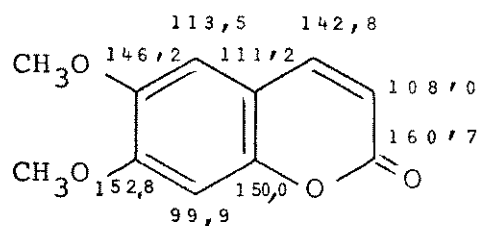
6/41/



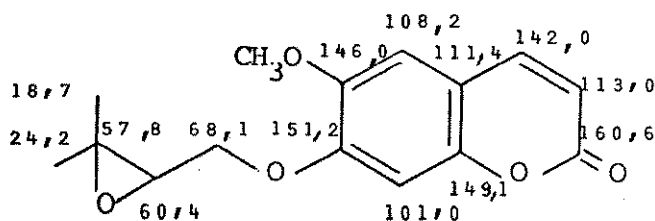
7/42/



8/42/



9/43/



Uma vez atribuídos os carbonos da cumarina 5, inicia - mos a análise dos espectros de RMN- ^{13}C da cumarina PL-2(4) (E.10a e 10b; pag 126) e (E.11, pag 127).

No espectro DFL observamos 16 sinais simples mais um tripleto correspondente ao CDCl_3 .

Fizemos uma análise cuidadosa da estrutura fina, através do espectro totalmente acoplado (DA), e os resultados estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3. Deslocamento químico de $^{13}\text{C}(\delta)$ e acoplamento $^{13}\text{C}-^1\text{H}(\text{Hz})$ da cumarina PL-2(4)

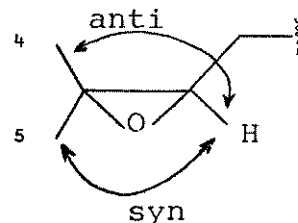
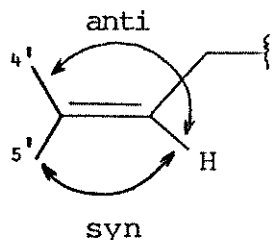
Carbono		Carbono	
2	160,0 (dd) $^3\text{J}(\text{H}_4) \approx 11,2 \text{ Hz}$ $^2\text{J}(\text{H}_3) \approx 5,0 \text{ Hz}$	7	149,5 (sl) * $^3\text{J}(\text{H}_5) \approx 8 \text{ Hz}$
3	115,0 (d) $^1\text{J}(\text{H}_3) \approx 173,0 \text{ Hz}$	8	141,1 (m) *
4	143,2 (dd) $^1\text{J}(\text{H}_4) \approx 163,0 \text{ Hz}$ $^3\text{J}(\text{H}_5) \approx 5,0 \text{ Hz}$	9	144,3 (dl) * $^3\text{J}(\text{H}_5) \approx 11,0 \text{ Hz}$
5	103,6 (dd) $^1\text{J}(\text{H}_5) \approx 162,0 \text{ Hz}$ $^3\text{J}(\text{H}_4) \approx 4,5 \text{ Hz}$	10	114,5 (d) $^3\text{J}(\text{H}_3) \approx 8,4 \text{ Hz}$
6	142,5 (m) *	1'	72,4 (t)
		2'	61,1 (d)
		3'	57,8 (s)
		4'/5'	18,7 (q) e 24,5 (q)

* as atribuições eventualmente podem estar trocadas.

Tomamos a cadeia lateral da cumarina 5 como modelo e atribuímos os sinais em 72,5; 61,7; 57,9; 18,7 e 24,5 ppm, respectivamente, aos carbonos C-1', C-2', C-3', C-4' e C-5' da cadeia lateral de PL-2(4).

É interessante observar a desproteção do C-1' (72,5ppm) de PL-2(4) comparado ao C-1' (68,1ppm) da cumarina 5. Esta desproteção nos sugere a presença de dois outros grupos volumosos nas posições orto a este substituinte /44/. Devido ao impedimento espacial, o par de elétrons desemparelhados do orbital p do átomo de oxigênio presumivelmente fica com recobrimento parcial com o plano da molécula, fazendo com que o metileno sinta mais o efeito indutivo do oxigênio.

Sabemos pela literatura que o grupo prenila tem 3J (C₄'-H₂') (anti) > 3J (C₅'-H₂') (syn) /42/.



Pelo efeito γ de proteção, o C-4' é mais protegido que o C-5'. Os autores tentaram estender este mesmo estudo a um sistema epoxidado. Entretanto a estereoespecificidade do acoplamento à longa-distância ^{13}C - 1H continua incerta para determinar o acoplamento exato /42/. No entanto, tentamos analisar o espectro DA da cumarina 4 e notamos que o sinal em 18,6ppm tem, além do 1J (C₄'-H₄') (quadrupletto), um acoplamento (dubletto) bem pequeno que pode corresponder ao 3J (C₄'-H₂'). Este sinal é mais prote

gido que o C-5' (24,4ppm) pelo efeito - γ de proteção.

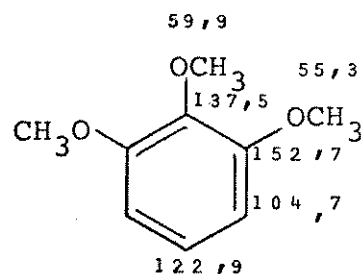
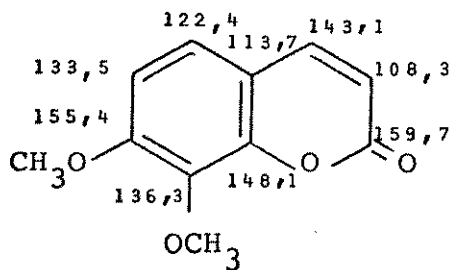
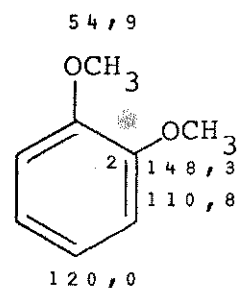
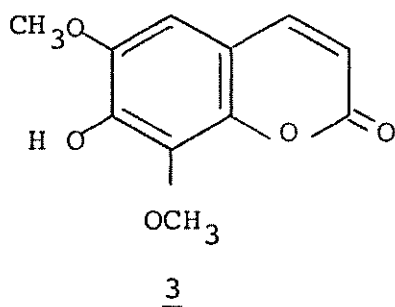
Com base nos dados da Tabela 3, as atribuições aos carbonos ligados a hidrogênio tornaram-se mais evidentes não dando margem a erros. Ao sinal em 143,2ppm atribuímos o C-4, que aparece como um duplo-dublete bem resolvido no espectro DA. Entre os valores correspondentes ao C-3 e C-5, podemos decidir analisando o acoplamento $^1J(C_3-H_3)$ e $^1J(C_5-H_5)$ /42/. Na Tabela 3 temos o sinal em 115,0ppm apresentando acoplamento $^1J \approx 173,0\text{Hz}$ e o sinal em 103,6ppm mostra um acoplamento $^1J \approx 162,0\text{Hz}$. Portanto atribuímos ao sinal em 103,6ppm o C-5(aromático) e ao sinal em 115,0ppm o C-3(olefínico). Além disso, o C-5 tem um acoplamento $^3J(H_4)$ que corresponde, no espectro DA, a um acoplamento em torno de 4,5Hz .

Evidenciamos os dois grupos metoxílicos através dos sinais em 56,2ppm, aparecendo como dois quadrupletos no espectro DA. É interessante notar a diferença existente nos deslocamentos químicos destes dois grupos. Tal observação é muito importante , pois através dela podemos afirmar, com certeza, que um dos grupos metoxílicos se localiza entre dois substituintes volumosos, sendo que a grandeza da desproteção aumenta com o tamanho do substituinte /44/.

Finalmente, restam-nos mais seis sinais correspondentes aos carbonos quaternários, sendo que dois são muito característicos do núcleo cumarínico. O mais desprotegido (160,1ppm) atribuímos ao carbono carboxílico da lactona C-2, por comparação com os compostos 5, 6, 7, 8 e 9 /41,42,43/. No espectro DA(Tabela 3), este sinal apresenta acoplamento $^3J(H_4)=11,2\text{Hz}$ e $^2J(H_3) \approx 5,0\text{Hz}$. O sinal mais protegido (114,5ppm) corresponde ao C-10. Devemos ressaltar que, apesar deste carbono ser quaternário, o sinal aparece como um dublete bem resolvido no espectro DA(E.11,pag), com a-

coplamento muito significativo de $^3J(H_3) \simeq 8,4\text{Hz}$.

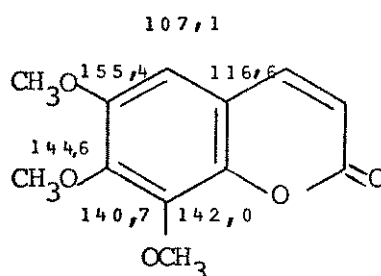
Para atribuir o valor de deslocamento a outros carbonos quaternários, o modelo ideal seria o composto 3. Infelizmente, não dispúnhamos de composto em quantidade suficiente para obter - mos os espectros de RMN- ^{13}C , razão pela qual precisamos recorrer aos modelos mais simples encontrados na literatura, como é o caso dos compostos 10,11/44/ e 12 /43/.



Com a entrada do terceiro grupo metoxílico, o composto 10 passa para 11, induzindo os seguintes efeitos:

C-1	10,8ppm	proteção
C-2	4,4ppm	desproteção
C-3	6,1ppm	proteção
C-4	2,9ppm	desproteção
C-5	6,1ppm	proteção
C-6	4,4ppm	desproteção

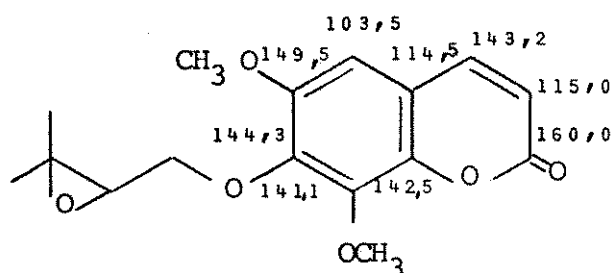
Extendemos estes resultados na análise da passagem do composto 12 para 13, que corresponde à introdução do terceiro grupo metoxílico no composto 12. Assim, assinalamos os valores teóricos aos carbonos do composto 13.



13

Com base nos resultados teóricos obtidos para o composto 13, assinalamos os carbonos quaternários do anel aromático da cumarina 4, conforme esquematizamos na estrutura.

Considerando que os cálculos teóricos são feitos para um grupo metoxílico espacialmente impedido e não para dois, é admissível encontrarmos uma pequena diferença nos valores obtidos.



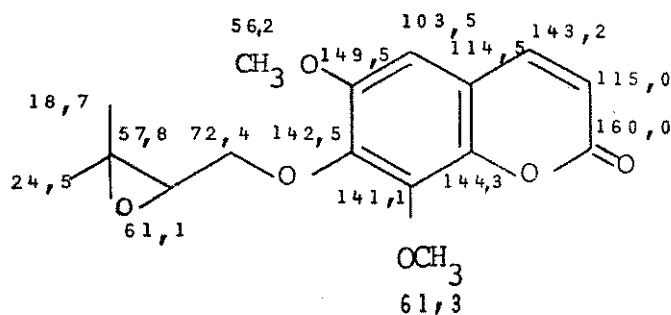
Devemos lembrar também que na passagem do composto 13 para 4, o substituinte não é mais o grupo metoxílico e sim um grupo prenila epoxidado.

Voltando à análise da estrutura fina, entre os valores atribuídos para os carbonos C-6, C-7, C-8 e C-9 notamos que dois deles, C-7 e C-9, apresentaram acoplamento 3J . O carbono C-9 apresenta $^3J(H_4)$ e $^3J(H_5)$, sendo o primeiro da ordem de 10,0Hz e o segundo de 6,0Hz/42/. No espectro DA(E.11, pag. 127), embora os carbonos quaternários não apresentem uma resolução ótima, o sinal em 144,3ppm ainda guarda características de um duplo-dublete com acoplamento bem significativo de $^3J \approx 11,0\text{Hz}$. Por esta razão, atribuímos este sinal ao C-9.

O C-7 apresenta acoplamento $^3J(H_5)$ e outros acoplamentos ângulo dependentes. O sinal em 142,4ppm apresenta estas características, portanto, atribuímos ao C-7, onde mostra o acoplamento $^3J(H_5) \approx 8\text{Hz}$. O acoplamento é menor porque é feito através de um carbono ligado ao substituinte oxigenado /45/.

Os sinais em 141,1ppm e 149,5ppm correspondentes,

, respectivamente, aos carbonos C-8 e C-6 estão de acordo com as feições dos sinais no espectro DA.



4

Esta análise confirma, mais uma vez, a estrutura proposta para PL-2 e, conseqüentemente, PL-1.

III.3 PL-3

O composto PL-3 é um sólido incolor, recristalizado a partir de éter etílico na forma de minúsculas placas, com ponto de fusão 67,2-68,6°C. Em ccd apresentou uma mancha com fluorescência azul sob irradiação ultravioleta (366nm).

Seu espectro no infravermelho (E.12, pag128) mostra absorções características do anel cumarínico, através das bandas intensas em 1720 cm^{-1} relativa ao grupo carbonílico de uma α -pirona, e das bandas em 1620, 1565 e 1510 cm^{-1} correspondentes aos estiramentos C=C do anel aromático/13,14,15/. As absorções

intensas em 3650 e 3520cm^{-1} atribuímos o grupo hidroxílico do tipo 1,2-diol/13/.

O espectro de absorção no ultravioleta (E.13, pag 129) apresenta máximos em $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (ϵ): $343(8934)$, $294(4432)$, $257\text{sh}(3630)$, $251(4192)$, $229(12783)$ e $206(15619)\text{nm}$, característicos de um cromóforo cumarínico 6,7-dioxigenado/34/.

O espectro de RMN- ^1H (E.14; pag 129) confirmou a natureza cumarínica do produto através de dois dubletos em δ 7,66 ($J=10\text{Hz}$; 1H) e δ 6,32 ($J=10\text{Hz}$; 1H) que atribuímos, respectivamente, aos prótons H-4 e H-3 do anel lactônico de cumarina. A localização do sinal devido ao H-4 em campo relativamente alto (δ 7,66) nos sugere ausência de substituinte oxigenado em C-5/18,19/.

Ao singlete em δ 6,90 (2H) atribuímos os prótons aromáticos H-5 e H-8 situados em posições para um em relação ao outro.

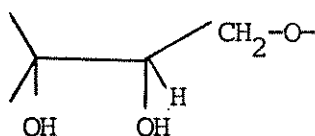
O singlete em δ 3,90, equivalendo a tres prótons, é característico do grupo metoxílico ligado ao anel aromático.

Aos dois singletos em δ 1,29 e δ 1,33, correspondendo a tres prótons cada um, atribuímos os grupos metílicos sobre o Csp^3 ligado a um átomo de oxigênio.

Atribuímos os duplo-dubletos centrados em δ 4,13 ($J=9+5\text{Hz}$) e δ 4,35 ($J=9+3\text{Hz}$), equivalendo a dois prótons, ao metileno ligado a um metino, cujo sinal aparece como um multiplete em 3,80 (1H). Pela posição dos sinais, ambos devem estar ligados aos átomos de oxigênio.

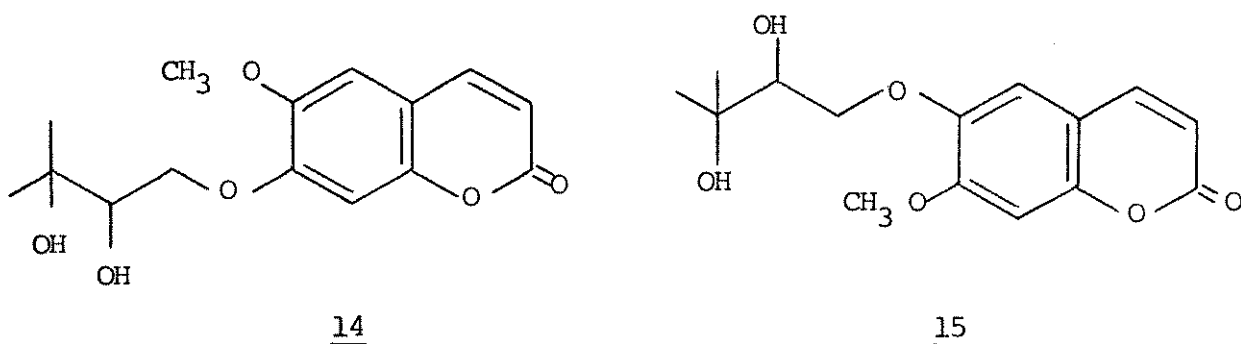
A partir destas informações chegamos à conclusão da existência de um isopreno sustentando o grupo 2',3'-diol.

O metino constitui o centro assimétrico e, juntamente com o metileno, forma o sistema de acoplamento do tipo ABX/37/.



O espectro de massa (E.15, pag 130) apresentou o íon molecular em m/e 294 (M^+ ; 2,5), além do pico principal em m/e 192 (100) correspondente à perda do fragmento $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$, confirmando a nossa expectativa.

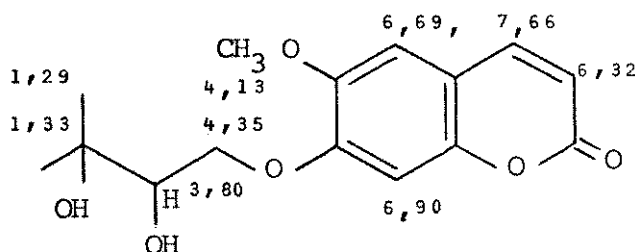
Reunindo estas informações é possível propormos duas estruturas para PL-3 (14 e 15).



As cumarinas dióxigenadas são as mais conhecidas na literatura. Nela encontramos um trabalho de Bohlmann e Jakupovic /46/ onde eles estudaram tres espécies do gênero *Conyza* (*Astereae-Compositae*), e isolaram a cumarina 6-metoxi-7-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxido) (5) e a cumarina designada por 14 com as seguintes características: $[(\text{óleo}, \text{IV}(\text{CHCl}_3)) \text{cm}^{-1}: \text{OH } 3520, 1730, 1625, 1530$

(cumarina). UV λ max^{Et₂O} (nm): 340,295 e 288. E M: M⁺ m/e 294,110(28); -H₂O 286(5); -C₅H₁₀O₂ 192(100) e 192-Me 177(25)]/46/.

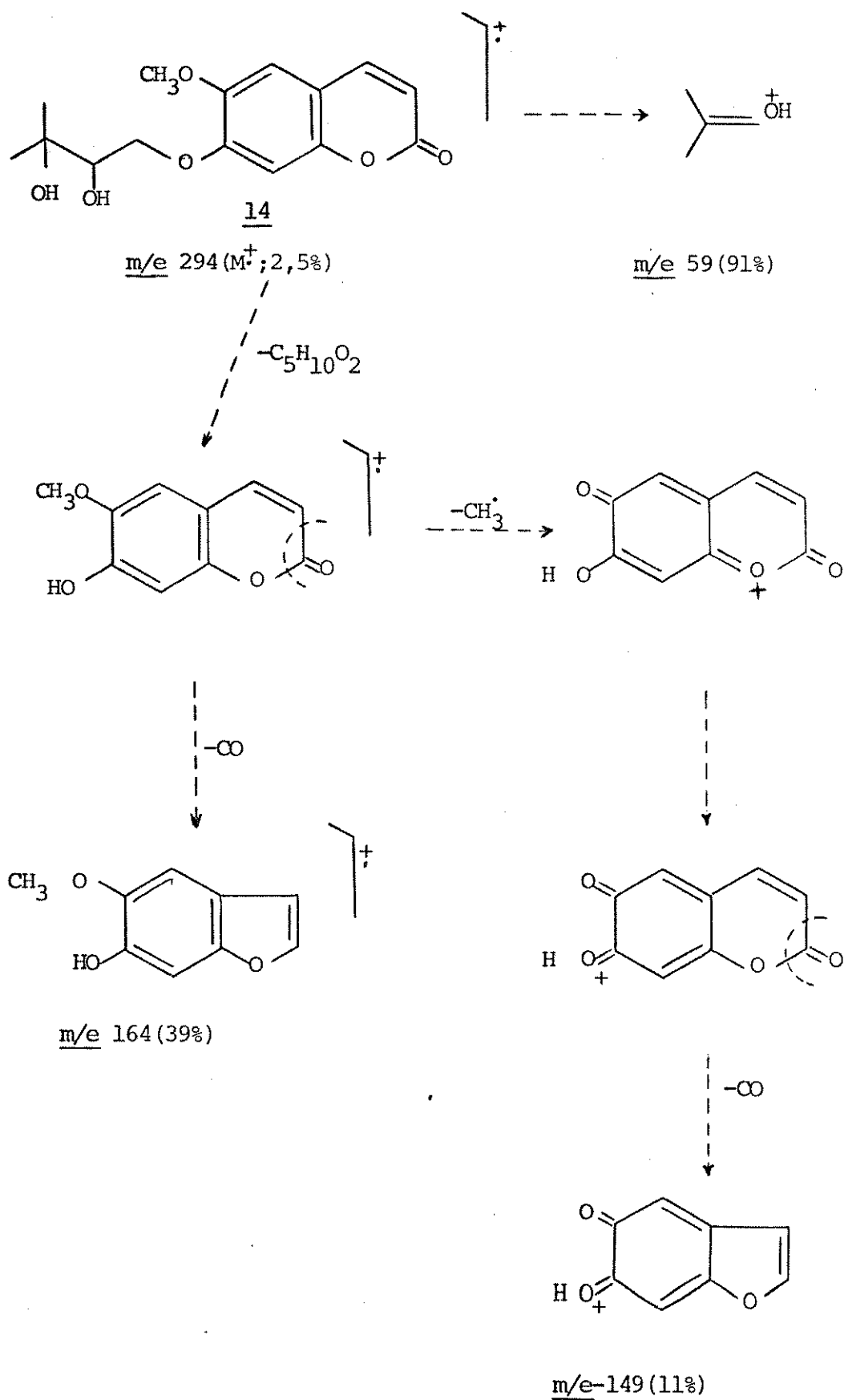
A cumarina 5 foi, também, isolada de Pterocaulon balan-sae Chodat, uma planta da família Compositae estudada em nosso la boratório/6/. Fizemos hidrólise ácida da cumarina 5 e o produto da reação apresentou dados físicos e espectroscópicos exatamente superponíveis aos da cumarina PL-3. Assim, propusemos a estrutura 14 para PL-3. No Esquema III propusemos os prováveis mecanismos de fragmentação de PL-3.



III.4 PL-4

O composto PL-4 é um sólido incolor recristalizado em clorofórmio na forma de placas, com ponto de fusão 160-161.6°C . Em ccd apresentou uma mancha com fluorescência amarelada sob ir- radiação ultravioleta (366nm).

A absorção na região do ultravioleta (E.16, pag 130)
^{EtOH}
 mostra máximos em λ max (ϵ): 315(4626), 259sh(1558), 238(3863) , 213(10349)nm diferentes dos cromóforos anteriormente encontrados. O espectro não sofreu alteração em solução alcalina, indicando ausência de hidroxila fenólica/15,16/.



Esquema III-Prováveis mecanismos de fragmentação de PL-3 (**14**)

Seu espectro no infravermelho (E.17, pag 131) mostra absorções características de anel cumarínico, através da banda intensa em 1720cm^{-1} relativa ao grupo carbonílico de uma α -pirona, e das bandas em $1625, 1580$ e 1500cm^{-1} correspondentes aos estiramentos C=C do anel aromático e mostra absorção larga na região de $3600-3200\text{cm}^{-1}$ devido ao estiramento do grupo hidroxílico do tipo 1,2-diol/13/. As absorções em $1250, 1050$ e 940cm^{-1} atribuímos o grupo metilenodióxido /47/.

A acetilação de PL-4 forneceu os derivados mono-e diacetilados, indicando a presença de duas hidroxilas alcoólicas.

O espectro de ressonância magnética nuclear de prótons (E.18, pag 132) mostra dois dubletos em $\delta 7,94$ ($J=10\text{Hz}; 1\text{H}$) e $\delta 6,20$ ($J=10\text{Hz}; 1\text{H}$) característicos, respectivamente, dos prótons olefínicos H-4 e H-3 do anel lactônico de cumarinas /18,19,20/. O sinal devido ao H-4 em campo relativamente baixo ($\delta 7,94$), em relação às cumarinas anteriores, nos permite predizer que a posição C-5 está ocupada por um substituinte oxigenado /19/. Consequentemente, ao singlete em $\delta 6,55$ atribuímos um próton aromático.

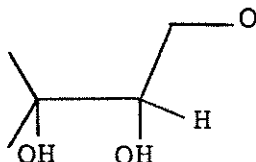
O singlete em $\delta 6,01$ (2H) é característico de um grupo metilenodióxido.

Confirmamos a presença dos grupos hidroxílicos adicionando água deuterada à solução da amostra e repetindo o espectro. Assim, verificamos o desaparecimento do pico largo em $\delta 1,95$.

Os dois singletos em $\delta 1,31$ e $\delta 1,26$, correspondendo a tres prótons cada um, são característicos de grupos metílicos sobre Csp^3 ligado a um átomo de oxigênio.

Aos duplo-dubletos centrados em $\delta 4,52$ (2H) ($J=10+4\text{Hz}$) e $\delta 4,34$ ($J=10+8\text{Hz}$) atribuímos o metileno ligado a um metino, cujo sinal aparece como um duplo-dublete em $\delta 3,79$ ($J=8+4\text{Hz}$) (1H).

Estas informações nos sugerem a existência de um substituinte semelhante ao do composto anterior, isto é :



O metileno e o metino certamente constituem o sistema de acoplamento do tipo ABX/37/.

A análise elementar do composto forneceu $C_{15}H_{14}O_7$ como fórmula molecular e o espectro de massa apresentou o íon molecular em m/e 308(0,3), além do pico principal em m/e 59(100).

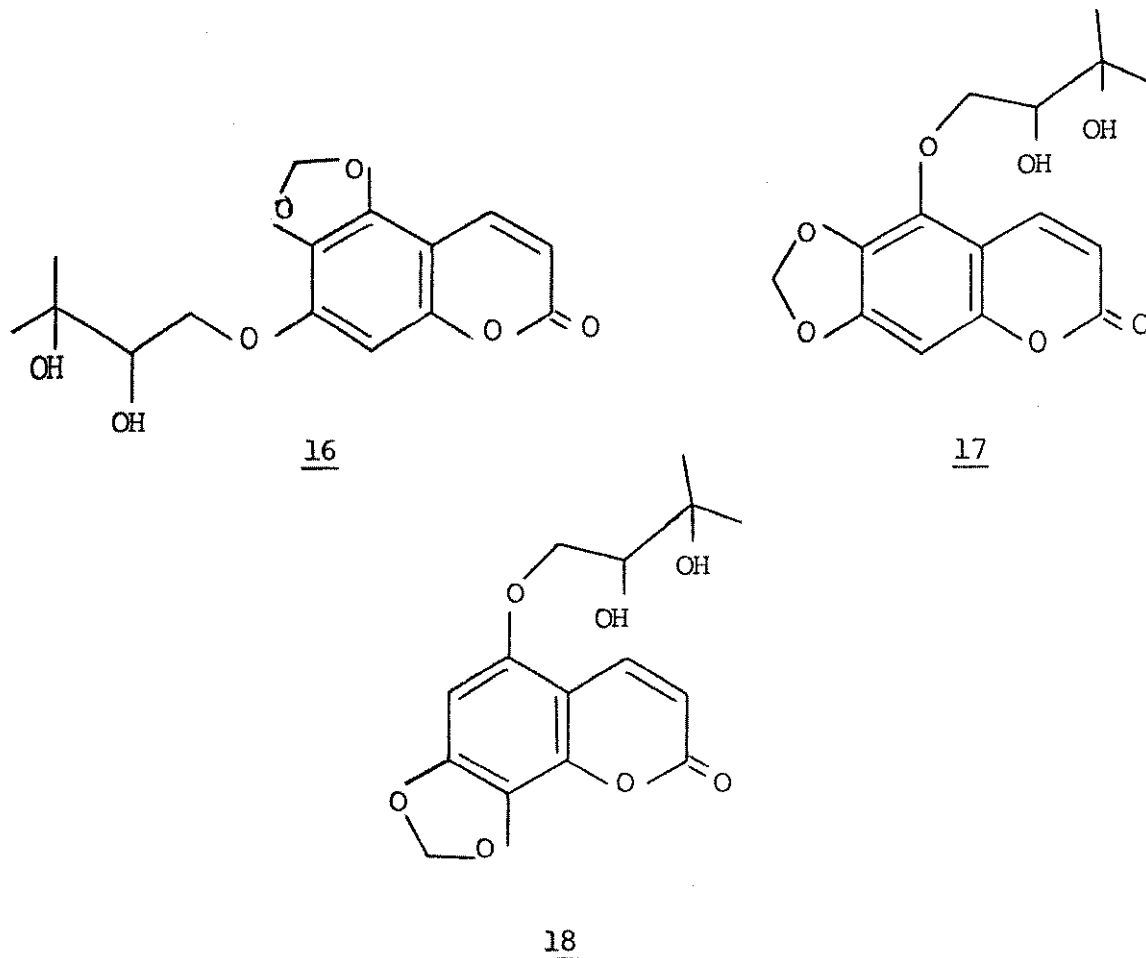
Reunindo estas informações temos a possibilidade de atribuírmos tres estruturas para PL-4(16,17 e 18).

Em princípio, a estrutura 18 talvez possa ser excluída. Sabemos, pela literatura /48/, que os acoplamentos à longa-distância existentes entre os prótons do anel cumarínico, o mais significativo é o acoplamento entre os prótons H-8 e H-4 ($J_{4,8} \approx 0,65$ Hz). Quando ocorre este fenômeno, observamos no espectro de RMN- 1H um alargamento com conseqüente diminuição da altura do sinal correspondente ao H-4 em relação ao de H-3.

O acoplamento à longa-distância que observamos no espectro de PL-4(100MHz) é de aproximadamente 0,60Hz. Embora a informação não seja conclusiva, admitimos a presença de um próton H-8 o que só é possível nas estruturas 16 e 17.

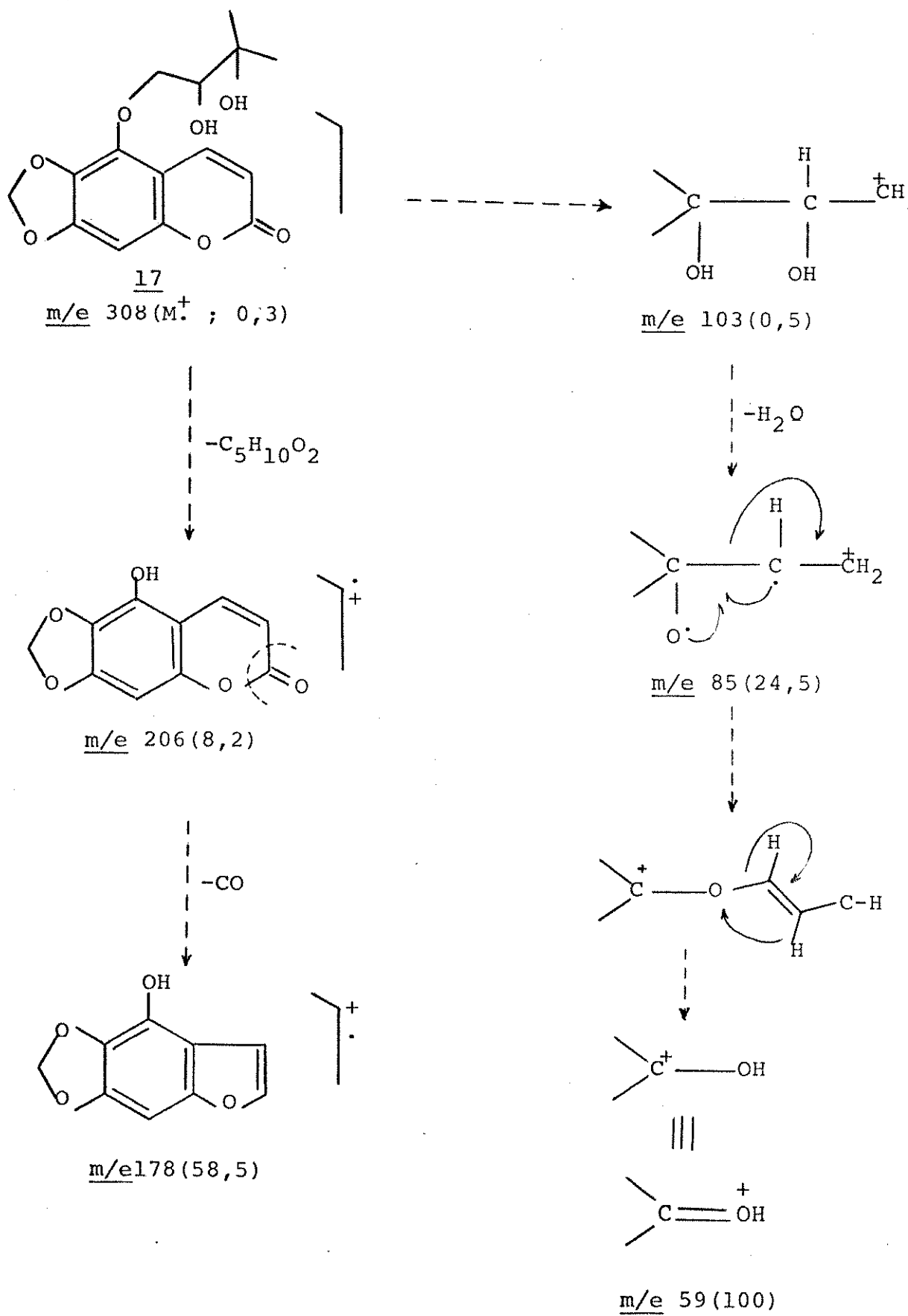
Através de clivagem ácida do epóxido de PL-5, convertemos o substituinte num glicol, cujos dados físicos e espectros-

cópicos são exatamente superponíveis aos do produto PL-4. Isto significa que PL-4 e PL-5 possuem substituintes nas mesmas posições. A substância 18 é conhecida na literatura /68/.



Com as informações obtidas até aqui, não é possível distinguir entre os isômeros 16 e 17. Por esta razão, empenhamo-nos na síntese destes isômeros, o que será discutido no capítulo IV.

A partir da elucidação estrutural de PL-5, através da síntese, conseqüentemente, designamos a estrutura da cumarina PL-4 como sendo 17. No Esquema IV propusemos os prováveis mecanismos de fragmentação de PL-4 (E.19, pag 132).



Esquema IV - Prováveis mecanismos de fragmentação de PL-4 (17)

III.5 PL-5

O composto PL-5 é um sólido incolor recristalizado em éter etílico, com ponto de fusão 91-94°. Em ccd apresentou uma mancha com fluorescência azul sob irradiação ultravioleta (366nm).

O espectro de absorção no ultravioleta (E.20, pag 155) mostra máximos em $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} (\epsilon)$: 335sh(10825), 310(12832), 256(6232), 235(13821) e 211(31529)nm). O espectro é muito semelhante ao do composto PL-4, sugerindo tratar-se também de um cromóforo cumarínico 5,6,7 -trioxigenado.

Seu espectro no infravermelho (E.21, pag 133) mostra absorções características do esqueleto cumarínico, através da banda intensa em 1720cm^{-1} relativa ao grupo carbonílico de uma α -pirona, e das bandas intensas em 1625, 1580 e 1500cm^{-1} correspondentes aos estiramentos C=C do anel aromático. Outras absorções só puderam ser atribuídas depois da análise do espectro de RMN- ^1H , por serem comuns a dois ou mais grupos funcionais. As absorções em 945 e 730cm^{-1} atribuímos os estiramentos do grupo metilenodióxido e as bandas em 1245 ; 925 e 820cm^{-1} ao grupo epóxido/13,47/.

O espectro de ressonância magnética nuclear de prótons (E.22, pag 134) mostra dois dubletos em δ 8,00 ($J=10\text{Hz}$; 1H) e δ 6,22 ($J=10\text{Hz}$; 1H) característicos, respectivamente, de prótons cis-olefínicos H-4 e H-3 do anel lactônico de cumarina/19/.

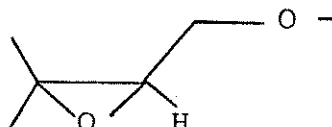
O sinal devido ao H-4 em campo relativamente baixo (δ 8,00) nos sugere a presença de um substituinte oxigenado em C-5/13,19,20).

Os dois singletos em δ 1,34 e δ 1,38, equivalendo a tres prótons cada um, são característicos de grupos metílicos

sobre Csp^3 ligado ao átomo de oxigênio.

Aos duplo-dubletos centrados em δ 4,58 ($J=11+4\text{Hz}$) e δ 4,35 ($J=11+6\text{Hz}$), equivalendo a dois prótons, atribuímos os prótons metilênicos ligados a um metino, cujo sinal aparece como um duplo-dublete centrado em δ 3,12 ($J=6+4\text{Hz}; 1\text{H}$). Pela localização dos sinais, ambos devem estar ligados aos átomos de oxigênio.

A partir destas informações concluímos existir um grupo prenila suportando um epóxido de acordo com a estrutura abaixo.



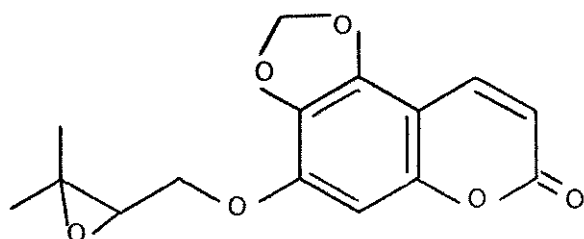
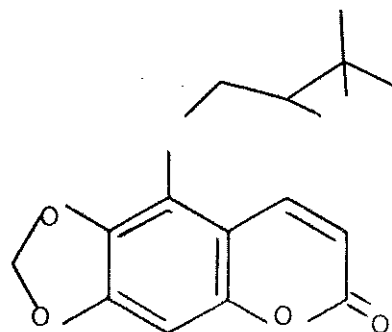
O metino constitui o centro assimétrico e, juntamente com o metileno, forma o sistema de acoplamento do tipo ABX/37/.

O singlete em δ 6,01 (2H) é característico do grupo metilenodióxido. Ao singlete em δ 6,56 atribuímos o próton H-8, sendo que o sinal em δ 1,60 poderá ser de uma impureza.

O espectro de massa apresentou o íon molecular em m/e 290 (M^+ ; 49). O pico base em m/e 85 nos confirmou, mais uma vez, a existência de um grupo prenila epoxidado. Este íon m/e 85 pode ser formado pela clivagem- β da cadeia lateral /38/.

Convertemos a substância, através da clivagem ácida do epóxido, para PL-4 (16 ou 17) confirmando a presença do anel epóxido.

Reunindo as informações obtidas até aqui, é possível atribuímos duas estruturas para PL-5 (19 e 20).

1920

Devemos ressaltar que, simultaneamente ao isolamento de PL-5, esta cumarina foi isolada de P.balansae Chodat, uma outra espécie do gênero Pterocaulon estudado em nosso laboratório /6/.

Em 1975, Bohlmann e colaboradores isolaram da Pteronia glabrata L.F.(Compositae) uma cumarina cujos dados físicos e espectroscópicos são muito semelhantes aos da cumarina PL-5. Utilizando a técnica de deslocamento químico induzido por solvente e argumentando com razões biogenéticas, os autores sugeriram a estrutura 19 para esta cumarina /33/.

Realizamos o estudo de deslocamento químico induzido por solvente em PL-5, e os resultados comparativos estão registrados na Tabela 4.

Nota-se que há pequena discrepância nos valores das absorções em relação aos nossos dados e os da literatura. Por outro lado, os estudos de RMN-¹³C, discutidos no capítulo V, evidenciaram a localização do grupo prenila epoxidado em C-5, levando

Tabela 4. Dados de RMN-¹H de PL-5 e de 19 (Bohlmann).

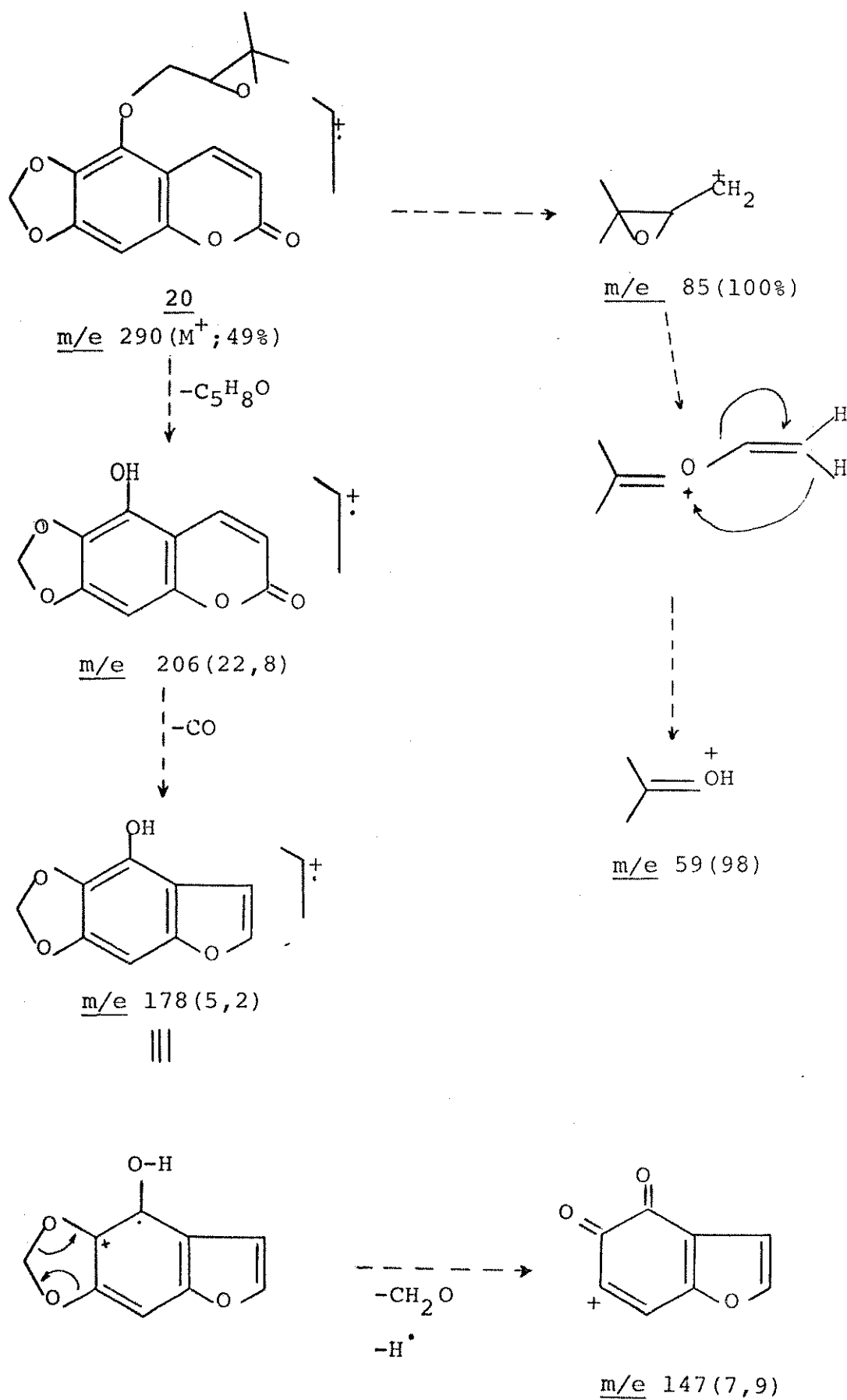
Prótons	PL-5 , 60 e 100MHz			Bohlmann (<u>19</u>) , 100MHz	
	CDCl ₃	C ₆ D ₆	Δδ	Δδ	CDCl ₃
3	d 6,22 J=10Hz	d 5,94	0,28	0,22	d 6,23 J=9,5Hz
4	d 8,00 J=10Hz	d 7,60	0,40	0,45	d 8,01 (largo)
8	s 6,56	s 6,28	0,28	0,26	s 6,57
1'	dd 4,58			0,03	dd 4,59
	dd 4,35			0,16	dd 4,38
2'	dd 3,12	m 2,95	0,17	-0,06	dd 3,14
4'	s 1,34	s 1,06	0,28	-0,07	s 1,34
5'	s 1,38	s 1,12	0,26	-0,11	s 1,38
OCH ₂ O	s 6,01	s 5,11	0,90	0,95	s 6,00

do a um impasse. Para solucionar este problema, empenhamo-nos na síntese desses isômeros.

Após a síntese da cumarina 19, discutida no capítulo IV, concluímos que o composto PL-5 tem a estrutura designada por 20. Através deste resultado, propusemos os prováveis mecanismos de fragmentação de PL-5 (E.23, pag 135) (Esquema V).

III.6 PL-6

O composto PL-6 é um sólido incolor recristalizado a



Esquema V. Prováveis mecanismos de fragmentação de PL-5 (20)

partir de éter etílico na forma de placas, com ponto de fusão 78,0 80,5°C. Em ccd apresentou uma mancha com fluorescência amarelada sob irradiação ultravioleta (366nm).

O espectro de absorção na região do ultravioleta (E. 24, pag 136) mostra máximos em $\overset{\text{EtOH}}{\lambda_{\text{max}}} (\epsilon)$; 335(8744), 294(12191), 225(23386) e 200(34404)nm. O espectro é muito semelhante àqueles de PL-1 e PL-2, indicando tratar-se de um mesmo cromóforo cumarínico 6,7,8-trioxigenado /15,16,34/.

Seu espectro no infravermelho (E.25, pag 137) mostra uma banda larga na região de 3500-3300cm⁻¹, característico do grupo hidroxílico e absorções intensas em 1720cm⁻¹, relativa ao grupo carbonílico de uma α -pirona; 1610, 1570 e 1490cm⁻¹, correspondentes aos estiramentos C=C do núcleo aromático, confirmando, uma vez mais, a presença do esqueleto cumarínico.

O espectro de ressonância magnética nuclear de prótons (E.26, pag 135) mostra dois dubletos em δ 7,65 (J=10Hz; 1H) e δ 6,39 (J=10Hz; 1H) característicos, respectivamente, dos prótons cis-olefínicos H-4 e H-3 do anel lactônico de cumarina.

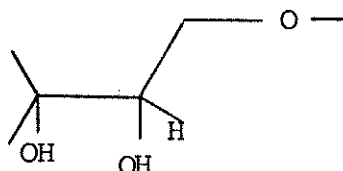
O sinal devido ao próton H-4 em campo relativamente alto (δ 7,65) nos sugere ausência de um substituinte oxigenado em C-5/19,20/. Consequentemente, ao singlete em δ 6,73 atribuímos o próton aromático H-5.

Os dois singletos em δ 4,15 e δ 3,98, equivalendo a tres prótons cada um, são característicos de grupos metoxílicos ligados ao anel aromático.

Os dois singletos em δ 1,30 e δ 1,26, correspondendo a tres prótons cada um, são devidos aos grupos metílicos sobre um Csp³ ligado a um átomo de oxigênio.

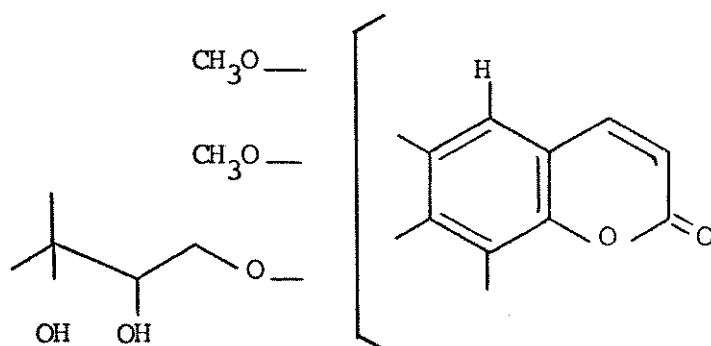
Ao multiplete em δ 4,70-4,54(2H) atribuímos o grupo

metilênico ligado ao metino, cujo sinal aparece como um duplo-dublete centrado em δ 3,70(1H). Infelizmente, a resolução não está boa. Presumivelmente estes sinais constituem um fragmento do tipo:



A análise elementar do composto forneceu $C_{16}H_{20}O_7$ como fórmula molecular e o espectro de massa apresenta o íon molecular em m/e 324 (M^+ ; 1,3) sendo o pico base em m/e 59 (100), além do íon significativo em m/e 222 (69) que corresponde à perda do fragmento $C_5H_{10}O_2$. (E.27, pag 138).

Estas informações nos permitiram a proposição da estrutura parcial de PL-6 como sendo:



A clivagem ácida do epóxido de PL-2 levou ao produto natural racêmico PL-6, sendo sua estrutura inédita.

Submetemos esta cumarina à análise de deslocamento

químico dos sinais de RMN- ^1H , induzido por solvente, a fim de confirmarmos os estudos realizados com as cumarinas PL-1 e PL-2. Os resultados estão registrados na Tabela 5, de acordo com o esperado. Assim, designamos a estrutura da cumarina PL-6 como sendo 21. No Esquema VI propusemos os prováveis mecanismos de fragmentação de PL-6.

