

Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química

AS CUMARINAS DO Pterocaulon
balansae, Chodat

Simone Maria Gonçalves de Barros

Tese de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Aderbal F. Magalhães

CAMPINAS - 1981

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Para meus pais
e meus filhos

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meu reconhecimento

Ao Prof. Dr. Aderbal F. Magalhães pela orientação;

À CAPES/PICD pelas bolsas de estudo concedidas durante a execução deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Hermógenes F. Leitão Filho pela coleta e identificação das espécies G. pulchra e P. balansae;

À direção do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas pelas facilidades que me proporcionou na realização deste trabalho;

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco pela minha permanência aqui durante todo este tempo de trabalho;

Ao Prof. Dr. Fred Y. Fujiwara pelo espectro de ressonância magnética protônica em 100 MHz;

Aos Profs. Lawrence T. Nielsen e Dra. C. Kascheres pelos espectros de massas;

A Nelson Frighetto pela análise elementar realizada;

Ao Prof. Paulo F. R. Maciel pelo seu empenho em nossa vinda para Campinas;

À Profa. Dra. Anita J. Marsaioli pela obtenção dos espectros de ressonância magnética nuclear de carbono-13 e pelos inestimáveis apoio e incentivo recebidos;

Aos colegas de trabalho pelo apoio e convivência agradável - Ângela, Antônio Cláudio, Cândida, Carmen, Domingos, Maria Helena, Paulo, Raquel, Roberto e em especial Lúcia Helena;

A Lourival Pimpim e Maria Angélica C. Purchio pelo auxílio valioso durante o trabalho experimental;

Finalmente, meus maiores reconhecimentos a Benício e Maria, sem cuja dedicação este trabalho não teria sido realizado.

RESUMO

A partir do extrato em hexano e éter dietílico da parte aérea da espécie Pterocaulon balansae, Chodat, isolamos as cinco cumarinas seguintes: 5-(3'-metil-2',3'-buteniloxi)-6,7-metilenodioxicumarina, 5-(2',3'-epoxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina, 5-(2',3'-dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxicumarina, 6-metoxi-7-(2',3'-epoxi-3'-metilbutiloxi)cumarina e 6-metoxi-7-(3'-metil-2',3'-dihidroxibutiloxi)cumarina, das quais três são inéditas.

As estruturas destas cumarinas foram determinadas pelos métodos espectroscópicos usuais, e por métodos químicos. Um estudo de duas das cumarinas utilizando-se ressonância magnética de carbono-13 ressalta os efeitos dos substituintes sobre os deslocamentos químicos dos carbonos, permitindo determinar a localização destes substituintes no anel cumarínico.

ABSTRACT

Starting from an hexane/ethyl ether extract of the aerial parts of Pterocaulon balansae, Chodat, we isolated the five following coumarins: 5-(3'-methyl-2',3'-butenyloxy)-6,7-methylenedioxy-coumarin; 5-(2',3'-epoxy-3'-methylbutyloxy)-6,7-methylenedioxy-coumarin; 5-(2',3'-dihydroxy-3'-methylbutyloxy)-6,7-methylenedioxy-coumarin; 6-methoxy-7-(2',3'-epoxy-3'-methylbutyloxy)coumarin; and 6-methoxy-7-(3'-methyl-2',3'-dihydroxybutyloxy)coumarin. Three of these coumarins are new.

The structures of these coumarins were determined by the usual spectroscopic methods, and by chemical methods. A study of two of the coumarins using carbon-13 magnetic resonance emphasizes the substituent effects upon the carbon chemical shifts, allowing the precise allocation of these substituents on the coumarin ring.

ÍNDICE

	Página
I - INTRODUÇÃO	1
II - RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
II.1 - Pb-3	7
II.2 - Pb-5	19
II.3 - Pb-2	29
II.4 - Análise por RMN- ¹³ C das cumarinas Pb-2 e Pb-3	42
II.5 - Pb-4	57
II.6 - Pb-1	66
III - PARTE EXPERIMENTAL	76
III.1 - Coleta do material e obtenção do extrato	77
III.2 - Isolamento e identificação das cumarinas	78
III.3 - Reações químicas efetuadas	81
III.3.A - Redução do epóxido de Pb-3 com o par zinco/cobre	81
III.3.B - Redução do epóxido de Pb-2 com trifenil- fosfina	81
III.3.C - Clivagem ácida do epóxido de Pb-2	82
III.3.D - Hidrólise ácida de Pb-3	82
III.3.E - Clivagem ácida do epóxido de Pb-3	83
III.4 - Dados espectrais e constantes físicas	83
IV - BIBLIOGRAFIA	87

QUADROS

	Página
1 - Cumarinas isoladas na família <u>Compositae</u>	4
2 - Proposta de fragmentação do composto Pb-3	18
3 - Proposta de fragmentação do composto Pb-5	28
4 - Proposta de fragmentação do composto Pb-2	41
5 - Proposta de fragmentação do composto Pb-4	67
6 - Proposta de fragmentação do composto Pb-1	75

TABELAS

1 - Dados de RMN- ¹ H de Pb-3 e XXVI-a	11
2 - Dados físicos de XXVI-a (9)	17
3 - Dados de RMN- ¹ H de Pb-5 e XXVII-a	22
4 - Dados físicos de XXVII-a (9)	29
5 - Dados de RMN- ¹ H de Pb-2 e de XXVIII-b (29)	33
6 - Dados físicos de XXVIII-b (29)	39
7 - Dados de RMN- ¹ H do composto Pb-4	62
8 - Dados de RMN- ¹ H do composto Pb-1	70
9 - Coluna de cromatografia do extrato bruto	78
10 - Coluna de cromatografia das frações 76-87	79

FIGURAS

1-a - Espectro no UV do composto Pb-3	8
1-b - Espectros no UV de cumarinas 6,7-dioxigenadas	8
2 - Espectro no IV de Pb-3	9
3-a - Espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-3	12
3-b - Ampliação da região 4,5-3,0δ do espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-3	14
4 - Espectro de absorção no UV do composto Pb-5	20

Figura	Página
5 - Espectro no IV de Pb-5	21
6-a - Espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-5	23
6-b - Ampliação da região 5,0-2,0 do espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-5	25
7 - Efeito do deslocamento por solvente sobre os prótons da cumarina	27
8 - Espectro no UV do composto Pb-2	30
9 - Espectro no IV de Pb-2	
10-a - Espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-2	34
10-b - Região 3,0-5,0δ (expandida) no espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-2	36
11 - Atribuição dos deslocamentos químicos de RMN- ¹³ C para o composto Pb-3 (XXVI-a)	43
12 - Espectros de RMN- ¹³ C do composto Pb-3	44
13 - Dados de RMN- ¹³ C das estruturas XXIX-XL	46
14 - Atribuições dos deslocamentos químicos de RMN- ¹³ C ao composto Pb-2 (est. XXVIII-a)	50
15 - Espectros de RMN- ¹³ C do composto Pb-2	51
16 - Dados de RMN- ¹³ C das estruturas XLI-XLIV	54
17 - Dados de RMN- ¹³ C das estruturas XLV e XLVI (alcalóides protoberberínicos)	56
18 - Dados de RMN- ¹³ C das estruturas XLVII e XLVIII (lignanas do tipo feniltetralina)	56
19 - Espectro no UV do composto Pb-4	58
20 - Espectro no IV de Pb-4	59
21-a - Espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-4	61
21-b - Região 4,83-4,08δ (expandida) no espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-4	63
22 - Espectro no UV do composto Pb-1	68

Figura		Página
23	- Espectro no IV de Pb-1	69
24	- Espectro de RMN- ¹ H do composto Pb-1	71

I - INTRODUÇÃO

Há vinte anos a química dos produtos naturais preocupava-se apenas em isolar e tentar elucidar a estrutura dos compostos presentes num material natural. As pesquisas tinham seus objetivos escolhidos na tentativa de solucionar problemas puramente químicos, sem nenhuma referência ao seu significado biológico (1).

Desde então houve um progresso considerável, devido em parte ao maior número de interessados na química dos produtos naturais, mas devido sobretudo ao emprego dos novos métodos físicos e instrumentais que se tornaram disponíveis. Como resultado deste desenvolvimento, nossos conhecimentos a respeito da estrutura dos compostos naturais aumentaram rapidamente, possibilitando aos químicos atacar problemas que há duas décadas pareciam insuperáveis.

Com a acumulação de dados, a completa elucidação da estrutura e configuração de produtos naturais passou a interessar não apenas como um fim em si, mas também como um pré-requisito ao estudo da distribuição desses compostos no reino vegetal, papel da quimiotaxonomia, e talvez até na investigação do processo evolutivo da planta (1,2).

Atualmente muitos taxonomistas estão interessados na distribuição de metabólitos secundários nas plantas. Há numerosos exemplos em que os problemas relacionados à situação de algumas espécies não podem ser resolvidos de forma definitiva pelos clássicos métodos morfológicos e é nesses casos que a química dos produtos naturais pode constituir-se num importante auxiliar da taxonomia (3). Para isso torna-se indispensável a catalogação dos produtos naturais de acordo com as suas estruturas químicas e com as plantas das quais são obtidos. De extrema valia, por exemplo, é o trabalho realizado pelo Prof. Hegnauer, Chemotaxonomie der Pflanzen (1962). Nele se encontra coletada, organizada e discutida a essência da literatura fitoquímica, destacando-se as grandes falhas do nosso conhecimento nesse campo (1).

A investigação sistemática da distribuição de compostos químicos numa dada tribo ou gênero já se faz há algum tempo. Um exemplo disto são os estudos pioneiros de Sørensen em poliacetilenos de Compositae, realizados a partir da década de 40. Esse trabalho seguiu linhas sistemáticas desde o começo, levando à descoberta de um grande número de poliacetilenos em diferentes tribos da família Compositae. Na década de 50, Bohlmann e seus colaboradores entraram no mesmo campo, contribuindo com mais acetilenos e compostos heterocíclicos em Compositae (1). À medida que estes fragmentos de informação são lentamente reunidos por diferentes pesquisadores, vão-se gradativamente delineando os "perfis químicos" das famílias, mesmo numerosas como a Compositae.

Nosso trabalho pretende colaborar com esse tipo de pesquisa, fornecendo dados e informações que possam contribuir para o estudo da distribuição de produtos naturais. Com esta finalidade nosso grupo está realizando investigações estruturais sistemáticas em alguns gêneros de Compositae, comuns no sudeste do Brasil.

Iniciamos nosso estudo com a espécie Gochnatia pulchra (t. Mutisieae). Depois de grandes esforços para isolar e identificar alguns compostos mais significativos, estes se apresentaram muito instáveis, o que nos levou a abandonar temporariamente esta espécie e estudar uma outra. A espécie escolhida foi a Pterocaulon balansae Chodat (t. Inuleae), da qual conseguimos isolar cinco cumarinas.

A Pterocaulon balansae é uma das 15.000 espécies da família Compositae, uma das maiores do reino vegetal, com cerca de 1.000 gêneros. Trata-se de uma família quimicamente muito peculiar. Segundo R. Hegnauer (4), "a ocorrência combinada de sesquiterpenolactonas, compostos acetilênicos e frutanas do tipo inulina é quase tão característica das Compositae como as suas inflorescências em forma de bulbo (capitula)".

As famílias que parecem estar mais próximas dos ancestrais da Compositae são a Umbelliferae e a Campanulaceae. Isto se deve principalmente à existência, nessas três famílias, de acetilenos e sesquiterpenolactonas. Além disto, na família Umbelliferae

rae a presença de certas cumarinas constitui mais um elemento de ligação com a família Compositae (4,5).

Consideremos agora os elos químicos dentro da família Compositae, no nível das tribos. Marbry e Bohlmann (5) sugerem que as tribos quimicamente mais complexas são as mais primitivas, e que a evolução (diferenciação química) é caracterizada pelo afastamento progressivo da matriz química, constituída de grande variedade de metabólitos secundários. Assim, na família Compositae os "perfis químicos" indicam que a tribo Heliantheae é a mais complexa quimicamente (a mais primitiva), sendo quimicamente intermediárias as tribos Helenieae, Inuleae, Anthemideae, Eupatoriae, Vernonieae e Cynareae, e quimicamente mais depauperadas (e, portanto, mais avançadas) as tribos Cichorieae, Astereae, Arctoteae, Mutisieae e Tageteae.

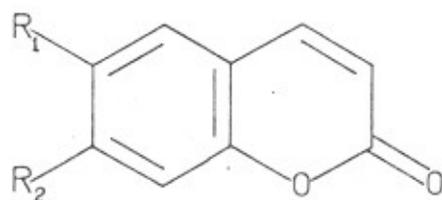
A tribo Inuleae, à qual pertence o gênero Pterocaulon, congrega 180 gêneros, com cerca de 2.100 espécies (6). Destas, apenas umas poucas espécies dos gêneros Blumea, Gnaphalium, Helichrysum e Inula é que foram investigadas quimicamente com mais detalhes. Os componentes químicos mais encontrados nestas investigações foram sesquiterpenolactonas, diterpenolactonas, pigmentos flavonóides, poliacetilenos simples e acetilenos mono- e di-tiofênicos (7).

A presença de substâncias cumarínicas entre os compostos secundários da família Compositae é numericamente pequena. No quadro 1 estão discriminadas as cumarinas isoladas nesta família até 1979 (4, 8, 9).

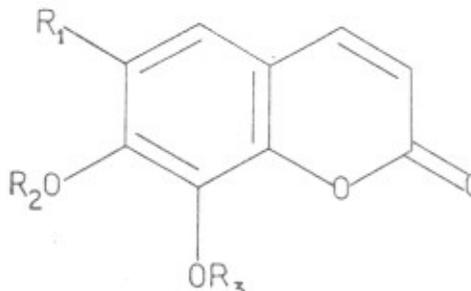
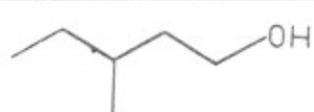
As tribos Cichorieae, Cardueae, Eupatoriae, Helenieae, Mutisieae e Inuleae possuem apenas algumas espécies onde ocorrem cumarinas. Já as tribos Anthemideae e Astereae apresentam constituintes cumarínicos em um número significativo de espécies, com destaque para o gênero Artemisia (t. Anthemideae), que é o que possui o maior número de espécies portadoras de cumarinas (4). No gênero Aster (t. Astereae), a presença de cumarinas do tipo aurapteno, X, tende a relacionar bioquimicamente a família Compositae com a Umbelliferae (e Rutaceae). Estes são casos em que as cumarinas parecem ter significado quimiotaxonômico (4).

A tribo Inuleae (4) apresentou duas espécies com cumarinas: a Phaenocoma prolifera L. (10), cujas raízes forneceram

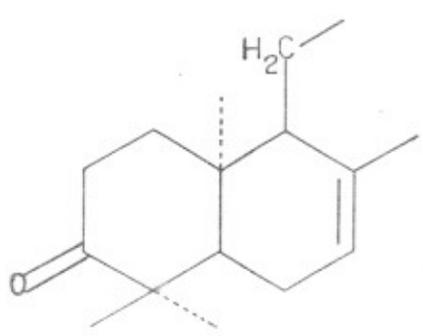
QUADRO 1 - Cumarinas isoladas na família
Compositae

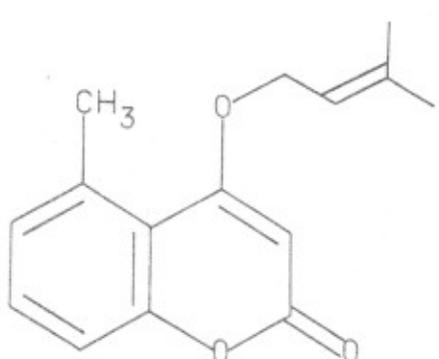


Estrutura	R ₁	R ₂
I	H	H
II	H	OH
III	H	OCH ₃
IV	OH	OH
V	OCH ₃	OH
VI	OCH ₃	OCH ₃
VII	O-CH ₂ -O	
VIII	OCH ₃	
IX	OH	
X	H	
XI		
XII	OCH ₃	
XIII	OCH ₃	

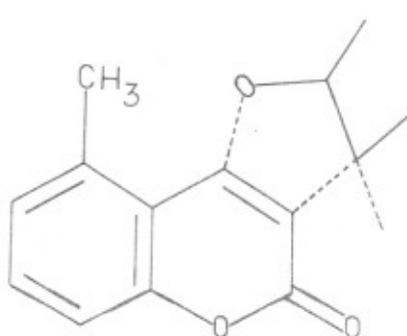
			
Estrutura	R ₁	R ₂	R ₃
XIV	OCH ₃	H	CH ₃
XV	H	CH ₃	H
XVI	H	-CH ₂ -	
XVII	OCH ₃	-CH ₂	
XVIII	OH	CH ₃	CH ₃
XIX	H		H
XX	OH	β-D-glucosil	—
XXI	OCH ₃	A	CH ₃

A =





XXII



XXIII

obliquina, XI, e a Pterocaulon sphacelatum B. & H. (11), que contém escoparina, VI.

As cumarinas acham-se amplamente distribuídas no reino vegetal, sendo particularmente encontradas nas famílias Umbelliferae e Rutaceae. Nas plantas em que ocorrem são detetadas em todas as partes, das raízes às flores e frutos (8).

A cumarina propriamente dita (estrutura I), denominada 2-H-1-benzo-piran-2-ona, foi isolada por Vogel em 1820, da espécie Dypterix odorata (12). O sistema básico de numeração para os elementos do anel, mostrado no quadro 1, é extensivo a todos os compostos da classe.

A grande maioria das cumarinas possui um substituinte oxigenado na posição -7, de tal forma que se pode considerar a 7-hidroxycumarina, II (umbeliferona), como a geradora, no sentido estrutural e no biogenético, de uma série de outras cumarinas estruturalmente mais complexas (13).

Nos capítulos seguintes descreveremos o isolamento e a identificação de cinco cumarinas da espécie Pterocaulon balansae.

No capítulo II abordamos os métodos espectroscópicos (ultravioleta, infravermelho, espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C) empregados para determinar a estrutura dos compostos isolados e apresentamos as informações que pudemos extrair mediante a aplicação desses métodos. A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H mostrou-se uma das mais úteis nas atribuições estruturais das cumarinas isoladas e a ressonância magnética nuclear de ^{13}C foi decisiva na localização dos substituintes no anel cumarínico. De grande valia foram também algumas das reações realizadas.

No Capítulo III relatamos o trabalho experimental desenvolvido no laboratório.

II - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cromatografia em coluna do extrato de Pterocaulon balansae (Chodat) resultou no isolamento de cinco cumarinas que designamos Pb-1, Pb-2, Pb-3, Pb-4 e Pb-5, por ordem de separação. Todos esses compostos apresentaram forte fluorescência sob radiação ultravioleta, sendo por isso inicialmente suspeitada a presença de substâncias cumarínicas (13, 14), que só foi confirmada após a inspeção dos espectros de RMN-¹H das frações que continham essas substâncias.

Passamos agora a descrever e discutir os resultados obtidos na tentativa de determinar as estruturas dos compostos isolados.

II.1 - Pb-3

(p.f. 125⁰ - 126⁰C; $[\alpha]_{20}^{589}$ (HCCl₃) = -3,6⁰; P.M. 276)

A figura 1-a mostra o espectro de absorção no ultravioleta de Pb-3 $[\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}, \text{nm} (\log \epsilon): 343 (4,07), 293 (3,83), \dots 259 (3,79), 250 (3,85), 229 (4,31)]$. Comparando-o com os espectros no ultravioleta de cumarinas conhecidas (ref-15, por exemplo), concluímos pela presença de um cromóforo cumarínico 6,7-dioxigenado. Esta conclusão baseia-se na semelhança da fig.1-a com espectros de cumarinas 6,7-dioxigenadas (fig. 1-b) (16). Além disto, o espectro na ultravioleta de Pb-3 não foi afetado pela adição de base, o que indica a ausência de hidroxila fenólica (13, 14, 17).

Confirmando nossas expectativas, o espectro de absorção no infravermelho (fig. 2) apresenta absorções características de anel cumarínico. Uma banda muito forte em 1720 cm⁻¹ indica a presença de uma lactona do tipo α -pirona, e as bandas em 1610 cm⁻¹ e 1560 cm⁻¹ correspondem a estiramentos C-C no anel aromáti-

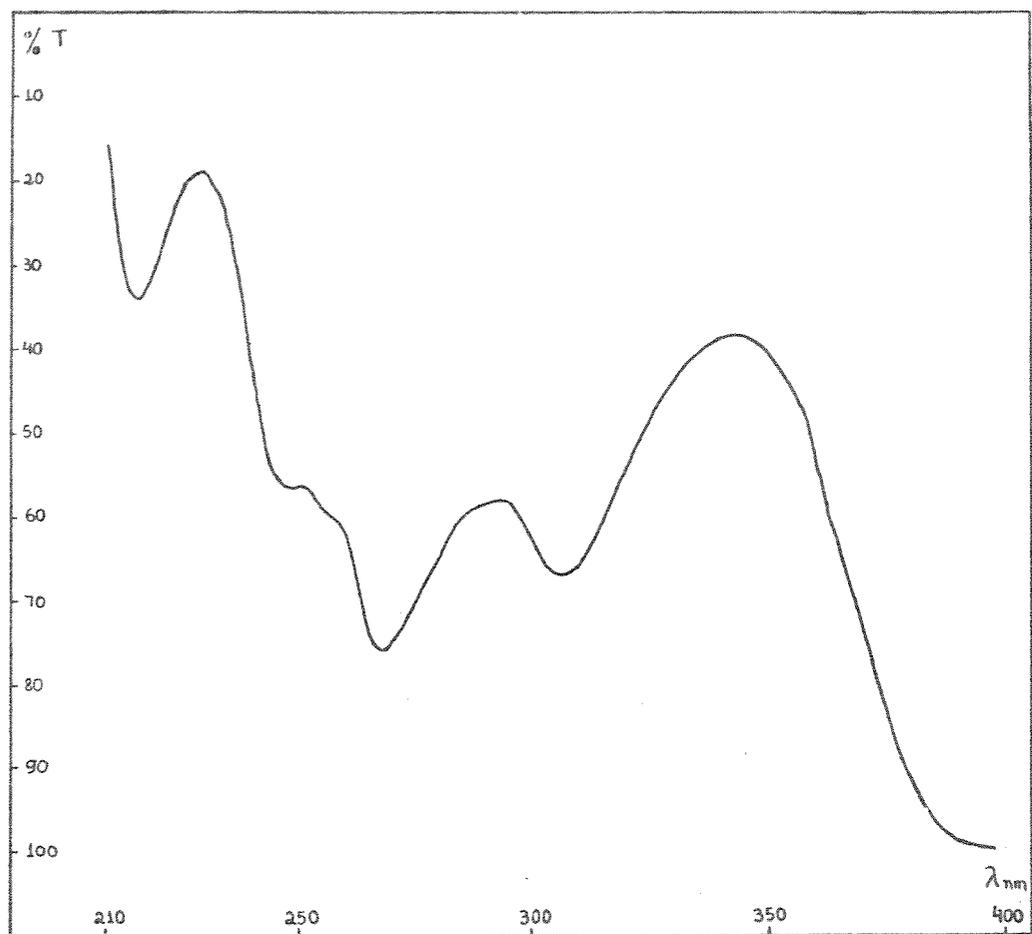


FIGURA 1-a: Espectro de UV do composto Pb-3.

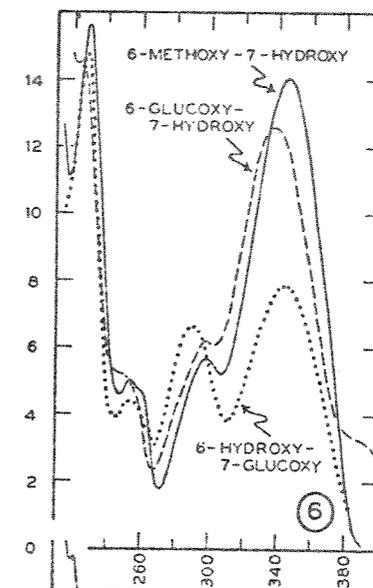


FIGURA 1-b: Espectros de UV de cumarinas 6,7-dioxigenadas.

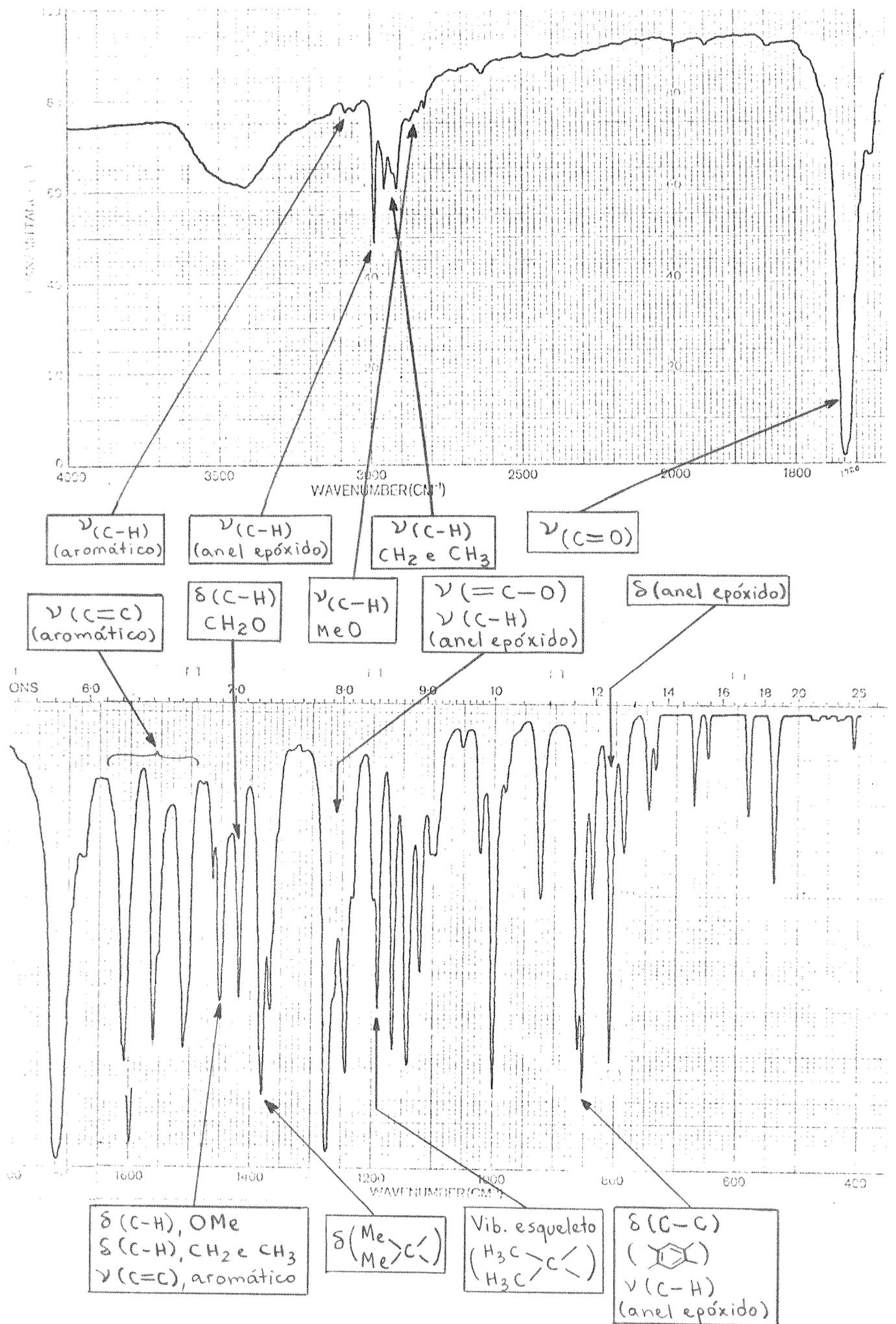
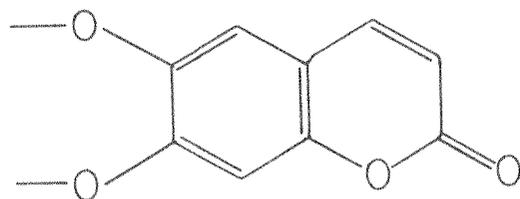


FIGURA 2: Espectro no IV de Pb-3 (pastilha de KBr).

