



INSTITUTO DE QUÍMICA

ESTUDO QUÍMICO DE  
Endlicheria sericeae

CELIRA CAPARICA SANTOS  
Tese de Mestrado

Prof. Dr. ADERBAL FARIAS MAGALHÃES  
Orientador

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

CAMPINAS - 1976

À minha mãe, com muito carinho.

Meus sinceros agradecimentos,

- ao Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães pela dedicação demonstrada durante todo o desenvolvimento deste trabalho.
- à Profa. Dra. Eva Gonçalves Magalhães pela colaboração constante e ótimas sugestões.
- ao Prof. Dr. Otto Richard Gottlieb por ter conseguido os extratos vegetais junto ao Prof. José Guilherme Soares Maia do INPA e pelo seu grande interesse no progresso desta pesquisa.
- ao Prof. Dr. Aerovaldo Dell'Acqua por me haver iniciado no campo da pesquisa em química orgânica.
- à Edna Maria Quero pelos excelentes trabalhos feitos no laboratório.
- aos meus colegas que de algum modo contribuíram para a execução desta tese.
- ao Instituto de Química da Unicamp que propiciou todas as condições para a concretização deste trabalho.
- à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelas bolsas concedidas.
- a Deus pela direção que tem dado à minha vida.

## RESUMO

Submetemos o extrato benzênico de Endlicheria sericeae (Lauraceae) aos processos cromatográficos usuais e isolamos quatro substâncias inéditas, sitosterol, sitostenona e manitol.

Determinamos as estruturas moleculares das substâncias novas através dos métodos físicos de análise (espectrometria na região do infravermelho e ultravioleta, de ressonância magnética protônica, de massa, etc...). Todas elas mostraram possuir o esqueleto básico das cromanonas, que são derivados policetídios que foram encontrados em espécies inferiores, mas que nunca haviam sido isolados de lauráceas. Isto nos fez formular a hipótese de infestação do vegetal estudado por fungos.

Finalmente, propomos uma possível rota biossintética para a formação das cromanonas isoladas.

## ABSTRACT

Sitosterol, sitostenone, mannitol and four previously unknown compounds were isolated from the benzene extract of Endlicheria sericeae (Lauraceae) by the usual chromatographic methods.

The molecular structures of the new compounds all of which showed the cromanone skeleton, were determined by physical methods of analysis (i.e. infrared, ultraviolet, protonic magnetic resonance and mass spectrometry).

Cromanones are policetidic derivatives found in inferior species of plants but have never been isolated in lauraceas. This leads us to believe that the plant studied was infested by fungus.

Finally, we have formulated a possible biosynthetic route for the formation of the isolated cromanones.

## Í N D I C E    G E R A L

Introdução .....	1
Características botânicas de <u>Endlicheria sericeae</u> .....	4
Identificação dos constituintes químicos do vegetal:	
- Es-1 .....	9
- Es-2 .....	15
- Es-3 .....	17
- Es-4 .....	23
- Es-5 .....	26
- Es-6 .....	29
- Es-7 .....	30
Espectros .....	31
Possível rota biossintética de cromanonas .....	52
Parte experimental .....	56
Bibliografia .....	64

## INDICE DE TABELAS

I	. Ocorrência de 2-metilcromanonas em plantas brasileiras .....	6
II	. Diferenças de deslocamentos químicos para protons e grupos metílicos no espectro de r.m.p. induzidos por piridina .....	11
III	. Diferenças de deslocamentos químicos para a Es-1 induzidos por piridina .....	13
IV	. Diferenças de deslocamentos químicos indu- zidos por piridina em flavanonas .....	14
V	. Diferenças de deslocamentos químicos para a Es-2 induzidos por piridina .....	19
VI	. Diferenças de deslocamentos químicos para a Es-3 induzidos por piridina .....	21
VII	. Diferenças de deslocamentos químicos para a Es-4 induzidos por piridina .....	26
VIII	. Tabela comparativa dos efeitos induzidos por piridina nos espectros r.m.p. das cro- manonas isoladas .....	28
IX	. Solventes usados no processo de separação das substâncias obtidas .....	58
X	. Frações isoladas do extrato benzênico no processo experimental .....	59

## ÍNDICE   DOS   QUADROS

I	. Fórmulas estruturais das cromanonas isoladas em plantas brasileiras .....	7
II	. Associação piridina-hidroxila fenólica .....	11
III	. Caminhos principais de fragmentação da Es-1 no espectrômetro de massa .....	12
IV	. Caminhos principais de fragmentação da Es-2 no espectrômetro de massa .....	18
V	. Caminhos principais de fragmentação da Es-3 no espectrômetro de massa .....	22
VI	. Caminhos principais de fragmentação da Es-4 no espectrômetro de massa .....	27
VII	. Proposta de biossíntese para as cromanonas .....	55
VIII	. Esquema do caminho para obtenção dos extratos vegetais .....	58

## Í N D I C E   D E   F I G U R A S

1. Espectro na região do infravermelho da Es-1 .....	32
2. Espectro de ressonância magnética protônica da Es-1 ( $\text{CDCl}_3$ ) .....	33
3. Espectros na região do ultravioleta da Es-1 .....	34
4. Espectro de massa da Es-1 .....	35
5. Espectro de r.m.p. em deuteriopiridina da Es-1 .....	36
6. Espectro na região do infravermelho da Es-2 .....	37
7. Espectro de r.p.m. da Es-2 ( $\text{CCl}_4$ ) .....	38
8. Espectros na região do ultravioleta da Es-2 .....	39
9. Espectro de r.m.p. em deuteriopiridina da Es-2 .....	40
10. Espectro de massa da Es-2 .....	41
11. Espectro na região do infravermelho da Es-3 .....	42
12. Espectro de r.m.p. da Es-3 ( $\text{CCl}_4$ ) .....	43
13. Espectros na região ultravioleta da Es-3 .....	44
14. Espectro de massa da Es-3 .....	45
15. Espectro de r.m.p. em deuteriopiridina da Es-3 .....	46
16. Espectro na região do infravermelho da Es-4 .....	47
17. Espectro de r.m.p. da Es-4 ( $\text{CCl}_4$ ) .....	48
18. Espectros na região do ultravioleta da Es-4 .....	49
19. Espectro de r.m.p. em deuteriopiridina da Es-4 .....	50
20. Espectro de massa da Es-4 .....	51



Este trabalho foi realizado sob a orientação do  
Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães.

## I N T R O D U Ç Ã O

O estudo químico de vegetais tem se revelado muito interessante, não só pela descoberta de substâncias novas, com estruturas moleculares muitas vezes inéditas, como também pela descoberta de substâncias fisiologicamente ativas que se tornaram economicamente importantes para a indústria farmacêutica.

Por outro lado, a constituição química do vegetal, tem sido de utilidade como auxiliar no estudo de sua classificação botânica, através da quimiotaxonomia, a classificação da espécie de acordo com sua composição química.

Finalmente, os estudos relacionados com a biossíntese de produtos naturais, fornecem informações valiosas a respeito da origem e do grau evolutivo das espécies. Além disso, o conjunto de trabalhos isolados permite o acúmulo de dados imprescindível à realização de uma sistemática bioquímica. Por exemplo, os derivados 2-pirônicos aromáticos comumente isolados em espécies do gênero Aniba (Lauraceae), só foram encontrados em organismos primitivos como no fungo Polyporus hispidus<sup>(1),(3)</sup>. A única exceção a esta característica é a espécie Mundulea sericea (Rosales) que, embora seja evolucionariamente mais recente que Aniba, possui derivados 2-pirônicos<sup>(1),(4)</sup>. Estas observações permitem formular a hipótese de que Aniba talvez seja um gênero de origem mais remota na história da família Lauraceae.

Outro exemplo, a sistemática bioquímica levou Harborne a estabelecer o grau evolucionário de flavonóides. Então, a perda de grupo hidroxila nas posições 3,4 e 5 em flavonóides de determinados gêneros de plantas, revela que estas estão em um estágio evolucionário bastante avançado<sup>(5)</sup>.

Do ponto de vista acadêmico, a química dos produtos naturais oferece ao pesquisador um campo muito vasto que lhe permite desenvolver seus conhecimentos de química orgânica, o uso dos mais variados métodos espectroscópicos, além de sua capacidade imaginativa, pois são requisitos indispensáveis à elucidação das estruturas moleculares.

Finalmente, a necessidade de sintetizar as substâncias isoladas para comprovação total de suas estruturas moleculares, obriga o químico a empregar seus conhecimentos e sua técnica no desenvolvimento de métodos de sínteses adequados.

As lauráceas constituem uma família de vegetais abundantemente distribuída nos trópicos, apresentando muitas espécies na Ásia tropical e na América tropical. No Brasil, elas são largamente difundidas na Amazônia. Excepcionalmente, ocorrem em zonas temperadas tais como no Chile e no sul do Canadá<sup>(1)</sup>.

Muitas espécies são exploradas economicamente desde há muito tempo, devido à grande quantidade de óleos essenciais, à gordura dos caroços, às drogas, à canela, ao louro etc... Com respeito ao estudo químico desses vegetais, entretanto, quase nada se conhecia; apenas um capítulo do livro "Chemotaxonomie der Pflanzen"<sup>(1),(2)</sup>.

Foi então que, Gottlieb et al interessaram-se pelo estudo quimiotaxonômico desta família e os trabalhos já realizados<sup>(1)</sup> mostram que os principais metabólitos isolados em lauráceas brasileiras são, fundamentalmente, derivados de precursores  $C_6C_3$  (arilpropanóides, bis-arilpropanóides, etc...) ou de precursores  $C_6C_2N$  (alcalóides e pseudo-alcalóides).

Posteriormente, foram isolados bis-arilpropanóides com estruturas inéditas, as neolignananas, que caracterizam-se por apresentarem a posição gama do esqueleto  $C_6C_3$  não oxigenada<sup>(6)</sup>. A ocorrência de neolignananas, ao contrário do que ocorre com as lignanas, parece ser restrita a Magnoliales e Piperales. Das famílias de Magnoliales em que foram isoladas neolignananas a família Lauraceae destaca-se como sendo a que apresentou maior número destes compostos<sup>(6)</sup>.

Como a maioria das neolignananas isoladas em lauráceas brasileiras pertencem aos gêneros Aniba e Licaria e estes gêneros são muito relacionados, pareceu-nos interessante que nos dedicássemos ao estudo químico de uma espécie do gênero Endliche-ria, por se tratar de um gênero que pertence à mesma tribo que os gêneros Aniba e Licaria (Apollonieae)<sup>(7)</sup>, mas que, até agora, permanecia totalmente inexplorado.

A pesquisa que realizamos, entretanto, não nos levou a isolar nenhuma das classes de substâncias já isoladas dos gêneros da família Lauraceae, mas sim uma classe de substâncias que nunca havia sido isolada em lauráceas, as cromanonas.

Como as cromanonas são derivados policetídios mais comuns em plantas inferiores, fizemos uma revisão bibliográfica e verificamos que este tipo de composto foi isolado pela primeira vez por Bu'Lock et al, estudando árvores infestadas pelos fungos Daldinia concentrica<sup>(8)</sup>.

Durante o desenrolar de nossa pesquisa, entretanto, subitamente começaram a surgir cromanonas em diferentes gêneros de diferentes famílias de plantas brasileiras (ver tabela I e quadro I)<sup>(9)</sup>. (Os trabalhos feitos em Rheedia gardneriana e Anacardium parvifolium são anteriores ao nosso mas não foram publicados). Tal fenômeno nos fez levantar a hipótese de que, em todos os casos, as cromanonas sejam metabólitos de fungos infestadores da espécie vegetal em estudo.

Além de obtermos quatro cromanonas que designamos de Es-1, Es-2, Es-3 e Es-4, isolamos sitosterol (Es-5), sitostenona (Es-6) e manitol (Es-7).

O Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia realiza atualmente um trabalho para analisar o ataque de fungos em espécies brasileiras de diferentes famílias, e alguns gêneros de fungos já foram identificados, entre os quais encontram-se os gêneros Aspergillus e Penicillium.

#### CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DE Endlicheria sericeae<sup>(7)</sup>

A família Lauraceae é predominantemente arbórea, marcadamente homogênea e muito relacionada à Monimiaceae. A tribo Apollonieae distingui-se por apresentar frutos maduros não inclusos, ou parcialmente inclusos, no cálice. A presença de flores macho e fêmea distintas diferencia o gênero Endlicheria dos demais membros da tribo. Este gênero apresenta-se como árvores e arbustos e possui folhas coriáceas.

Endlicheria sericeae Nees é uma espécie arbórea encontrada nas Índias ocidentais, na Venezuela e no Brasil (Amazônia), cuja madeira é explorada para confecção de móveis.

Sinônimos: Goeppertia nees (1836), Schauera nees (1836), Schaueria nees ex meisn (1864), Ampelodaphne meisn (1864) e Huberodaphne ducke (1925).

A árvore que forneceu o extrato para realização

deste trabalho foi coletada na Reserva Florestal A. Ducke, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Foi identificada morfológicamente pelo botânico William Rodrigues e catalogada no herbário do INPA sob nº 49.

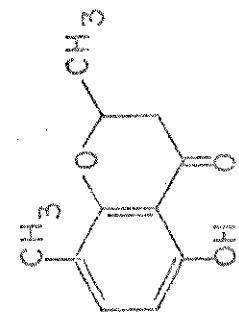
TABELA I  
 OCORRÊNCIA DE 2-METILCROMANONAS EM PLANTAS BRASILEIRAS<sup>(9)</sup>

ESPECIE	ORIGEM	ISOLAMENTO*	ANO
<u>Rheedia gardneriana</u> Pl. et Tr. (Gutt.)	Recife	1	1969
<u>Anacardium parvifolium</u> Ducke (Anac.)	Manaus	1 e 2	1972
<u>Mora paraensis</u> (Legum.)	Belém	1	1974
<u>Endlicheria sericeae</u> Nees (Lauraceae)	Manaus	1,3,4 e 5	1975
<u>Macrolobium bifolium</u> (Legum.)	Belém	1 e 5	1975
<u>Ocotea argyrophilla</u> Ducke (Lauraceae)	Manaus	1,4 e 6	1975
<u>Panopsis sessilifolia</u> (Proteacea)	Belém	1 e 4	1975
<u>Virola caducifolia</u> (Myri.)	Manaus	7	1975
<u>Virola venosa</u> (Benlh.) Warb. (Myri.)	Manaus	8	1975
<u>Theobroma grandiflorum</u> (Spreng.) Schum. (Ster.)	Manaus	1,4 e 6	1975
<u>Theobroma sylvestre</u> Mart. (Ster.)	Manaus	1,4 e 6	1975

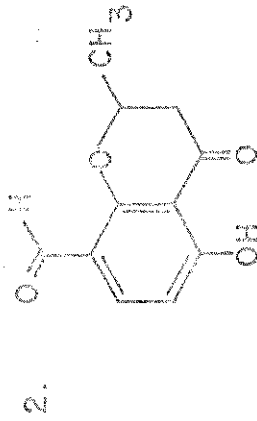
\* Ver quadro I.

QUADRO - I

5-hidroxi-2-metil-4-cromononas isoladas em plantas brasileiras

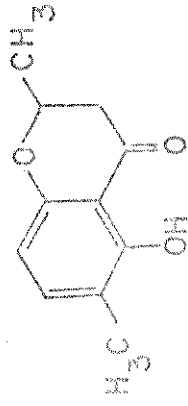


5-hidroxi-2,8-dimetil-4-cromonona



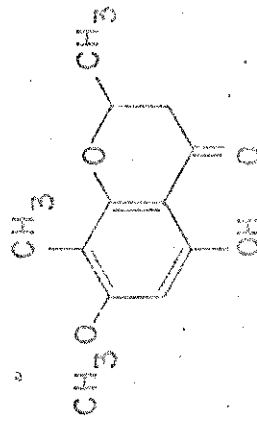
8-formil-5-hidroxi-2-metil-4-cromonona

3.



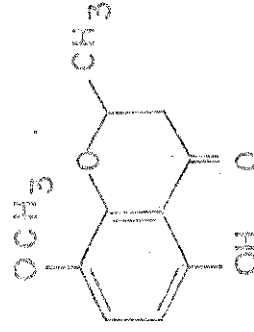
5-hidroxi-2,6-dimetil-4-cromonona

4.



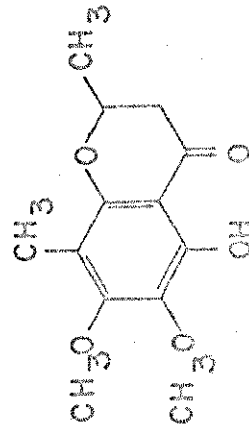
5-hidroxi-2,6,7-trimetil-4-cromonona

5.



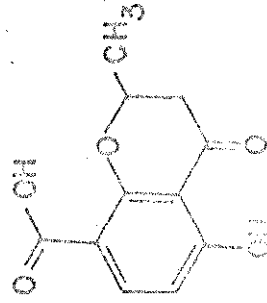
5-hidroxi-2-metil-6-metoxi-4-cromonona

6.



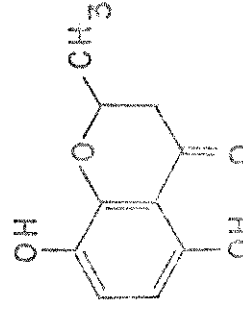
5-hidroxi-2,6,7-trimetil-4-cromonona

7.



8-carbóxi-5-hidroxi-2-metil-4-cromonona

8.



5,8-dihidroxi-2-metil-4-cromonona



IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE

Endlicheria sericeae

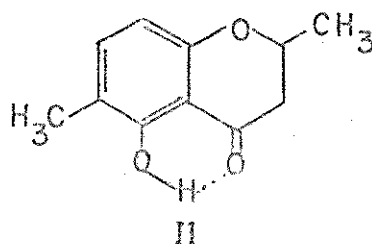
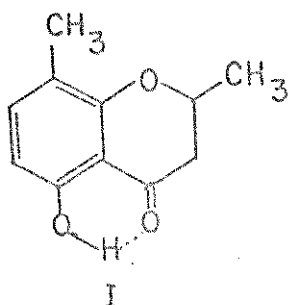
IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO EXTRATO BENZÊNICO DE  
Endlicheria sericeae

- Es-1 -

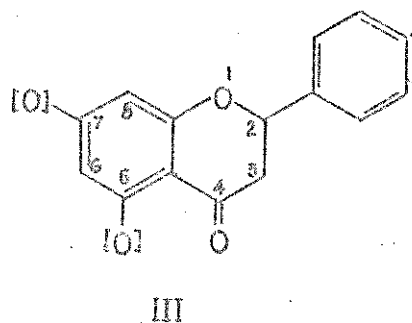
A Es-1 é um sólido cristalino que funde a 123-4°C. A análise do seu espectro na região do infravermelho (fig. 1) informou principalmente a existência de uma substância aromática ( $\nu_{C=C}$ , 1480 e 1615  $\text{cm}^{-1}$ ) possuindo um grupo carbonila muito conjugado ( $\nu_{C=O}$ , 1665  $\text{cm}^{-1}$ ) e/ou possivelmente com um grupo hidroxila em peri ( $\nu_{O-H}$ , 2970  $\text{cm}^{-1}$ )<sup>(10)</sup>. O espectro de ressonância magnética protônica (fig. 2) apresentou algumas bandas que confirmam estes dados. Assim, podemos interpretar que a absorção simples em -0,97 $\tau$  (1H) corresponde ao hidrogênio da hidroxila fenólica quelatogênica, enquanto que as duas bandas duplas em 2,82 $\tau$  (1H, J 8,5 Hz) e 3,32 $\tau$  (1H, J 8,5 Hz) correspondem a dois protons aromáticos em orto<sup>(11)</sup>. A banda simples em 7,87 $\tau$  (3H) é compatível com a esperada para a absorção dos protons de um grupo metílico ligado a anel aromático. A banda dupla em 8,5 $\tau$  (3H, J 6,5 Hz) e a banda múltipla em 5,38 $\tau$  (1H) sugerem, respectivamente, a presença de um grupo metílico e um hidrogênio oxometínico acoplados. Finalmente, as duas bandas duplas em 7,35 $\tau$  (1H, J 10,0 e 16,0 Hz) e as duas bandas duplas em 7,12 $\tau$  (1H, J 4,5 e 16,0 Hz) representam protons metilênicos em alfa a uma carbonila que também parecem estar acoplados com o hidrogênio oxometínico<sup>(12)</sup>.

Os estudos dos espectros de flavanonas oxigenadas, na região do ultravioleta com aditivos são muito informativos. Sabe-se, por exemplo, que o máximo principal dos espectros de 5-hidroxi-flavanonas em soluções alcoólicas sofrem forte deslocamento batocrômico, após a adição de cloreto de alumínio, enquanto que para 7-hidroxi-flavanonas o mesmo fenômeno é observado na presença de acetato de sódio<sup>(13)(14)</sup>. Bu'Lock et al<sup>(8)</sup> utilizaram esta técnica na determinação da estrutura molecular da 5-hidroxi-2-metil-4-cromanona que isolaram de Daldivia concentrica. Achamos pois interessante estudar o espectro no ultravioleta da Es-1 em etanol e comparar com os espectros na presença de cloreto de alumínio e de acetato de sódio. O espectro tirado em solução etanólica na presença de acetato de sódio não apresentou nenhuma modificação, mas o que foi registrado em solução etanólica diante de cloreto de alumínio apresentou forte deslocamento batocrômico ( $\Delta\lambda=38\text{nm}$ ) (fig. 3).

Todos esses dados nos levaram a concluir que a Es-1 é uma 5-hidroxi-2-metil-4-cromanona, possuindo um grupo metílico ligado ao anel aromático, o que nos fornece duas alternativas estruturais:



Para decidir qual delas corresponde à estrutura molecular da Es-1, fizemos o teste de Gibbs modificado<sup>(15)</sup>, cujo resultado negativo, indicando a posição para a hidroxila substituída, não deixa dúvidas para concluirmos que a Es-1 é a 5-hidroxi-2,8-dimetil-4-cromanona (I). Embora o teste de Gibbs<sup>(16)</sup> seja realizado em meio alcalino, o que poderia provocar a abertura do anel pirônico, dando resultados falsos, queremos salientar que ele tem sido usado para flavanonas (III)<sup>(17)</sup>, que são sistemas mais lábeis do que cromanonas. Além disso, Bu'Lock et al utilizaram o teste para 4-cromanonas com êxito.



O espectro de massa da Es-1 (fig. 4) apresentou pico molecular correspondente a 192 u.m.a. de acordo com a estrutura proposta. No quadro III sugerimos alguns caminhos de fragmentação principais.