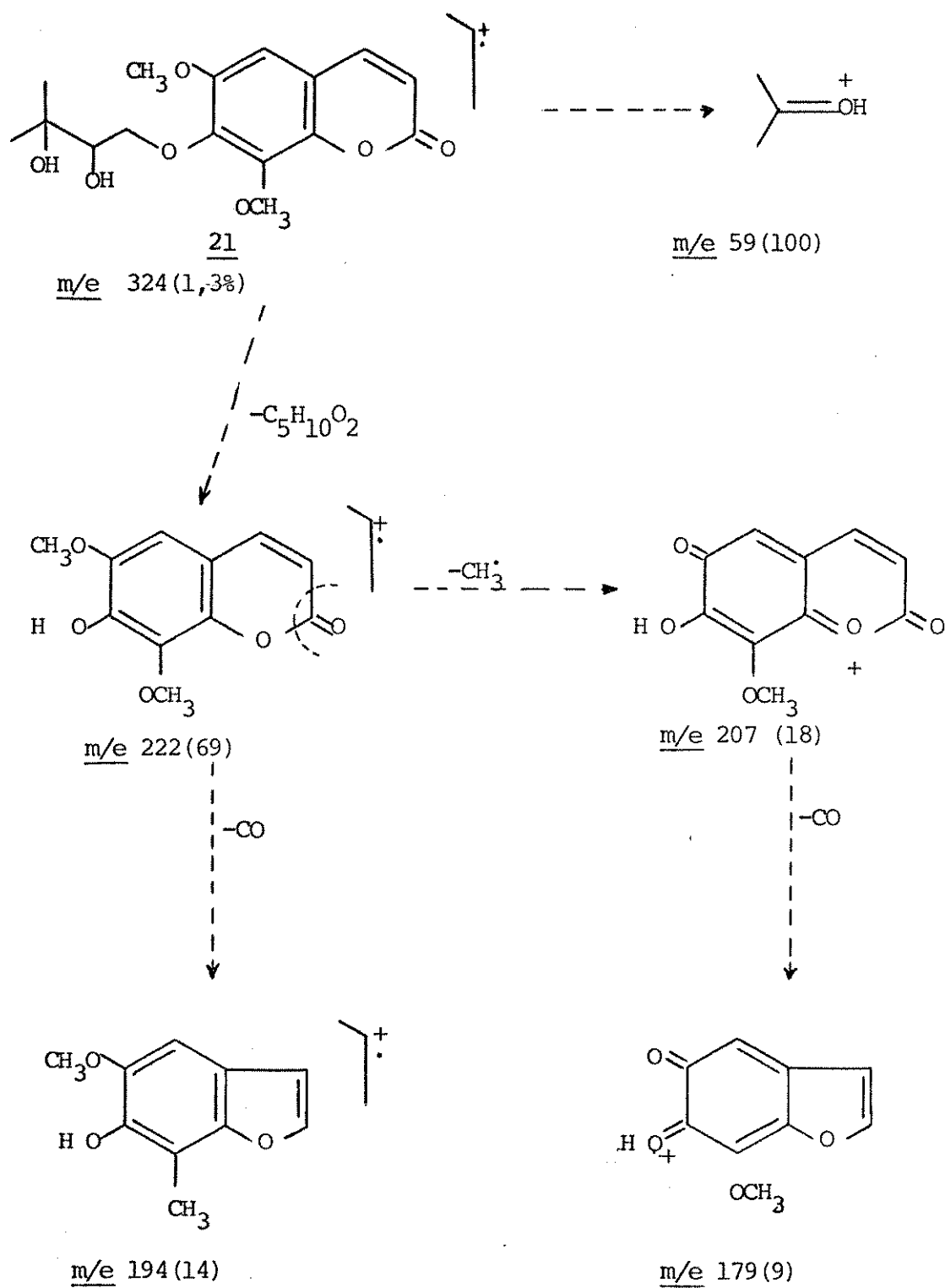
Tabela 5. Dados de RMN- ^1H de PL-6 (21)

Próton	PL-6 , 60MHz		
	CDCl_3	C_6D_6	$\Delta\delta$
3	d 6,39 J =10Hz	d 6,10	0,29
4	d 7,65 J =10Hz	d 6,81	0,84
5	s 6,73	s 6,11	0,62
1'	m 4,70-4,54		
2'	dd 3,70		
4'	s 1,26	s 1,20	0,06
5'	s 1,30	s 1,30	0,00
$\text{CH}_3\text{O}-6$	s 3,98	s 3,33	0,65
$\text{CH}_3\text{O}-8$	s 4,15	s 3,79	0,36

III.7 PL-ES

Fitosteróides

O composto PL-ES é um sólido cristalino na forma de



Esquema VI. Prováveis mecanismos de fragmentação de PL-6 (21)

agulhas, com ponto de fusão 150-152°C.

Seu espectro no infravermelho mostra uma banda larga na região de 3400cm^{-1} , relativa do estiramento do grupo hidroxílico, e a absorção em 1640cm^{-1} correspondente ao estiramento do grupo -C=C- .

O espectro de ressonância magnética nuclear de prótons é característico de esteróides, com metilas angulares e muitos grupos metilênicos.

Diante da ocorrência frequente de constituintes esteroidais nas plantas, achamos que o composto PL-ES poderia ser uma mistura de esteróides, evidência que confirmamos através dos testes em ccd com o revelador específico para terpenos e esteróides /49/. O composto assume uma coloração purpúrea (cor típica para esteróide) em ccd com o revelador específico/49/.

O espectro de massa na região de altas massas apresenta picos em m/e 412 e m/e 414.

Maquestiau e colaboradores identificaram cada componente da mistura de esteróides de origem marinha, através da técnica de MIKES*, comparando os espectros obtidos com aqueles dos esteróides padrão /50/.

* MIKES-Mass Analyzed Ion Kinetic Energy Spectra-Espectro de energia cinética dos íons analisados por massa.

IV - Síntese total de 7-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxido)-5,6-metilenodióxido cumarina(19).

O estudo fitoquímico envolve, em seu primeiro estágio, problemas de isolamento e determinação estrutural através de análises espectroscópicas, geralmente, associados com degradação e modificações estruturais. Ainda assim não devemos deixar de lado a síntese total ou parcial dos produtos naturais, uma vez que este caminho fornece a confirmação absoluta e incontestável de estruturas, além de oferecer uma alternativa para a obtenção de novos derivados.

Com o objetivo de comprovar definitivamente as estruturas propostas para as cumarinas do P. lanatum PL-4 e PL-5, empenhamo-nos na síntese destes constituintes.

A esquematização do caminho a ser seguido nos parecia bastante simples, principalmente pela simplicidade da estrutura molecular do esqueleto cumarínico e pelo grande número de trabalhos de síntese realizados no campo das cumarinas /9,16/. Porém, tínhamos certas limitações, dentre as quais, a disponibilidade de reagentes.

Planejamos nossa síntese a partir de um precursor aromático contendo um grupo metilenodióxido no qual pudéssemos inserir uma terceira função oxigenada e constituir um esqueleto cumarínico.

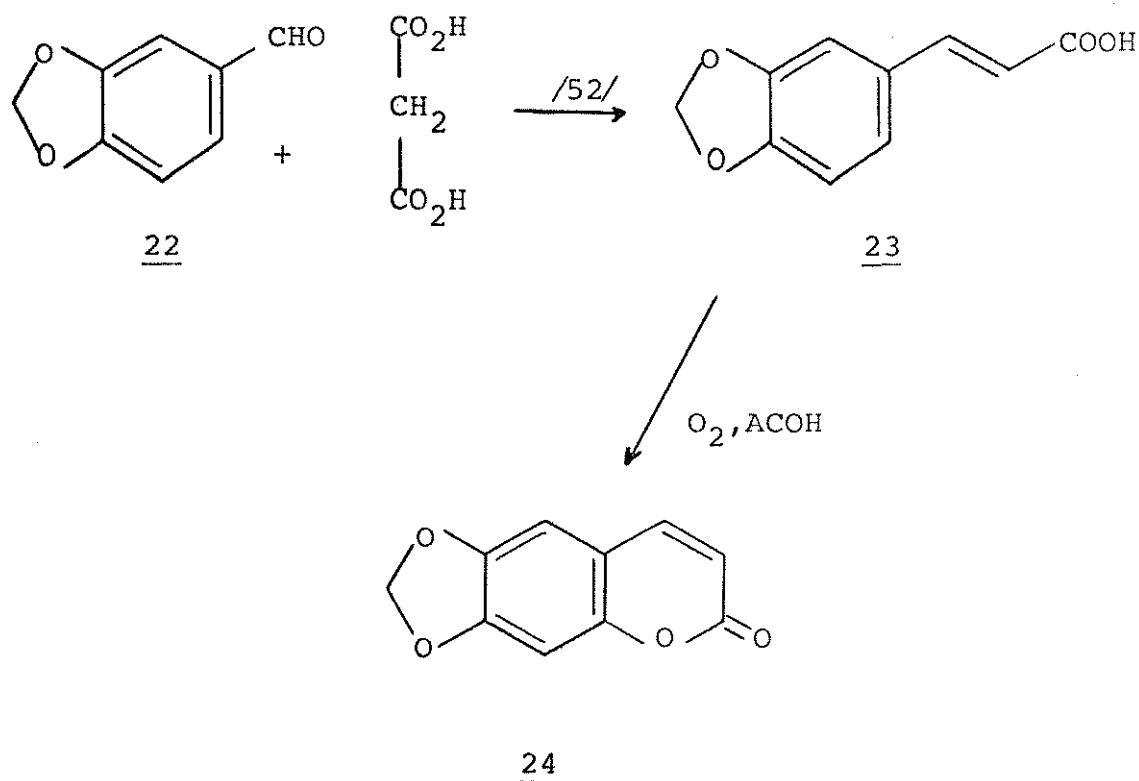
O piperonal(22) nos oferecia estas características e era disponível em nosso laboratório.

Uma das maneiras de se obter o anel cumarínico é através da reação fotoquímica do grupo cinâmico. A cumarina que se

forma é facilmente detectada por ser extremamente fluorescente/10, 51/.

Apresentamos, no Esquema VII, as reações realizadas com o piperonal (22).

Esquema VII



Iniciamos com a reação de Doebner- Knoevenagel/52/ envolvendo o piperonal e ácido malônico. O composto 23, produto da reação de condensação, é um sólido incolor com ponto de fusão 230-232°C. Seu espectro no infravermelho é superponível ao da literatura/53a/.

A reação fotoquímica do ácido β -piperonil acrílico (23) nos forneceu o composto 24, um sólido incolor com ponto de fusão 229-231°C (lit ¹⁶ 231-232°C). As propriedades espectroscópicas, como I.V- e RMN-¹H, estão perfeitamente de acordo com a es -

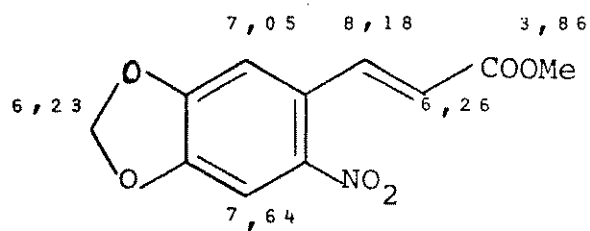
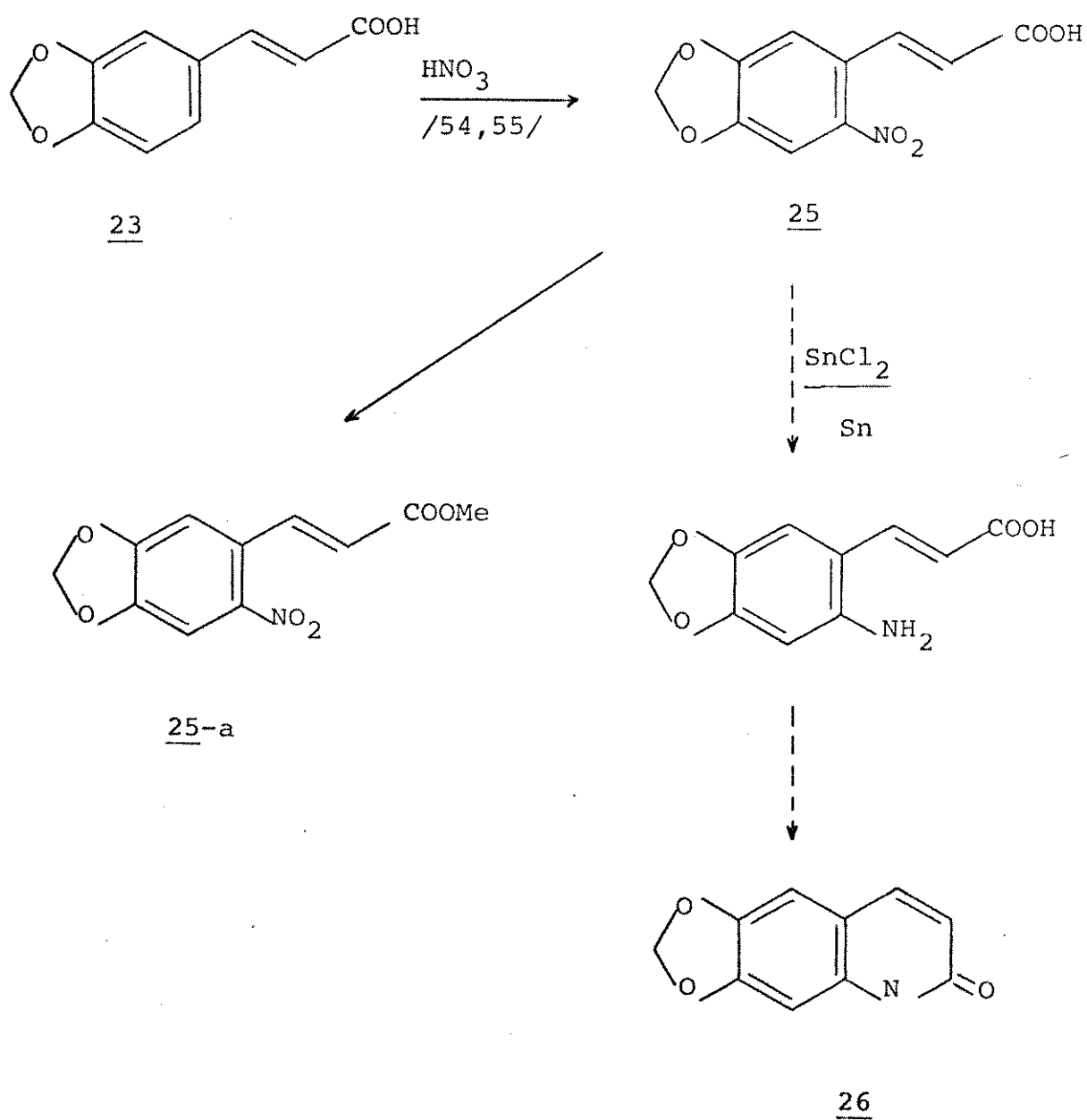
trutura esperada (24).

Apesar de obtermos o composto desejado (24) poderíamos, talvez, melhorar o rendimento desta síntese introduzindo um bom grupo abandonador, orto ao substituinte cinâmico. Escolhemos o iôdo como o melhor dos grupos.

São várias as etapas de reação envolvidas até chegar ao objetivo traçado, conforme apresentamos nos Esquemas VIII e IX.

Inicialmente, fizemos a nitração do ácido β -piperonil acrílico (23)/54,55/ obtendo o composto 25. É um sólido amarelo, com ponto de fusão 238° (dec). Seu espectro no infravermelho mostra absorção característica do estiramento O-H, através da banda larga em 3400cm^{-1} . Em $3100\text{--}2500\text{cm}^{-1}$ observamos outra banda larga característica do grupo carboxílico. A banda em 1680cm^{-1} caracteriza a presença do grupo carbonila. As absorções em 1600 e 1500cm^{-1} são relativas ao núcleo aromático.

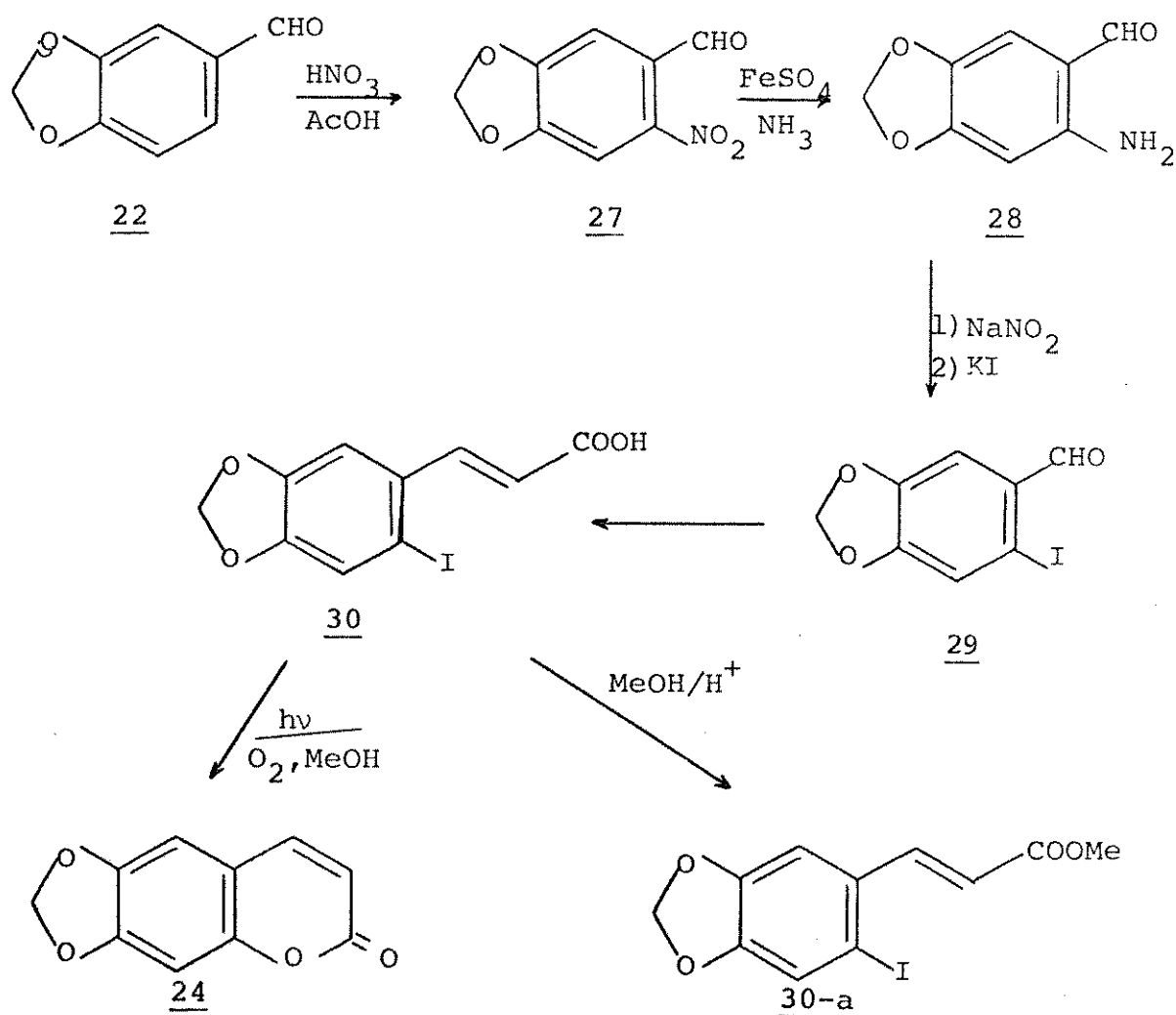
Esterificamos uma pequena quantidade do composto 25 e o identificamos por RMN ^1H na forma do seu éster metílico (25-a). O singlete em δ 3,86, equivalendo a tres prótons, é característico do grupo carbometoxi. Os dois dubletos em δ 8,18 ($J=16\text{Hz}; 1\text{H}$) e δ 6,26 ($J=16\text{Hz}; 1\text{H}$) são característicos de prótons trans-olefínicos. Pelos valores dos deslocamentos químicos encontrados, deduzimos que a olefina deve estar ligada ao anel aromático e ao grupo carbometoxi. Ao singlete em δ 6,23, correspondendo a dois prótons, atribuímos os prótons do grupo metilenodióxido. Os dois singletos em δ 7,64 e δ 7,05 correspondem, respectivamente, aos prótons aromáticos H-5 e H-2. Assim, caracterizamos o composto 25 como sendo ácido O-nitro - β -piperonil acrílico.

25-aEsquema VIII

A etapa de aminação, usando cloreto de estanho e estanho em pó, /55/ não resultou no composto desejado.

Segundo Rilliet e Kreitmann /56/, a preparação de or-to-amino-aldeídos ou orto-amino-ácidos aromáticos, pela redução dos correspondentes derivados nitro, é muito difícil. A medida em que se forma o grupo amino ele reage facilmente com o grupo vizinho formando o composto cíclico (26). Assim, invertamos a ordem prevista para nossa síntese.

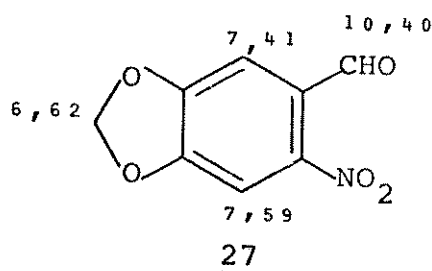
Esquema IX - Síntese da ayapina (24) a partir de piperonal



se. Ao invés de partirmos do ácido β -piperonil acrílico(23), agora fizemos a nitração e aaminação do piperonal(22)/54,57/, seguida de diazotação e iodação/56,57,58/ do orto-amino piperonal, conforme apresentamos no Esquema IX.

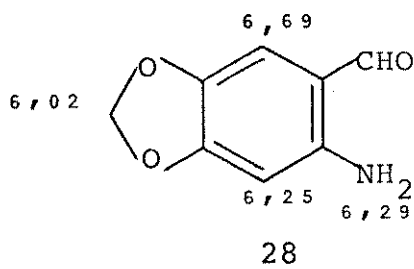
Iniciamos com a nitração do piperonal utilizando o ácido acético como "carregador do íon nitrônio"/23b).

O produto nitrado é um sólido amarelo, com ponto de fusão $94,5-95^{\circ}$ (lit⁵⁴ $98,5^{\circ}\text{C}$). O espectro na região do infravermelho (E.28, pag 139) apresentou absorções agudas em 1680 cm^{-1} , correspondente ao grupo carbonílico; $1600, 1520\text{ sh}$, 1490 cm^{-1} relativas ao núcleo aromático e 1340 cm^{-1} v sim de NO_2 . Seu espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 195 (M^+ ; 74,5) e o pico principal em m/e 165(100), além dos picos mais significativos como m/e 184(44), 120(79), 107(83) e 79(51). O espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (E.29, pag 136) mostra um singlete em δ 10,40 correspondente ao próton aldeídico um outro singlete em δ 6,62 devido ao substituinte metilenodióxido. Aos singletos em δ 7,41 e δ 7,59 atribuímos, respectivamente, os prótons aromáticos H-2 e H-5. Assim, caracterizamos o composto 27 como sendo O-nitro piperonal.



Na aaminação do composto 27, com sulfato ferroso e amônia, obtivemos o composto 6-aminopiperonal(28), com ponto de fusão $102-102,5^{\circ}\text{C}$ (lit⁵⁷ $107-108^{\circ}$). Seu espectro na região do infraver -

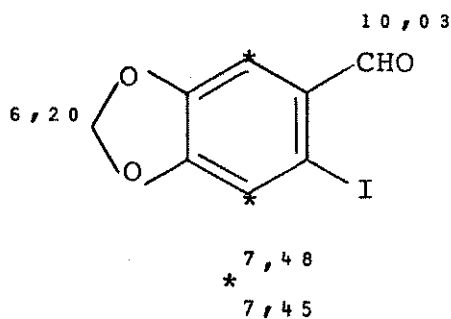
melho mostra a presença da amina através das bandas em 3415 e 3310 cm^{-1} . A banda intensa em 1650 cm^{-1} é relativa ao grupo carbonílico. O espectro de RMN- ^1H (E.30, pag138) mostra, além de outros sinais que não sofreram modificação, um pico largo em δ 6,29 correspondentes aos prótons da amina. Esse sinal desaparece com a adição de água deuterada, confirmando a atribuição feita. O espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 165 (M^+ ;100) como pico principal. Assim, caracterizamos o 6-amino piperonal (28).



A reação de diazotação com nitrito de sódio e iodação com iodeto de potássio/56,57,58/, levou à formação do 6-iodo-piperonal (29), cujo composto extraímos do meio reacional pelo método de arraste com vapor de água.

O composto 29 é um sólido incolor com ponto de fusão 109-110 $^{\circ}$ (lit⁵⁶ 111 $^{\circ}$ C). Seu espectro no infravermelho não mostra mais absorção devido ao estiramento N-H. Observamos absorção intensa em 1665 cm^{-1} , correspondente à carbonila, e as bandas em 1600 e 1500 cm^{-1} relativas ao núcleo aromático. O espectro de RMN- ^1H (E.31, pag124) mostra um singlete em δ 10,03 característico do próton aldeídico. Ao singlete em δ 6,20, equivalendo a dois prótons, atribuímos os prótons do substituinte metilenodióxido. Os sinais devidos aos prótons aromáticos aparecem como dois singletos em δ 7,48 e δ 7,45. O espectro de massa mostra o íon molecular em

m/e 276(M^+ ;100) como pico principal. Com estas informações caracterizamos o produto da reação como sendo 6-iodo piperonal.

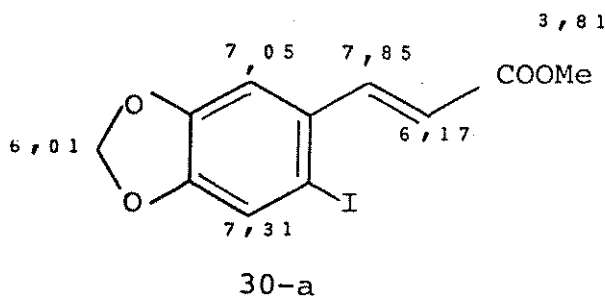


29

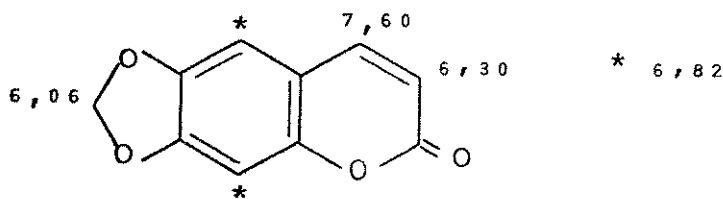
A condensação envolvendo o composto 29 e ácido malônico originou o composto 30. Seu espectro na região do infravermelho apresenta uma absorção característica do estiramento O-H, através da banda em 3400cm^{-1} . A banda em 1670cm^{-1} caracteriza a presença do grupo carbonila.

Esterificamos uma pequena porção do composto 30 com $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ a 4% e identificamos, por RMN^1H , na forma do seu éster metílico (30 - a) (E, 32, pag 140). O singlete em δ 3,81 (3H) é característico do grupo carbometoxi. Os dois dubletos em δ 7,85 ($J = 16\text{Hz}; 1\text{H}$) e δ 6,17 ($J = 16\text{Hz}; 1\text{H}$) são correspondentes aos prótons trans-olefínicos, cuja olefina deve estar ligada ao anel aromático e ao grupo carbometoxi. Ao singlete em δ 6,01 (2H) atribuímos os prótons do substituinte metilenodióxido. Os prótons aromáticos H-2 e H-5 aparecem como dois singletos, respectivamente, em δ 7,05 e δ 7,31. Assim, caracterizamos o composto 30 como sendo ácido 6-iodo-3,4-metilenodióxido cinâmico.

Irradiamos a solução metanólica do ácido 6-iodo-3,4 metilenodióxido cinâmico (30) com luz ultravioleta, gerada pela

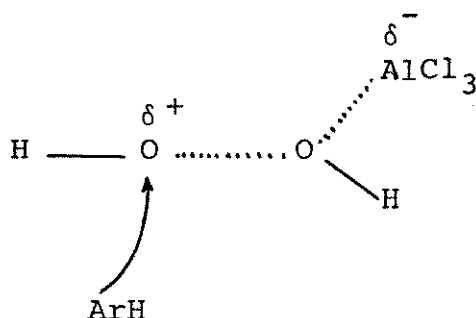


lâmpada de mercúrio envolvida em camisa de quartzo. O produto da fotólise, após purificação por cromatografia em placa preparativa, apresentou ponto de fusão 229-231^o/16/. Seu espectro de RMN-¹H (E.33, pag140) apresenta dois dubletos em δ 7,60 ($J=10\text{Hz}$, 1H) e δ 6,30 ($J=10\text{Hz}$; 1H), característicos dos prótons cis-olefínicos do anel de cumarina. Ao singlete em δ 6,06 (2H) atribuímos os prótons do grupo metilenodióxido. Os prótons aromáticos H-5 e H-8 aparecem como um singlete em δ 6,82 (2H). O espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 190 (M^+ ; 100), além do pico significativo em m/e 162 ($M^+-\text{CO}$; 78,5). Através destas análises caracterizamos o produto da reação fotoquímica como sendo ayapina (24).



Formado o substrato alvo, ayapina (24), faltar-nos-ia a inserção do terceiro substituinte no anel de cumarina. Pensamos em fazer a introdução direta de uma hidroxila no anel aromá-

tico, usando tricloreto de alumínio e peróxido de hidrogênio a 30%. O mecanismo desta reação consiste no ataque nucleofílico do anel aromático sobre o complexo peróxido-catalisador altamente polarizado/59/.



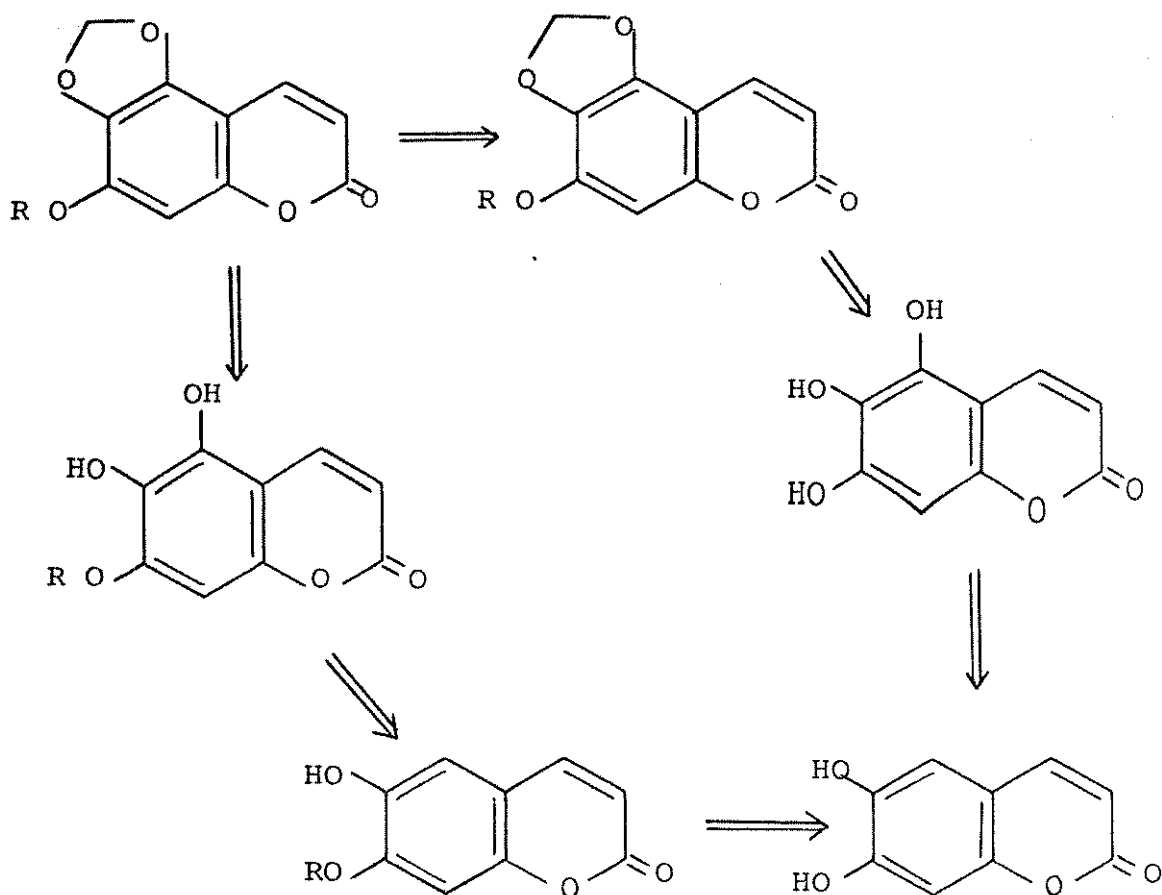
Planejamos esta reação supondo que o substituinte metilenodióxido funcionasse da mesma maneira que um grupo hidroxílico ou metoxílico, isto é, orto, para-ativante à reação de substituição eletrofílica. Todas as tentativas feitas foram em vão.

Procuramos na literatura outras alternativas para introdução de um substituinte oxigenado, na posição orto ao metilenodióxido, mas nenhuma foi viável nas diversas tentativas realizadas.

A dificuldade em prosseguirmos a síntese, com a participação do metilenodióxido, nos obrigou a um novo planejamento de síntese. Desta vez, o grupo metilenodióxido formar-se-ia por último ou em uma das últimas etapas.

Na escolha do novo substrato fizemos uma análise retrossintética, desta vez supondo que os produtos naturais contivessem o metilenodióxido em C_{5,6} e, conseqüentemente,

Esquema X. Análise retrossintética de PL-4 e PL-5.



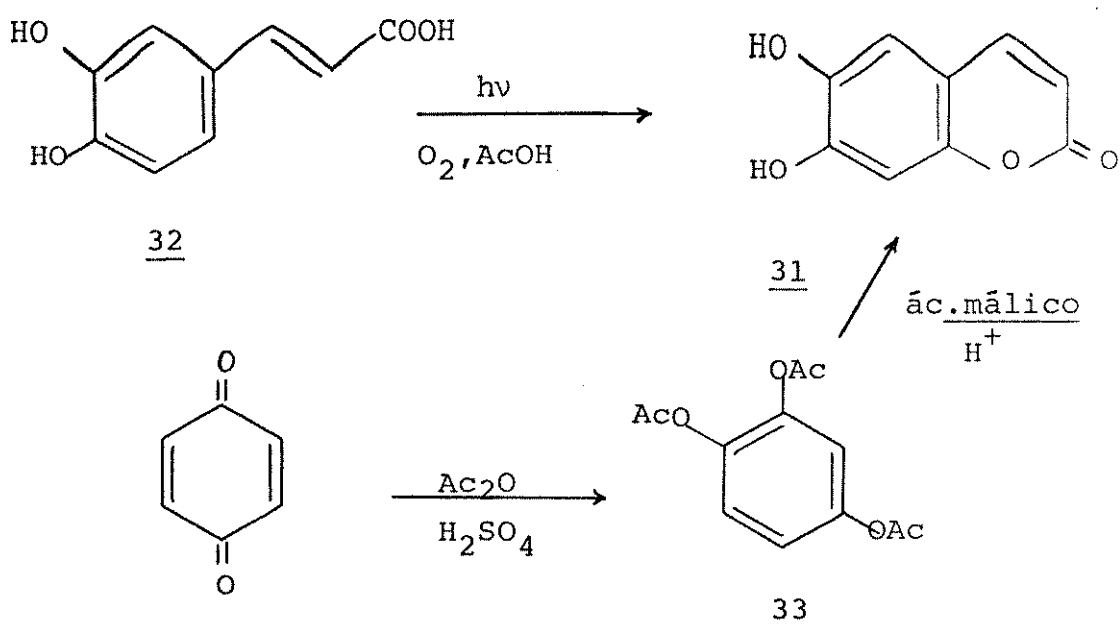
O-prenilados em C-7 (Esquema X).

Através desta análise concluímos que a esculetina(31) seria o substrato adequado, pois não seria difícil introduzirmos um grupo prenila nesse composto.

Sabemos que a esculetina(31), apesar do baixo rendimento, pode ser obtida através de reação fotoquímica do ácido cafêico(32)/51/. A outra alternativa é via triacetato de hidroxí - hidroquinona(33) /60/ e condensação de von Pechmann/61/, conforme o esquema anexo. Tentamos as duas vias alternativas.

Identificamos o composto 33 comparando o seu ponto de fusão e dados espectroscópicos com o ponto de fusão e dados espectroscópicos da literatura /53b,60/. Pela condensação de von

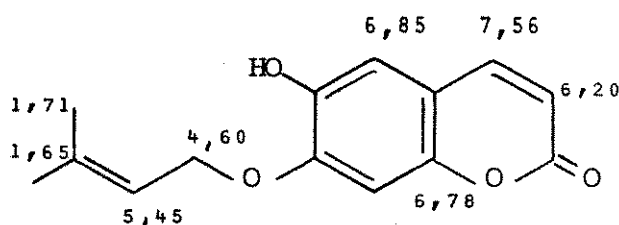
Pechmann do composto 33 e ácido mállico obtivemos a esculetina (31), com ponto de fusão 270° (decomposição). Seu espectro no infravermelho mostra absorções intensas em 3320 cm^{-1} , correspondentes ao estiramento O-H; 1670 cm^{-1} relativa ao estiramento da carbonila; 1610 e 1565 cm^{-1} devido ao núcleo aromático. O espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 178, além do fragmento m/e 150 ($M^+ - \text{CO}$).



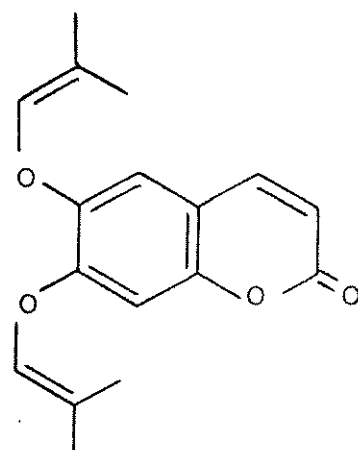
Submetemos a esculetina (31) à reação de prenilação com brometo de γ, γ -dimetil alila e carbonato de potássio em acetona anidra/ 62,63,81/, formando dois compostos principais: 34 e 34-a.

O composto 34, chamado preniletina/63/ apresentou ponto de fusão $143-145^{\circ}$. Confirmamos a presença do grupo prenila através da análise do seu espectro de RMN^{-1}H .

O composto 34 - a, formado em menor proporção, apresentou ponto de fusão $80-81^{\circ}$ e o identificamos como sendo bis-pre

34

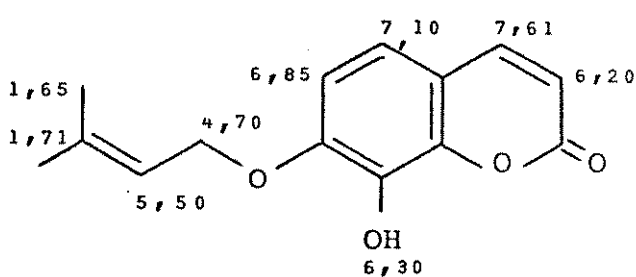
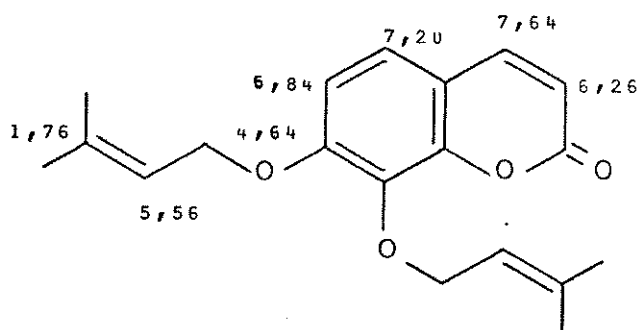
nil- esculetina/81/.

34-a

Sabemos, pela literatura, que os derivados formil cumarinas são substratos muito importantes na síntese de vários compostos heterocíclicos e poli-hidroxi-cumarinas/64/. Assim, pensamos na formulação da preniletina.

Antes de prosseguirmos a síntese com a preniletina (34), por conveniência, utilizamos a daphnetina(35) como modelo de reação, já que este composto estava disponível no laboratório.

Fizemos a prenilação da daphnetina/62,63,81 /, obtendo os produtos mono-(36) e bis-prenil daphnetina(36-a).

3636-a

O composto 36 é um sólido incolor, com ponto de fusão 134-135°. Seu espectro no infravermelho mostra absorções intensas em 3380cm⁻¹, característica de estiramento O-H; 1700cm⁻¹ devido ao estiramento da carbonila de um sistema não conjugado com uma hi

Em nenhuma das tentativas tivemos resultados satisfatórios. A análise espectroscópica e o ponto de fusão do produto de reação de Vilsmeier-Haack indicou ser a própria daphnetina(35), o que supomos ser proveniente da hidrólise do grupo prenila.

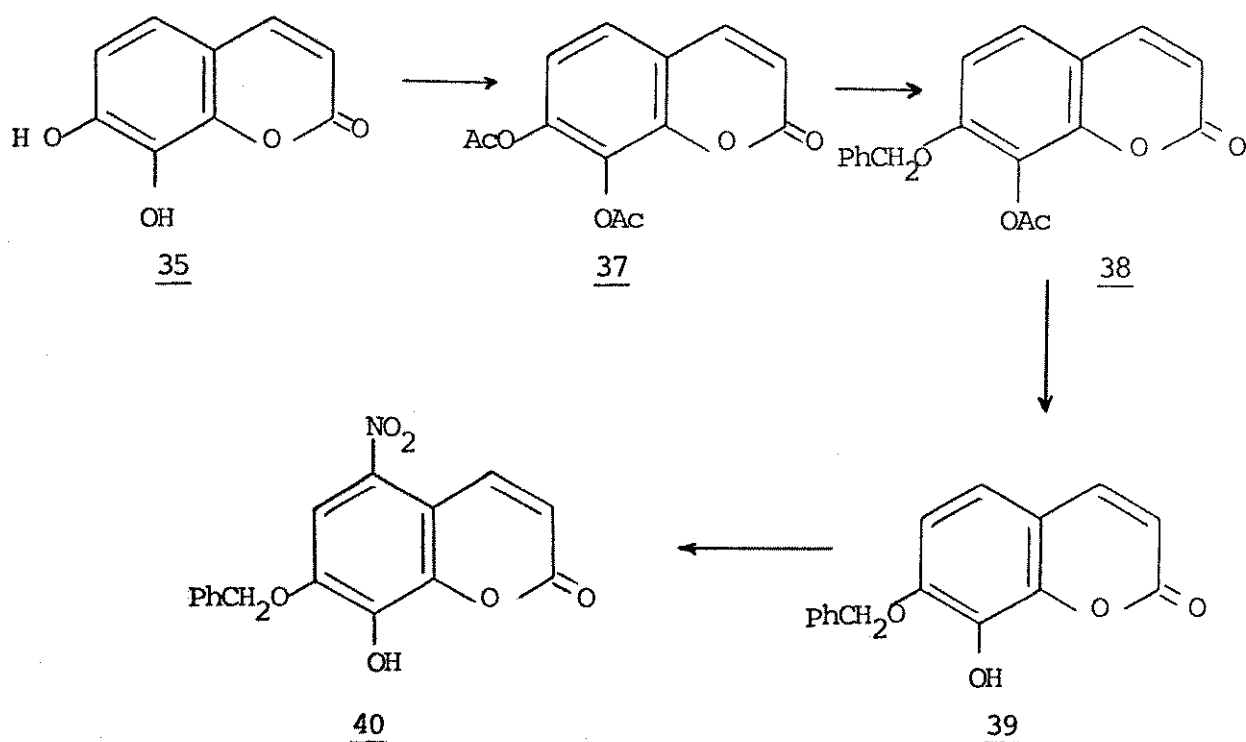
Uma alternativa seria a utilização de um outro grupo protetor em C-7, o qual deveria ter grande reversibilidade quanto à desproteção nas últimas etapas sintéticas.

Embora os trabalhos anteriores/62,81 / mostrassem a preferência da alquilação sobre a hidroxila em C-7, tanto na daphnetina como na esculetina, as condições de reação para tal, exigem controle cuidadoso.

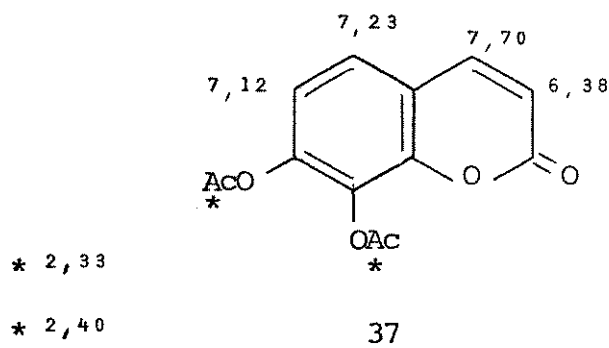
Ahluwalia e colaboradores /64,67/ empregaram o método de diacetatos para a alquilação parcial.

Baseando-nos nesse trabalho /64,67/, fizemos as reações com a daphnetina, conforme apresentamos no esquema XI.

Esquema XI



Inicialmente, acetilamos a daphnetina com anidro acético e piridina, formando o diacetato 37 /68/. Seu espectro na região do infravermelho mostra absorções em 1765 e 1720 cm^{-1} correspondentes, respectivamente, às carbonilas do acetato e da lactona de cumarina. O espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (E.34, pag 141) mostra dois dubletos em δ 7,70 ($J=10\text{Hz};1\text{H}$) e δ 6,38 ($J=10\text{Hz};1\text{H}$) característicos dos prótons cis-olefínicos do anel de cumarina. Aos dubletos em δ 7,23 ($J=8\text{Hz};1\text{H}$) e δ 7,12 ($J=8\text{Hz};1\text{H}$) atribuímos, respectivamente, os prótons aromáticos H-5 e H-6. Os singletos em δ 2,33 (3H) e δ 2,40 (3H) são característicos de prótons metílicos dos acetatos. Assim, caracterizamos o composto 37 como sendo diacetato de daphnetina.



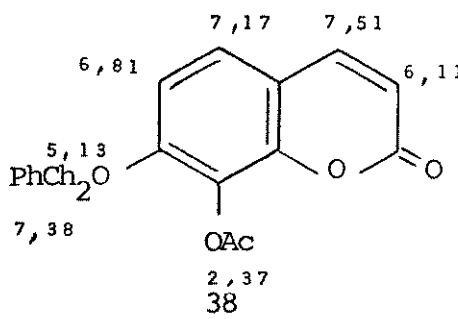
Submetemos o diacetato de daphnetina (37) à reação de benzilação com cloreto de benzila, iodeto de potássio e carbonato de potássio em acetona anidra; formando o composto 38 e pequena quantidade do composto bis-benzilado, caracterizado pelo seu espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$.

O composto 38 é um sólido incolor com ponto de fusão 150-152°. Seu espectro na região do infravermelho mostra a presença das carbonilas através das bandas intensas em 1780 e 1725 cm^{-1} .

correspondentes, respectivamente, às carbonilas do acetato e da lactona. No espectro de RMN-¹H observamos as variações induzidas a todos os prótons do anel cumarínico quando trocamos o grupo acetil pelo grupo benzila. Ao singlete em δ 5,13(2H) atribuímos os prótons metilênicos do grupo benzila, cujos prótons aromáticos aparecem como um singlete em δ 7,38 (5H). Os demais sinais atribuímos analogamente aos do composto 37.

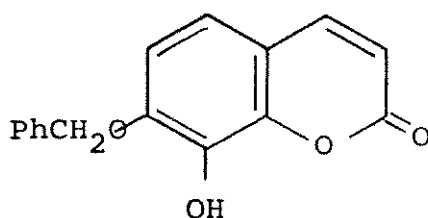
A troca do grupo acetil pelo grupo benzila no C-7 está também evidenciada através do sinal correspondente ao H-6 que sofreu uma proteção ao passar do espectro da substância 37 (δ 7,12) para a substância 38 (δ 6,81).

Desta maneira, caracterizamos o composto 38 como sendo 8-acetoxi-7-preniloxi-cumarina.

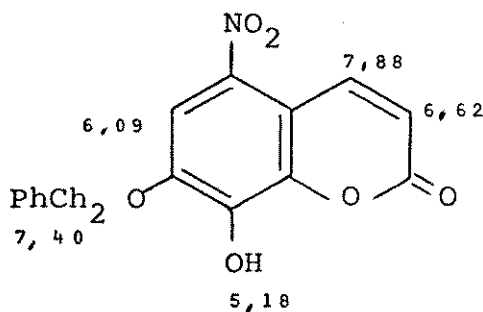


O composto 38 sofreu uma hidrólise básica fornecendo-nos o composto 39. Seu espectro na região do infravermelho mostra absorções intensas em 3380cm^{-1} , característica do estiramento O-H; e 1710cm^{-1} relativa à carbonila da lactona.