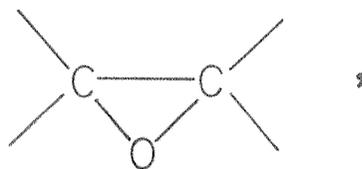
co (13, 14, 17, 18).

A interpretação do restante do espectro no infravermelho é dificultada pela suposta presença de grupos funcionais que absorvem na mesma faixa que outros, roubando muitas vezes o valor diagnóstico de algumas absorções características. Por exemplo, os grupos metilenodioxí, metoxila e etoxila ligados ao núcleo aromático apresentam bandas na mesma faixa e algumas vezes também na faixa dos grupos CH_3 , CH_2 e epóxido (19). São depois de analisar o espectro de RMN^{-1}H deste composto é que foi possível confirmar quais os grupos presentes e a partir daí então atribuir as absorções restantes. Assim, a absorção em 2990 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento da ligação C-H no epóxido e as bandas em 810 cm^{-1} e em 850 cm^{-1} a vibrações do anel epóxido, havendo ainda uma terceira absorção do anel, em 1270 cm^{-1} ou 1240 cm^{-1} (20, 21, 22). A presença de grupos metila e metileno é evidenciada pelas absorções em 2975 cm^{-1} e 2920 cm^{-1} . O dubleto em $1380\text{-}1370\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuído à existência de metilas geminados, que devem, pela absorção em 1190 cm^{-1} , estar ligados a um carbono quaternário (18, 23). A figura 2 mostra uma tentativa de atribuição das bandas no espectro infravermelho para o composto Pb-3.

Com os dados expostos até agora podemos supor que Pb-3 tenha uma estrutura cumarínica do tipo



além de uma cadeia lateral com um grupo epóxido,



e de pelo menos dois metilas ligados a um átomo de carbono quaternário:

Para combinar estes grupos e chegar à estrutura final temos de recorrer ao espectro de ressonância magnética protônica, mostrado na figura 3-a, cujos sinais são designados pelas letras minúsculas a, b, c, d, e, ... Esta convenção será adotada para os demais espectros de RMN-¹H. A tabela 1 apresenta nossas atribuições para os picos deste espectro, baseadas nas considerações que passamos a expor.

Os dubletos "a" e "d" que aparecem em 7,72δ e 6,37δ (J = 10,0 Hz) são relativos a prótons olefínicos característicos de cumarinas, respectivamente em C-3 e C-4 (17, 24, 25).

TABELA 1 - Dados de RMN-¹H de Pb-3 e XXVI-a

Próton	CDCl ₃ /TMS(δ=0), valor absoluto de J em Hz	
	Pb-3 (60MHz)	XXVI-a (100MHz) (9)
3	d 6,37 (J = 10,0)	d 6,28 (J = 9,5)
4	d 7,72 (J = 10,0)	d 7,62 (J = 9,5)
5	s { 7,03 6,98	s 6,92
8		s 6,88
1'-A	dd 4,33 (J = 10,0 + 4,5)	dd 4,35 (J = 12,0 + 4,0)
1'-B	dd 4,20 (J = 10,0 + 6,0)	dd 4,12 (J = 12,0 + 6,0)
2'	m 3,20 (J = 4,5 + 6,0)	dd 3,12 (J = 4,0 + 6,0)
4'	s 1,45	s 1,40
5'		s 1,39
MeO	s 4,00	s 3,92

O próton em C-3 (6,37δ) encontra-se em campo ligeiramente mais alto do que o próton correspondente na cumarina propriamente dita (6,44δ). Isto pode ser atribuído à presença de um substituinte oxigenado na posição -7 (26) doando elétrons de acordo com a estrutura XXIV. Um substituinte semelhante na posição -5 favorece uma estrutura de ressonância do tipo ortoquinona (XXV), que pouca proteção dá ao próton em -3, devido a uma distribuição de

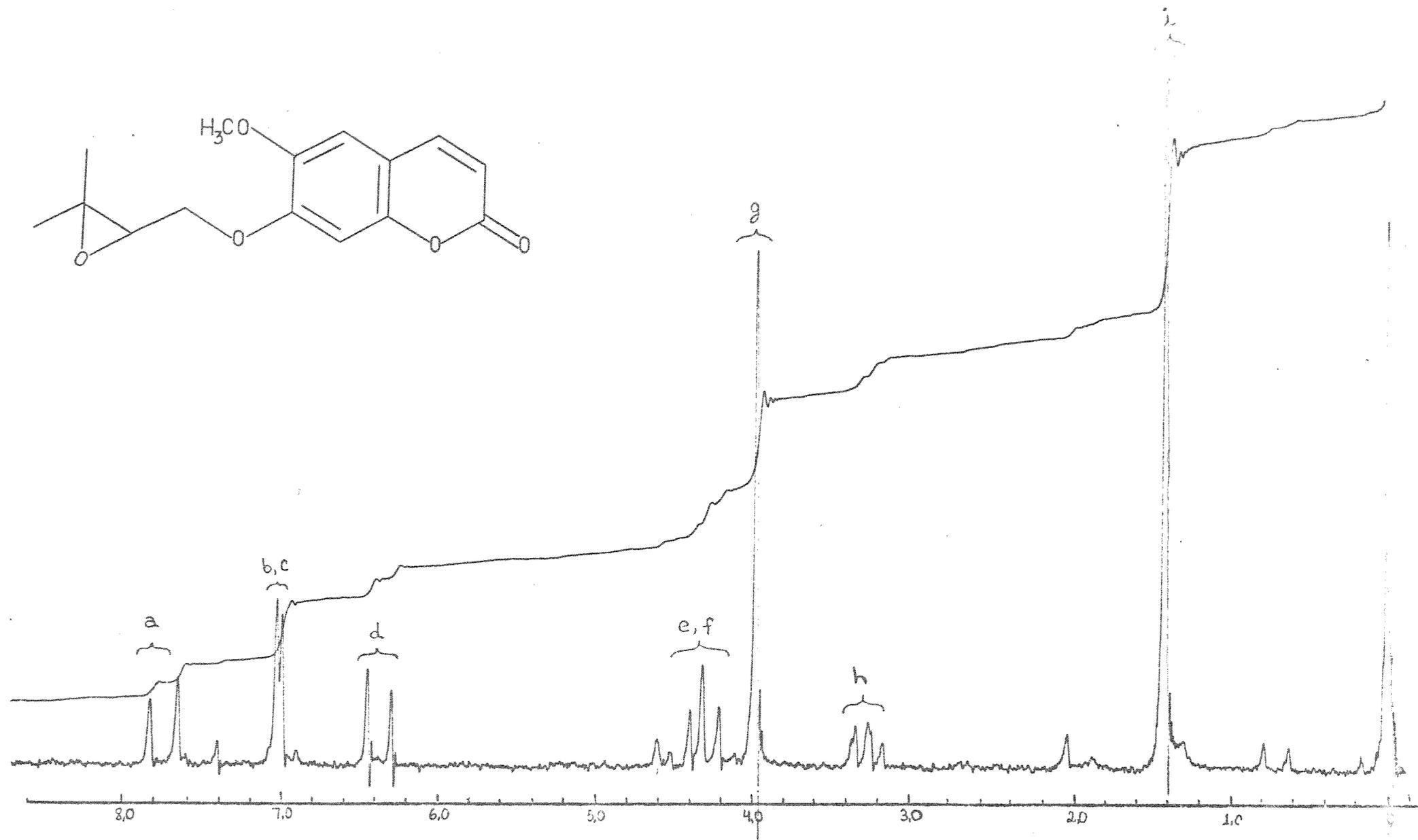
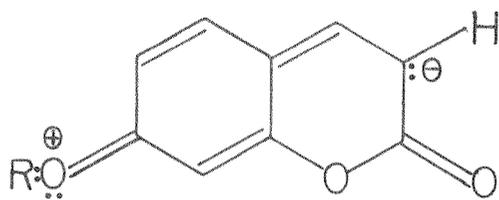
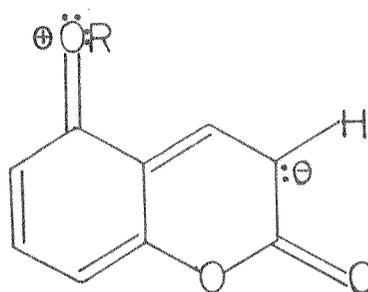


FIGURA 3-a: Espectro de RMN- ^1H do composto Pb-3 (CDCl_3/TMS).



XXIV



XXV

carga menos favorável. Substituintes oxigenados nas posições -6 e -8 exercem pouco ou nenhum efeito de proteção sobre o próton em -3 (26).

A existência deste substituinte em C-7 exclui a presença simultânea de substituintes nas posições -6 e -8, uma vez que isto forçaria o substituinte em -7 para fora do plano do anel cumarínico, e assim tornaria relativamente pouco importante a estrutura canônica XXIV. Estas considerações apóiam uma estrutura 6,7-dioxigenada, já sugerida pelo espectro no ultravioleta.

O deslocamento químico (7,72 δ) atribuído ao próton em C-4 vem confirmar a ausência de substituinte na posição -5. Nesta posição um substituinte deslocaria o próton em C-4 para campos mais baixos, em torno de 8,0 δ (24, 26).

- Os sinais "b" e "c" em 7,03 δ e 6,98 δ podem ser atribuídos a prótons aromáticos. Um deles, como acabamos de ver, situa-se em C-5. Como os sinais são singletos muito próximos, o segundo próton deve estar localizado em C-8, isto é, em posição 'para' em relação ao primeiro próton (25). Além disto a localização dos dois prótons em campo relativamente alto sugere a presença de um grupo oxigenado em posição adjacente a cada um deles (15, 24, 27, 28, 29).

- Em 4,33 δ e 4,20 δ com $J = 12 + 4,5 \text{ Hz}$ e $J=12+6\text{Hz}$ (em valores absolutos) respectivamente, observamos na fig 3-b dois duplos dubletos, "e" e "f", parcialmente superpostos, cuja integração indica corresponderem a dois prótons. Em campo um pouco mais

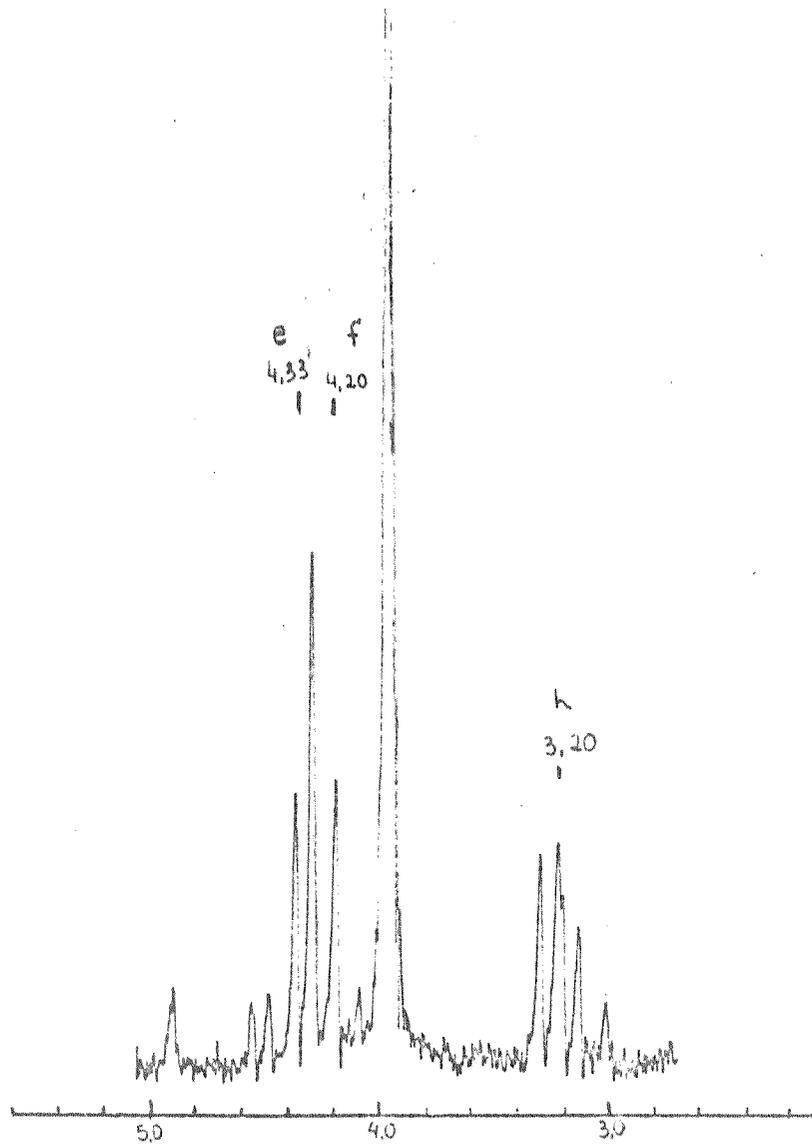
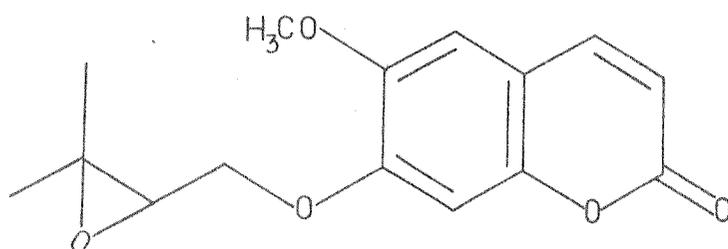


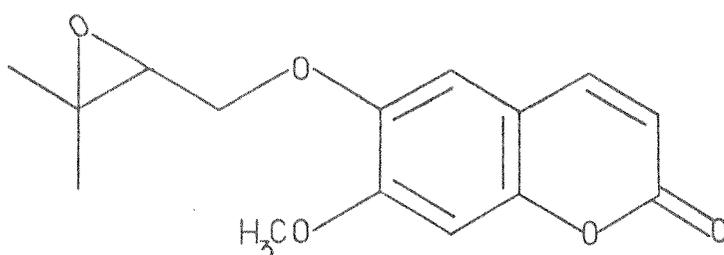
FIGURA 3-b: Ampliação da região 4,5-3,06 do espectro de RMN- ^1H do composto Pb-3.

toxila ligado a anel aromático (15,26), que sō pode estar situado na posição -6 ou na posição -7, visto que as posições -5 e -8 estāo ocupadas por hidrogênios.

Da anālise que acabamos de fazer resultam duas possibilidades estruturais compatíveis com as informações obtidas do UV, do IV e do RMN - ^1H :

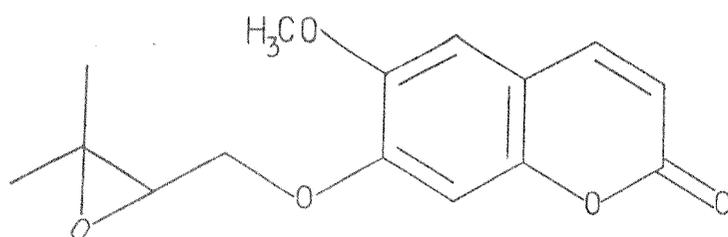


XXVI-a



XXVI-b

Investigando a literatura encontramos um trabalho de Bohlmann e Jakupovic (9) onde sōo estudadas trēs espēcies do gēnero Conyza (Astereae - Compositae). Um dos compostos isolados na espēcie C. obscura foi a 6-metoxi-7-(2', 3'-epoxi-3-metilbutiloxi) cumarina,



XXVI-a

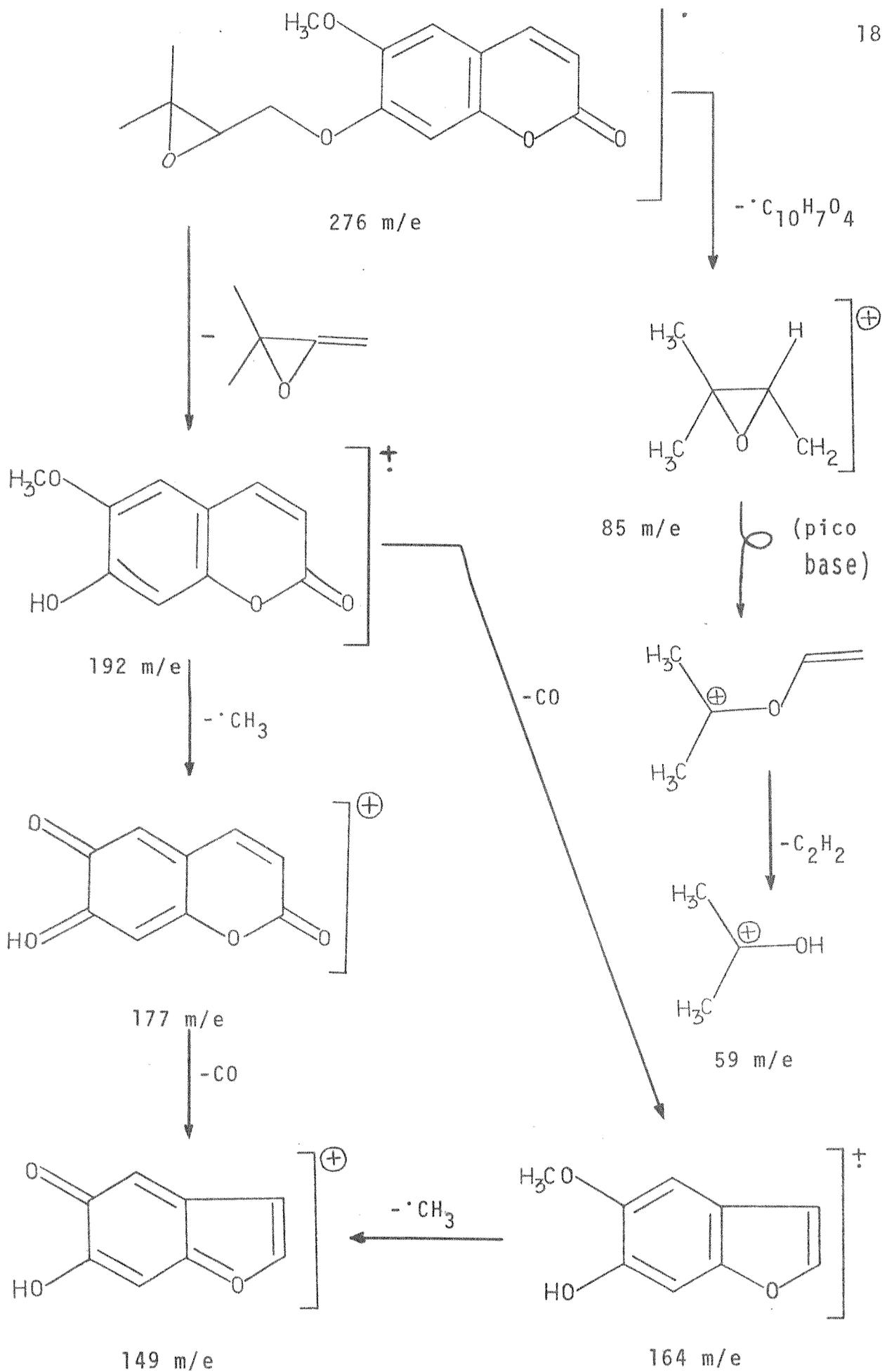
cuja estrutura é precisamente uma das que propusemos para Pb-3. Comparando os dados físicos da cumarina isolada por Bohlmann e Jakupovic (tabelas 1 e 2) com aqueles que obtivemos para o nosso composto, somos levados a concluir que Pb-3 é a 6-metoxi-7 (2', 3' - epoxi-3-metilbutiloxi)cumarina, de estrutura XXVI-a. Realizamos também uma hidrólise ácida de Pb-3 e obtivemos como produto a escopoletina (estrutura V), o que confirma a posição da metoxila em -6 no anel cumarínico (estrutura XXVI-a). Esta conclusão é corroborada por uma análise do espectro de RMN-¹³C de Pb-3, a qual, no entanto, só apresentaremos adiante.

TABELA 2 - Dados físicos de XXVI - a (9)

p. f.	125 ⁰ C
IV (cm ⁻¹):	1730, 1600, 1565, 1515
UV, λ _{max} (nm):	Et ₂ O 339, 292, 285
E. M., m/e (%):	276,1 (38), 192 (41), 177 (15), 149 (6), 85 (100)
[α] _{24⁰} ⁵⁸⁹	= -8 ⁰

De acordo com a espectrometria de massas o peso molecular de Pb-3 é 276, que confere com a fórmula molecular (C₁₅H₁₆O₅) proposta. Além do pico correspondente ao íon molecular, destacam-se no espectro de massas os seguintes picos [em m/e (%]): 192 (33), 177 (7,6), 164 (3,7), 149 (3), 85 (100), 69 (95), 59 (75). O quadro 2 apresenta uma proposta de fragmentação para Pb-3, que passamos a descrever.

A fragmentação da cadeia epóxida lateral na ligação C₁'-O ocorre com rearranjo do hidrogênio para dar o íon 192 m/e, que corresponde a um fragmento da escopoletina (34, 35, 36). Daí, pela perda de CO e de CH₃, chega-se ao íon 149 m/e. Se o íon 192 m/e perde inicialmente CH₃ temos o íon 177 m/e; se perde CO temos o íon



QUADRO 2: Proposta de fragmentação do composto Pb-3.

164 m/e. O pico base, 85 m/e, corresponde à cadeia lateral com o epóxido rearranjado para formar um íon mais estável. A subsequente perda de C_2H_2 resulta no pico 59 m/e, que é um resíduo característico de cadeias deste tipo (34).

II.2 - Pb-5

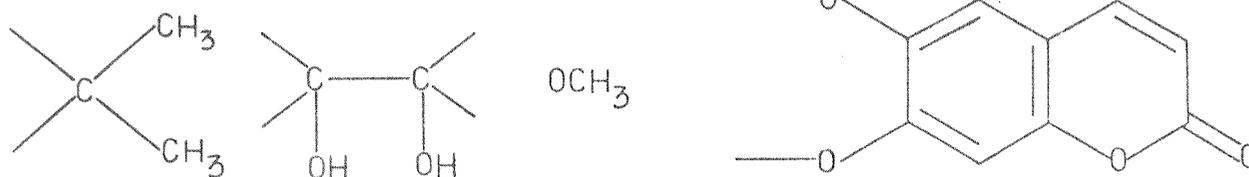
(p.f. $141^{\circ} - 142^{\circ}C$; $[\alpha]_{20}^{589} (HCCl_3) = +9,2$; P.M. 294)

O espectro de absorção no ultravioleta de Pb-5 (fig.

4) $[\lambda_{max}^{EtOH}, nm (log \epsilon): 343 (3,94), 294 (3,63), 270 (3,59), 257 (3,56), 252 (3,61), 239 (4,41), 207 (4,06)]$ apresenta-se muito semelhante ao do composto Pb-3 (fig. 1-a), indicando tratar-se do mesmo cromóforo cumarínico 6,7-dioxigenado (16).

A presença do esqueleto cumarínico é evidenciada no espectro de absorção no infravermelho (fig. 5) pelas bandas observadas em 1720 cm^{-1} , 1610 cm^{-1} e 1560 cm^{-1} (13, 14, 18). As absorções agudas em 3525 cm^{-1} e 3490 cm^{-1} sugerem a presença de 1,2-diol com ligação intramolecular, enquanto que a absorção forte e larga em 3350 cm^{-1} pode ser atribuída a hidroxilas com associação intermolecular (18). Provavelmente as bandas em 1015 cm^{-1} e 1150 cm^{-1} correspondem a estiramento C - O de uma hidroxila secundária e de uma hidroxila terciária, respectivamente (18, 37).

A partir dos mesmos argumentos utilizados para Pb-3 atribuímos as demais bandas assinaladas na fig. 5, onde se indica, entre outros grupos, a presença de metilas geminadas e de metoxila. Todos estes dados levam-nos aos seguintes elementos estruturais:



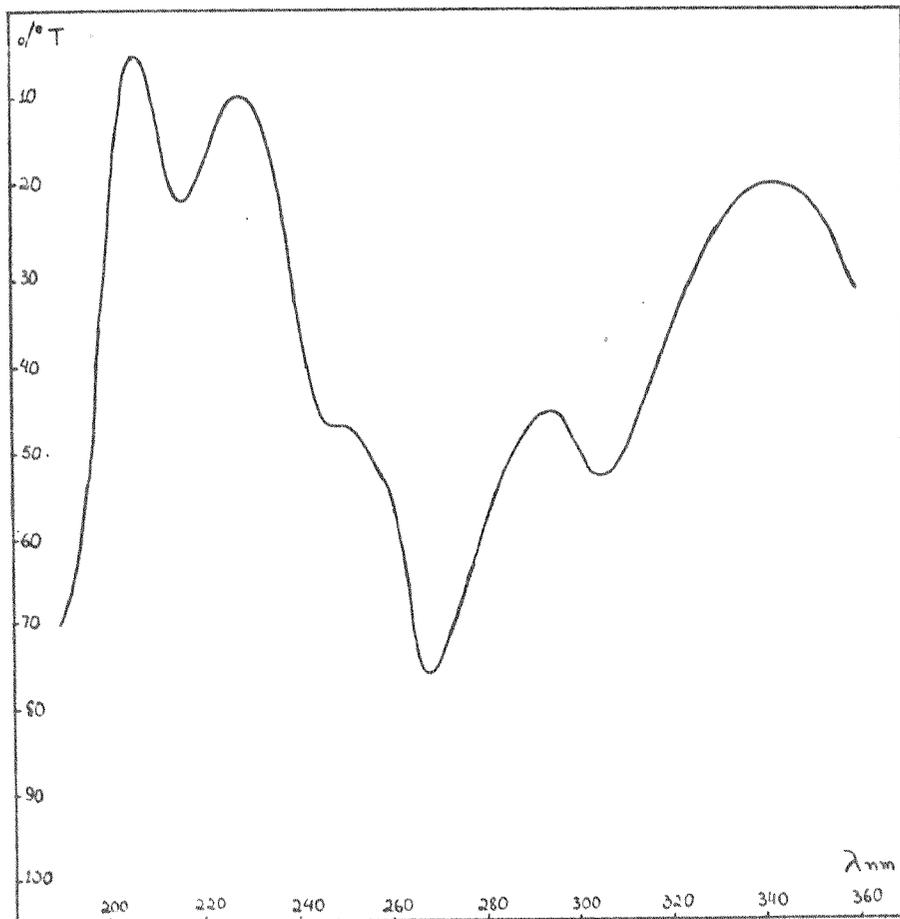


FIGURA 4: Espectro de absorção no UV do composto Pb-5.