Uma outra tentativa de evidenciar a estrutura de Es-1 representada por (I), foi realizada com o estudo do efeito do solvente (pentadeuteriopiridina) em ressonância magnética protônica. Wenkert et al<sup>(18)</sup> demonstraram que piridina se associa a

Quadro II - Associação de piridina com centros eletrodeficientes:

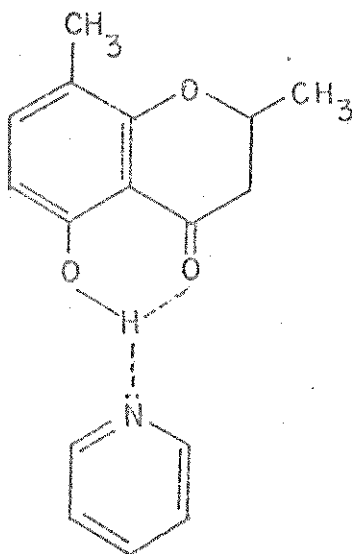
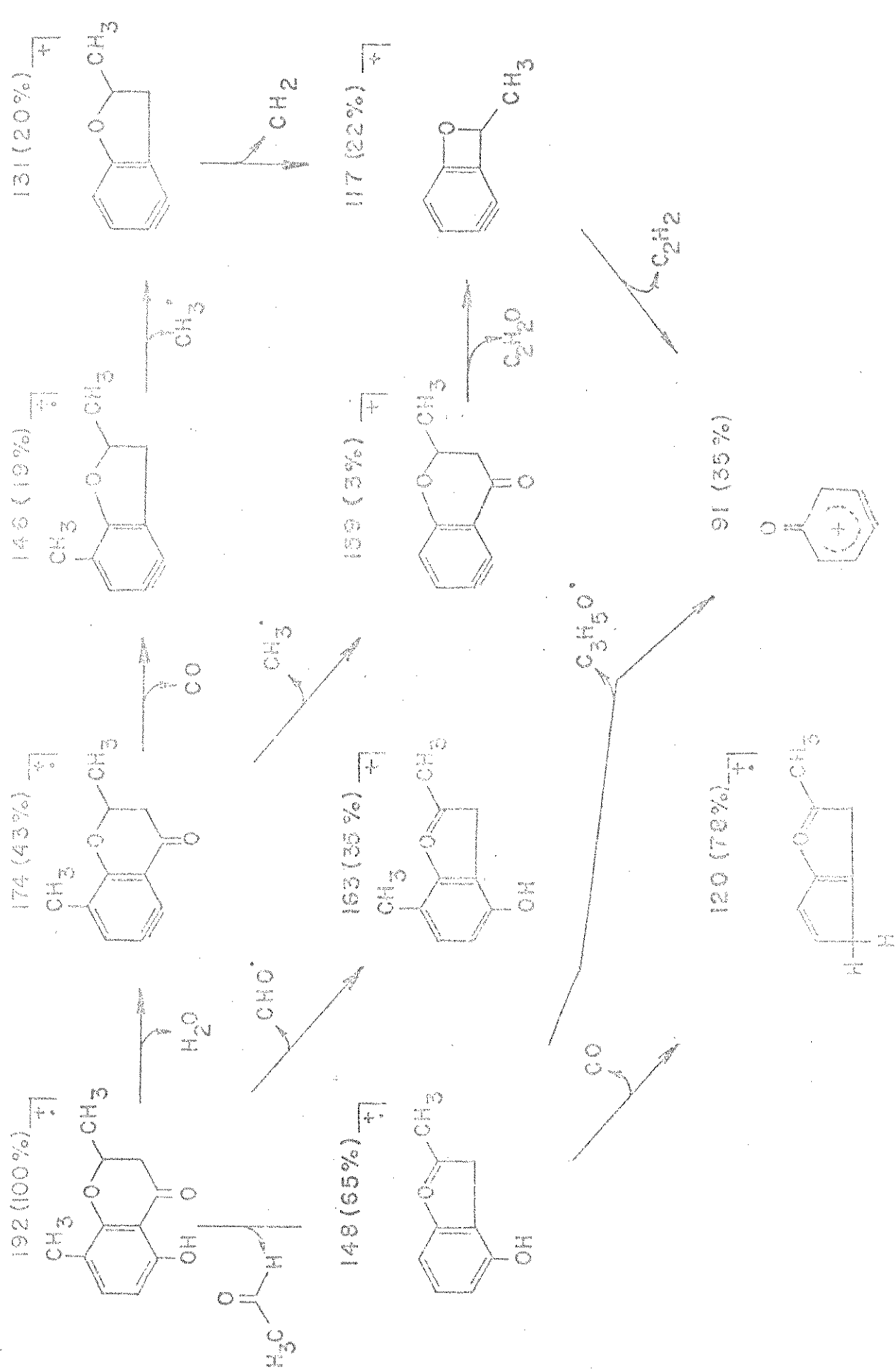


TABELA II. FAIXAS DE VALORES OBSERVADOS PARA PROTONS E CH<sub>3</sub> EM FENÓIS<sup>(17)</sup>

PROTON	$\Delta$ , ppm	
o - H	- 0,37 a - 0,48	
m - H	- 0,09 a - 0,16	overlap parcial
p - H	- 0,02 a - 0,13	
o - CH <sub>3</sub>	- 0,22 a - 0,29	
m - CH <sub>3</sub>	+ 0,03 a - 0,03	overlap parcial
p - CH <sub>3</sub>	+ 0,05 a - 0,05	

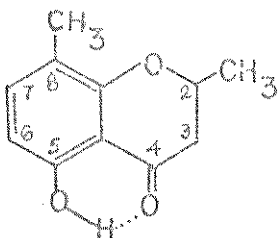


centros deficientes de eletrons (quadro II), promovendo a desproteção de sistemas atômicos vizinhos ao centro de associação. Assim, a comparação dos espectros de ressonância magnética protônica em solução de deuteroiclorofórmio e de pentadeuteriopiridina pode ser de grande valia na determinação de algumas estruturas moleculares (tabela II).

O sinal em  $2,82\tau$  do espectro de ressonância magnética protônica da Es-1 em deuteroiclorofórmio (fig. 2) só pode ser atribuído ao proton em  $C_7$  por ser, magneticamente, o mais desprotegido. A dúvida estaria na localização do hidrogênio em orto ( $C_6$  ou  $C_8$ ) cuja banda de absorção aparece em  $3,32\tau$  no referido espectro.

A tabela III indica um deslocamento paramagnético ( $-0,22$  ppm) da banda em  $3,32\tau$  ao passarmos do espectro em solução clorofórmica para o de solução piridinica (fig. 6). Embora esta diferença seja menor do que aquelas observadas pelos referidos autores (tabela II), nossos dados correspondem às experiências realizadas por Gottlieb *et al* (tabela IV)<sup>(19), (20)</sup>. Wenkert *et al* não registram experiências com substâncias contendo grupo hidroxila quelatogênico. Assim, fica confirmada a posição C-6 para o proton representado em  $2,82\tau$  de acordo com a estrutura proposta (I).

TABELA III. DESLOCAMENTOS QUÍMICOS INDUZIDOS POR PIRIDINA NA Es-1

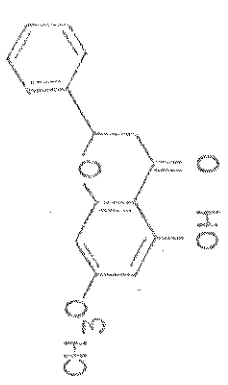
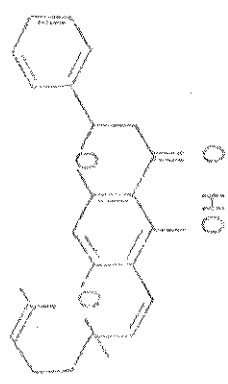
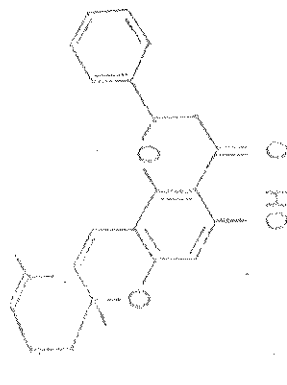
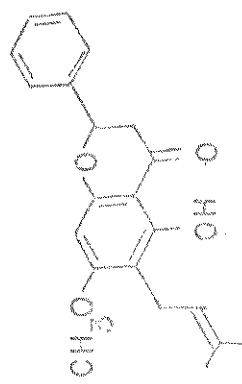
ESTRUTURA	GRUPO	$\tau(\text{CDCl}_3)$	$\tau(\text{py})$	$\Delta^*, \text{ppm}$	EFEITO
	$\text{CH}_3$ -2	8,50	8,58	+ 0,08	proteção
	$\text{H}_1$ -2	5,38	5,51	+ 0,13	proteção
	$\text{H}_2$ -3	7,12	7,23	+ 0,11	proteção
		7,36	7,50	+ 0,14	proteção
	$\text{OH}$ -5	- 0,97	-	-	-
	$\text{H}_1$ -6	3,32	3,10	- 0,22	desproteção
	$\text{H}_1$ -7	2,82	2,76	- 0,06	desproteção
	$\text{CH}_3$ -8	7,83	7,88	+ 0,05	proteção

$$* \Delta = \tau_{\text{py}} - \tau_{\text{CDCl}_3}$$

TABELA - IV

(19, 20)

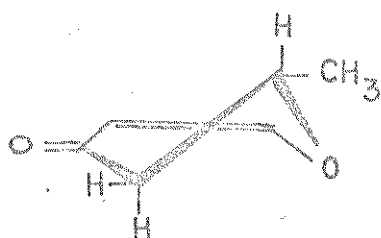
DIFERENÇAS DE DESLOCAMENTOS QUÍMICOS [Δ] CAUSADOS POR PIRIDINA

ESTRUTURA MOLECULAR	ESTRUTURA MOLECULAR				
					
H-6	CDCl <sub>3</sub>	3,90	—	4,00	—
	Py	3,73	—	3,73	—
	Δ	- 0,17	—	- 0,27	—
H-8	CDCl	3,90	4,04	—	3,89
	Py	3,78	3,82	—	3,77
	Δ	- 0,12	- 0,22	—	- 0,12

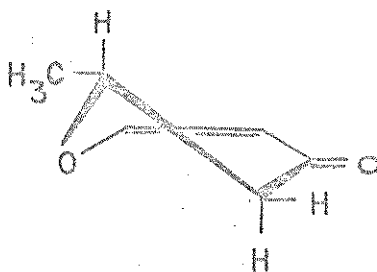
É interessante observar que, mesmo tendo sido isolada por processos brandos, Bu'Lock *et al* afirmam que a 5-hidroxi-2-metil-4-cromanona de Daldinia concentrica<sup>(8)</sup> é opticamente inativa o que sugere que ela tenha se formado de um precursor de cadeia aberta. No nosso caso entretanto, a substância é opticamente ativa,  $[\alpha]_D = 115^{\circ}$ .

A interpretação das constantes de acoplamento das bandas correspondentes aos protons do anel pirônico, indicam claramente que as duas bandas duplas centradas em  $7,12\tau$ , correspondem ao hidrogênio em C-3 na posição equatorial ( $J_{ae} = 4,5$  Hz), estabelecendo um ângulo diedro de aproximadamente  $60^{\circ}$  com o hidrogênio axial oxometínico<sup>(20)</sup>; e as duas bandas duplas em  $7,35\tau$  correspondem ao hidrogênio axial em C-3, formando um ângulo diedro de aproximadamente  $180^{\circ}$  ( $J_{aa} = 10,0$  Hz) com o hidrogênio axial em C-2.<sup>(21),(22),(23)</sup>

Assim, o grupo metílico em C-2 está em posição equatorial, e Es-1 apresenta, finalmente, duas possíveis configurações absolutas, (R) ou (S):



(R)

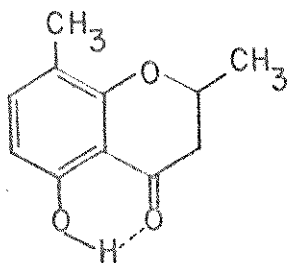


(S)

- Es-2 -

A substância Es-2 é um sólido cristalino incolor, que funde a  $100-2^{\circ}\text{C}$ . O estudo do seu espectro na região do infravermelho (fig. 7), indicou principalmente: a existência de anel aromático ( $\nu_{C=C}$ ,  $1460$  e  $1625$   $\text{cm}^{-1}$ ), possuindo um grupo carbonila em situação idêntica à da Es-1 (I), ou seja, uma cetona aromática com uma hidroxila em peri, representadas por uma banda intensa em  $1665$   $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{C=O}$ ) e uma absorção fraca em  $2970$   $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu_{O-H}$ ).

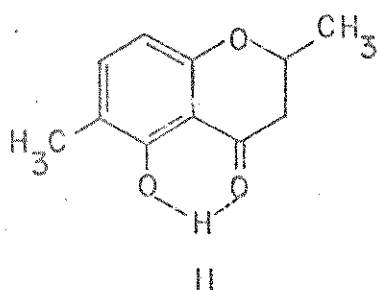




I

Algumas absorções do espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8) confirmam estes dados. Assim, a banda simples em  $-1,20\tau$ , equivalente a um hidrogênio, pode ser interpretada como de uma hidroxila quelatogênica e as duas bandas em  $2,90\tau$  e  $3,60\tau$  equivalentes a um hidrogênio cada, com constantes de acoplamento de  $7,5\text{ Hz}$ , como de dois protons aromáticos em orto<sup>(11)</sup>. Além disso, a absorção simples em  $7,81\tau$ , correspondente a três hidrogênios, é compatível com a esperada para um grupo metílico ligado a anel aromático e a banda dupla em  $7,20\tau$ , aparentemente, representa dois hidrogênios, quimicamente equivalentes, em posição alfa à carbonila e que parecem estar acoplados com o proton oxometínico representado pela banda múltipla em  $5,39\tau$  ( $J\ 7,0\text{ Hz}$ ). A banda dupla em  $8,49\tau$  ( $J\ 6,0\text{ Hz}$ ) representa um grupo metílico vizinho a um oxigênio e a um hidrogênio.

Inicialmente, relutamos em admitir que Es-2 se tratasse do isômero constitucional de Es-1, representado pela estrutura II, devido às configurações das absorções referentes aos protons em C-2 e C-3 ( $7,20\tau$  e  $5,39\tau$  respectivamente), do espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8). Entretanto, o espectro na região do ultravioleta da Es-2 (fig. 9), praticamente superponível ao da Es-1 (fig. 3), o que evidencia iguais padrões de oxigenação. Por outro lado, o espectro tirado em solução etanólica na presença de acetato de sódio, não apresentou nenhuma modificação em relação ao espectro original, mas o que foi registrado em solução etanólica diante de cloreto de alumínio, apresentou forte deslocamento batocrômico ( $\Delta\lambda = 40\text{ nm}$ ) do máximo principal (fig. 9) tal como ocorreu no espectro na região do ultravioleta da Es-1 (fig. 3).



A comparação dos espectros de ressonância magnética protônica em solução de tetracloreto de carbono e de pentadeuteriopiridina mostra que o sinal em 3,60 $\tau$  sofre um deslocamento paramagnético (-0,12 ppm) (tabela V) ao passarmos do espectro em solução de tetracloreto de carbono para o de solução de piridina (fig. 10), o que confirma a inexistência de proton em orto à carbonila, mas estaria de acordo com hidrogênio em para (ver tabela II).

O resultado positivo do teste de Gibbs modificado<sup>(15)</sup>, indicando posição para à hidroxila livre de substituição, confirma nossa expectativa.

O espectro de massa de Es-2 (fig. 11) apresentou pico molecular correspondente a 192 u.m.a., como esperávamos. O quadro IV mostra os principais caminhos de fragmentação que propusemos em analogia à fragmentação da Es-1 (quadro III).

Atribuímos as diferenças observadas na abundância de alguns fragmentos, ao compararmos o espectro de massa da Es-2 com o espectro da Es-1 (fig. 4), à maior possibilidade de, neste caso, haver formação de íon tropílium relativamente mais estável que o derivado benzino proposto na fragmentação da Es-1.

É interessante observar que apesar da feição do espectro de ressonância magnética protônica, na região dos sinais de absorção referentes aos protons em C-2 e C-3, o composto é opticamente ativo,  $[\alpha]_D^{25} = -78^{\circ}$ , possuindo o C-2 uma configuração R ou S, ainda não estabelecida (ver fig. p. 15).

- Es-3 -

A substância Es-3 é um sólido incolor de baixo ponto de fusão (65-70°C). O seu espectro na região do infravermelho (fig. 12) apresentou absorções típicas de anel aromático (1610 a

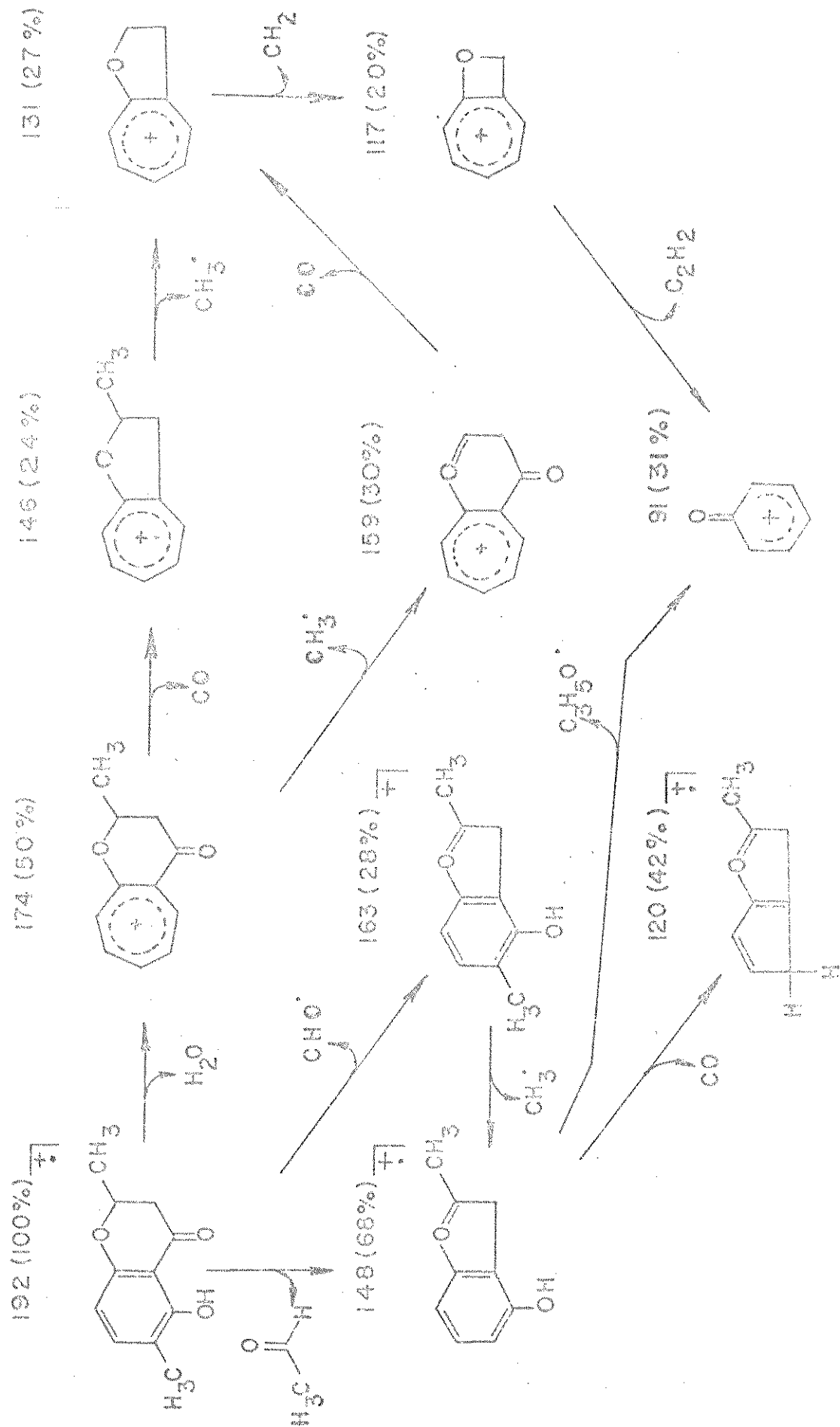
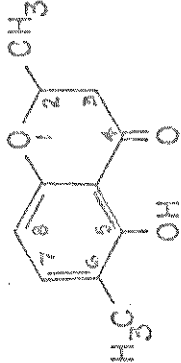


TABELA V - DESLOCAMENTOS QUÍMICOS INDUZIDOS POR PIRIDINA NA Es-2

ESTRUTURA	GRUPO	$\tau(\text{CCl}_4)$	$\tau(\text{py})$	$\Delta^*$ , ppm	EFEITO
	$\text{CH}_3 - 2$	8,51	8,74	+ 0,23	proteção
	$\text{H}_1 - 2$	5,39	5,40	+ 0,01	proteção
	$\text{H}_2 - 3$	7,20	7,31	+ 0,11	proteção
	$\text{OH} - 3$	-1,20	-	-	-
	$\text{CH}_3 - 6$	7,81	7,78	- 0,03	desproteção
	$\text{H}_1 - 7$	2,90	2,80	- 0,10	desproteção
	$\text{H}_1 - 8$	3,60	3,48	- 0,12	desproteção

$$*\Delta = \tau_{\text{py}} - \tau_{\text{CCl}_4}$$

a  $1475 \text{ cm}^{-1}$ ); além disso, apresentou uma banda intensa em  $1670 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) e uma absorção fraca em  $2960 \text{ cm}^{-1}$  que indicam a existência de um grupo carbonila em situação análoga às das substâncias anteriores (Es-1 e Es-2), isto é, com um grupo hidroxila em peri.

O espectro de ressonância magnética protônica (fig. 13) também se assemelha muito com aqueles das substâncias já analisadas, e confirmou nossas interpretações para as principais bandas do espectro na região do infravermelho. Assim, a banda simples em  $-0,23\tau$ , equivalente a um hidrogênio, representa a hidroxila quelatogênica e as duas bandas em  $3,15\tau$  e  $3,45\tau$ , equivalentes a um hidrogênio cada, com constantes de acoplamento de  $9,0 \text{ Hz}$ , representam dois protons aromáticos em orto<sup>(11)</sup>.

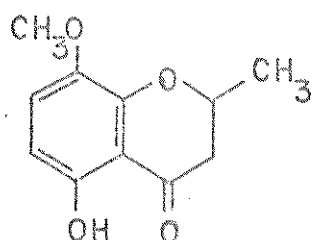
Além disso, a absorção simples em  $6,35\tau$ , correspondente a três hidrogênios, pode ser interpretada como de um grupo metoxílico ligado ao anel aromático. A banda dupla em  $8,65\tau$  ( $3\text{H}$ ,  $J$   $7,0 \text{ Hz}$ ) e a banda múltipla em  $5,65\tau$  ( $1\text{H}$ ), sugerem, respectivamente, a presença de um grupo metílico e um proton oxometínico acoplados. Finalmente, as duas bandas duplas em  $7,65\tau$  ( $1\text{H}$ ,  $J$   $11,0$  e  $17,0 \text{ Hz}$ ) e as duas bandas duplas em  $7,02\tau$  ( $1\text{H}$ ,  $J$   $4,0$  e  $17,0 \text{ Hz}$ ) podem ser atribuídas a dois protons metilênicos, também

acoplados ao hidrogênio oxometínico e que estão localizados em posição alfa à carbonila.

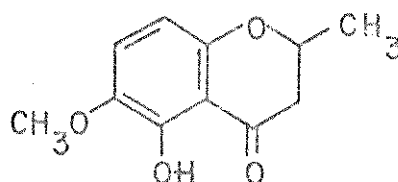
A análise dos dados do espectro de ressonância magnética protônica, das constantes de acoplamento spin-spin das bandas referentes aos hidrogênios metilênicos alfa-carbonílicos e do sinal correspondente ao hidrogênio oxometínico, nos levaram a estabelecer as mesmas configurações relativas, para a estrutura da Es-3.

O espectro na região do ultravioleta (fig. 14) mostrou-se diferente dos espectros das substâncias Es-1 e Es-2. Este fato já era esperado devido à presença do grupo metoxílico substituinte do anel aromático, que aparece representado em  $6,35\tau$  no espectro de ressonância magnética protônica. Por outro lado, o espectro registrado em solução etanólica, após edição de cloreto de alumínio, apresentou forte deslocamento batocrômico ( $\Delta\lambda=42$  nm) e o espectro tirado em solução etanólica na presença de acetato de sódio, não mostrou modificação, confirmando a presença de grupo hidroxila quelatogênico em C-5 e ausência de grupo hidroxila em C-7.