Com o composto 39 realizamos várias tentativas de formação, mas nenhuma delas nos levou a um resultado satisfatório. Uma alternativa para a introdução de um grupo hidroxila é através da nitração e redução do grupo nitro. O produto da reação de nitração/54/, composto 40, é um sólido amarelo que purificamos

39

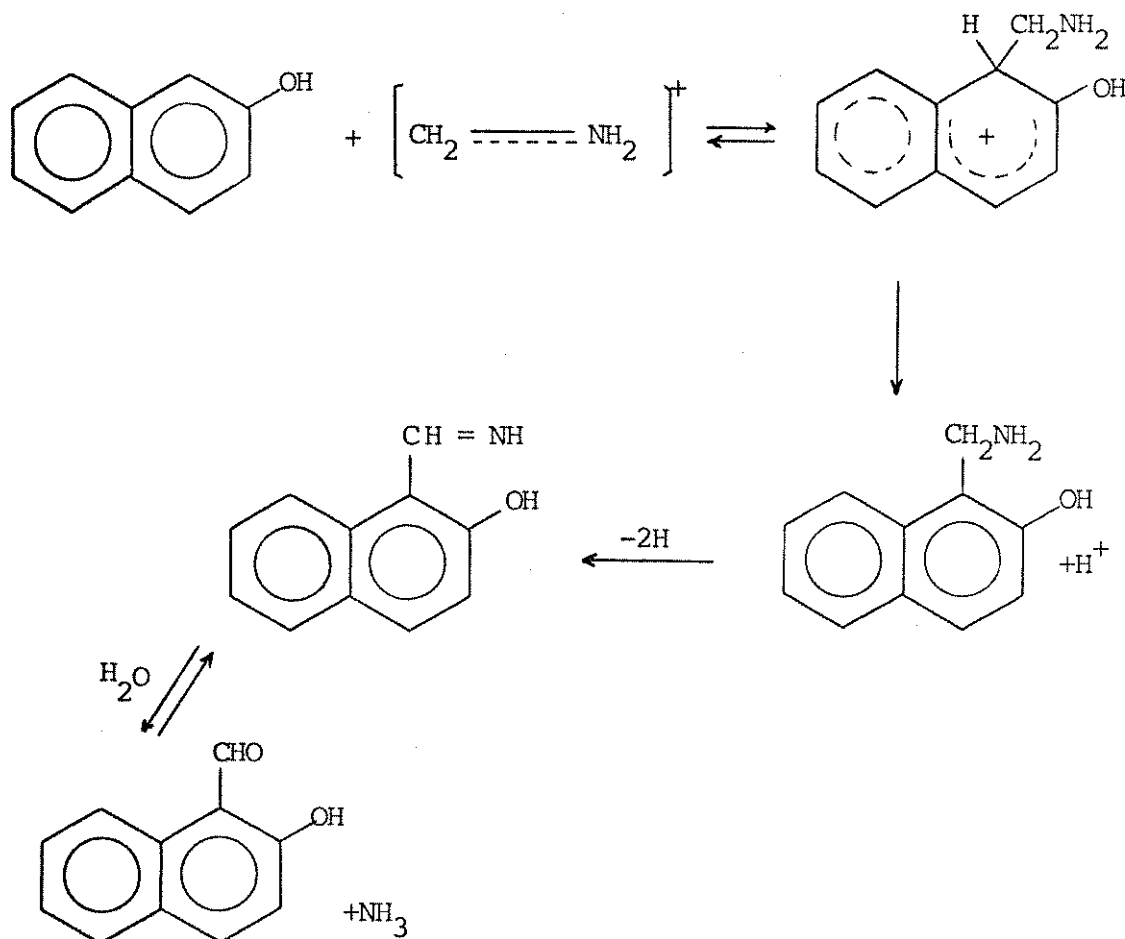
por cromatografia em placa preparativa. O espectro de RMN- ^1H do composto 40 mostra os dois dubletos em δ 7,88 ($J=10\text{Hz};1\text{H}$) e δ 6,62 ($J=10\text{Hz};1\text{H}$) característicos de prótons cis-olefínicos do anel de cumarina. O singlete correspondente ao próton aromático H-6 aparece em δ 6,09. Ao singlete em δ 5,11 (2H) atribuímos os prótons metilênicos do grupo benzila, cujos prótons aromáticos aparecem como um singlete em δ 7,40 (5H). O pico largo em δ 5,18 se deve ao próton da hidroxila.

40

Apesar de obtermos o produto desejado, o caminho através da nitração do composto 39 se tornou inviável devido ao baixo rendimento.

Os resultados de uma pesquisa bibliográfica/69/ indicaram um método mais adequado para a formilação de benzopirinas. É uma reação semelhante à reação de Reimer-Tiemann, substi-

tuindo o clorofórmio pelo hexametenotetramina em ácido acético. O grupo formil é introduzido na posição orto ou secundariamente em para ao fenol, e é chamado reação de Duff. Esta reação tem o seguinte mecanismo /70/:



O trabalho de NAIK e THAKOR/69/ é específico de hidroxi-cumarinas. Nesta literatura eles incluem comentários a respeito das fracassadas tentativas de formação por outros métodos.

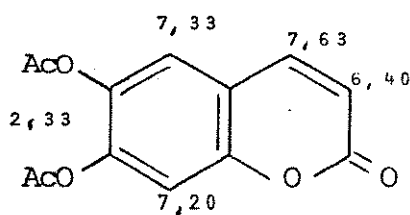
Submetemos o composto 39 à reação de formação /69/ e por ccd constatamos a formação de um composto, que se apresen-

ta como uma mancha amarela.

Através de daphnetina como modelo, otimizamos as reações a serem executadas com a esculetina(31), substrato escolhido a partir da análise retróssintética apresentada no Esquema X.

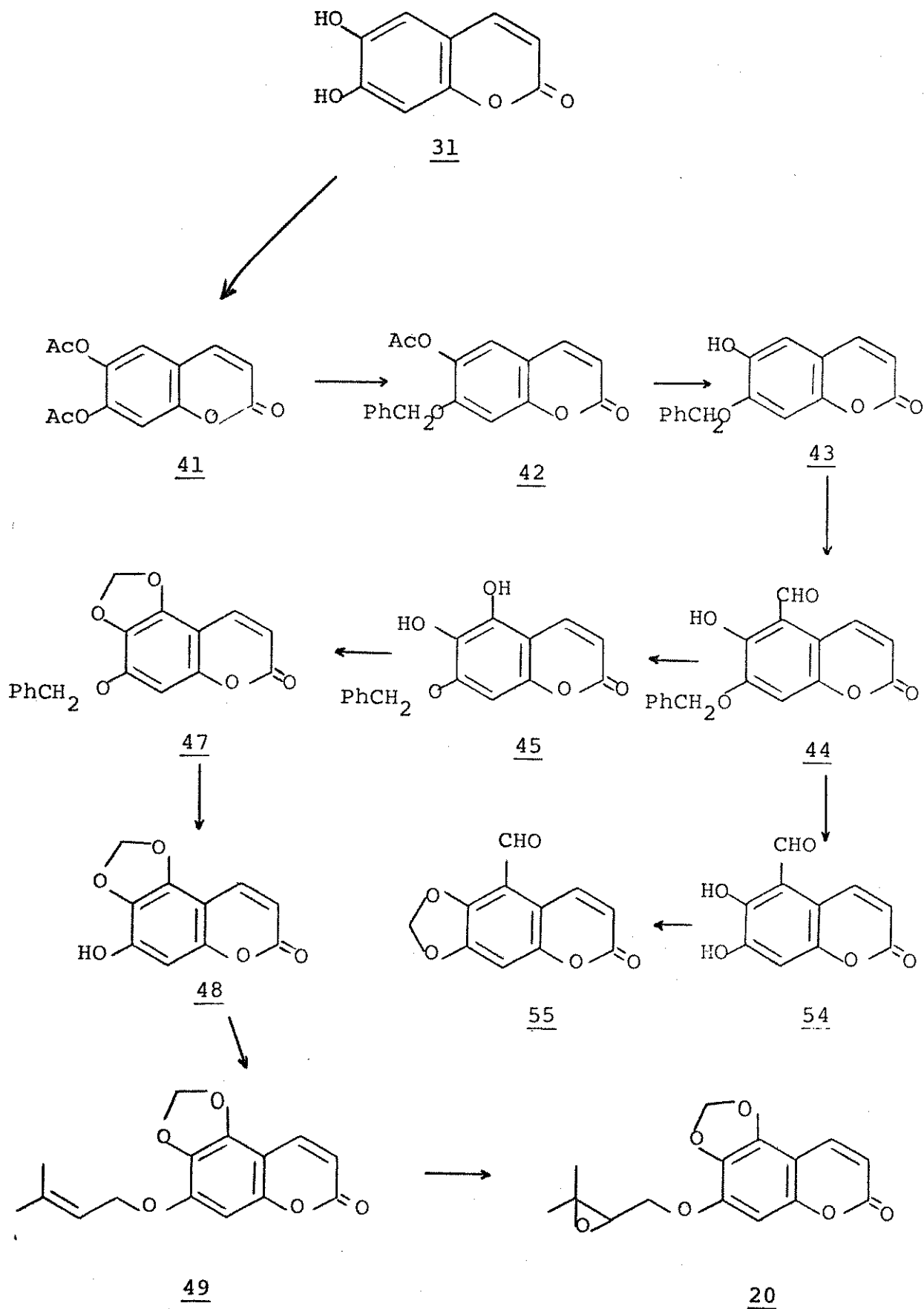
No Esquema XII apresentamos as reações feitas a partir da esculetina(31).

Iniciamos com a acetilação da esculetina (31) utilizando anidrido acético e piridina. Obtivemos o diacetato de esculetina(41) . Seu espectro na região do infravermelho(E.36,pag142) mostra absorções intensas em 1730 e 1710 cm^{-1} correspondentes, respectivamente, às carbonilas dos acetatos e da lactona. As absorções relativas ao núcleo aromático aparecem em 1620,1565 e 1500 cm^{-1} . O espectro de RMN- ^1H (E.35, pag 141) mostra dois dubletos em δ 7,63 ($J= 9,5\text{Hz}; 1\text{H}$) e δ 6,40 ($J= 9,5\text{Hz}, 1\text{H}$) característicos dos prótons cis-olefínicos da cumarina. Os prótons aromáticos H-5 e H-8 aparecem como singletos, respectivamente, em δ 7,33 e δ 7,20. O singlete em δ 7,20 é um pouco mais baixo e largo do que o singlete em δ 7,33, o que nos possibilita predizer a presença do fenômeno de acoplamento à longa-distância entre os prótons H-8 e H-4/48/. Ao singlete em δ 2,33(6H) atribuímos os grupos metílicos do acetato.



41

Esquema XII. Reações realizadas a partir da esculetina (31).



Submetemos o diacetato de esculetina(41) à reação de benzilação com cloreto de benzila, iodeto de potássio e carbonato de potássio em acetona anidra. Formaram-se os compostos mono-e bis-benzilados, sendo separados por coluna cromatográfica de sílica gel.

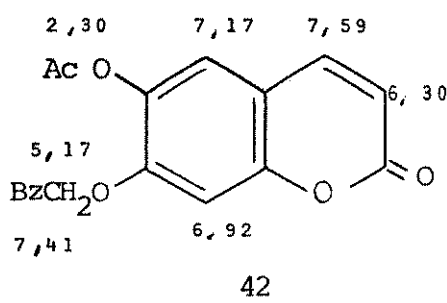
O composto bis-benzilado é um sólido incolor com ponto de fusão 158-159°C (lit⁷¹ 160-162°C).

O composto mono-benzilado (42) é um sólido incolor com ponto de fusão 150-151°C (lit⁶⁴ 150-152°C). Seu espectro no infravermelho (E.37; pag 143) mostra absorções intensas em 1755 e 1710 cm⁻¹ correspondentes, respectivamente, à carbonila do acetato e da lactona. As absorções relativas ao núcleo aromático aparecem em 1620 1560 e 1500cm⁻¹. O espectro de RMN-¹H (E.38, pag 144) apresenta dois dubletos em δ 7,59 (J= 9,5Hz;1H) e δ 6,30 (J=9,5Hz;1H) característicos de prótons cis-olefínicos do anel cumarínico.

A troca do grupo acetil pelo grupo benzila no C-7 está também evidenciada através do sinal correspondente ao H-8, que sofreu uma proteção ao passar do espectro da substância 41 (δ 7,20 para a substância 42 (δ 6,92). Além disso, o próton em C-3 (δ 6,30) aparece em campo relativamente mais alto do que o próton correspondente na cumarina propriamente dita (δ 6,44) (1). Esta observação nos permite sugerir a presença de um substituinte oxigenado doador de elétrons em C-7/18/, indicando que o grupo benzila realmente se localiza em C-7.

Reconhecemos o sinal referente ao H-8, no espectro, por ele ser mais baixo e largo do que aquele correspondente ao H-5 (δ 7,17). Esta evidência nos permite sugerir a existência do fenômeno de acoplamento à longa-distância entre os prótons H-8 e H-4/48/. Além destes sinais, observamos ainda um singlete em δ 5,17 (2H) correspondente aos prótons metilênicos do grupo benzila,

cujos prótons aromáticos aparecem como um singlete em δ 7,41(5H) . Ao singlete em δ 2,30(3H) atribuímos os prótons metílicos do grupo acetato. O espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 310(M^+ ; 4,5), além do pico principal em m/e 91(100) relativo ao íon benzílico. Assim, caracterizamos o composto 42 como sendo 6-acetoxi-7-benzilóximo cumarina.

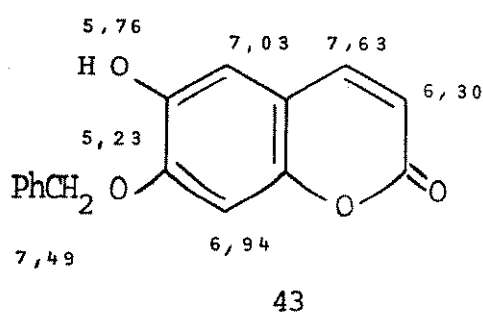


O composto 42 sofreu uma hidrólise básica dando origem ao composto 43, com ponto de fusão 190-191°C(lit⁶⁴ 188-189°). Seu espectro na região do infravermelho (E.39,pag 145) apresenta uma absorção larga em 3200cm⁻¹ característica do estiramento de uma hidroxila. A banda intensa em 1690 cm⁻¹ caracteriza uma carbonila da lactona, e o núcleo aromático se evidencia através das absorções em 1620,1560 e 1505cm⁻¹.

Comprovamos a presença de hidroxila fenólica, também, pelo espectro na região do ultravioleta (E.40,pag 144), que mostra máximos em λ_{max}^{EtOH} 228,294 e 347nm. A adição do alcali induziu forte deslocamento batocrômico de uma maneira característica de 6-hidroxycumarinas. Os novos máximos aparecem em λ_{max}^{EtOH} 250 , 308 e 396 nm/63/.

O espectro de RMN-¹H (E. 41,pag 146) mostra um singlete em δ 5,76, cujo sinal desaparece com a adição de água deuterada, correspondente ao próton hidroxílico. A presença do fenol

em C-6 induz uma pequena proteção no H-5, observada através dos sinais em δ 7,17 no composto 42 e δ 7,03 na substância 43. Os deslocamentos químicos dos demais sinais são concordantes com os do composto 42. O espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 268(M^+ ;57,1) além do pico principal em m/e 91(100).



Dando continuidade ao desenvolvimento da síntese, submetemos o composto 43 à formilação com hexametilenotetramina (HMT) numa proporção de 3 a 4 equivalentes molares (1:3).

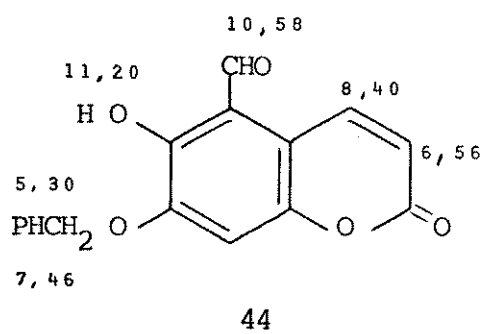
O produto da reação (44) é um sólido amarelo com ponto de fusão 100-102°C. Em ccd apresentou uma mancha com fluorescência amarela sob irradiação ultravioleta. Este aldeído é menos polar do que o composto 43, cuja diminuição de polaridade pode ser justificada pela formação de ponte de hidrogênio intramolecular com o fenol. Seu espectro no infravermelho (E.42, pag146) mostra uma absorção larga em 3400 cm^{-1} , característica do estiramento O-H. Observamos ainda absorções de carbonilas através das bandas intensas em 1695 e 1677 cm^{-1} correspondentes, respectivamente, às carbonilas do aldeído e da lactona. As absorções relativas ao núcleo aromático aparecem em 1615, 1575 e 1535 cm^{-1} . No espectro de RMN- ^1H (E.43, pag147) observamos os dois dubletos em δ 8,40 ($J=9,5\text{Hz};1\text{H}$) e δ 6,56 ($J=9,5\text{Hz};1\text{H}$) correspondentes aos prótons cis-olefínicos da cumarina. Ao singlete largo em δ 11,20(1H)

atribuímos o próton hidroxílico, cujo sinal desaparece com a adição de água deuterada. Em δ 10,58 observamos um singlete relativo ao próton aldeídico. Pela entrada do substituinte formila em C-5, o próton aromático H-8 sofreu uma desproteção ao passar do espectro da substância 43 (δ 6,94) para a substância 44 (δ 7,13).

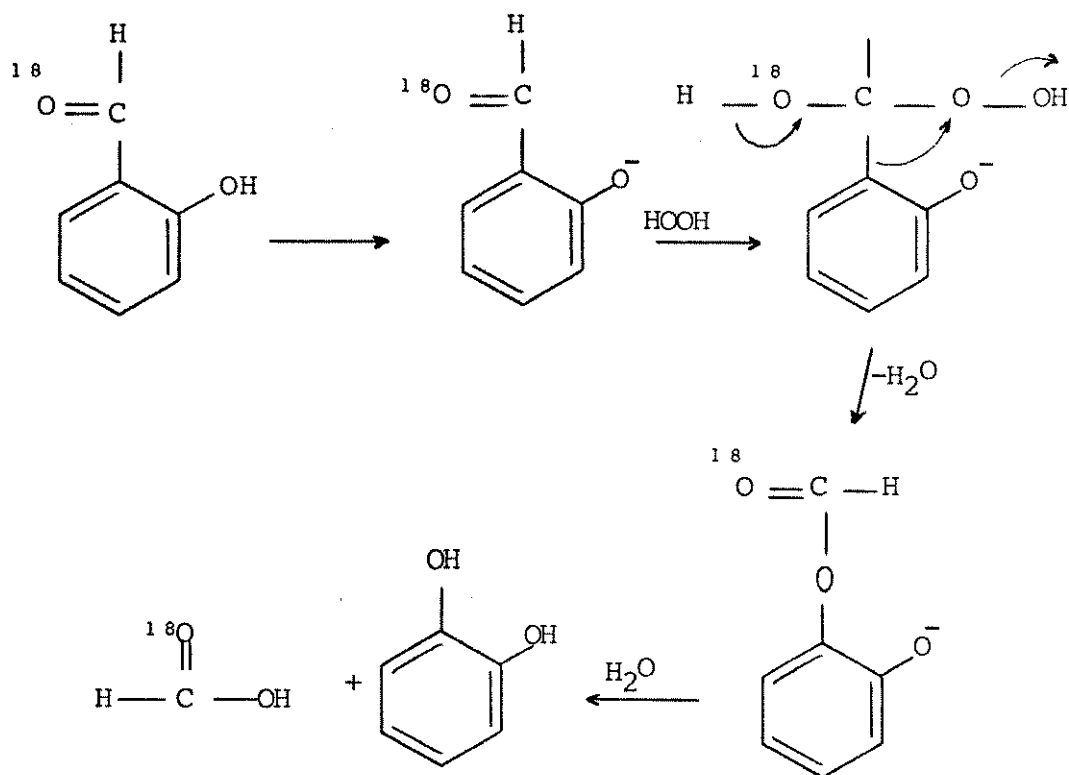
O dubleto atribuído ao próton H-4 é mais baixo e largo do que aquele relativo ao próton H-3. Este fato nos sugere a existência do acoplamento à longa-distância entre H-8 e H-4/48/.

A análise elementar do composto forneceu fórmula molecular $C_{17}H_{12}O_5$, e o espectro de massa mostra o íon molecular em m/e 296 (M^+ ; 10,7) além do pico principal em m/e 91 (100).

O levantamento bibliográfico feito indicou que a substância 44 é inédita.



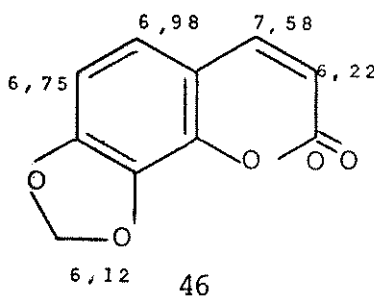
Estas informações caracterizaram-na como uma 5-formil 6-hidroxi-7-benzilóxido cumarina. Submetemos a substância 44 à várias tentativas de oxidação de acordo com o método de Dakin, inclusive variando as concentrações e as proporções relativas dos reagentes/72,73,74/. Obtivemos resultados satisfatórios quando empregamos NaOH 2% e H₂O₂ 6% /69,72/. Esta reação ocorre segundo o mecanismo esquematizado em anexo /75/.



O produto de oxidação (45) é um sólido incolor com ponto de fusão $225\text{--}227^\circ$. Seu espectro no infravermelho (E.44, pag 148) confirma a presença do grupo hidroxílico através da absorção larga em 3300cm^{-1} . Notamos o desaparecimento da banda correspondente à carbonila do aldeído, em relação à substância de partida. A absorção intensa em 1670cm^{-1} é relativa à carbonila da lactona. O espectro de massa (E.45, pag 147) mostra o íon molecular em m/e 284 (M^+ ; 37), além dos picos significativos em m/e 193 (14) e m/e 91 (100) correspondentes ao íon ($\text{M}^+ - \text{PhCH}_2$) e ao íon benzílico, respectivamente.

Por conveniência, utilizamos a daphnetina como modelo para reação de metilenação. Submetemos a daphnetina (35) à reação de metilenação utilizando carbonato de potássio, óxido de cobre, em quantidade catalítica, e iodeto de metileno em dimetil -

formamida (DMF)/76/. Obtivemos um sólido incolor (46) com ponto de fusão 185-187°C (lit⁷⁷ 187-189°C). Seu espectro de RMN-¹H mostra um singlete em δ 6,12(2H) correspondente ao grupo metilenodióxido. Os dois dubletos em δ 7,58 (J= 9,5Hz;1H) e δ 6,22 (J=9,5Hz; 1H) são característicos, respectivamente, dos prótons cis-olefínicos em C-3 e C-4 do anel cumarínico. Aos dubletos em δ 6,98 (J= 8Hz;1H) e δ 6,75 (J = 8Hz;1H) atribuímos, respectivamente, os prótons H-5 e H-6/77/.

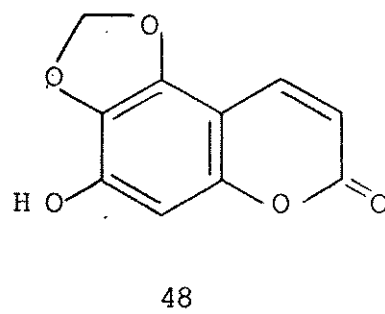
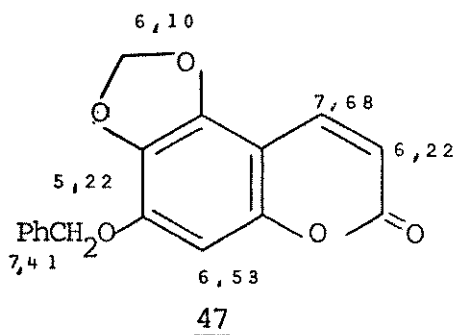


Submetemos o composto 45 à reação de metilenação, otimizada através de daphnetina(35). O produto da reação (47) é um sólido incolor, purificado por cromatografia em placa preparativa, com ponto de fusão 162-164°. Seu espectro de RMN-¹H (E.46, pag 149) evidencia a presença do grupo metilenodióxido através do singlete em δ 6,10(2H). Ao singlete em δ 6,53 atribuímos o único próton aromático H-8. Os singletos em δ 5,22(2H) e δ 7,41(5H) são característicos dos prótons benzílicos. Aos dois dubletos em δ 7,68 (J= 9,5Hz;1H) e δ 6,22 (J=9,5Hz;1H) atribuímos, respectivamente, os prótons olefínicos H-4 e H-3.

Apesar da presença de um substituinte oxigenado em C-5, o sinal referente ao H-4 aparece em campo relativamente mais alto (δ 7,68) do que o esperado/18,19/. Para confirmar o

acoplamento entre esses dois prótons incidimos uma radiofrequência H_2 na frequência de ressonância do próton mais desprotegido (δ 7,68), resultando na simplificação do sinal duplo em δ 6,22. Esses resultados confirmaram a estrutura 47 como produto de metilação.

Submetemos o composto 47 à hidrólise ácida do grupo benzílico. O produto da hidrólise é um sólido incolor com ponto de fusão 251-253°. O levantamento bibliográfico feito indicou que a substância 48 é inédita.



Submetemos este produto 48 à reação de prenilação com brometo de γ,γ -dimetil alila e carbonato de potássio em acetona anidra. Purificamos o produto da reação por placa preparativa e-luída no sistema benzeno/éter etílico (10%). Após a obtenção do es-pectro de RMN- 1H constatamos a presença de uma pequena impureza , não revelada em ccd anterior. O emprego de um sistema de solvente benzeno/dioxano (1%) nos permitiu a purificação da substância dese-jada (49).

A substância 49 é um sólido incolor, com ponto de fu-são 98-99°. Em ccd mostra uma mancha com fluorescência azul sob irradiação ultravioleta (366nm). Seu espectro de RMN- 1H (E.47, pag 149) mostra os dois dubletos em δ 7,78 ($J=10\text{Hz}; 1H$) e δ 6,22

($J = 10\text{Hz}; 1\text{H}$) característicos, respectivamente, de prótons cis-olefínicos H-4 e H-3 do anel cumarínico. Ao singlete em δ 6,49 (1H) atribuímos o único próton aromático H-8. Observamos, novamente, o fenômeno de acoplamento à longa-distância, de aproximadamente 0,5Hz, entre os prótons H-4 e H-8. Caracterizamos o substituinte isoprenílico através dos singletos largos em δ 1,78 e δ 1,74 característicos dos grupos metílicos sobre Csp^2 , pelo dubleto largo em δ 4,66 (2H) correspondente aos prótons metilênicos e pelo tripeto largo em δ 5,46 (1H) relativo ao metino de Csp^2 . O metileno e o metino certamente constituem um sistema do tipo AA'X/37/. Ao singlete em δ 6,08, equivalendo a dois prótons, atribuímos os prótons do grupo metilenodióxido.

Adicionalmente, realizamos o estudo do deslocamento químico induzido por solvente (C_6D_6), em RMN- ^1H . Os resultados estão registrados na Tabela 6. Nela acrescentamos os dados de RMN- ^1H da cumarina 50 isolada de P.balansae Chodat/6/, cujo grupo isoprenila está localizado na mesma posição que seus análogos PL-4 e PL-5. Pela análise comparativa entre a cumarina sintética e natural concluímos que elas possuem comportamentos espectroscópicos distintos, principalmente nos prótons H-4 e no metilenodióxido.

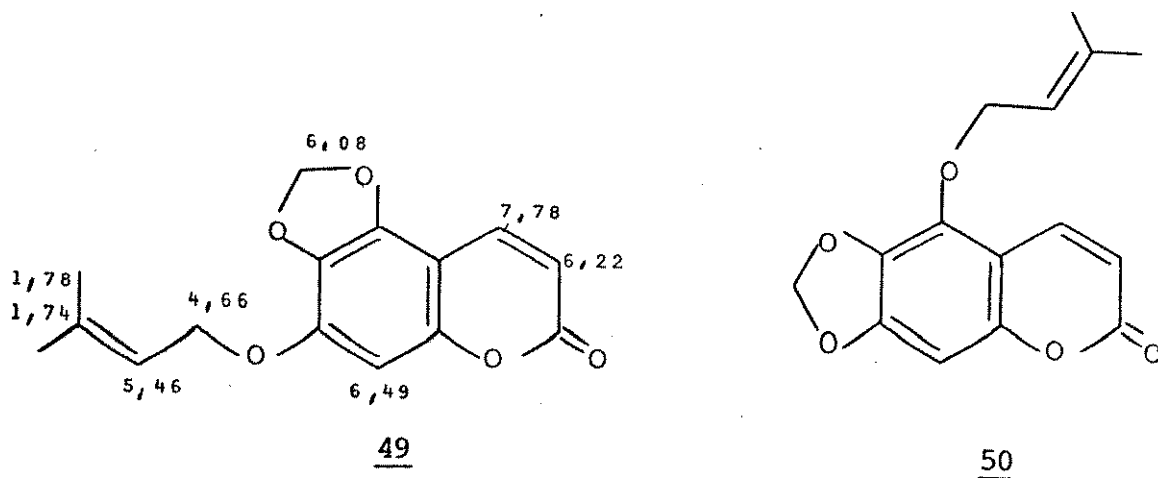
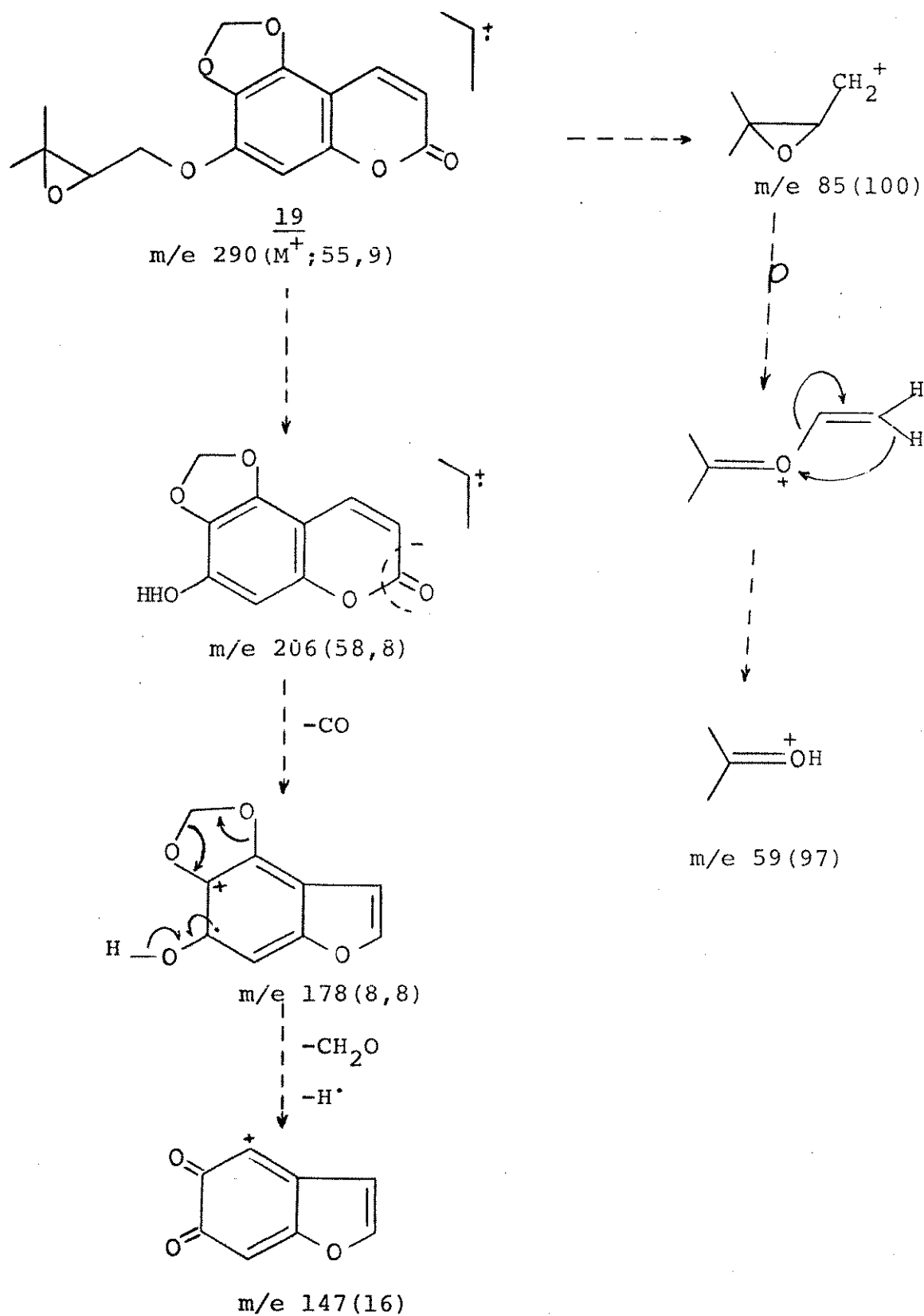


Tabela 6. Tabela comparativa dos dados de RMN-¹H do composto 49 e a cumarina natural 50.

Prótons	Composto <u>49</u> , 100Hz			Composto <u>50</u> , 60MHz		
	CDCl ₃	C ₆ D ₆	Δδ	Δδ	CDCl ₃	C ₆ D ₆
3	d 6,22 J=10Hz	d 5,84	0,38	0,25	d 6,25 J= 10Hz	d 6,00
4	d 7,78 J=10Hz	d 7,04	0,74	0,33	d= 8,05 J=10Hz	d 7,72
8	s 6,49	s 6,28	0,21	0,24	s 6,60	s 6,36
1'	dl 4,66	dl 4,27	0,39	0,15	dl 4,92	dl 4,77
2'	tl 5,46			0,02	tl 5,55	5,53
4'	s 1,78	s 1,50	0,28	0,18	s 1,80	s 1,62
5'	s 1,74	s 1,42	0,32	0,24	s 1,76	s 1,52
OCH ₂ O	s 6,08	s 5,28	0,80	0,91	s 6,11	s 5,20

Para comprovar as nossas suposições, epoxidamos o composto 49 com ácido metacloroperbenzôico em diclorometano/40/. Purificamos o produto de reação por cromatografia em placa preparativa, obtendo o composto 19 com ponto de fusão 158-161^o. Seu espectro de massa (E.49, pag 150) mostra o íon molecular em m/e 290(55,9) e o pico principal em m/e 85(100), além dos picos significativos em m/e 59(97) e m/e 206(58,8), conforme apresentamos no Esquema XIII. O pico principal em m/e 85 é uma forte indicação da presença do substituinte prenil epoxidado/38/. Seu espectro de RMN-¹H (E.48, pag 150) mostra os dois dubletos em δ 7,69 (J=10Hz; 1H) e δ 6,24 (J=10Hz; 1H) característicos, respectivamente, dos prótons cis-olefínicos em C-3 e C-4 do anel cumarínico. Ao singlete em δ 6,53(1H) atribuímos o único próton aromático H-8. Uma vez mais, notamos a existência do acoplamento à longa-distân-

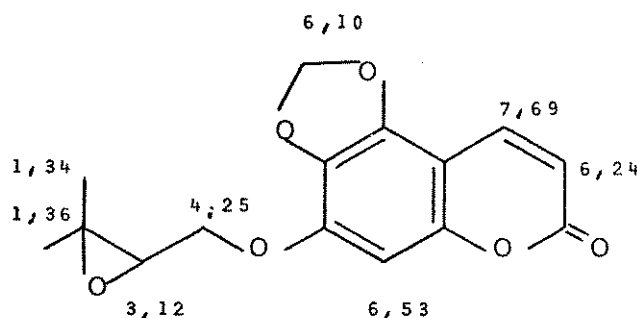


Esquema XIII. Prováveis mecanismos de fragmentação do composto **19**

cia, da ordem de 0,5Hz, entre os prótons H-4 e H-8.

Apesar da presença de um substituinte oxigenado em C-5, é interessante observar que o sinal relativo ao H-4 aparece em campo relativamente mais alto (δ 7,69) do que o esperado, se o substituinte fosse um grupo hidroxílico ou metoxílico/18,19/.

Confirmamos a presença do substituinte prenil epoxidado através do dubleto largo em δ 4,25(2H) correspondente ao metileno, pelo tripleto largo em δ 3,12(1H) relativo ao próton metínico, e pelos singletos em δ 1,34 e δ 1,36 característicos dos prótons metílicos sobre o anel do epóxido. O metileno e o metino certamente formam o sistema do tipo AA'/37/. Ao singlete em δ 6,08 (2H) atribuímos os prótons do substituinte metilenodióxido.



19

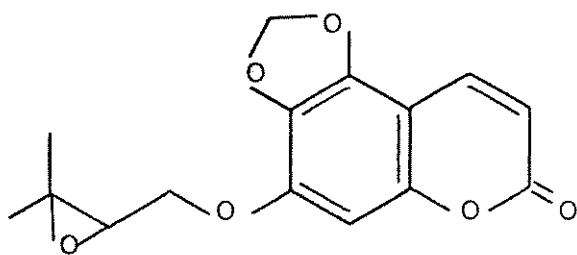
Novamente, realizamos o estudo de RMN- ^1H da cumarina sintética 19 utilizando a técnica de deslocamento químico induzido por solvente (C_6D_6), cujos resultados estão registrados na Tabela 7. Nela acrescentamos os dados da cumarina PL-5 e da cumarina isolada por Bohlmann(19).

Observamos claramente que o produto sintético e o produto natural(PL-5), inicialmente isolado por Bohlmann e colaboradores /33/, apresentam comportamentos espectroscópicos distintos. Con -

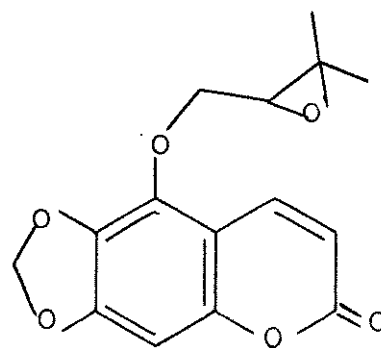
Prótons	Composto <u>19</u> , 100MHz				PL-5,60 e 100MHz			Bohlmann, 100MHz	
	CDCl ₃	C ₆ D ₆	Δδ	Δδ	Δδ	CDCl ₃	C ₆ D ₆	CDCl ₃	Δδ
3	d 6,24 J=10Hz	d 5,93	0,31	0,28	d 6,22	d 5,94		d 6,23 J=9,5Hz	0,22
4	d 7,69 J=10Hz	d 7,09	0,60	0,40	d 8,00	d 7,60		d 8,01 J=10Hz	0,45
8	s 6,53	s 6,36	0,17	0,28	s 6,56	s 6,28		s 6,57	0,26
1'	dl4,25				dd4,58			dd4,59	0,03
2'	t 3,12	t 2,89	0,23	0,17	dd4,35			dd4,38	0,16
4'	s 1,34	s 1,04	0,30	0,28	dd3,12	m 2,95		dd3,14	-0,06
5'	s 1,36	s 1,07	0,29	0,26	s 1,34	s 1,06		s 1,34	-0,07
OCH ₂ O	s 6,10	s 5,31	0,79	0,90	s 1,38	s 1,12		s 1,38	-0,11
					s 6,01	s 5,11		s 6,00	0,95

Tabela 7. Tabela comparativa dos dados de RMN-¹H dos compostos 19 (sintético), PL-5 e da cumarina isolada por Bohlmann(19).

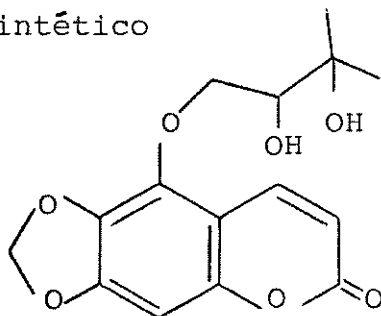
cluimos, portanto, que PL-5 caracteriza-se como sendo o composto de estrutura 5-(2,3 -epóxido-3-metilbutilóxido)-6,7-metilenodióxido cumarina (20) e, conseqüentemente, PL-4 possui estrutura representada por 17.



19
Prod. Sintético



20 (PL-5)
Prod. Natural



17 (PL-4)

Prod. Natural

Para complementar o estudo do deslocamento químico induzido por solvente (C_6D_6) na localização dos grupos metílicos, metoxílicos e dos prótons aromáticos no anel cumarínico/28/, registramos na Tabela 8 um quadro comparativo do comportamento do grupo metilenodióxido nas três posições do anel cumarínico.

O grupo metilenodióxido sofre maior proteção quando se localiza em C_6-C_7 , e menor proteção em C_7-C_8 . Através desta análise comprovamos, mais uma vez, que a cumarina PL-5 possui o grupo metilenodióxido em C_6-C_7 , pois obtivemos um $\Delta\delta$ 0,90ppm para PL-5, semelhante ao deslocamento químico ($\Delta\delta$) observado para o composto 24

Tabela 8. Quadro comparativo dos comportamentos espectros
c33picos do grupo metilenodi33xido no anel cu-
mar33nico.

composto solvente	C ₅ - C ₆		C ₆ - C ₇	C ₇ -C ₈
	<u>49</u>	<u>20</u>	<u>24</u>	<u>46</u>
CDCl ₃	s 6,08	s 6,10	s 6,06	s 6,12
C ₆ D ₆	s 5,28	s 5,31	s 5,11	s 5,40
$\Delta\delta$	0,80	0,79	0,95	0,72

Utilizamos os dados de RMN-¹³C como uma informa333o a-
dicional na caracteriza333o da estrutura 49. Atribu333mos os valores
dos deslocamentos qu333micos aos carbonos da cumarina 49, analisando
os espectros DFL(E.50, pag 151) e FDFE(E.51, pag 152).

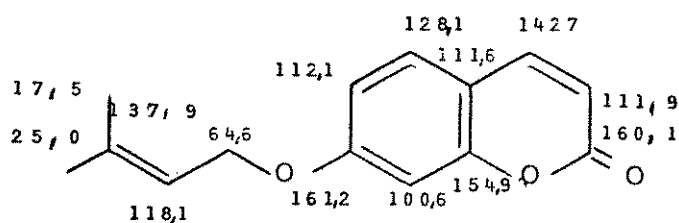
Assinalamos os carbonos do substituinte O-prenil por
compara333o com os do composto 51/42/. Pelo efeito- γ de prote3333o o
C-4' 333 mais protegido que C-5' /42/.

Ao tripleto em δ 102,6 atribu333mos o carbono do meti-
lenodi333xido. No espectro FDFE observamos, al333m do dubleto em δ
118,3 correspondente ao carbono met333nico, mais tres dubletos em
 δ 95,6; δ 112,6 e δ 136,4. Por analogia aos valores encontrados
para os carbonos dos compostos 6-9/41,42 ,43/, atribu333mos o mais
desprotegido ao C-4, o mais protegido ao C-8, e conseq333entemente
aquele em δ 112,6 ao C-3. Em δ 160,6; δ 149,6; δ 145,5; δ 144,1;
 δ 131,6; δ 98,7 e δ 139,2 observamos sinais caracter333sticos dos
carbonos quatern333rios. O sinal em δ 139,2 atribu333mos ao 333nico car-
bono quatern333rio da cadeia lateral. O mais desprotegido (δ 160,6)

é característico do carbono carbonílico C-2 /41,42,43/. e ao mais protegido (δ 98,7) atribuímos o C-10, que corresponde ao carbono quaternário mais protegido do anel cumarínico /42/. No caso do composto 49, o C-10 sofre uma proteção adicional devido ao efeito de proteção orto do grupo metilenodióxido que se encontra em C-5, além do grupo alcoxilado na posição para ao C-10/78/. Ao sinal em δ 131,6 atribuímos o C-6, o qual sofre, além do efeito de proteção do anel rígido do grupo metilenodióxido, uma proteção adicional por ser orto à cadeia alcoxilada em C-7.

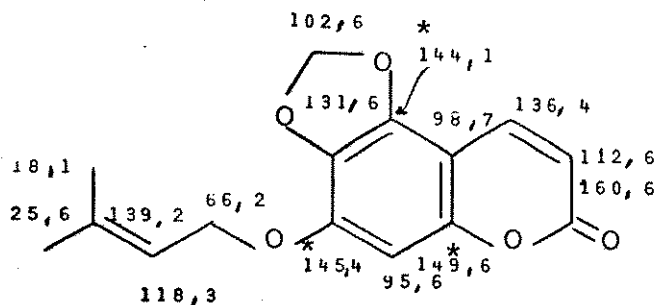
Restam-nos mais tres sinais em δ 149,6; δ 145,5 e δ 144,1 devidos aos carbonos quaternários. Estes valores não puderam ser atribuídos com muita segurança devido à falta de um modelo a dequado. Se dispuséssemos de um espectro de RMN- ^{13}C totalmente acoplado (DA), talvez, seria possível caracterizá-los através da análise de suas estruturas finas.

Estas análises do espectro de RMN- ^{13}C nos confirmaram mais uma vez, a estrutura do composto 49.



51/42/

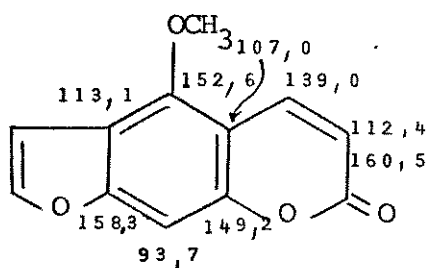
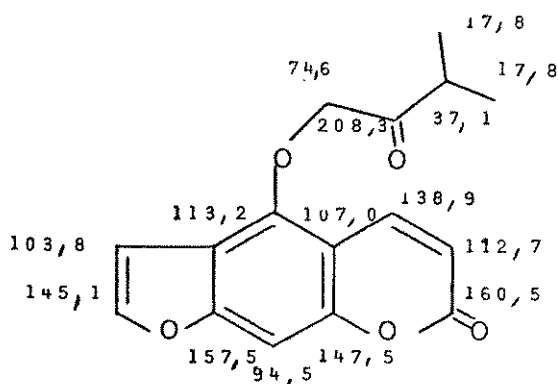
* eventualmente podem estar trocados

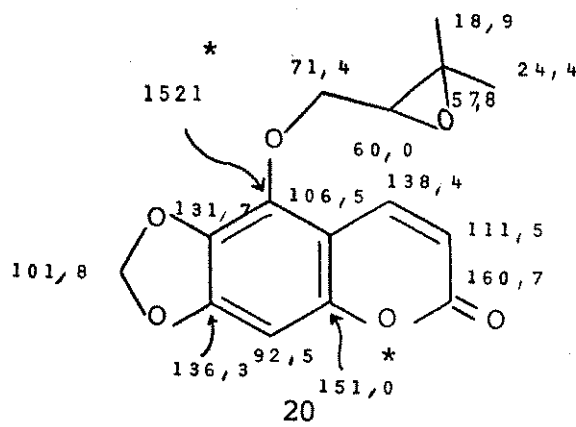


49

As atribuições feitas aos carbonos da cumarina 49 são ferramentas valiosas na análise dos espectros da cumarina natural 20 (E.52,53,pag 153). Esta cumarina também possui o anel rígido de metilenodióxido no plano da molécula. Porém, o substituinte alcoxi lado situa-se agora no C-5, com dois outros substituintes orto deixando-o espacialmente impedido. Consequentemente, o par de elétrons desemparelhados do orbital p do átomo de oxigênio fica com recobrimento parcial no plano da molécula. Confirmamos a existência deste fenômeno através da análise do C-1' (δ 71,1) do composto 20 mais desprotegido do que o carbono C-1' do composto 49 (δ 64,6), que possui a cadeia lateral situado no plano da molécula.

Para assinalarmos os carbonos da cadeia lateral, o substituinte prenila epoxidado, utilizamos os compostos 4 e 5 como modelos para comparação. Na atribuição dos demais sinais relativos aos carbonos do anel cumarínico utilizamos os compostos 52 e 53, exceto na atribuição dos carbonos quaternários ligados ao grupo metilenodióxido.

5253/71/



*eventualmente podem estar trocados.

Aos carbonos quaternários em δ 131,7 e δ 136,3 atribuímos, respectivamente, os carbonos C-6 e C-7. Os sinais em δ 151,0 e δ 152,1 são muito próximos, portanto, não pudemos atribuí-los com segurança.

A localização do anel rígido de metilenodióxido orto ao C-8 induz uma pequena proteção desse carbono (δ 92,5) em relação àquele do composto 49 (δ 95,6).

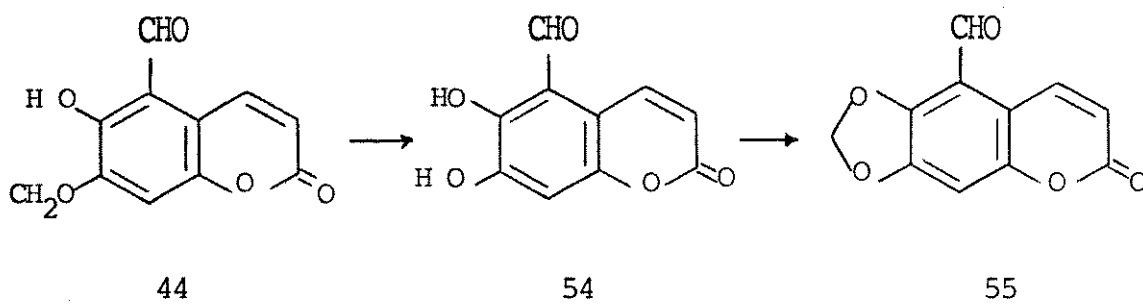
Estas análises de RMN- ^{13}C nos confirmaram, uma vez mais, a estrutura 20 proposta para a cumarina PL-5.