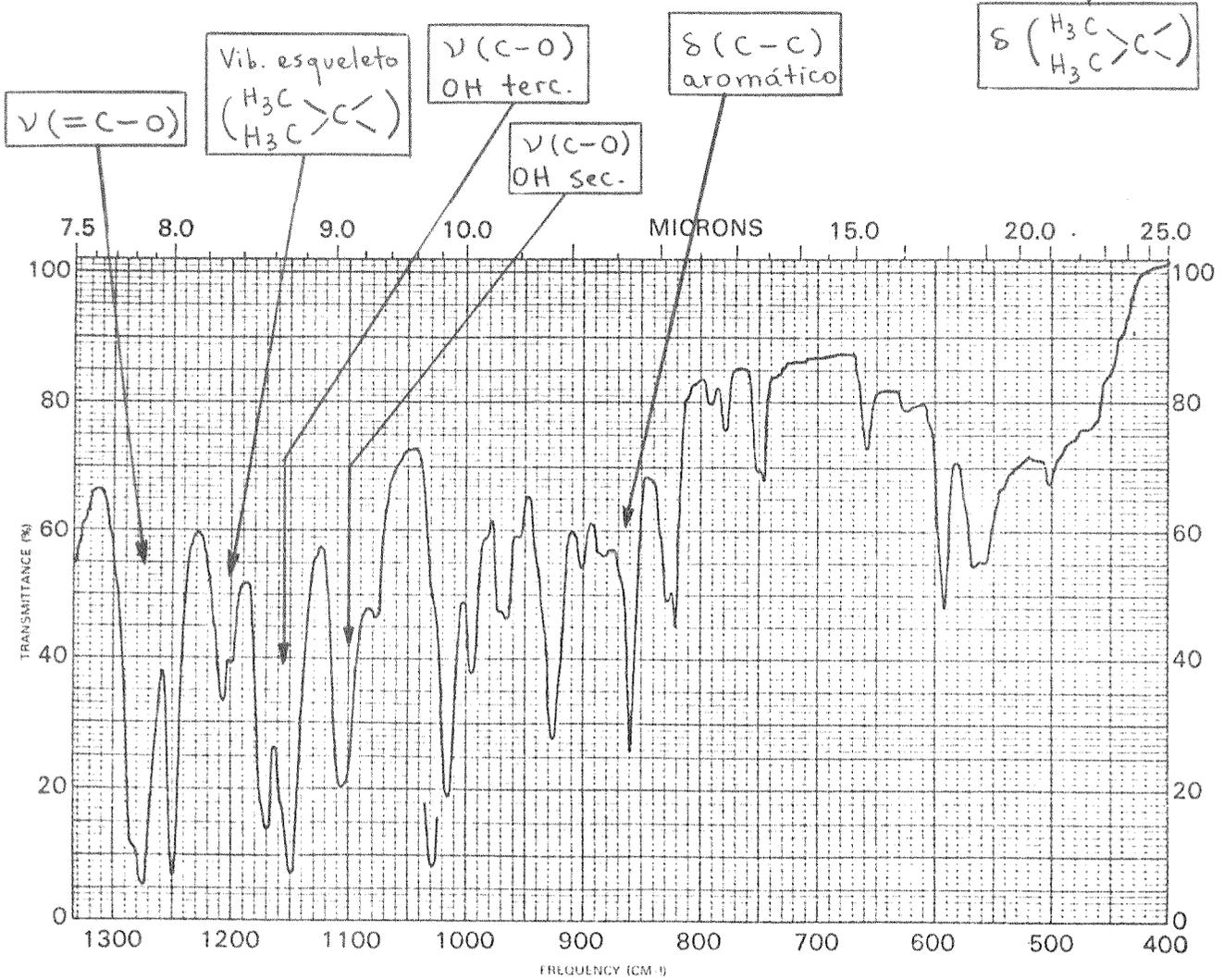
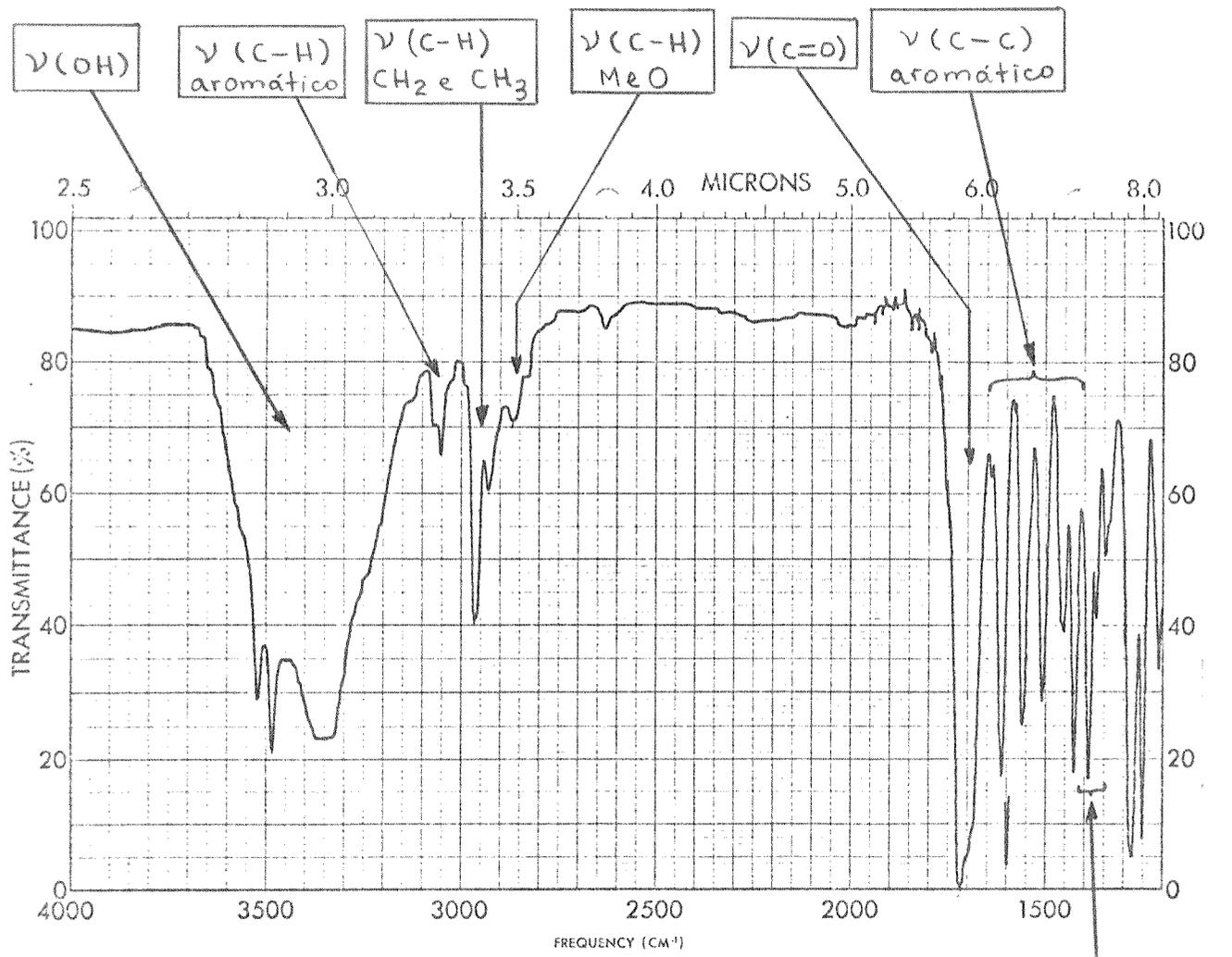


FIGURA 5: Espectro no IV de Pb-5 (pastilha de KBr).

Analisando o espectro de RMN-¹H (fig. 6-a) podemos sugerir para Pb-5 as atribuições mostradas na tabela 3, com base nas considerações que passamos a relatar.

TABELA 3 - Dados de RMN-¹H de Pb-5 e XXVII-a
(Valor absoluto de J em Hz)

Próton	Pb-5			XXVII-a (9)
	CDCl ₃ /TMS δ, 60 MHz	C ₆ D ₆ /TMS δ, 60 MHz	Δ	CDCl ₃ /TMS δ, 270 MHz
3	d 6,37 (J = 10,0)	d 6,11	0,26	d 6,32 (J = 9,5)
4	d 7,73 (J = 10,0)	d 6,97	0,76	d 7,63 (J = 9,5)
5	s (largo) 6,81	s 6,37	0,44	s 6,87
8		s 6,67	0,14	s 6,86
1'-A	dd 4,35 (J = 10,0 + 3,0)	m 3,90	0,45	dd 4,32 (J = 10 + 2,5)
1'-B	dd 4,25 (J = 10,0 + 6,0)		0,35	(J = 10 + 6)
2'	m 3,90	m 3,60	0,30	m 3,80
4'	s 1,37	s 1,21	0,16	s 1,35
5'	s 1,33	s 1,10	0,23	s 1,31
MeO	s 3,97	s 3,47	0,50	s 3,90

- Os dubletos "a" (7,73δ, J = 10 Hz) e "c" (6,37δ, J = 10 Hz) correspondem aos prótons cis-olefínicos nas posições -4 e -3, respectivamente (15, 17, 24).

O próton da posição -3 (6,37δ), por se encontrar em campo relativamente mais alto, leva-nos a supor a presença de substituinte oxigenado na posição -7 e/ou na posição -5. Entretanto, como já vimos para o composto anterior, um substituinte oxigenado em C-5 deve desproteger o próton na posição -4, levando-o para cam-

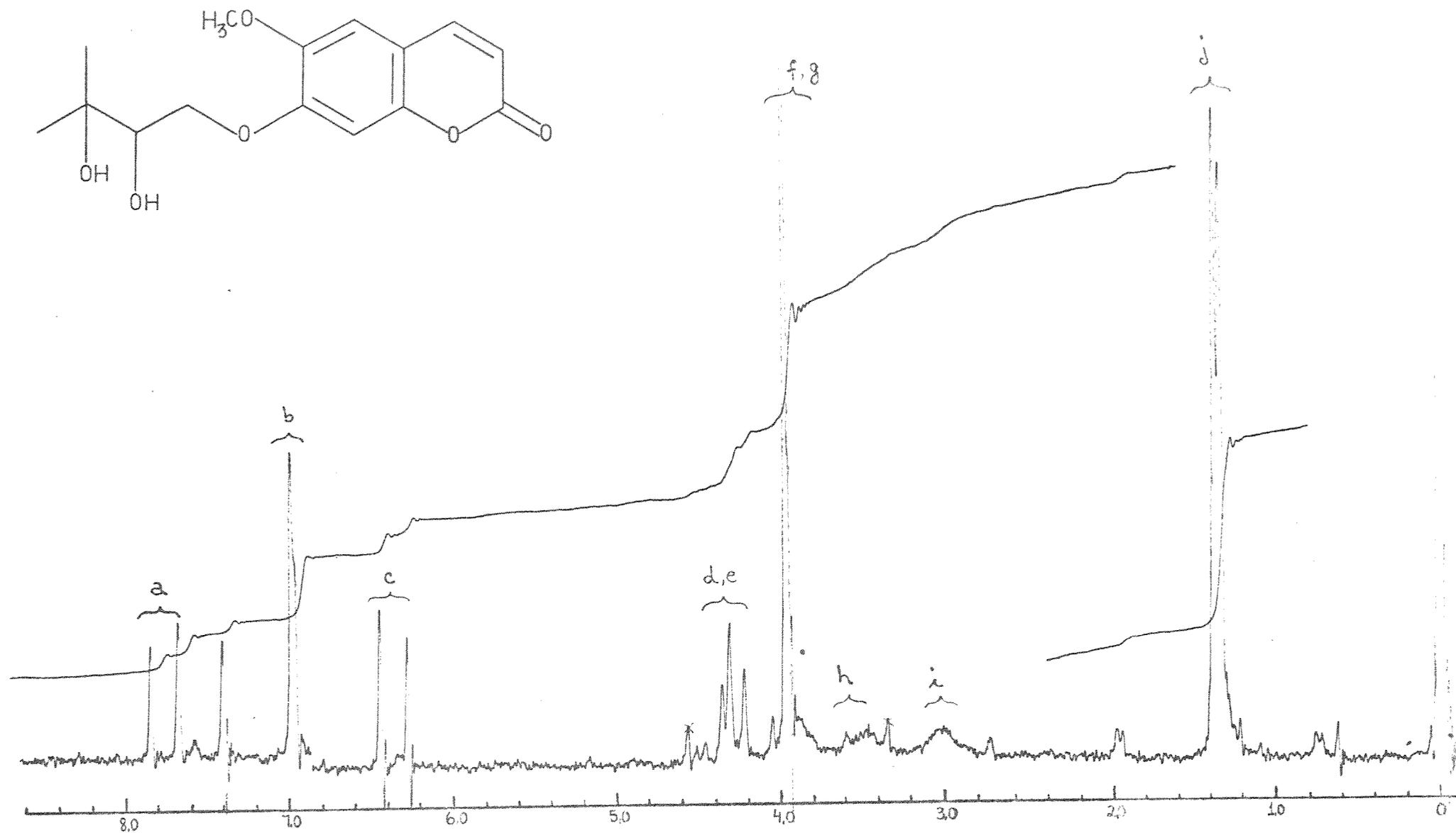
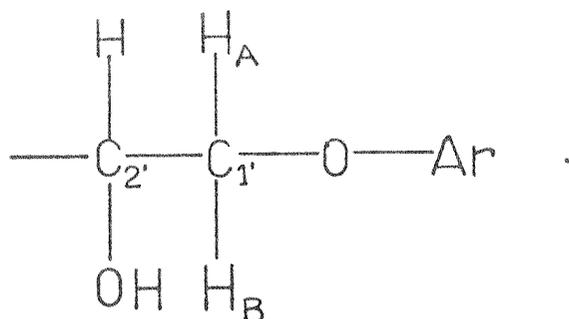


FIGURA 6-a: Espectro de RMN- ^1H do composto Pb-5 (CDCl_3/TMS).

po em torno de 8 ppm. O deslocamento químico verificado para o próton em C-4 foi 7,73 δ , o que indica que não há substituinte oxigenado em C-5 e sim em C-7 (15, 24, 26).

- Os dois únicos prótons aromáticos correspondem a um singlete largo em 6,81 δ , indicando que um deles está em posição 'para' em relação ao outro (25); pelo valor do deslocamento químico (6,81 δ), cada um dos prótons deve estar vizinho a um substituinte oxigenado (15, 24, 27, 28, 29, 38), ou seja, confirma-se a indicação do UV de que se trata de uma cumarina 6,7-dioxigenada.

- Na região do espectro situada entre 5,0 δ e 2,0 δ , fig. 6-b, observamos dois duplos dubletos, "d" e "e", parcialmente superpostos, situados em 4,35 δ e 4,25 δ , e um multiplete, "f", sob a banda da metoxila, em 3,90 δ , cada um deles com intensidade correspondente a um próton. Mais uma vez temos um sistema do tipo ABX. Pelo valor absoluto da constante de acoplamento ($J = 10$ Hz), os prótons A e B devem estar ligados a um mesmo átomo de carbono (30), sendo os deslocamentos químicos por eles apresentados característicos de grupo metilênico ligado a um átomo de oxigênio, ligado por sua vez a um anel aromático (25, 30, 31). A posição do multiplete "f" sugere um grupo metino ligado a um átomo de oxigênio, possivelmente uma hidroxila ($-C-CH-OH \rightarrow \approx 3,9\delta$) (30). Este metino deve estar diretamente ligado ao grupo metileno, pois observamos o acoplamento do seu próton com cada um dos prótons do metileno ($J_{A2'} = 3,0$ Hz e $J_{B2'} = 6,0$ Hz), que, por ser C-2' um carbono assimétrico, não são equivalentes:



A banda mais intensa, um singlete em 3,97 δ , corresponde a uma metoxila aromática (15, 26).

- Em campo mais alto temos dois singletos, "j", bem próximos (1,37 δ e 1,33 δ), relativos a dois grupos metilas que, pela ausência de desdobramento das bandas, devem ser metilas geminadas ligadas a um átomo de carbono quaternário (30, 32, 33).

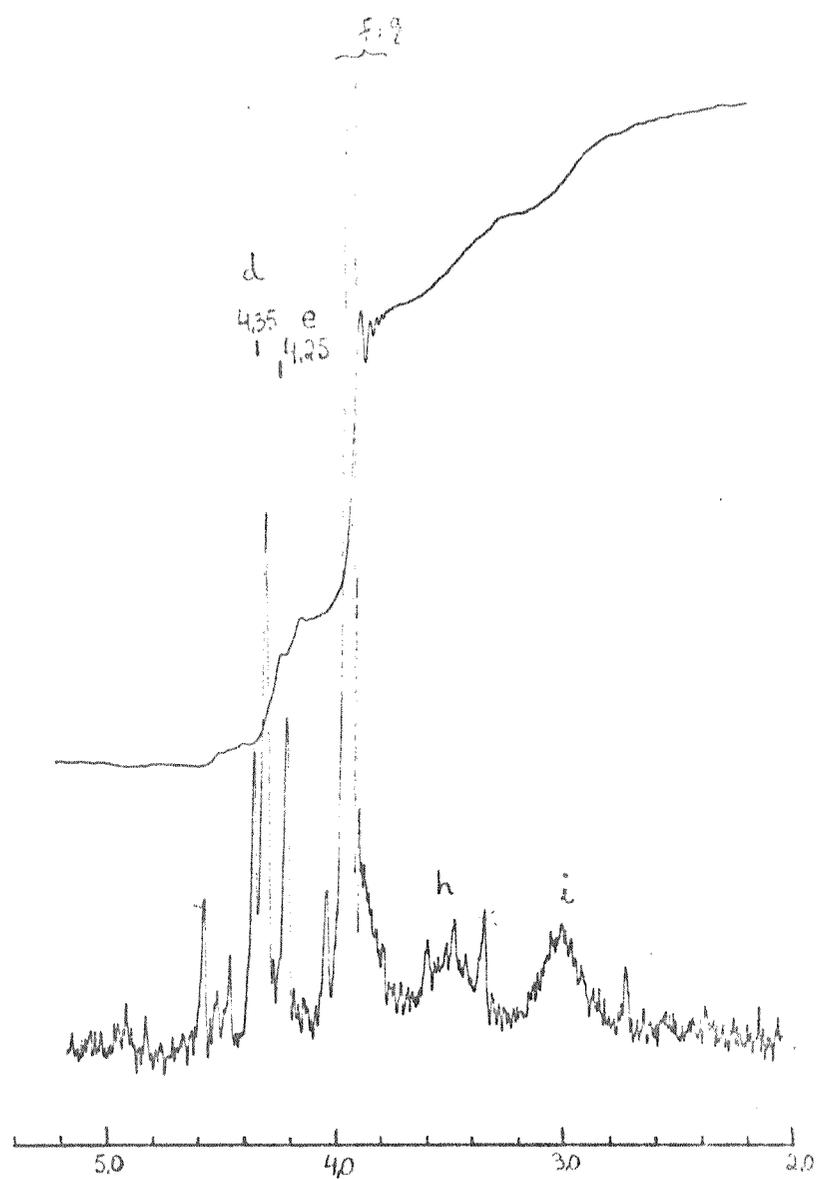
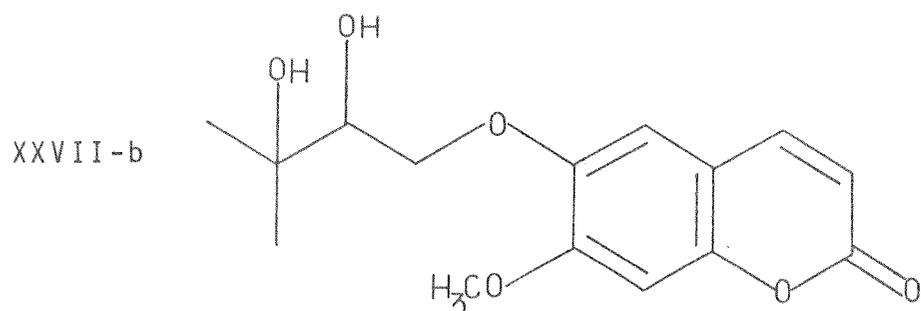
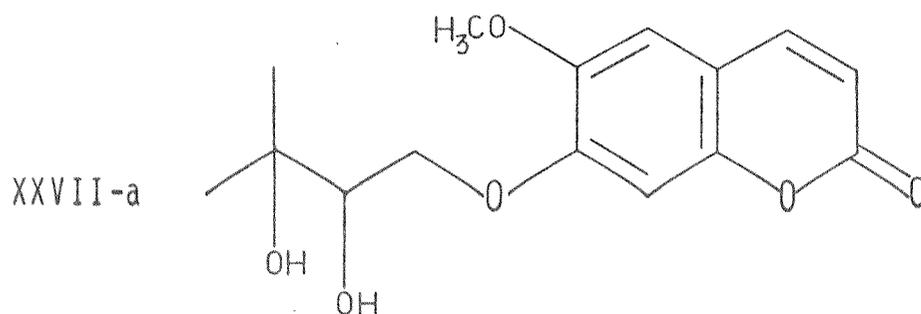


FIGURA 6-b: Ampliação da região 5,0-2,0 δ do espectro de RMN- ^1H do composto Pb-5.

- A presença das duas hidroxilas foi constatada quando adicionamos água deuterada à solução da amostra, repetimos o espectro e verificamos o desaparecimento das bandas largas em 3,08δ e 3,46δ.

Esta análise do espectro de RMN-¹H indica duas possíveis estruturas:

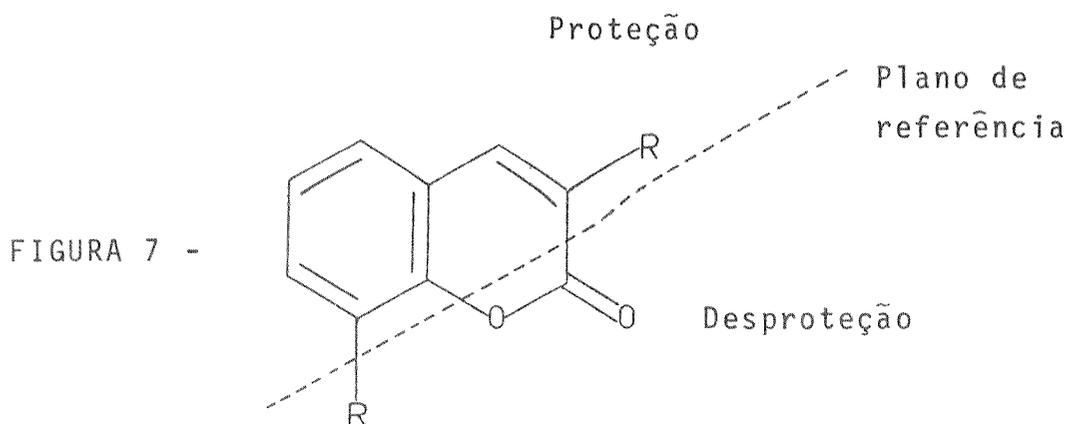


Escolhemos para Pb-5 a estrutura XXVII-a, 6 - metoxi - 7 - (3' - metil - 2',3' - dihidroxibutiloxi) cumarina, depois de realizarmos uma hidrólise catalisada por ácido do composto Pb-3 (estrutura XXVI-a) e obtermos o derivado glicol esperado (estrutura XXVII-a). Os espectros IV e RMN-¹H desse glicol mostraram-se idênticos aos espectros correspondentes do composto Pb-5 e os pontos de fusão foram concordantes.

Por outro lado, o emprego em RMN-¹H da técnica de deslocamento por solvente permite a determinação relativamente segura das posições de metilas, metoxilas e dos prótons aromáticos em cumarinas, tornando-se portanto muito útil na elucidação estrutural desta classe de compostos. No nosso caso os deslocamentos químicos foram induzidos com hexadeuterobenzene e medidos em relação

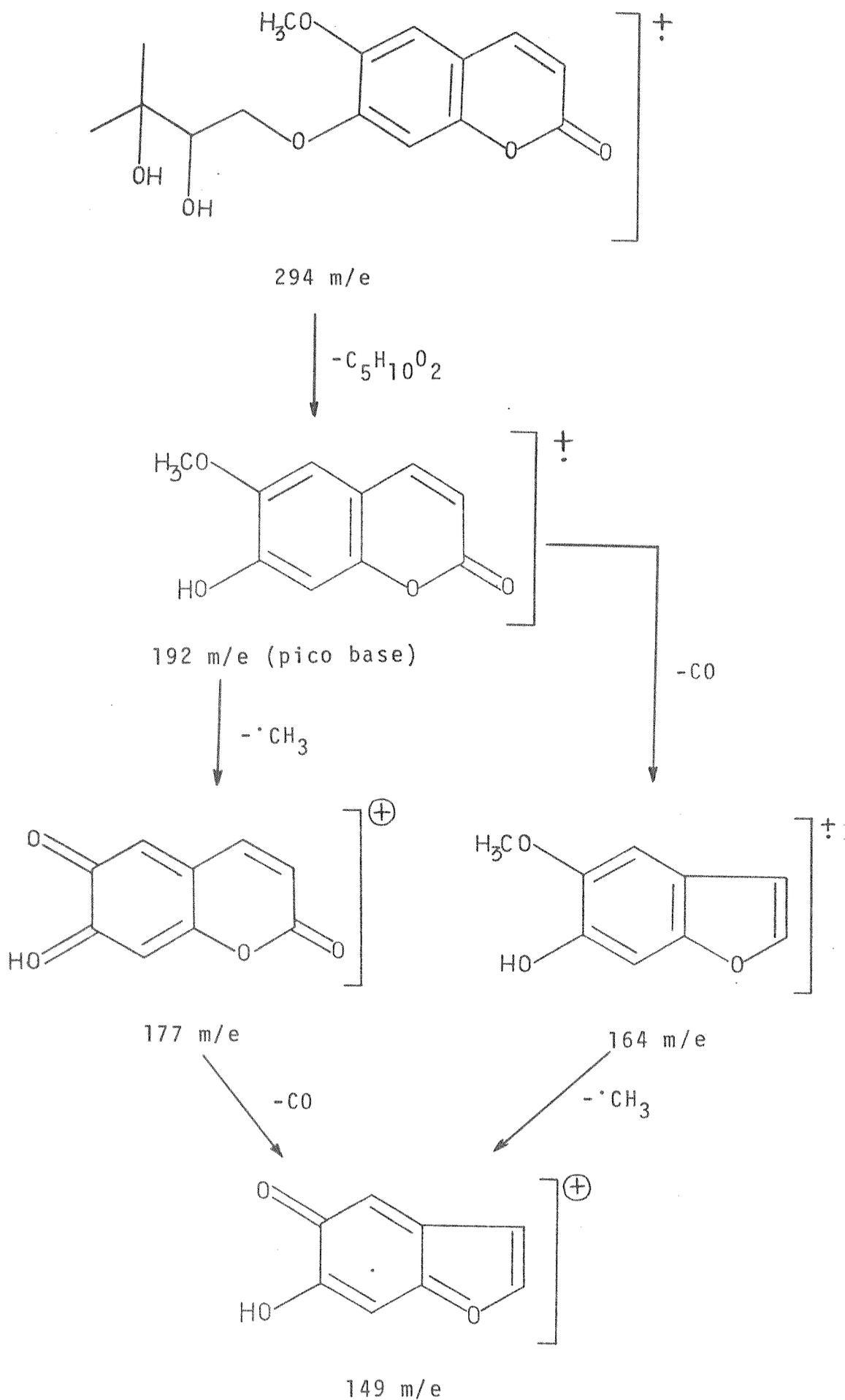
ao deuterochlorofórmio. O deslocamento por solvente, Δ (ppm), é definido como $\delta_{\text{CDCl}_3} - \delta_{\text{C}_6\text{D}_6}$. Grigg, Knight e Roffey (39) mostram

que com isto todos os prótons situados nas cumarinas atrás de um plano traçado um pouco acima do oxigênio heterocíclico sofrem proteção e aqueles na frente desse plano são desprotegidos (figura 7). Os resultados obtidos são mostrados na tabela 3.



Os deslocamentos sofridos pelos prótons das posições -3, -4 e -8 do composto Pb-5 estão bem dentro das faixas de Δ apresentadas para os prótons correspondentes no trabalho de Grigg et al. De acordo com um outro trabalho, realizado por Brown e colaboradores (40), é possível determinar a posição do grupo metoxila no anel cumarínico, conforme a extensão da variação induzida por solvente em seu deslocamento químico. O Δ observado para a metoxila do composto Pb-5 foi 0,50, o que a localiza na posição -6 (Δ de + 0,28 a +0,53 ppm), e confirma mais uma vez a estrutura XXVII-a.