Estes dados nos levaram a concluir que a Es-3 também é uma 5-hidroxi-2-metil-4-cromanona, possuindo um grupo metoxílico ligado ao anel aromático. Os sinais correspondentes aos prótons aromáticos em orto, no espectro de ressonância magnética protônica, nos limitam a duas alternativas estruturais:



IV



V

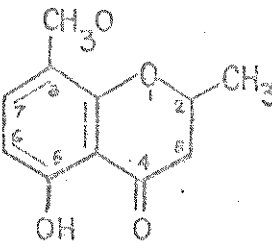
Para decidir qual delas corresponde à estrutura molecular da Es-3, fizemos o teste de Gibbs modificado<sup>(15)</sup>, cujo resultado negativo, indicou que a posição para à hidroxila está substituída, e nos levou a concluir que a Es-3 é a 5-hidroxi-2-metil-8-metoxi-4-cromanona (IV).

O estudo do efeito do solvente, pentadeuteriopiridina, no espectro de ressonância magnética protônica (fig. 15),

mostra um deslocamento paramagnético de  $-0,35$  ppm para a banda em  $3,45\tau$  do espectro em deuteroiclorofórmio ao passarmos para pentadeuteriopiridina e um deslocamento de  $-0,09$  ppm para a banda em  $3,15\tau$ , indicando que estes protons se encontram respectivamente, em posição orto e meta à hidroxila em C-5 (tabela VI).

O espectro de massa da Es-3 (fig. 16) apresentou um pico molecular de 208 u.m.a. de acordo com a estrutura proposta. No quadro V sugerimos alguns caminhos de fragmentação principais em analogia aos propostos para Es-1 e Es-2.

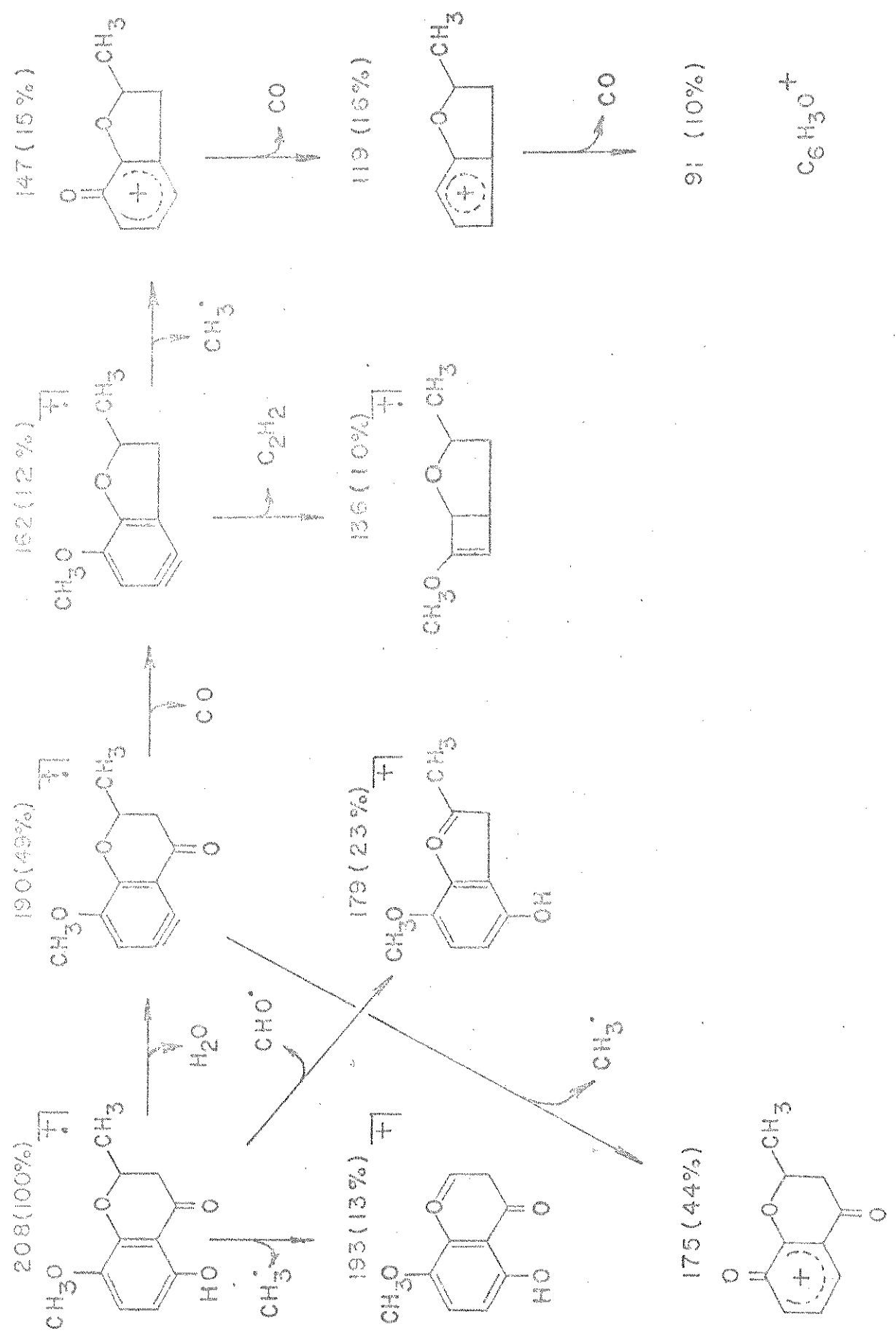
TABELA VI: DESLOCAMENTOS QUÍMICOS INDUZIDOS POR PIRIDINA NA Es-3

ESTRUTURA	GRUPO	$\tau(\text{CDCl}_3)$	$\tau(\text{py})$	$\Delta^*$ , ppm	EFEITO
	$\text{CH}_3 - 2$	8,65	8,79	+ 0,14	proteção
	$\text{H}_1 - 2$	5,65	5,55	- 0,10	desproteção
	$\text{H}_2 - 3$	7,02	7,00	- 0,02	desproteção
		7,65	7,62	- 0,03	desproteção
	$\text{OH} - 5$	-0,23	-	-	-
	$\text{H}_1 - 6$	3,45	3,10	- 0,35	desproteção
	$\text{H}_1 - 7$	3,15	3,06	- 0,09	desproteção
	$\text{CH}_3\text{O} - 8$	6,35	6,43	+ 0,08	proteção

$$* \Delta = \tau_{\text{py}} - \tau_{\text{CDCl}_3}$$

Como as cromanonas anteriores o composto é opticamente ativo,  $[\alpha]_D^{25} = 116^\circ$ , possuindo a mesma estrutura proposta para Es-1 e Es-2 (ver fig. p. 15).

QUADRO V - FRAGMENTAÇÃO DA ES-3 NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA



A substância Es-4 é um sólido cristalino que funde a 118-119°C. O seu espectro na região do infravermelho (fig. 17) informou principalmente que, como nos casos anteriores, a molécula possui um anel aromático ( $\nu_{C=C}$ , 1470, 1490 e 1620  $\text{cm}^{-1}$ ), e um grupo carbonila muito conjugado ( $\nu_{C=O}$ , 1660  $\text{cm}^{-1}$ ) com um grupo hidroxila em peri ( $\nu_{O-H}$ , 2970  $\text{cm}^{-1}$ ).

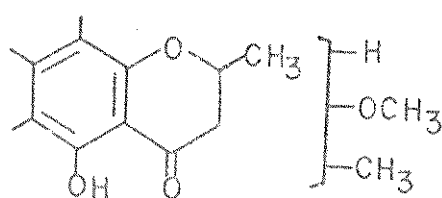
O espectro de ressonância magnética protônica (fig. 18) possui algumas bandas que concordam com estas interpretações. Por exemplo, a banda simples em  $-1,20\tau$ , correspondente a um hidrogênio, confirma a existência da hidroxila quelatogênica e a banda simples em  $3,80\tau$ , corresponde a um proton aromático. Esta banda ( $3,80\tau$ ) também informa que o anel aromático é pentasubstituído. Podemos interpretar ainda, que as absorções simples a  $8,02\tau$  (3H) e  $6,16\tau$  (3H), correspondem, respectivamente, aos protons de um grupo metílico e de um grupo metoxílico ligados ao anel aromático. A banda dupla em  $8,49\tau$ , (3H, J 6,0 Hz) indica a presença de um grupo metílico acoplado ao proton oxometínico que aparece representado como uma banda múltipla em  $5,50\tau$  (1H). Finalmente, as duas bandas duplas em  $7,15\tau$  (1H, J 5,0 e 16,5 Hz) e as duas bandas duplas em  $7,4\tau$  (1H, J 11,0 e 16,5 Hz) representam dois protons metilênicos em alfa à carbonila acoplados com o hidrogênio oxometínico.

Estes dados, em muitos aspectos semelhantes aos das substâncias já analisadas nos permitem estabelecer a mesma configuração relativa para a estrutura da Es-4.

O espectro, em meio neutro, na região do ultravioleta (fig. 19) é diferente dos outros espectros estudados, devido ao padrão de oxigenação ser também diferente o que podemos deduzir do espectro de ressonância magnética protônica. Entretanto, o espectro registrado em solução etanólica após adição de cloreto de alumínio apresentou forte deslocamento batocrômico do máximo principal ( $\Delta\lambda = 32 \text{ nm}$ ), mas o espectro não se alterou após a adição de acetato de sódio. Estes dados confirmam a presença de grupo hidroxila no carbono C-5 e ausência deste grupo em C-7.

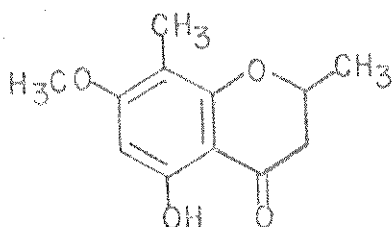
Todos estes dados nos levaram a propor para Es-4 a estrutura parcial VI:



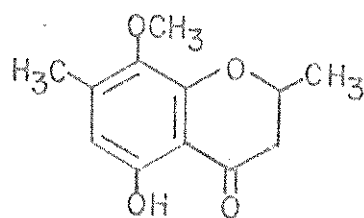


VI

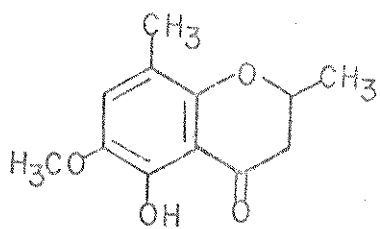
O fato porém, de o teste de Gibbs modificado<sup>(15)</sup>, haver dado negativo exclue as possibilidades em que a estrutura molecular apresenta a posição para a hidroxila livre de substituição. Restam, portanto, quatro alternativas estruturais representadas por VII, VIII, IX e X.



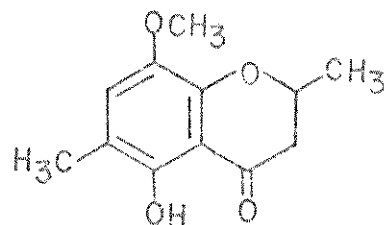
VII



VIII



IX

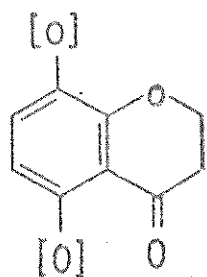


X

O estudo do efeito do solvente, pentadeuteriopiridina, no espectro de ressonância magnética protônica (fig. 20),

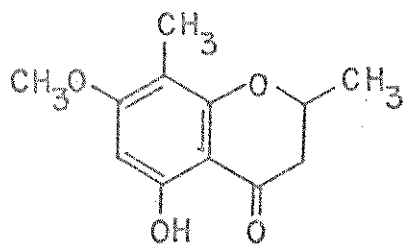
mostra um deslocamento paramagnético de - 0,30 ppm para a banda em 3,80 $\tau$  do espectro em deuteroiclorofórmio, ao passarmos para pentadeuteriopiridina, indicando que este proton se encontra em posição orto à hidroxila em C-5 (tabela VII). Este fato exclue as alternativas IX e X.

Das duas alternativas estruturais remanescentes (VII e VIII), a estrutura representada por VIII possui o mesmo padrão de oxigenação que a cromanona Es-3:



Assim, se a estrutura da Es-4 fosse a representada por VIII deveríamos esperar que seu espectro em meio neutro fosse praticamente superponível ao da Es-3; entretanto, se compararmos os espectros das figuras 14 e 19 verificaremos que isso não ocorre.

Todas estas observações nos levaram a atribuir à Es-4 a estrutura VII (5-hidroxi-2,8-dimetil-7-metoxi-4-cromanona):



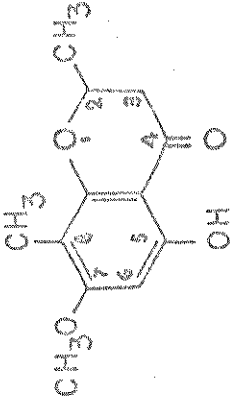
VII

O espectro de massa da Es-4 (fig. 21) apresentou pico molecular correspondente a 222 u.m.a., confirmando a estrutura proposta. O quadro V mostra os principais caminhos de frag-

mentação que propusemos em analogia à fragmentação das outras cromanonas já estudadas.

A Es-4 também é opticamente ativa,  $[\alpha]_D^{25} - 98^\circ$ .

TABELA VII: DESLOCAMENTOS QUÍMICOS PRODUZIDOS POR PIRIDINA NA Es-4

ESTRUTURA	GRUPO	$\tau(\text{CCl}_4)$	$\tau(\text{py})$	$\Delta^*, \text{ppm}$	EFEITO
	CH <sub>3</sub> - 2	8,49	8,67	+ 0,18	proteção
	H <sub>1</sub> - 2	5,50	5,50	0,0	-
	H <sub>2</sub> - 3	7,15	-	-	-
		7,40	-	-	-
	OH - 5	- 1,20	-	-	-
	H <sub>1</sub> - 6	3,80	3,50	- 0,30	desproteção
	OCH <sub>3</sub> - 7	6,16	6,30	+ 0,14	proteção
	CH <sub>3</sub> - 8	8,02	8,02	0,0	-

$$*\Delta - \tau_{\text{py}} - \tau_{\text{CCl}_4}$$

A tabela VIII apresenta os dados dos espectros de ressonância magnética protônica em piridina das quatro cromanonas isoladas para efeito de comparação.

- Es-5 -

A substância Es-5 foi, na ordem de eluição, o penúltimo composto a ser isolado, e apresenta-se como um sólido cristalino que funde a 137-39°C. O estudo do seu espectro de ressonância magnética protônica mostrou que se tratava de um triterpenoide. A comparação dos dados obtidos do espectro de ressonância magnética protônica, do espectro de massa e do ponto de fusão com os dados da literatura<sup>(24,25)</sup> nos levaram a identificar Es-5

QUADRO VI - FRAGMENTAÇÃO DA E 6 - 4 NO ESPECTRÔMETRO DE MASSA

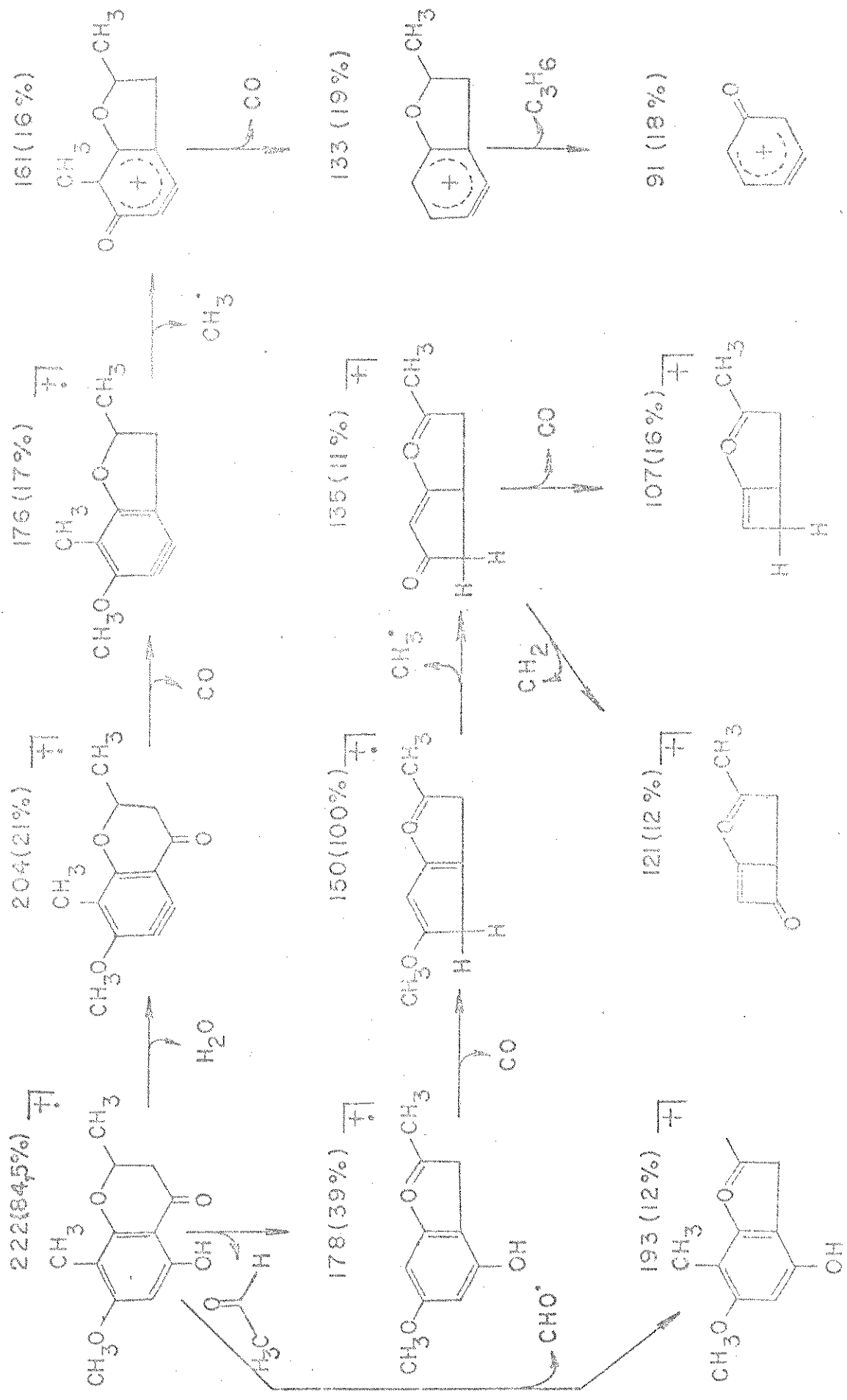
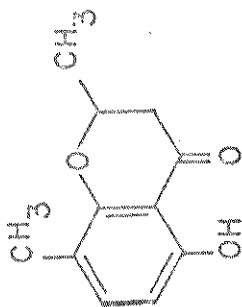
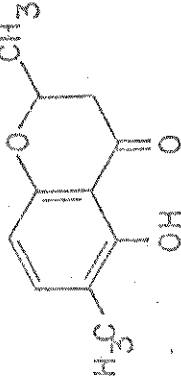
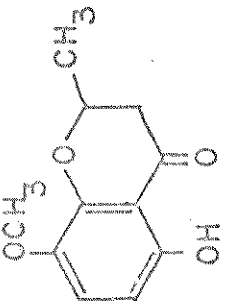
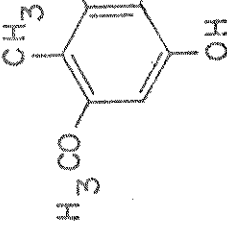
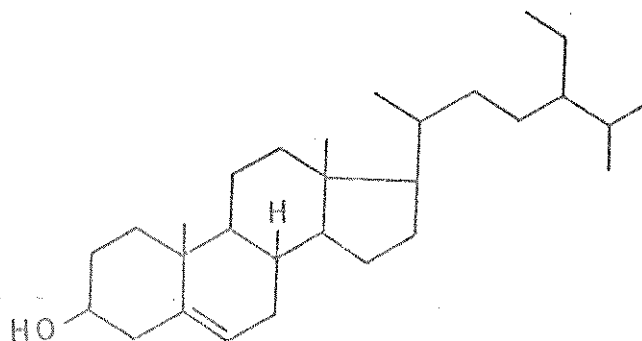


TABELA VIII: DESLOCAMENTOS INDUZIDOS POR PIRIDINA EM CROMANONAS

C	R	O	M	A	N	O	N	A		
										
PROTON	$\tau_{CDCl_3}$	$\tau_{PY}$	$\Delta\tau$	$\tau_{CCl_4}$	$\tau_{PY}$	$\Delta\tau$	$\tau_{CDCl_3}$	$\tau_{CCl_4}$	$\tau_{PY}$	$\Delta\tau$
H <sub>6</sub> (orto)	3,32	3,10	- 0,22	-	-	-	3,45	3,80	3,50	- 0,30
H <sub>7</sub> (meta)	2,82	2,76	- 0,06	2,90	2,80	- 0,10	3,15	-	3,06	- 0,09
H <sub>8</sub> (para)	-	-	-	3,60	3,48	- 0,12	-	-	-	-

$$\Delta\tau = \tau_{PY} - \tau_{CDCl_3}$$

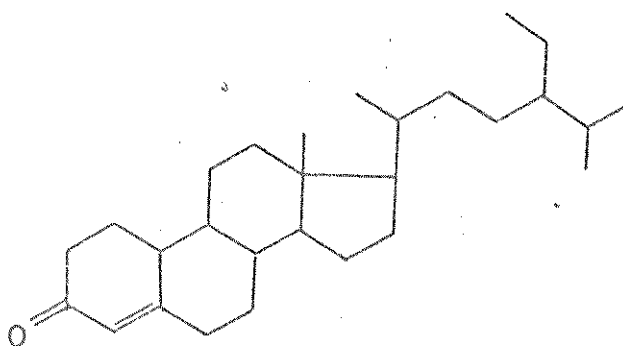
como sitosterol. A comparação direta com amostra autêntica con  
firmou esta suposição.



Sitosterol

- Es-6 -

A substância Es-6 foi o último composto a ser iso-  
lado. Trata-se de um sólido que funde a 90-100°C. A comparação  
dos dados obtidos dos espectros na região do infravermelho e de  
massa e o ponto de fusão, com os dados da literatura nos permi-  
tiu identificar Es-6 como sendo sitostenona, um metabólito pouco  
comum em plantas<sup>(26)</sup>.



Sitostenona

## IDENTIFICAÇÃO COMPONENTE INSOLÚVEL DO EXTRATO BENZÊNICO:

- Es-7 -

O componente insolúvel do extrato benzênico apresentou-se como um sólido branco insolúvel em solventes orgânicos e solúvel em água, que funde a 164-66<sup>o</sup>C. Este ponto de fusão, o espectro de infravermelho e o espectro de massa nos fizeram identificar esta substância (Es-7) como manitol, um álcool relacionado à manose comum em plantas.<sup>(24,25)</sup> Este composto é o constituinte principal e quase exclusivo do extrato etanólico.



PM = 182

PF = 164-166<sup>o</sup>.