V - Tentativas de síntese de 5-(2,3-epóxido-3-metilbutilóxido)-6,7-metilenodióxido cumarina(20).

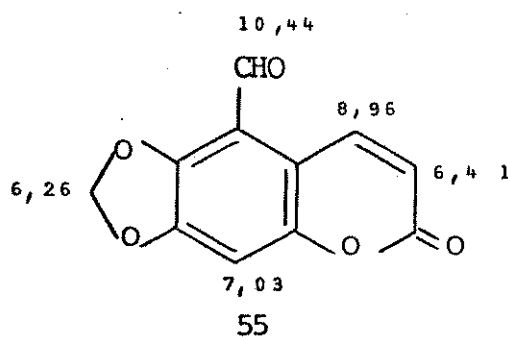
Constatamos, através da síntese discutida no capítulo anterior, que a cumarina natural PL-5 é o isômero da cumarina que sintetizamos. Para confirmação absoluta e incontestável da estrutura do produto natural empenhamo-nos na sua síntese.

Planejamos o caminho sintético de tal maneira que pudessemos aproveitar algum composto sintetizado no capítulo anterior.

Tomamos o composto 44 e submetemos à hidrólise do grupo benzila. Seguimos a reação por ccd, que apresentou uma única mancha polar com fluorescência amarela. Extraímos o composto 54, produto de hidrólise, e sem nenhuma outra comprovação estrutural submetemos à metilenação com iodeto de metileno, carbonato de cálcio e óxido de cobre em DMF. Assim, obtivemos o composto 55, com ponto de fusão 218-220°:



Seu espectro no infravermelho (E.54, pag 154) mostra absorções intensas características dos grupos carbonílicos, através das bandas 1720 e 1685 cm^{-1} . As bandas em 1610 e 1570 cm^{-1} são devidos ao núcleo aromático. O espectro de RMN- ^1H (E.55, pag 155) apresenta o sinal correspondente ao grupo aldeídico em δ 10,44. Aos dubletos em δ 8,96 ($J=10\text{Hz};1\text{H}$) e δ 6,41 ($J=10\text{Hz};1\text{H}$) atribuímos os prótons cis-olefínicos do anel de cumarina. O sinal correspondente ao metilenodióxido aparece como um singlete em δ 6,26. Ao singlete em δ 7,03 atribuímos o único próton aromático, H-8. Caracterizamos o composto 55 como sendo 5-formil-6,7-metilenodióxido cumarina.



Submetemos este composto à oxidação de Dakin/69/ esperando que os oxigênios do metilenodióxido participassem como orto-ativantes, uma vez que suas posições para estavam ocupadas. Nesta reação só recuperamos o composto de partida. Por esta razão abandonamos este caminho que inicialmente nos parecia o mais simples.

Não tentamos a reação de oxidação com o composto 54, pois era do nosso conhecimento através da literatura /76/, que a metilenação de compostos orto-triidroxi aromáticos, por exemplo : o pirogalol resultava em reações intermoleculares com formação de polímeros.

Através de uma análise retrossintética chegamos ao composto 6-hidroxi-cumarina(56), um substrato que nos pareceu adequado para a síntese do isômero desejado. Buscamos nas literaturas vários métodos de obtenção desse substrato. Apresentamos no Esquema XIV os tres caminhos testados.

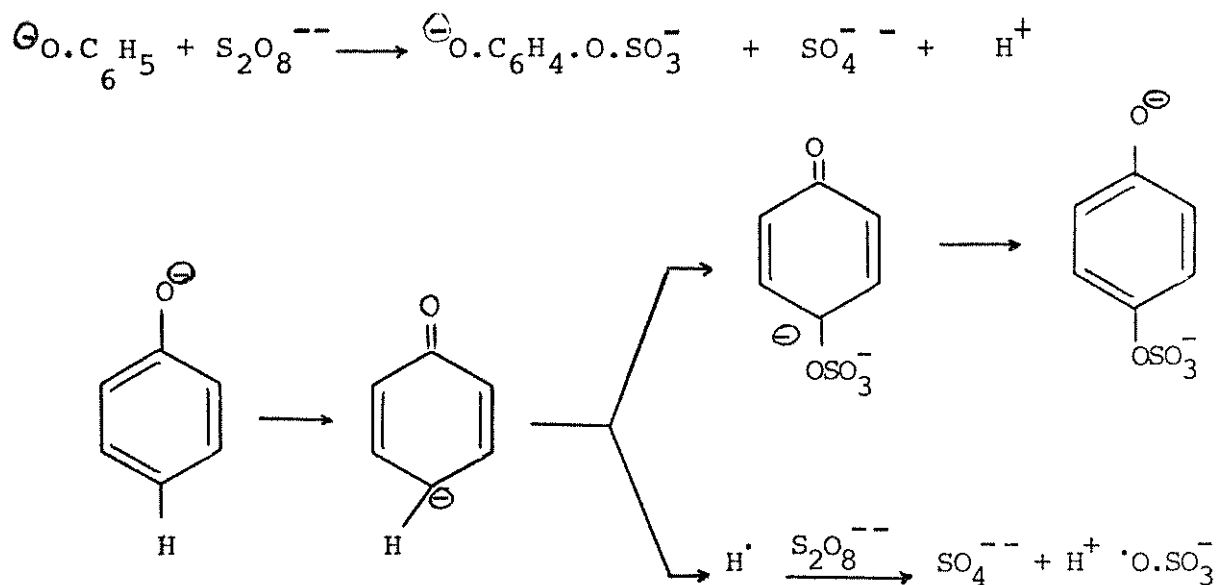
Iniciamos pelo caminho A. A condensação de von Pechmann consiste em reagir a hidroquinona com o ácido málico($\text{COOH-CHOH-CH}_2\text{-COOH}$) na presença do ácido sulfúrico 80%. Obtivemos um sólido incolor, com ponto de fusão 144-146° e apresentou intensa fluorescência azul em ccd (366nm). Seu espectro no ultravioleta mostrou deslocamento batocrômico com a adição de álcali, o que nos indicou a presença de hidroxila fenólica.

Apesar de obtermos o composto desejado (56), o caminho A nos forneceu um rendimento baixo. Modificando as condições da reação, como temperatura e a proporção relativa dos reagentes, não nos proporcionou grandes melhoras. Abandonamos o caminho A e tentamos o caminho B.

O caminho B tem um pequeno inconveniente. Na etapa da benzilação de hidroquinona forma, como produto principal, o com -

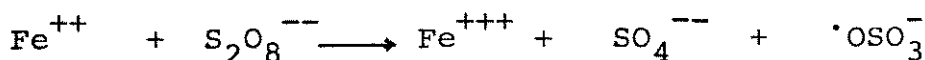
posto bis-benzilado. Apesar disso, seguimos adiante com a síntese até obtermos o produto desejado (56). O balanço geral, entre as etapas envolvidas e a quantidade obtida, nos fez desistir desse caminho B.

Dentre os tres caminhos esquematizados, o caminho C é o que nos levou ao melhor rendimento. É uma reação que envolve a oxidação do fenol com persulfato de potássio /78,79/. A reação envolve o seguinte mecanismo geral/79/:

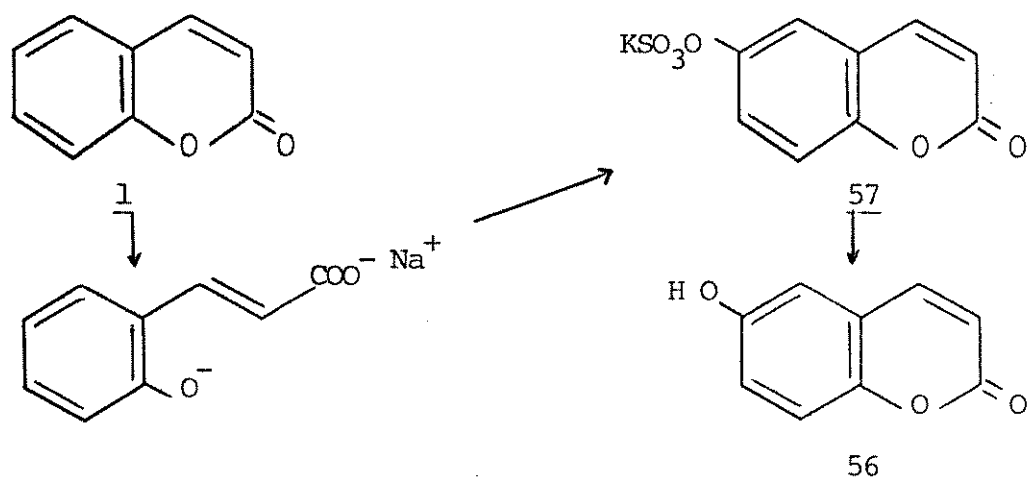


A introdução direta do grupo $\text{O}\cdot\text{SO}_3^-$ no lugar do átomo de hidrogênio em para ou orto, mas nunca em meta, em relação ao átomo de oxigênio fenólico, nos sugere uma reação via o íon sulfato radicalar $\text{O}\cdot\text{SO}_3^-$. Embora sendo um ânion, este íon ainda guarda o caráter cationóide.

O íons sulfato radicalar é, possivelmente, gerado pela interação entre o traço de íon metálico, por exemplo o íon ferroso, e íon persulfato.



No caso da cumarina (1), o anel lactônico abre em meio alcalino e a reação ocorre sobre o sal do ácido o-hidroxí cinâmico. Assim, a cumarina sofre a seguinte reação.

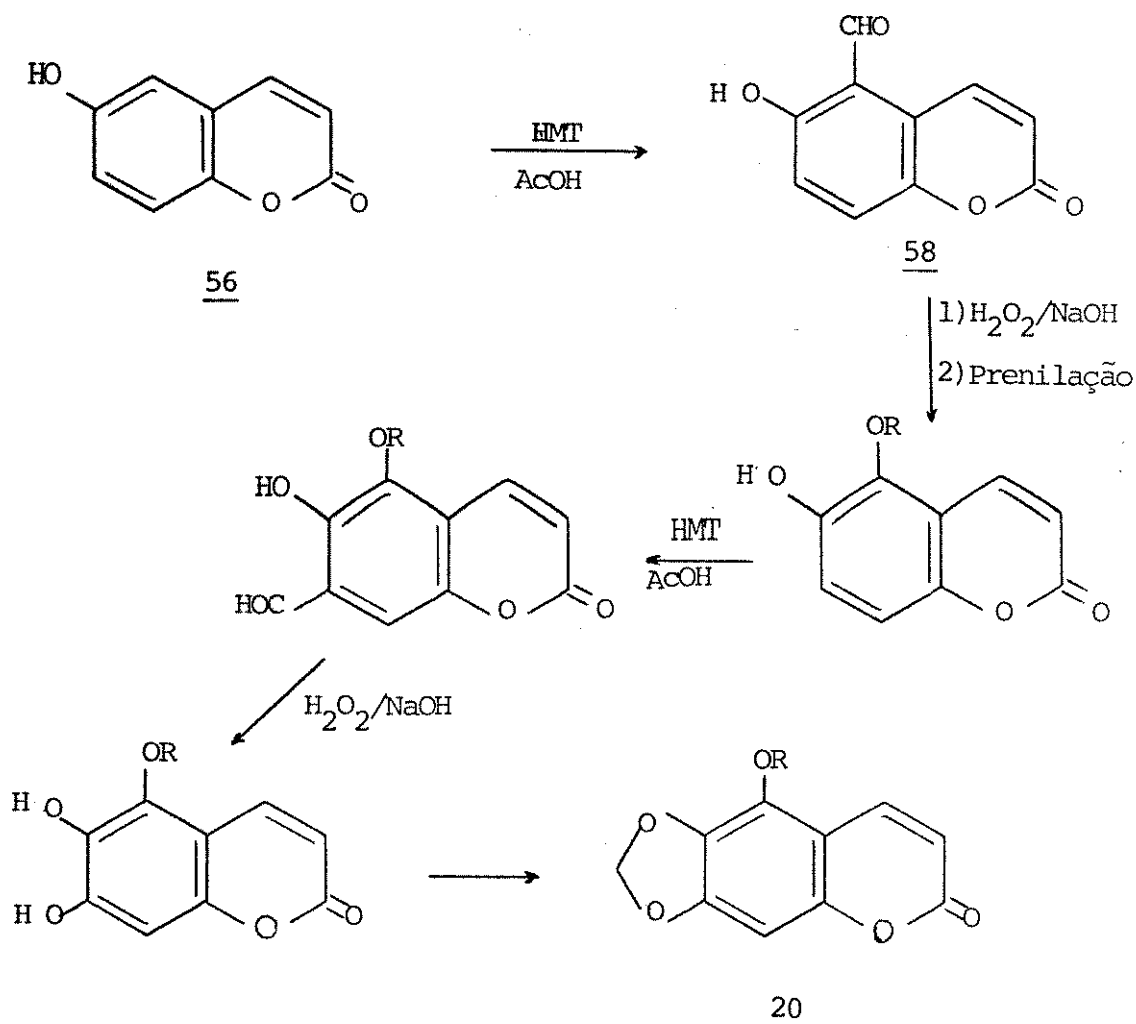


O composto 57, provavelmente, é o intermediário da reação.

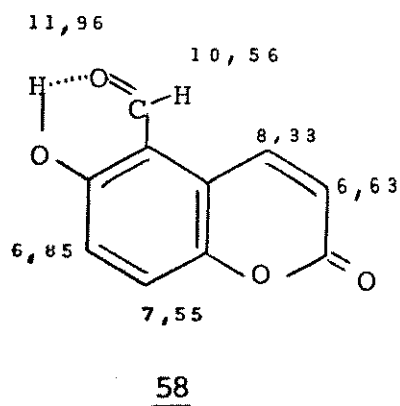
No Esquema XIV apresentamos o plano para a síntese da cumarina 20.

Fizemos a formilação do composto 6-hidroxí cumarina (56) com hexametenotetramina em ácido acético/68/. Após purificação por cromatografia em placa preparativa, obtivemos o composto 58 com ponto de fusão 185-186°. Seu espectro no infravermelho mostra absorções características de carbonilas através das bandas em 1700 e 1680cm⁻¹. O espectro de RMN-¹H apresenta dois dubletos em δ 8,33 (J=9,5Hz; 1H) e δ 6,63 (J=9,5Hz, 1H), correspondentes aos prótons olefínicos H-4 e H-3 do anel de cumarina, respectivamente. Ao singlete em δ 10,56 (1H) atribuímos o próton aldeídico. O sinal devido ao próton hidroxílico aparece como um singlete em

Esquema XIV. Plano de síntese do composto 20.



$\delta_{\text{H}}, 96$. Este sinal desaparece com a adição de água deuterada. Aos dubletos em δ 6,85 ($J=8,5\text{Hz}; 1\text{H}$) e δ 7,55 ($J=8,5\text{Hz}; 1\text{H}$) atribuímos, respectivamente, os prótons aromáticos H-8 e H-7. Assim caracterizamos o composto 58 como sendo 5-formil-6-hidroxycumarina.



Tendo em vista algumas adversidades encontradas, interrompemos a síntese nesta etapa. O estudo e execução das reações subsequentes certamente contribuirão na elucidação da estrutura da cumarina PL-5.

VI - Parte Experimental

VI.1- Especificações dos materiais e dos instrumentos utilizados:

- a) Nas separações por cromatografia em coluna utilizamos sílica gel (0,063-0,20mm) da Merck A.G.Darmstadt como adsorvente.
- b) Nas cromatografias em camada delgada utilizamos sílica gel G ou uma mistura 1:1 de sílica gel G e sílica GF₂₅₄. Nas cromatografias em placa preparativa utilizamos silicagel H ou silicagel PF₂₅₄ da Merck. Em ambos os casos fizemos uma suspensão da sílica em água destilada e distribuímos em camadas sobre placas de vidro através de um espalhador Quickfit. As espessuras das camadas foram de 0,25mm para as placas analíticas e de 1,00mm para as preparativas. Usamos como revelador uma lâmpada ultravioleta(254 e 366nm) e vapores de iodo. Como revelador específico para esteróides utilizamos uma solução ácida de vanilina/49/.
- c) Adotamos os seguintes critérios de pureza: nitidez de ponto de fusão e observação de uma única mancha em ccd, variando o sistema de solvente.
- d) Determinamos os pontos de fusão em um aparelho Metler, modelo FP₅₂, com registrador automático FP5, acoplado a um microscópio de luz polarizada da marca Carl Zeiss; ou então num bloco Kofler. Os pontos de fusão não foram corrigidos.
- e) Evaporamos os solventes, sob vácuo de trompa de água, utilizam

do evaporador rotativo Büchler.

f) Os reagentes PA foram previamente secos e destilados.

g) Registramos os espectros na região do infravermelho em espectrofotômetro da Perkin-Elmer, modelo 337. Usamos como referência, as absorções em 1601 e 1028cm^{-1} de um filme de poliestireno. Utilizamos pastilhas de KBr contendo aproximadamente 1% m/m da amostra

h) Registramos os espectros na região do ultravioleta em espectrofotômetro modelo DMR 21 da Carl Zeiss, em celas de quartzo de $1,0\text{cm}$ de caminho ótico utilizando etanol como solvente e NaOH 1N como aditivo.

i) Realizamos as determinações de rotação óptica à temperatura ambiente. Utilizamos um polarímetro fotoelétrico da Carl Zeiss com precisão de $0,005^\circ$, empregando uma lâmpada de vapor de sódio como fonte de luz. O comprimento da cela é de $0,5\text{dm}$. Usamos clorofórmio como solvente.

j) Registramos os espectros de $\text{RMN-}^1\text{H}$ em espectrômetros: Varian Associates Mod. T-60 e XL-100. Como padrão interno, utilizamos o tetrametilsilano (TMS). Registramos os deslocamentos químicos (δ) em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

l) Os espectros de $\text{RMN-}^{13}\text{C}$ foram registrados em espectrômetro da Varian Associates modelo XL-100 operando a $25,2\text{MHz}$, acoplado a um computador Varian 620-L que opera com transformada de Fourier.

m) Os EM foram registrados em espectrômetro Varian Mat Bremen, modelo MAT 311A.

VI.2- Coleta da Planta

Inicialmente, coletamos a espécie Ptrocaulon lanatum na Fazenda experimental Mogi-Guaçu em Campininha, estado de São Paulo. Posteriormente, coletamos esta planta na Cidade Universitária-Barão Geraldo, município de Campinas, estado de São Paulo. O Prof.Dr. Hermôgenes Leitão Filho, do Departamento de Morfologia e Sistemática Vegetal da Unicamp, realizou o trabalho de classificação e identificação, tendo uma espécie sido depositada no "herbarium" daquele Instituto, sob nº 2710.

VI.3- Extração

Separamos a parte aérea da planta e após secagem a 37°C em estufa, trituramos em moinho tipo Wiley obtendo 1156 gramas de serragem.

Submetemos o material à percolação a frio numa mistura de hexano: éter etílico(1:1), renovando o solvente a cada 24 horas. Filtramos, concentramos as soluções em evaporador rotativo, sob vácuo, fornecendo-nos 46 gramas de extrato.

VI.4- Isolamento e Purificação

Submetemos o extrato (40g) à cromatografia em coluna (ϕ i=7cm) de silicagel(1600g; ϕ =0,063-0,200mm). Utilizando como sistema de eluente: hexano, éter etílico, clorofórmio e metanol, convenientemente combinados em ordem crescente de polaridade até metanol 20%.

Coletamos 490 frações de 250ml cada uma. Desta cromatografia estudamos apenas as frações que continham cumarinas. As cumarinas, caracteristicamente, tornaram-se fluorescentes em ccd sob irradiação UV. A tabela 9 resume a seleção das frações estudadas.

Tabela 9 - Seleção das frações reunidas.

Frações	Quantidade(g)	Composto isolado
212 - 247	0,425	PL-1, PL-5
248 - 262	0,756	PL-1
339 - 361	7,860	PL-2
432 - 458	0,480	PL-6
467 - 469	0,485	PL-3, PL-4

Frações 248-262

Purificamos as frações 248-262 (0,756g) por cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H. Obtivemos o composto predominante apresentando forte fluorescência azul sob irradiação ultravioleta. Recristalizamos o composto em hexano/éter etílico.

co obtendo cerca de 75mg de um sólido incolor e bem brilhante de signado PL-1.

Frações 212 - 247

A cromatografia em camada delgada de sílicagel das frações 212 - 247 (0,425g), desenvolvida em vários sistemas de solventes, nos indicou a presença de um novo constituinte apresentando polaridade próxima à da PL-1. Submetemos a mistura à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida em sistema hexano:éter etílico (2:8), e isolamos o composto designado por PL-5. Recristalizamos o composto em éter etílico, fornecendo-nos cerca de 20mg de sólido incolor. Além deste composto PL-5, , obtivemos aproximadamente 15mg de PL-1.

Frações 339 - 361

Recristalizamos as frações 339 -361 (7,860g) em hexano / éter etílico (1:1), obtendo cerca de 3g de um sólido incolor. Submetemos uma pequena quantidade desta mistura à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida em sistema benzeno:éter etílico 10%, e obtivemos o composto designado por PL-2.

Frações 432 - 458

Recromatografamos as frações 432 - 458 (0,480g) em coluna (ϕ i=2,5cm, altura=14cm) de sílicagel G(32g), sob pressão de N₂. Utilizamos clorofórmio e metanol como eluentes. Coletamos 130

frações de 10ml cada uma. Reunimos as frações semelhantes (96a114) e submetemos estas frações à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida no sistema clorofórmio/metanol 5%. Isolamos um composto que em ccd apresentou fluorescência amarelada sob irradiação UV. A recristalização em éter etílico forneceu-nos cerca de 27mg de composto designado por PL-6.

Frações 467 - 469

Submetemos as frações 467 - 469 (0,485g) à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida no sistema clorofórmio/metanol 10%, e isolamos um composto amarelado. Em ccd, desenvolvida no sistema benzeno: acetato de etila (1:1), a mancha inicial desdobrou-se em duas. Uma delas apresentou intensa fluorescência azul e a outra fluorescência amarelada, sob irradiação UV. A cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, possibilitou o isolamento de dois novos constituintes. Designamos o mais polar, com fluorescência azul em ccd, de PL-3. Após recristalização em éter etílico nos forneceu cerca de 50mg de substância incolor. O composto menos polar, com fluorescência amarelada em ccd, designamos de PL-4. Após recristalização em clorofórmio obtivemos cerca de 39mg de PL-4.

Frações 136 - 140

Recromatografamos as frações 136- 140 (0,236g) em coluna de sílicagel (25g, $\phi = 0,06-0,20\text{mm}$), utilizando hexano/acetato de etila 5% como eluente. Recolhemos 40 frações de 10ml cada uma. Agrupamos as frações semelhantes (15a22) e as recristalizamos em

metanol, obtendo cerca de 57mg de um sólido incolor designado por PL-ES.

VI.5 - Dados espectroscópicos e constantes físicas dos compostos isolados.

PL-1 Isofraxidina (3,3-dimetil alil éter) ou Puberulina. P.F.: 87,8-89,3° (lit²⁷ 90-92°). Fluorescência azul sob irradiação UV. UV λ_{max} (EtoH) (ϵ): 335 (6086), 295 (8725), 225sh (16975) e 205 (24495) nm. O espectro não sofreu alteração em meio alcalino. IV ν_{max} (KBr): 3050, 2980, 2850, 1720, 1610, 1570, 1490, 1460, 1380, 1350, 1295, 1275, 1237, 1195, 1160, 1120, 1080, 1040, 975, 955, 920, 870 e 825 cm⁻¹. RMN ¹H, δ CDCl₃: 7,62 (d, J=9,5 Hz, H-4); 6,69 (s, H-5); 6,32 (d, J=9,5 Hz, H-3); 5,57 (t, H-2'); 4,62 (d, H-1'); 4,06 (s, OCH₃); 3,90 (s, OCH₃); 1,78 (s, CH₃); 1,70 (s, CH₃). Análise elementar: encontrado C=66,11%; H=6,25%; O=27,64% (Teórico C=66,20%; H=6,25%; O=27,55%). E.M.-m/e (intensidade relativa, %): 290 (M⁺; 0,6); 222 (100), 69 (35,5); 207 (13); 194 (6,5) e 179 (4,5).

PL-2 6,8-dimetoxi-7(3-metil-2,3-epoxibutilóxido)cumarina).

P.F.: 103-104° (hexano:éter). UV λ_{max} (EtoH) (ϵ): 337 (8234), 293 (12787), 226 (20858) e 209 (35017) nm. O espectro não sofreu alteração em meio alcalino. IV ν_{max} (KBr): 3050; 2950; 2830; 1720; 1610; 1570; 1490; 1460; 1410; 1390; 1345; 1300; 1295; 1275; 1245; 1195; 1160; 1145; 1125; 1085; 1050; 1000; 965; 925; 870; e 825 cm⁻¹. RMN-¹H, δ CDCl₃: 7,61 (d, J=10 Hz, H-4); 6,72 (s, H-5); 6,36 (d, J=10 Hz, H-3); 4,29 (d, H-1'); 4,09 (s, OCH₃); 3,94 (s, OCH₃); 3,24 (t, H-2'); 1,36 (s, CH₃) e 1,28 (s, CH₃).

E.M- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa%): 306(M^+ ;30); 222(48); 207(5);85 (100) e 59(56). Rotação Óptica $[\alpha]_D^{25} = + 98^\circ$ (C =1,5;CHCl₃). Análise elementar:encontrado C= 62,83% ;H= 5,97%; O= 31,20%(Teórico C= 62,74%; H=5,92%; O=31,34%).

PL-3 Scopoletina-2',3'-diidroxí-3'-metilbutil-(1')-éter.

P.F.:67,2-68,6 $^\circ$ (éter) (lit⁴⁶ óleo).UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}} (\epsilon)$: 343 (8934);294(4432);257sh(3630);251(4192);229(12783) e 206(15619)nm. IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$;3650;3520; 2970;2930;1720;1620;1565;1510;1460;1420;1380 ; 1280;1250;1195;1170;1150;1100;925;860 e 820cm⁻¹. RMN-¹H, δ CDCl₃ : 7,66(d,J=10Hz,H-4); 6,90(s,H-5 e H-8); 6,32(d,J= 10Hz,H-3);4,35(dd,J= 9+3 Hz,H-1');4,13(dd,J= 9+5Hz,H-1'); 3,90(s,OCH₃);3,80(m , H-2'); 1,33(s,CH₃) e 1,29(s,CH₃).EM- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa,%): 294(M^+ ;2,5);192(100); 177(37);164(39);149(11) e 59(91).

PL-4 5-(2,3-diidroxí-3-metilbutilóxido)-6,7-metilenodióxido cumarina .

P.F.: 160-161,6 $^\circ$ (CHCl₃).UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}} (\epsilon)$:315(4626);259sh (1558);238(3863) e 213(10349)nm. IV $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$:3600-3200;3100; 2970;2930;2870;1720; 1625;1580;1500;1470;1410;1380;1300;1250;1210; 1140;1110;1095;1085;1050;980;940;900;880; e 820cm⁻¹. RMN-¹H; δ CDCl₃:7,94(d,J= 10Hz,H-4);6,55(s,H-8);6,20(d,J=10Hz,H-3);6,01(s, -OCH₂O-); 4,52(dd,J=10+4Hz,H-1');4,34(dd,J=10+8Hz,H-1'); 3,79 (dd,J=8+4Hz,H-2');1,95(s1,OH);1,31(s,CH₃)e 1,26(s,CH₃).EM- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa,%): 308(M^+ ;0,3);206(8,2);178(58,5);103(0,5) ; 85(24,5) e 59(100).Rotação Óptica $[\alpha]_D^{25} = -12,5^\circ$ (C=0,64;CHCl₃).

PL-5 5-(3-metil-2,3-epoxibutilóxido)-6,7-metilenodióxido cumarina .

P.f.: 91-94^o (lit 81^o). UV λ_{max} (E): 335sh(10825) ;
 310(12832); 256(6232); 235(13821) e 211(31529)n,. IV ν_{max} : 3060 ;
 2860-2800; 1720; 1625; 1580; 1500; 1465; 1410; 1400; 1380; 1360; 1300; 1270;
 1245; 1200; 1120; 1100; 1080; 1045; 945; 925; 880; 860; 840; 820 e 730cm⁻¹.
 RMN-¹H, δ CDCl₃: 8,00(d, J=10Hz, H-4); 6,56(s, H-8); 6,22(d, 10Hz, H-3);
 6,01(s, -OCH₂O-); 4,58(dd, J=11+4Hz, H-1'); 4,35(dd, J=11+6Hz, H-1');
 3,12(dd, J=6+4Hz, H-2'); 1,38(s, CH₃) e 1,34(s, CH₃). EM-m/e(intensi-
 dade relativa, %): 290(M⁺; 49,0); 206(22,8); 178(5,2); 147(7,9); 85
 (100) e 59(98). Rotação óptica $[\alpha]_D^{25}$: -12,0(C=0,6; CHCl₃).

PL-6 6,8-dimetoxi-7-(2,3-diidroxi-3-metilbutilóxido) cumarina .

P.f.: 78,0-80,5^o. UV λ_{max} (E): 335(8744); 294(12191);
 225(23386); e 200(34404)nm. IV ν_{max} : 3500-3300; 2960-2850; 1720;
 1610; 1570; 1490; 1470; 1430; 1420; 1350; 1300; 1275; 1245; 1225; 1200; 1160;
 1125; 1080; 1050; 1000; 985; 970; 925; 895; 885; 865 e 820cm⁻¹. RMN-¹H, δ
 CDCl₃: 7,65(d, J=10Hz, H-4); 6,73(s, H-5); 6,39(d, J=10Hz, H-3); 4,15(s,
 OCH₃); 3,98(s, OCH₃); 4,70-4,54(m, 2H); 3,70(dd, 1H); 1,30(s, CH₃); e
 1,26(s, CH₃). EM-m/e (intensidade relativa, %): 324(1,3); 222(69); 207
 (18); 194(14); 179(9) e 59(100). Rotação óptica $[\alpha]_D^{25}$: +80,6^o (C=0,9 ;
 CHCl₃). Análise elementar: encontrado C=59,19%; H=6,20%; O=34,61%
 (Teórico C=59,25%; H=6,17%; O=34,56%).

PL-ES Fitosteróides

KBr
P.f.; 151-152°. IV ν_{max} : 3400; 1640; 1460; 1380 cm^{-1} .

RMN- ^1H , CDCl_3 ; 5,20-5,00 (2 multipletos); 1,03 (s, CH_3); 0,70 (s, CH_3) e vários picos relativos aos grupos metilênicos. EM- m/e : 412 (M^+) e 414 (M^+). MIKES M^+ 414 { m/e 399; 396; 371; 355; 342; 329; 316; 302; 289; 273; 260; 246; 231.}. M^+ 412 { m/e 397; 394; 379; 369; 354; 341; 327; 314; 299; 286; 271; 258; 245; 229.}.

VI.6 - Transformações químicas efetuadas.

Reação de Claisen com PL-1

Aquecemos, a 175°C, a solução de PL-1 (70mg; 0,241 m moles) em N,N-dietilanilina recém-destilada (1,5ml) e anidrido n-butírico (1,5ml), sob atmosfera de N_2 , durante 8 horas. Esfriamos a mistura até temperatura ambiente e diluímos com água-gelo (20ml). Deixamos em repouso cerca de 3 horas e então extraímos com acetato de etila. Lavamos a fase orgânica com solução aquosa de HCl (1%), solução aquosa de K_2CO_3 (0,5%); solução saturada de NaCl. Secou-se a solução sobre Na_2SO_4 anidro e concentramo-la no evaporador rotativo. Submetemos o resíduo à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida em hexano:AcOEt (4:1), obtendo um composto incolor. Recristalizado em AcOEt obtivemos cerca de 15mg do composto 3. P.f.: 146-148°. λ_{max} : 341; 223sh e 207 nm. λ_{max} : 402 e 245nm.

Reação de epoxidação de PL-1

Mantivemos a solução de PL-1 (10mg; 0,034 m moles) em CH_2Cl_2 recém-destilado (2ml) num banho de gelo, sob agitação. Em seguida, adicionamos o ácido metacloroperbenzôico (6,2mg; 0,036 m moles).

les) mantendo a agitação por mais 3 horas. Após este período, deixamos a solução no congelador durante 3 dias. Neutralizamos a mistura com solução aquosa de NaHCO_3 (10%), em seguida lavamos com solução aquosa saturada de NaCl e água destilada. Secou-se a fase orgânica sobre Na_2SO_4 anidro. Concentramos a solução em evaporador rotativo e submetemos o resíduo à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H; desenvolvida em hexano:éter etílico (1:4). Recristalizamos o composto em éter etílico, obtendo cerca de 8mg do produto. Os espectros na região do IV e $\text{RMN-}^1\text{H}$ foram superponíveis aos espectros correspondentes do produto natural PL-2 (4). O P.f. misto é idêntico ao de PL-2.

Clivagem ácida do epóxido de PL-2

Na solução de epóxido de PL-2 (100mg; 0,33m moles) em THF (8ml), mantida em banho de água-gelo, adicionamos H_2SO_4 1M (1,5ml). Deixamos à temperatura ambiente durante 17 horas, sob agitação. Vertemo-a sobre água-gelo, neutralizamos com solução aquosa de NaHCO_3 (10%) e extraímos com CHCl_3 . Secamos a solução sobre Na_2SO_4 anidro e concentramo-a em evaporador rotativo. Submetemos o resíduo à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida em clorofórmio/metanol (5%). A recristalização do produto em éter etílico nos forneceu cerca de 38mg de sólido incolor. Os espectros nas regiões de IV e UV, e o espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ foram superponíveis aos espectros correspondentes ao produto natural PL-6 (21).

Reação de eliminação redutiva do epóxido de PL-2

Colocamos 2,1 g do complexo Zn-Cu (recém-preparado) no balão de 3 bocas. Através de um funil de adição introduzimos a solução de PL-2 (100mg; 0,33m moles) em etanol anidro (15ml). Mantive - mos o sistema em refluxo, sob atmosfera de N_2 , durante 60 horas. FilRMN-^1H foram superponíveis aos espectros corres-pondentes ao produto natural PL-1. O outro composto, com fluores-cência amarela, recristalizamos em hexano:éter etílico dando cer-ca de 13mg do produto. O espectro na região do IV e o espectro de $RMN-^1H$ foram superponíveis aos espectros correspondentes ao produ-to natural PL-6.

Acetilação de PL-4

Dissolvemos o composto PL-4 (30mg; 0,09m moles) em pi-ridina (3ml) e adicionamos anidrido acético (3ml). Mantivemos a solução sob aquecimento ($\sim 70^{\circ}C$) durante 24 horas. Esfriamos a so-lução até a temperatura ambiente e vertemo-a sobre água-gelo (15ml). Fizemos extração com clorofórmio e o excesso de piridina elimina-mos por arraste com benzeno seco, em evaporador rotativo. Submete-mos o resíduo à cromatografia preparativa em camada delgada de sílica H, desenvolvida em $CHCl_3$ /metanol (5%), obtendo dois produ-tos. Identificamos a substância apolar (20mg) como sendo produto

diacetilado e a substância mais polar como sendo monoacetilado. Não houve acetilação total da hidroxila terciária.

Clivagem ácida do epóxido de PL-5

Realizamos a clivagem ácida do epóxido de PL-5 da mesma maneira que aquela clivagem realizada para o composto PL-2. O espectro na região do IV e o espectro de RMN-¹H foram superponíveis aos espectros correspondentes ao produto natural PL-4.

VI.7 - Síntese

7.1. Síntese de ácido β -piperonil acrílico(23)

Sintetizamos o composto 22 conforme descrito na literatura/52/. Após recristalização obtivemos um rendimento de 85% . P.f. 235⁰(lit 238⁰). IV (KBr):superponível ao da literatura/53a/.

7.2. Síntese de 6,7-metilenodióxido cumarina.(24).

Obtivemos a ayapina (24) através da reação fotoquímica do composto 23, conforme descrito na literatura/51/. O rendimento foi de aproximadamente 2-3%.P.f.229-231⁰(lit⁹231-232⁰).RMN-¹H(CDCl₃),100MHz), δ CDCl₃: 7,60(d,J=10Hz;1H); 6,30(d;J=10Hz;1H);

6,06(s,2H);6,82(s,2H).EM-m/e (intensidade relativa,%);190(M^+ ;100,0)
162(78,0). UV(EtOH): idêntico ao da literatura /34/.

7.3 - Nitração do composto 23

Submetemos o composto 23 à reação de nitração conforme descrito na literatura/54,55/. Purificamos o produto da reação (25) por cromatografia em coluna de sílicagel G, utilizando benze^{KBr}no:acetato de etila (4:1) como eluente.IV $\nu_{\max}$: 3400;3100-2500(largo);1680;1600;1500;1430;1280;1260 e 1040 cm^{-1} .

Esterificamos uma pequena quantidade do composto 25, com $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (4%) e obtivemos o composto 25-a IV^{KBr} $\nu_{\max}$:1710;1640 ; 1610;1510; 1485;1430;1315;1290;1275;1205;1178;1035;985 ; 928e 872 cm^{-1} .RMN-¹H, δ CDCl_3 :3,86(s,3H);6,26(d;J=16Hz;1H);8,18(d,J=16Hz , 1H);7,05(s,1H); 7,64(s,1H) e 6,23(s,2H).

7.4 - Nitração de piperonal (22)

Em 50ml de HNO_3 (d 1,40) conc., à aproximadamente 0-5°, adicionamos 4g(0,03 moles) de piperonal em pó, em pequenas porções e 15 ml de ácido acético.Mantivemos a agitação a esta temperatura por 3 horas, após o qual permitimos que a temperatura atingisse 20°.

Vertemos a mistura reacional sobre a mistura gelo / água e recuperamos o precipitado por filtração, lavando o sólido com solução de KOH(1N) para retirar algum resíduo ácido. Após a dissolução do sólido em CHCl_3 recristalizamos em $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$.Obtivemos 4,75g do composto 27(0,024 moles).P.f. 94,5-95°(lit 98,5°).

KBr
IV ν_{max} : 1680; 1600; 1520 sh; 1490 e 1340 cm^{-1} . E.M.- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa, %): 195 (M^+ ; 74,5); 165 (100); 184 (44); 120 (79); 107 (83) e 79 (51). RMN- ^1H , δ CDCl_3 : 10,40 (s, 1H); 6,62 (s, 2H); 7,41 (s, 1H) e 7,59 (s, 1H).

7.5 - Aminação de O-nitropiperonal (27)

Realizamos esta reação conforme descrito na literatura /56/. Obtivemos um rendimento de 65% (lit. 70% de rendimento) após recristalização em $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$; P.f.: 102-102,5 lit 107-108 $^\circ$ (rec- H_2O).
KBr
IV ν_{max} : 3415; 3310; 2900; 2850; 1650; 1615; 1570; 1500; 1475; 1420; 1260; 1235; 1175; 1085; 1040; 940; 860; 850; 780 e 710 cm^{-1} . E.M.- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa, %): 165 (M^+ ; 100); 137 (16); 136 (22); 120 (15) e 79 (49).
RMN- ^1H , δ CDCl_3 : 6,29 (s, 2H); 6,69 (s, 1H); 6,25 (s, 1H); 6,02 (s, 2H).

7.6. - Reação de diazotação e iodação do composto 28

Submetemos o composto 28 à reação de diazotação conforme descrito na literatura /56, 57/. Sem o isolamento do produto da reação, seguimos a reação de iodação conforme descrito na literatura /58/. Separamos o produto da reação por arraste com vapor de água e extraímos com clorofórmio. Obtivemos um rendimento de 33%.
KBr
P.f. 109-110 $^\circ$ (lit 111 $^\circ$). IV ν_{max} : 1665; 1600; 1480; 1260; 1250; 1112 e 1038 cm^{-1} . E.M.- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa, %): 276 (M^+ ; 100); 148 (13); 120 (20). RMN- ^1H , δ CDCl_3 : 10,03 (s); 7,48 (s, 1H); 7,45 (s, 1H) e 6,20 (s, 2H).

7.7 - Reação de condensação de Doebner-Knoevenagel do composto 29.

Fizemos a reação de condensação entre o composto 29 e ácido malônico conforme descrito na literatura/52/. Ao invés de aquecimento até refluxo, deixamos a mistura reacional à temperatura ambiente, sob agitação. O rendimento foi de 97%. IV^{KBr} ν_{max} : 3400 1670;1600;1480;1340;1275 e 1245 cm^{-1} . UV λ_{max} ^{EtOH} : 332;288 e 240nm.

Esterificamos uma pequena quantidade do composto 30 , com MeOH/H₂SO₄ (4%). Obtivemos o composto 30-a. IV^{KBr} ν_{max} :1700;1480;1290;1265;1180; 1070;1040;1010;975;930;890 e 865 cm^{-1} . RMN-¹H (100M Hz), δ CDCl₃: 3,81(s) 6,17(d,16Hz,1H); 7,85(d,16Hz,1H); 7,31(s,1H) ; 7,05(s,1H); 6,01(s,2H).

7.8 - Reação fotoquímica do composto 30

Efetuamos a reação fotoquímica do composto 30 conforme descrito na literatura/51/. Purificamos o produto da reação por cromatografia em placa preparativa utilizando benzeno:acetato de etila(4:1) como eluente. Obtivemos um rendimento de 20%.

7.9 - Síntese do triacetato de hidroxí-hidroquinona (33).

Obtivemos o composto 33 em 70% de rendimento (recristalizado em EtOH a quente) através da reação de quinona e anidro acético em H₂SO₄, conforme descrito na literatura /60/. P.f:

95-97^o (lit 96-97^o). IV ^{KBr} ν_{max} : superponível ao da lit./53b/. RMN-¹H, δ CCl₄: 2,23(s,9H) e 7,00 (sl,3H).

7.10 - Reação de condensação de von Pechmann do composto 33.

Fizemos a reação de cond.de von Pechmann entre o composto 33 e ácido málico conforme descrito na literatura/61/. Obtivemos a esculetina ((31) num rendimento de 30%. P.f.: 270^o (decomp.)
^{KBr} IV ν_{max} : 3320; 1670; 1610 e 1565 cm⁻¹. EM-m/e (intensidade relativa, %): 178(75); 150(48,6) e 91(100).

7.11 - Síntese do diacetato de daphnetina (37).

Acetilamos a daphnetina com anidrido acético e piridina. Recristalizamos o produto da reação em MeOH. IV ^{KBr} ν_{max} : 1720 ; 1765; 1610; 1560; 1490; 1450; 1375; 1265; 1220; 1200; 1160; 1130; 1070; 1040 e 860 cm⁻¹. RMN-¹H, δ CDCl₃: 7,70 (d, J= 10Hz, 1H); 6,38 (d, J=10Hz, 1H); 7,10 (d, J=8Hz, 1H); 7,23 (d, J=8Hz, 1H); 2,33 (s, 3H) e 2,40 (s, 3H).

7.12 - Síntese de 7-benzilóximo-8-acetoxi cumarina (38)

Submetemos o diacetato de daphnetina (37) à reação de benzilação com cloreto de benzila, iodeto de potássio, carbonato

de potássio anidro, em acetona anidra conforme descrito na literatura /64,67/. P.f.: 150-152^o. IV ν_{max} ^{KBr}: 1725; 1780; 1610; 1560; 1500 ; 1445; 1290; 1265; 1240; 1200; 1180; 1165; 1120; 1075; 1035; e 835cm⁻¹ .
 RMN-¹H, δ CDCl₃: 2,37(s,3H); 5,13(s,2H); 6,11(d,J=9,5Hz,1H); 7,51(d,J=9,5,1H); 6,81(d,J=8Hz,1H); 7,17(d,J= 8Hz,1H) e 7,38(s,5H) .

7.13 - Síntese de 7-Benzilóximo-8-hidroxi cumarina (39).

Obtivemos o composto 39 através da hidrólise básica do composto 38. IV ν_{max} ^{KBr}: 3380; 1710; 1620; 1580; 1520; 1465; 1400; 1310 ; 1265; 1245; 1195; 1170; 1140; 1075; e 1045cm⁻¹

7.14 - Síntese de 7-Benzilóximo-8-hidroxi-5-nitro-cumarina (40).

Pela nitração do composto 39 conforme descrito na literatura /54/, obtivemos o composto 38 através da purificação por cromatografia em placa preparativa eluída em benzeno/éter etílico (15%). RMN-¹H(100MHz), δ CDCl₃: 7,88(d,J=10Hz,1H); 6,62(d,J=10Hz,1H); 6,09(s,1H); 5,18(s1); 5,11(s,2H); 7,40(s,5H) .

7.15 - Síntese de diacetato de esculetina (41).

Efetuamos a reação conforme descrito no item 7.11 , obtendo o composto 41. IV ν_{max} ^{KBr}: 3070; 1730; 1710sh; 1620; 1565; 1500;

1230 (largo). RMN- ^1H , δ CDCl_3 ; 7,63 (d, J=9,5 Hz, 1H); 7,33 (s, 1H); 7,20 (s, 1H); 6,40 (d, J=9,5 Hz, 1H); 2,33 (s, 6H).

7.16 - Síntese de 7-Benzilóximo-6-acetoxi-cumarina (42)

Sintetizamos o composto 42 conforme descrito no item 7.12, com ponto de fusão 150-151 $^\circ$ (lit 150-152 $^\circ$). IV ν_{max} : 3075; 3020; 1755; 1710; 1620; 1560; 1500; 1225 cm^{-1} . RMN- ^1H , δ CDCl_3 : 7,59 (d, J=9,5 Hz; 1H); 7,41 (s, 5H); 7,17 (s, 1H); 6,92 (s, 1H); 6,30 (d, J=9,5 Hz; 1H); 5,17 (s, 2H); 2,30 (s, 3H). EM- m/e (intensidade relativa, %). 310 (M^+ ; 4,5); 91 (100). Rendimento de 36%.

7.17 - Síntese de 7-Benzilóximo-6-hidroxi cumarina (43)

Obtivemos o composto 43 através da hidrólise básica do composto 42, utilizando NaOH 2N. Recristalizamos o composto 43 em etanol. P.F.: 190-191 $^\circ$ (lit⁶⁴ 188-189 $^\circ$). IV ν_{max} : 3200 (largo), 1690, 1560, 1505, 1400, 1380, 1290, 1270; 1150, 985, 940; 890; 835, 825 e 745 cm^{-1} . RMN- ^1H , δ CDCl_3 : 7,63 (d, J=9,5 Hz, 1H); 7,49 (s, 5H); 7,03 (s, 1H); 6,94 (s, 1H); 6,30 (d, J=9,5 Hz, 1H); 5,76 (s, 1H), 5,23 (s, 2H). E.M. (intensidade relativa, %): m/e 268 (M^+ , 57) e m/e 91 (100).

7.18 - Síntese de 5-formil-6-hidroxi-7-benzilóximo - cumarina (44)

À solução de 1,24g ($4,62 \times 10^{-3}$ moles) do composto 43 em ácido acético (40ml), adicionamos 3,23g (23×10^{-3} moles; 5 eq.g) de hexametilenotetramina (HMT) e aquecemos a $90-100^{\circ}$ durante 12 horas. Evaporamos o ácido acético e adicionando água destilada fizemos extração com clorofórmio. Secamos a solução sobre sulfato de sódio anidro. Purificamos o resíduo por placa preparativa eluída em benzeno/éter etílico (15%). Obtivemos 500mg ($4,62 \text{ m moles}$; 52% de rendimento) de um composto amarelo, após recristalização em etanol. P.f. $100-102^{\circ}$. IV ν_{max} : 3400 (largo); 3030; 2890; 1695; 1677; 1615; 1575; 1535; 1440; 1360; 1280; 1255; 1200; 1130; 955, 940, 805 e 730 cm^{-1} . RMN- ^1H ; δ CDCl_3 : 8,40 (d, J=9,5Hz, 1H); 7,46 (s, 5H); 7,13 (s, 1H); 6,56 (d, J=9,5Hz, 1H); 5,30 (s, 2H); 10,58 (s, 1H), 11,20 (sl, 1H). E.M- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa, %). 206 (M^+ ; 107); 91 (100). Análise encontrada: C: $68,7 \pm 0,1$, H: $4,1 \pm 0,1$ e O: $27,2 \pm 0,1$ (Calculada): C=68,9; O= 27,02. e H=4,05.

7.19 - Síntese de 5,6-diidroxi-7-benzilóido cumarina (45)

À solução de 500mg ($4,62 \text{ m moles}$) do composto 44 em 4ml de NaOH 2%, a 0° , gotejamos 3ml de H_2O_2 6%. A mistura reacional ficou a esta temperatura por 1 hora, sob agitação ocasional. Acidificamos a mistura com HCl 1N até $\text{pH} \sim 3,0$, e o sólido separado por filtração. Recristalizamos o composto em etanol, obtendo 228 mg ($0,9 \text{ m moles}$, rendimento de 18%) do composto 45. P.f. $225-227^{\circ}$. IV ν_{max} : 3300 (largo); 2920; 2840; 1670; 1620; 1560; 1490; 1270; 1150; 1125; e 1080 cm^{-1} . EM- $\underline{m/e}$ (intensidade relativa, %): 284 (M^+ ; 50); 193 (13); 91 (100).

7.20 - Síntese de 7-8- metilenodióxido cumarina(46).