A fragmentação observada no espectrômetro de massas para o composto Pb-5 é bem característica da classe (34, 35, 36). O íon molecular 294 m/e está coerente com a fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$) esperada. No quadro 3 apresentamos uma proposta de fragmentação de Pb-5 (estrutura XXVII-a), para explicar os íons registrados no espectro de massas. Podemos notar que este composto possui os mesmos íons principais que o composto anterior: 294 m/e, 192 m/e, 177 m/e, 164 m/e, 85 m/e e 59 m/e. Ocorrem apenas duas diferenças. Uma é o pico base ser 192 m/e (contra 85 m/e em Pb-3) e a outra é que, devido à presença do glicol, temos em Pb-5 perda de água, $103 \text{ m/e} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{O}} 85 \text{ m/e}$, formando-se provavelmente o



QUADRO 3: Proposta de fragmentação do composto Pb-5.

epóxido, que a partir daí fragmenta-se como o composto de estrutura XXVI-a.

F. Bohlmann e J. Jakupovic (9) relataram o isolamento do composto de estrutura XXVII-a, com dados físicos mostrados nas tabelas 3 e 4, a partir da mesma espécie de onde tinha sido isolado o composto de estrutura XXVI-a.

TABELA 4 - Dados físicos de XXVII-a (9)

Óleo incolor	
IV (CHCl ₃), cm ⁻¹	= 3520, 1730, 1625, 1570
UV, $\lambda_{\max}^{\text{Et}_2\text{O}}$ (nm):	340, 295, 288
E. M., m/e (%)	: 294,110(28), 286(5), 192(100), 177(25)

II.3 - Pb-2

(p.f. 108⁰C; $[\alpha]_{20}^{589} = -5,6^0$; P.M. 292)

A natureza das absorções de Pb-2 nas regiões do ultravioleta e do infravermelho indica uma estrutura cumarínica. O espectro de absorção no ultra violeta, mostrado na fig. 8

$[\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}, \text{nm} (\log \epsilon): 337(3,91), 312(3,96), 258(3,59), 236(4,01), 209(4,43)]$, foi comparado com os espectros de cumarinas 6,7-dioxi genadas, verificando-se então que Pb-2 não deve possuir este tipo de cromóforo, uma vez que não apresenta a típica absorção com máximo na região de 280 a 300 nm (fig. 1-b) (16). Examinando espectros no ultravioleta de outras cumarinas, observamos que os dados para cumarinas 5, 6, 7-, 5, 7, 8- e 6, 7, 8- trioxigenadas são os

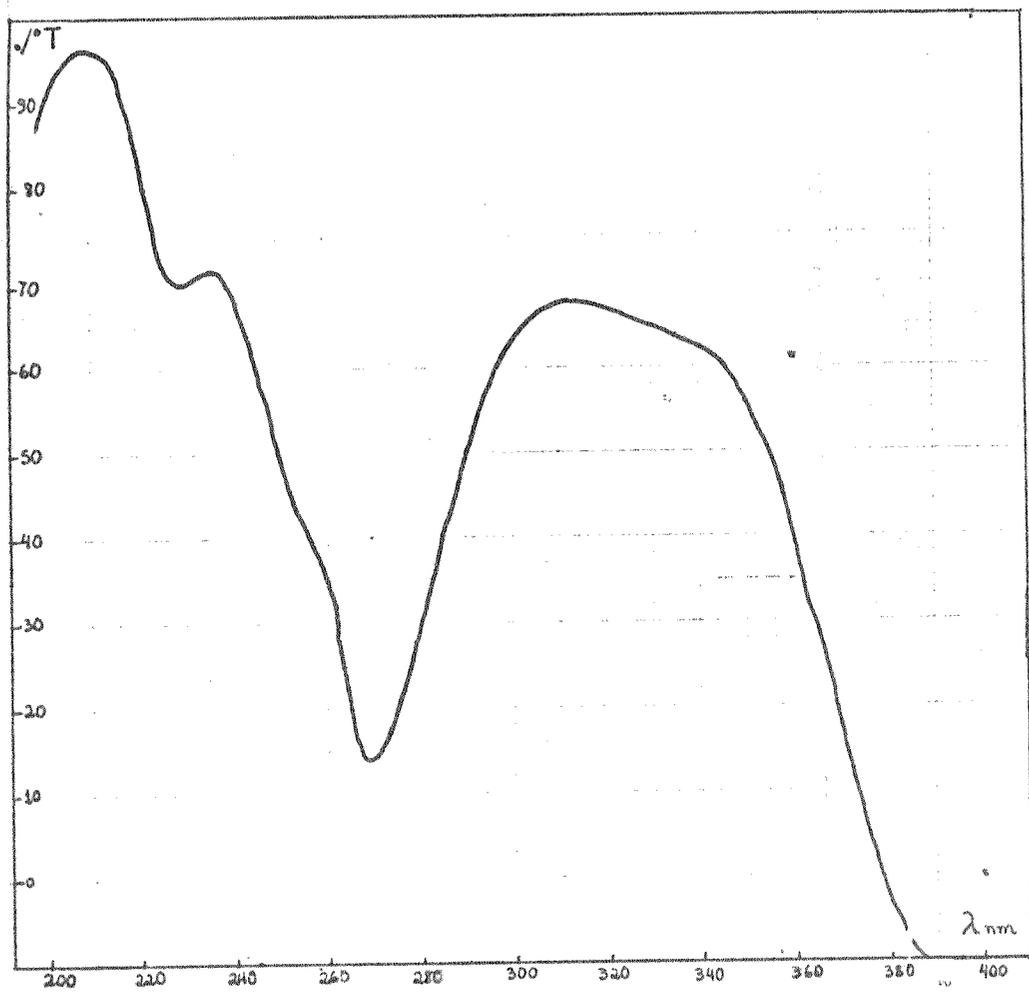


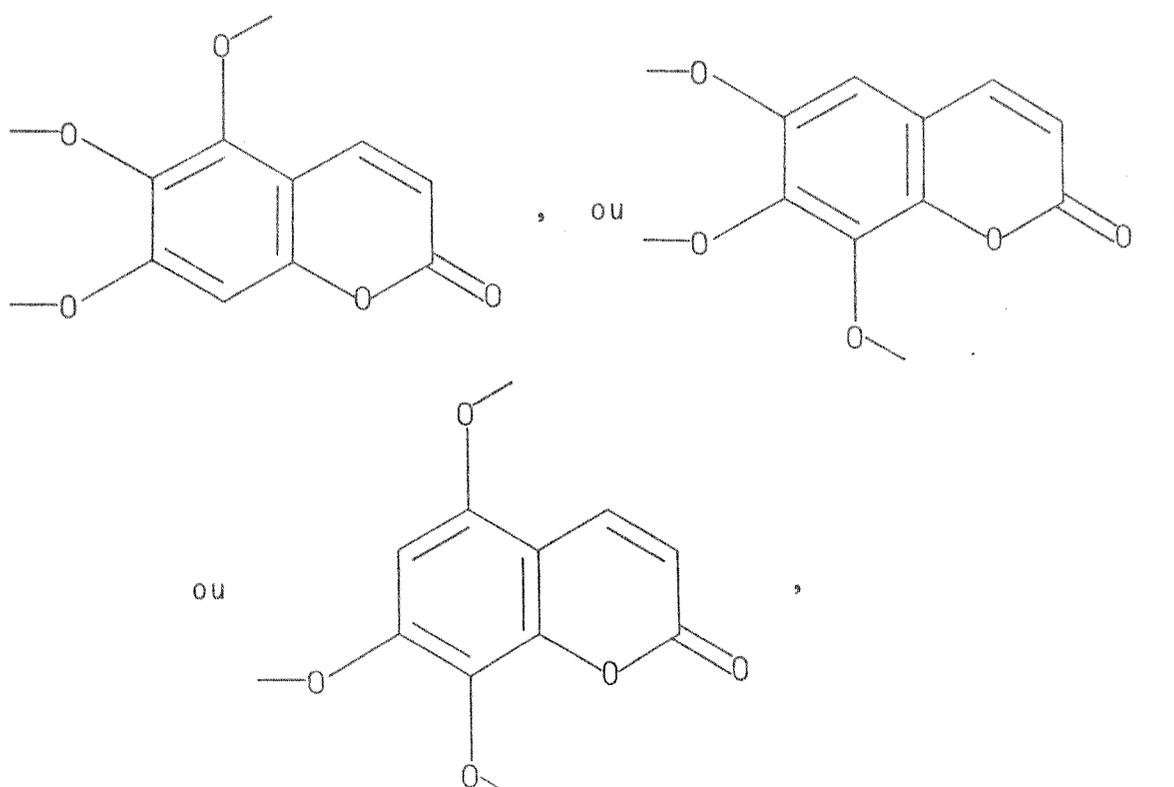
FIGURA 8: Espectro no UV do composto Pb-2.

que mais se assemelham aos dados de Pb-2 (27, 28, 32, 41, 42, 43, 44). O espectro não sofreu modificação após a adição de base, o que indica a ausência de uma hidroxila fenólica (13, 14, 17).

O espectro na região do infravermelho (fig.9) mostra as seguintes absorções características de compostos cumarínicos: 1720 cm^{-1} (estiramento $\text{C}=\text{O}$ da α -pirona) e as bandas em 1625 cm^{-1} e 1580 cm^{-1} , correspondentes a estiramentos $\text{C}-\text{C}$ do anel aromático (18, 20, 23).

Mais uma vez tivemos algumas dificuldades na interpretação deste espectro, pois muitas bandas não puderam ser atribuídas depois da análise do espectro de RMN^{-1}H , por serem comuns a dois ou mais grupos funcionais. Assim, o grupo metilenodioxí apresentou apenas uma absorção diagnosticável, 938 cm^{-1} (19). Já o grupo epóxido exibiu três absorções características, em 1250 cm^{-1} , 865 cm^{-1} e 825 cm^{-1} , respectivamente correspondentes às chamadas bandas de 8μ , 11μ e 12μ e com valores característicos de anel trissubstituído (18, 21). O duplete em 1400 cm^{-1} e 1380 cm^{-1} e a banda em 1200 cm^{-1} (vibração do esqueleto) sugerem a presença de metilas geminadas (18, 23, 45). Além destas, outras absorções informativas encontram-se atribuídas na figura 9.

Esta avaliação nas regiões do ultravioleta e do infravermelho permite-nos sugerir os seguintes elementos estruturais:



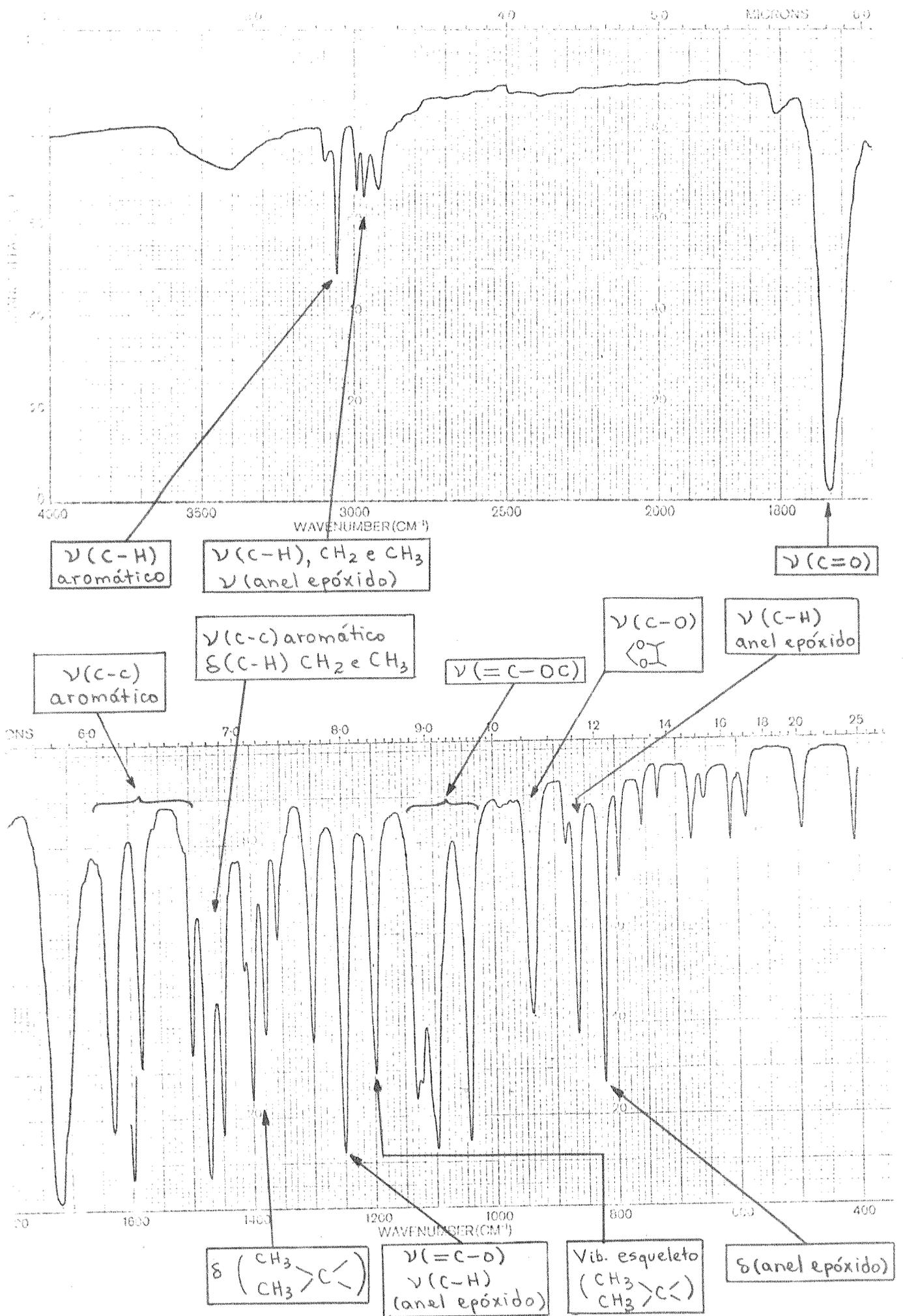
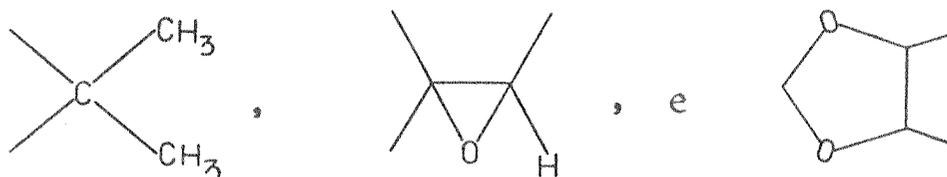


FIGURA 9: Espectro no IV de Pb-2 (pastilha de KBr).

para o anel, e



para as cadeias laterais.

Com o estudo de RMN-¹H foi possível comprovar a presença dos elementos estruturais propostos e definir duas estruturas possíveis para Pb-2. O espectro de RMN-¹H é apresentado na fig. 10-a. Na tabela 5 encontramos os deslocamentos químicos de seus prótons e respectivas atribuições, feitas a partir das considerações que passamos a expor.

TABELA 5 - Dados de RMN-¹H de Pb-2 e de XXVIII-b (29),
TMS ($\delta = 0$), J absoluto em Hz

Próton	Pb-2, 60 MHz			XXVIII-b, 100 MHz	
	CDCl ₃	C ₆ D ₆	Δ	Δ	CDCl ₃
3	d 6,27 (J = 10)	d 5,97 (J = 10)	0,30	0,22	d 6,23 (J = 9,5)
4	d 8,10 (J = 10)	d 7,65 (J = 10)	0,45	0,45	d (largo) 8,01
8	s 6,60	s 6,32	0,28	0,26	s (largo) 6,57
1'-A	dd 4,61	m 4,25	0,36	0,03	dd 4,59
1'-B	dd 4,45		0,20	0,16	dd 4,38
	(J _{AB} = 12, J _{A2'} = 4, J _{B2'} = 6)				(J _{AB} = 11, J _{A2'} = 4 J _{B2'} = 6)
2'	m 3,18 (J = 4 + 6)	m (largo) 2,98	0,20	-0,06	dd 3,14 (J = 4 + 6)
4'	s 1,40	s 1,13	0,27	-0,07	s 1,38
5'	s 1,36	s 1,07	0,29	-0,11	s 1,34
OCH ₂ O	s 6,11	s 5,20	0,91	0,95	s 6,00

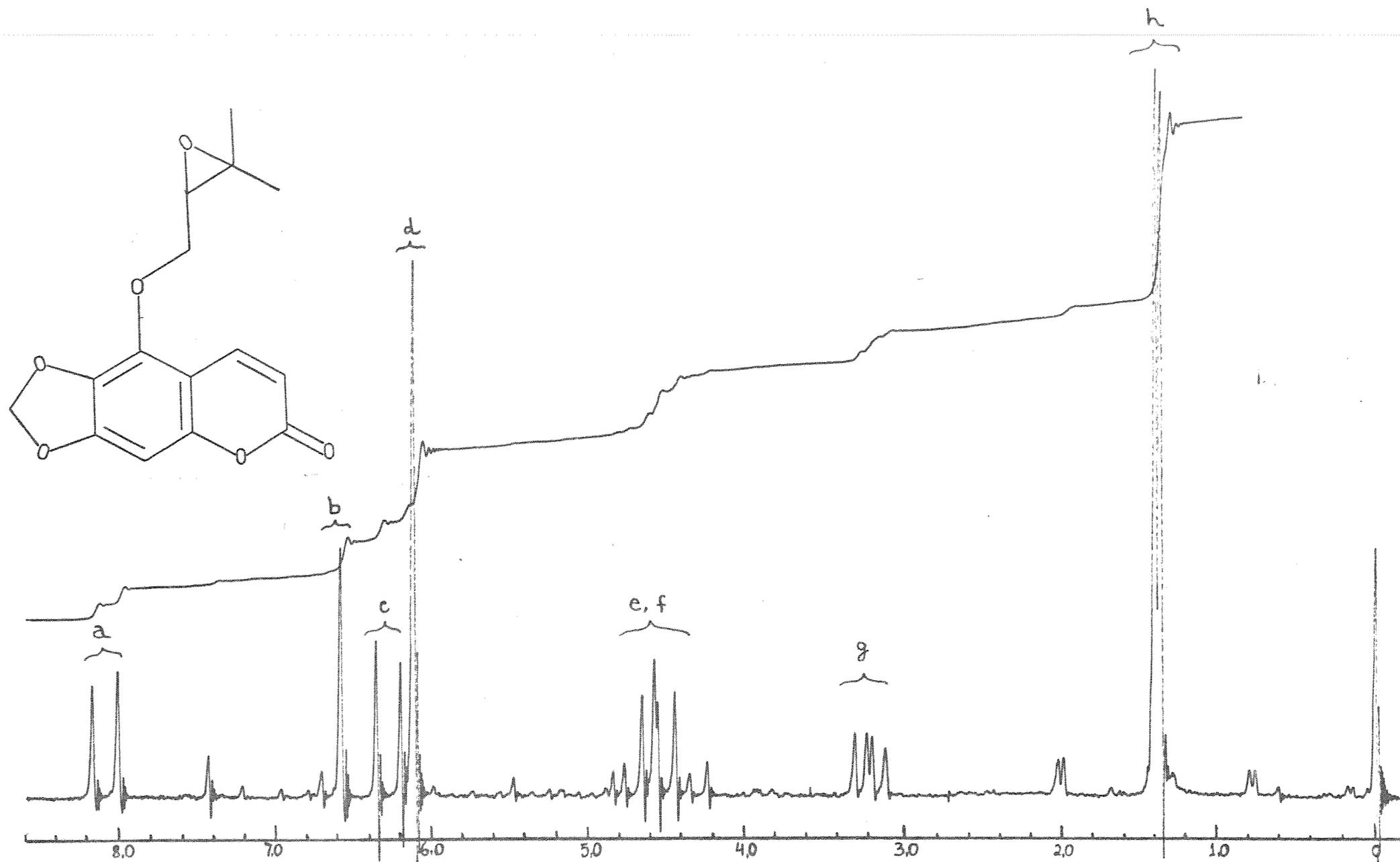


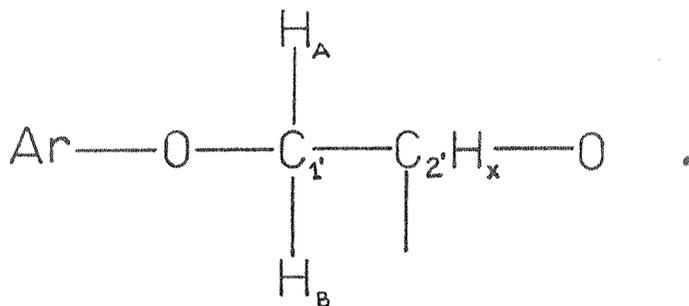
FIGURA 10-a: Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ do composto Pb-2 (CDCl_3/TMS).

- Os dubletos "a" e "c" (8,10 δ e 6,27 δ , J = 10 Hz) correspondem aos prótons das posições -4 e -3 respectivamente, sendo característicos de cumarinas (17, 24, 25). Mais uma vez o próton em -3 aparece em campo relativamente mais alto (6,27 δ), o que nos faz supor que a posição -7 deva estar ocupada por um substituinte oxigenado (26). Por outro lado, desta vez o sinal "a" (8,10 δ) encontra-se relativamente desprotegido, implicando numa substituição na posição -5. Esta desproteção pode ser atribuída a um efeito estérico peri, ocasionado por substituição no carbono -5 (15, 24, 26).

- O singlete "b" (6,60 δ) corresponde ao único próton aromático do composto Pb-2.

- O singlete "d" (6,11 δ), com intensidade correspondente a dois prótons, pode ser atribuído aos prótons de grupo metilenodioxí ligado ao anel aromático (27, 30, 41).

- Na figura 10-b temos ampliada a região de 3,0 a 5,0 δ , onde podemos observar dois grupos de picos que, pelas suas disposições, constituem um sistema do tipo ABX (30), no caso um metileno ligado a um metino. Os prótons A e B originam os dois duplos dubletos parcialmente superpostos "e" (4,61 δ) e "f" (4,45 δ) e se acoplam com um valor absoluto de $J_{AB} = 12$ Hz. O próton X corresponde ao multiplete "g" (3,18 δ) e acopla-se diferentemente com os prótons não equivalentes A e B (J = 4 Hz e J = 6 Hz). Os deslocamentos químicos apresentados pelo metileno (4,61 δ e 4,45 δ) indicam que ele deve estar preso a um oxigênio ligado a um anel aromático (30, 31, 46). A posição do sinal do metino (3,18 δ) sugere que ele também deve estar ligado a oxigênio (30, 31, 46). Estes dados nos fornecem o seguinte elemento estrutural:



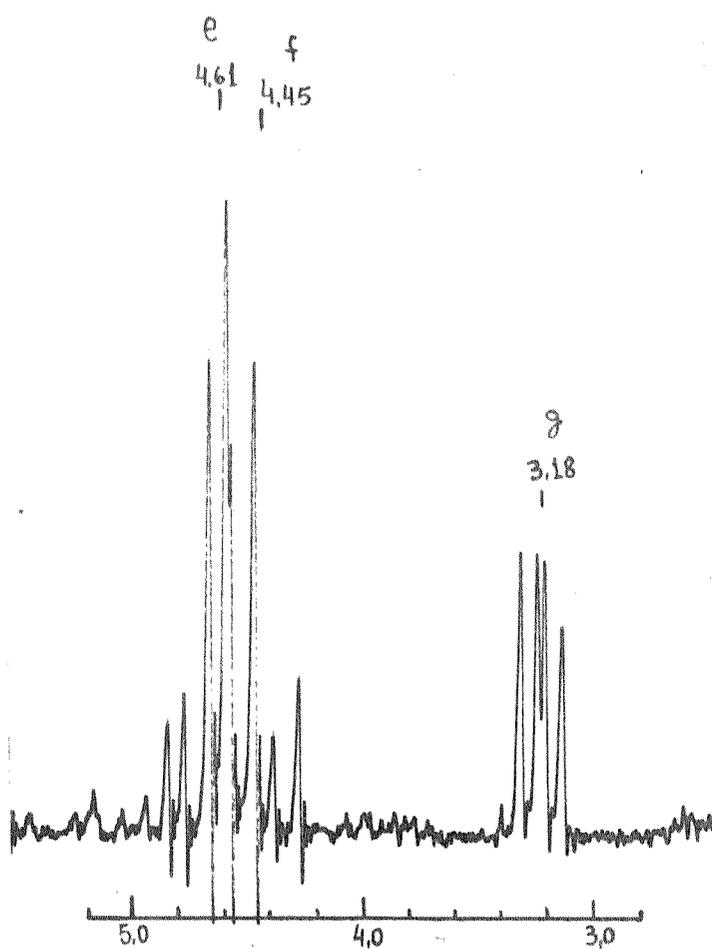
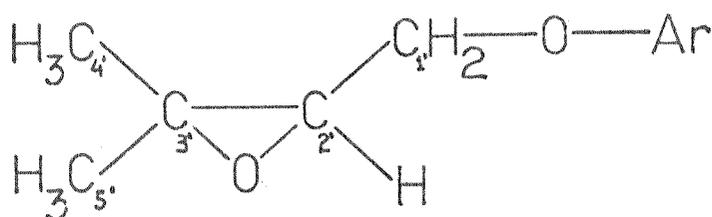


FIGURA 10-b: Região 3,0-5,0 δ (expandida)
no espectro de RMN- 1 H do composto Pb-2.

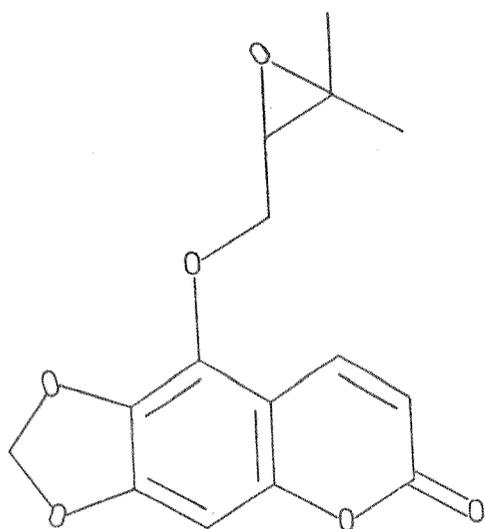
Podemos notar que a não equivalência dos prótons em C-1' deve-se a C-1' estar ligado a um centro assimétrico (C-2') (30).

- Os dois singletos "h" (1,40δ e 1,36δ) podem ser atribuídos a dois metilas geminados que, por não apresentarem desdobramento de suas bandas, devem estar ligados a um carbono quaternário. Os deslocamentos químicos apresentados indicam tratar-se de metilas do tipo $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{O}$ (30, 46). Desta forma, juntando-se os elementos estruturais que constituem a cadeia lateral, restam-nos somente a possibilidade

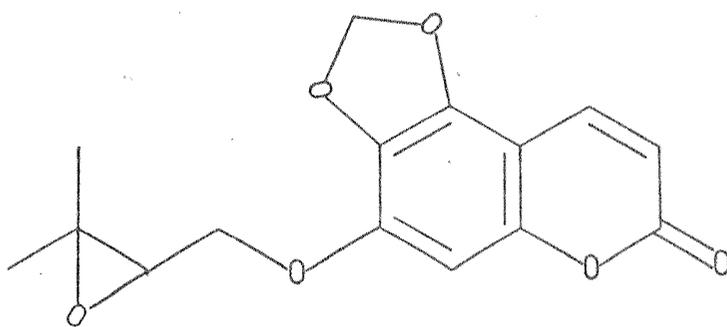


Para comprovar a presença do anel epóxido realizamos a hidrólise ácida de Pb-2, que produziu o glicol esperado.