ESPECTROS



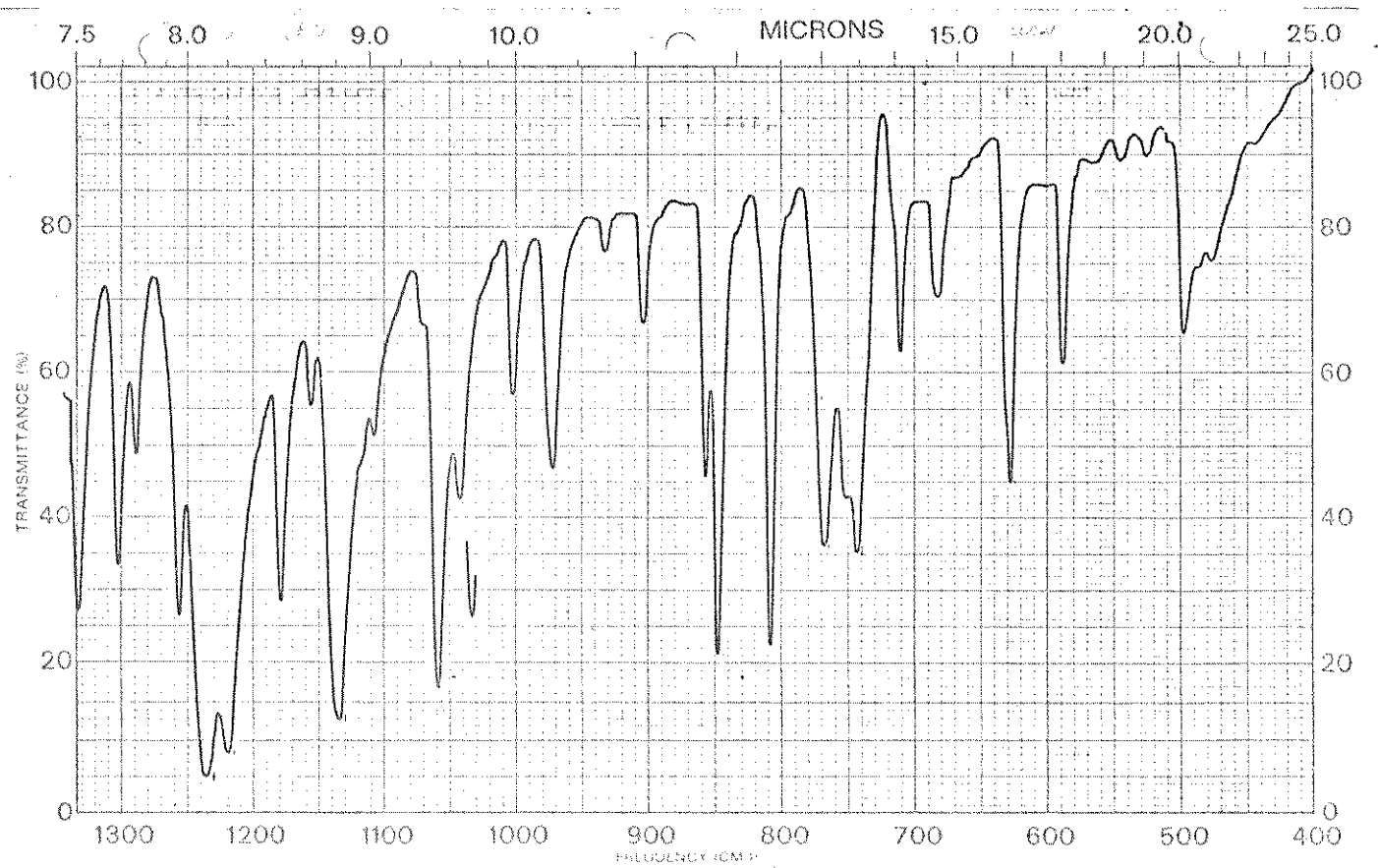
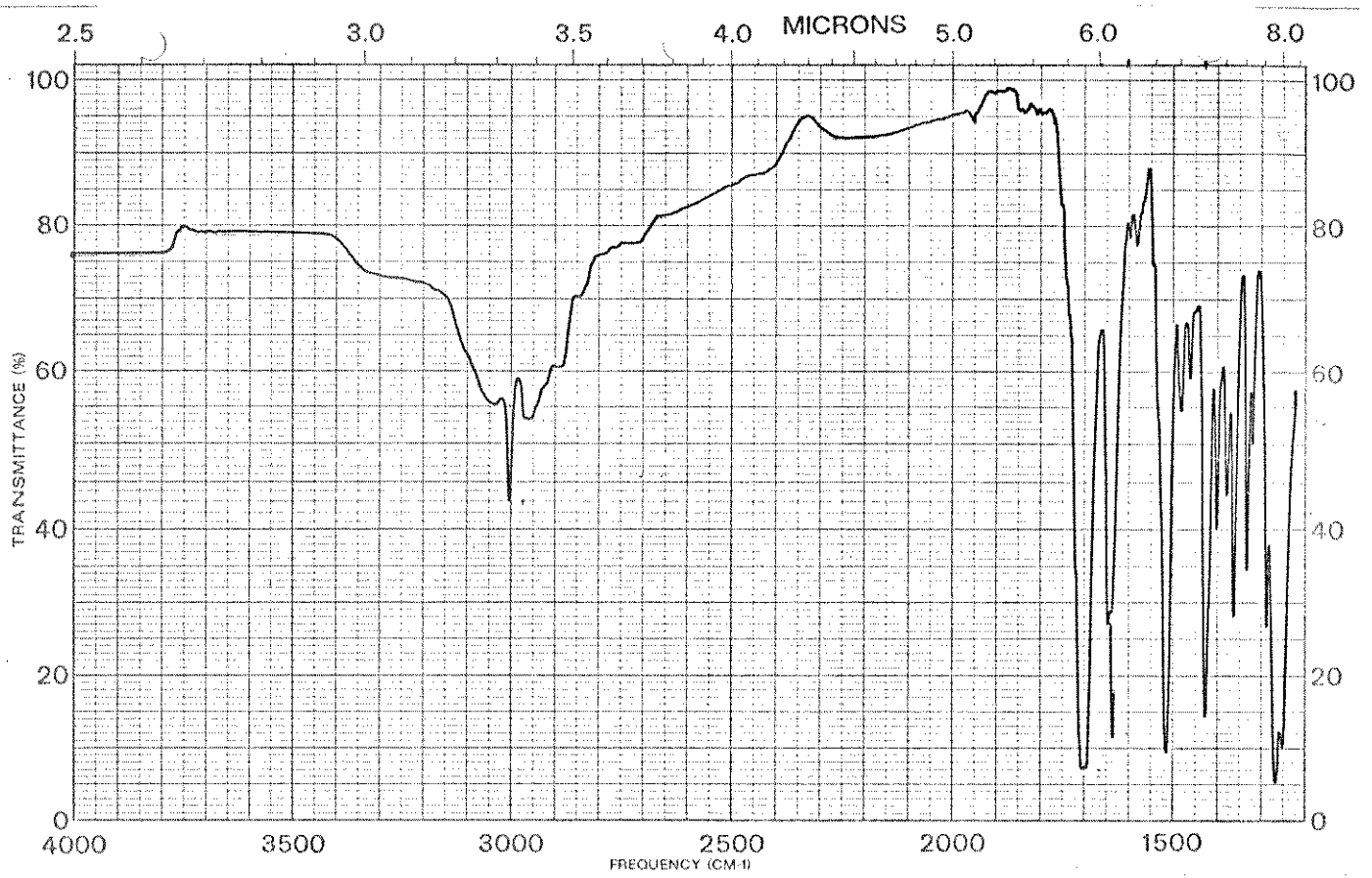


Fig. 1 - Espectro na região do infravermelho da Es-1

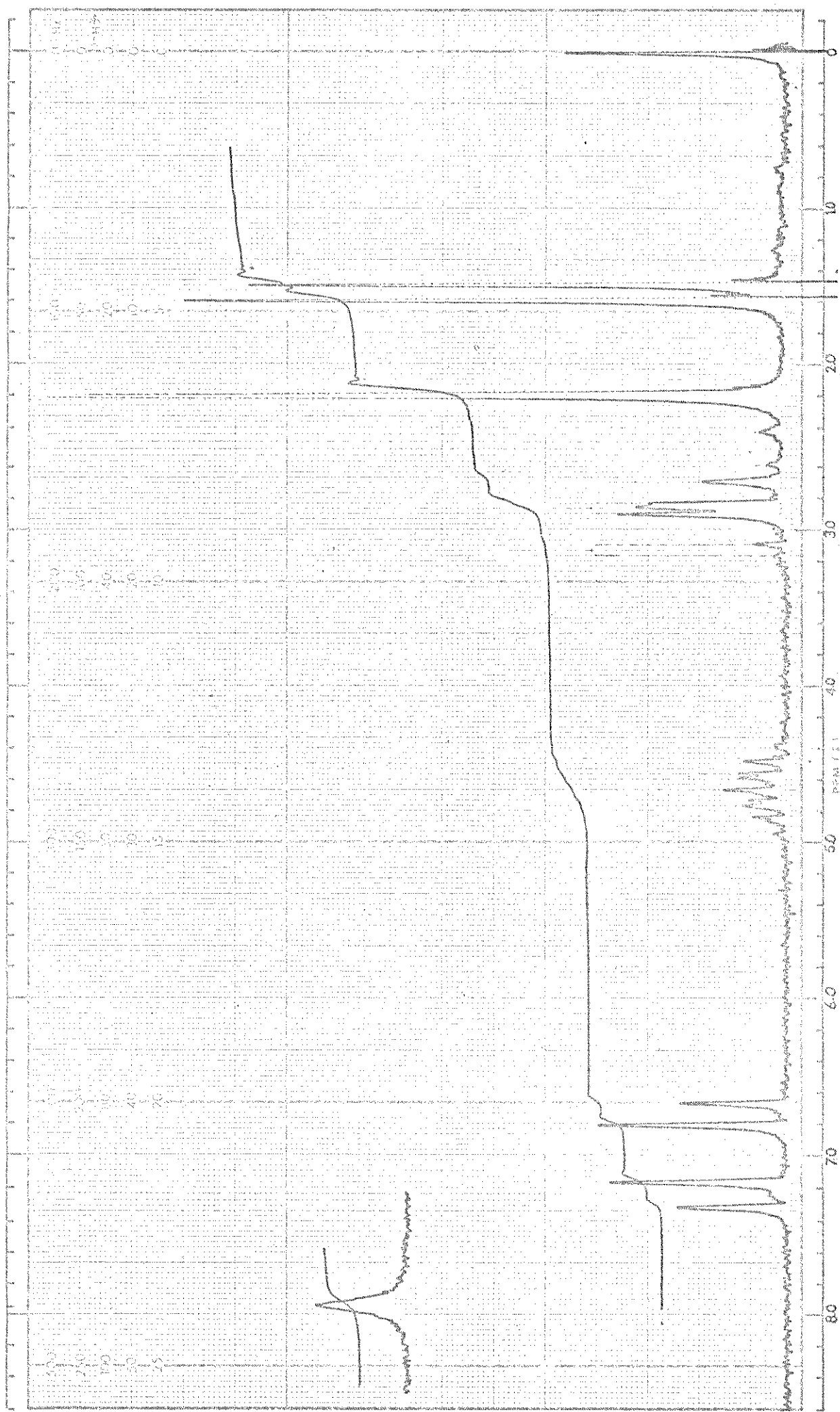
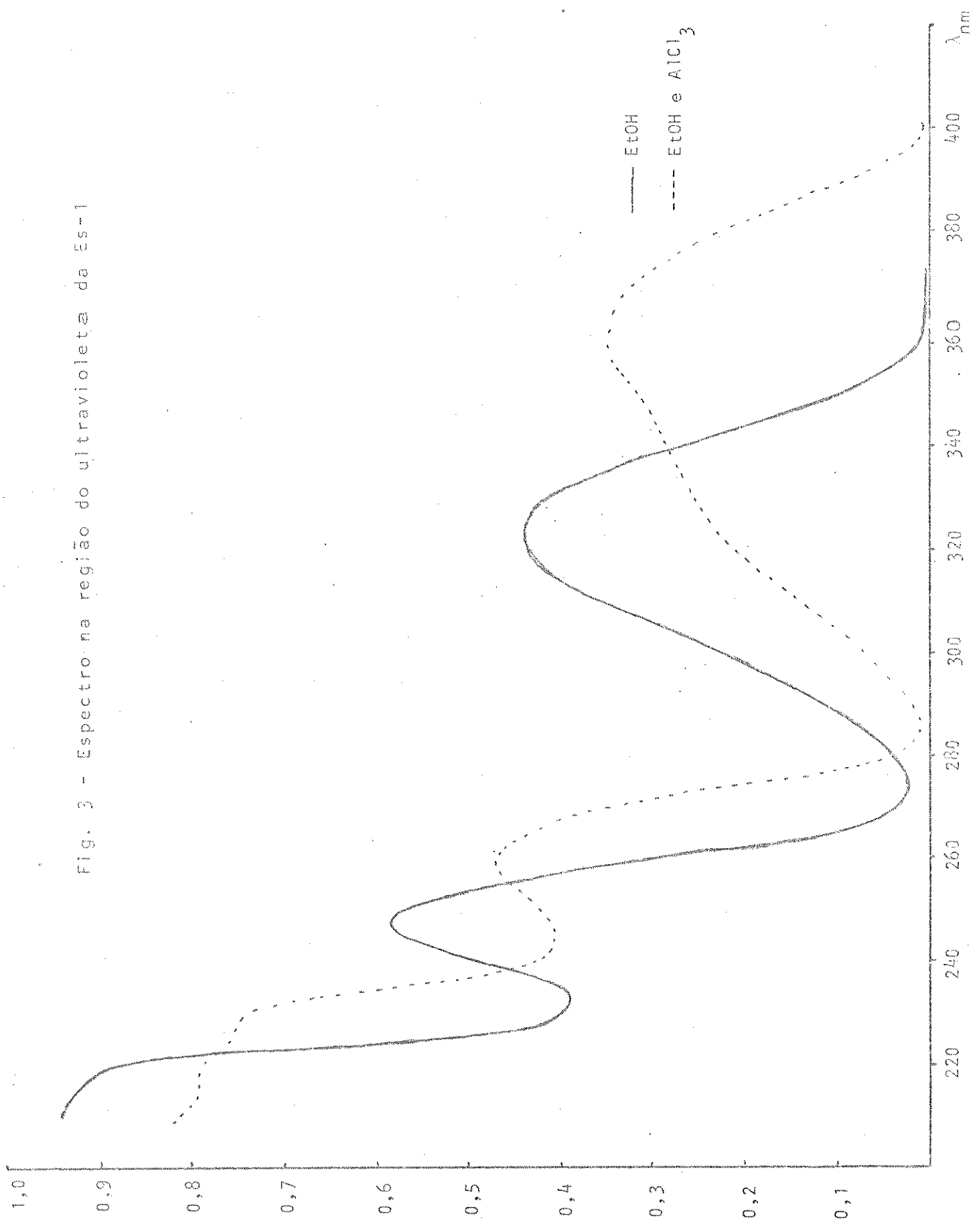
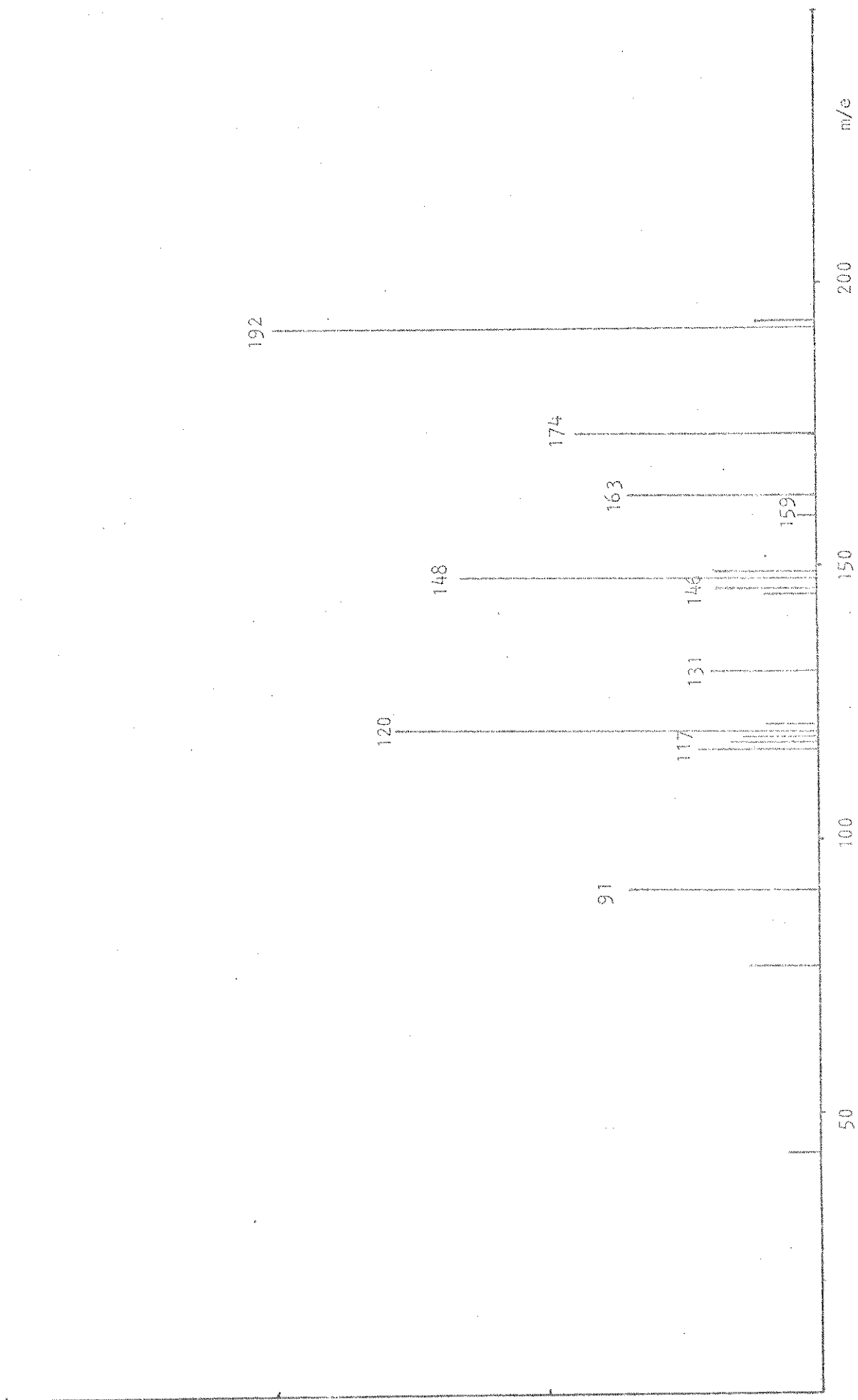