À solução de 400mg(2,2m moles) de daphnetina; 1g de carbonato de potássio anidro, 50mg de CuO, em dimetilformamida(DMF,20ml) adicionamos 0,3 ml de iodeto de metileno($\text{CH}_2 \text{I}_2$). Aquece_{mos} a mistura reacional a 120-125^o, durante 5 horas. Esfriamos a solução e vertemos sobre água/gelo. Extraímos com éter-etílico(3x 20ml) e secamos sobre sulfato de sódio anidro. Purificamos o produto da reação por cromatografia em placa preparativa eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (5%). Obtivemos 125mg(0,66m moles, rendimento de 30%) do composto 46. P.f. 185-187^o. RMN-¹H, δCDCl_3 : 7,58(d, J=9,5Hz, 1H); 6,24(d, J=9,5Hz, 1H) 6,12(s, 2H): 6,75(d, J= 8Hz, 1H); 6,98(d, J=8Hz , 1H).

7.21 - Síntese de 5,6- metilenodióxido-7-benzilóximo cumarina (47).

Submetemos o composto 45 à reação de metilenação conforme descrito no item 6.20. Obtivemos 68mg(0,23m moles, rendimento de 30%) do composto 47. P.f.: 162-164^o. RMN-¹H, δCDCl_3 : 7,68(d, J=9,5Hz, 1H); 7,41(s, 5 H); 6,53(s, 1H); 6,21(d, 9,5Hz, 1H); 6,12(s, 2H); 5,22(s, 2H).

7.22 - Síntese de 5,6-metilenodióxido-7-hidroxí-cumarina (48).

Efetuamos a hidrólise do composto 47 em ácido acético e HCl conc, 'conforme descrito na literatura /64/. Aquecemos a solução a $70-80^{\circ}$, durante 4 horas. Evaporamos o ácido acético e adicionando água destilada fizemos extração com éter etílico. Secamos a solução sobre sulfato de sódio anidro. Obtivemos 30mg (0,15 m moles, rendimento de 75%) do composto 48, com P.F.; $251-253^{\circ}$.

7.23 - Síntese de 5,6- metilenodióxido-7-O- prenil - cumarina (49).

a) Preparação do brometo de γ , γ -dimetil-alila.

A mistura de 2ml de álcool 2-metil-3-buten-2-ol e 30 ml de éter de petróleo ($30-35^{\circ}$) anidro, mantida à aproximadamente -10° . Gotejamos uma mistura de PBr_3 (1,5 ml) e 20ml de éter de petróleo ($30-35^{\circ}$) anidro. Deixamos a solução em contato durante 2 a 3 horas, a esta temperatura. Retiramos o banho de gelo/sal e mantivemos a mistura à temperatura ambiente por mais 8 horas. Evaporamos o excesso de solvente, e à pressão de $\sim 8\text{mmHg}$ a 26° destilamos o produto da reação. Acondicionamos o balão receptor em banho de gelo/sal, durante a destilação. Obtivemos 1,3ml de brometo desejado.

b) Prenilação

Aquecemos a solução de 25mg ($\sim 0,1\text{mmoles}$) do composto 48, 40mg (4 eq.molar) de K_2CO_3 ; 0,02ml de brometo de γ , γ -dimetil

alila (2 eq. molar), em acetona anidra (15ml), até refluxo durante 5 horas. Separamos o sal inorgânico por filtração e evaporamos a solução acetônica em evaporador rotativo. Purificamos o produto da reação por placa preparativa eluída em benzeno/dioxano (1,5%). Recristalizamos a substância em CHCl_3 /éter etílico, obtendo 20mg (0,07 m moles, rendimento de 70%) do composto 49. P.F: 98-99°. RMN- ^1H (100MHz), δCDCl_3 : 7,78 (d, J=10Hz, 1H); 6,49 (s, 1H); 6,22 (d, J=10Hz, 1H); 6,08 (s, 2H); 5,46 (t, 1H); 4,66 (dl, 2H); 1,78 e 1,74 (sl, 6H). RMN- ^{13}C (E.50 e 51).

7.24 -Epóxidação do composto 49

Mantivemos a mistura de 10mg (0,035mmoles) do composto 49 e 10mg (0,05m moles) de ácido m-Cl-perbenzôico em 5ml de diclorometano, à aproximadamente 0°, durante 48 horas. Após este período extraímos a mistura reacional com CHCl_3 e secamos a solução sobre sulfato de sódio anidro. Purificamos o resíduo por placa preparativa eluída em ciclohexano/acetano de etila (20%). Obtivemos 4mg (0,014m moles, rendimento de 40%) de cumarina 19. P.f.: 158-161°. RMN- ^1H (100MHz), δCDCl_3 : 7,69 (d, J=10Hz, 1H); 6,53 (s, 1H); 6,24 (d, J=10Hz, 1H); 6,10 (s, 2H); 4,25 (dl, 2H); 3,12 (t, 1H); 1,34 (s, 3H); 1,36 (s, 3H); EM - m/e (intensidade relativa, %): 290 (M^+ , 55,9) 85 (100).

VII- CONCLUSÕES

O estudo do extrato em hexano-éter da parte aérea de Pterocaulon lanatum O.Kuntze resultou no isolamento de seis cumarinas, sendo quatro delas até então inéditas, duas com funções oxigenadas nas posições 5,6,7, que segundo o Professor Brown*:"muito pouco tem sido feito sobre a origem biossintética destes padrões de oxigenações".

Do ponto de vista quimiossistemático, é significativo o fato desta espécie apresentar também tanta abundância em derivados cumarínicos, como ocorre com três outras espécies do gênero (P.balansae, P. sphacellatum e P.virgatum) - sem falar nas evidências de ocorrência destas substâncias em P.allopecuróides e P.rugosum.

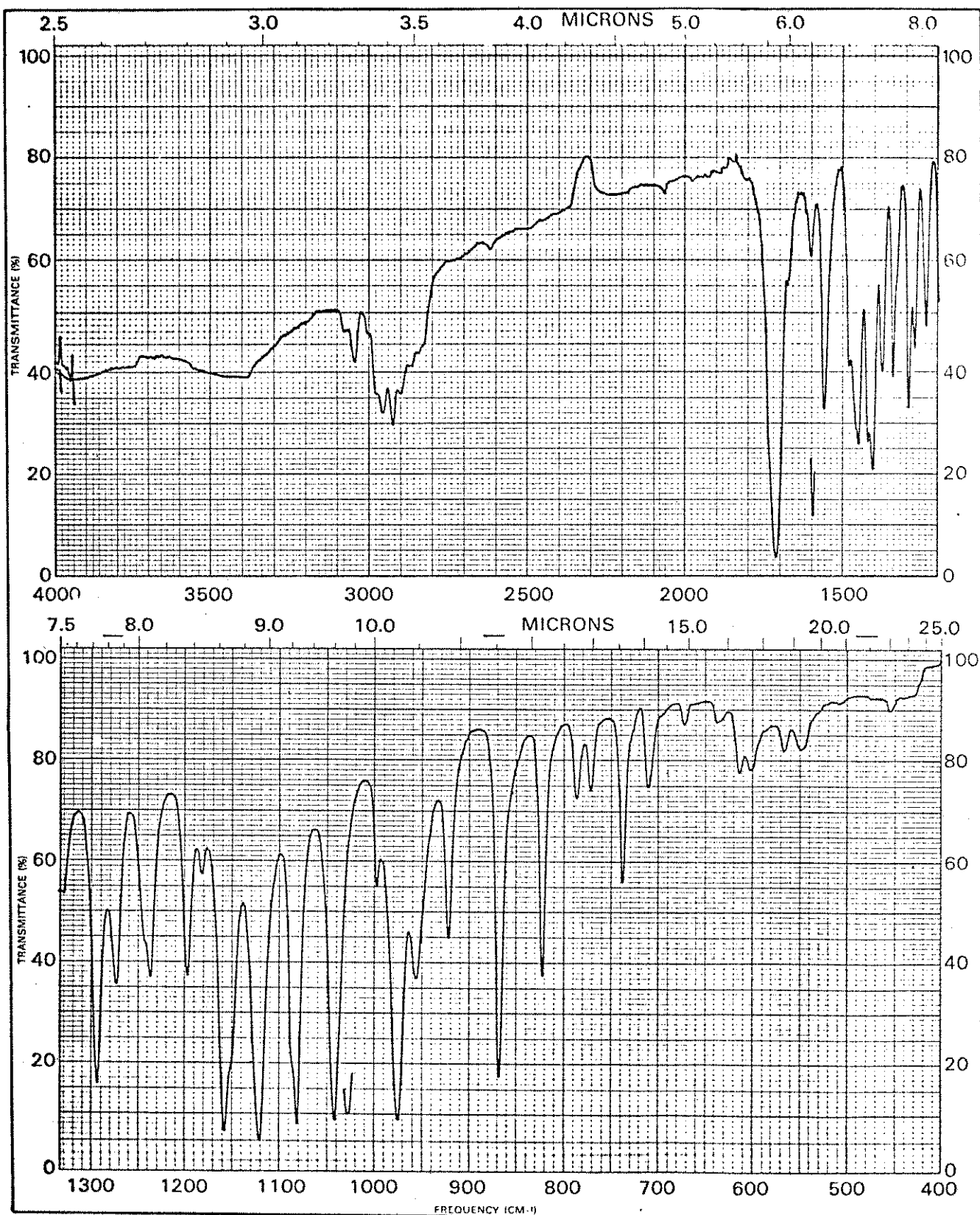
Na tentativa de sintetizarmos 2 produtos naturais, corrigimos um grave erro da literatura /33/.

Nos estudos dos espectros de RMN-¹H dos produtos naturais e sintéticos concluímos que a técnica de deslocamento químico induzido por solvente (C₆D₆) em relação às soluções deutero-clorofórmicas, preconizada na literatura /28/ não se aplica nem às cumarinas trioxigenadas, nem aos derivados dioxigenados com grupos substituintes mais complexos que o grupo metílico.

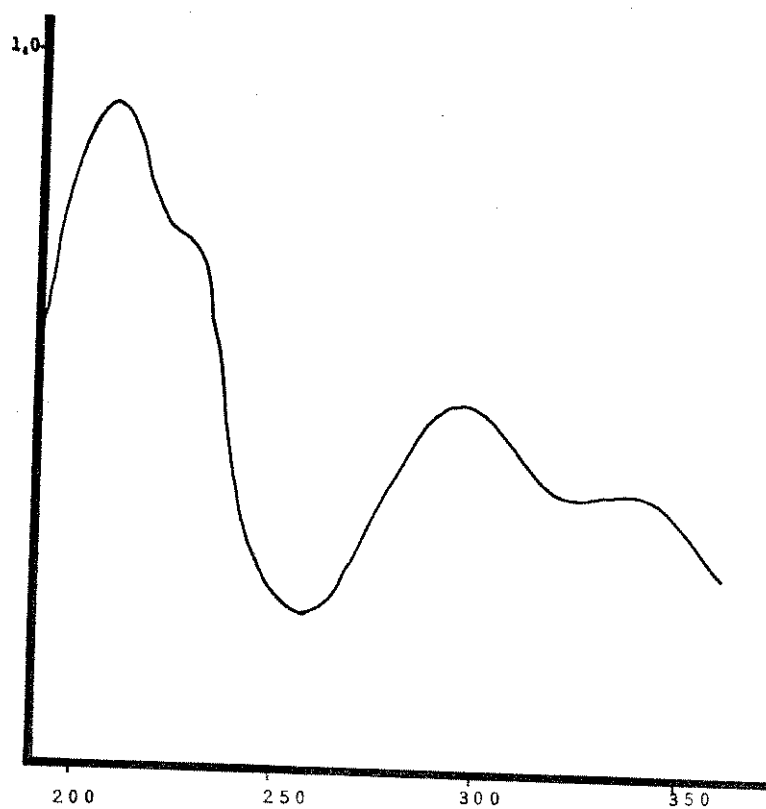
No estudo dos espectros de RMN-¹³C o deslocamento químico do C-1' pode ser atribuído em função da localização do grupo oxigenado a que está ligado e de substituintes em suas adjacências.

* Comunicações pessoais do Professor Stewart A. Brown, Canadá, que ora realiza experimentos biossintéticos dos metabólitos cumarínicos em P.balansae e P. lanatum.

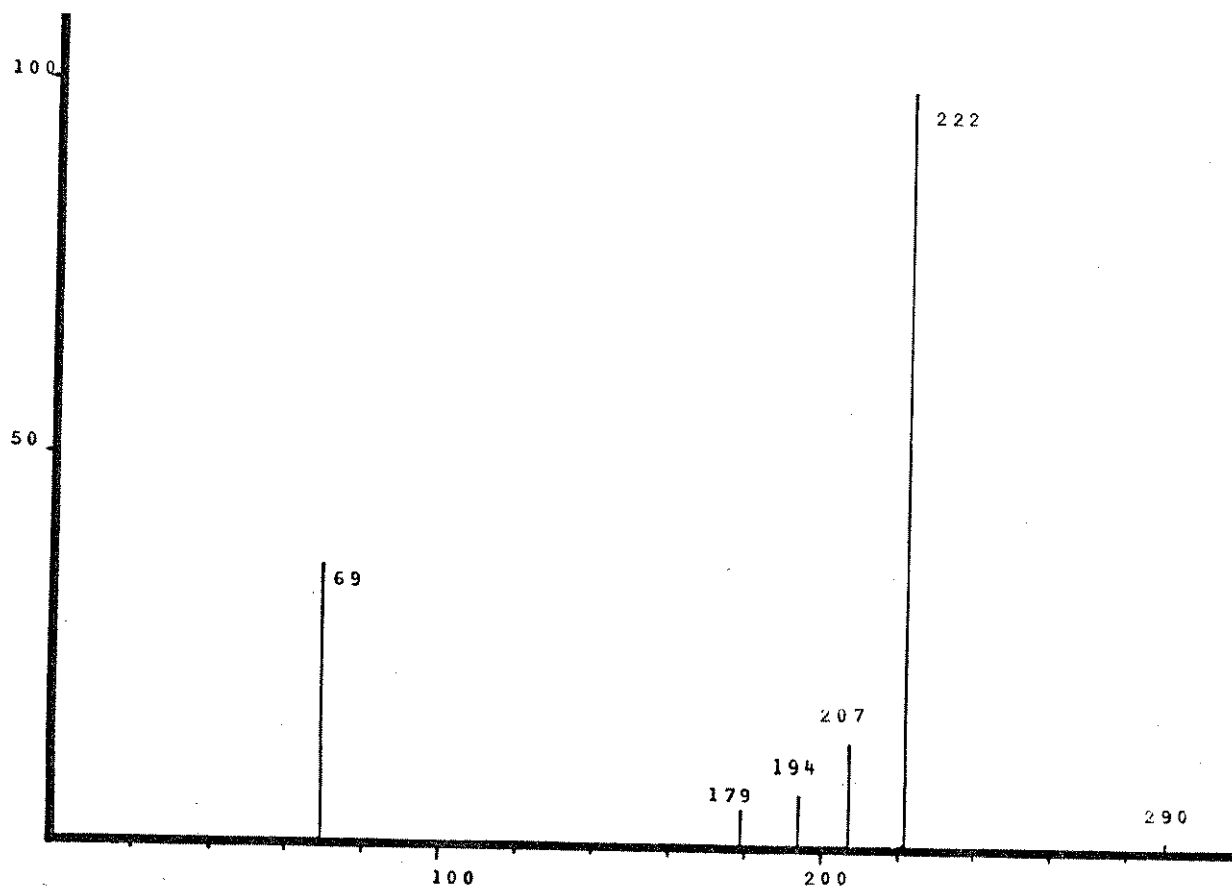
VIII - ESPECTROS



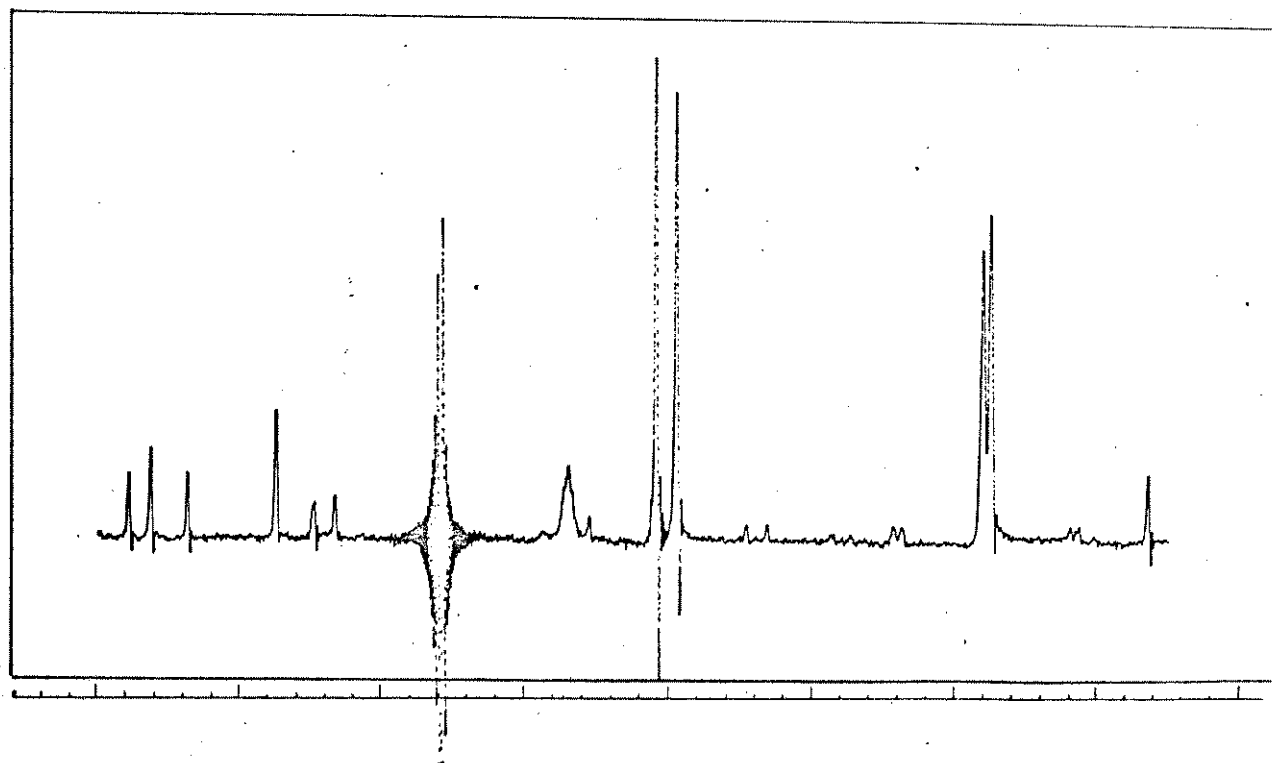
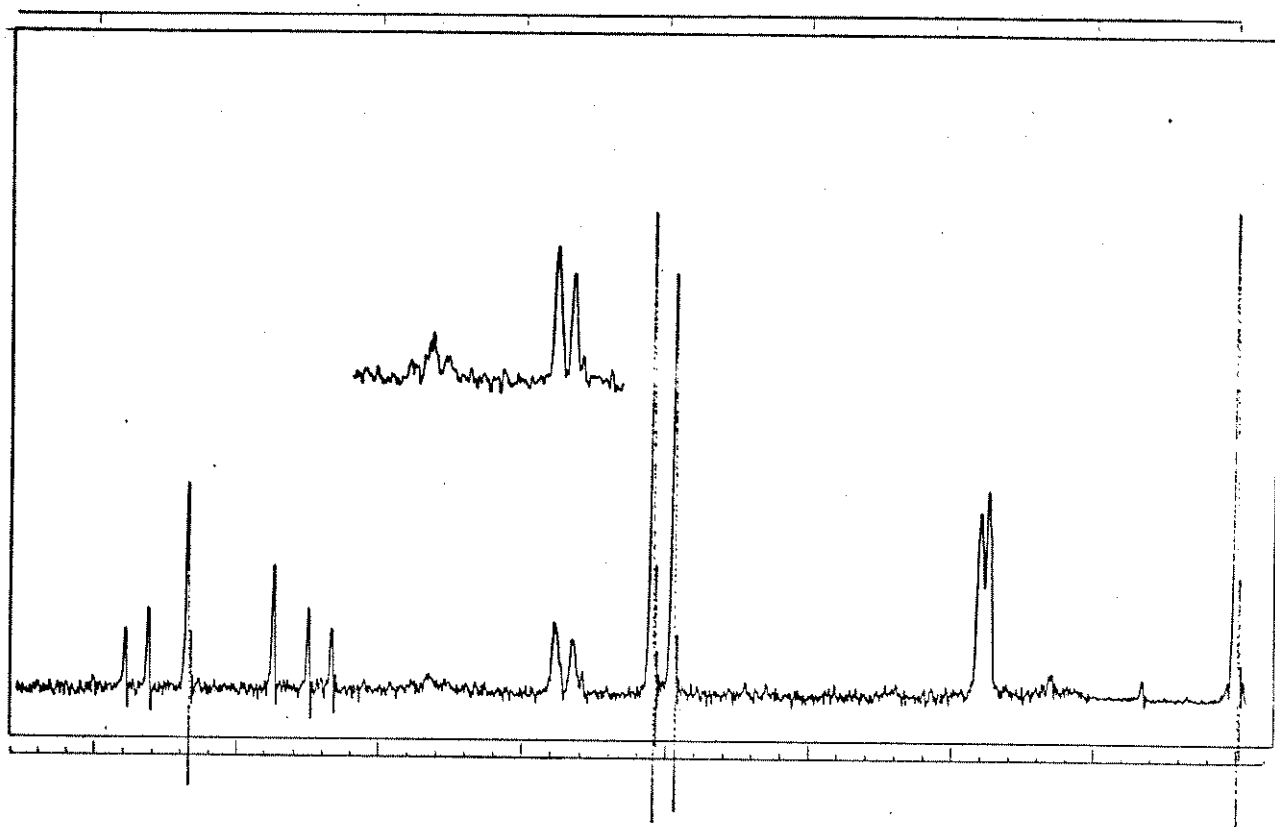
E.01 - Espectro no IV de PL-1(2).



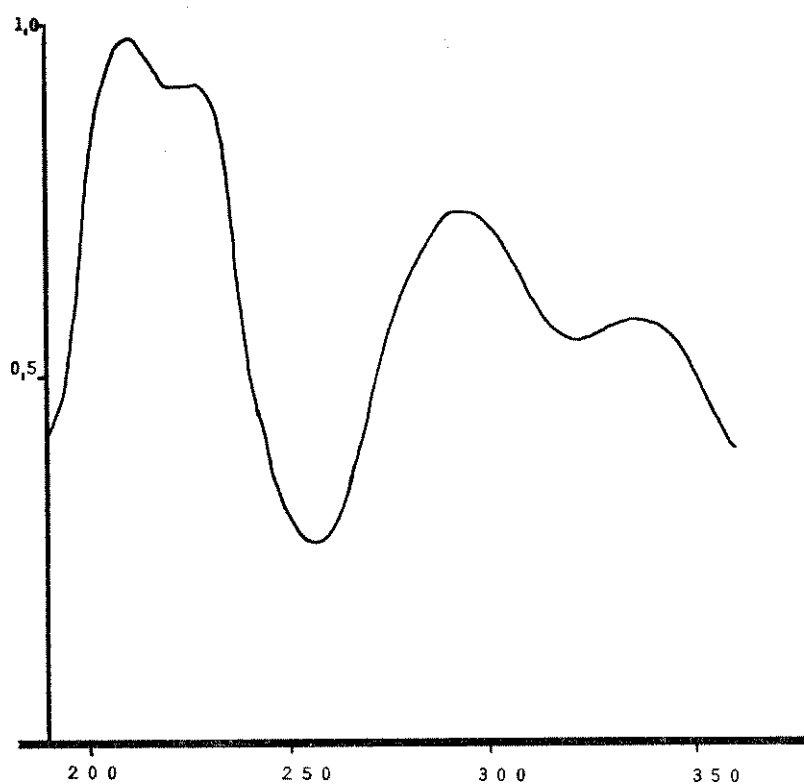
E.02 - Espectro no UV de PL-1(2)



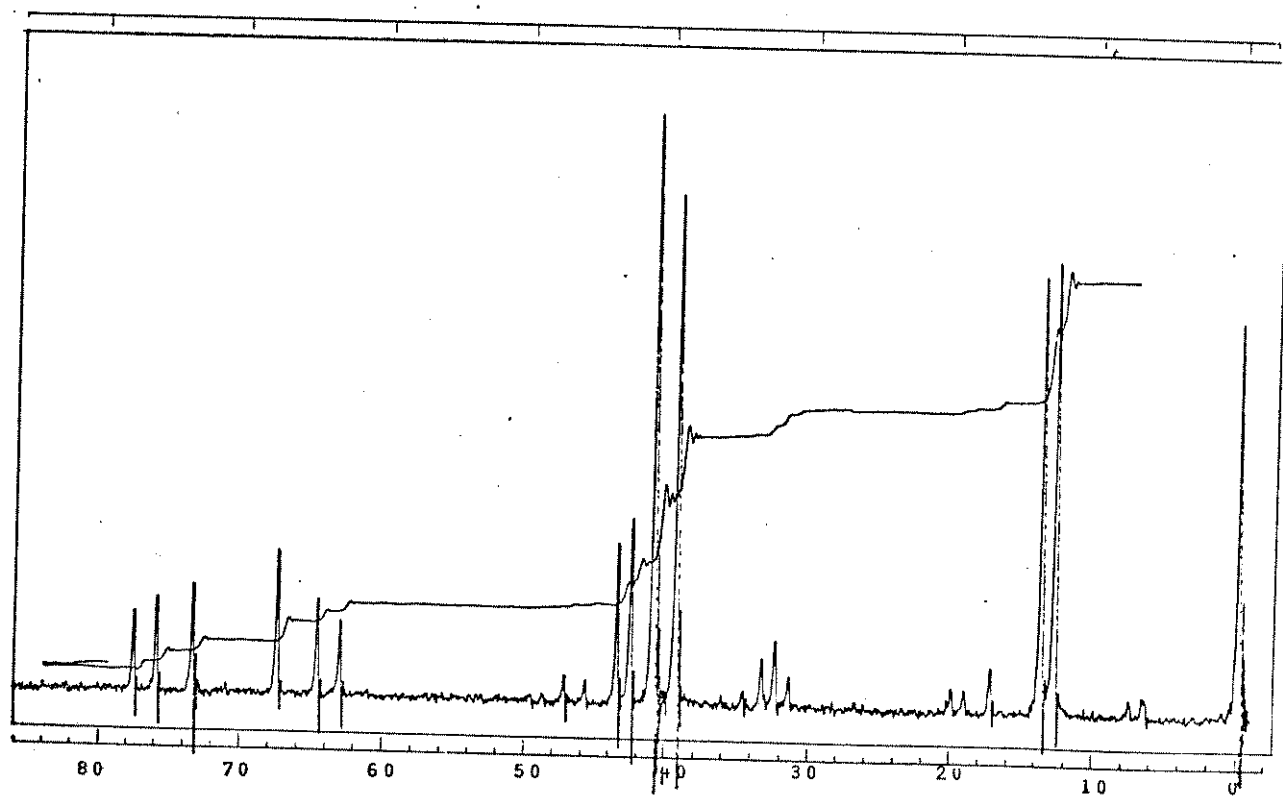
E.04 - Espectro de massa de PL-1(2).



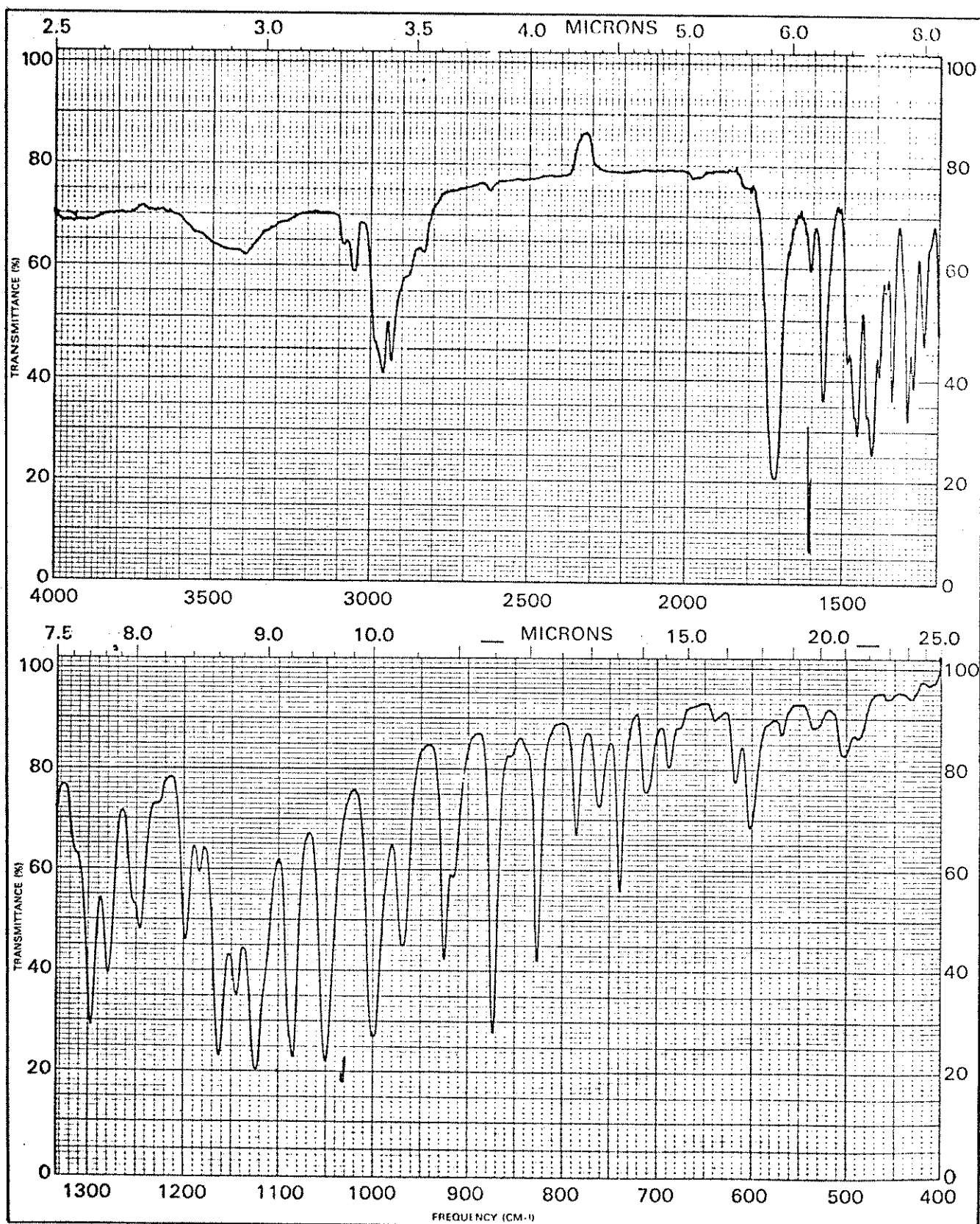
E.03 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) de PL-1 (2).



E.05 - Espectro no UV de PL-2(4).



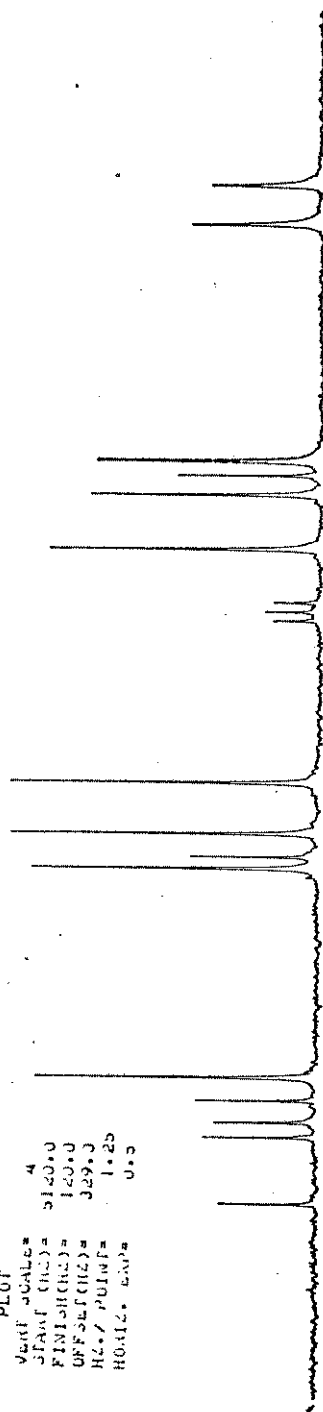
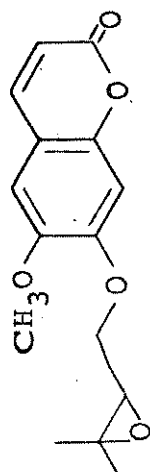
E.07 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) de PL-2(4).



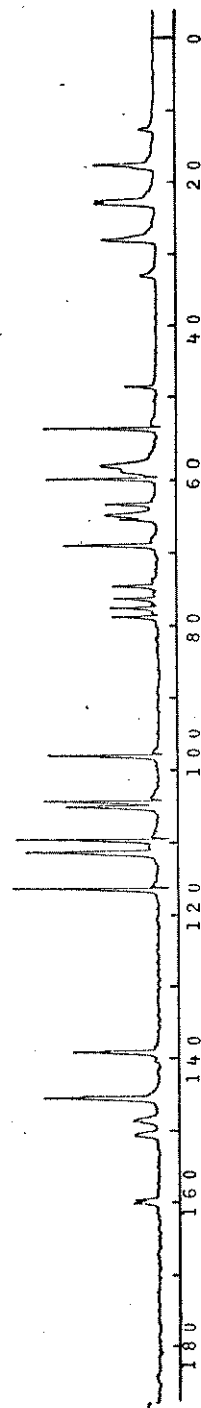
E.06 - Espectro de IV de PL-2(4).

09a
 INV - 01 (CH₃) = 5000
 TID APC 401 = 51.00
 ACQ FIDAC(3) = 0.800
 POLS DLY(3) = 0.200
 POLS FID(3) = 10
 K-TIANS = 32.603
 DATA LEAD(11) = 0192
 DATA LEAD(12) = 0192
 FID LEAD(11) = 0192
 J3 HF IN

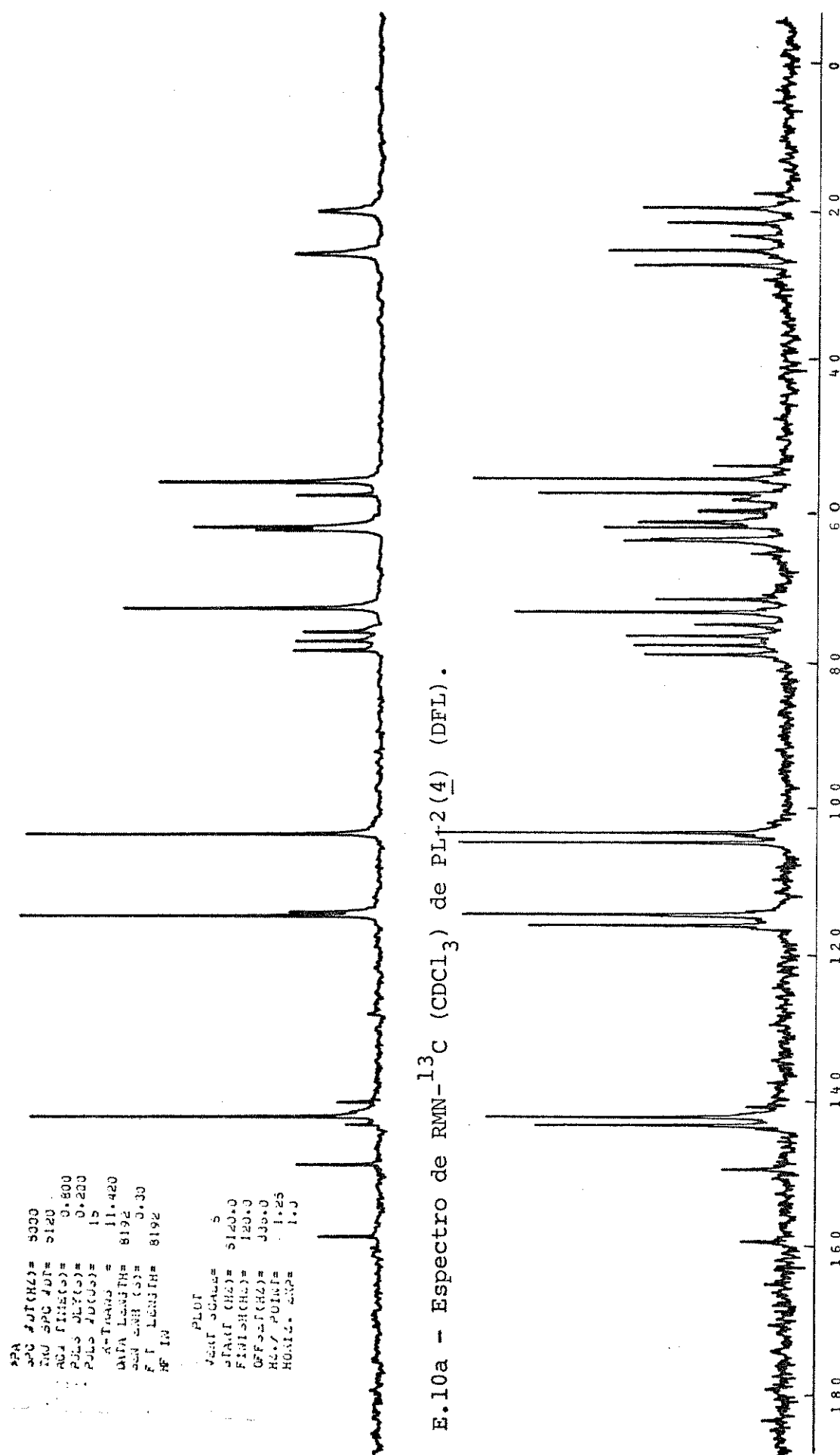
PLUF
 VERT SCALE = 4
 STAIR (CH₃) = 5120.0
 FINISH(CH₃) = 120.0
 OFFSET(CH₂) = 329.0
 H₂/POLY = 1.25
 H₂/C₂ = 0.5



F.09a - Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃) do composto 5 (DFL).



E.09b - Espectro de RMN-¹³C (CDCl₃) do composto 5 (FDFF).



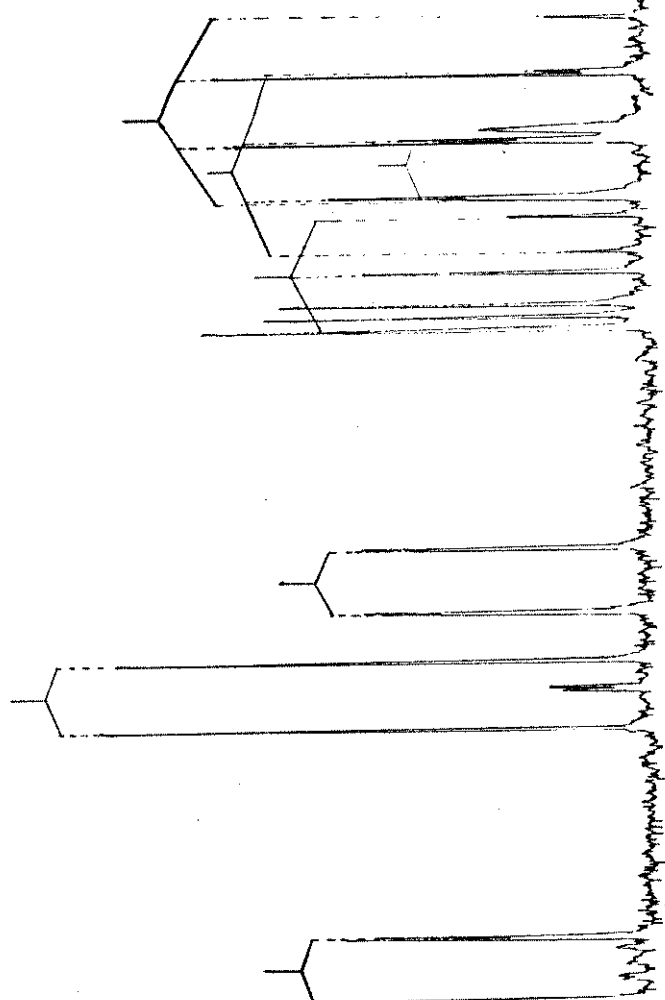
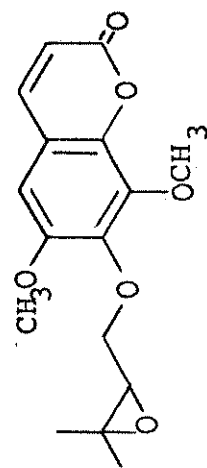
E.10a - Espectro de RMN- ^{13}C (CDCl_3) de PL-2(4) (DFL).

E.10b - Espectro de RMN- ^{13}C (CDCl_3) de PL-2(4) (FDFE).

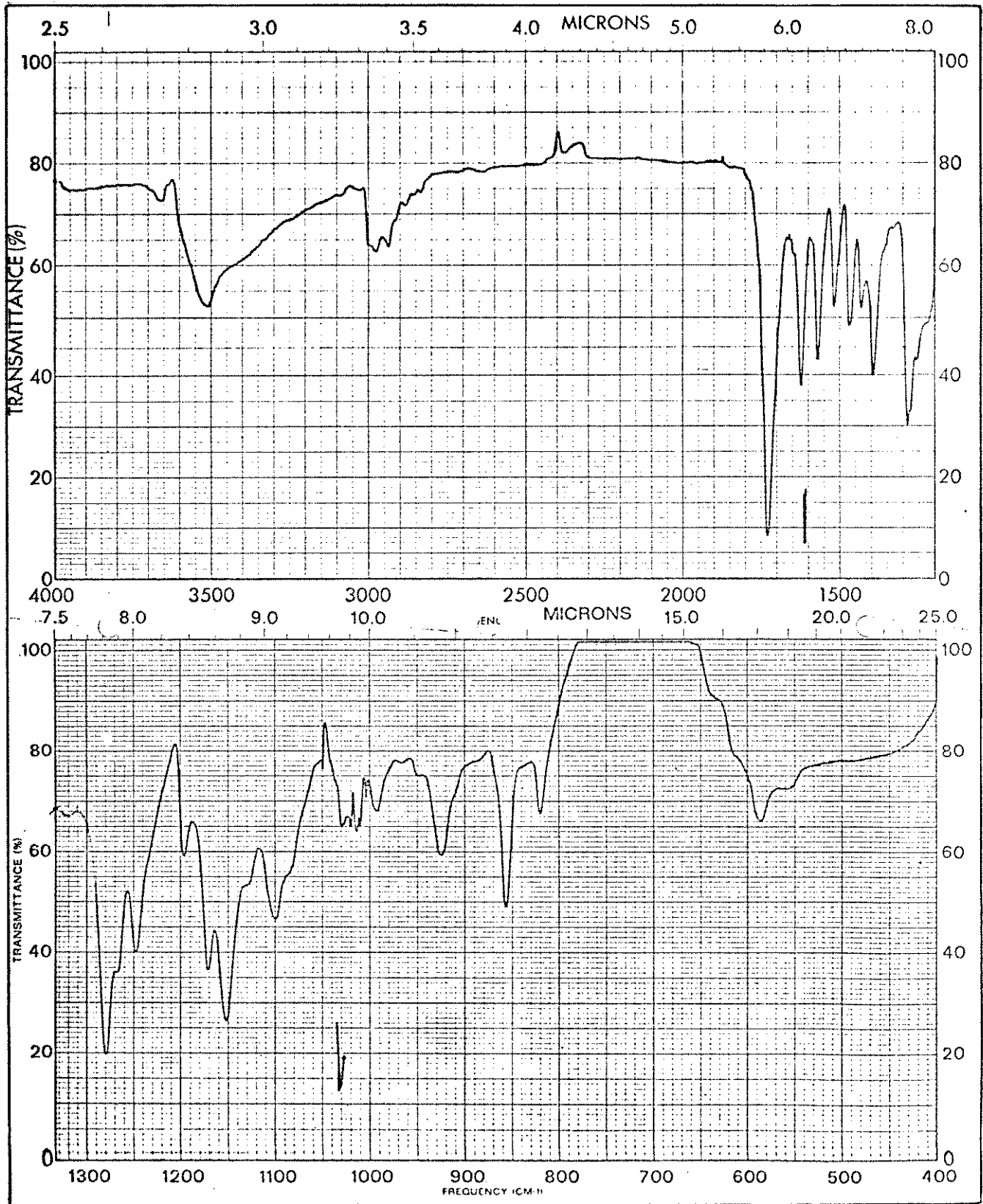
```

>PA SPC WDTHZ)= 6000
TRU SPC WDT= 6151
ACQ TIME(S)= 0.666
PULS DLY(S)= 0.200
PULS WDCUS)= 10
K-TRANS = 8.00P
DATA LENGTH= 8192
SEN ENR (S)= 0.50
F T LENGTH= 8192
GG HF IN
PLOT
VERT SCALE= 25
START (HZ)= 6151.0
FINISH(HZ)= 0.0
CPHASE(HZ)= 350.0
N2./ POINT= 1.52
PC12. END= 1.0
AI

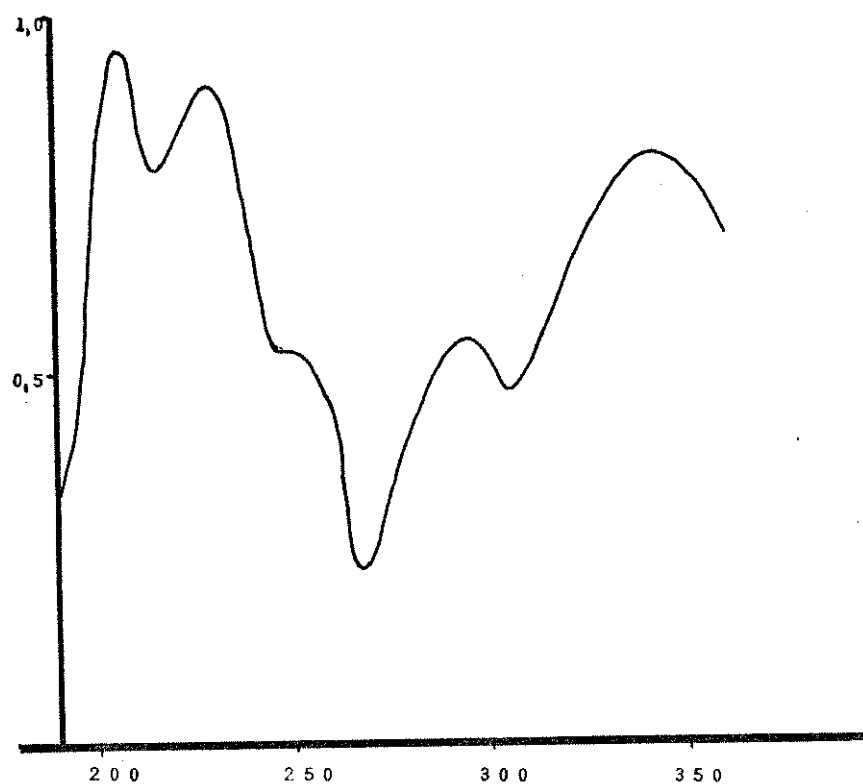
```



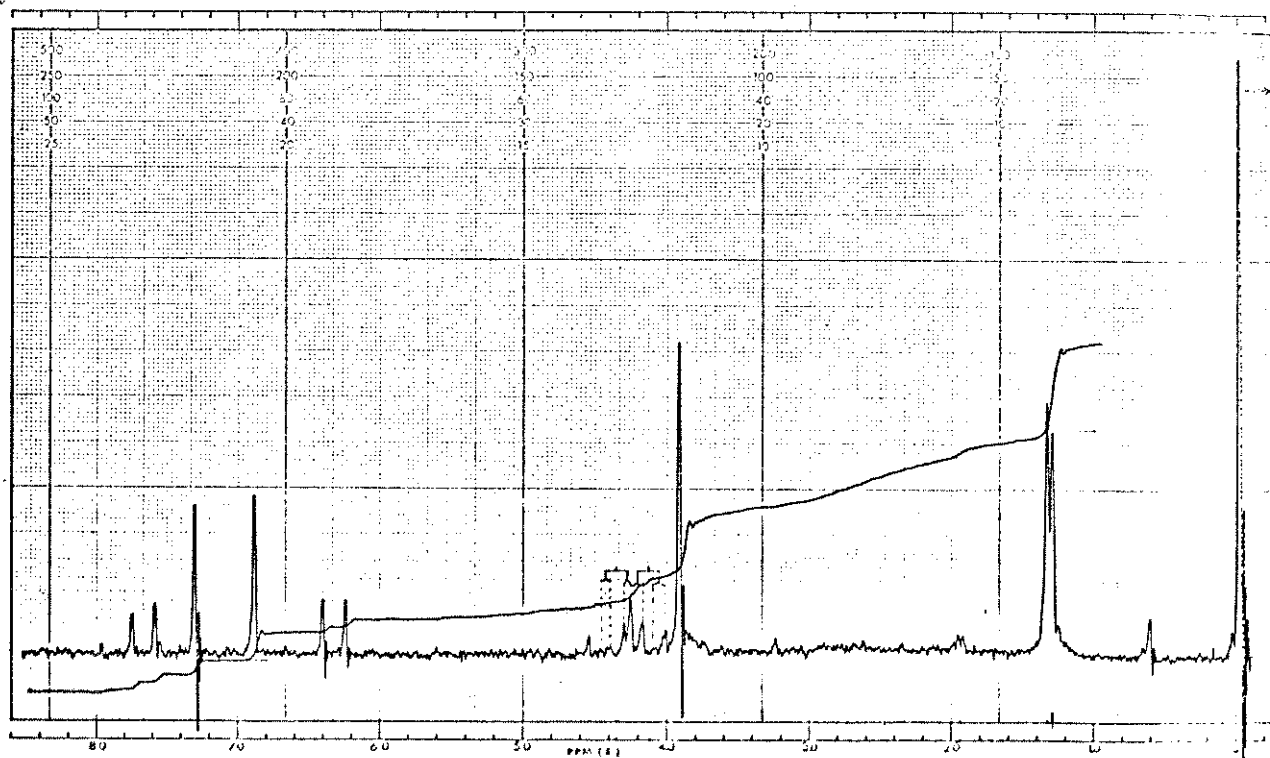
E.11 - Espectro de RMN- ^{13}C (CDCl_3) de PL-2 (4) (DA).