Analisando os dados de $\text{RMN-}^1\text{H}$ discutidos até agora, chegamos a somente três possibilidades estruturais para o composto Pb-2:

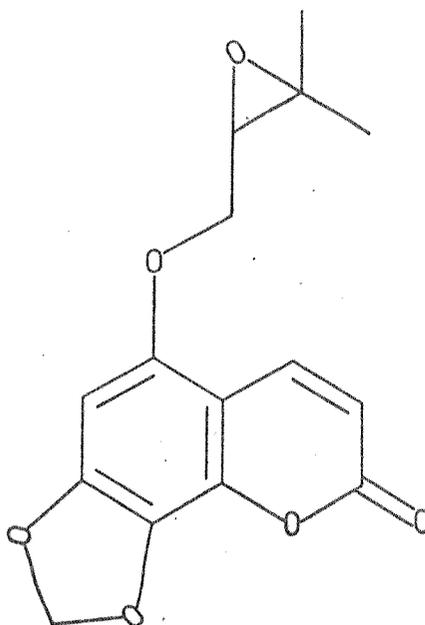


XXVIII-a



XXVIII-b

XXVIII-c



Em princípio talvez possamos excluir a estrutura XXVIII-c. É notório que dos acoplamentos a distância existentes entre os prótons do anel cumarínico o mais significativo é o acoplamento entre os prótons situados nas posições -8 e -4 ($J_{4,8} \cong 0,65 \text{ Hz}$) (47, 48). Quando ocorre este tipo de acoplamento, observa-se no espectro de RMN- ^1H um alargamento do sinal do próton em C-4 e do próton em C-8, com uma conseqüente diminuição das alturas correspondentes.

Em virtude de o espectro de Pb-2 ter sido obtido num espectrômetro com 60 MHz de freqüência, a extensão dos acoplamentos a longa distância não pôde ser medida. No entanto, embora a informação não seja conclusiva, podemos notar uma diminuição nas alturas relativas dos sinais dos prótons H-8 e H-4 em relação às dos outros, sugerindo a presença de um próton em C-8, o que só é possível nas estruturas XXVIII-a e XXVIII-b.

As estruturas XXVIII-a e XXVIII-b diferem da XXVIII-c quanto ao número de grupos oxigenados vizinhos ao próton aromático. No caso das estruturas XXVIII-a e XVIII-b o próton em -8 possui apenas um vizinho oxigenado, enquanto que na estrutura XXVIII-c há dois grupos oxigenados 'orto' ao próton em -6. Sabe-se que a posição do sinal do próton aromático no espectro de RMN- ^1H depende do número de substituintes oxigenados 'orto' em relação a ele. Um próton aromático com dois vizinhos oxigenados, como na estrutura XXVIII-c, deverá sofrer em relação ao próton aromático das estruturas XXVIII-a

e XXVIII-b uma proteção que o deslocará para a faixa 6,3δ - 6,5δ (15, 26, 27, 28, 49). Como o próton aromático de Pb-2 apresentou o deslocamento químico de 6,60, podemos supor que ele sō tenha um vizinho oxigenado, ficando portanto excluída a estrutura XXVIII-c.

F. Bohlmann et al. (29), estudando espēcies do gēnero Peucedanum e Pteronia, isolaram da Pteronia glabrata a cumarina 7 - (3' - metil - 2', 3' - epoxibutiloxi) - 5,6 - metilenodioxi, com a estrutura XXVIII-b e as constantes fīsicas que sō mostradas na tabela 6.

TABELA 6 - Dados fīsicos de XXVIII-b (29)

p.f. 81⁰C

UV, λ_{max} (nm): (335), 302, (257), 233

log ε: 3,93, 4,05, 3,71, 4,05

IV, cm⁻¹: 1750, 1640, 1595

E.M., m/e (%): 290,079 (19), 206 (16)

178 (12), 149 (44), 85 (100)

[α]_{24⁰C}⁵⁸⁹ = + 22⁰

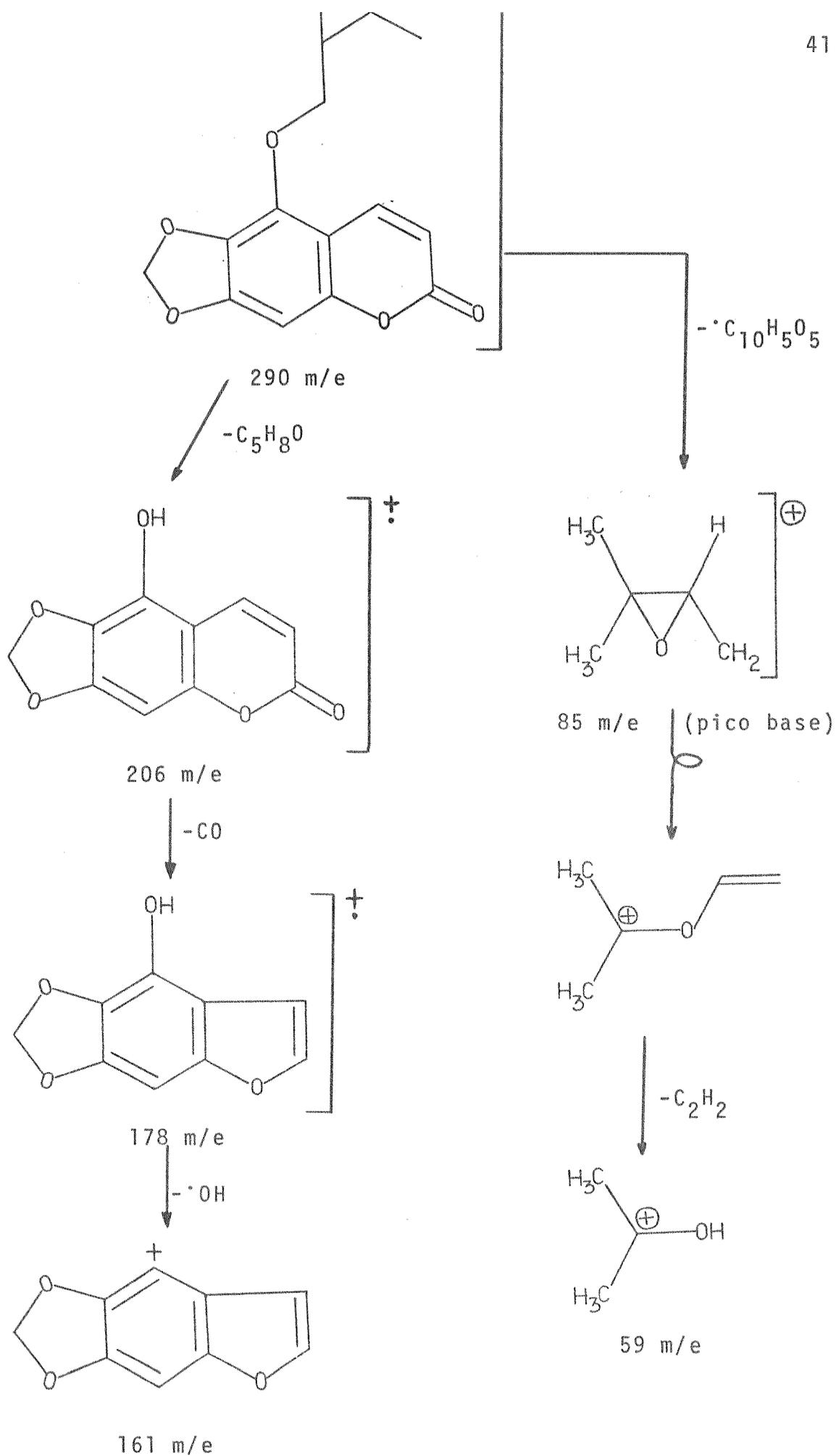
A identificação da estrutura deste composto foi feita utilizando-se principalmente a tēcnica de deslocamento induzido por solvente. Na tabela 5 encontram-se registrados os deslocamentos químicos para os prótons do composto de estrutura XXVIII-b em deuterochlorofōrmio e em hexadeuterobenzeno, e os respectivos valores de Δ (29). Os argumentos usados por F. Bohlmann et al. para a escolha da estrutura XXVIII-b ao invēs de XXVIII-a foram: 1) o alto valor de Δ (0,95 ppm) para o grupo metilenodioxi, indicando que ele deve estar preso às posições -5 e -6; 2) o único próton

aromático presente deve encontrar-se na posição -8, pois observa-se um alargamento dos sinais em -4 e -8; 3) a posição da cadeia lateral em -7 é justificada pela pequena modificação no deslocamento dos prótons em C-1' ($\Delta_A = 0,03$ ppm e $\Delta_B = 0,16$ ppm).

Com a finalidade de estabelecer comparações e descobrir a verdadeira estrutura de Pb-2, realizamos o mesmo processo de deslocamento por solvente. Os nossos resultados também se encontram na tabela 5, onde se pode observar que: 1) as diferenças de deslocamento (Δ) obtidas para os prótons em -4 e -8 do anel cumarínico estão compatíveis com as obtidas por Bohlmann et al., o que evidencia a posição do próton aromático em -8; 2) o nosso valor de Δ para o grupo metilenodioxí concorda razoavelmente com o de Bohlmann et al.; 3) encontramos certa discordância nos valores de Δ para os prótons situados em -3, -1', -2', -4' e 5'.

A comparação dos nossos dados com os de Bohlmann et al. não nos permite decidir com certeza a favor de uma das duas possíveis estruturas. Esta decisão só será feita após a análise do espectro de RMN- ^{13}C de Pb-2, que relataremos na seção seguinte.

O espectro de massas do composto Pb-2 forneceu um íon molecular de pico muito intenso, 290 m/e (59%), que está de acordo com a fórmula molecular ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$) prevista. Os outros picos principais observados foram 206 m/e, 178 m/e, 147 m/e, 85 m/e (100%) e 59 m/e. No quadro 4 encontra-se uma proposta de fragmentação da molécula de Pb-2, seja a sua estrutura XXVIII-a ou XXVIII-b. Comparando os espectros de massa de Pb-3 e Pb-5 com o deste composto podemos notar muitas similaridades. Por exemplo, em todos eles ocorre a clivagem da cadeia lateral na ligação (C-1')-oxigênio, e todos eles eliminam carbonila, o que é característico das cumarinas (34, 36). A diferença existente deve-se ao grupo metilenodioxí em Pb-2. A estabilidade deste grupo frente ao impacto do elétron é notada pela ausência no espectro de picos intensos relativos à sua fragmentação (50, 51).



QUADRO 4: Proposta de fragmentação do composto Pb-2.

II-4 - ANÁLISE POR RMN- ^{13}C DAS
CUMARINAS Pb-2 e Pb-3

A ressonância magnética nuclear de carbono-13 leva no mínimo uma vantagem sobre a ressonância magnética protônica: os deslocamentos químicos de ^{13}C fornecem uma informação mais direta sobre o esqueleto carbônico do que os deslocamentos de prótons, e por isso os deslocamentos de RMN- ^{13}C são mais fáceis de atribuir. Isto se deve não só à simplificação do espectro e aumento da sensibilidade pela banda larga ou ao desacoplamento de próton fora de faixa no RMN- ^{13}C , mas também à baixa abundância natural de ^{13}C , assegurando que acoplamentos $^{13}\text{C} - ^{13}\text{C}$ se percam no ruído (52). Enquanto que a faixa de deslocamento do próton vai usualmente de 0 a 10δ , a do ^{13}C chega a 200δ , e cada carbono está acoplado não só aos prótons diretamente ligados a si como também a prótons que estejam a até quatro ligações de distância, além de possíveis acoplamentos com outros núcleos magnéticos. Para atribuir os sinais de ^{13}C , os espectros obtidos com o desacoplamento total de prótons são comparados com os espectros obtidos com desacoplamento parcial, tendo por referência exemplos da literatura (53). O desacoplamento simultâneo de todos os prótons, denominado "Desacoplamento em Faixa Larga" (DFL), permite eliminar todos os acoplamentos, tornando o espectro uma série de sinais simples representando os diferentes átomos de carbono. Para se obter o desacoplamento parcial dos prótons irradia-se fortemente fora do espectro de prótons (Frequência de Desacoplamento Fora de Faixa - FDFF), o que suprime os acoplamentos a longa distância e reduz os valores das constantes de acoplamento direto $J_{13\text{C} - ^1\text{H}}$. Neste caso os diferentes átomos de carbono aparecem sob a forma de singletos, dubletos, tripletos ou quadrupletos, dependendo do número de átomos de hidrogênio aos quais estejam ligados (54).

II-4-A - RMN- ^{13}C do Composto Pb-3

As atribuições dos sinais no espectro de ^{13}C do com-

posto Pb-3 são mostradas na figura 11. Como já elucidamos esta estrutura, tentaremos apenas justificar as atribuições dadas aos carbonos e verificar se elas estão coerentes com a estrutura XXVI - a proposta. Além disto, estes dados serão uma contribuição valiosa para a determinação da estrutura de Pb-2.

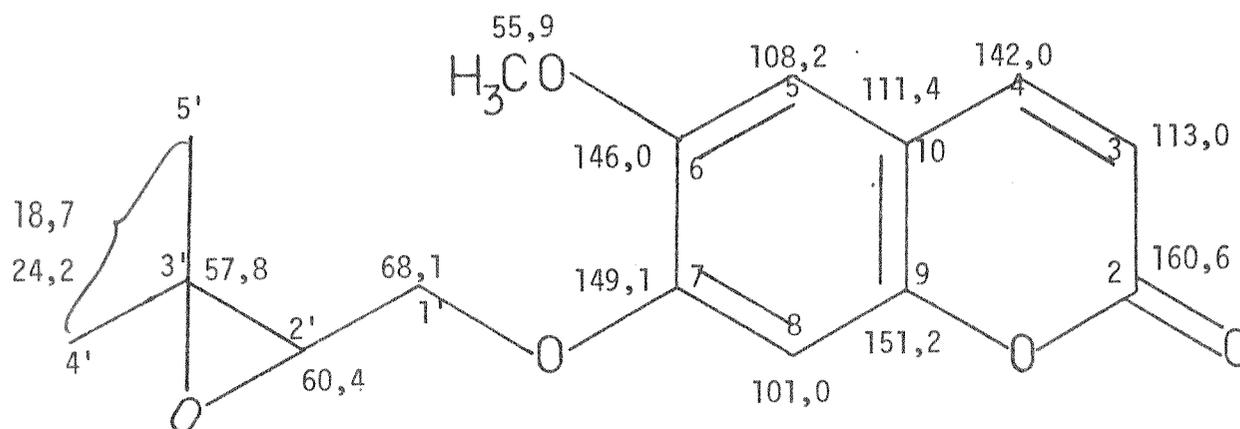
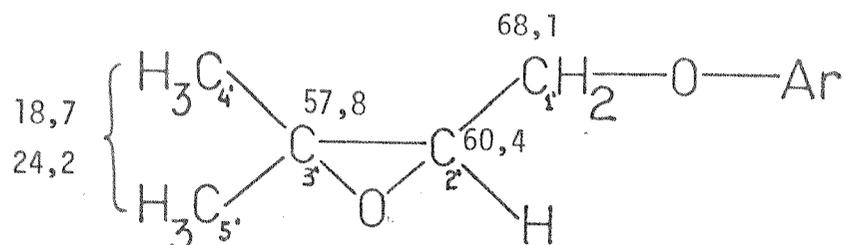


FIGURA 11 - Atribuições dos deslocamentos químicos de RMN- ^{13}C para o composto Pb-3 (XXVI-a)

Os espectros de ^{13}C de Pb-3 mostrados nas figuras 12-a e 12-b confirmam os seguintes dados, já obtidos de outras evidências espectroscópicas:

- Presença de um grupo metoxila ligado a núcleo aromático, absorvendo em 55,9 δ (52).

- Presença de cadeia lateral que, por análise dos espectros FDL e FDFE e por comparação dos deslocamentos químicos de Pb-3 com os da referência 52, deve ter a estrutura



anteriormente identificada.

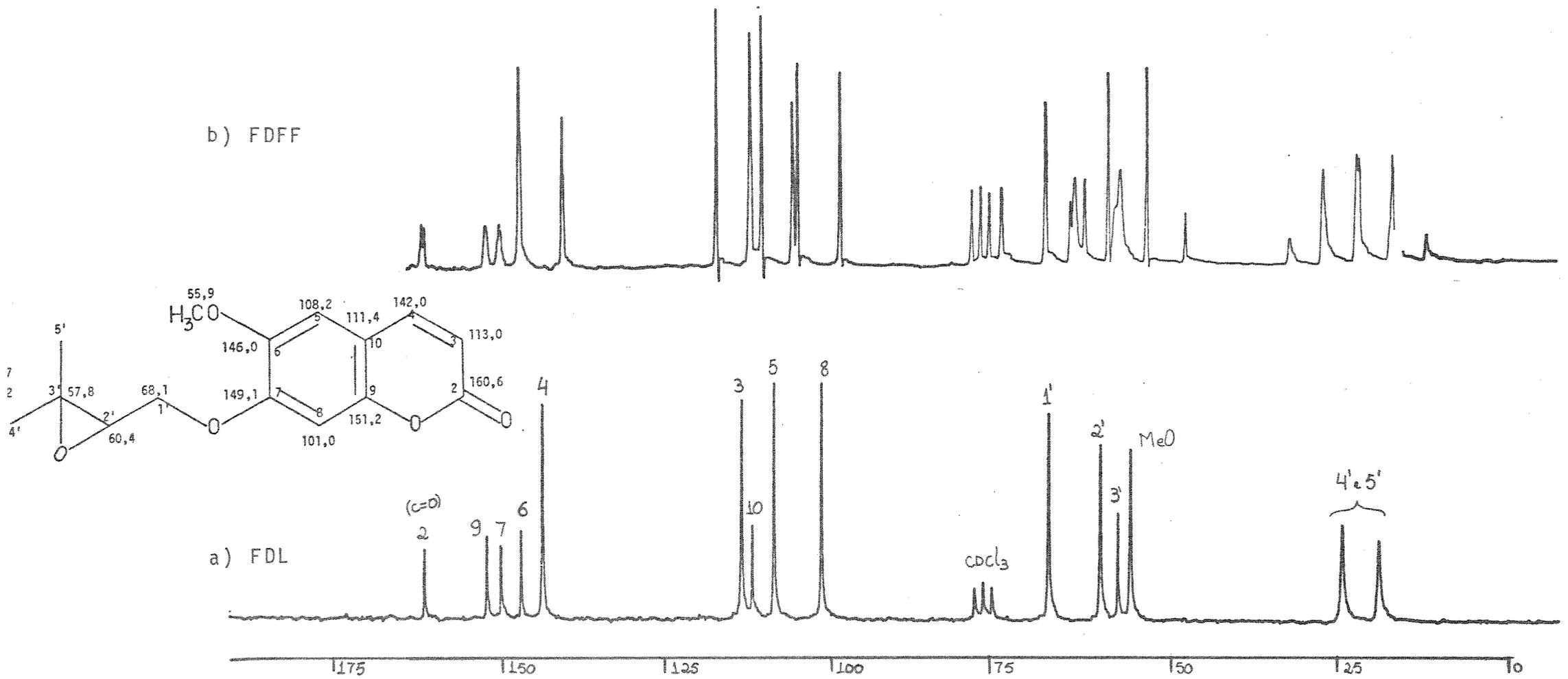


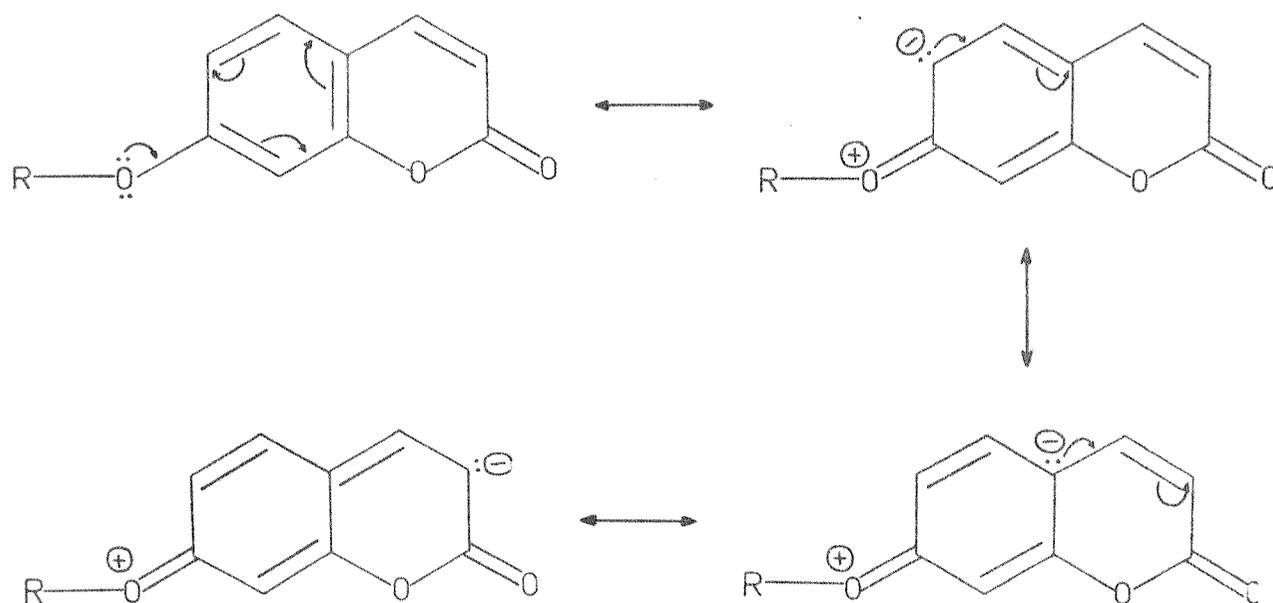
FIGURA 12: Espectros de RMN- ^{13}C do composto Pb-3 (CDCl_3).

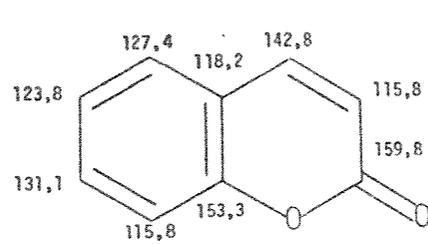
Isto confirma a estrutura cumarínica di-oxigenada a que tínhamos chegado. Vejamos agora como determinar as posições destas substituições.

Os carbonos quaternários são caracterizáveis por exibirem sinais de pequena altura no espectro FDL e por apresentarem singletos no espectro FDFD (54,55). A partir destas características pudemos identificar seis sinais correspondentes a carbonos quaternários (160,6 δ , 151,2 δ , 149,1 δ , 146,0 δ , 111,4 δ e 57,8 δ), sendo os cinco primeiros carbonos sp^2 do anel cumarínico e o sexto (57,8 δ) o carbono quaternário sp^3 da cadeia lateral. O sinal em 160,6 δ pode ser atribuído ao carbono C-2 da carbonila lactônica, que deve ser o menos protegido (56).

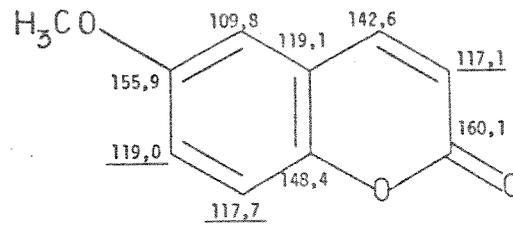
Examinando os deslocamentos químicos dos carbonos de várias cumarinas apresentadas na figura 13 vemos que C-10 é o mais protegido dos carbonos quaternários do anel e por isso atribuímos o sinal em 111,4 δ ao C-10 de Pb-3.

Podemos notar que os deslocamentos atribuídos a C-10 nas estruturas da figura 13 apresentam variações que podem ser explicadas considerando-se as substituições em posições 'orto' e 'para'. A proteção de C-10 nas estruturas XXXI, XXXIV, XXXV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII, e XXXIX deve-se à presença do substituinte oxigenado em C-7, que também protege C-3, conforme mostram as seguintes estruturas de ressonância (26, 62):

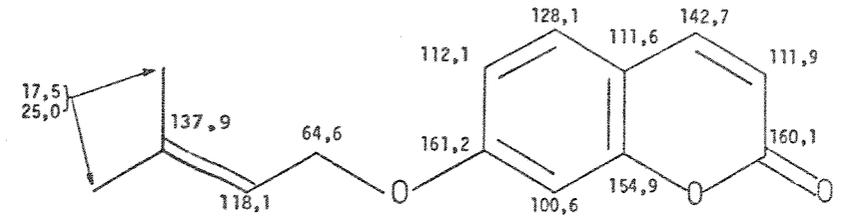




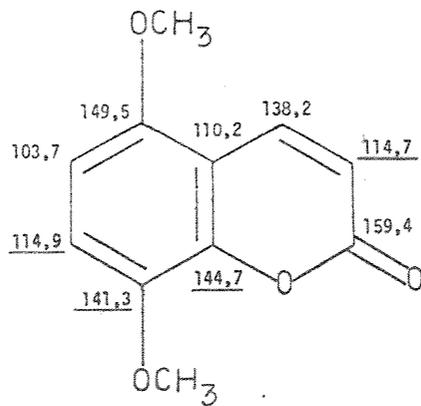
XXIX (56)



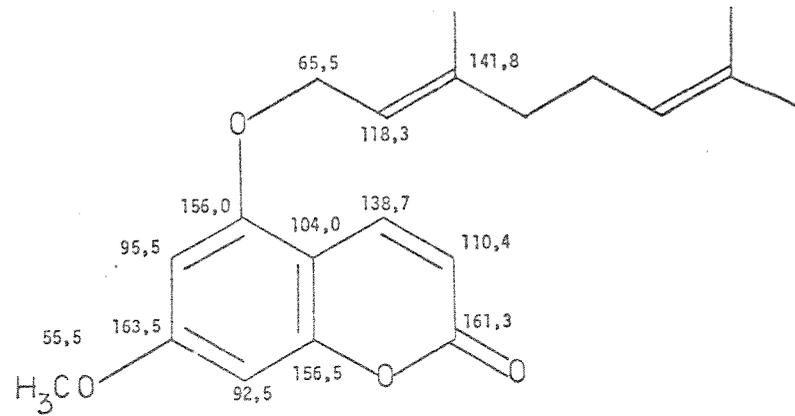
XXX (57)



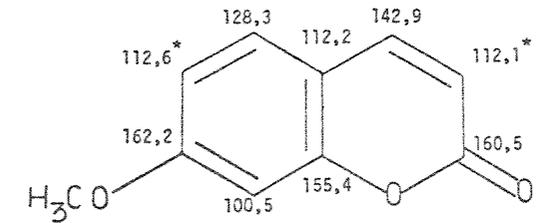
XXXI (58)



XXXII (57)



XXXIII (58)

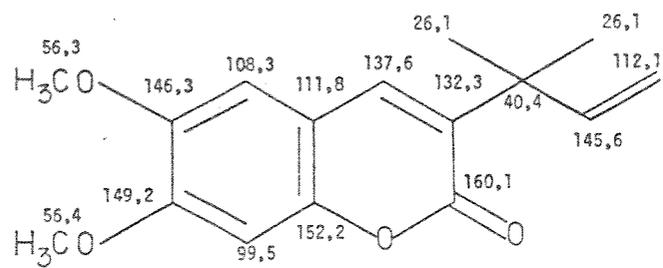


*estes sinais podem estar trocados

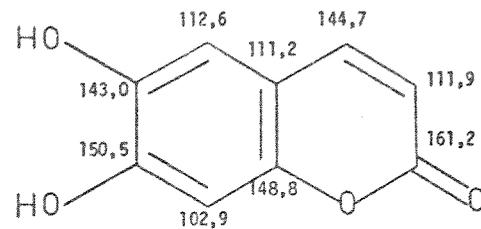
XXXIV (59)

FIGURA 13: Dados de RMN-¹³C das estruturas XXIX - XL
(os valores sublinhados são tentativas de atribuição).