Fig. 2 - Espectro de ressonância magnética protônica da Es-1 em  $\text{CDCl}_3$

Fig. 3 - Espectro na região do ultravioleta da Es-1





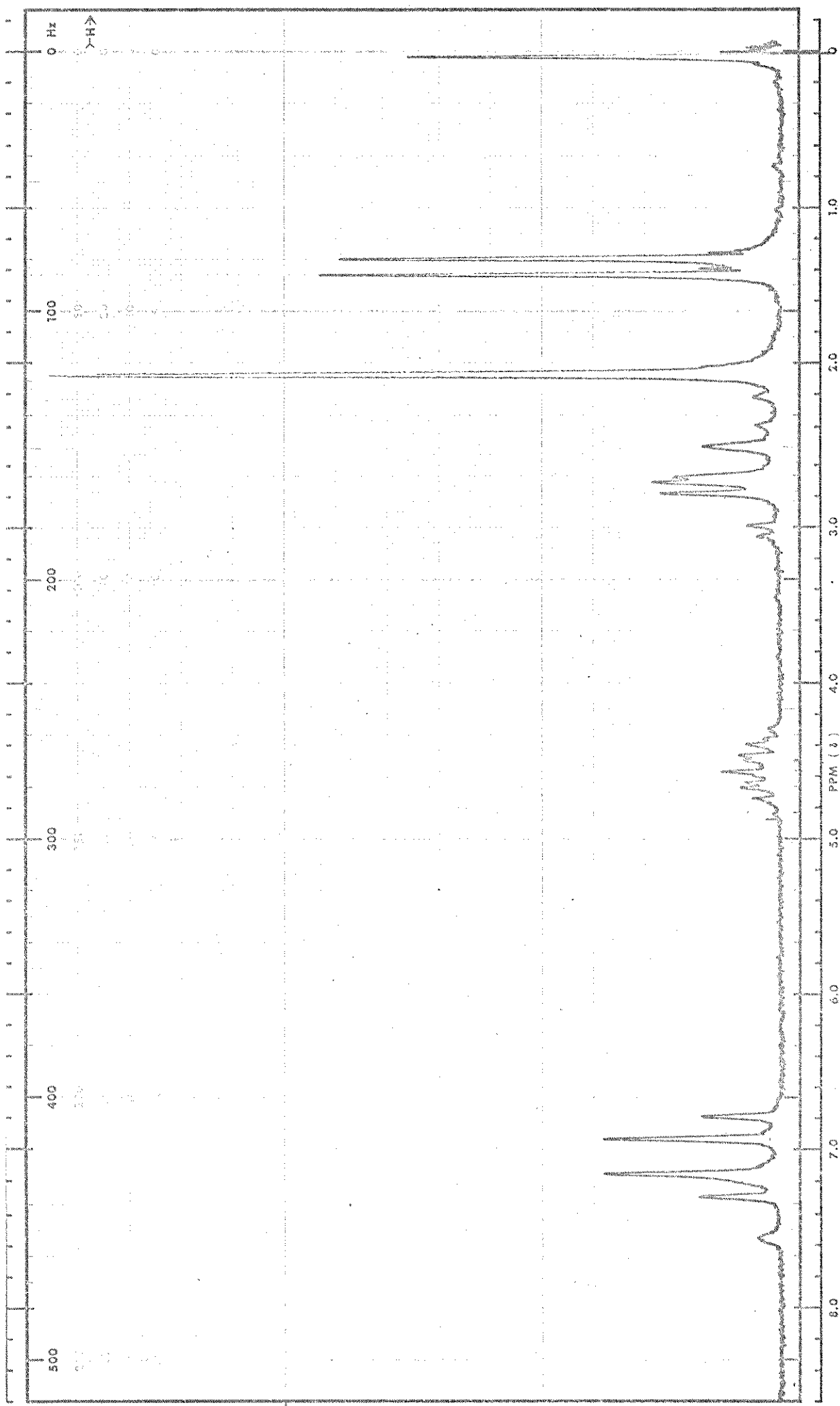


Fig. 5 - Espectro de ressonância magnética protônica da Es-1 em deuteriopiridina

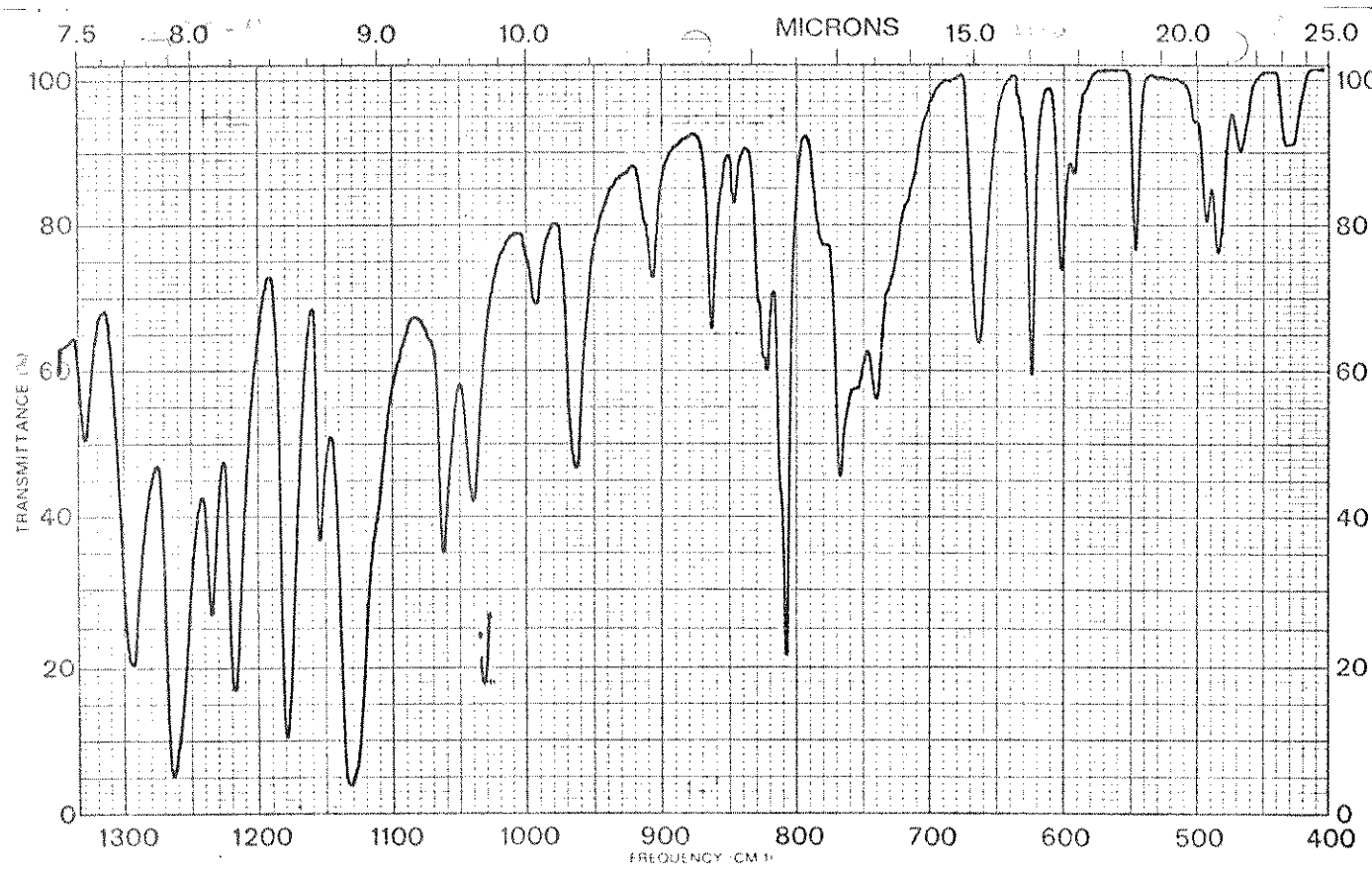
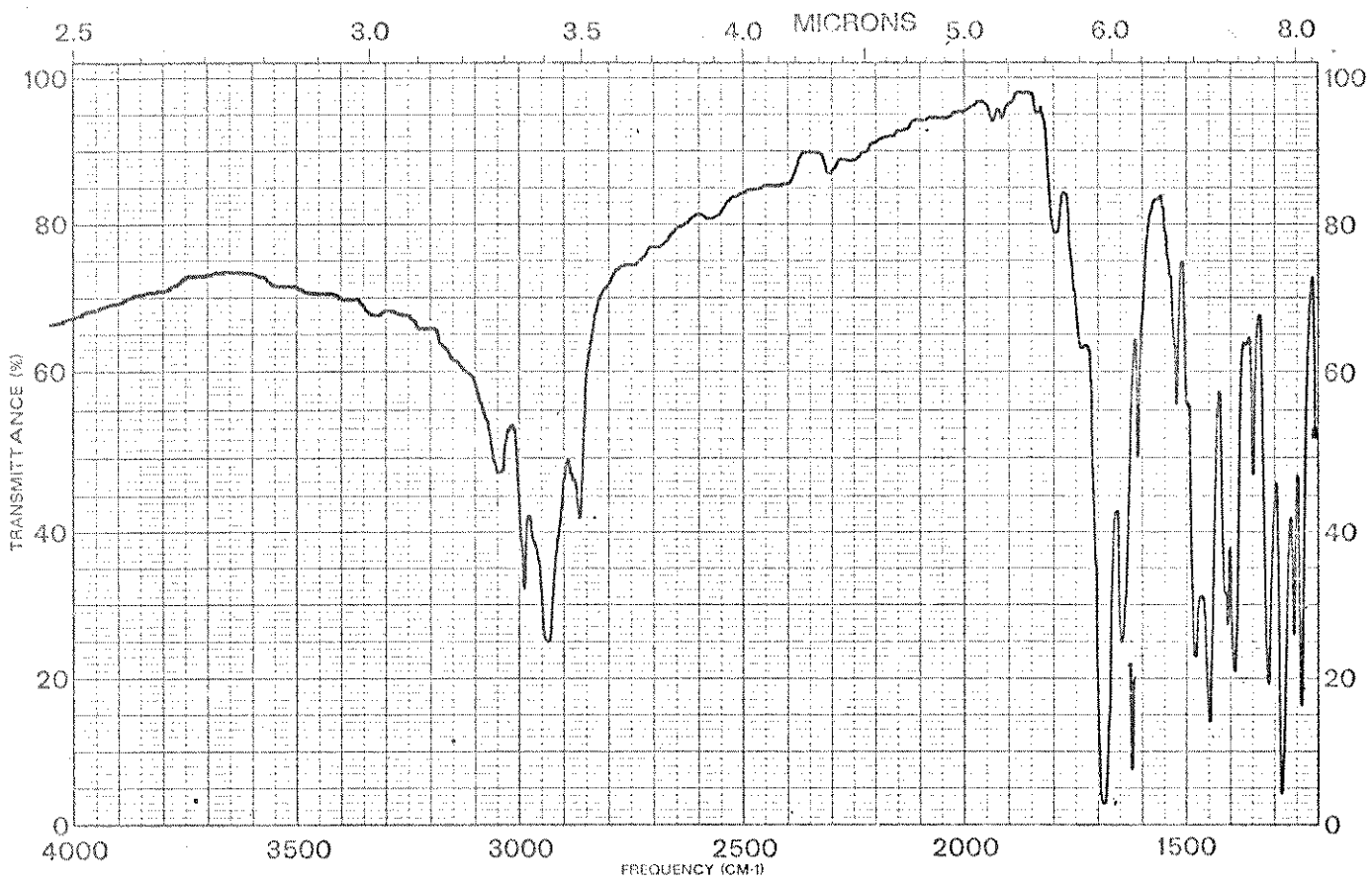


Fig. 6 - Espectro na região do infravermelho da Es-2

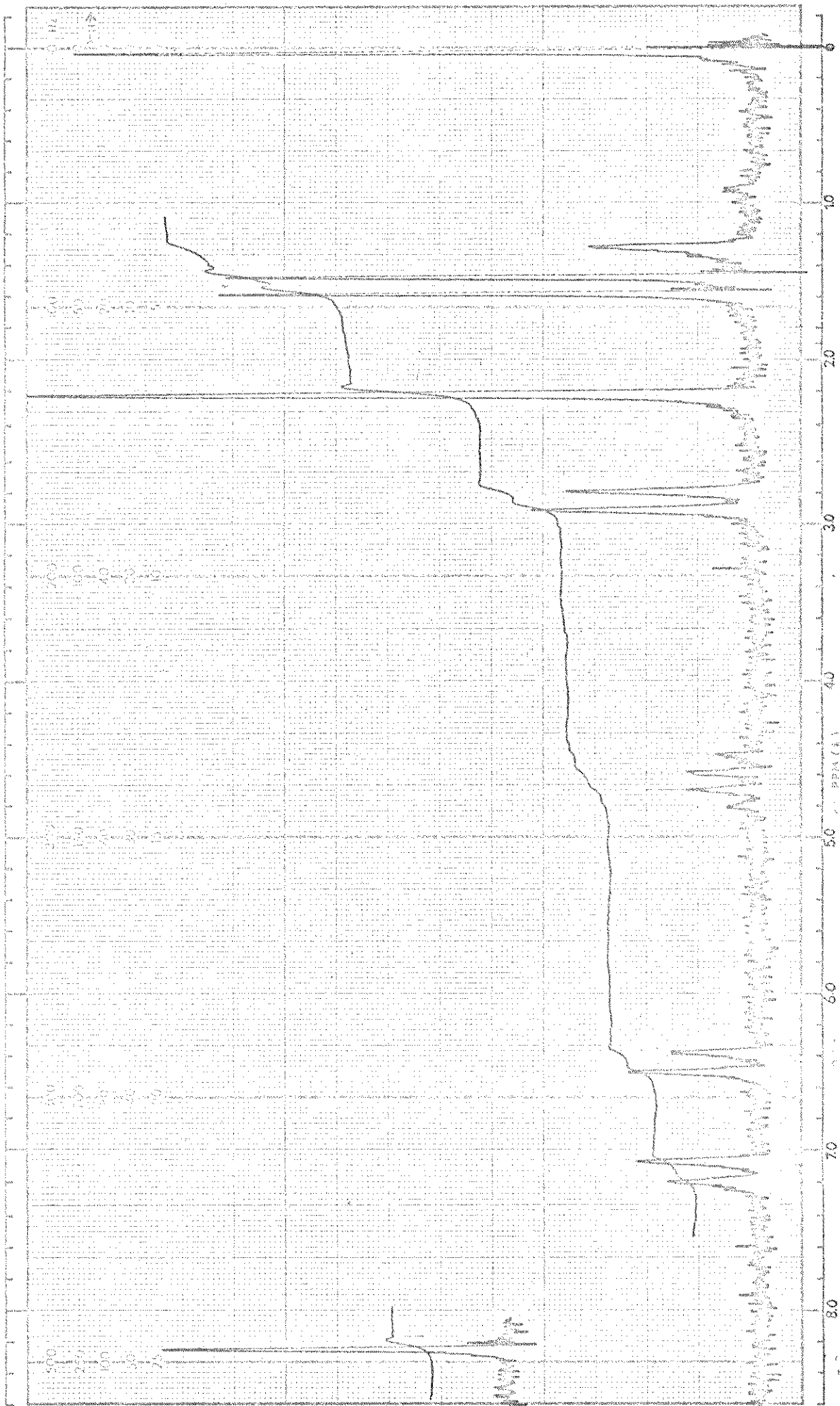
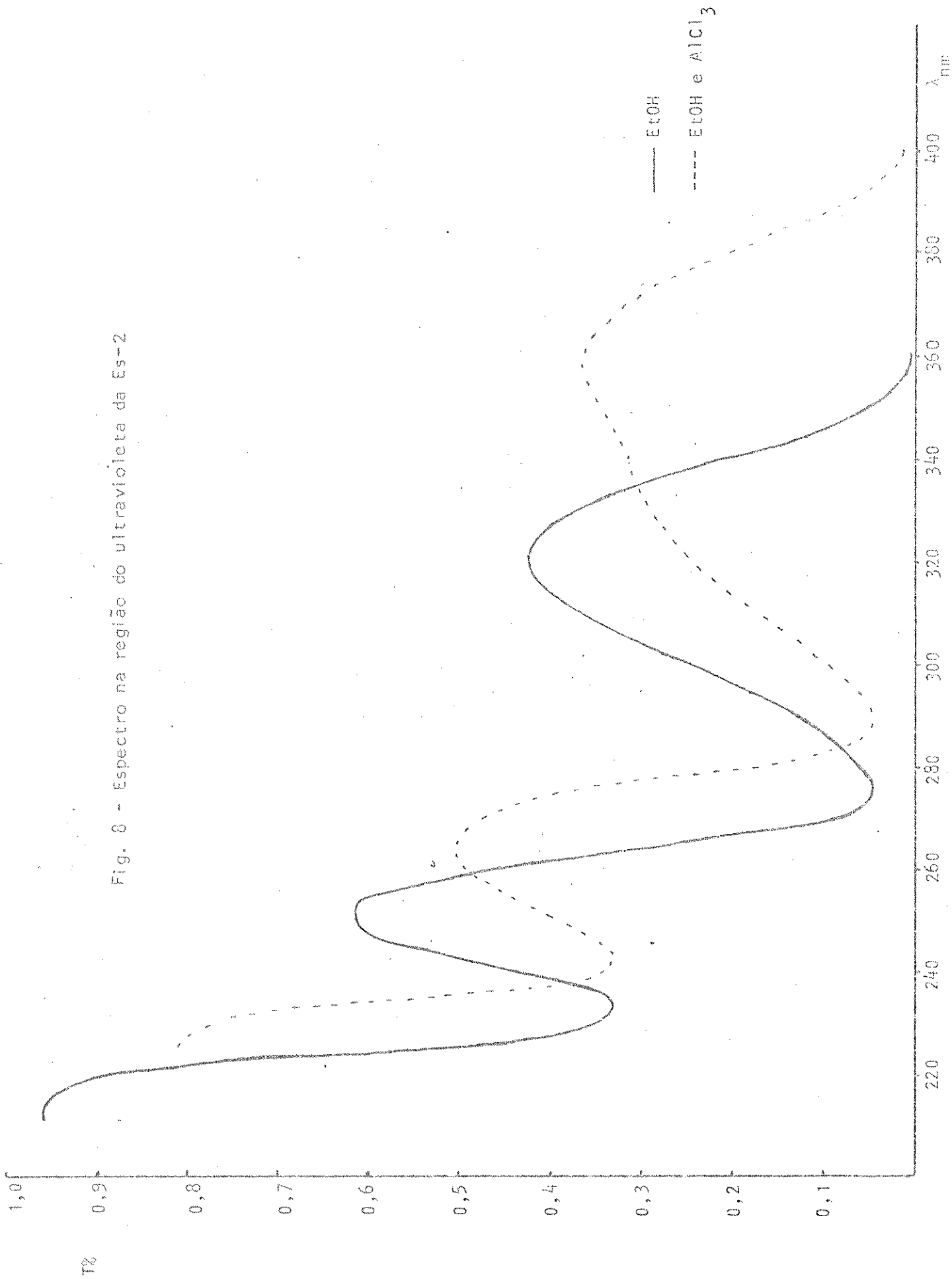