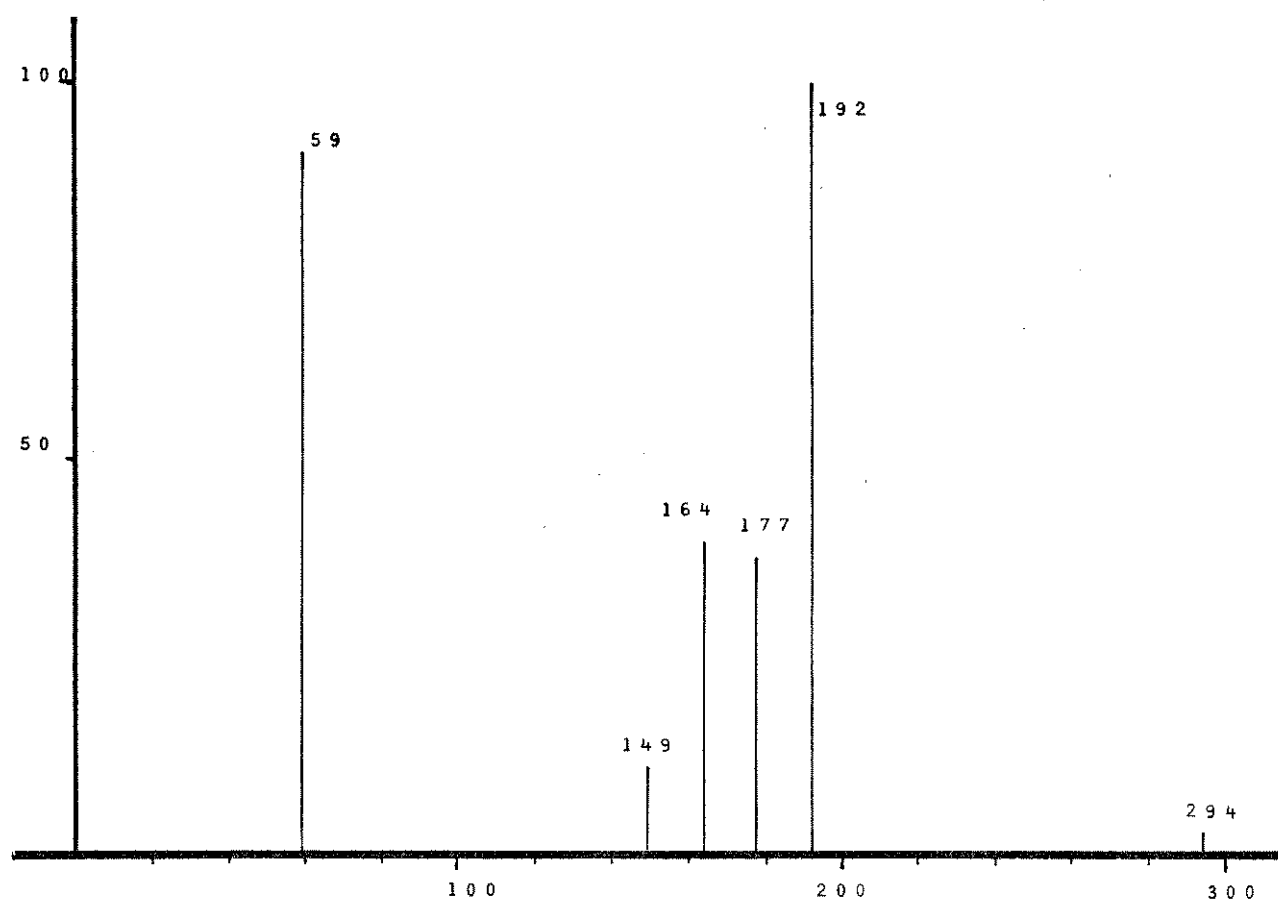
E.12 - Espectro no IV de PL-3 (14).



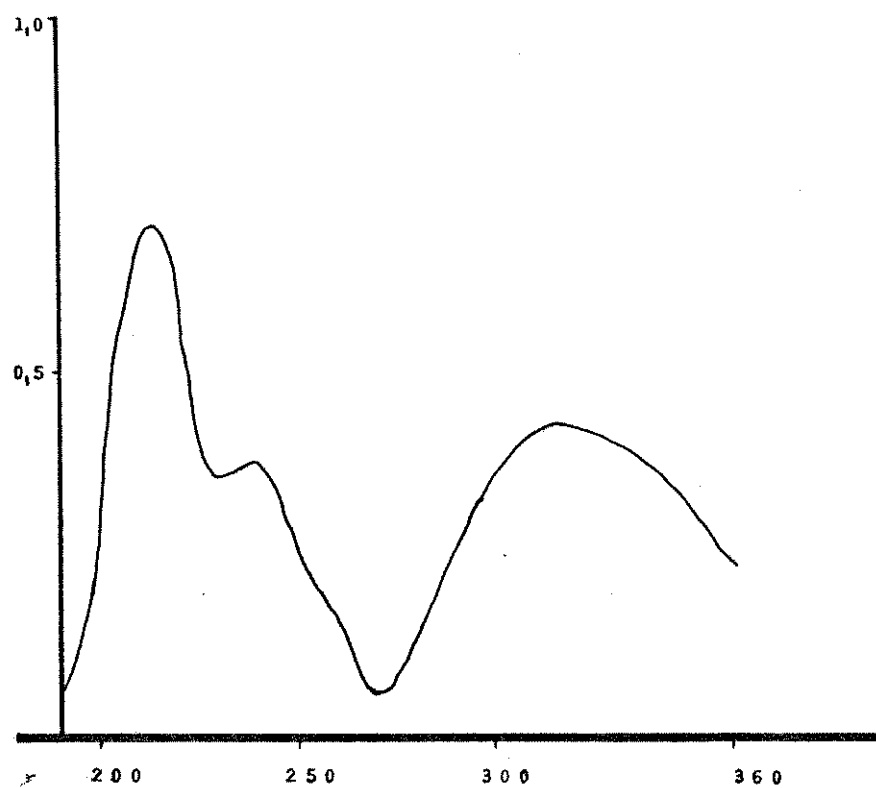
E.13 - Espectro no UV de PL-3(14).



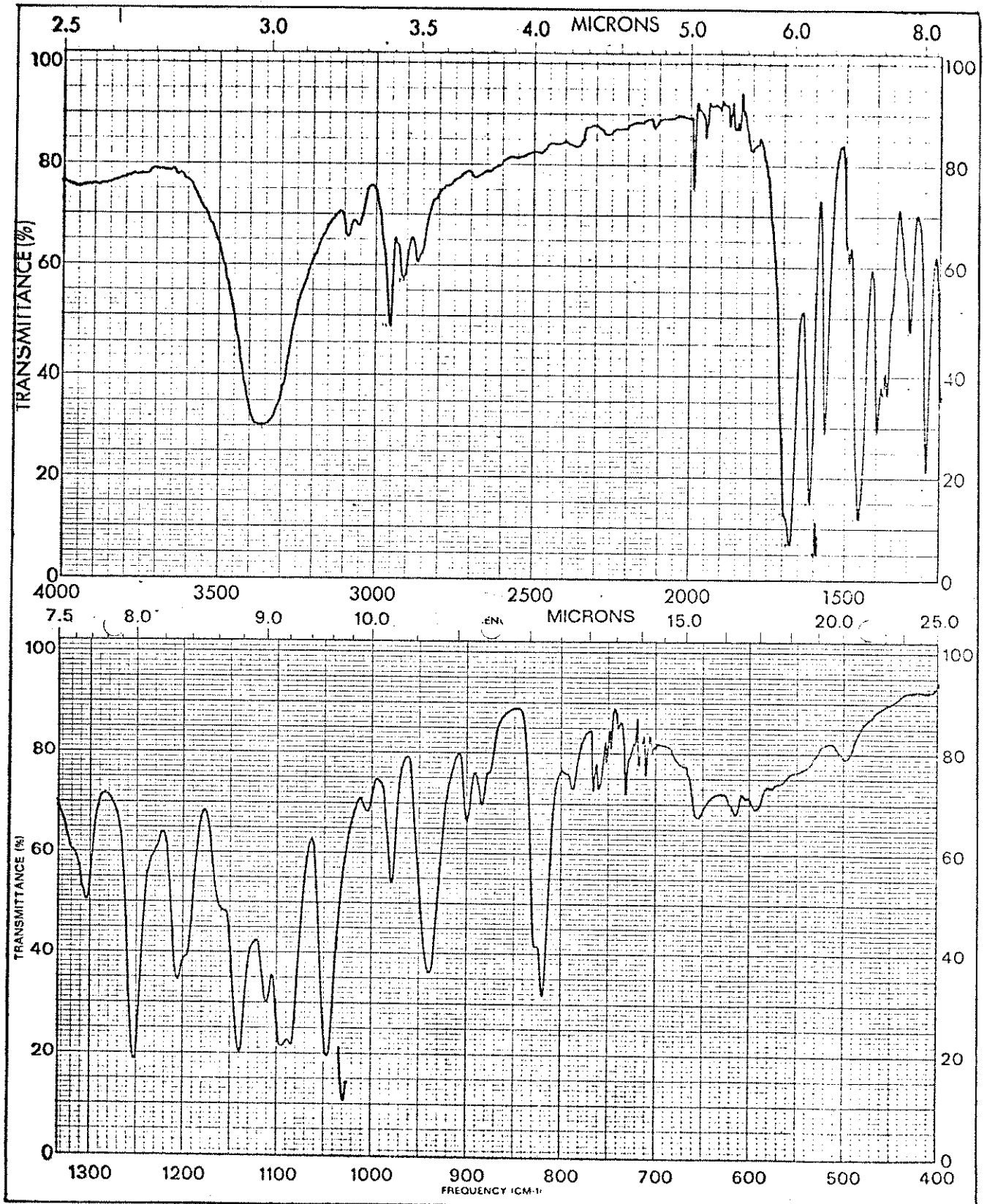
E.14 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) de PL-3(14)



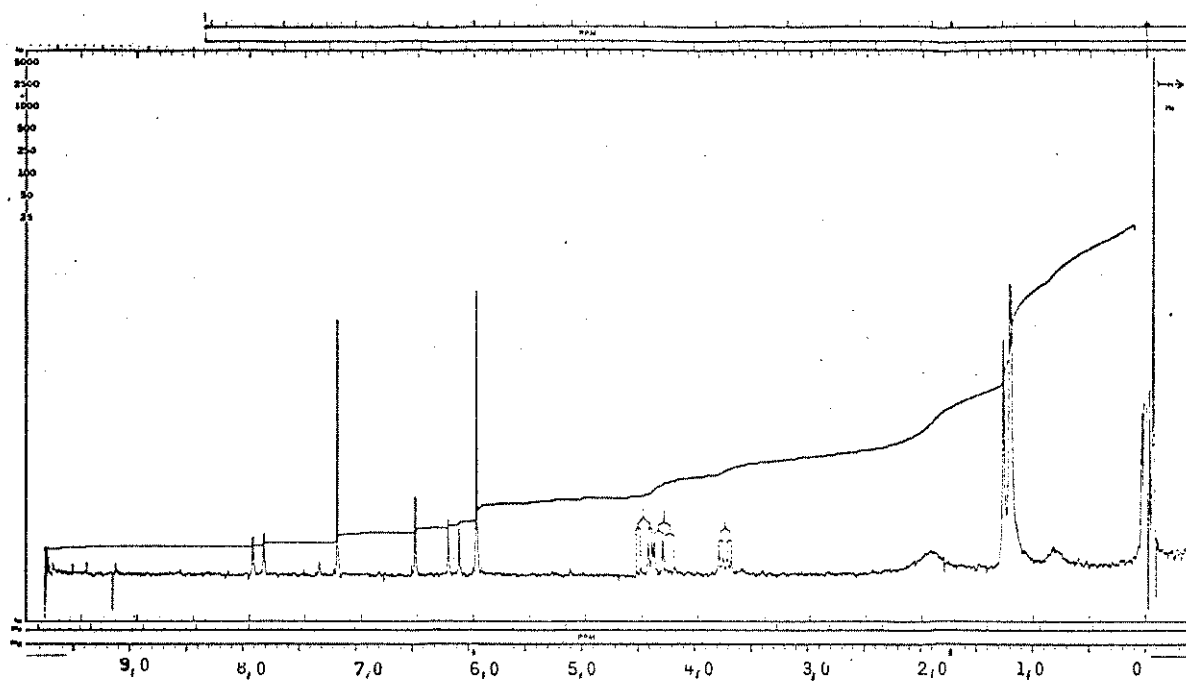
E.15 - Espectro de massa de PL-3(14).



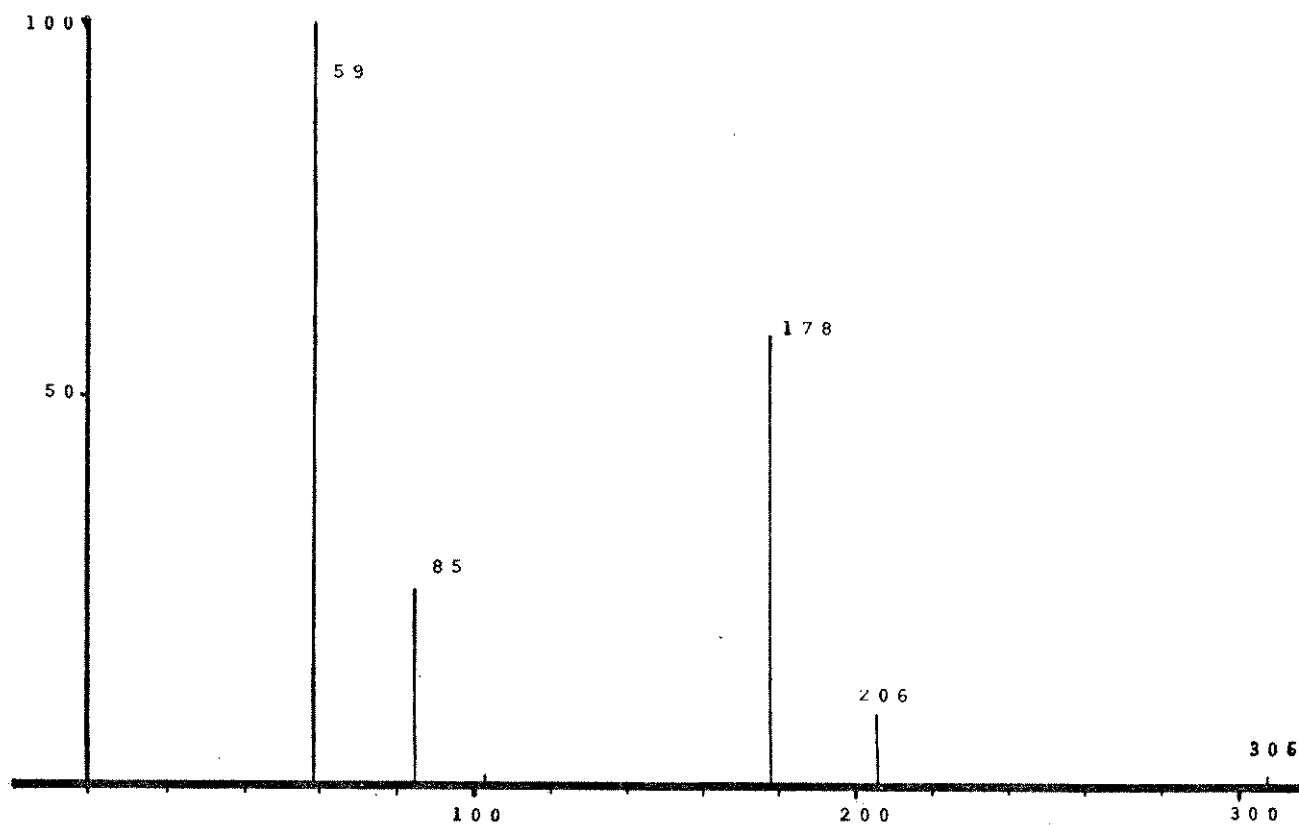
E.16 - Espectro no UV de PL-4(17).



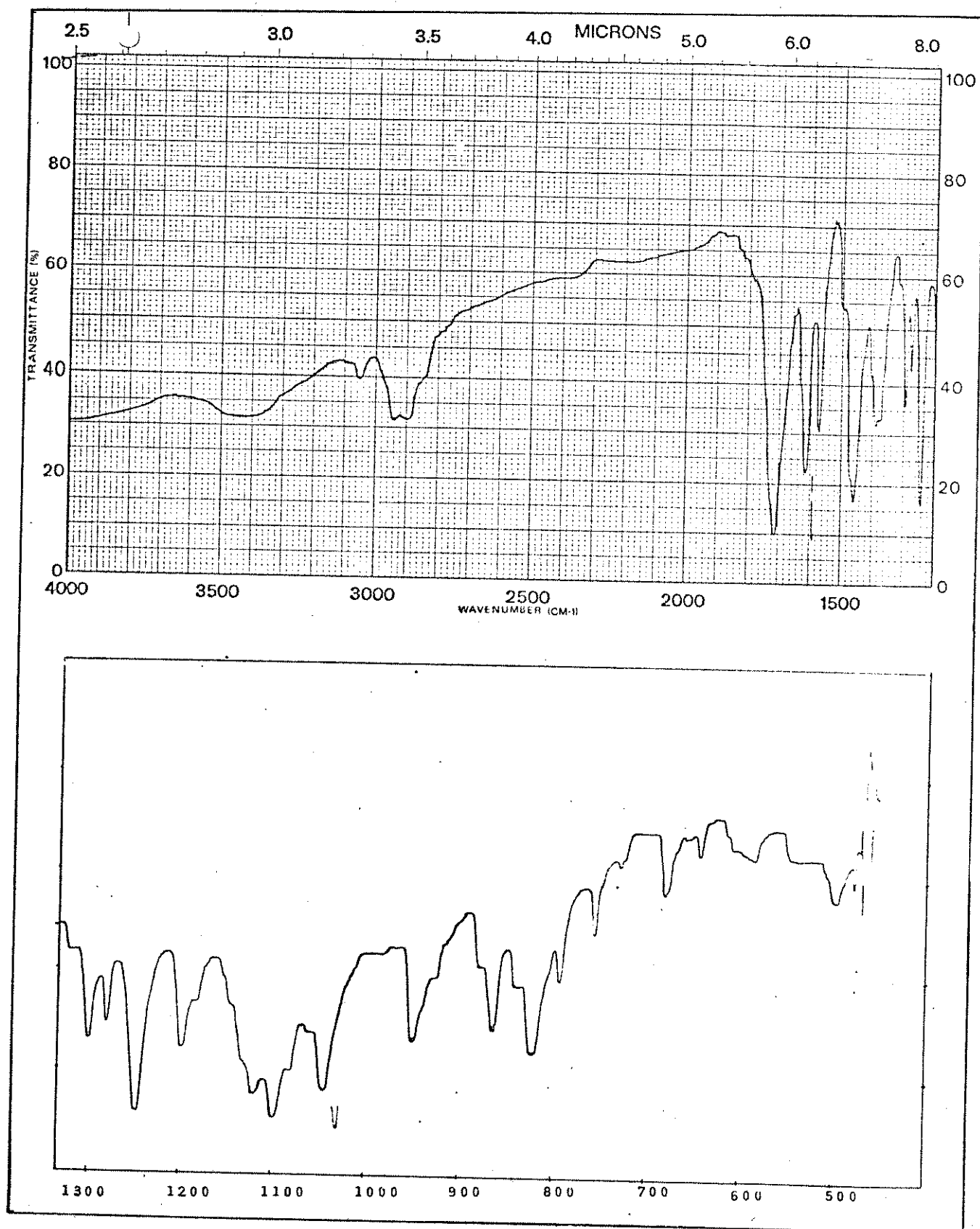
E.17 - Espectro no IV de PL-4(17).



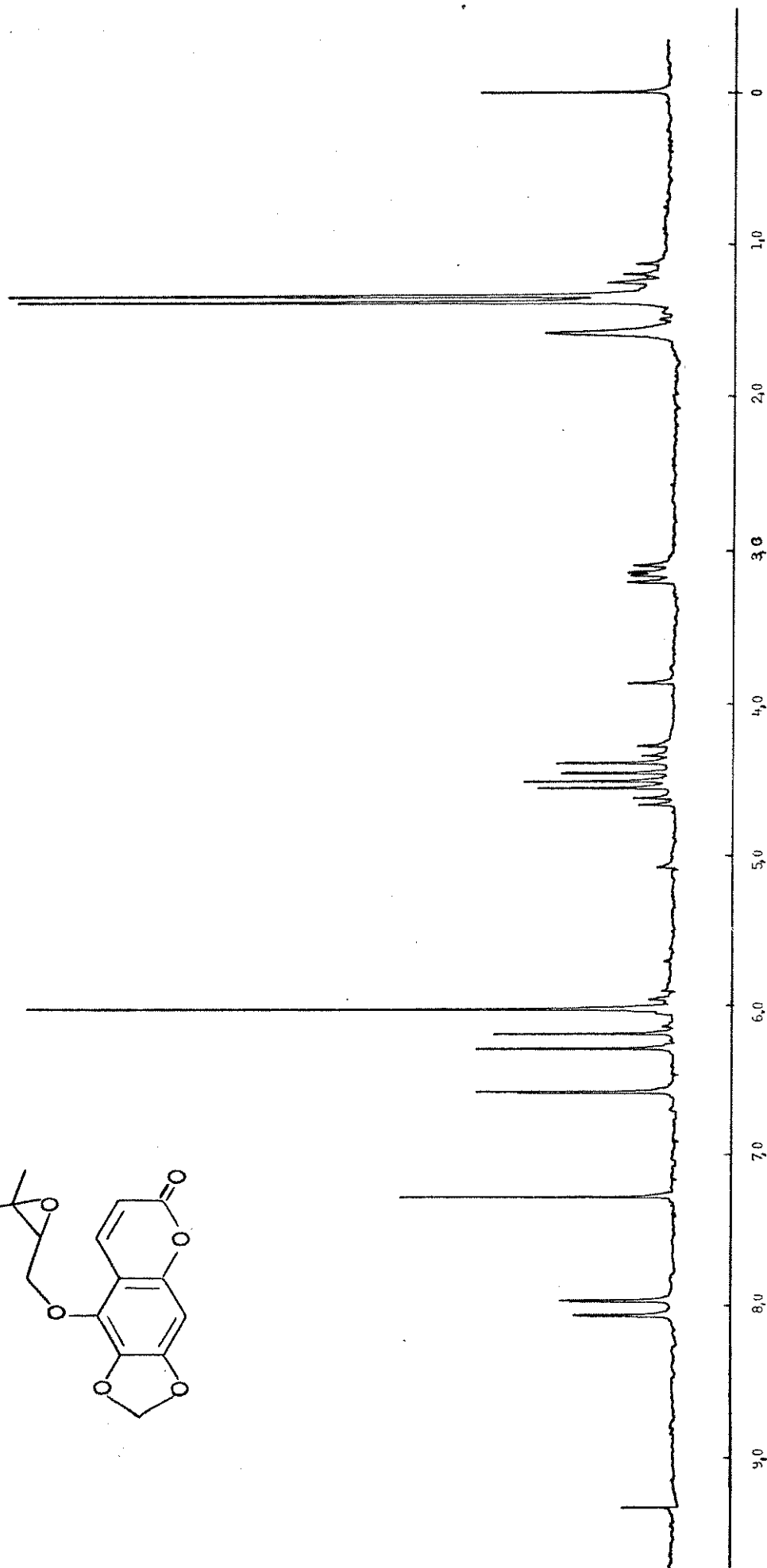
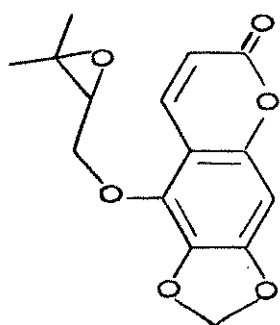
E.18 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) de PL-4(17).



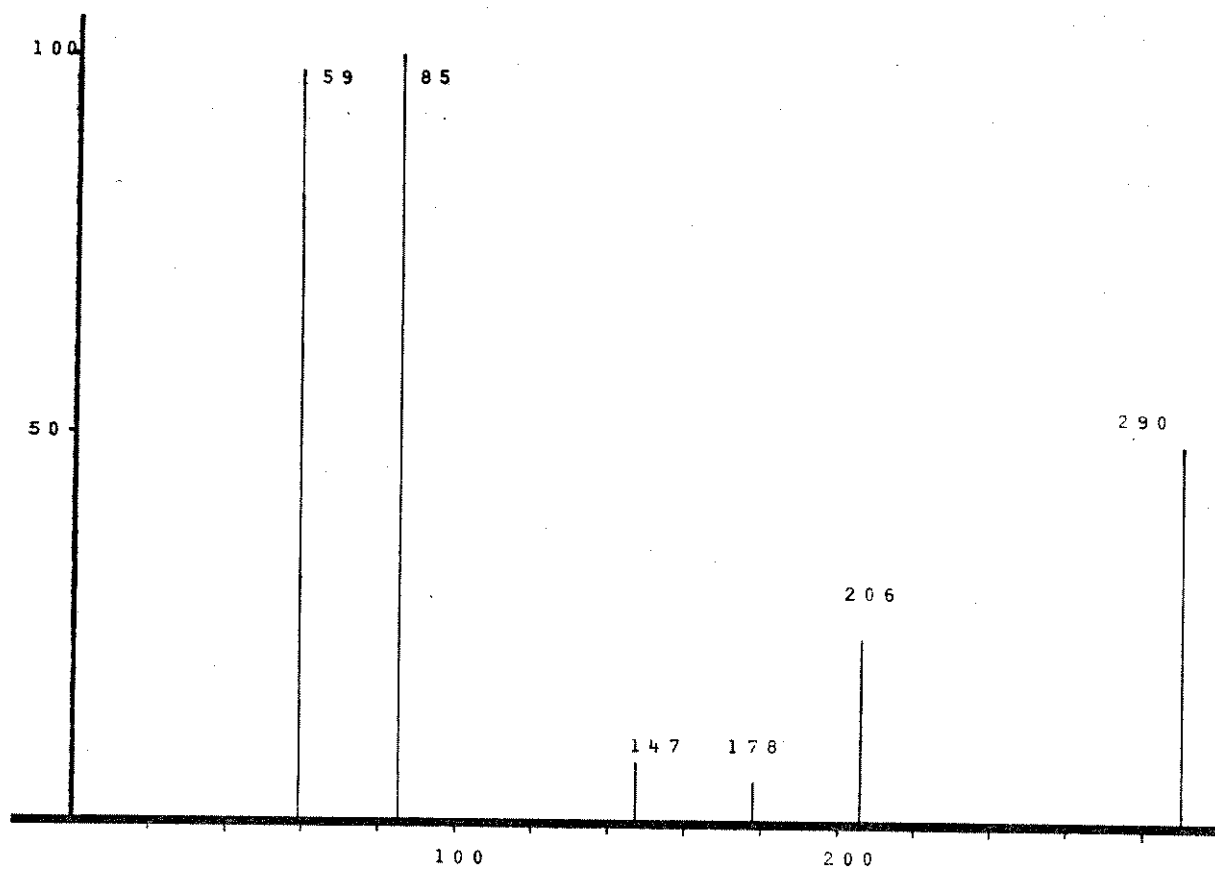
E.19 - Espectro de massa de PL-4(17).



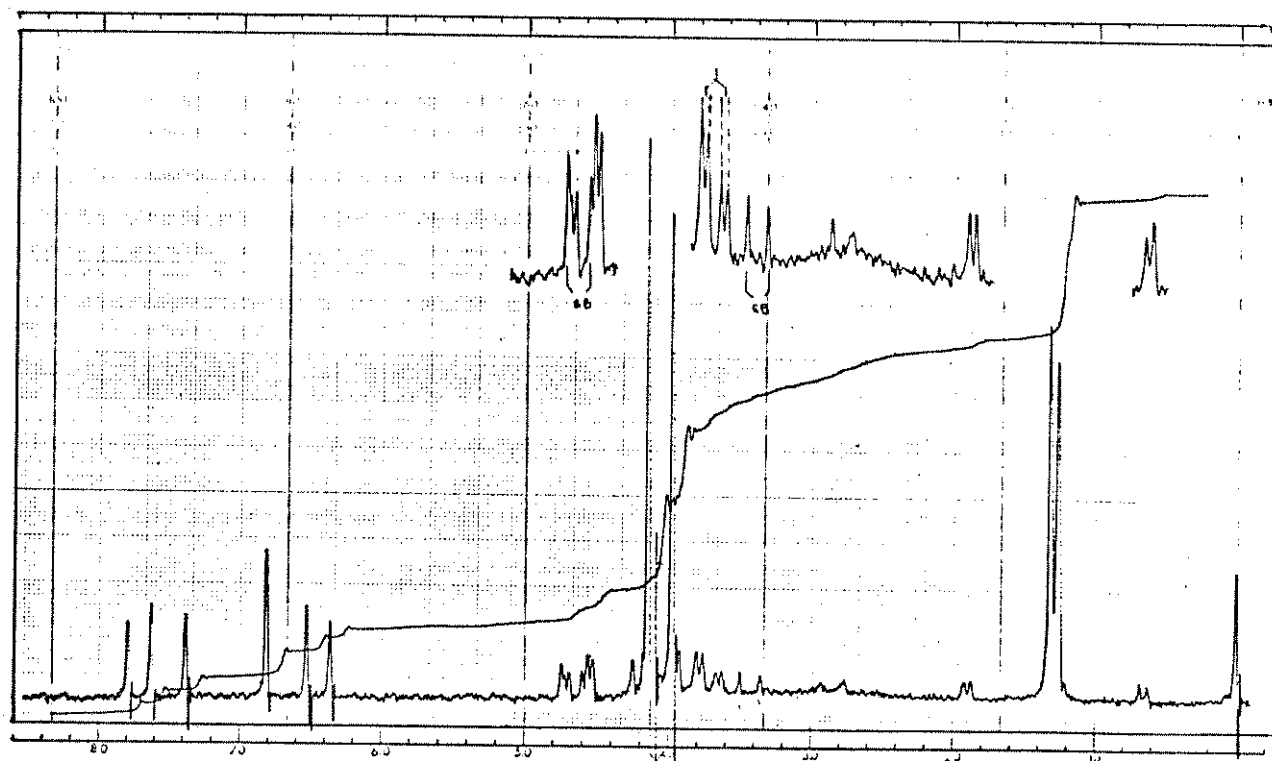
E.21 - Espectro no IV de PL-5(20).

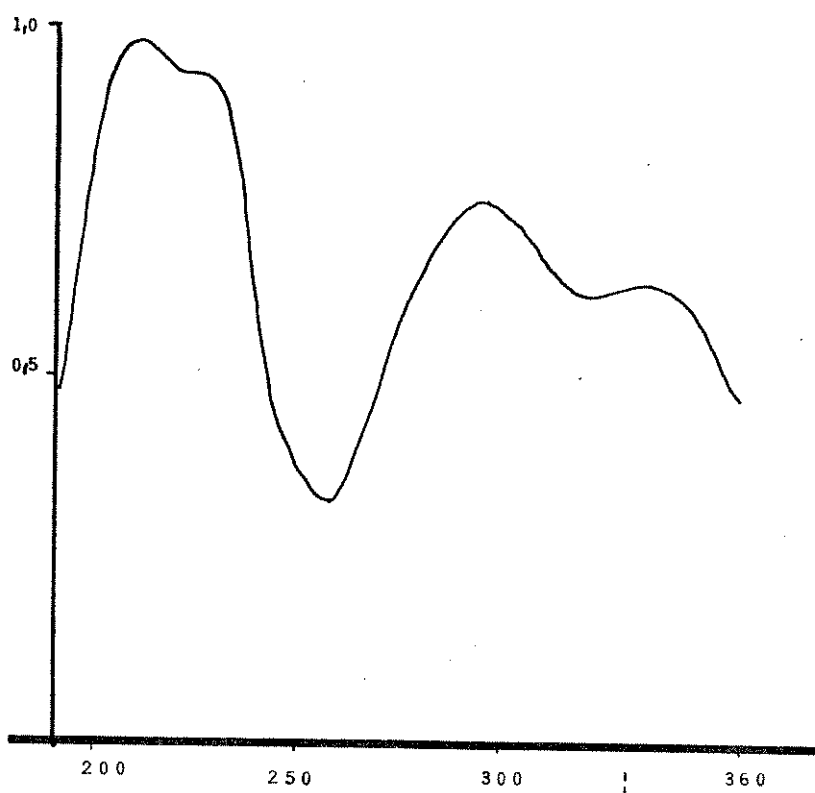


E.22 - Espectro de RMN^{-1}H (CDCl_3) de PL-5 (20).

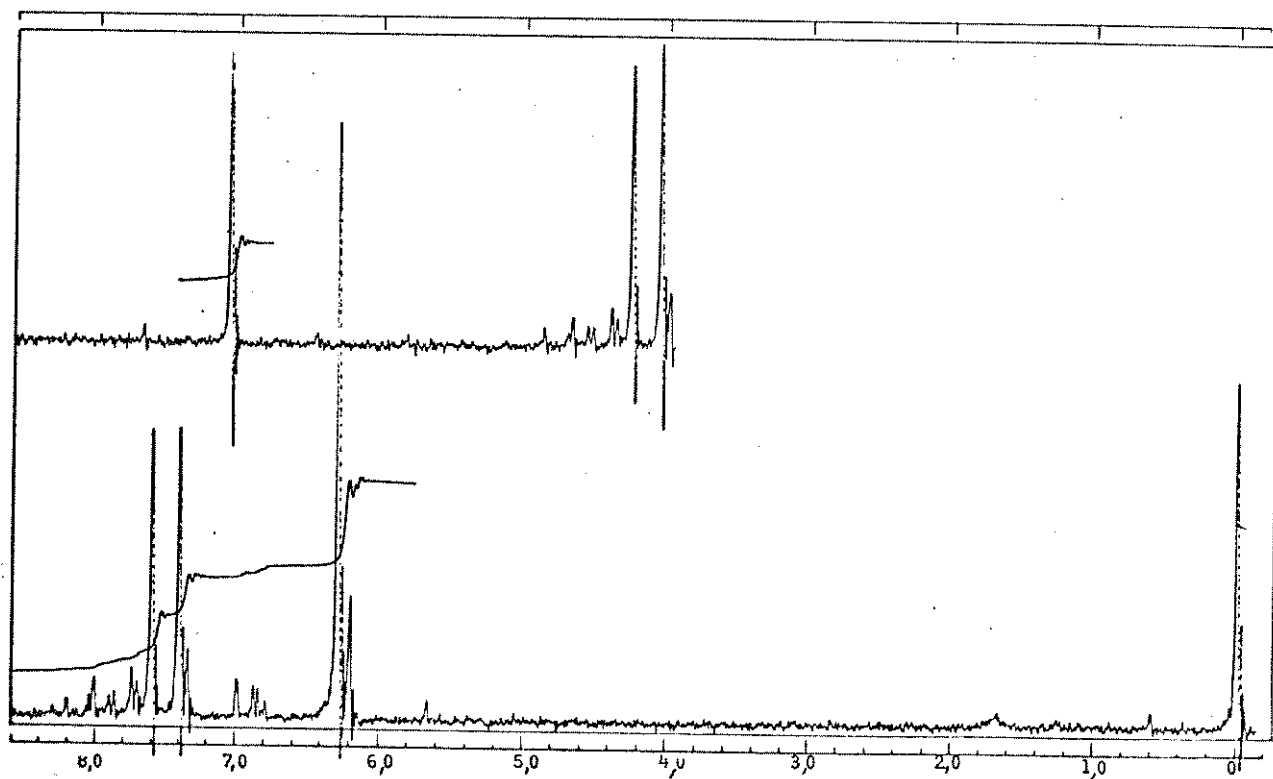


E.23 - Espectro de massa de PL-5 (20)

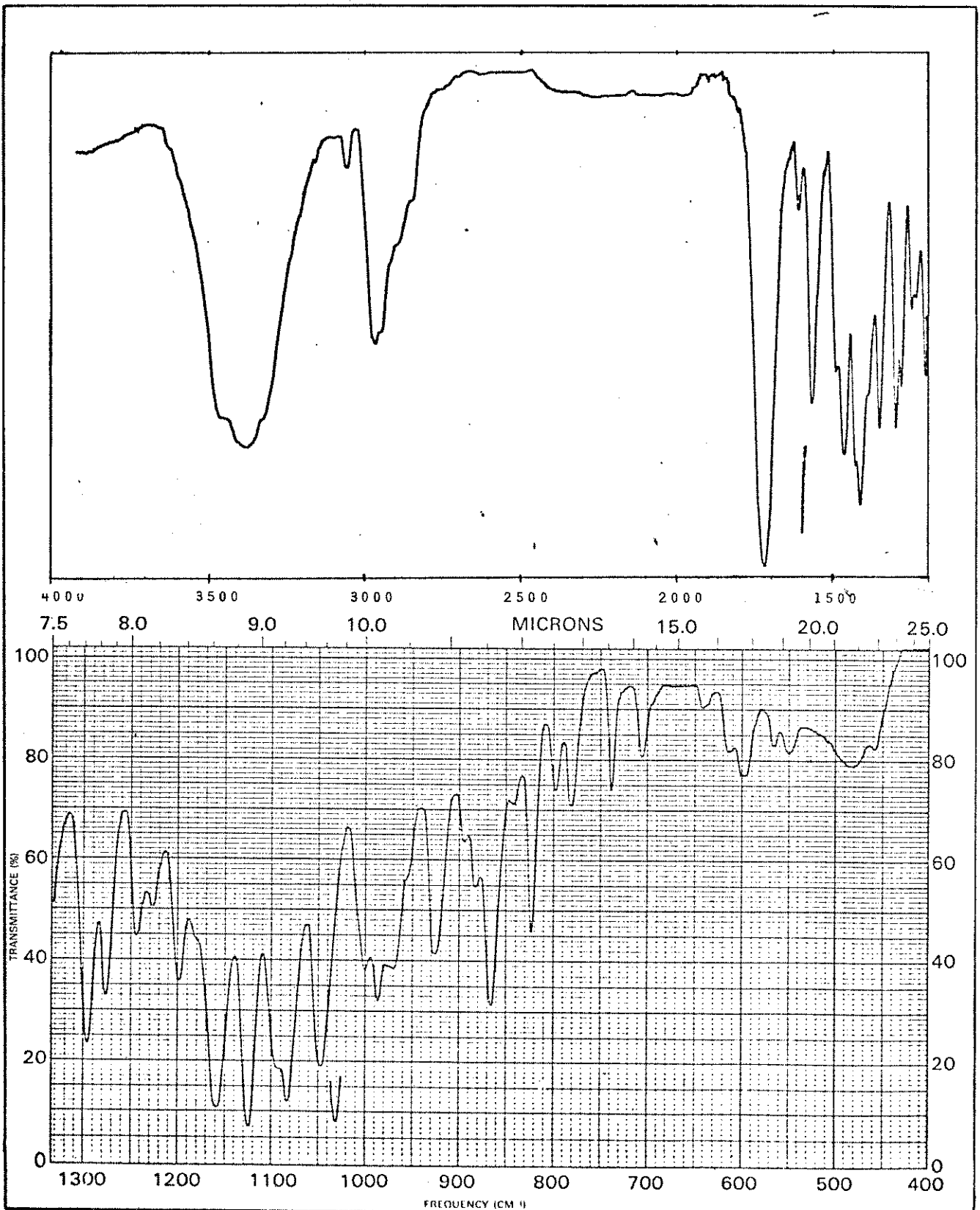
E.26 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) de PL-6 (21).



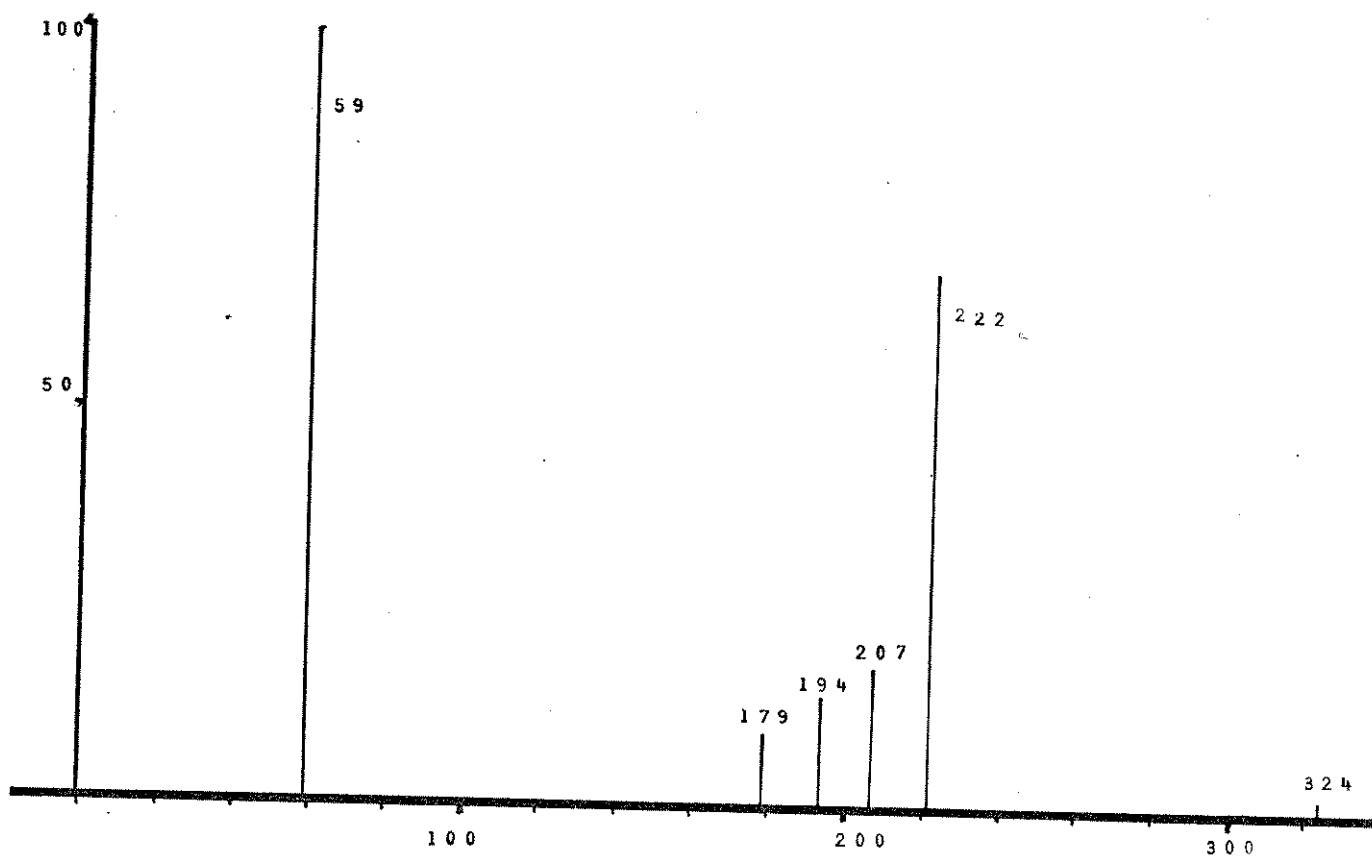
E.24 - Espectro no UV de PL-6 (21).



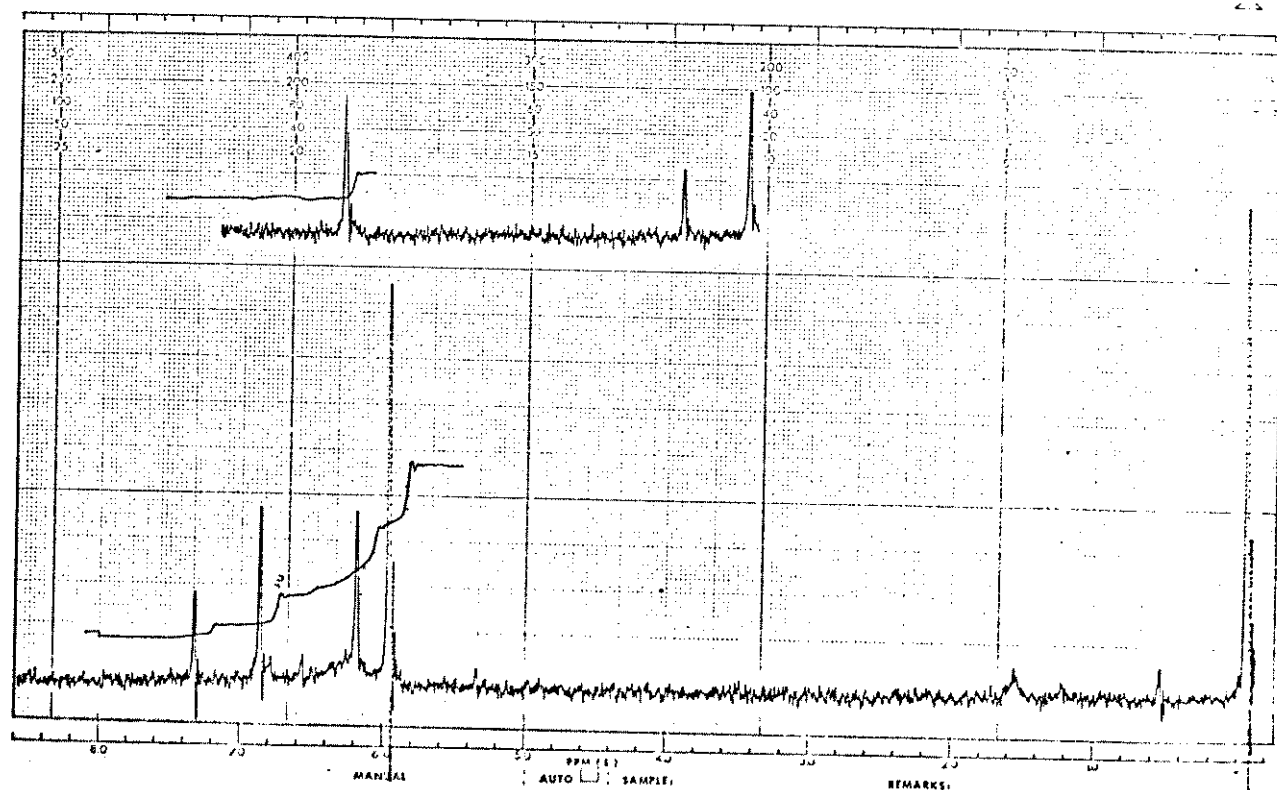
E.29 - Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}(\text{CDCl}_3)$ do composto 27.