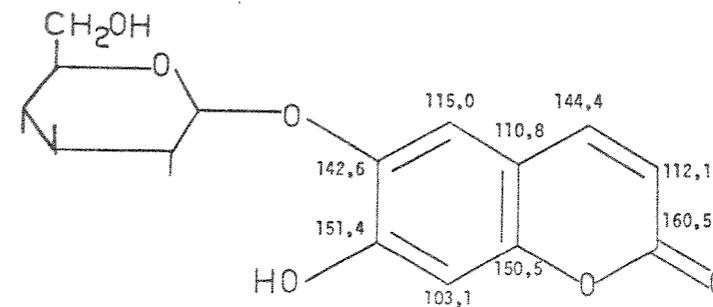
- C O N T I N U A -



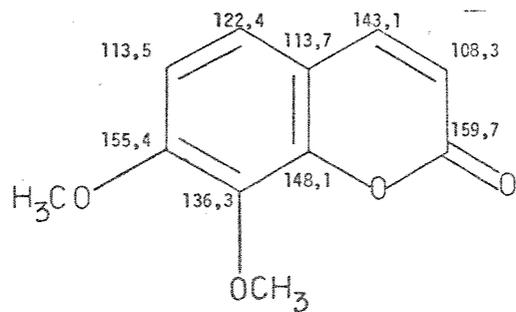
XXXV (60)



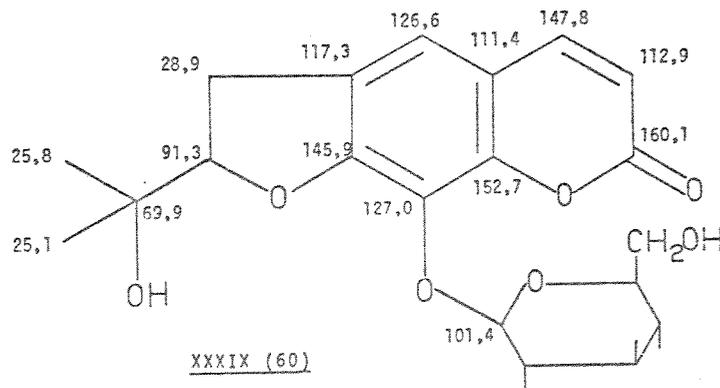
XXXVI (58)



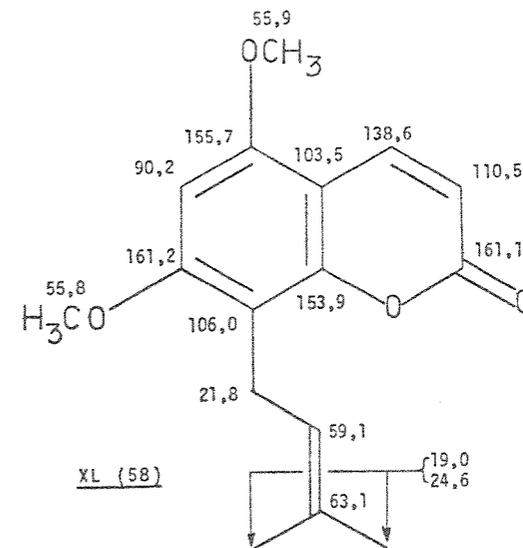
XXXVII (61)



XXXVIII (57)



XXXIX (60)



XL (58)

FIGURA 13 - C O N T I N U A Ç Ã O

É fácil perceber que um substituinte oxigenado protegerá sempre as posições 'orto' e 'para' relativas ao carbono a que está ligado. Podemos portanto concluir que o sinal de C-10 em campo relativamente alto (111,4δ) indica a presença de substituinte oxigenado em C-5 e/ou C-7. Um substituinte na posição -5 protege (possivelmente por ressonância) o C-3 e estericamente, pelo efeito γ, o C-4 (57,62). Isto pode ser notado nas estruturas XXXII e XXXIII da fig. 13. Para verificar se há ou não substituinte oxigenado em C-5, vamos examinar os deslocamentos químicos dos carbonos sp² ligados a um hidrogênio. Estes sinais são caracterizados por apresentarem dupletos no espectro FDFP, e no nosso caso situam-se em 101,0δ, 108,2δ, 113,0δ e 142,8δ. Comparando estes valores com aqueles apresentados nas estruturas da fig. 13 podemos concluir que a C-4 corresponde o valor 142,8δ, que é desprotegido demais para que haja substituinte oxigenado em C-5 (estruturas XXXII e XXXIII). Este substituinte, conseqüentemente, deve estar em C-7.

O deslocamento químico para C-7 deverá ser escolhido entre os valores restantes para os carbonos quaternários, ou seja, 146,0δ, 149,1δ e 151,2δ. Todos eles, no entanto, estão em campo alto demais para um C-7 ligado a um átomo de oxigênio (estruturas XXXI, XXXIII e XXXIV), o que sugere algum efeito de proteção devido ao outro substituinte oxigenado (63). Para que isto ocorra este substituinte terá de estar em C-6 ou C-8, como se nota examinando-se as estruturas XXXV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII e XXXIX. As estruturas XXXVIII e XXXIX mostram que um substituinte oxigenado em C-8 conferiria a este carbono um deslocamento químico abaixo de 140δ. Como os valores disponíveis estão todos acima de 145δ, temos de concluir que o outro substituinte oxigenado está na posição -6.

Podemos agora tentar atribuir os sinais correspondentes aos carbonos -6, -7 e -9. Nas estruturas XXXV, XXXVI e XXXVII que, como Pb-3, são 6,7-dioxigenadas, o deslocamento químico de C-6 situa-se em campo mais alto do que os deslocamentos correspondentes a C-7 e C-9. Isto nos leva a atribuir a C-6 o sinal em 146,0δ. Para C-7 e C-9 restam os deslocamentos 149,1δ e 151,2δ, que podemos inferir como sendo relativos aos carbonos C-7 e C-9, respectivamente, por comparação com os carbonos correspondentes na estrutura XXXV.

Consideremos agora os deslocamentos químicos restantes para os carbonos ligados a um átomo de hidrogênio, isto é, 101,0δ, 108,2δ e 113,0δ. Observando as estruturas XXXI, XXXIII, XXXIV, XXXV, XXXVI e XXXVII notamos que o sinal de C-8 em todas elas é o que está situado em campo mais alto, o que nos leva a atribuir o sinal de 101,0δ em Pb-3 a C-8. Por analogia com a estrutura XXXV, resolvemos atribuir a C-5 o deslocamento químico de 108,2δ. Resta para C-3, portanto, o sinal correspondente a 113,0δ.

Devemos agora decidir a colocação dos substituintes nas posições -6 e -7. Observando na estrutura XXXV o efeito que as metoxilas em -6 e -7 produzem sobre os deslocamentos químicos de C-5 e C-8 e comparando esses valores com aqueles atribuídos aos carbonos correspondentes em Pb-3 (estrutura XXVI-a, fig. 11), notamos para os deslocamentos de C-8 nas duas estruturas uma diferença perceptível: $\Delta\delta = \delta(\text{C-8 em XXVI-a}) - \delta(\text{C-8 em XXXV}) = 101,0 - 99,5 = 1,5\text{ppm}$. Podemos supor que isto se deva à diferença de substituintes na posição -7, indicando que esta posição em Pb-3 está ocupada pela cadeia epóxida, estando conseqüentemente a metoxila na posição -6.

II-4-B - RMN-¹³C do composto Pb-2

A atribuição dos deslocamentos químicos aos carbonos de Pb-2 que é mostrada na fig. 14 foi feita por análise dos espectros FDL e FDFF e por comparação dos sinais deste composto com exemplos da literatura.

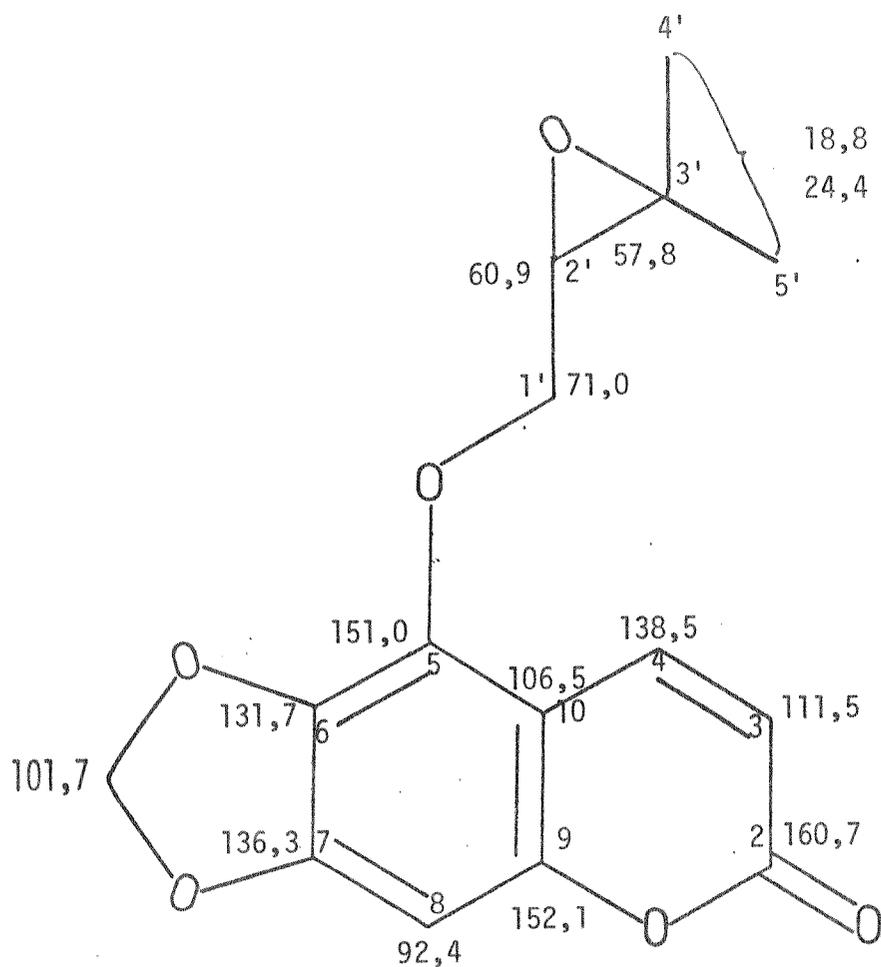
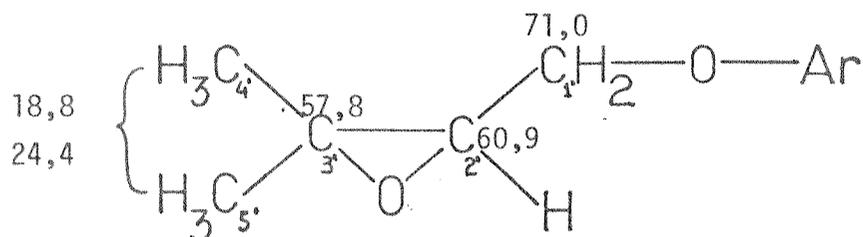


FIGURA 14 - Atribuições dos deslocamentos químicos do RMN- ^{13}C ao composto Pb-2, estrutura XXVIII-a

Os espectros de RMN- ^{13}C de Pb-2 (figs. 15-a e 15-b) confirmam os seguintes dados obtidos de outras evidências espectroscópicas:

- Presença de grupo metilenodioxí (101,7 δ) ligado a anel aromático(62).
- Presença da cadeia lateral (52)



Estas duas informações nos levam a uma cumarina trioxigenada. Resta verificar em que carbonos ocorrem estas substituições.

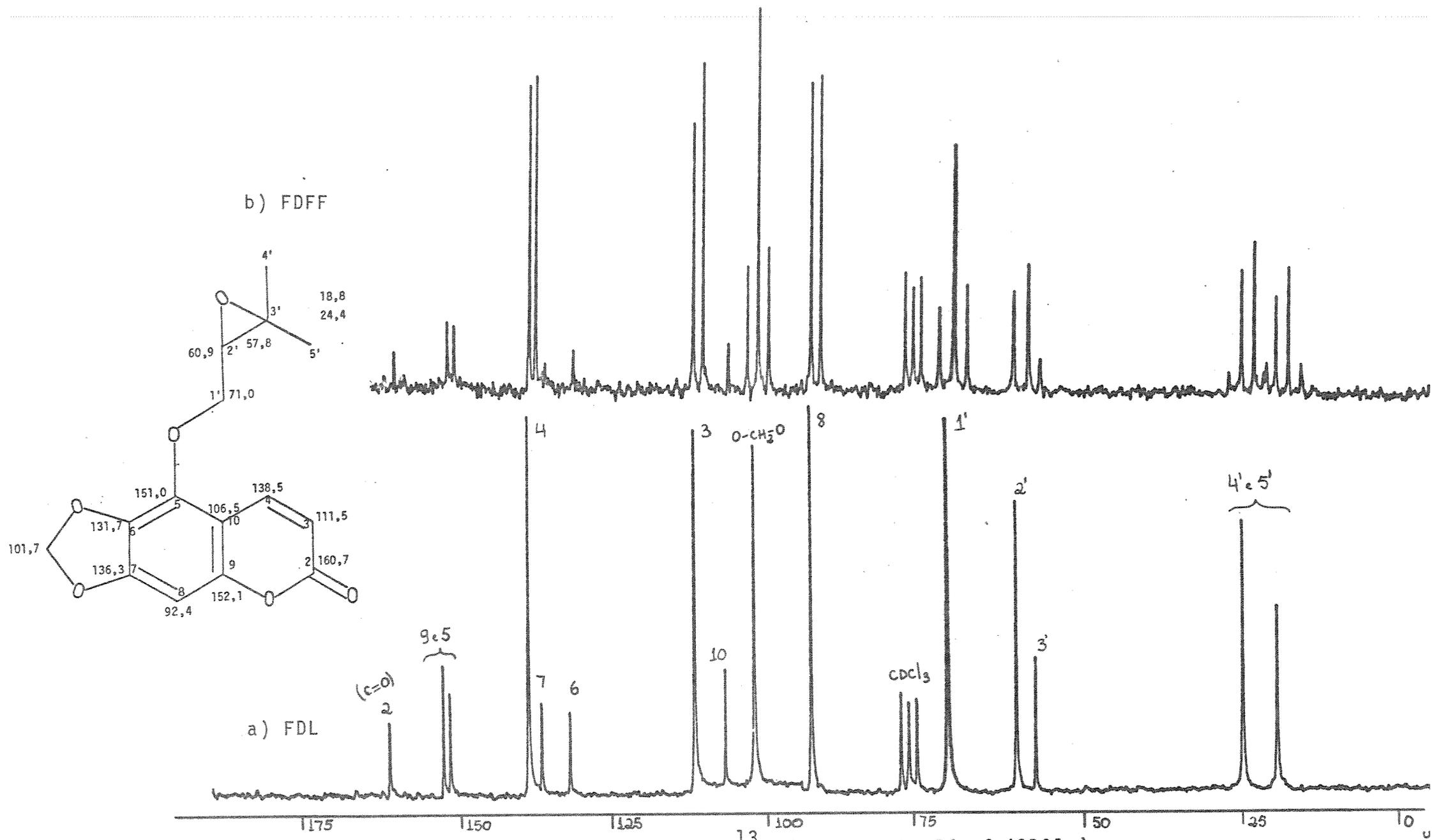
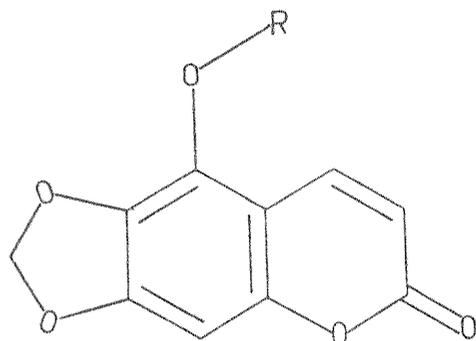


FIGURA 15: Espectros de RMN-¹³C do composto Pb-2 (CDCl₃).

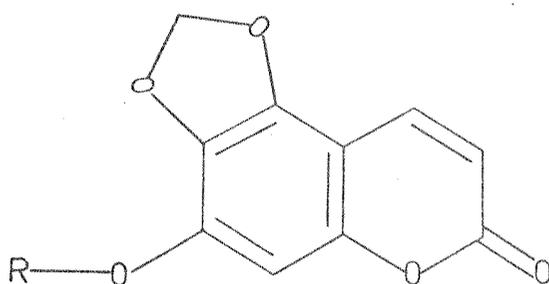
Vamos começar pelos carbonos quaternários, que apresentam sinais característicos (54, 55) em 160,7 δ , 152,1 δ , 151,0 δ , 136,3 δ , 131,7 δ e 106,5 δ . O sinal em 160,7 δ pode ser atribuído ao C-2 da carbonila lactônica, o mais desprotegido de todos (56). Por outro lado, o deslocamento químico de 106,5 δ deve corresponder a C-10 que, como mostra a figura 13, é o mais protegido dos carbonos quaternários do anel cumarínico. Neste caso, a proteção é muito grande, sugerindo a presença de substituinte oxigenado em posição 'orto' (C-5) e/ou 'para' (C-7) em relação a C-10 (62). De fato deve haver um substituinte oxigenado em C-5 porque o único valor possível para C-4, 138,4 δ , é característico desta situação, como mostram as estruturas XXXII e XXXIII (fig. 13).

Como o sinal de C-10 está mesmo em campo muito alto, é perfeitamente possível que também haja um substituinte oxigenado em C-7, que também protegeria C-3, conforme mostram as estruturas XXXI, XXXIII, XXXIV, XXXVI, XXXVII, XXXVIII, XXXIX (fig. 13) e XXVI-a (fig. 11). Dos dois valores disponíveis para o deslocamento químico de C-3, 111,5 δ e 92,4 δ , o primeiro está inteiramente de acordo com esta possibilidade. Este sinal atribuído a C-3 parece estar em campo alto, mas devemos lembrar que um substituinte oxigenado em C-5 também protege C-3 (62).

Pela análise feita até agora dos sinais no espectro de ^{13}C , são possíveis para Pb-2 as mesmas três estruturas a que tínhamos chegado anteriormente:

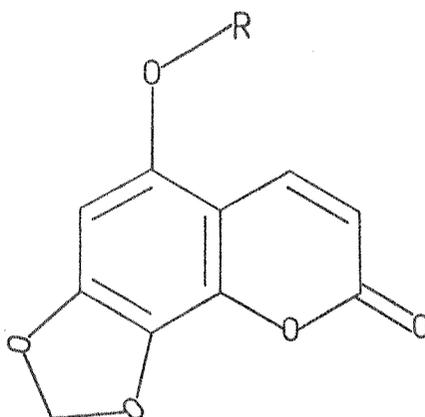


XXVIII-a



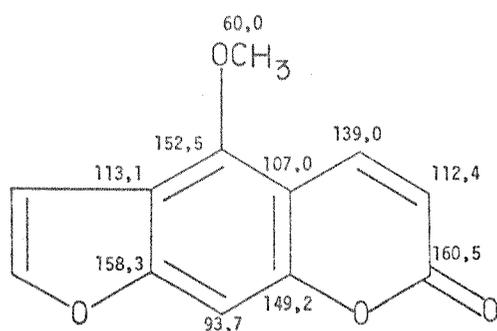
XXVIII-b

XXVIII-c

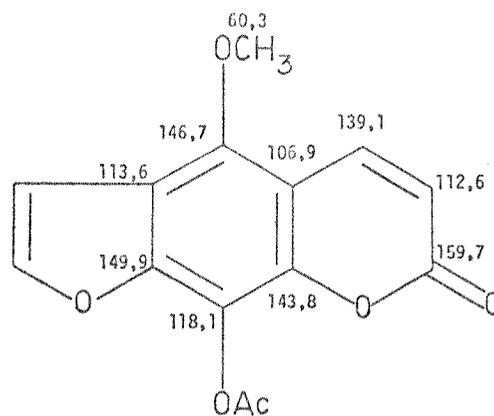


O sinal em 92,4 δ terá de corresponder ao único carbono aromático não substituído, que só pode ser C-6 ou C-8. O melhor exemplo de que dispomos para comparação é a estrutura XXXIII, uma cumarina 5,7-dioxigenada, cujos deslocamentos para C-6 e C-8 são respectivamente 95,5 δ e 92,5 δ . Como o deslocamento que temos é 92,4 δ , podemos dizer que o carbono em questão deve ser C-8, o que exclui a estrutura XXVIII-c.

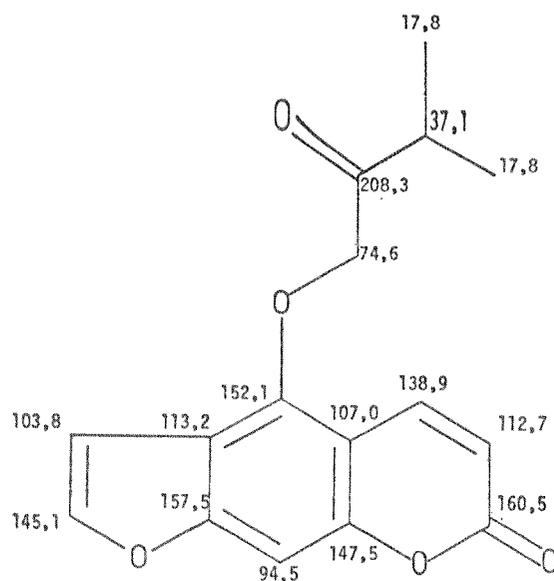
Observando as estruturas XXVIII-a e XXVIII-b notamos que em ambas o grupo metilenodioxí constitui um anel rígido no mesmo plano do sistema cumarínico. Há, no entanto, uma diferença fundamental. A estrutura XXVIII-a possui uma cadeia lateral alcoxilada na posição -5, situada entre dois substituintes 'orto' que se encontram no mesmo plano do anel benzênico, o que impede estericamente que esta cadeia lateral também se situe nesse plano, resultando numa rotação da cadeia para fora dele (26, 62, 64). Isto implica numa desproteção do carbono C-1', que agora sente mais os efeitos do oxigênio ligado a ele. Por outro lado a estrutura XXVIII-b possui sua cadeia lateral na posição -7, com apenas um substituinte em 'orto', permitindo ao oxigênio da cadeia ficar no mesmo plano do sistema cumarínico, o que se reflete no deslocamento químico do carbono C-1', que deve ir para campo relativamente mais alto. Podemos notar estes efeitos comparando os deslocamentos químicos dos carbonos das metoxilas nas estruturas XLI e XLII (60,0 δ e 60,3 δ , respectivamente) com os valores correspondentes das metoxilas na estrutura XL (55,8 δ em C-5 e 55,9 δ em C-7), e também comparando os deslocamentos de C-1' nas estruturas XLIII e XLIV (74,6 δ e 72,5 δ) com os deslocamentos de C-1' nas estruturas XXXI,



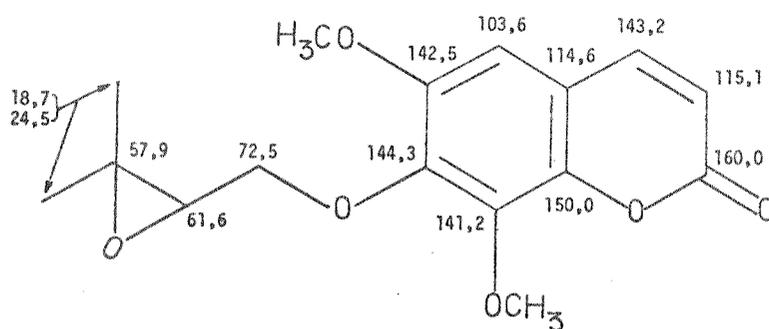
XLI (59)



XLII (59)



XLIII (62)



XLIV (65)

FIGURA 16: Dados de RMN-¹³C das estruturas XLI-XLIV.

XXXIII e XXVI-a (64,6 δ , 65,5 δ e 68,1 δ). Comparando estes dados com o valor correspondente (71,0 δ) para o composto Pb-2 (fig. 14), verificamos que a cadeia lateral epóxida deve se situar numa posição estericamente impedida, o que nos leva a propor para Pb-2 a estrutura XXVIII-a, correspondente à cumarina 5-(2', 3'-epoxi-3' metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxí, que é um composto desconhecido na literatura.

Por ser rígido o anel metilenodioxí produz, em comparação com o grupo dimetoxi em situação análoga, um efeito de proteção no carbono ligado diretamente a ele e no carbono situado em 'orto', e uma pequena desproteção no carbono em 'meta' (62). Este efeito pode ser notado nos alcalóides protoberberínicos, e.g. nas estruturas XLV e XLVI (fig. 17), e também nas lignanas do tipo feniltetralina, e. g. Nas estruturas XLVII e XLVIII (fig. 18), onde há proteção de C-3', C-4', C-2' e C-5', e desproteção de C-1' e C-6'.

Baseados nas considerações acima podemos agora tentar atribuir os deslocamentos químicos dos carbonos diretamente ligados ao grupo metilenodioxí de Pb-2, C-6 e C-7. Os valores disponíveis para os carbonos quaternários são 152,1 δ , 151,0 δ , 136,3 δ e 131,7 δ , dos quais os sinais mais protegidos (136,3 δ e 131,7 δ) são, de acordo com os argumentos que acabamos de expor, mais adequados para os carbonos C-6 e C-7. O sinal em 131,7 δ deve corresponder ao carbono C-6, que sofre uma proteção adicional por se encontrar 'orto' à cadeia alcoxilada situada em C-5. Restam para C-5 e C-9 os sinais em 151,0 δ e 152,1 δ que, por serem muito próximos, não podemos atribuir com segurança.

Feitas as atribuições, vejamos agora os efeitos que o grupo metilenodioxí produz no anel aromático de Pb-2, em comparação com os produzidos numa cumarina 6,7-dimetoxilada, estrutura XXXV (fig.13). Podemos notar que o efeito de proteção do grupo metilenodioxí sobre C-6 e C-7, $\Delta\delta = \delta_{C-6}(\text{est. XXXV}) - \delta_{C-6}(\text{est. XXVIII-a}) = 146,3 - 131,7 = 14,6\text{ppm}$ e $\Delta\delta = \delta_{C-7}(\text{est. XXXV}) - \delta_{C-7}(\text{est. XXVIII-a}) = 149,2 - 136,3 = 12,9\text{ppm}$, é bem maior do que sobre os carbonos correspondentes da protoberberina e da feniltetralina, talvez por causa da maior conjugação do anel em Pb-2.