Fig. 7 - Espectro de ressonância magnética protônica da Es-2 em CCl<sub>4</sub>

Fig. 8 - Espectro na região do ultravioleta da Es-2





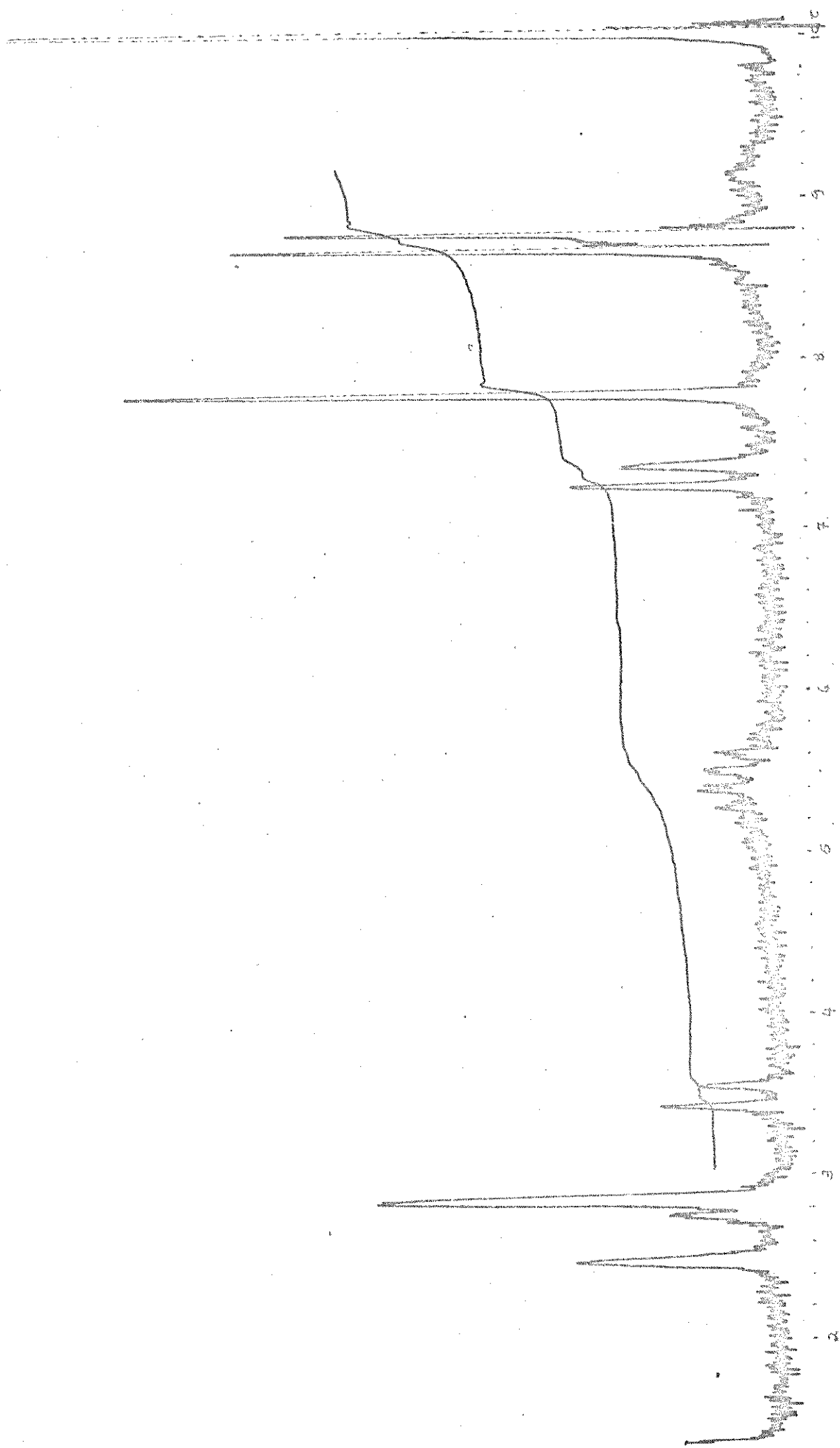


Fig. 9 - Espectro de ressonância magnética protônica da Es-2 em deuteriopiridina

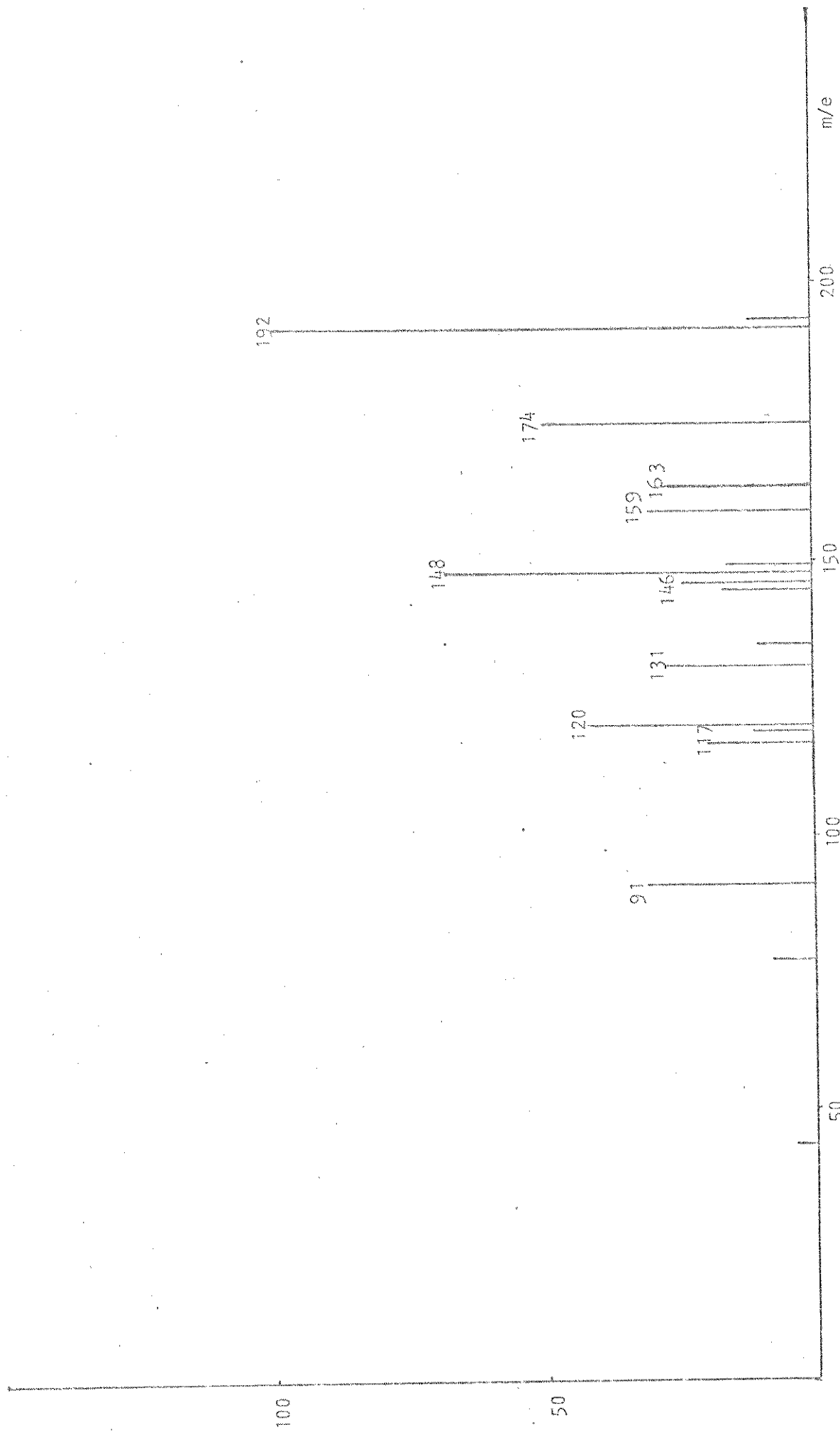


Fig. 10. Espectro de massa da Es-2

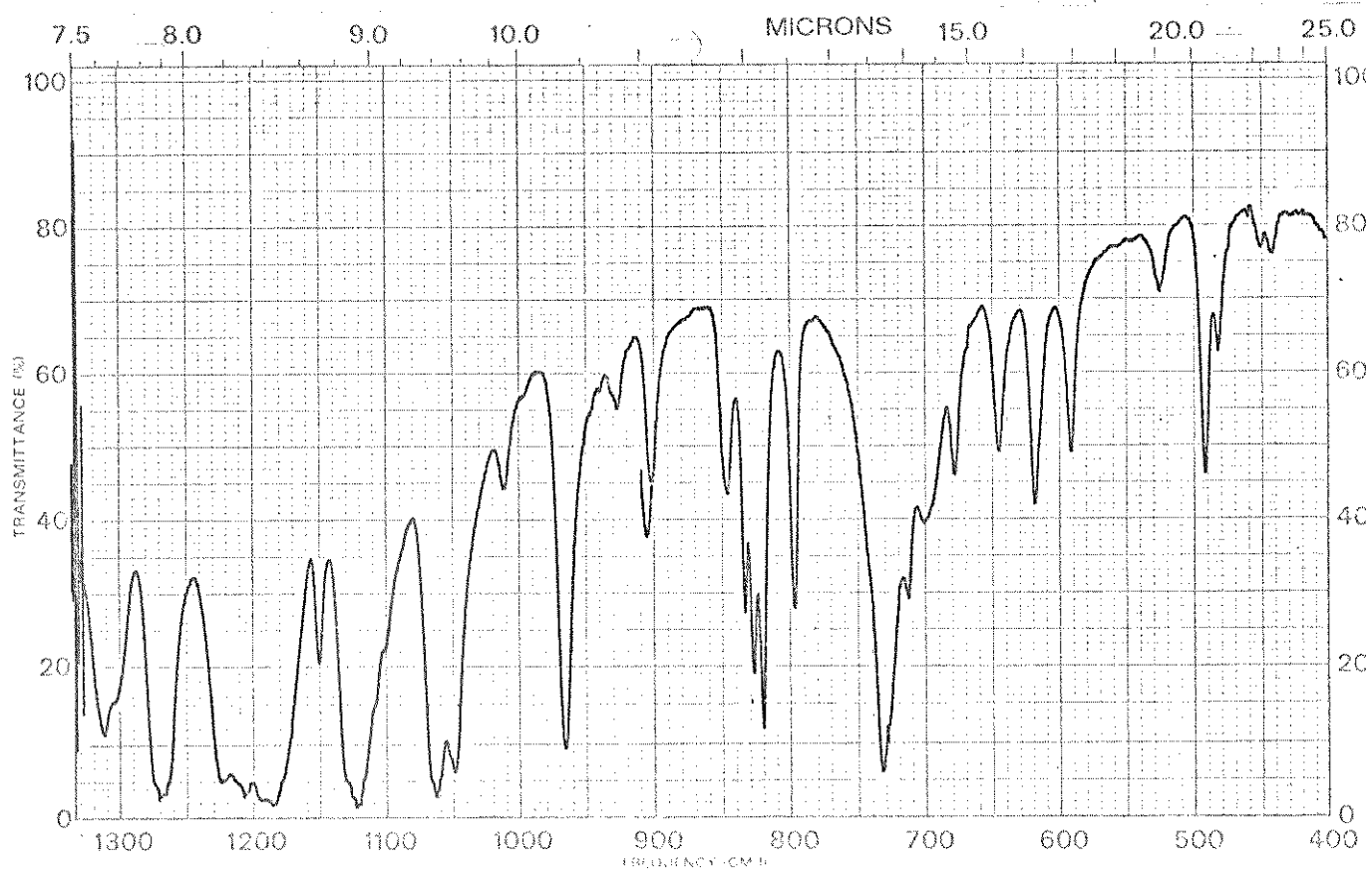
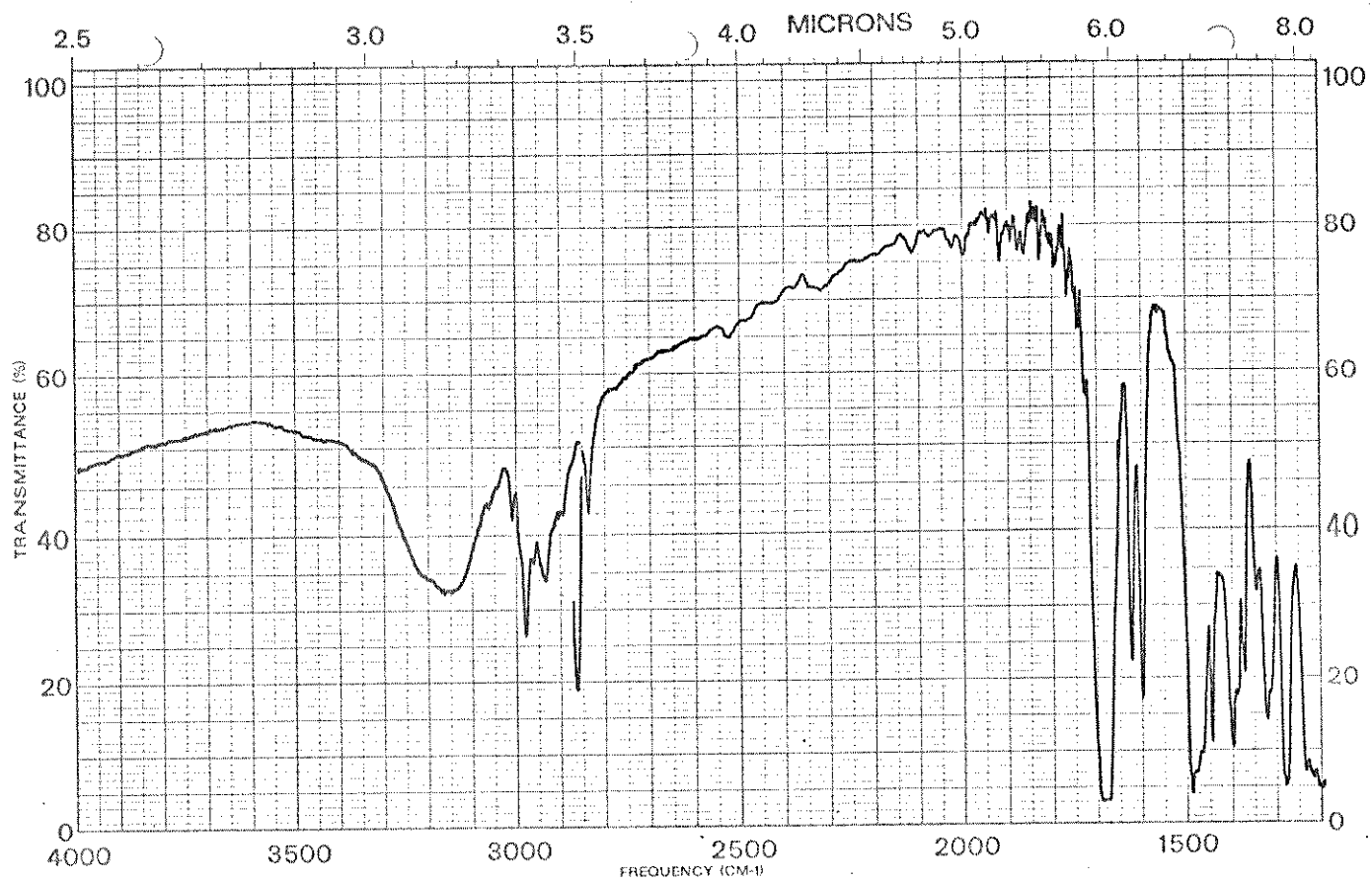


Fig. 11 - Espectro na região do infravermelho da Es-3

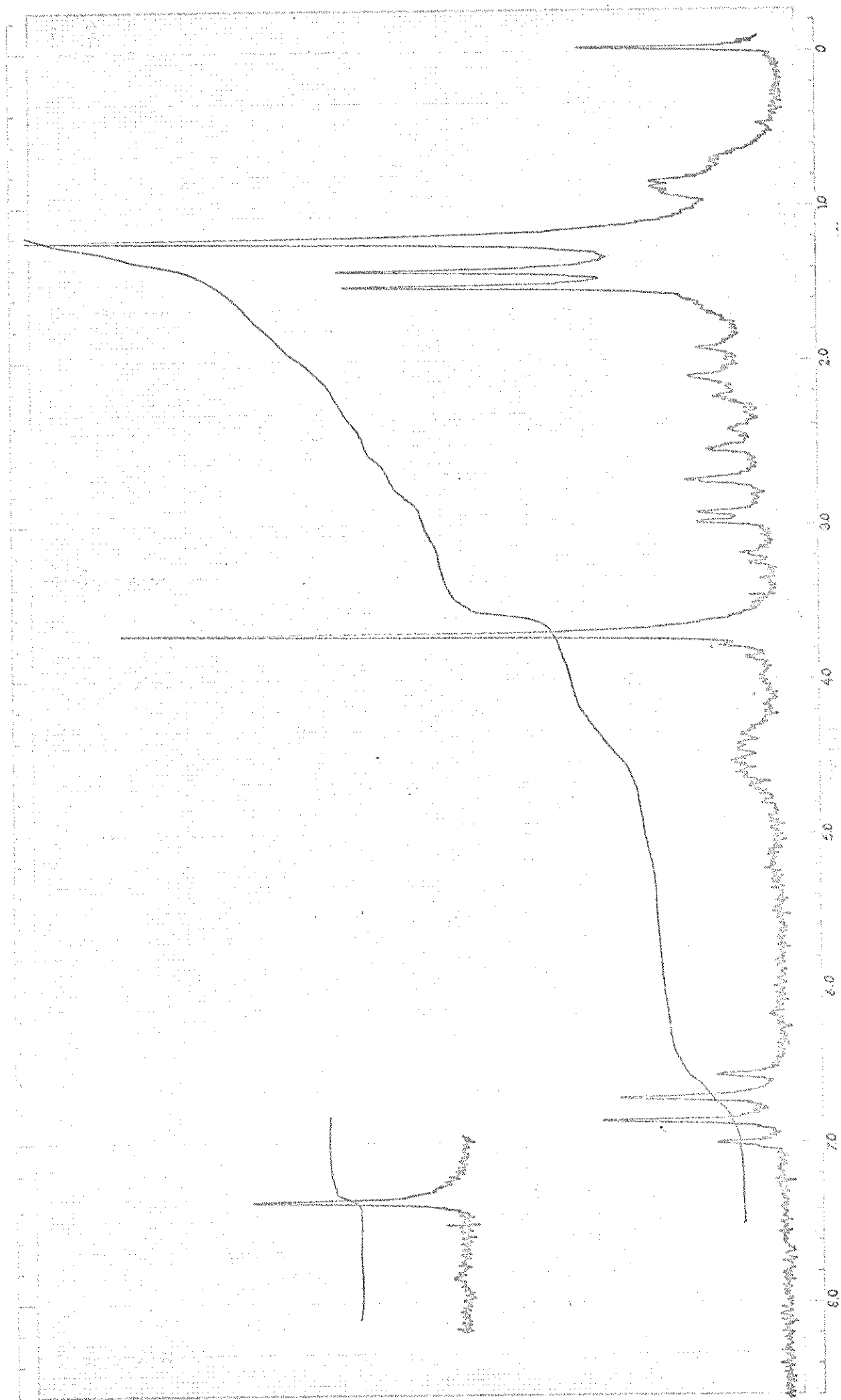
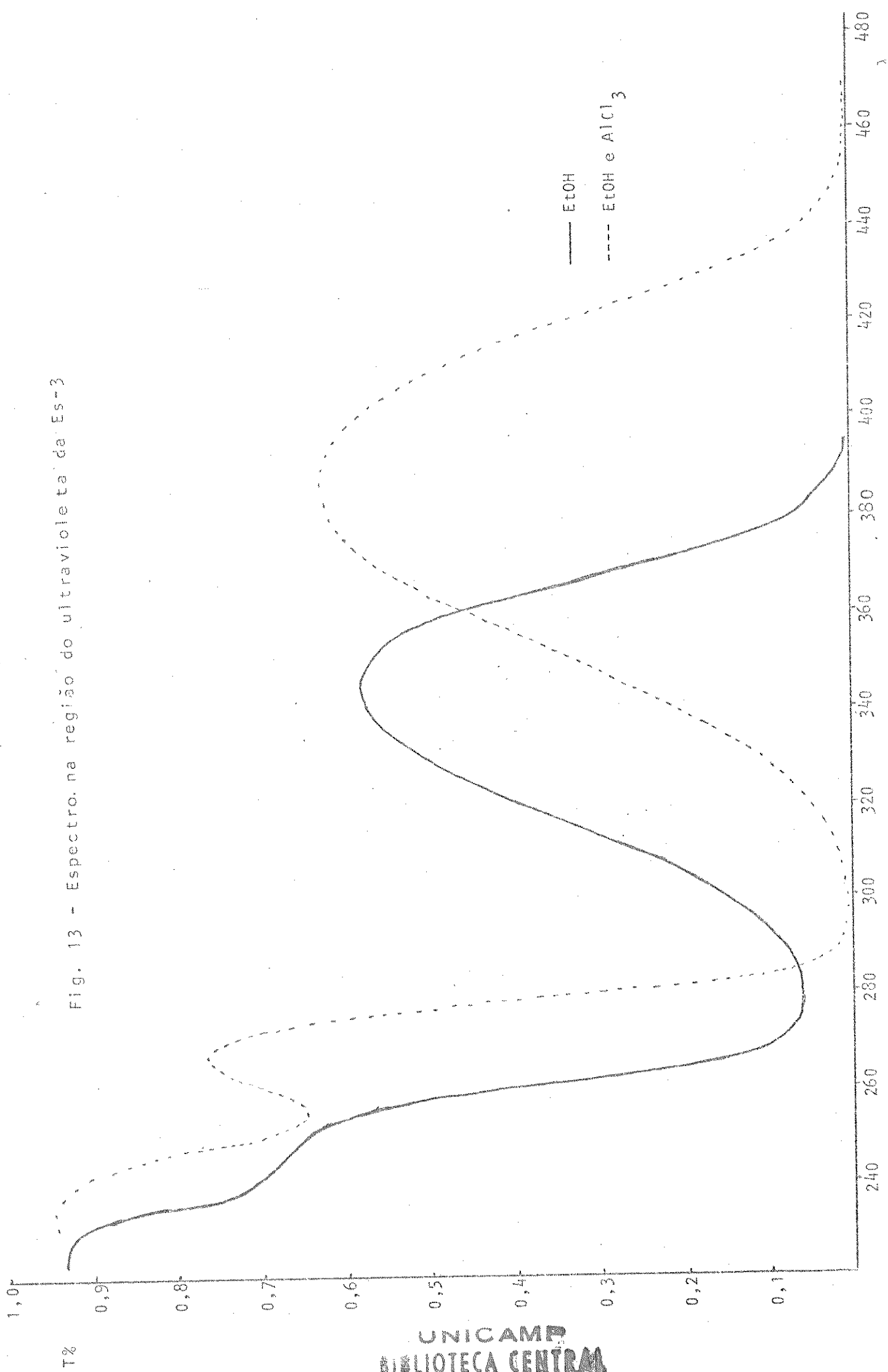


Fig. 12 - Espectro de ressonância magnética protônica da ES-3 em CCl<sub>4</sub>

Fig. 13 - Espectro na região do ultravioleta da Es-3



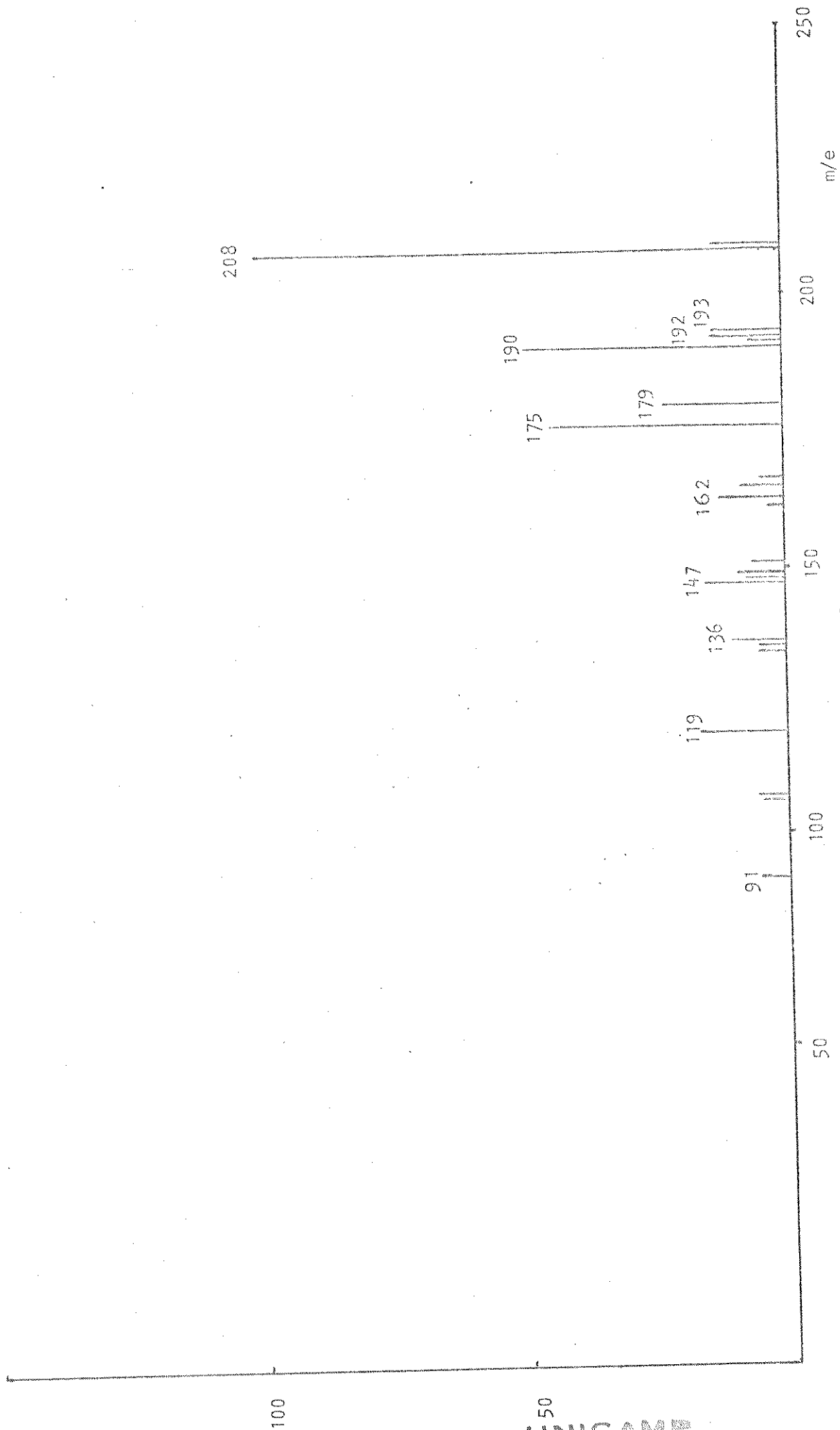


Fig. 14. Espectro de massa da Es-3

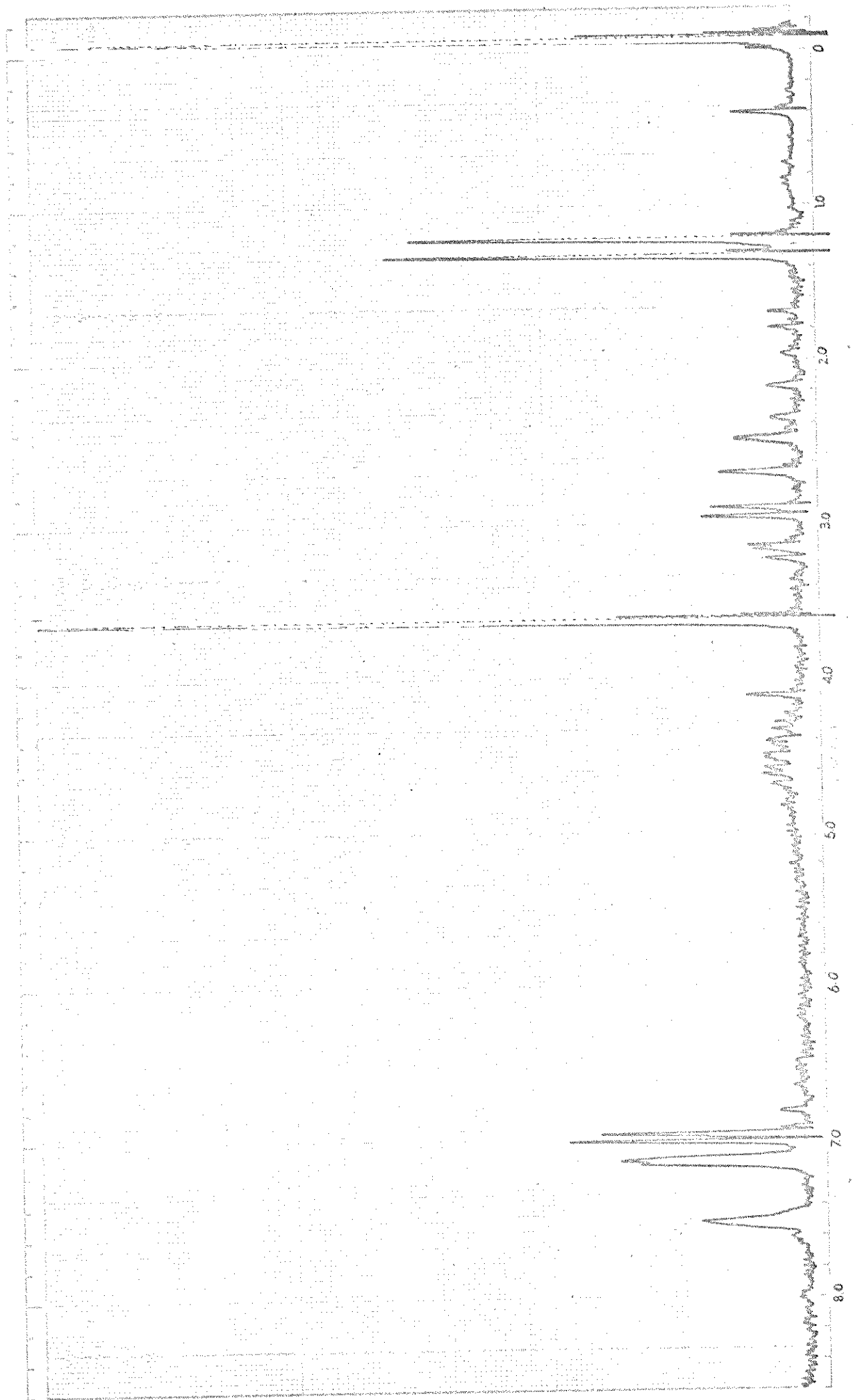


Fig. 15 - Espectro de ressonância magnética protônica da Es-3 em deuteriopiroidina