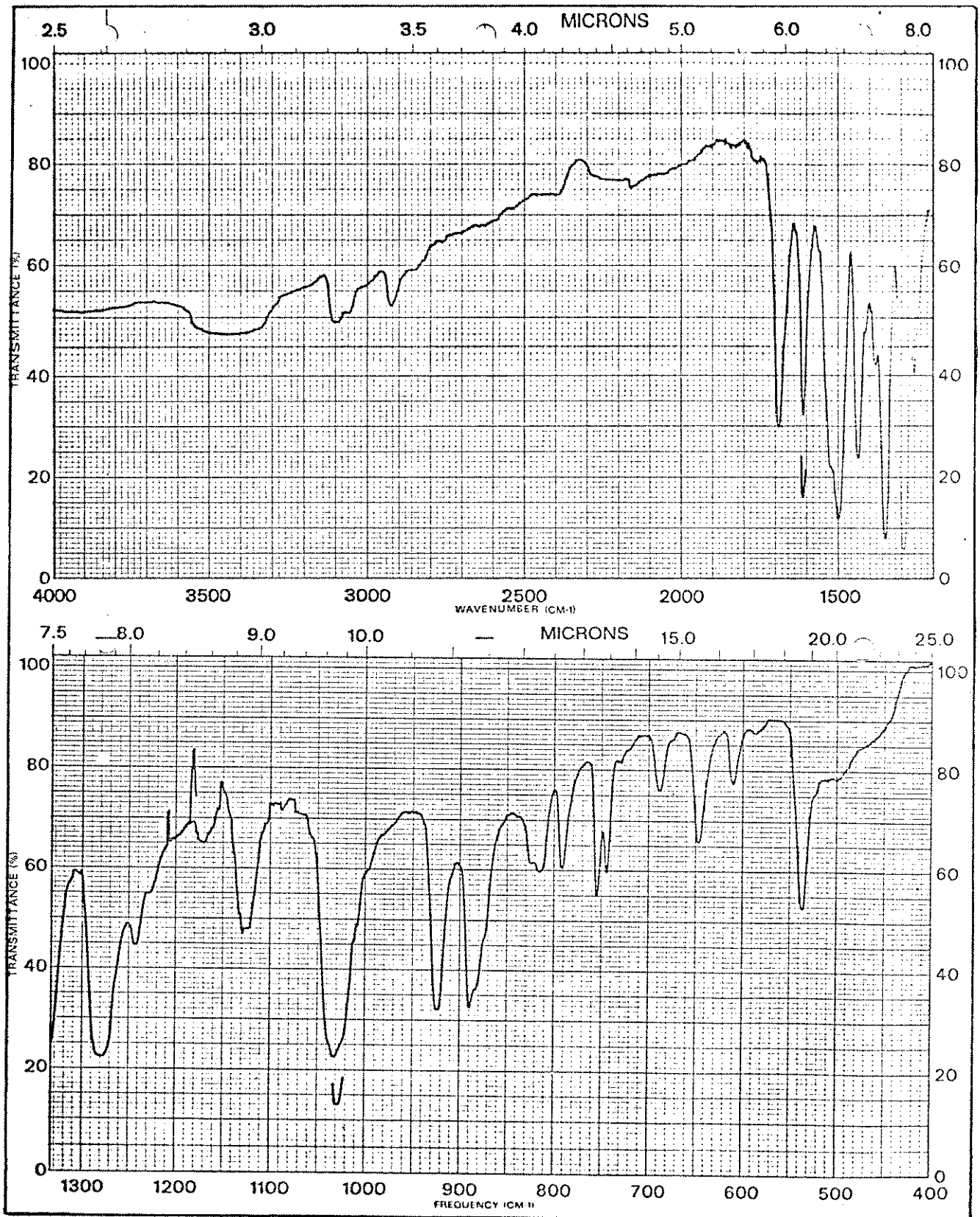
E.25 - Espectro no IV de PL-6(21).



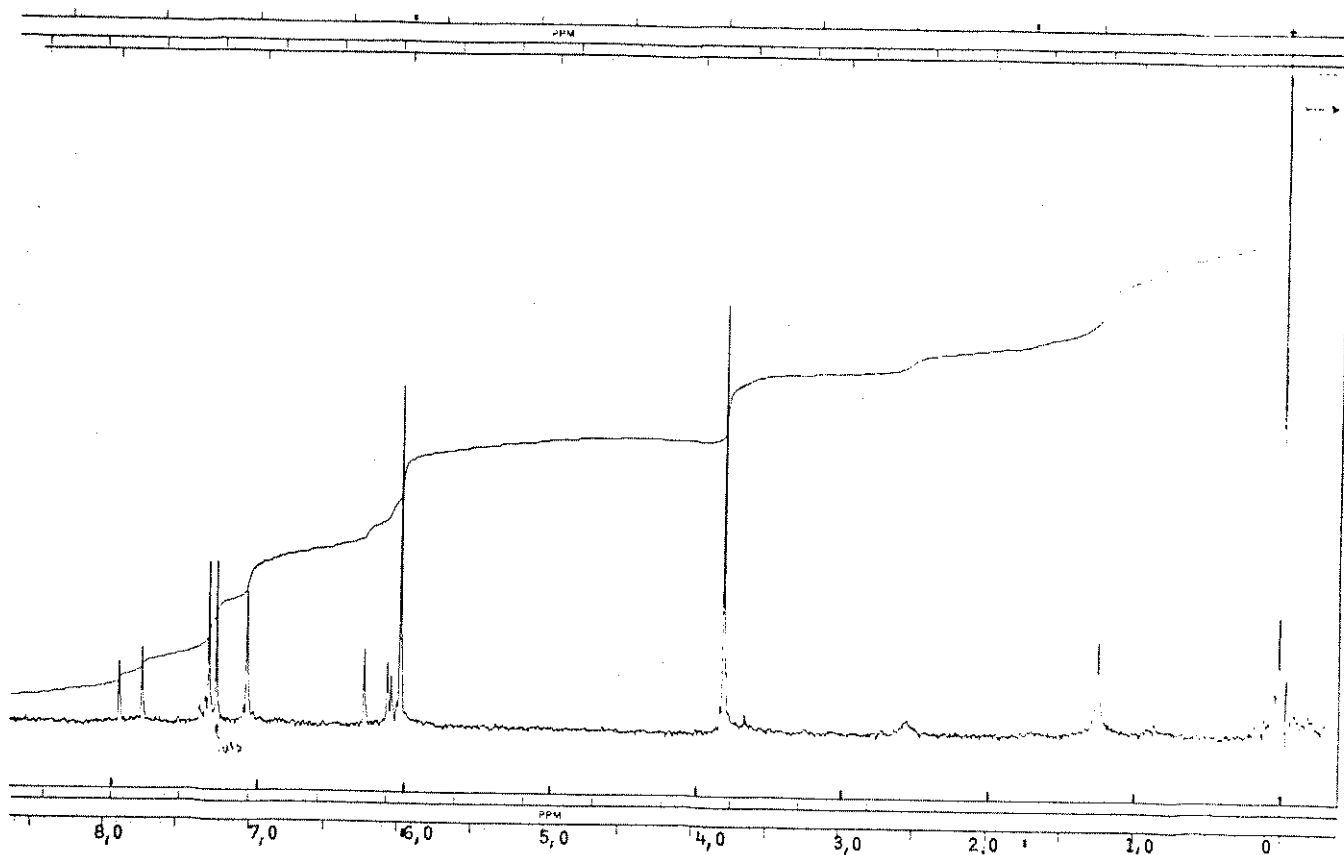
E.27 - Espectro de massa de PL-6 (21).



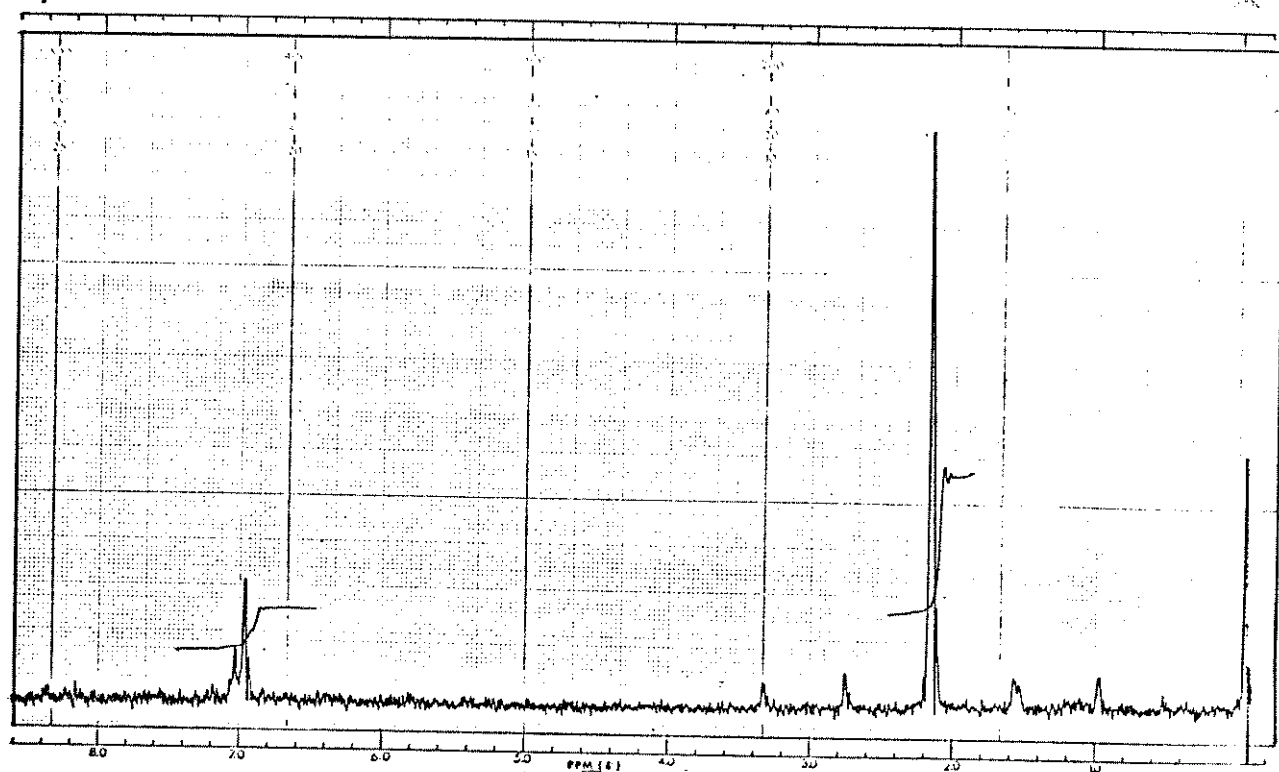
E.30 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 28.



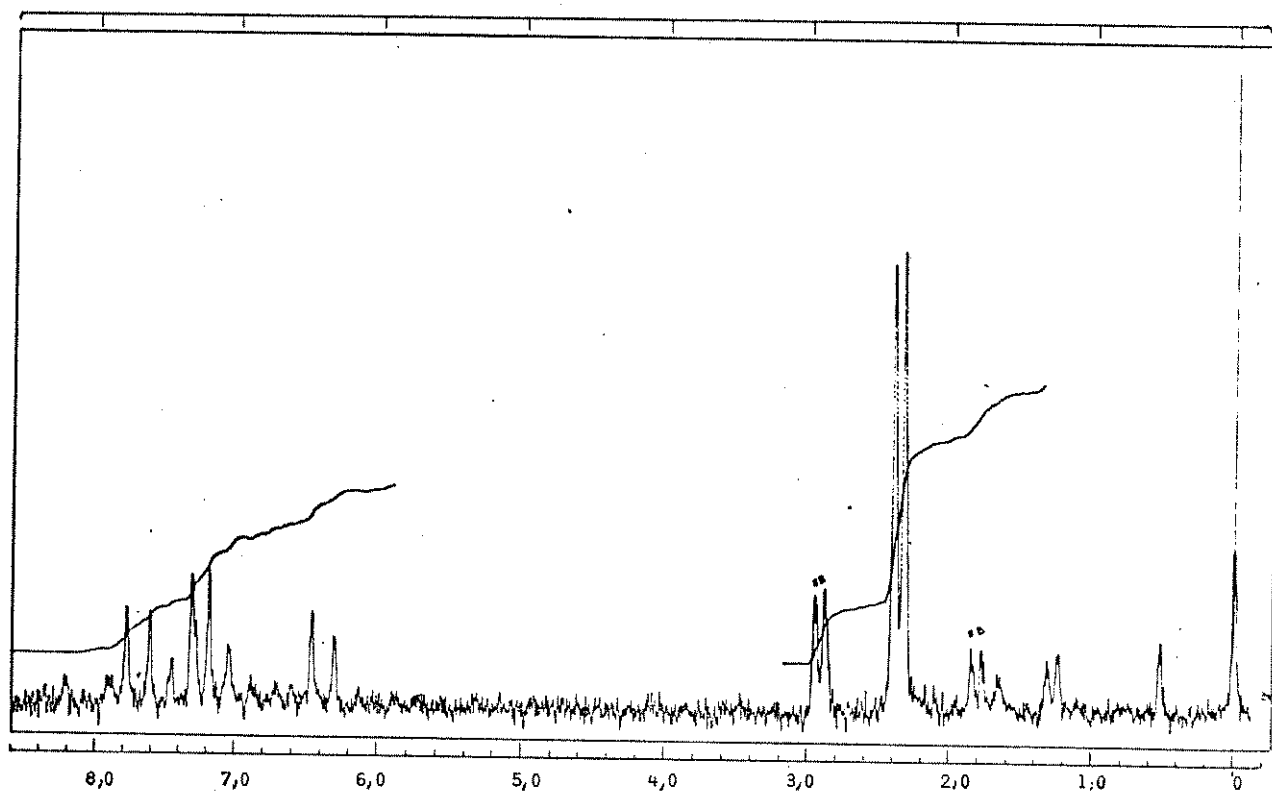
E.28 - Espectro no IV do composto 27.



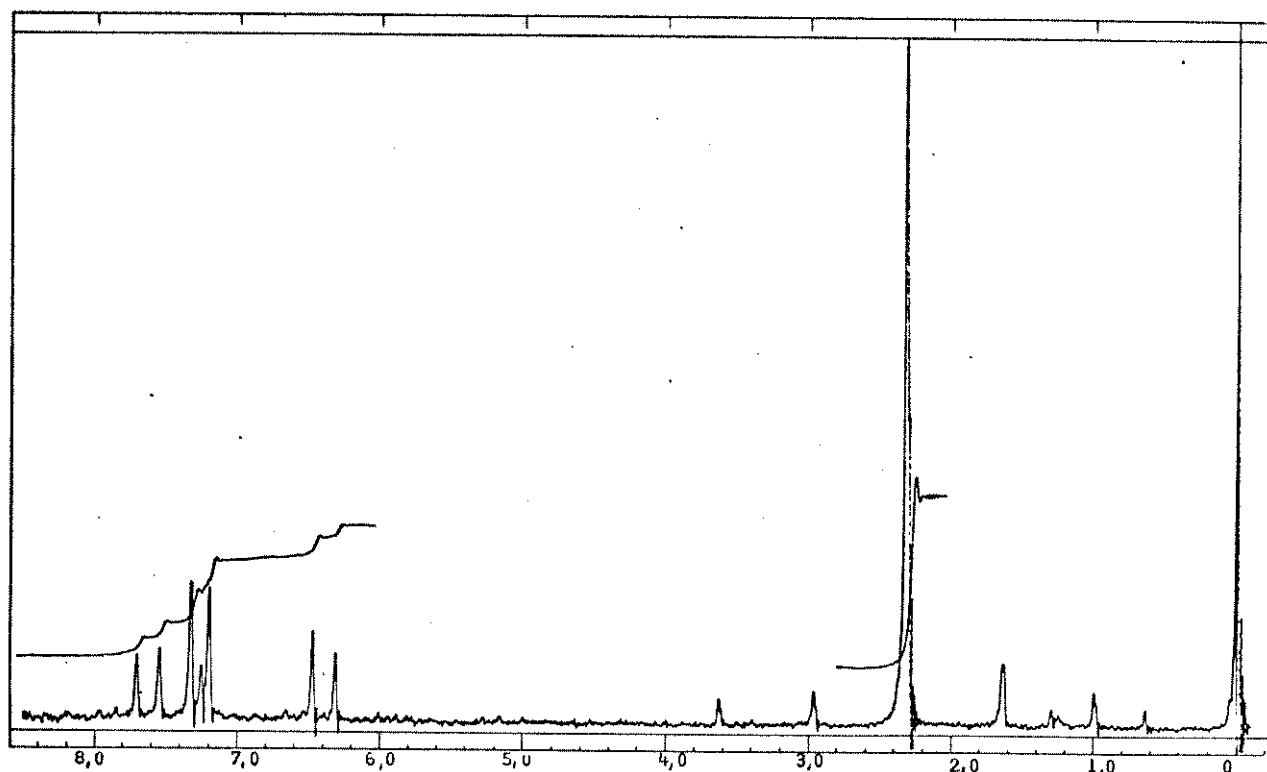
E.32 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 30-a



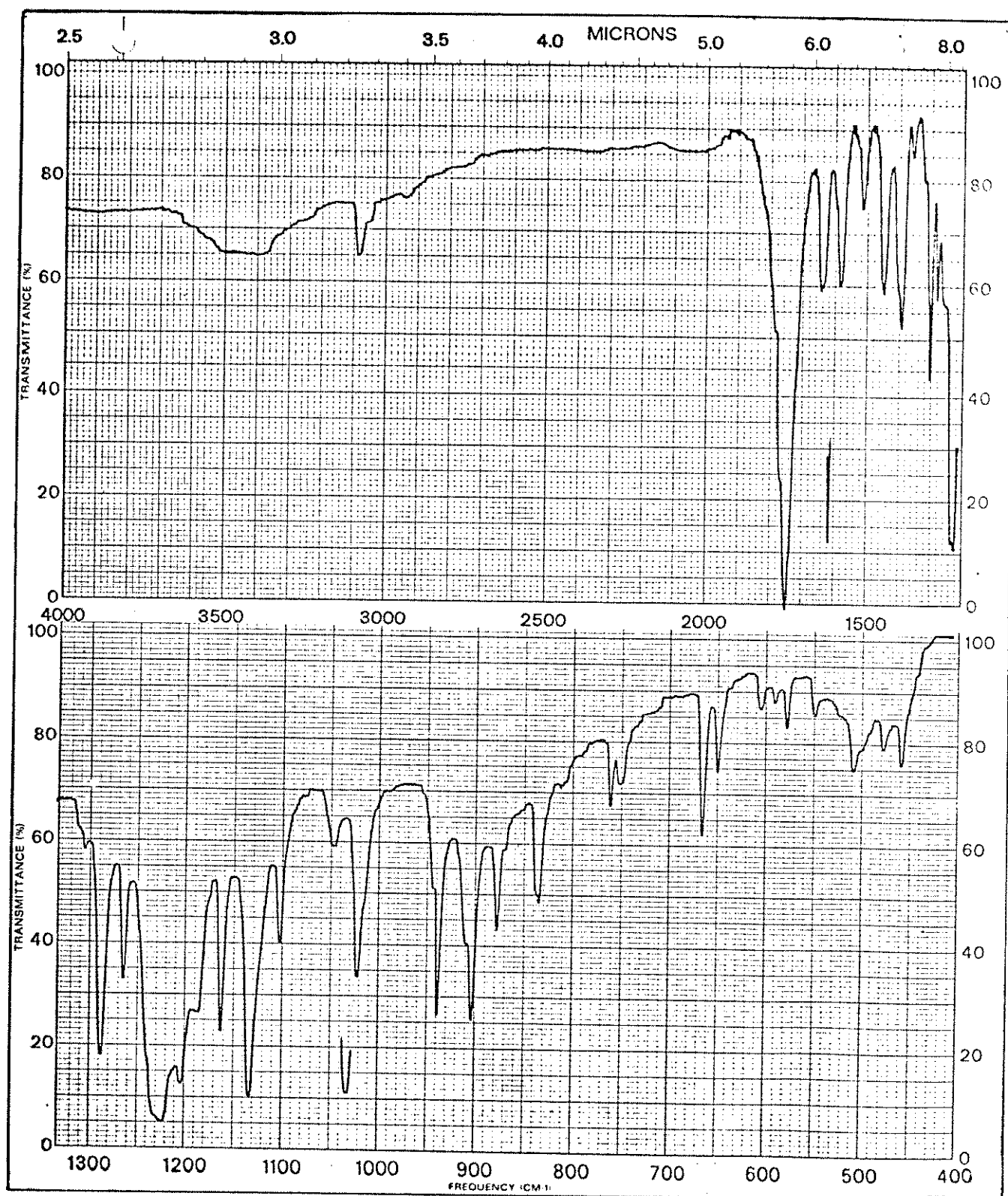
E.33 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 33

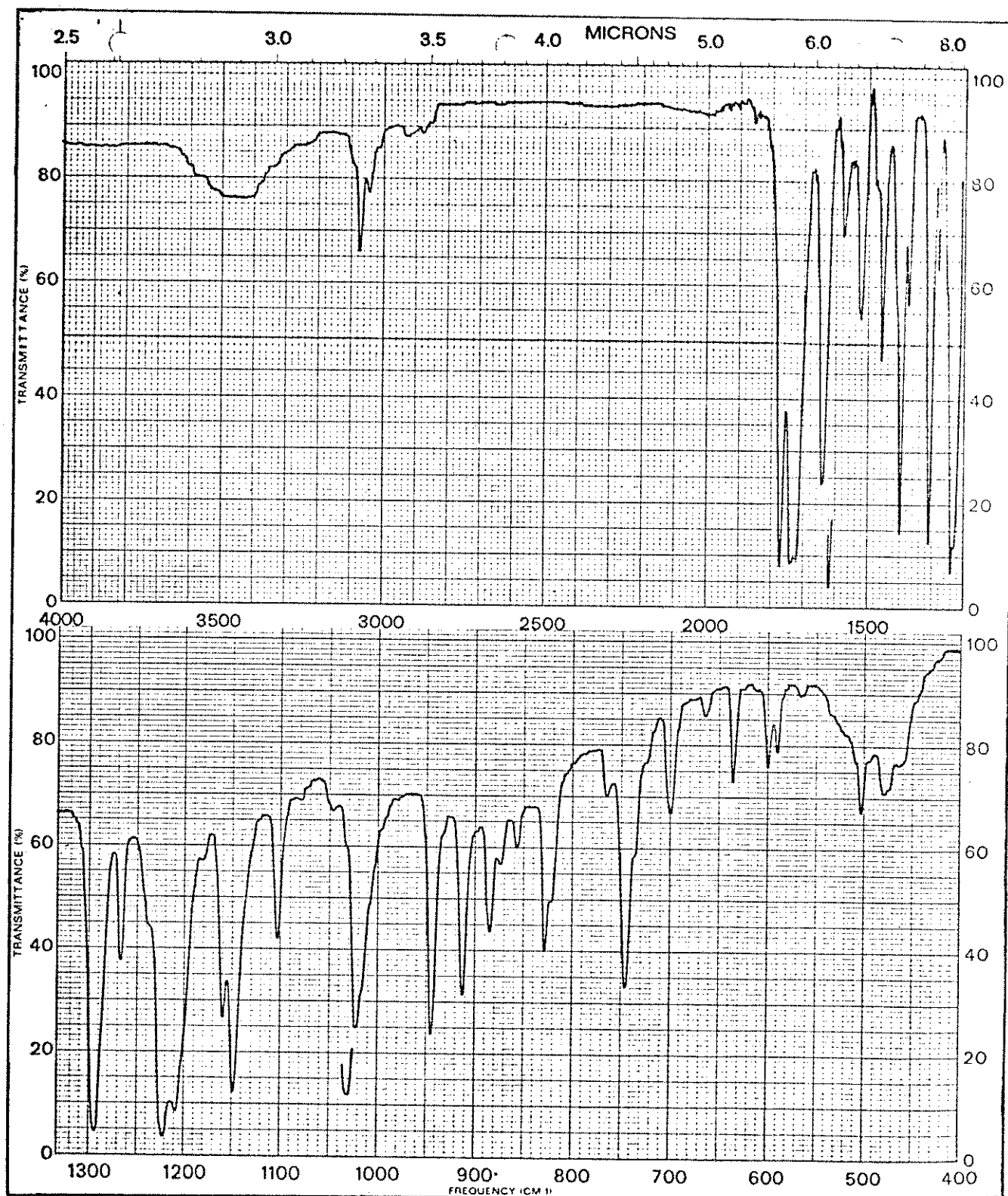


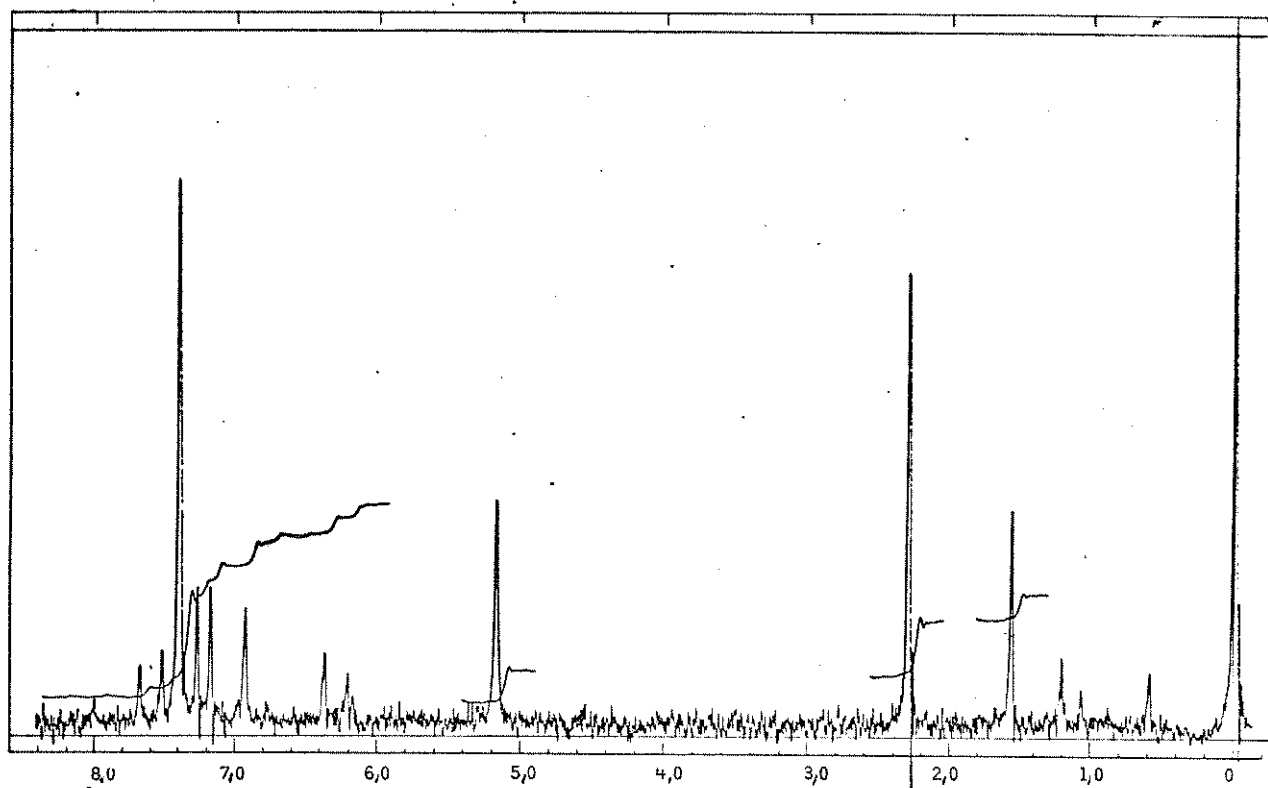
E.34 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 37.



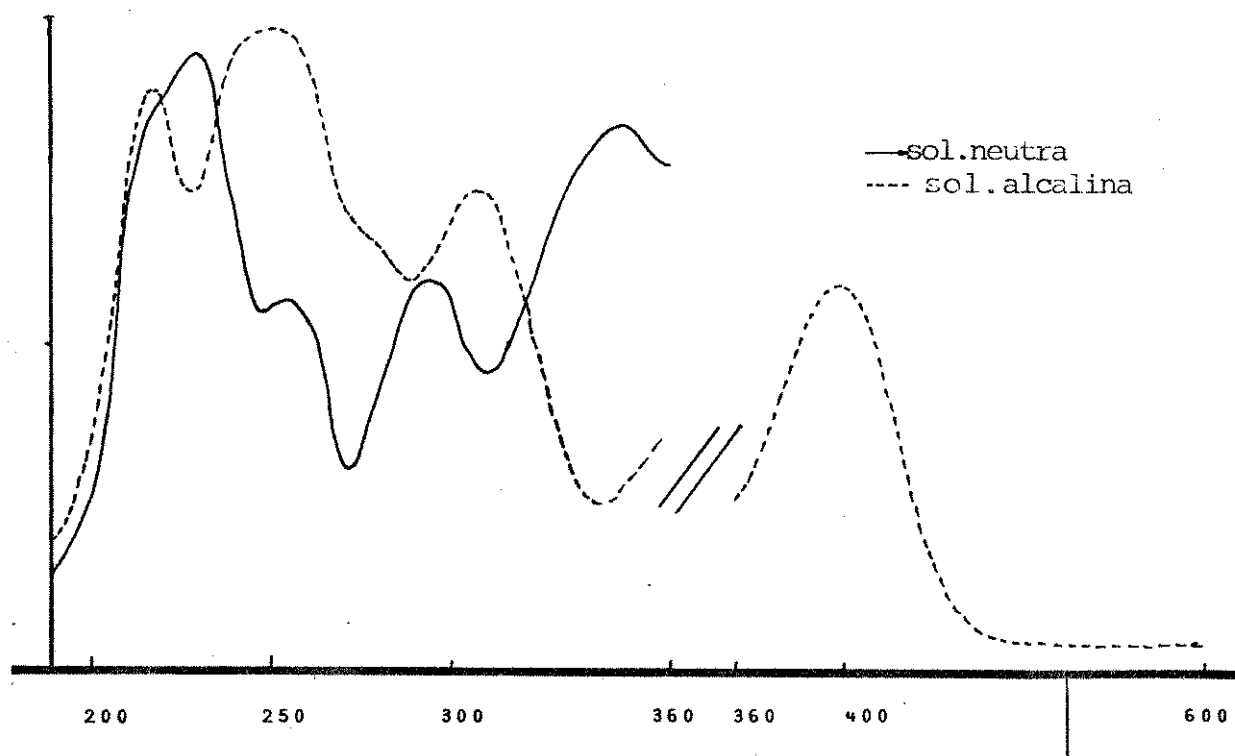
E.35 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 41.

E.36 - Espectro no IV do composto 41

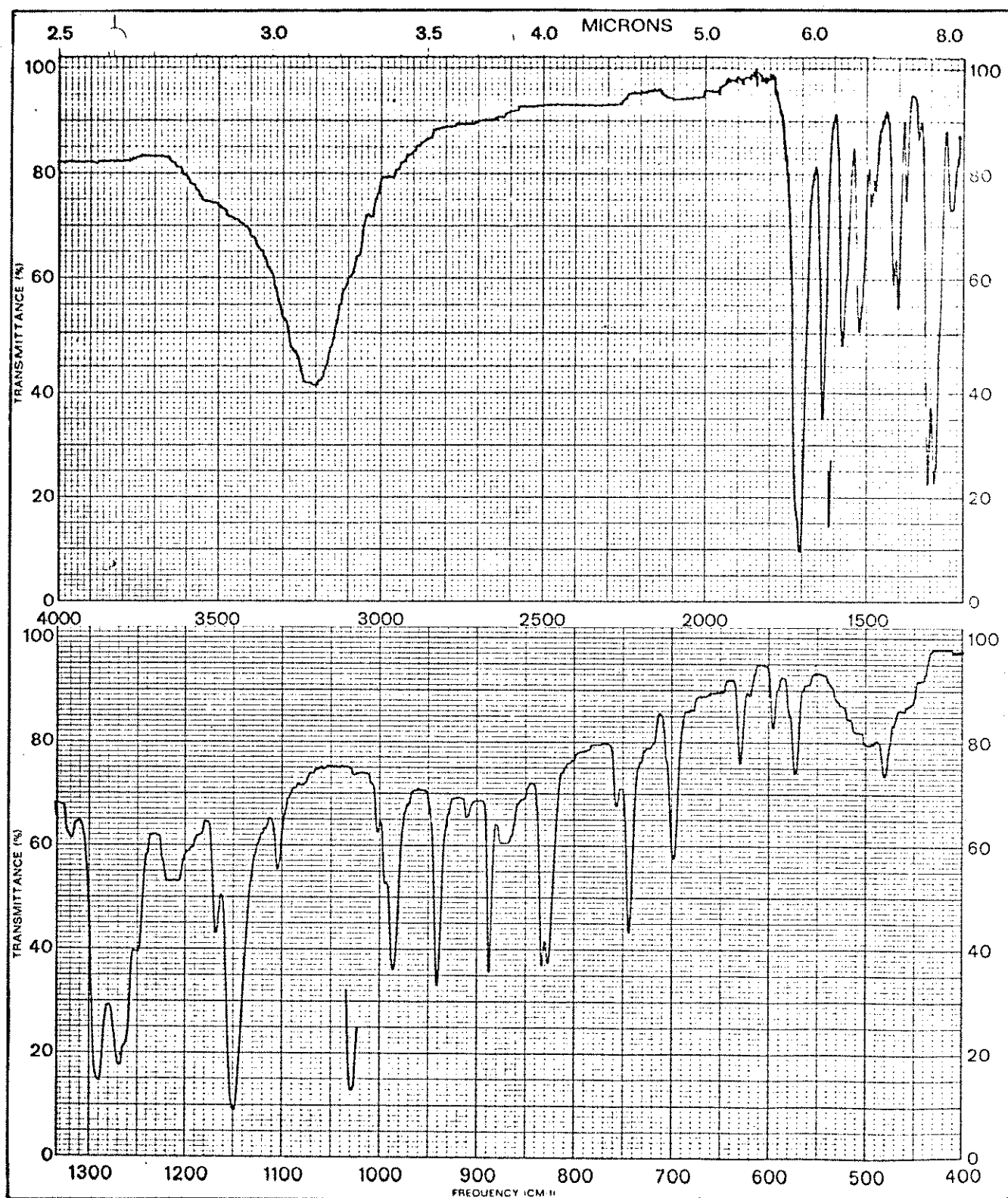
E.37 - Espectro no IV do composto 42



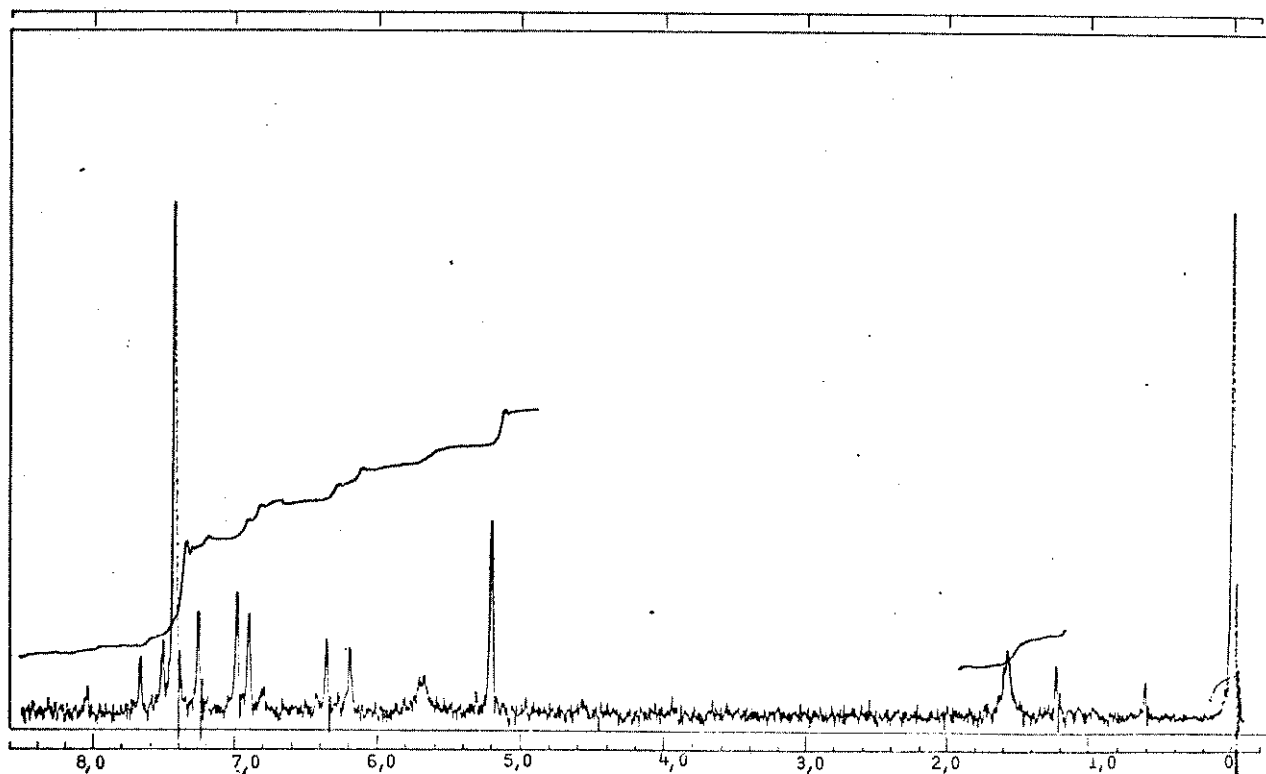
E.38 - Espectro de $\text{RMN-}^1(\text{CDCl}_3)$ do composto 42.



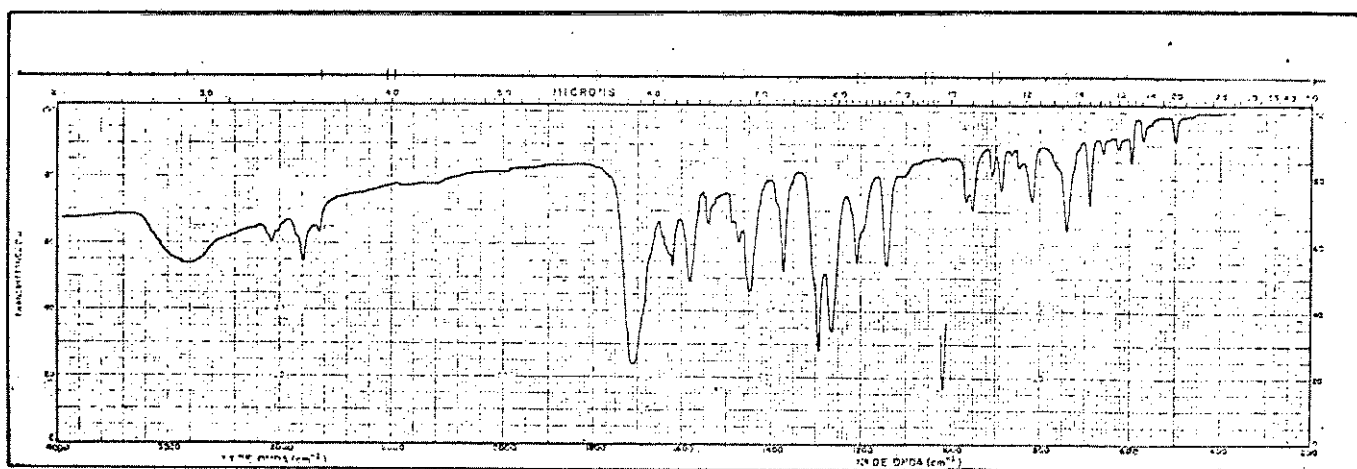
E.40 - Espectro no UV do composto 43



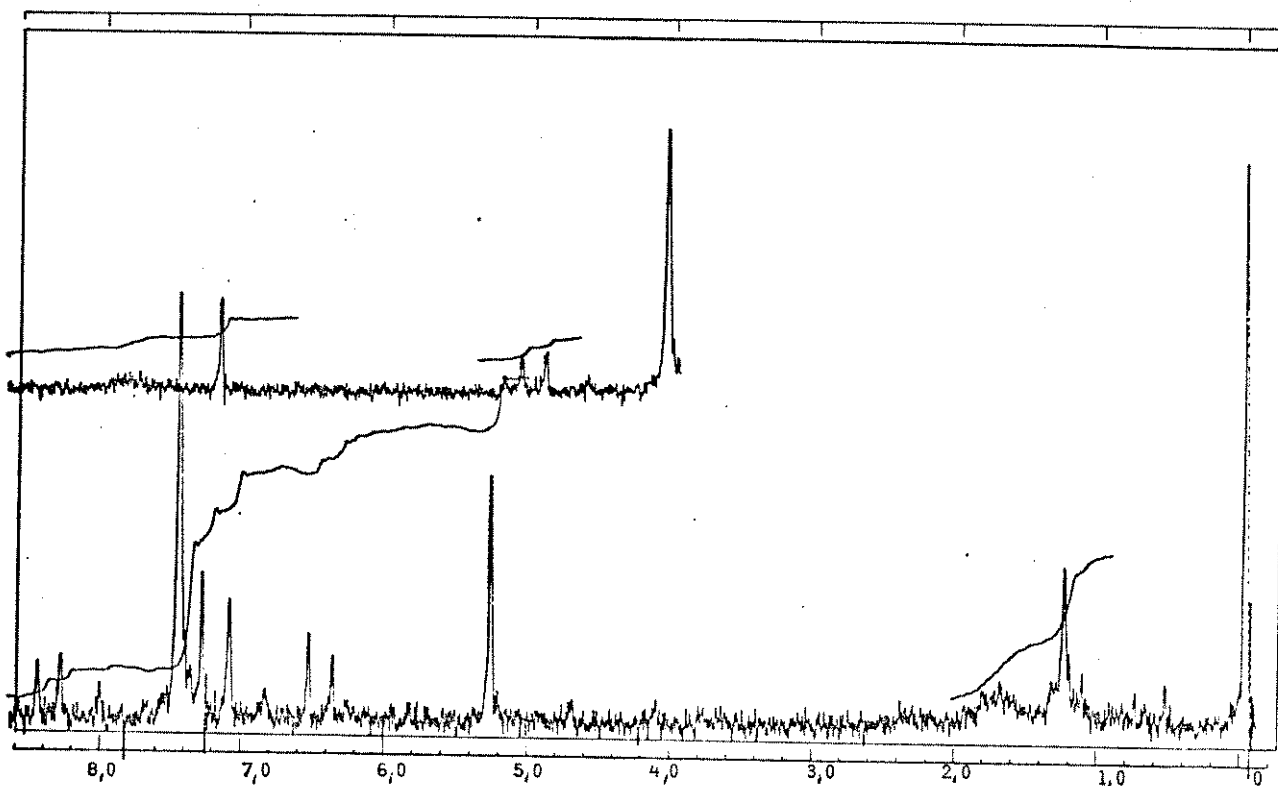
E.39 - Espectro no IV do composto 43.



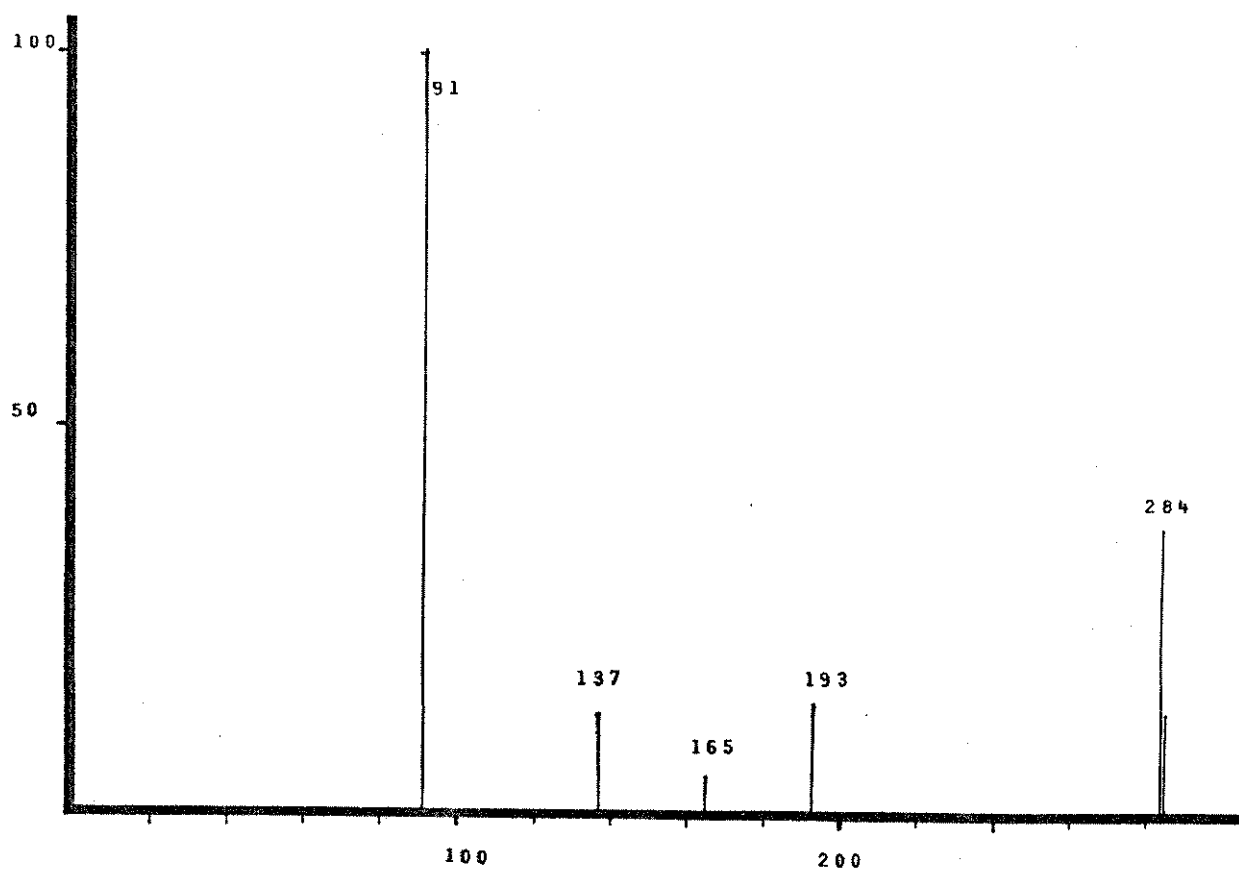
E.41 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 43.



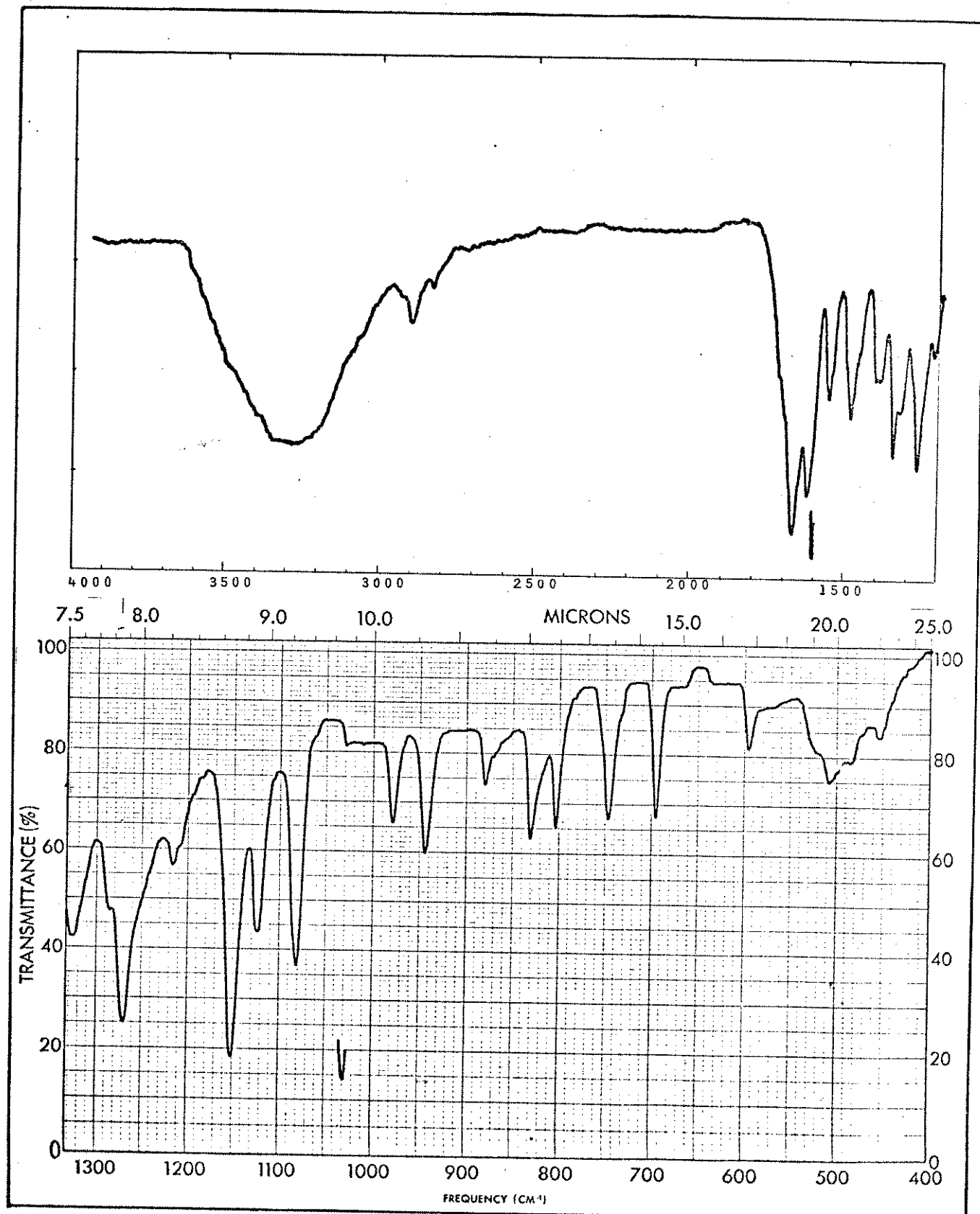
E.42 - Espectro no IV do composto 44.