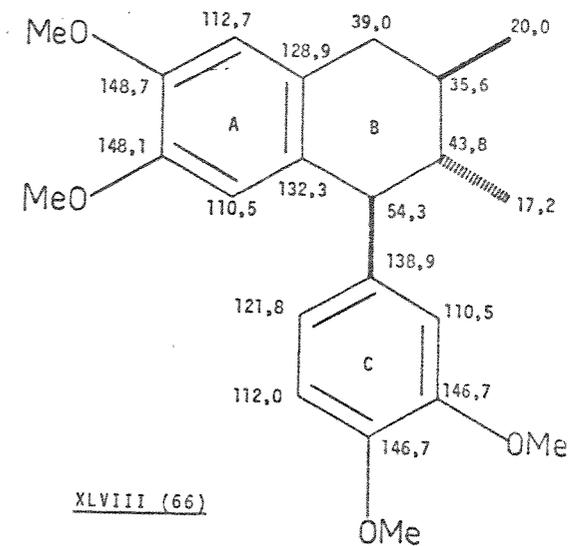
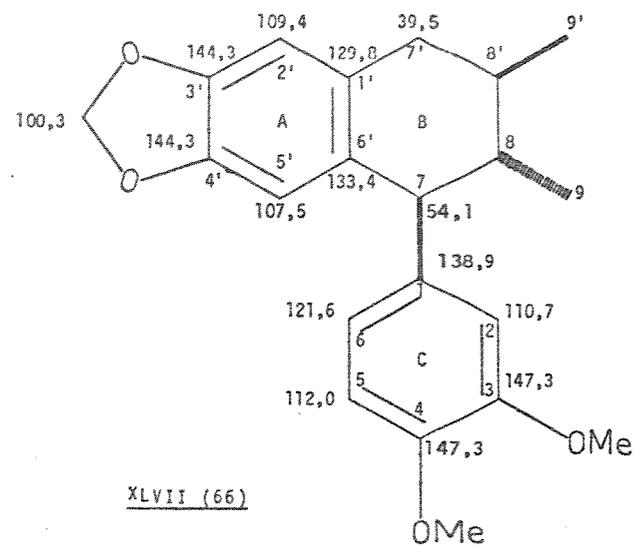
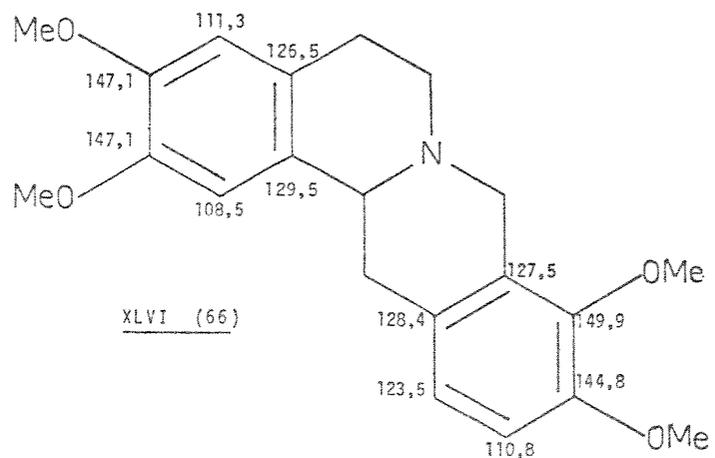
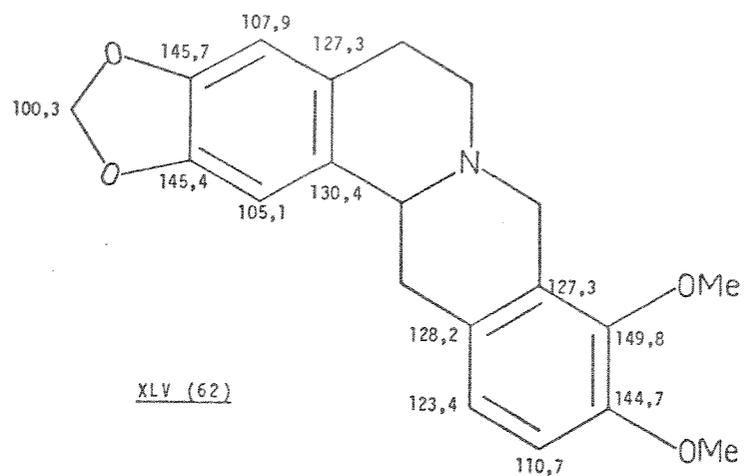


FIGURA 18: Dados de RMN-¹³C das estruturas XLVII e XLVIII (lignanas do tipo fenil tetralina).

FIGURA 17: Dados de RMN-¹³C das estruturas XLV e XLVI (alcalóides protoberberínicos).

Além disto, como era esperado, o carbono C-8, 'orto' ao grupo metilenodioxí, sofre uma proteção, $\Delta\delta = \delta_{C-8} \text{ (est. XXXV)} - \delta_{C-8} \text{ (est. XXVIII-a)} = 99,5 - 92,4 = 7,1\text{ppm}$. Os efeitos sobre os outros carbonos benzênicos de Pb-2 não podem ser avaliados porque o modelo escolhido (est. XXXV) não é uma cumarina 5, 6, 7-trioxigenada.

II-5 - Pb-4

(p.f. $162^{\circ} - 163^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{D}^{25} \text{HCCl}_3 = -12,5^{\circ}$; P. M. = 308)

As absorções observadas nas regiões do ultravioleta e do infravermelho para o composto Pb-4 indicam para este composto uma estrutura cumarínica. O espectro de absorção no ultravioleta, mostrado na fig. 19 $[\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}, \text{nm} (\log \epsilon): 340 (3,57), 315 (3,65), 260 (3,18), 238 (3,58), 203 (4,02)]$, apresenta-se muito semelhante ao do composto Pb-2 (fig. 8), com os máximos situando-se nas mesmas regiões em ambos os espectros, o que nos leva a supor que Pb-4 deve possuir o mesmo tipo de cromóforo cumarínico que Pb-2, com três substituintes oxigenados.

O espectro infravermelho (fig. 20) confirma a presença de um esqueleto cumarínico, pelas absorções em 1690 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} e 1575 cm^{-1} (13, 14, 18). Uma banda larga e intensa situada em 3370 cm^{-1} pode ser atribuída a estiramento OH de álcoois associados por ponte de hidrogênio intermolecular. As absorções em 1090 cm^{-1} e 1138 cm^{-1} sugerem estiramentos C-O de álcool secundário e terciário, respectivamente (18, 37). A presença de grupo metilenodioxí é evidenciada pelas bandas em 1250 cm^{-1} , 1045 cm^{-1} e 938 cm^{-1} (18, 19). O dubleto em $1375 - 1380 \text{ cm}^{-1}$ e as absorções em 1190 cm^{-1} e 900 cm^{-1} podem ser atribuídos a metilas geminados (18, 23). As demais bandas relevantes acham-se atribuídas na fig. 20.

Com os dados que vimos até agora podemos sugerir os seguintes elementos estruturais:

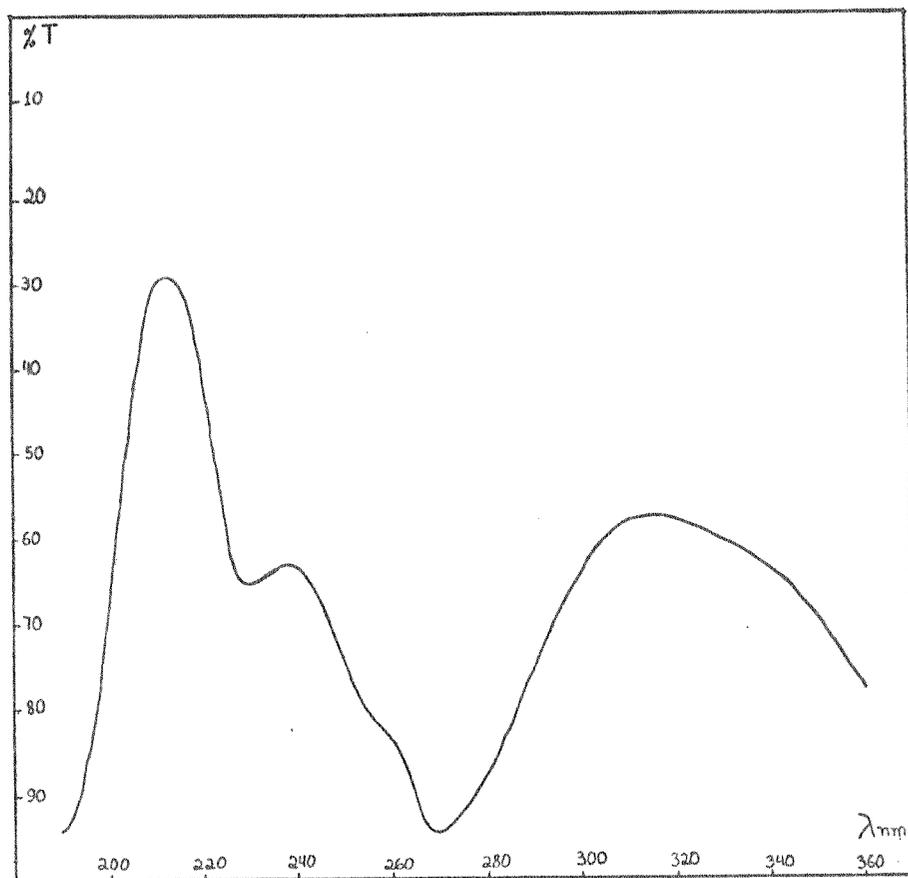


FIGURA 19: Espectro no UV do composto Pb-4.

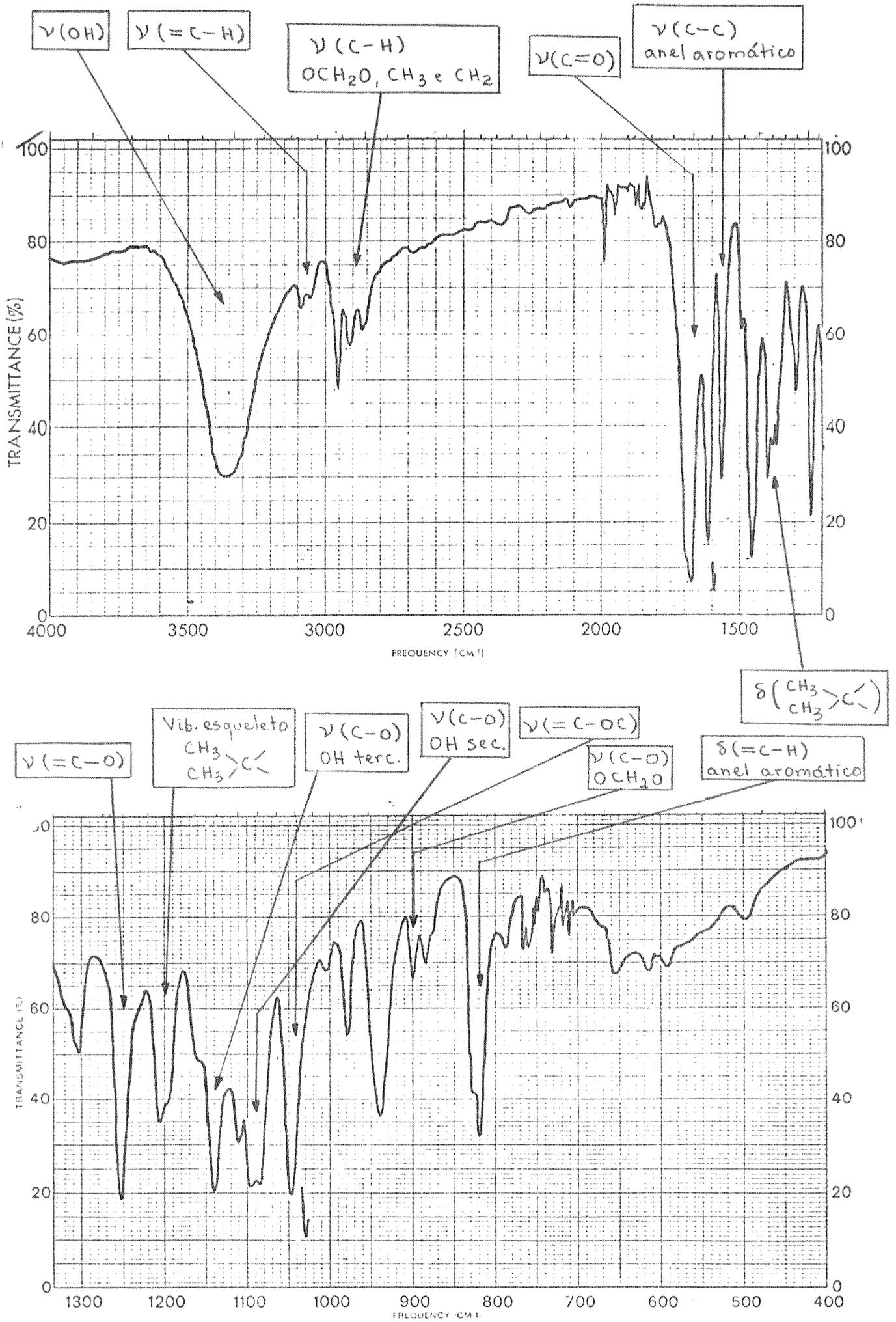
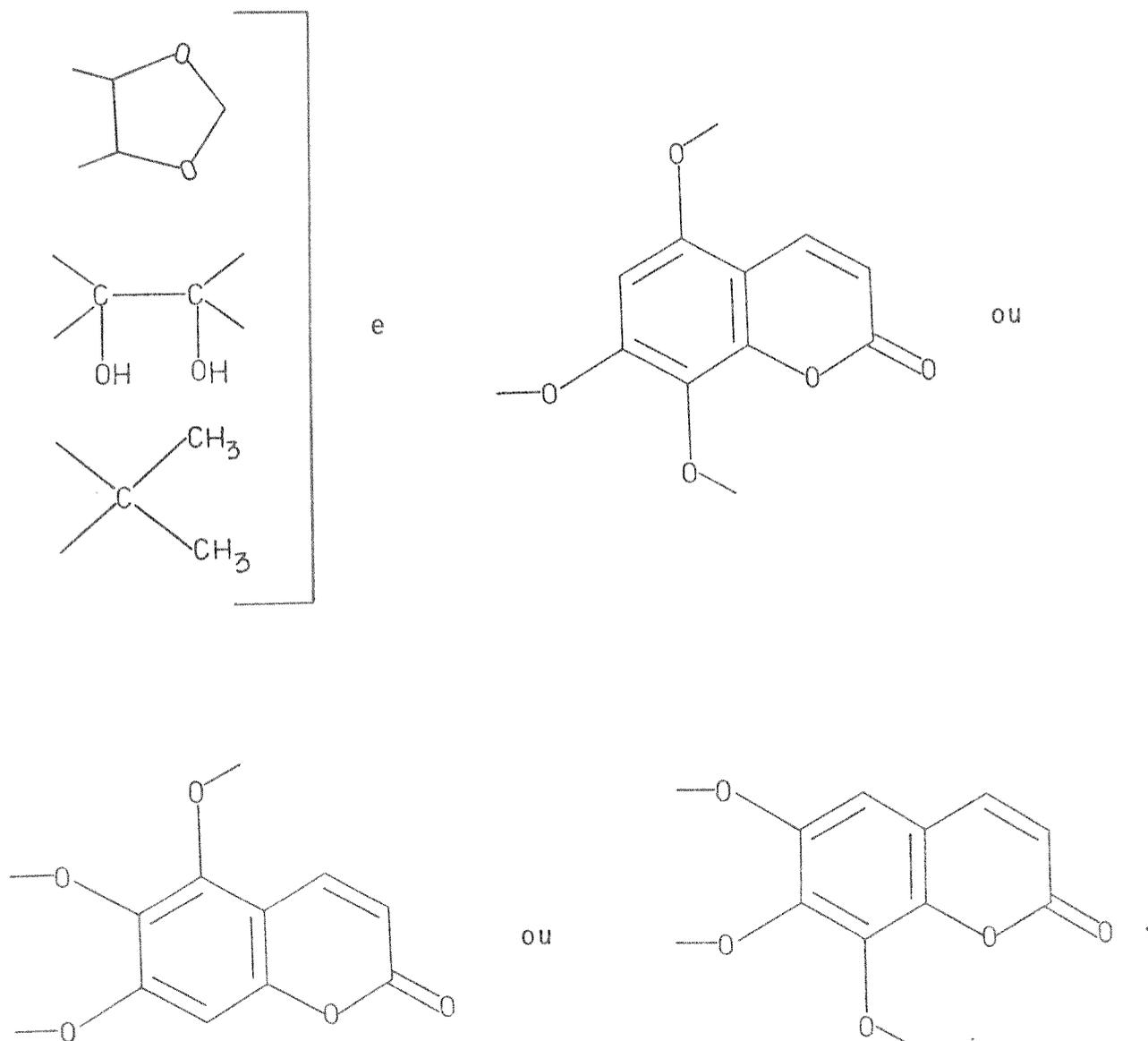


FIGURA 20: Espectro no IV de Pb-4 (pastilha de KBr).



A análise do espectro de ressonância magnética prótonica (fig. 21-a) permite-nos esclarecer a estrutura do composto Pb-4. Os dados dos deslocamentos químicos observados e as respectivas atribuições encontram-se na tabela 7, construída a partir das considerações que vamos expor agora.

- Os dubletos "a" (7,98 δ , J = 10Hz) e "c" (6,18 δ , J = 10Hz) correspondem respectivamente aos prótons das posições -4 e -3 de um anel cumarínico (17, 24, 25). O deslocamento químico (6,18 δ) apresentado pelo próton em -3 encontra-se em campo muito alto, o que indica claramente a presença de substituinte oxigenado em C-7, posição que mais contribui na proteção do próton em -3 (26). Por outro lado, a posição do sinal "a" (7,98 δ) está em campo relativamente baixo, sugerindo a presença de um substituinte em C-5 (15, 24, 26).

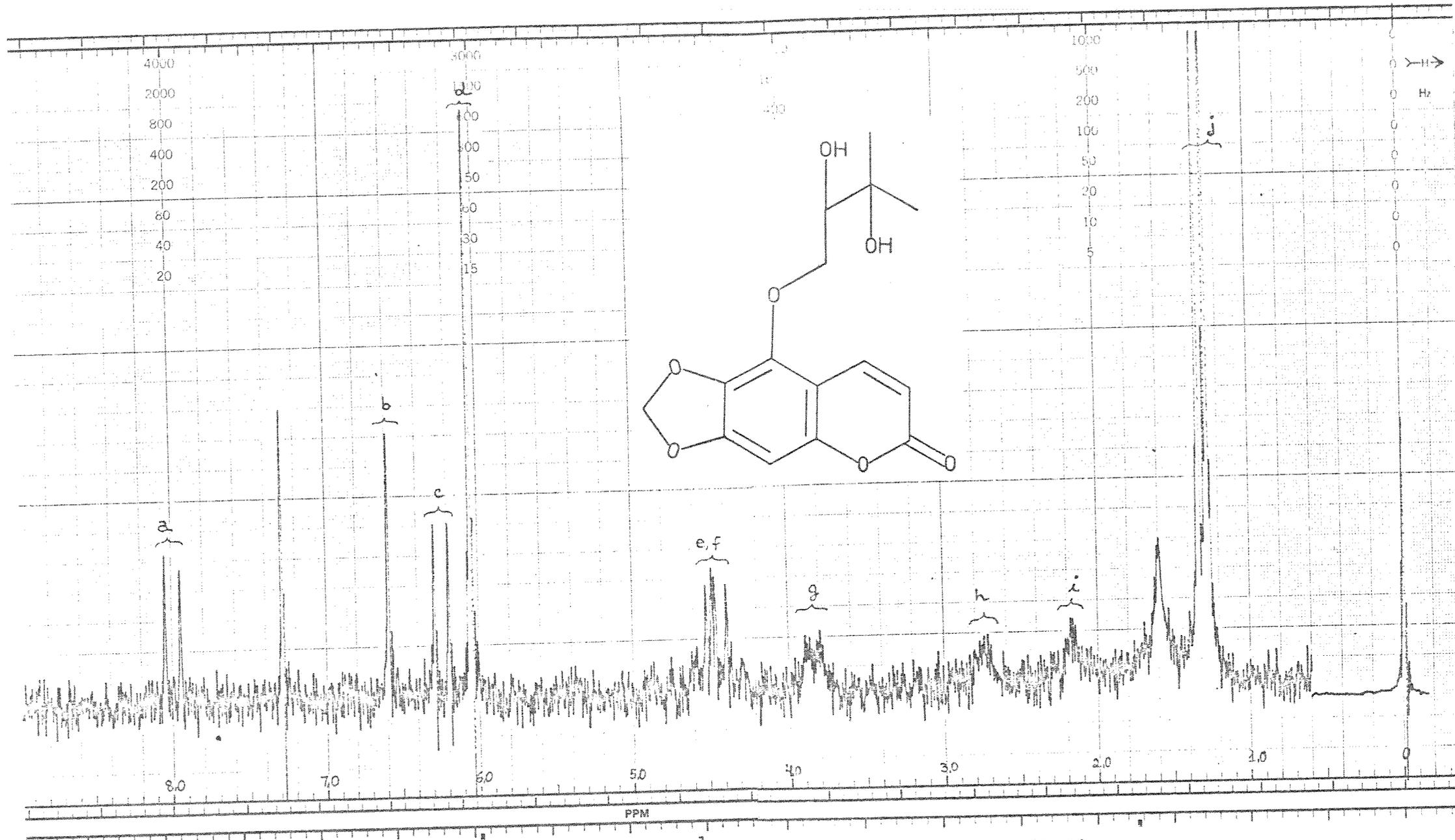


FIGURA 21-a: Espectro de RMN- ^1H do composto Pb-4 (CDCl_3/TMS).

TABELA 7 - Dados de RMN-¹H do composto Pb-4
(100 MHz; CDCl₃; TMS (δ = 0); valor absoluto de J em Hz)

Próton		Sinal
3	d	6,18 (J = 10)
4	d	7,98 (J = 10)
8	s	6,59
1'	{ dd	4,60 (J = 10,2 + 2,7)
		4,38 (J = 10,2 + 7,4)
2'	m	3,84 (J = 2,7 + 7,4)
4'	s	1,34
5'	s	1,28
O-CH ₂ -O	s	6,06
OH	(largo)	2,80
OH	(largo)	2,16

- O singlete "b" (6,59δ) corresponde ao único próton aromático do composto.

- O singlete "d" de dois prótons (6,06δ) possivelmente pertence a um grupo metilenodioxí ligado a anel aromático (27, 30, 41).

- A região 4,83 - 4,08δ do espectro de RMN-¹H, expandida na fig. 21-b, mostra dois duplos dubletos "e" (4,60δ, J = -10,2 e 2,7Hz) e "f" (4,38δ, J = -10,2 e 7,4Hz), cada um correspondendo a um próton. O valor absoluto observado para o acoplamento (J = 10,2Hz) sugere prótons geminados, não equivalentes por se encontrarem próximos a um centro assimétrico ou fazerem parte de uma cadeia alifática com rotação restrita (30). Esses sinais podem ser atribuídos a um grupo metileno ligado a um oxigênio que por sua vez encontra-se ligado a um anel aromático (30, 31, 45, 46), co

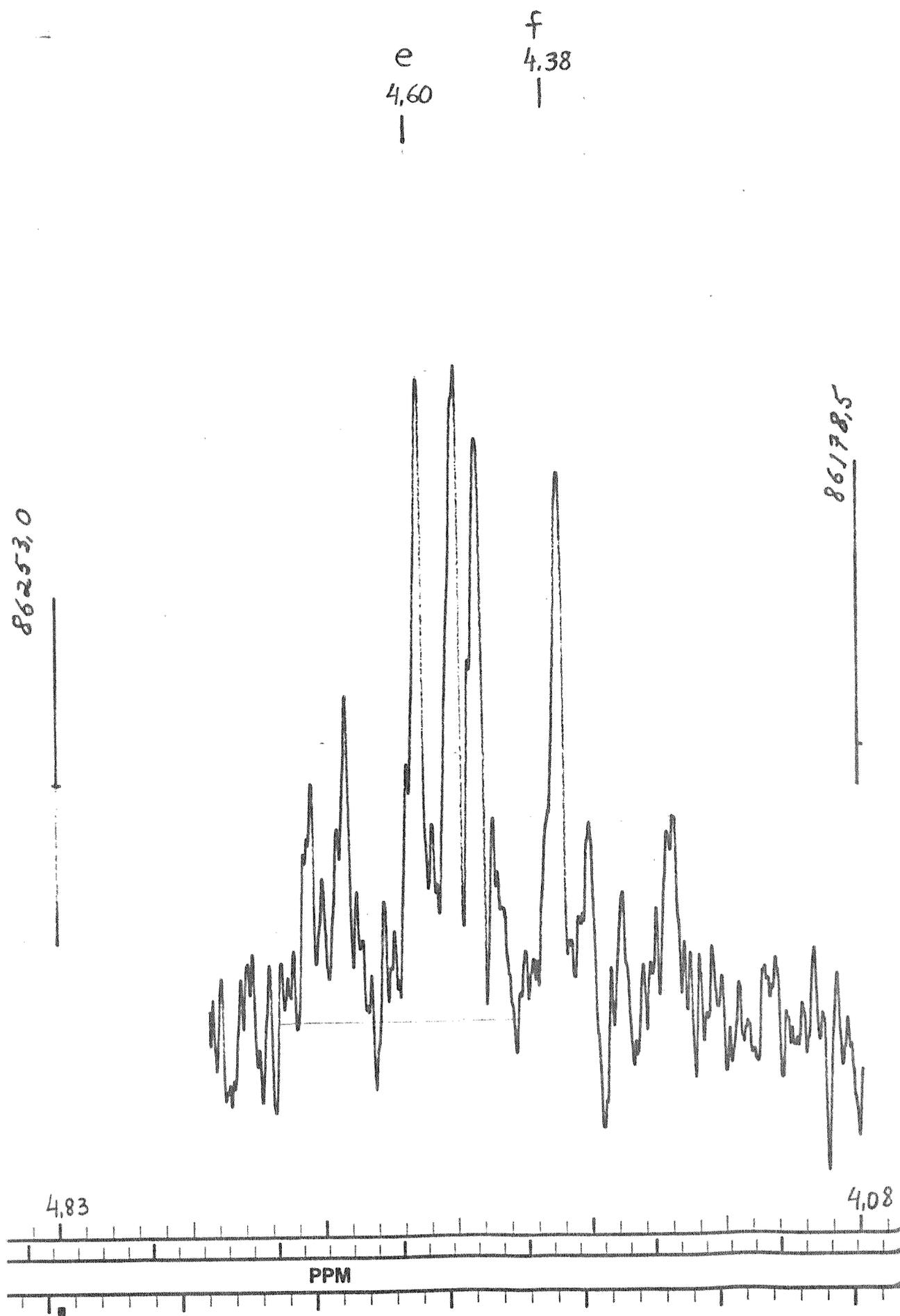
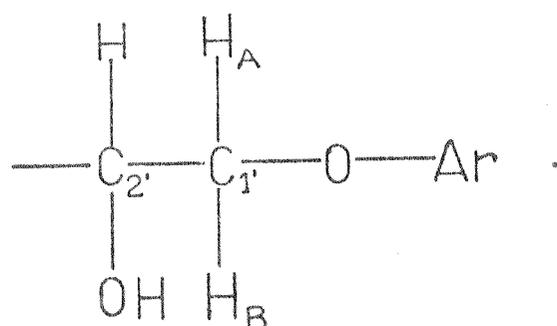


FIGURA 21-b: Região 4,83-4,08 δ (expandida) no espectro de RMN- ^1H do composto Pb-4.

mo já vimos nos casos anteriores. Cada um desses prótons encontra-se acoplado a um terceiro próton ($J = 2,7\text{Hz}$), constituindo o chamado sistema ABX (30).

- O multiplete "g" em $3,84\delta$ ($J = 2,7 + 7,4\text{Hz}$) corresponde ao próton X que se acopla aos prótons do metileno. Pela sua posição no espectro, deve tratar-se de metino ligado a um átomo de oxigênio, possivelmente uma hidroxila (30, 31, 46), o que dá para o sistema ABX a seguinte estrutura:

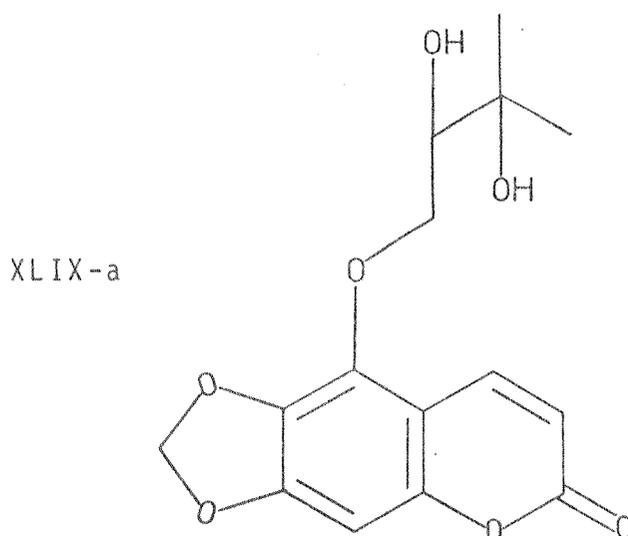


O carbono C-2' mais uma vez constitui um centro assimétrico.