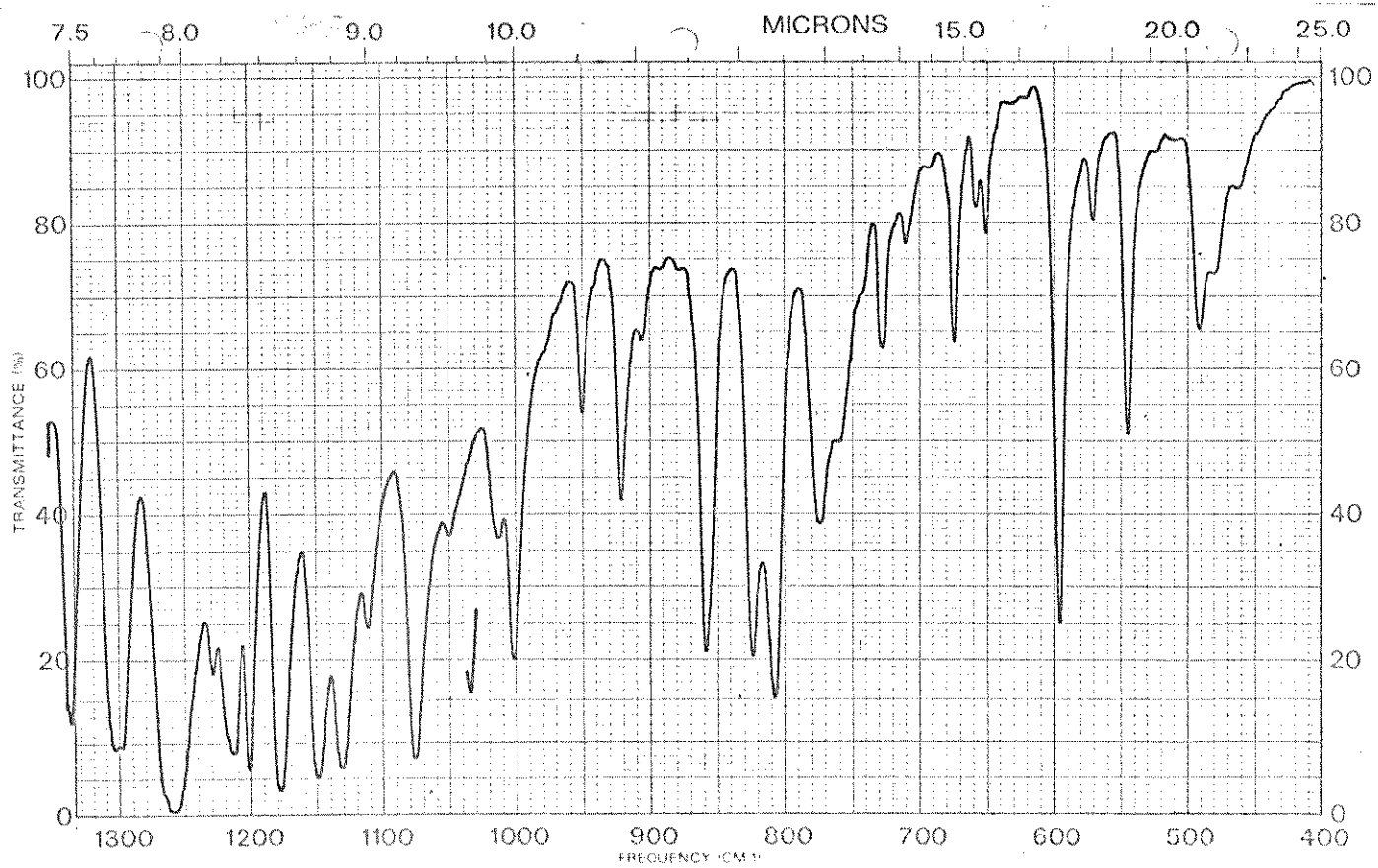
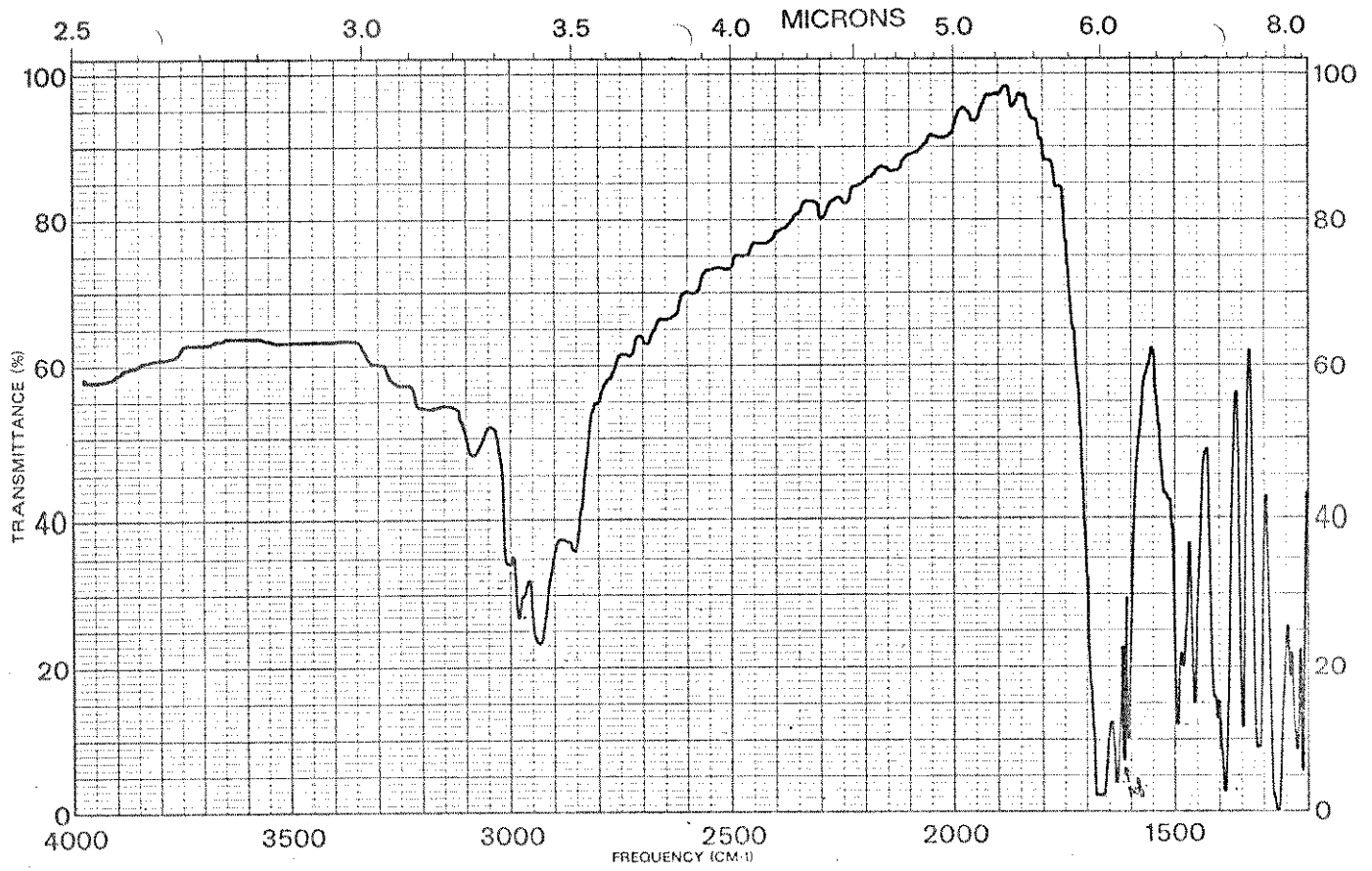


Fig. 16 - Espectro na região do infravermelho da Es-4



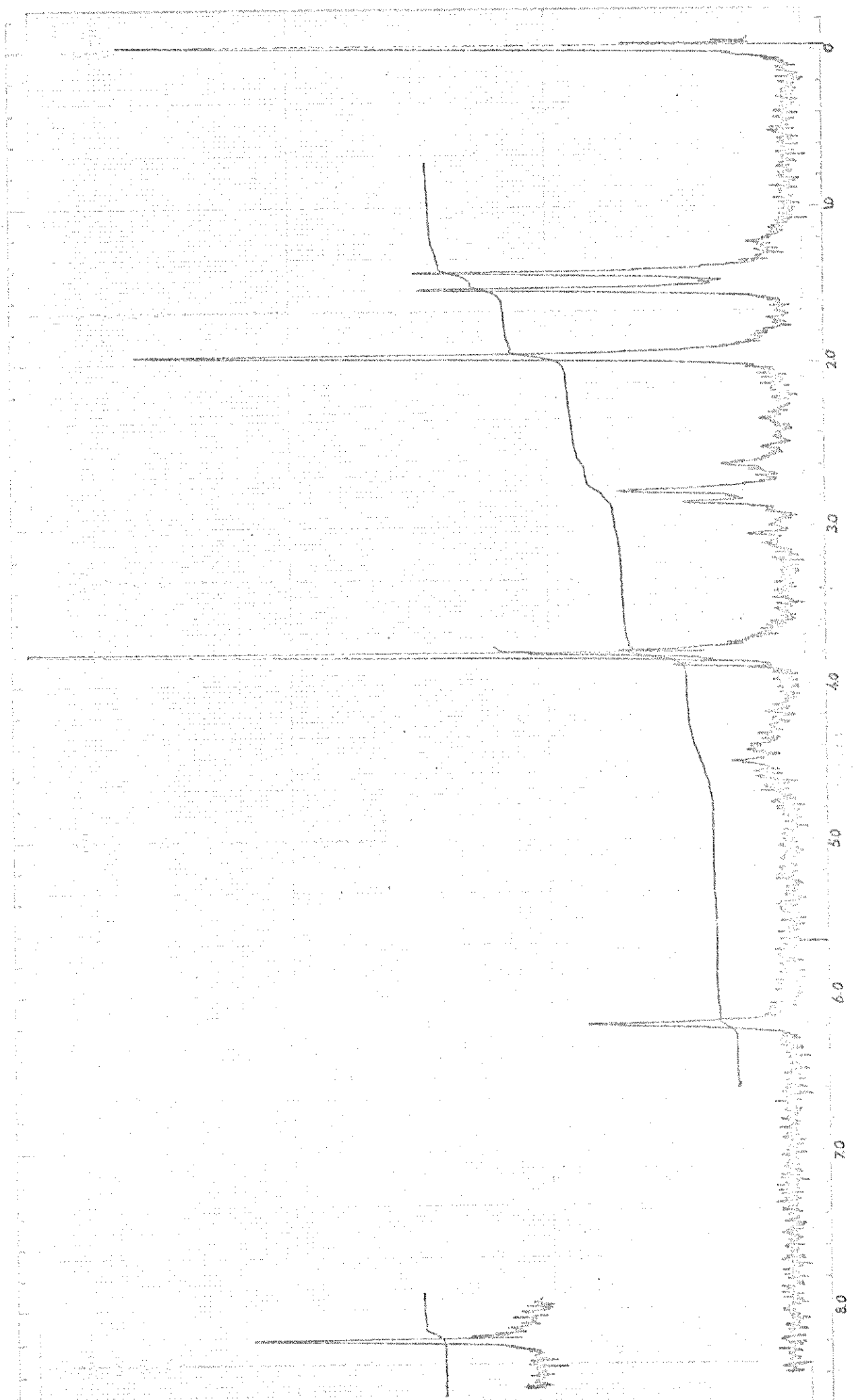
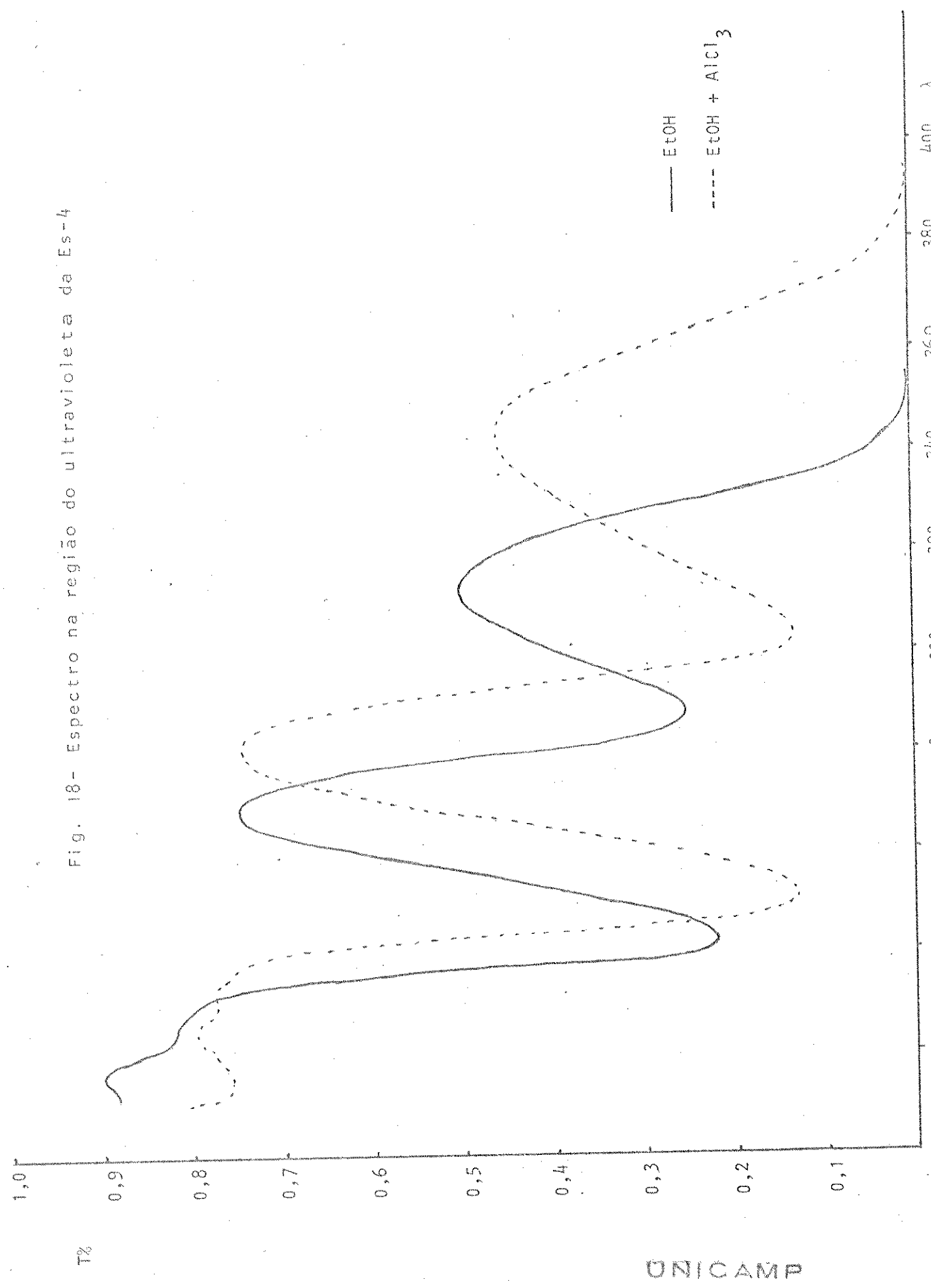


Fig. 17 - Espectro de ressonância magnética protônica da Es-4 em  $CCl_4$

Fig. 18- Espectro na região do ultravioleta da Es-4



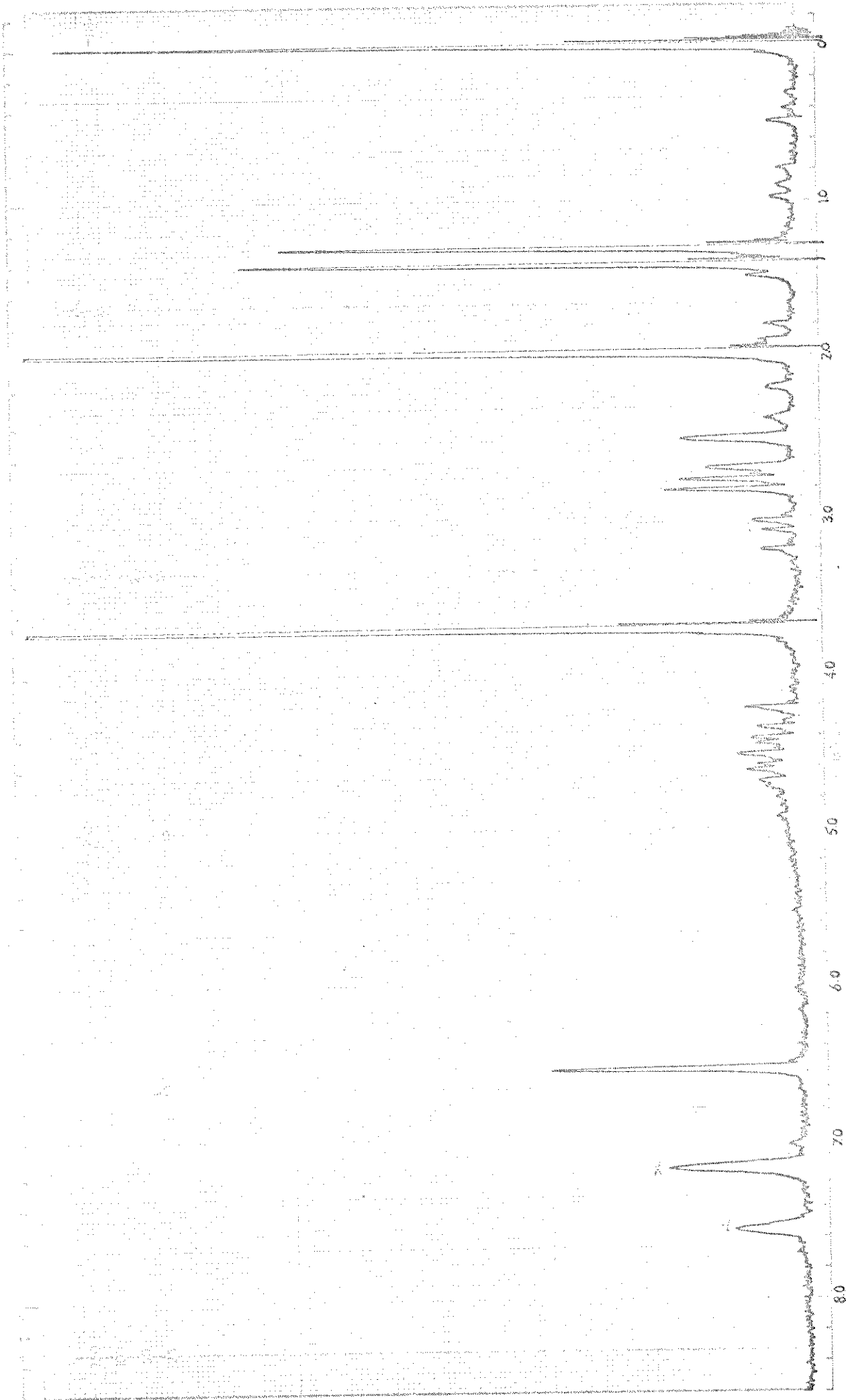


Fig. 19 - Espectro de ressonância magnética protônica da ES-4 em deuteriopiridina

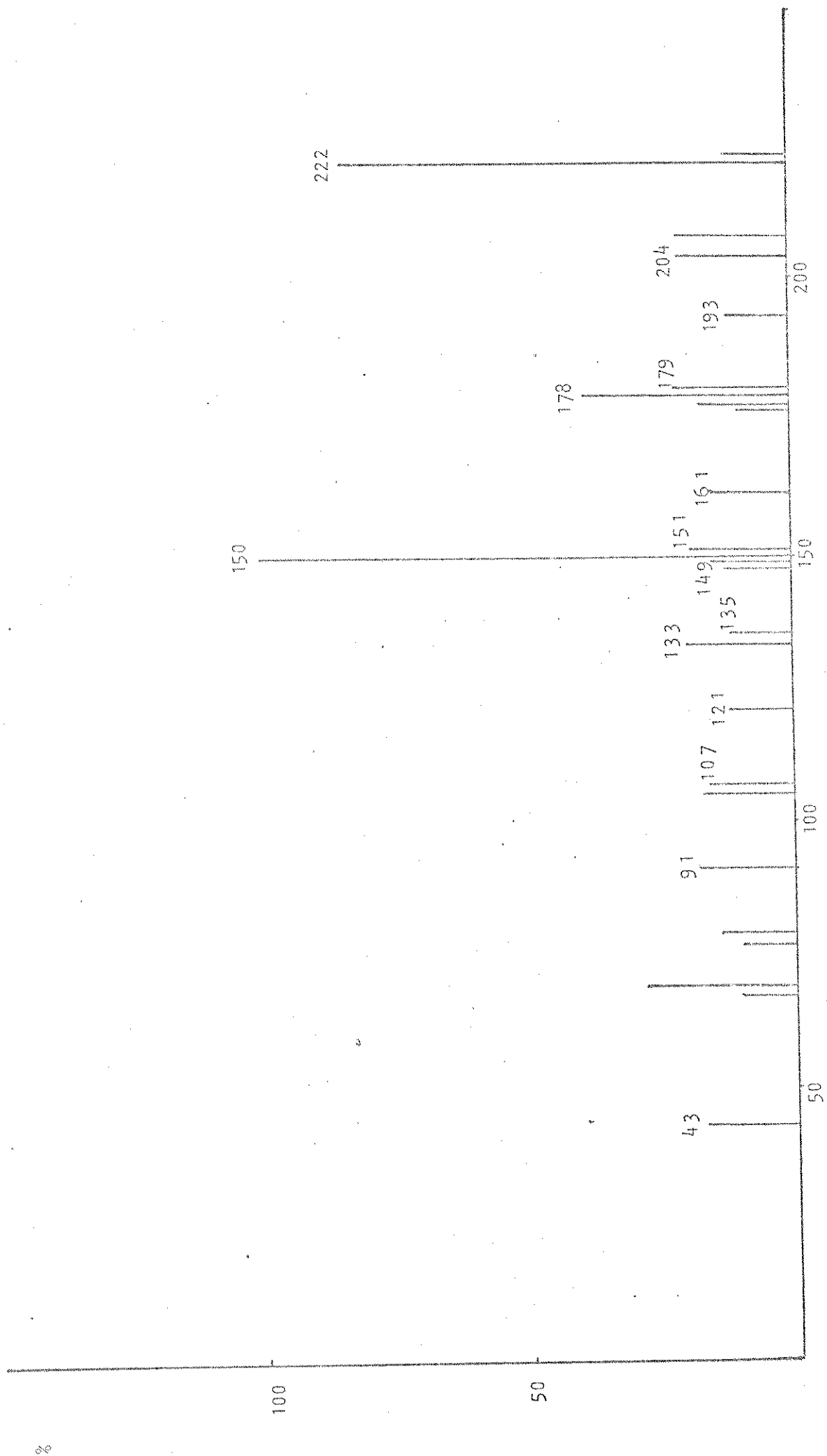
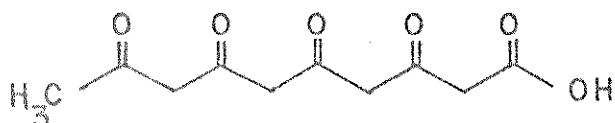


Fig. 20. Espectro de massa da Es-4

POSSÍVEL ROTA BIOSINTÉTICA DE CROMANONAS

## POSSÍVEL ROTA BIOSSINTÉTICA DE CROMANONAS

As cromanonas e cromonas fazem parte dos produtos naturais chamados policetídeos. Estes compostos, as cromanonas, se formam através de algumas reações (oxidação, redução, alquilação, ciclização, etc...) de uma cadeia beta-policetônica:



No trabalho realizado com o fungo Daldinia concentrica, Bu'Lock et al<sup>(8)</sup>, comprovaram experimentalmente, usando acetato ( $1-^{14}\text{C}$ ), que a 5-hidroxi-2-metil-4-cromanona é construída biossinteticamente por condensações lineares de quatro ou cinco unidades  $\text{C}_2$  derivadas de acetato.



Baseados nestes dados podemos supor que as cromanonas que isolamos se formem de maneira semelhante, mas com a diferença que, no nosso caso, provavelmente, a cadeia beta-policetônica deve sofrer metilação antes do processo de ciclização.

No quadro VII propomos um caminho biossintético<sup>(27)</sup> para as cromanonas Es-1, Es-2, Es-3 e Es-4. É interessante notar que, se compararmos o quadro VII com os dados da tabela I e do quadro I, verificaremos que a cromanona Es-1, da qual parecem provir as cromanonas Es-3 e Es-4 é a que tem sido isolada com maior frequência. Além disso, os intermediários propostos para a biossíntese da Es-3 foram todos isolados em outras espécies brasileiras.