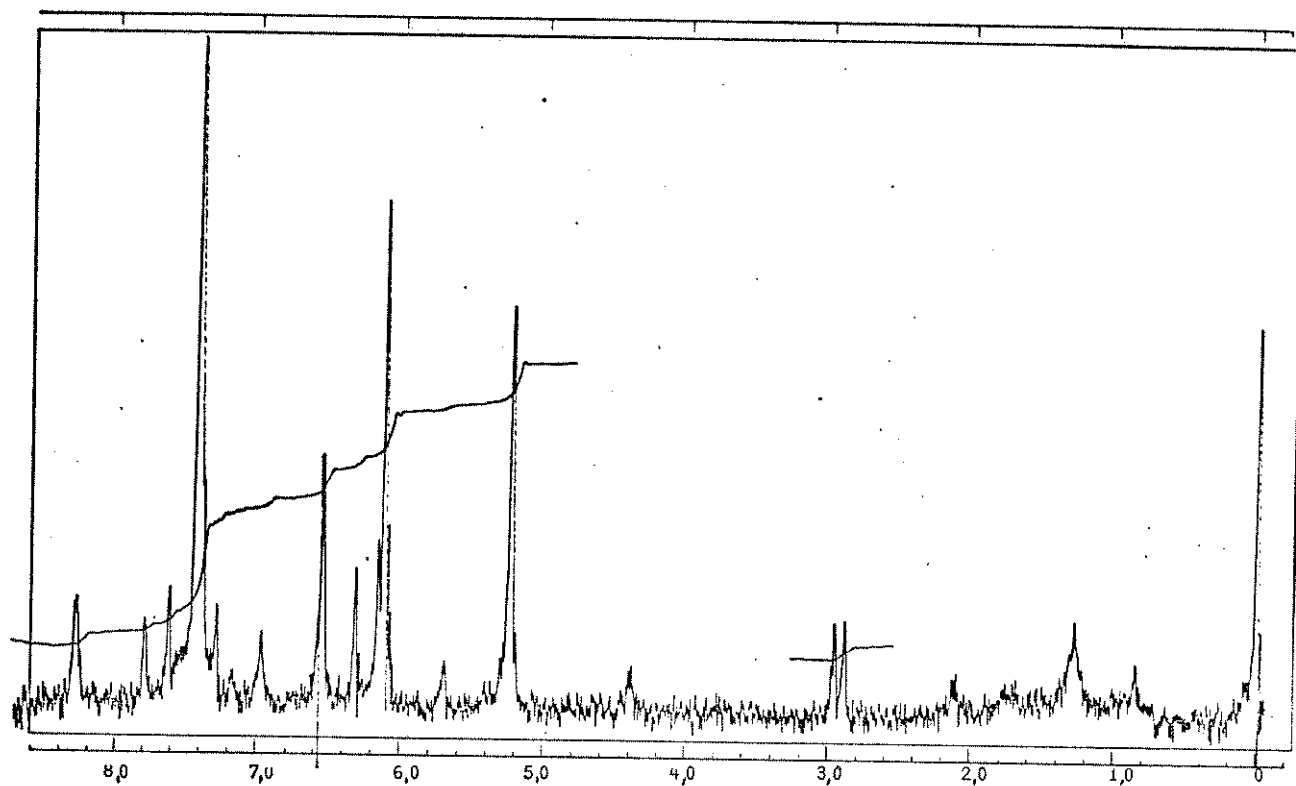
E.43 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 44.



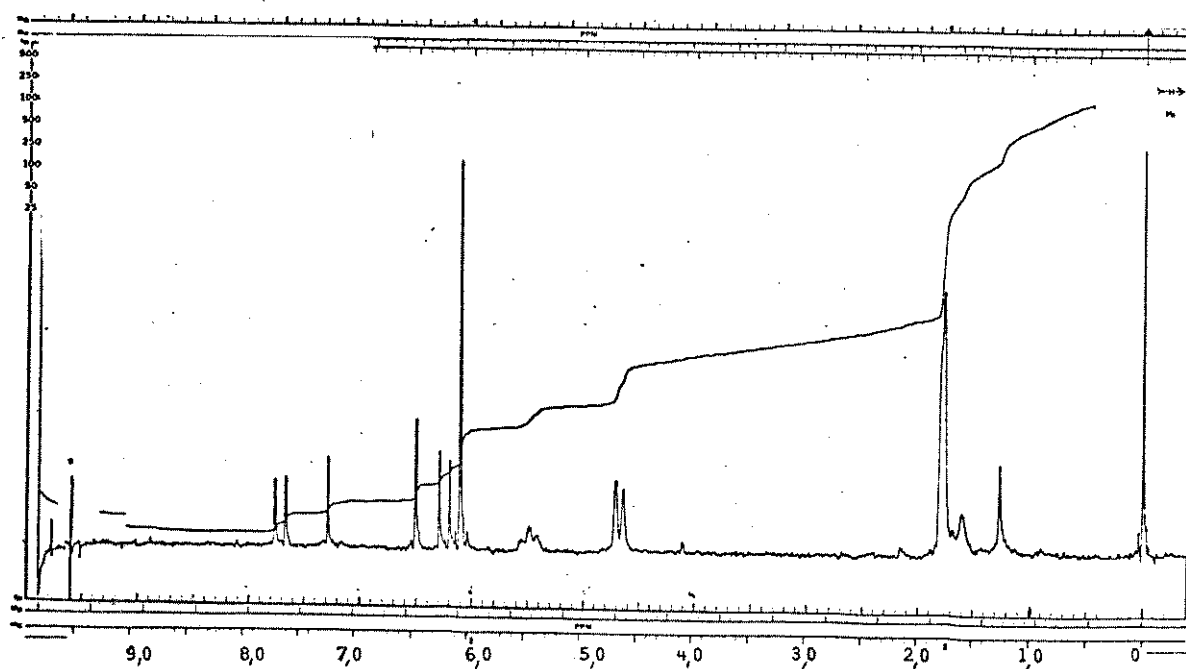
E.45 - Espectro de massa do composto 45



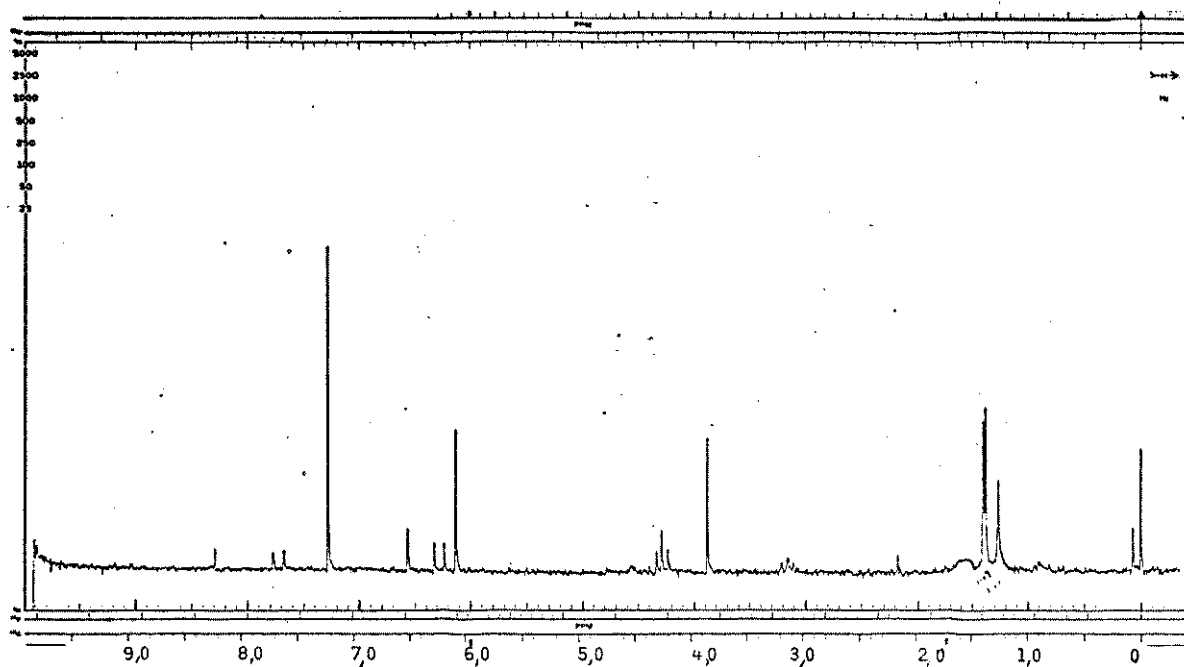
E.44 - Espectro no IV do composto 45.



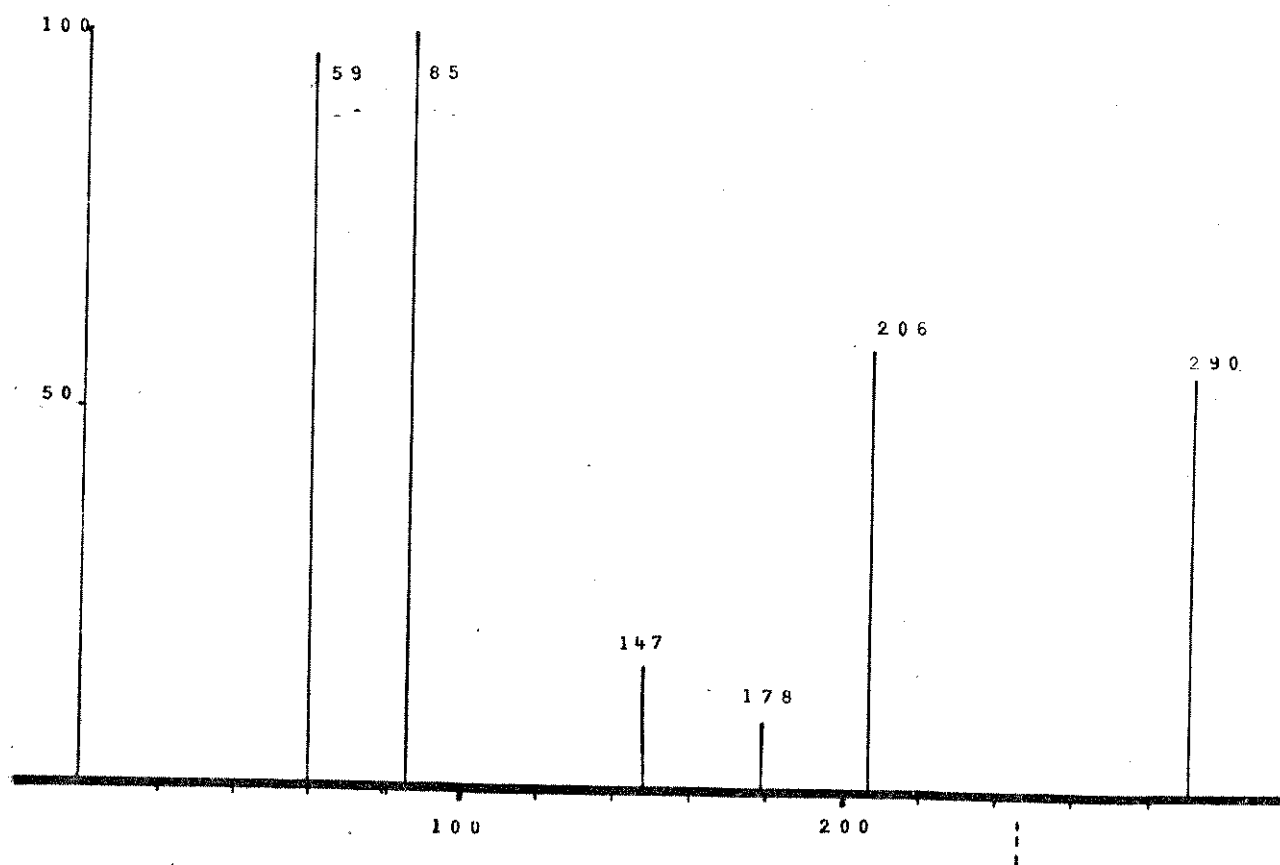
E.46 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 47.



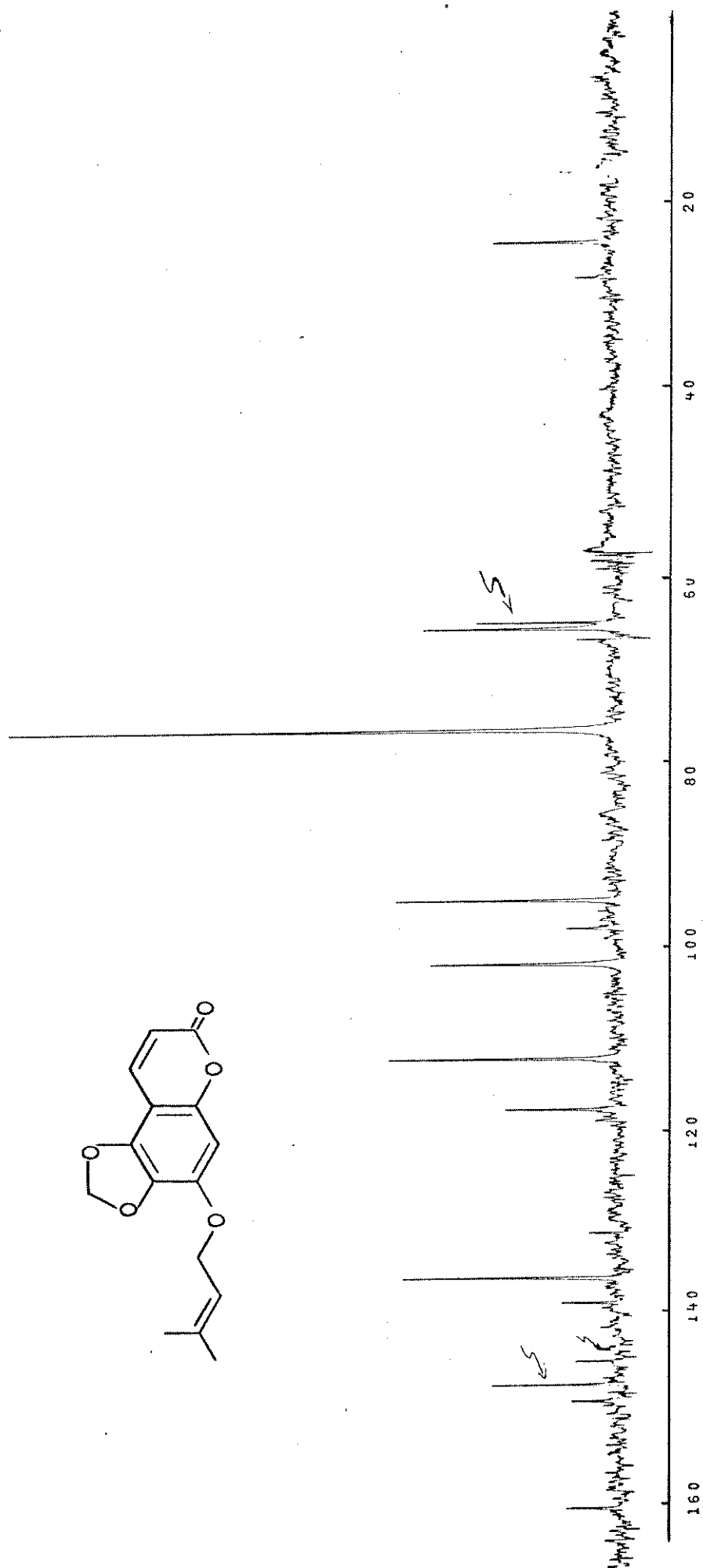
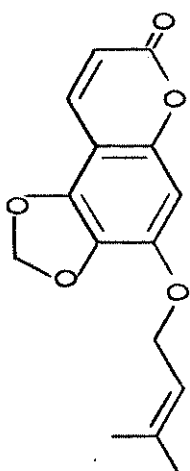
E.47 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 47.



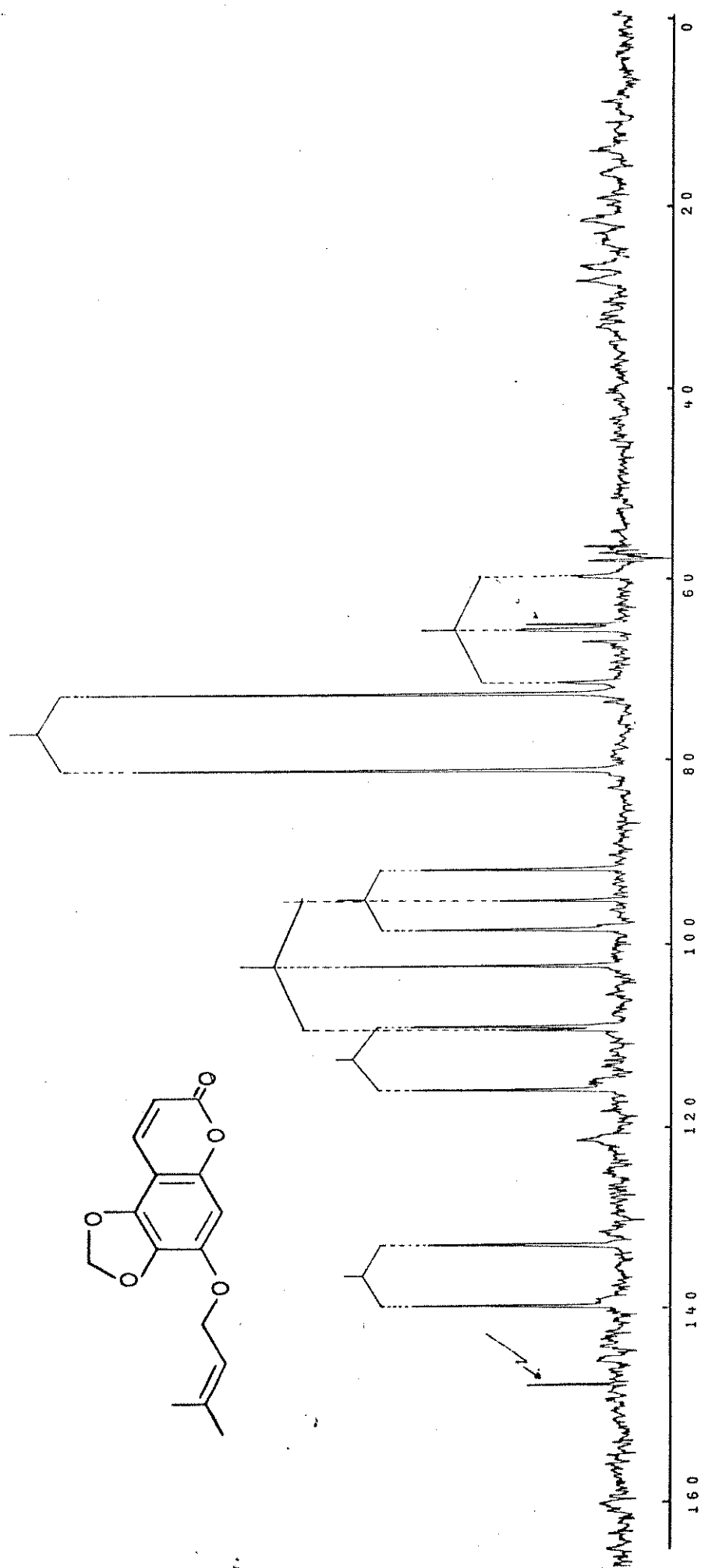
E.48 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 19.



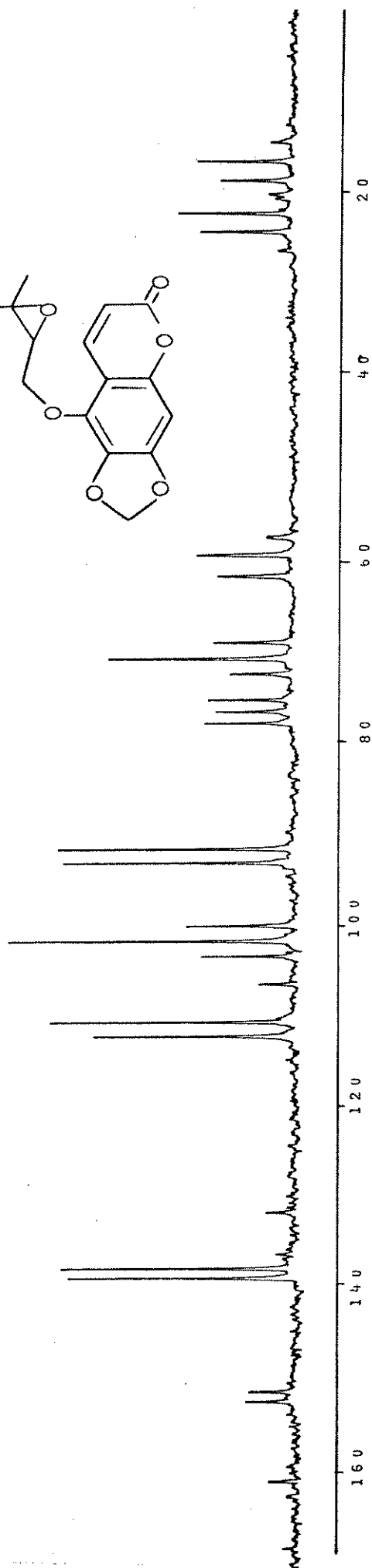
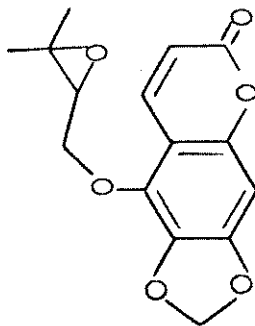
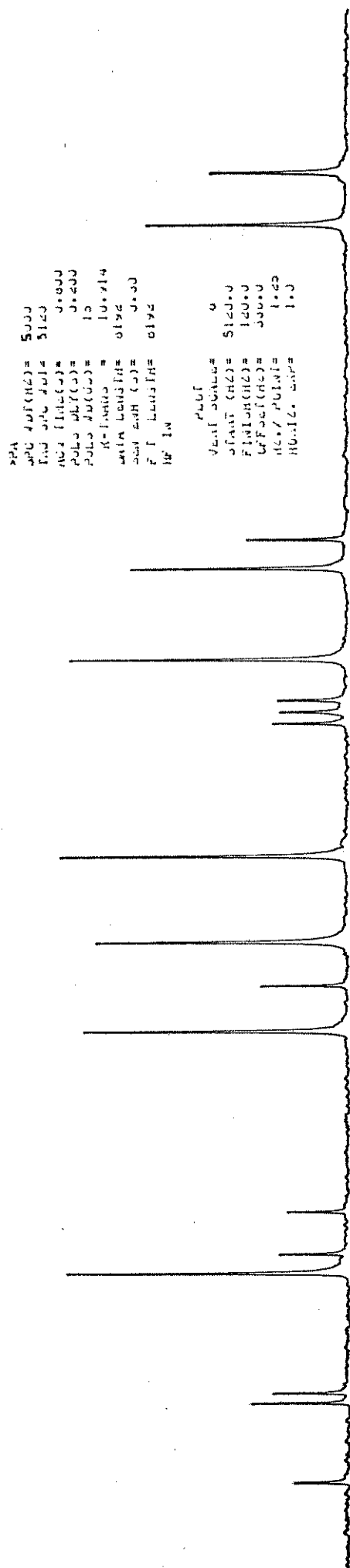
E.49 - Espectro de massa do composto 19.

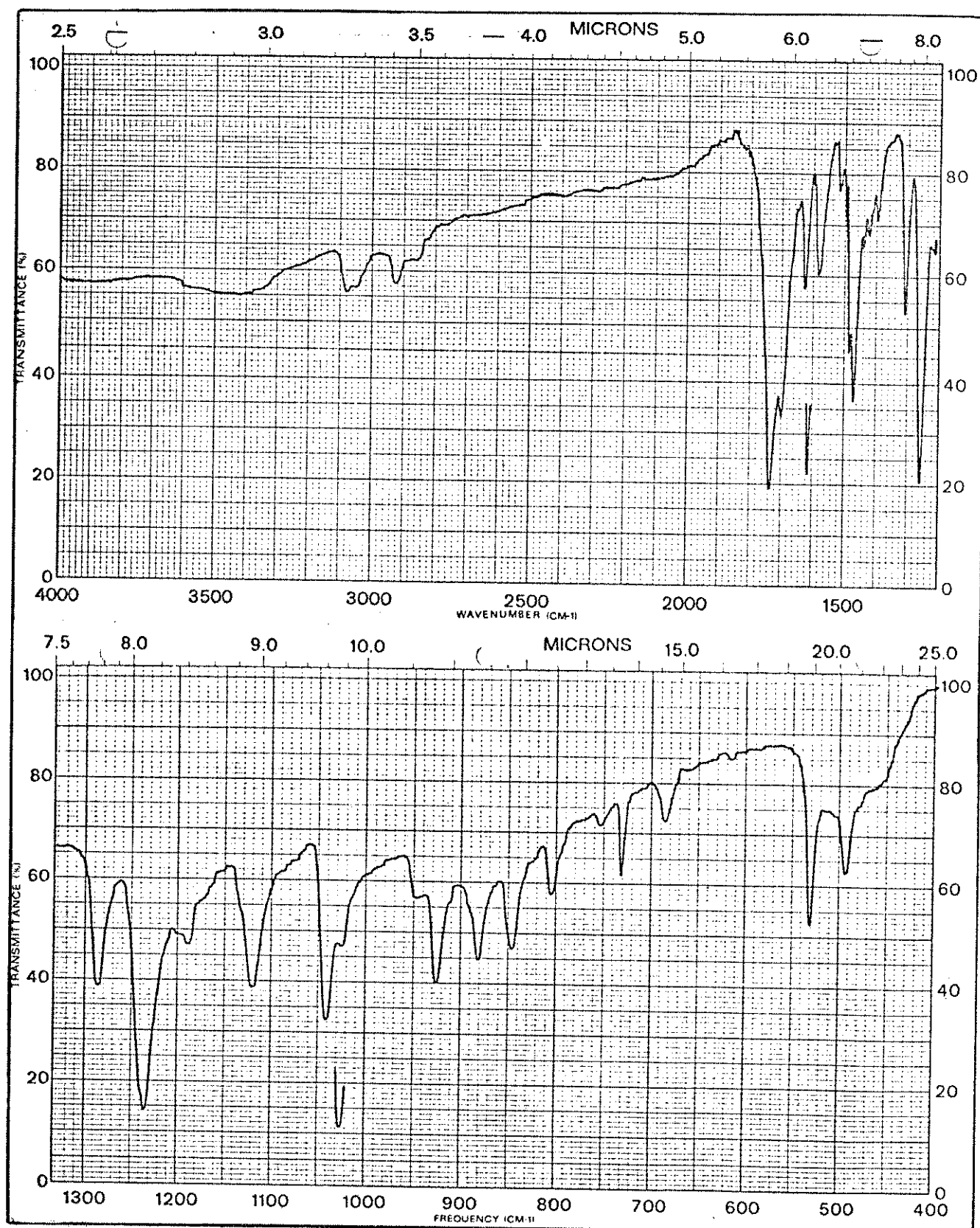


E.50 - Espectro de RMN- $^{13}\text{C}(\text{CHCl}_3)$ do composto 49 (DFL).

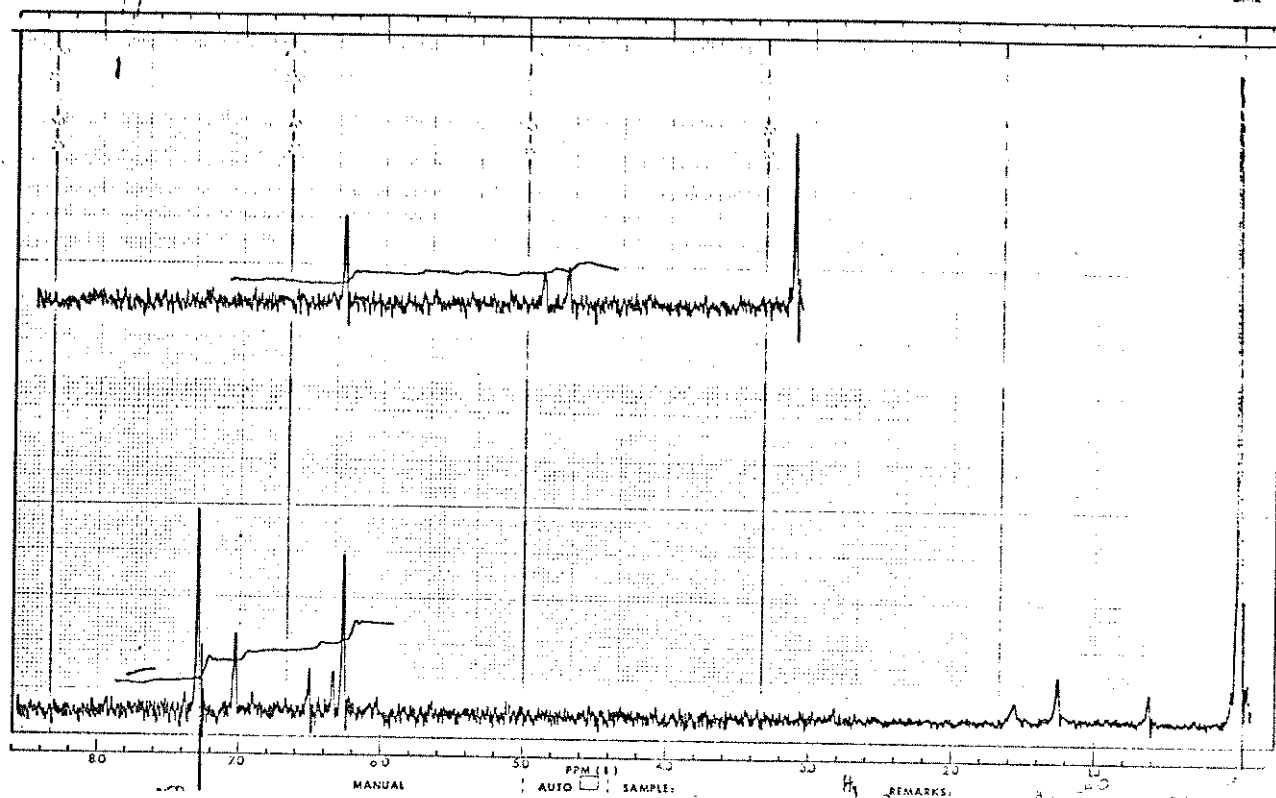


E.51 - Espectro de RMN- ^{13}C (CHCl_3) do composto 49(FDFF).

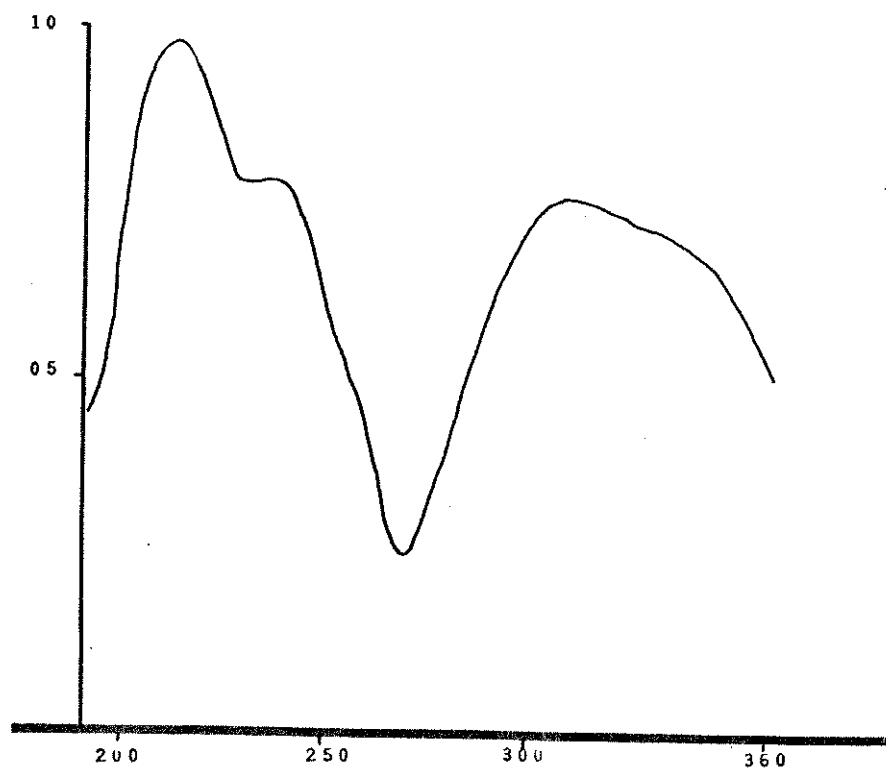




E.54 - Espectro no IV do composto 55.



E.55 - Espectro de RMN- ^1H (CDCl_3) do composto 55



E.20 -Espectro no UV de PL-5 (20) .

IX- BIBLIOGRAFIA

- /1/ BOHLMANN, F.; BURKHARDT, T. e ZDERO, C.: "Naturally occurring acetylenes". Academic Press Inc. (1973). Londres.
- /2/ HEGNAUER, R.: The Chemistry of the Compositae. In "The Biology and Chemistry of the Compositae". Ed. Heywood, V.H.; Harborne, J. B. e Turner, B.L., Academic Press Inc., Vol. I, p. 283-335 (1977). Londres.
- /3/ BOHLMANN, F. e FRANKE, H.: Isolation of obliquin from Phaenocoma prolifera. Phytochemistry 12, 726-727 (1973).
- /4/ JOHNS, S.R.; LAMBERTON, J.A.; PRICE, J.R e SIOUMIS, A.A.: Identification of coumarins isolated from Lepiniopsis ternatensis (Apo cynaceae), Pterocaulon sphacelatum (Compositae) and Melicope melanophloia (Rutaceae), Aust J. Chem. 21, 3079-3080 (1968).
- /5/ BOHLMANN, F.; ABRAHAM, W-R.; KING, R.M. e ROBINSON, H.: Thiophene acetylenes and Flavonols from Pterocaulon virgatum. Phytochemistry, 20 (4), 825-827 (1981).
- /6/ BARROS, S.M.G.: As cumarinas do Pterocaulon balansae Chodat. Tese de Mestrado-Unicamp-(IQ) (1981).
- /7/ MERXMULLER, H.; LEINS, P. e ROESSLER, H.: Inuleae -systematic review. In "The Biology and Chemistry of the Compositae". Ed. Heywood, V.H.; Harborne, J.B. e Turner, B.L. Academic Press Inc., Vol. I, p. 577-602 (1977). Londres.
- /8/ HARBORNE, J.B.: Inuleae-Chemical Review. In "The Biology and Chemistry of the Compositae". Ed. Heywood, V.H.; Harborne, J.B. e Turner, B.L. Academic Press Inc.; Vol. I, p. 603-619 (1977). Londres.
- /9/ MURRAY, R.D.H.: Naturally occurring Plant coumarins. In "Pro -

- gress in the Chemistry of Natural Products".Ed.Herz,W;Grisebah,
H.e Kirby,G.W.; Vol.35,p.199-429(1978).Springer-Verlag.
- /10/ABERNETHY,J.L.:The historical and current interest in coumarin
J. Chem.Ed. 46(9),561-568(1969).
- /11/SOJKA,S.A.:Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance spectra of 2H-
1-Benzopyran-2-ones(coumarins) in Chloroform and sulfuric
acid. J. Org.Chem.40(8), 1175-1178(1975).
- /12/CABRERA,A.L. e RAGONESE,A.M.: Revisión del género Pterocaulon
(Compositae).Darwiniana 21 (2-4), 185-257(1978).
- /13/NAKANISHI,K.e SOLOMON,P.H.: "Infrared absorption spectroscopy".
Holden-Day Inc.;2^a ed.(1977).San Francisco.
- /14/NIELSEN,B.E. e LEMMICH,J.:Constituents of Umbelliferous Plants
III.The structure of Archangelicin,a Coumarin from Angelica
archangelica L. subsp . litoralis Thell.Acta Chem.Scand 18 ,
932-936(1964).
- /15/SOINE,T.O.: Occurring coumarins and related physiological
activities. J Pharmaceutical Sciences 53,231-264(1964).
- /16/DEAN,F.M: "Naturally occurring oxigen ring compounds".Butter-
worths.p.176-219(1963).Londres.
- /17/JENSEN,S.R. e NIELSEN,B.J.: A new coumarin, fraxidin 8-O- β -
D-glucoside and 10-hydroxyiligstroside from bark of Fraxinus
exelsior. Phytochemistry 15,221-223(1976).
- /18/DEAN,F.M.; COSTA,A.M.B.S.R.C.S.; HARBORNE,J:B. e SMITH,D.M.:
Leptodactylone, a jellow coumarin from Leptodactylon and
Linanthus species. Phytochemistry 17, 505-509(1978).
- /19/STECK,W. e MAZUREK,M.: Identification of Natural coumarins by
NMR spectroscopy.Lloydia 35(4),418-439(1972).
- /20/REISCH,J.; NOVÁK,I.; SZENDREI,K. e MINKER, E.: The application
of NMR spectroscopy in structure determination of coumarin -

- derivatives. Pharmazie 22, 205-208 (1967).
- /21/ WILLIAMS, D.H. e FLEMING, I.: "Spectroscopy methods in Organic Chemistry". Mac Graw-Hill. p.77-129 (1966). Londres.
- /22/ MURRAY, R.D.H.; SUTCLIFFE, M. e HASEGAWA, M.: Claisen rearrangements -VII. Novel reactions of the coumarin tomentin. Tetrahedron 31, 2966-2971 (1975)
- /23/ MARCH, J.: "Advanced Organic Chemistry-reactions, mechanisms and structure". Mc Graw-Hill. Kogakusha, Ltd. a) p.830 (1968) b) p.397 (1968).
- /24/ MARVELL, E.N.; ANDERSON, D.R. e ONG, J.: The abnormal Claisen rearrangement. J.Org.Chem. 27, 1109-10 (1962).
- /25/ LAUER, W.M. e MOE, O.: The rearrangements of Phenylallyl ethers VIII. Ethyl p-(γ, γ -dimethylallyloxy)-benzoate. J.Am.Chem.Soc. 65, 289-293 (1943).
- /26/ YUSUPOV, M.I. e SIDYAKIN, G.P.: Fraxidinad Isofraxidin from Artemisia scotina. Khim.prirod. Soedinenii 11, 91 (1975).
- /27/ FINKELSTEIN, N. e RIVETT, D.E.A.: Puberulin, a new prenyloxy-coumarin from Agasthoma puberula. Phytochemistry 15(6), 1080-1081 (1976).
- /28/ GRIGG, R.; KNIGHT, J.A. e ROFFEY, P.: NMR solvent shifts and structure elucidation in coumarins. Tetrahedron 22, 3301-3304 (1966).
- /29/ WILLIAMS, D.H. e BHACCA, N.S.: Solvent effects in NMR spectroscopy-III. Chemical shifts induced by benzene in Ketones. Tetrahedron 21, 2021-2028 (1965).
- /30/ WILSON, R.G.; BOWIE, J.H. e WILLIAMS, D.H.: Solvent effects in NMR spectroscopy-solvent shifts of methoxyl resonances in flavones induced by benzene; an aid to structure elucidation.

- Tetrahedron 24 ,1407-1414(1968).
- /31/ BARNES,C.S. e OCCOLOWITZ,J.L.: The mass spectra of some naturally occurring oxygen hetrocycles and related compounds . Aust.J.Chem 17, 975-986(1964).
- /32/ KUTNEY,J.P.; EIGENDORF,G. ; INABA,T. e DREYER,D.L.: Mass spectral fragmentation studies in monomeric and dimeric coumarins. Org.Mass Spectrometry 5, 249-263(1971).
- /33/ BOHLMANN,F.; ZDERO,C. e GRENZ,M.: Neue cumarine aus Peucedanum- und Pteronia-arten.Chem.Ber.108, 2955-2958(1975).
- /34/ GOODWIN,R.H. e POLLOCK,B.M.: Ultraviolet absorption spectra of Coumarin Derivatives. Arch. Biochem.Biophys.49,1-6(1954).
- /35/ GONZÁLEZ,A.G.; BARROSO,J.T.; DORTA,H.L;LUÍS,J.R. e RODRIGUEZ LUÍS,F.: Componentes de Umbeliferas. XVII.Cumarinas sencillas del Seseli tortuosum L.B.S.EUR.Anales de Química 74,979 -984 (1978).
- /36/ GONZÁLEZ,A.G.; CHICO,E.D.; LÓPEZ DORTA;H.; MEDINA,J.M. e RODRIGUEZ LUÍS,F.: Nuevas fuentes de cumarinas naturales.XXIX. Tres nuevas cumarinas de uma especie canaria de "Ruta".Anales de Química 72, 191-192(1976).
- /37/ COOPER,J.W.: "Spectroscopic Techniques for Organic Chemists". John Wiley e Sons, Inc. (1980),New York.
- /38/ SAIKI,Y.; UCHIDA,M.; OKEGAWA,O.e FUKUSHIMA,S.:On the mass spectra of several furanocoumarins having various isoprenoidal residues. Chem. Pharm.Bull.22(6), 1227-1232(1974).
- /39/ KUPCHAN,S.M. e MARUYAMA,M.: Reductive elimination of epoxides to Olefins with Zinc-copper couple.J.Org.Chem.36(9),1187-1191(1971).
- /40/ DREYER,D.L.: Constiuent of Thamnosma montana Torr and Frem . Tetrahedron 22,2923- 2927(1966).

- /41/ CUSSANS, N.J. e HUCKERBY, T.N.: Carbon-13 NMR spectroscopy of Heterocyclic compounds-II. A 20MHz study of Chemical shifts and carbon-proton coupling constants for coumarin and some Bromocoumarins. Tetrahedron 31, 2587-2590 (1975).
- /42/ CHANG, C.-J.; FLOSS, H.G. e STECK, W.: Carbon-13 Magnetic Resonance spectroscopy of coumarins. Carbon-13-Proton Long-range couplings. J. Org. Chem. 42 (8), 1337-1340 (1977).
- /43/ GÜNTHER, H.; PRESTIEN, J. e NATHAN, P.J.: ^{13}C -NMR spectra of coumarin and methoxycoumarins-A reinvestigation of charge density/chemical shift relations. Org. Magn. Resonance 7, 339-344 (1975).
- /44/ GOTTLIEB, H.E.: Techniques for signal assignment in ^{13}C -NMR spectroscopy of Naturally Occurring Aromatic Compounds. Israel J. of Chemistry 16, 57-67 (1977).
- /45/ CHANG, C.-J.: Carbon-13-Proton Long-range couplings of Phenols hydrogen bonding and stereospecificity. J. Org. Chem. 41 (10), 1881-1883 (1976).
- /46/ BOHLMANN, F. e JAKUPOVIC, J.: 8-oxo- δ -selinen und neue scopoletin-derivate aus Conyza- Arten. Phytochemistry 18, 1367-1370 (1979).
- /47/ BRIGGS, L.H. e COLEBROOK, L.D.: Infrared absorption spectra of methylenedioxy and aryl ether groups. Analytical Chemistry 29 (6), 904-910 (1957).
- /48/ JARVIS, M.W. e MORITZ, A.G.: Long-range coupling in substituted coumarins. Aust. J. Chem. 21, 2445-2449 (1968).
- /49/ "Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography" E. Merck (1971). Darmstadt, Germany.
- /50/ MAQUESTIAU, A.; VAN HAVERBEKE, Y.; FLAMMANG, R.; MISPREUVE, H.; KAISIN, M.; BRAEKMAN, J.C.; DALOZE, D. e TURSCH, B.: Study of

- Complex marine sterol mixtures by mass-Analyzed Ion Kinetic Energy Spectrometry. Steroids 31, 31-48 (1978). Chem. Abstract. 89:19509g (1978).
- /51/ KAGAN, J.: The photochemical conversion of caffeic acid to esculletin. A model for the synthesis of coumarins in vivo J. Am. Chem. Soc. 88, 2617-2618 (1966).
- /52/ VOGEL, A. I.: "Textbook of practical Organic Chemistry". Revised by Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Rogers, V.; Smith, P. W. G. e Tatchell, A. R. Longman Inc. fourth edition (1978). New York.
- /53/ POUCHERT, C. J.: "The Aldrich Library of Infrared Spectra". 2nd edition. a) 836A (1975) b) 908D (1975).
- /54/ EKELEY, J. B. e KLEMME, M. S.: The nitration of piperonal J. Am. Chem. Soc. 50, 2711-2715 (1928).
- /55/ BROKKE, M. E. e CHRISTENSEN, B. E.: Psoralene I.: certain reactions of xanthotoxin. J. Org. Chem. 23, 589-596 (1958).
- /56/ RILLIET, A. e KREITMANN, L.: Sur le 6-aminopipéronal et ses dérivés. Helv. Chim. Acta, IV, 588-599 (1921).
- /57/ CAMPBELL, K. N.; HOPPER, P. F. e CAMPBELL, B. K.: The preparation of methylenedioxy-methoxybenzaldehydes. J. Org. Chem. 16, 1736-1741 (1951).
- /58/ DAINS, F. B. e EBERLY, F.: p-Iodophenol. In "Org. Syntheses", coll. Vol II, 355-356 (1943).
- /59/ KURZ, M. E. e JOHNSON, G. J.: Aromatic hydroxylation with hydrogenperoxide-aluminum chloride. J. Org. Chem. 36 (21), 3184-3187 (1971).
- /60/ VLIET, E. B.: Hydroxy Hydroquinone Triacetate. In "Organic Syntheses", Coll. Vol I, 317-318 (1932).
- /61/ AMIARD, G. e ALLAIS, A.: Synthèses dans la série de l'esculé - tol. Bull. Soc. Chim France, 512-513 (1947).

- /62/ BALLANTYNE, M.M.; MURRAY, R.D.H. e McCABE, P.H.: Claisen rearrangements-II. Synthesis of six natural coumarins. Tetrahedron 27, 871-877 (1971).
- /63/ DEAN, F.M.; PARTON, B.; SOMVICHIAN, N. e TAYLOR, D.A.H.: The coumarin of Ptaeroxylon obliquum. Tet. Letters 23, 2147- 51 (1967).
- /64/ AHLUWALIA, V.K.; SACHDEV, G.P.; SESHADRI, T.R.: Partial alkylation of hydroxycoumarins. II. Aesculetin and 4-methyl daphnetin. Indian J. Chem 7(1), 59-60 (1969).
- /65/ MAGALHÃES, A.F.: Estudo Químico do Brosimum rubescens. Tese de Doutorado - USP (IQ) (1972).
- /66/ de MAHEAS, M.R.: La réaction de A. Vilsmeier et A. Haack. Bull. Soc. Chim. France, 5^a série, 1989-1999 (1962).
- /67/ AHLUWALIA, V.K.; SACHDEV, G.P.; SESHADRI, T.R.: Selective alkylation of 5,7 -dihydroxy-4-methyl coumarin. Indian J. Chem. 5, 461-463 (1967).
- /68/ GONZÁLEZ, A.G.; ESTÉVEZ, R.; ARENCIBIA, J.B. e PÉREZ, T.R.: Nuevas fuentes de cumarinas naturales. Anales de Química 69 (11), 1141-1147 (1973).
- /69/ NAIK, R.M. e THAKOR, V.M.: Formylation of Benzopyrones. I. Formylation of Hydroxycoumarins with hexamethylenetetramine. J. Org. Chem. 22, 1626-1629 (1957).
- /70/ OGATA, Y.; KAWASAKI, A. e SUGIURA, F.: Kinetics and mechanism of the Duff reaction. Tetrahedron 24, 5001-5010 (1968).
- /71/ ZAGOREVSKII, V.A. e SOVZENKO, Z.D.: Studies in the pyran series, its analogs and related compounds. X. Alkylation of aesculetin. zh. Obshch. Khim. 34 (12), 3987-91 (1964). Chem. Abstract. 62:9095 e.f
- /72/ MEHTA, R.H. e SETHNA, S.: Studies on 8-hydroxy coumarin. J. Indian. Chem. Soc. 40 (5) 384-386 (1963).

- /73/ SURREY, A.R.: Pyrogallol 1-monomethyl ether. In "Org.Syntheses" Coll.Vol.III, 759-760 (1955).
- /74/ HOCKING, M.B.: Dakin Oxidation of o-hydroxyacetophenone and some Benzophenones: Rate enhancement and mechanistic aspects. Can.J.Chem 51, 2384-2392 (1973).
- /75/ FIESER, L.F e FIESER, M. "Reagents for Organic Synthesis". John Wiley and Sons., Inc. Vol.I, p.467 (1967). New York.
- /76/ TOMITA, M. e AOYAGI, Y.: Cupric Oxide as an efficient catalyst in methylenation of catechols. Chem.Pharm.Bull. 16 (3), 523 - 526 (1968).
- /77/ HERZ, W.; BHAT, S.V. e SANTHANAM, P.S.: Coumarins of Artemisia dracunculoides and 3',6-dimethoxy-4',5,7-Trihydroxyflavone in A .arctica. Phytochemistry 9 , 891-984 (1970).
- /78/ WENKERT, E.; BUCKWALTER, B.L.; BURFITT, I.R.; GASIC, M.J; GOTTLIEB, H.E.; HAGAMAN, E.W.; SCHELL, F.M.; WOVKULICH, P.M. e ZHELEVA, A. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substances. In: "Topics in Carbon-13 NMR spectroscopy". Ed. Levy, G.C.; Wiley p.81-119 (1976). New York.
- /79/ BARGELLINI, G. e MONTI, L.: Ricerche sulle cumarine. Gazz.Chim Ital. 45, I, 90-98 (1915).
- /80/ BAKER, W. e BROWN, N.C.: The Elbs Persulfate oxidation of phenols, and its adaptation to the preparation of monoalkyl ethers of quinols. J.Chem.Soc. 2303-2307 (1948).
- /81/ BALLANTYNE, M.M.; MURRAY, R.D.H e PENROSE, A.B.: An-out-of ring Claisen rearrangement during the synthesis of Nieshoutin and obliquetin. Tet.Letters 39, 4155-4158 (1968).