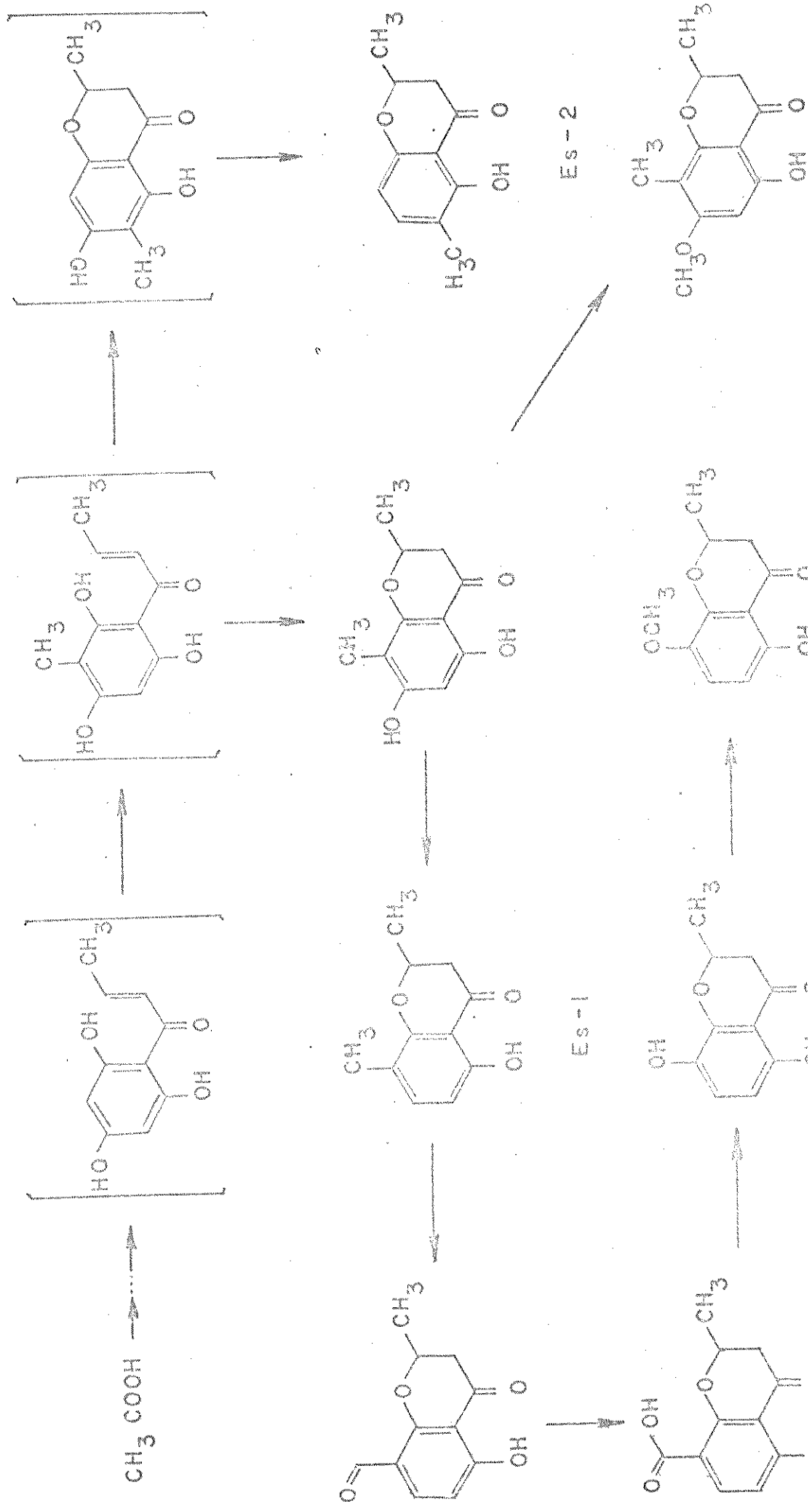
O estudo de Bu'Lock e o fato de substâncias tão relacionadas ocorrerem em diferentes gêneros de diferentes famílias, nos faz pensar que as cromanonas sejam metabólitos de fungos in-festadores do vegetal.

Finalmente, o fato de haveremos isolado uma quantidade razoável de sitosterol de Endlicheria sericeae pode ser um dos fatores que propiciariam a infestação pelos fungos, pois existem evidências de que esteróides sejam importantes no desenvolvimento e reprodução de fungos (28), (29).

QUADRO - VII

(27)

PROPOSTA DE BIOSÍNTESE PARA AS CROMANONAS ISOLADAS





PARTE EXPERIMENTAL

## PARTE EXPERIMENTAL

Os pontos de fusão foram determinados em placa de aquecimento tipo Kofler instalada em um microscópio modelo Thermopan (C.Reichert Optische Werke A.G.) e no aparelho Mettler FP5 acoplado com FP52 e não sofreram correções.

Empregamos o espectrômetro de massa Finnigan modelo 1015 S/L, tipo quadrupolar, para obtenção dos espectros de massa (os espectros foram tirados a 20 eV).

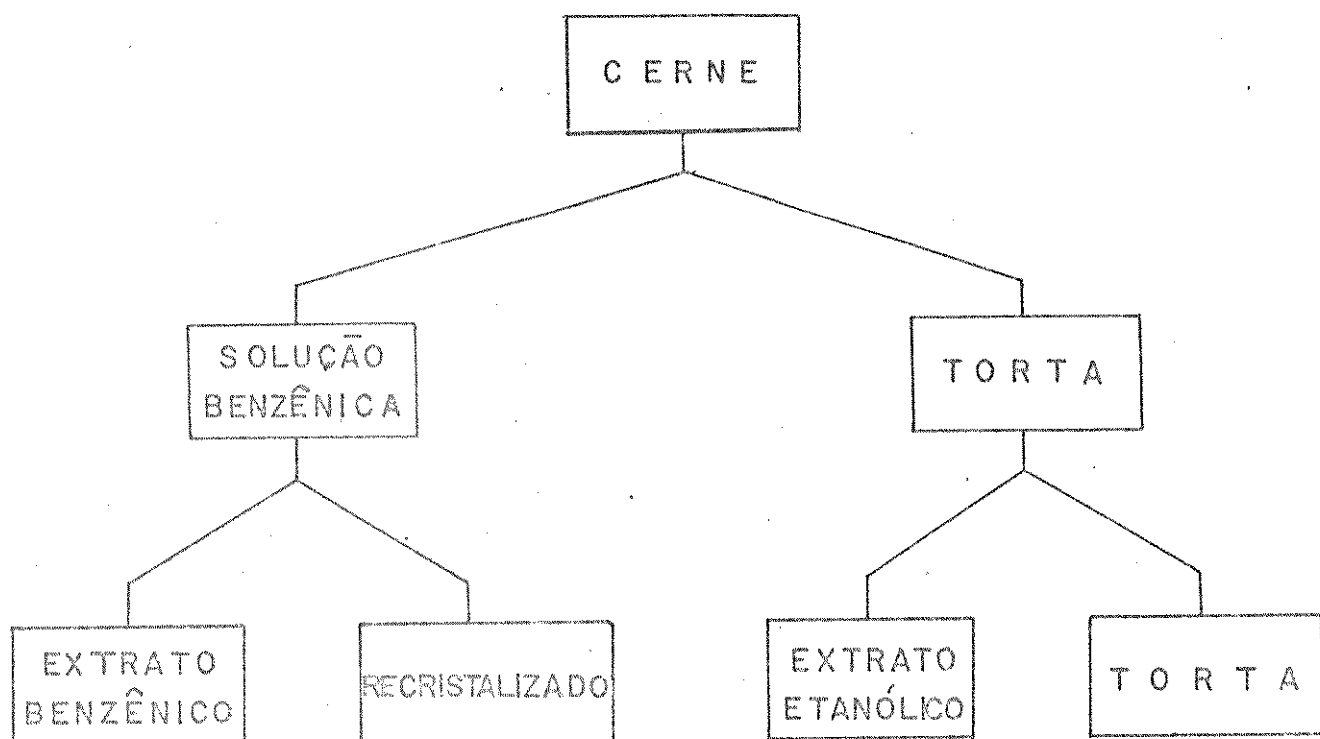
Registramos os espectros de ressonância magnética protônica em um aparelho Varian T-60, e utilizamos tetrametilsilano como padrão interno.

Usamos o instrumento Perkin-Elmer modelo 337 para obtermos os espectros na região do infravermelho. Tiramos estes espectros em KBr (1,5% de composto).

Nos processos de cromatografia em coluna e em camada delgada empregamos silicagel como absorvente (coluna: 0,05-0,20 mm; camada delgada: tipo G segundo Stahl). Revelamos as placas com uma lâmpada de ultravioleta (254 e 366 nm) e com vapor de iodo ressublimado.

### I. Obtenção dos extratos:

Os extratos foram cedidos pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Para obtenção dos extratos foi utilizada a madeira total. Depois de seca e moída, a madeira foi extraída exaustivamente com benzeno a frio. A torta resultante foi submetida à nova extração, a frio, com etanol. As soluções resultantes foram concentradas em evaporador rotativo sob pressão reduzida (quadro VIII). Do extrato benzênico precipitou um sólido branco que foi recristalizado e filtrado resultando aproximadamente 2,0 g de um sólido cristalino de fusão 164-6°C.



II. Isolamento dos Constituintes Microquímicos do Extrato Benzênico:

Submetemos parte do extrato benzênico (40,0 g) à cromatografia em uma coluna de sílica (1800 g) de 8 cm de diâmetro. Como solvente inicial usamos hexano e benzeno (1:1); a seguir, benzeno puro, e, finalmente, clorofórmio puro (tabela IX).

TABELA IX

<u>SOLVENTE</u>	HEXANO: BENZENO (1:1)	BENZENO	CLOROFÓRMIO
<u>FRAÇÕES</u>	0 a 138	139 a 406	407 a 459

Recolhemos inicialmente, um volume morto de dois litros e em seguida passamos a recolher frações de 250 ml cada uma. Concentramos estas frações em evaporador rotativo e as submetemos à análise comparativa por cromatografia em camada delgada.

De acordo com os resultados obtidos separamos as frações em doze grupos, dos quais isolamos seis substâncias puras, além de ésteres e ácidos de cadeia longa que não identificamos (tabela XI).

Designamos as substâncias isoladas de Es-1, Es-2, Es-3, Es-4, Es-5 e Es-6, de acordo com a ordem em que discutimos suas estruturas neste trabalho. A substância Es-1 foi escolhida para ser discutida em primeiro lugar porque foi isolada em maior quantidade, e as demais foram discutidas em analogia a Es-1 do

TABELA X

FRAÇÕES	GRUPO	QUANTIDADE (g)	SUBSTÂNCIAS ISOLADAS
0 a 88	E - I	0,762	mistura
89 a 117	E - II	0,100	Es-2
118 a 152	E - III	0,174	mistura
153 a 193	E - IV	0,357	Es-1
194 a 199	E - V	0,033	Es-1, Es-3
200 a 204	E - VI	0,100	Es-3
205 a 218	E - VII	0,072	Es-3, Es-4
219 a 229	E - VIII	0,088	Es-4
230 a 277	E - IX	0,266	mistura
278 a 320	E - X	1,740	Es-5
321 a 385	E - XI	0,506	Es-6
386 a 459	E - XII	0,280	mistura

modo que nos pareceu mais conveniente (com exceção de Es-5 e Es-6 que possuem estruturas diferentes das outras substâncias).

A fração E-I apresentou-se como um óleo espesso cujas análises espectrais mostraram tratar-se de uma mistura de ésteres insaturados de cadeia longa que não identificamos.

A fração E-II era constituída de uma mistura de cristais brancos e um óleo amarelo, que separamos por diferença de solubilidade em hexano. O sólido branco, insolúvel em hexano (100 mg), apresentou ponto de fusão de 100-2<sup>o</sup>C e o designamos de Es-2. A análise cromatográfica em camada delgada em vários sistemas de solventes: clorofórmio; benzeno e clorofórmio (1:1) e benzeno e acetato de etila (8:2), mostrou uma única mancha.

As análises espectrais da fração E-III indicaram que esta se tratava de uma mistura de ácidos ou/ésteres de cadeia longa que não separamos nem identificamos.

A fração E-IV era constituída também de um sólido branco e um óleo misturados, entretanto, recristalização em hexano e benzeno nos permitiu isolar 150 mg de um sólido cristalino que funde a 123-5<sup>o</sup>C e que apresenta apenas uma mancha em cromatografia em camada delgada nos sistemas de solventes citados. Chamamos esta substância de Es-1.

A análise cromatográfica em camada delgada da fração E-V mostrou duas manchas fluorescentes sob irradiação ultravioleta, sendo que, uma delas com o mesmo R<sub>f</sub> da substância Es-1. O espectro de ressonância magnética protônica apresentou as bandas correspondentes aos prótons da substância Es-1 e bandas que indicaram a presença na mistura de pequena quantidade de outra substância que denominamos de Es-3. Entretanto, devido à quantidade muito pequena de material, não isolamos Es-3 desta fração.

A fração E-VI, constituída de um sólido amorfo de baixo ponto de fusão (100 mg), apresentou apenas uma mancha em cromatografia em camada delgada, em vários sistemas de solventes (clorofórmio, benzeno e clorofórmio, benzeno e acetato de etila). As análises espectrais mostraram que se tratava de substância Es-3 pura. Recristalização em hexano nos levou a isolar 80 mg de um sólido branco que funde a 65-70<sup>o</sup>C.

A fração E-VII, apresentava o mesmo aspecto que a fração E-VI e mostrava também uma única mancha em cromatografia em camada delgada, nos vários sistemas de solventes citados, en-

entretanto, as análises espectrais indicaram que se tratava de uma mistura contendo principalmente Es-3 e uma quarta substância que chamamos Es-4. Fizemos várias tentativas com o objetivo de separar a mistura através de cromatografia em placa preparativa, sem êxito, porque os Rf das duas substâncias (Es-3 e Es-4) são praticamente idênticos.

A fração E-VIII, constituída de um sólido branco, foi recristalizada em hexano, produzindo cerca de 88 mg de um sólido cristalino que funde a 118-119°C, cujas análises espectrais mostraram que se tratava da substância Es-4 pura.

A fração E-IX não foi trabalhada porque seus espectros indicaram que ela se tratava de uma mistura de ácidos e/ou ésteres de cadeia longa cuja identificação não nos interessou no momento.

A fração E-X apresentou-se como um sólido branco misturado com pequena quantidade de uma substância oleosa. A recristalização em etanol forneceu 1,74 g de um sólido cristalino de ponto de fusão de 137-139°C e que designamos de Es-5. A substância posteriormente mostrou tratar-se de sitosterol.

A fração E-XI apresentou-se como um óleo que com dificuldade conseguimos cristalizar em metanol após evaporação total do solvente. As análises espectrais desta fração nos permitiram que a identificássemos como sitostenona (Es-6); entretanto o ponto de fusão citado na literatura<sup>(26)</sup> para esta substância é de 94-6°C. Isto nos levou a fazermos uma nova cristalização em éter e metanol com evaporação lenta do solvente. Obtivemos cerca de 30 mg de um sólido cristalino em forma de agulhas com ponto de fusão de 90-100°C.

As análises espectrais da fração E-XII mostraram que ela se tratava de uma mistura de substâncias de cadeia longa que não foi trabalhada.

### III. Estudo do Extrato Etanólico:

O extrato etanólico apresentou como constituinte principal e quase exclusivo a substância Es-7 (manitol) (5,0 g):

PM = 182

PF = 164-66°C

PF(lit)<sup>(24)</sup> = 167°C

VI: Constantes Físicas e Espectrométricas das Cromanonas Isoladas

Es-1 : 2,8-dimetil-5-hidroxi-4-cromanona

Cristais incolores, p.f. 123-4<sup>o</sup>C (benzeno-hexano);  $(\alpha)_D^{21}$  -115(CHCl<sub>3</sub>)  
 $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  (nm): 322 e 247 (log $\epsilon$  3,78 e 3,59 resp.);  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>): 2970 ,  
1665, 1615, 1480, 1390; RMP (CDCl<sub>3</sub>,  $\tau$ ): -0,97 (s, OH), 2,82 (d, J 8,5Hz  
H-7), 3,32 (d, J 8,5 Hz, H-6), 5,38 (m, H<sub>axial</sub>-2), 7,12 (dd, J 4,5 e  
16 Hz, H<sub>eq</sub>-3), 7,36 (dd, J 10,0 e 16,0 Hz, H<sub>ax</sub>-3), 7,83 (s, CH<sub>3</sub>-8),  
8,50 (d, J 6,5 Hz, CH<sub>3</sub>-2); EM: M<sup>+</sup> 192 (100%), m/e (%): 174 (44) ,  
163 (35), 159 (3), 148 (65), 146 (19), 131 (20), 120 (78), 117(22),  
91 (35).

Es-2 : 2,6-dimetil-5-hidroxi-4cromanona

Cristais em agulhas incolores, p.f. 100-2<sup>o</sup>C (éter-hexano),  $(\alpha)_D^{21}$   
-78 (CHCl<sub>3</sub>),  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  (nm) 320 e 250(log $\epsilon$  3,80 e 3,54 resp.);  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   
(cm<sup>-1</sup>) 2965, 1665, 1625, 1460, 1425; RMP (CCl<sub>4</sub>,  $\tau$ ): -1,20 (s, OH) ,  
2,90 (d, J 7,5 Hz, H-7), 3,60 (d, J 7,5 Hz, H-8), 5,39 (q, J 7,0  
Hz, H-2), 7,20 (d, J 7,0 Hz, CH<sub>2</sub>), 7,81 (s, CH<sub>3</sub>-6), 8,51 (d, J 7,0Hz,  
CH<sub>3</sub>-2); EM: M<sup>+</sup> 192 (100%), m/e (%): 174 (50), 163 (28), 159 (30) ,  
148 (68), 146 (24), 131 (27) , 120 (42), 117 (20), 91 (31).

Es-3 : 5-hidroxi-8-metoxi-4-cromanona

Sólido incolor, p.f. 65-70<sup>o</sup>C (éter-hexano);  $(\alpha)_D^{21}$  -116 (CHCl<sub>3</sub>) ;  
 $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  (nm): 343 e 240 (log $\epsilon$  3,39 e 3,25 resp.);  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  (cm<sup>-1</sup>): 2960 ,  
1670, 1610, 1585, 1475, 1385; RMP (CCl<sub>4</sub>,  $\tau$ ): -0,23 (s, OH), 3,15 (d ,  
J 9,0 Hz, H-7), 3,45 (d, J 9,0 Hz, H-6), 5,65 (m, H-2), 6,35(s, OCH<sub>3</sub>) ,  
7,02 (dd, J 4,0 e 17,0 Hz, H<sub>eq</sub>-3), 7,65 (dd, J 11,0 e 17,0Hz, H<sub>ax</sub>-3) ,  
8,65 (d, J 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>-2); EM: M<sup>+</sup> 208 (100%), m/e (%): 193 (13), 192  
(13), 191 (6), 190 (49), 179 (23), 175 (44), 162 (12), 147 (15), 136  
(10), 119 (16), 91 (10).

Es-4 : 2,8-dimetil-5-hidroxi-7-metoxi-4-cromanona

Cristais incolores em agulhas, p.f. 118-9°C (hexano),  $(\alpha)_D^{21}$  - 98  
(CHCl<sub>3</sub>);  $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$  (nm): 310 e 267 (10ge 3,79 e 3,42 resp.) ;  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   
(cm<sup>-1</sup>): 2970, 1660, 1620, 1580, 1470, 1440; RMP (CDCl<sub>3</sub>, $\tau$ ) : -1,20  
(s,OH), 3,80 (s, H-6), 5,50 (m,H-2), 6,16 (s,OCH<sub>3</sub>),7,15(dd,J 5,0 e  
16,5 Hz, H<sub>eq</sub>-3), 7,40 (dd,J 11,0 e 16,5 Hz, H<sub>ax</sub>-3), 8,02(s,CH<sub>3</sub>-8),  
8,49 (d,J 7,0 Hz, CH<sub>3</sub>-2); EM: M<sup>+</sup> 222 (85%), m/e (%): 204 (21), 193  
(12), 178 (39), 176 (17), 161 (16), 150 (100), 135 (11), 133 (20),  
121 (12), 107 (16), 91 (18).



B I B L I O G R A F I A

- (1) O.R. Gottlieb. Phytochem., 11, 1537 (1972).
- (2) R. Hegnauer. "Chemotaxonomie der Pflanzen", v. IV. Birkhäuser Verlag, Basel (1966).
- (3) J.D. Bu'Lock, P.R. Leeming, H.G. Smith. J. Chem. Soc. , 2085 (1962).
- (4) M.C. Manger, W.D. Ollis e I.O. Sutherland. Chem. Commun., 577 (1967).
- (5) J.B. Harborne. "The Plants Flavonoids", conferência proferida no dia 11/07/1973, XXV Reunião Anual da Soc. Bras. Progr. Ciên cia, Rio de Janeiro - GB.
- (6) O.R. Gottlieb. Rev. Latinoamer. Quím., 5(1), 1 (1974).
- (7) J. Hutchinson. "Evolution and Phylogeny of Flowering Plants", p. 128. Academic Press, London (1969).
- (8) J.D. Bu'Lock e D.C. Allport. J. Chem. Soc., 654 (1960).
- (9) O.R. Gottlieb et al. Dados não publicados.
- (10) L.J. Bellamy. "The Infra-Red Spectra of Complex Molecules", p. 144. Richard Clay Ltd. Bungay, Suffolk (1966).
- (11) O.R. Gottlieb. "Introd. Espectrom. de Ress. Mag. Protônica" , p. 78. Ed. Univ. Fed. Rural, Rio de Janeiro (1971).
- (12) M.R. Dietrich e R.E. Keller, Anal. Chem., 36, 258 (1964).
- (13) L. Jurd. "The Chemistry of Flavonoid Compounds", p. 107. Pergamon Press, London (1962).
- (14) T.J. Mabry, K.R. Markham e M.B. Thomas. "The Systematic Identification of Flavonoids", p. 169. Springer Verlag New York Inc., New York (1970).
- (15) Merck, "Dyeing Reagents for Thin-layer and Paper Chromatography", p. 27 (1971).
- (16) H.D. Gibbs, J. Biol. Chem., 72, 649 (1927)

- (17) A.P. Mourão. Tese de Mestrado, Univ. de São Paulo (1975).
- (18) P.V. Demarco, E. Farkas, D. Doddrell, B.L. Mylari e E.Wenkert. J. Am. Chem. Soc., 90, 5480 (1968).
- (19) R. Braz Filho, O.R. Gottlieb e A.P. Mourão. Phytochem., 14, 261 (1975).
- (20) I.B. Alleluiah, R. Braz Filho, O.R. Gottlieb e Z.M.G.Scattone. Trabalho não publicado.
- (21) A.R.Katritzky e B. Ternai. J. Heteroc. Chem., 5(6), 745 (1968).
- (22) L.M. Jackman. "Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy", 3<sup>a</sup>. Ed., p. 84. Pergamon Press, London (1963).
- (23) Idem ref. (11), p. 86.
- (24) "Handbook of Tables of Organic Comp. Identification", 3<sup>a</sup>. Ed. , p. 90. CRC Press, Cleveland (1967).
- (25) "The Sadtler Standard Spectra", Standard Infrared Grating Spectra (Sadtler Research Laboratories, Inc.) PA 19104 (1971).
- (26) D. Lavie e I.A. Kaye. J. Chem. Soc., 5001 (1963).
- (27) C.A. Caparica, O.R. Gottlieb, A.F. Magalhães, E.G. Magalhães e J.G.S. Maia. Ciência e Cultura, 27; 171 (suplemento) (1975).
- (28) J.W. Hendrix. Ann. Rev. Phytopathology, 8, 111 (1970).
- (29) E. Heftmann. Phytochem., 14, 891 (1975).