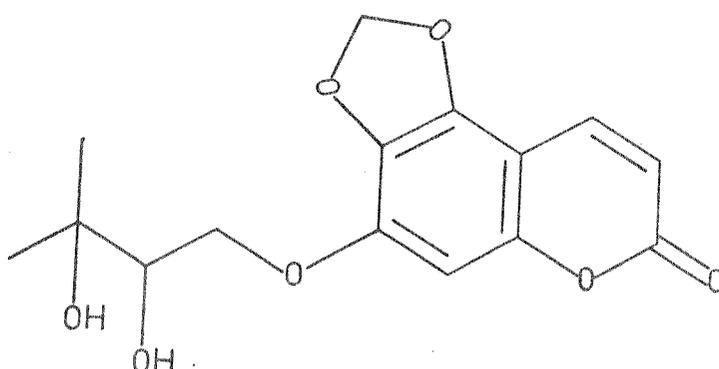
- Os sinais largos "h" ($2,80\delta$) e "i" ($2,16\delta$) podem ser atribuídos a duas hidroxilas.

- Os dois singletos "j" ($1,34\delta$ e $1,28\delta$), com intensidade correspondente a seis prótons, podem ser atribuídos a dois metilas ligados a carbono quaternário, por não apresentarem desdobramento da banda (25, 45, 46). Pelos deslocamentos químicos, estes metilas devem ser do tipo $\text{CH}_3 - \text{C} - \text{O}$ (30, 46).

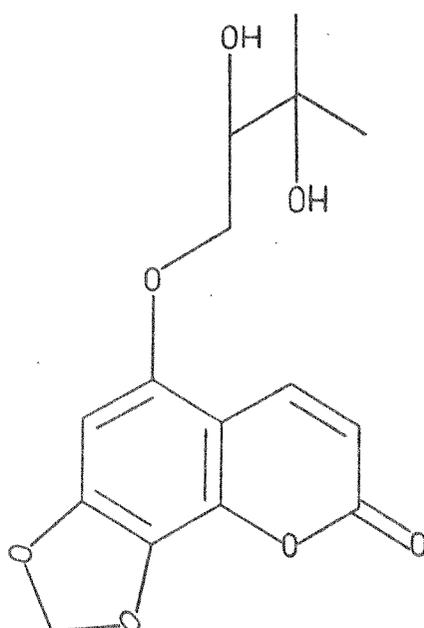
Como resultado deste estudo de RMN- ^1H e das informações obtidas do UV e do IV, temos três possibilidades estruturais:



XLIX-b



XLIX-c



Pela mesma razão exposta na discussão do composto Pb-2 podemos supor um acoplamento a longa distância entre os prótons em -8 e em -4 no composto Pb-4, o que desfavorece a estrutura XLIX-c. Além disto o deslocamento químico do próton aromático (6,59 δ) faz-nos supor que ele esteja adjacente a um substituinte oxigenado, como vimos para o composto Pb-2, levando-nos assim a excluir a estrutura XLIX-c (15, 26, 27, 28, 49). Finalmente, o composto de estrutura XLIX-c (sabandinol) já foi isolado (67); e os seus dados espectroscópicos não concordam com os de Pb-4.

A fim de decidir entre as possibilidades restantes resolvemos comparar o composto Pb-4 com o glicol obtido a partir de Pb-2 (XXVIII-a) por hidrólise ácida. O glicol, de estrutura XLIX-a, apresentou R_F , ponto de fusão e RMN-¹H coincidentes com os dados correspondentes de Pb-4, o que nos leva a concluir que Pb-4 é a cumarina 5-(2', 3'.dihidroxi-3'-metilbutiloxi)-6,7-metilenodioxí, estrutura XLIX-a.

Uma pesquisa bibliográfica revelou que Pb-4 é um composto inédito na literatura.

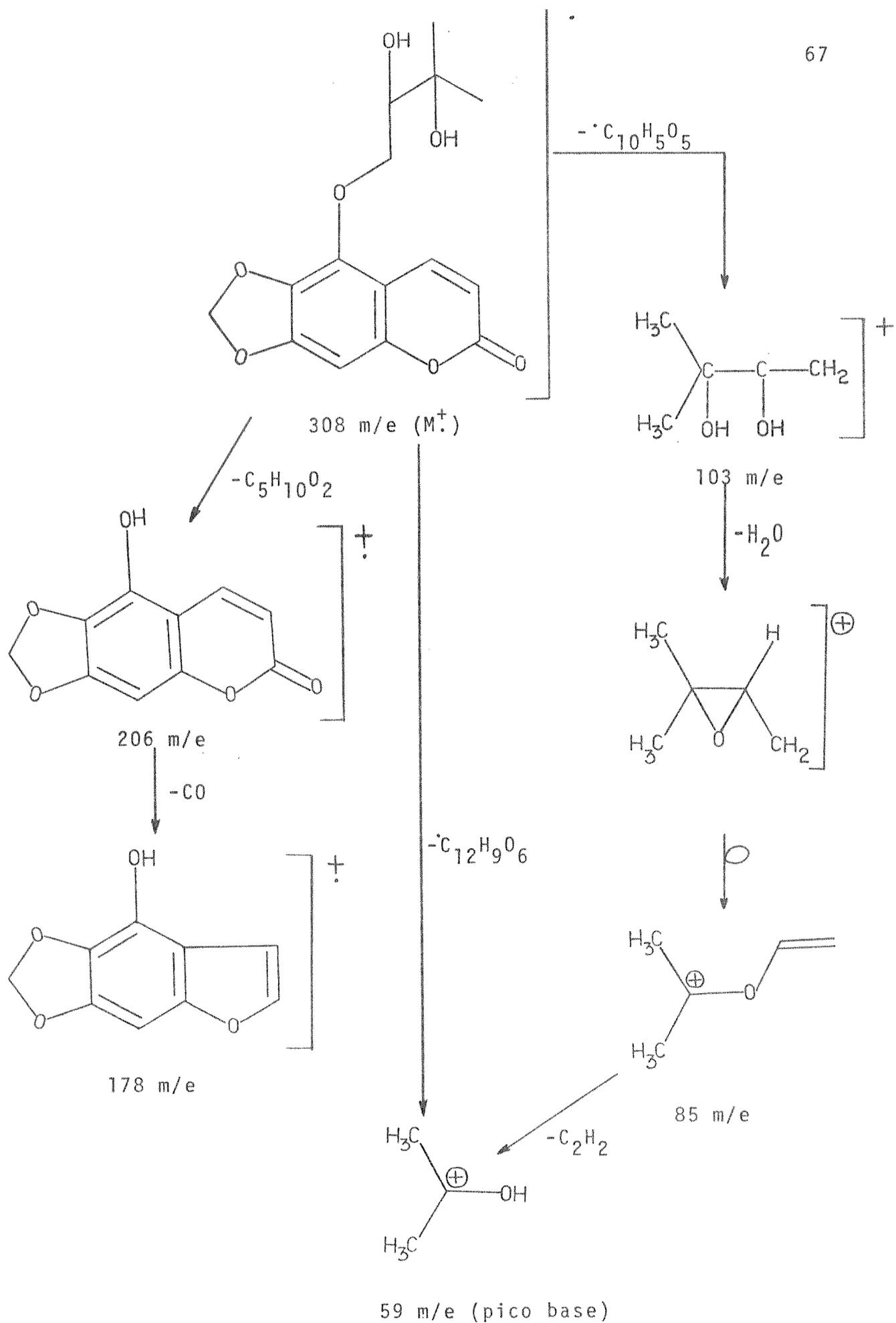
A fragmentação de Pb-4 no espectrômetro de massa apresenta os picos principais 308m/e, 206m/e, 178m/e, 103m/e, 85m/e e 59m/e. O quadro 5 mostra uma proposta explicativa dessa fragmentação que segue o mesmo padrão do composto Pb-2, exceto quanto ao pico base, que é 59m/e ao invés de 85m/e, e ao pico 103m/e, que é o íon relativo à cadeia lateral com o glicol. Depois da perda de água esse íon fragmenta-se de maneira semelhante à da cadeia lateral de Pb-2.

II-6 - Pb-1

(p.f. 129^o - 130^oC; P. M. - 274)

As absorções observadas no ultravioleta e no infravermelho para o composto Pb-1 são, mais uma vez, compatíveis com uma estrutura cumarínica. O espectro de absorção no ultravioleta, fig. 22 [$\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, nm (log ϵ): 313 (3,93), 258 (3,62), 233 (3,99), 211 (4,38)], é muito semelhante ao do Pb-2 (fig. 8), indicando para Pb-1 o mesmo cromóforo cumarínico trioxigenado.

No espectro infravermelho (fig. 23) as absorções em 1725 cm⁻¹, 1625 cm⁻¹ e 1575 cm⁻¹ evidenciam a presença de um esqueleto cumarínico (18, 20, 23). Devido às mesmas dificuldades encontradas nas análises de infravermelho anteriores, as atribuições das principais absorções só foram possíveis depois do estudo de RMN-¹H. Assim, a banda em 938 cm⁻¹ corresponde à deformação C-O do grupo metilenodioxí, as absorções em 1390 cm⁻¹ e 1410 cm⁻¹ podem ser atribuídas a metilas geminados, e a banda em 825 cm⁻¹ sugere uma deformação C - H para grupos alcenos trissubstituídos (20). Na fig. 23 encontram-se atribuídas outras absorções informativas.



QUADRO 5: Proposta de fragmentação do composto Pb-4.

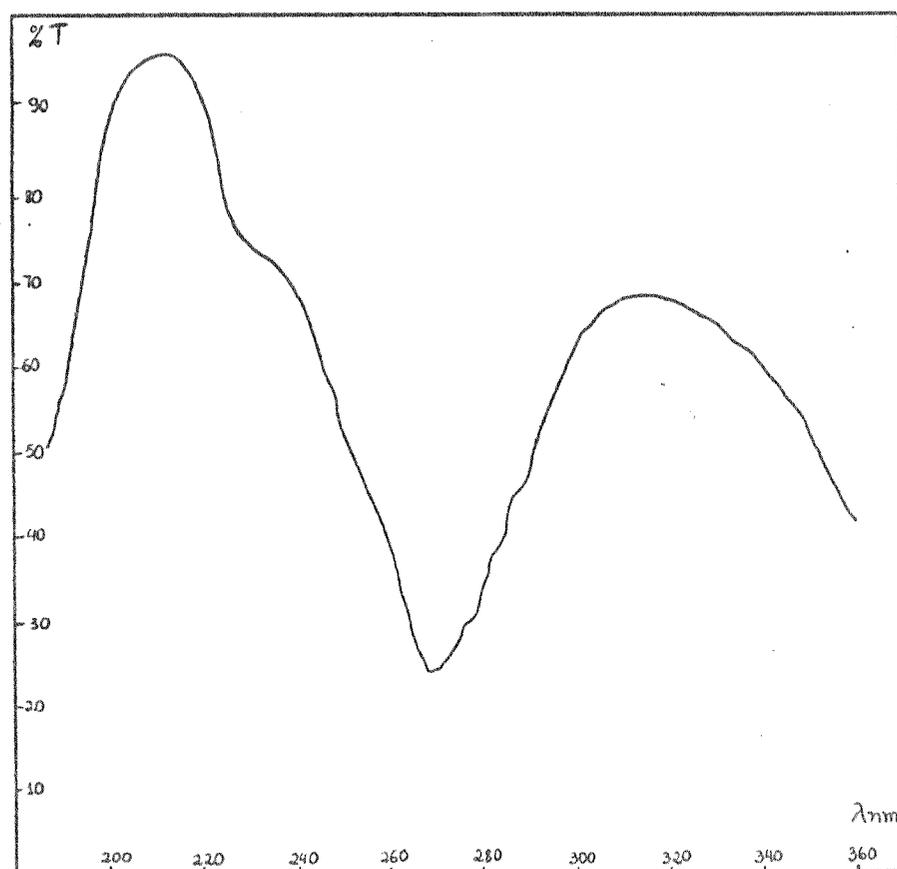
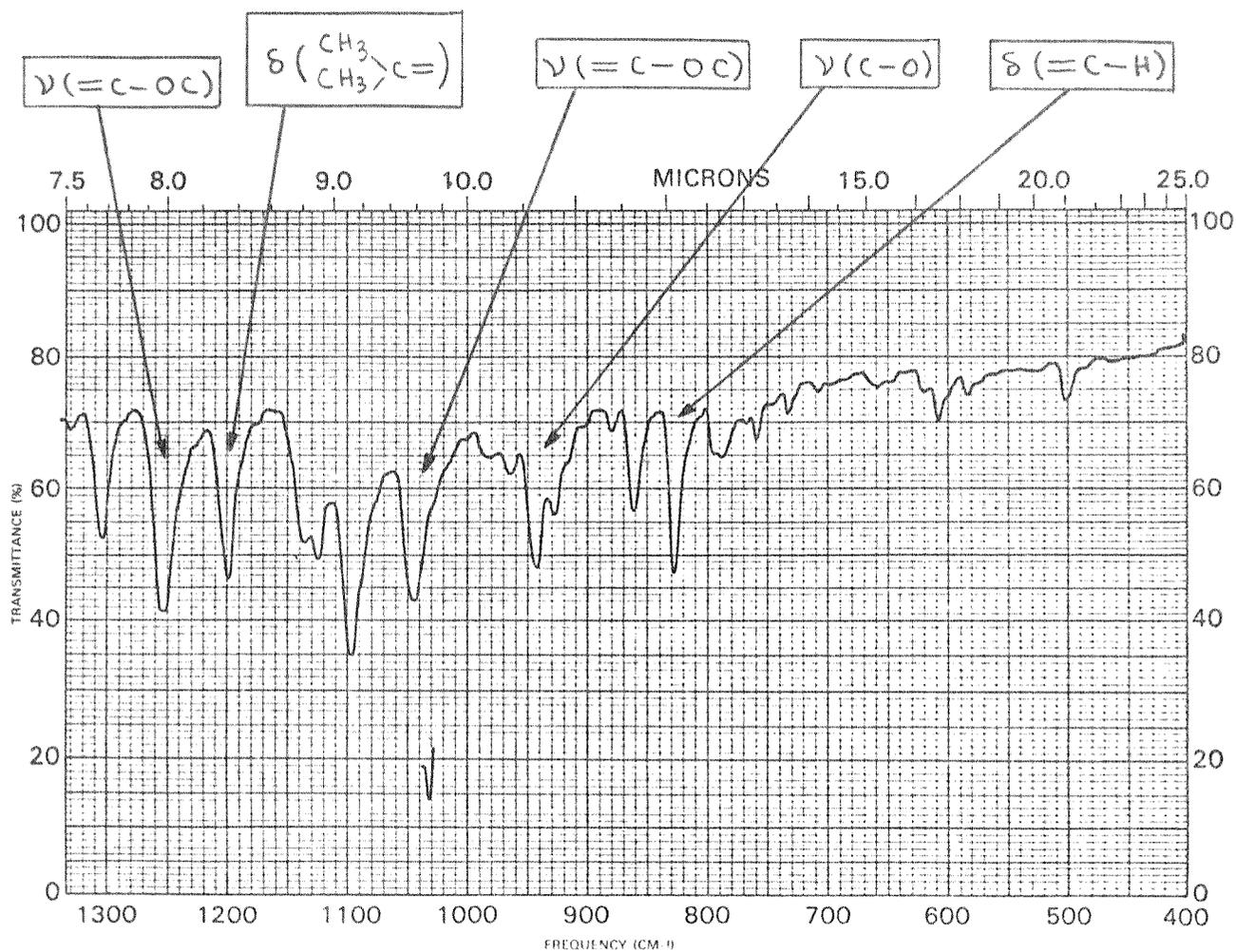
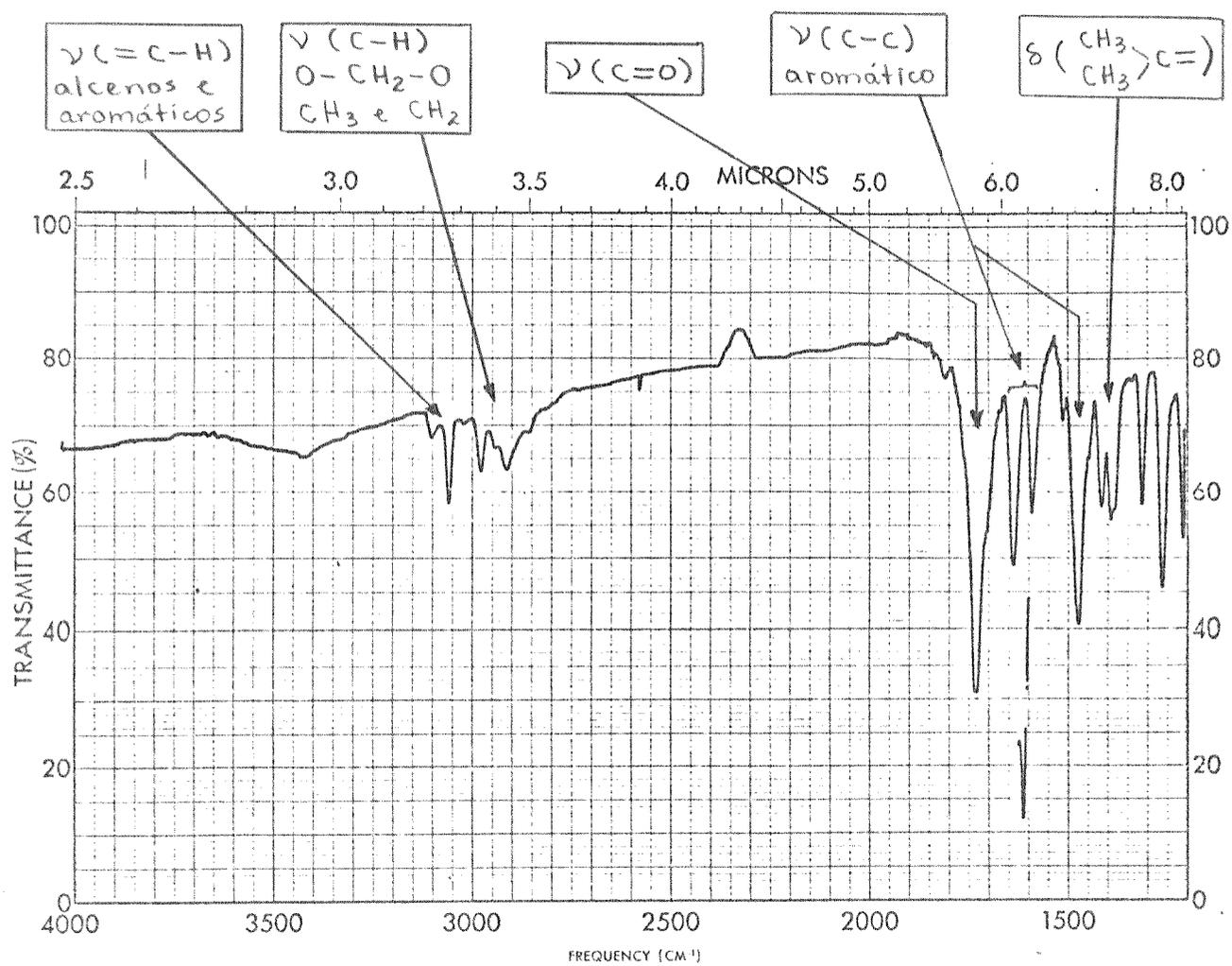
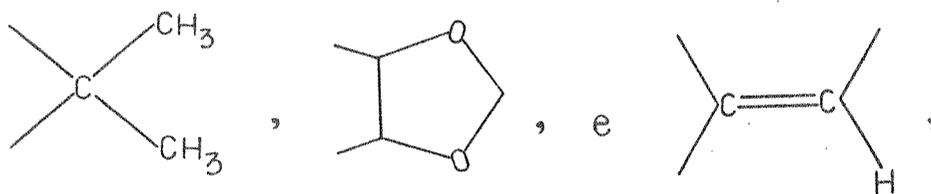


FIGURA 22: Espectro no UV do composto Pb-1.



Como resultado desta avaliação nas regiões do ultravioleta e do infravermelho, podemos sugerir para os substituintes do anel cumarínico os elementos estruturais



e para o sistema cumarínico as mesmas possibilidades trioxigenadas mostradas em Pb-2 e Pb-4.

A análise do espectro de RMN-¹H (fig. 24) permitiu atribuir a Pb-1 a estrutura de um derivado do composto Pb-2. Os dados dos deslocamentos químicos e suas atribuições aos prótons de Pb-1 são mostrados na tabela 8.

TABELA 8 - Dados de RMN-¹H do composto Pb-1

[TMS (ref. interna, $\delta = 0$); 60 MHz; valor absoluto de J em Hz]

Próton	CDCl ₃	C ₆ D ₆	Δ
3	d 6,25 (J = 10)	d 6,00 (J = 10)	0,25
4	d 8,05 (J = 10)	d 7,72 (J = 10)	0,33
8	s 6,60	s 6,36	0,24
1'	d (largo) 4,92 (J=7,0)	d (largo) 4,77 (J=7,0)	0,15
2'	t (largo) 5,55 (J=7,0)	m (largo) 5,53	0,02
4'	s 1,80	s 1,62	0,18
5'	s 1,76	s 1,52	0,24
O-CH ₂ -O	s 6,11	s 5,20	0,91

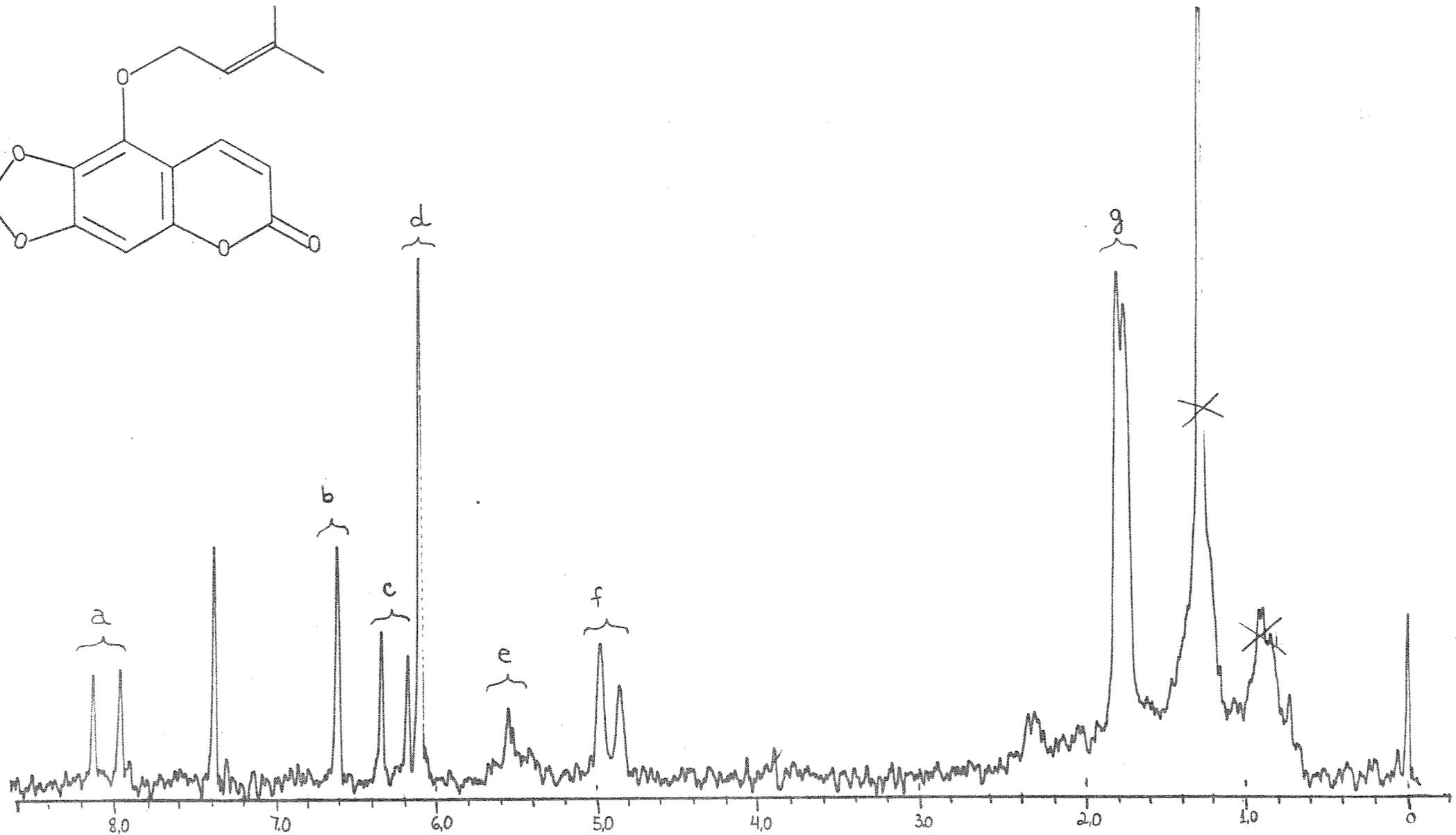
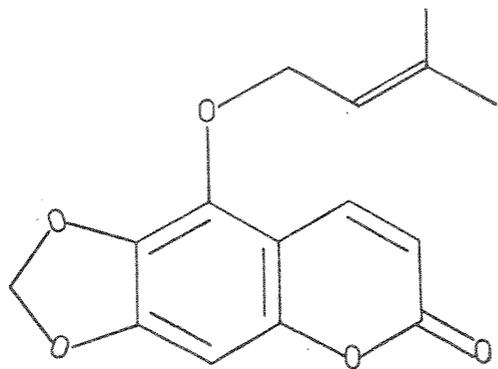
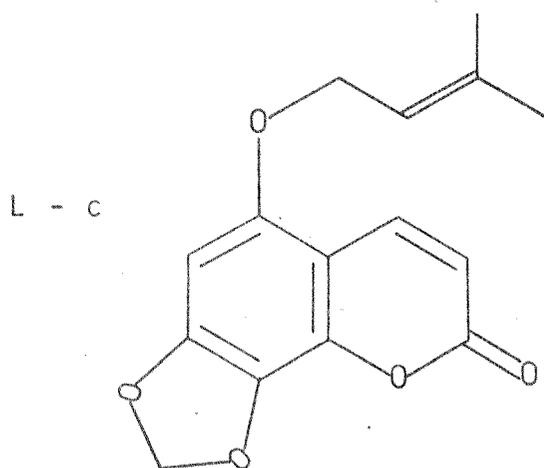
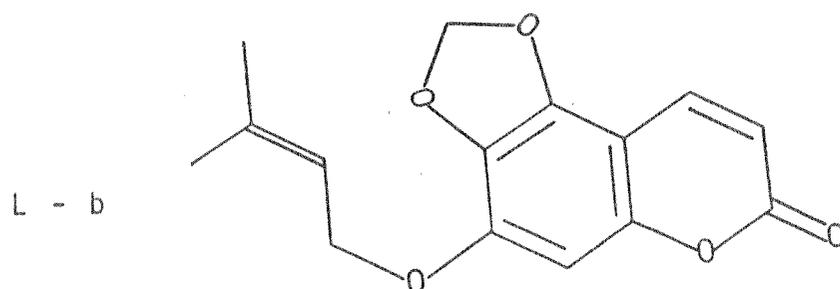
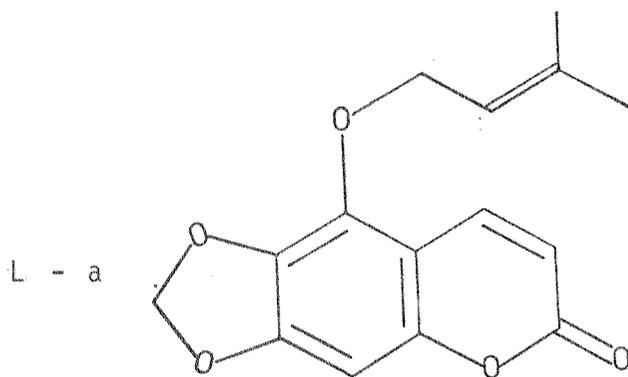


FIGURA 24: Espectro de RMN-¹H do composto Pb-1 (CDCl₃/TMS).

Os resultados do estudo de RMN-¹H fornecem-nos três estruturas possíveis:

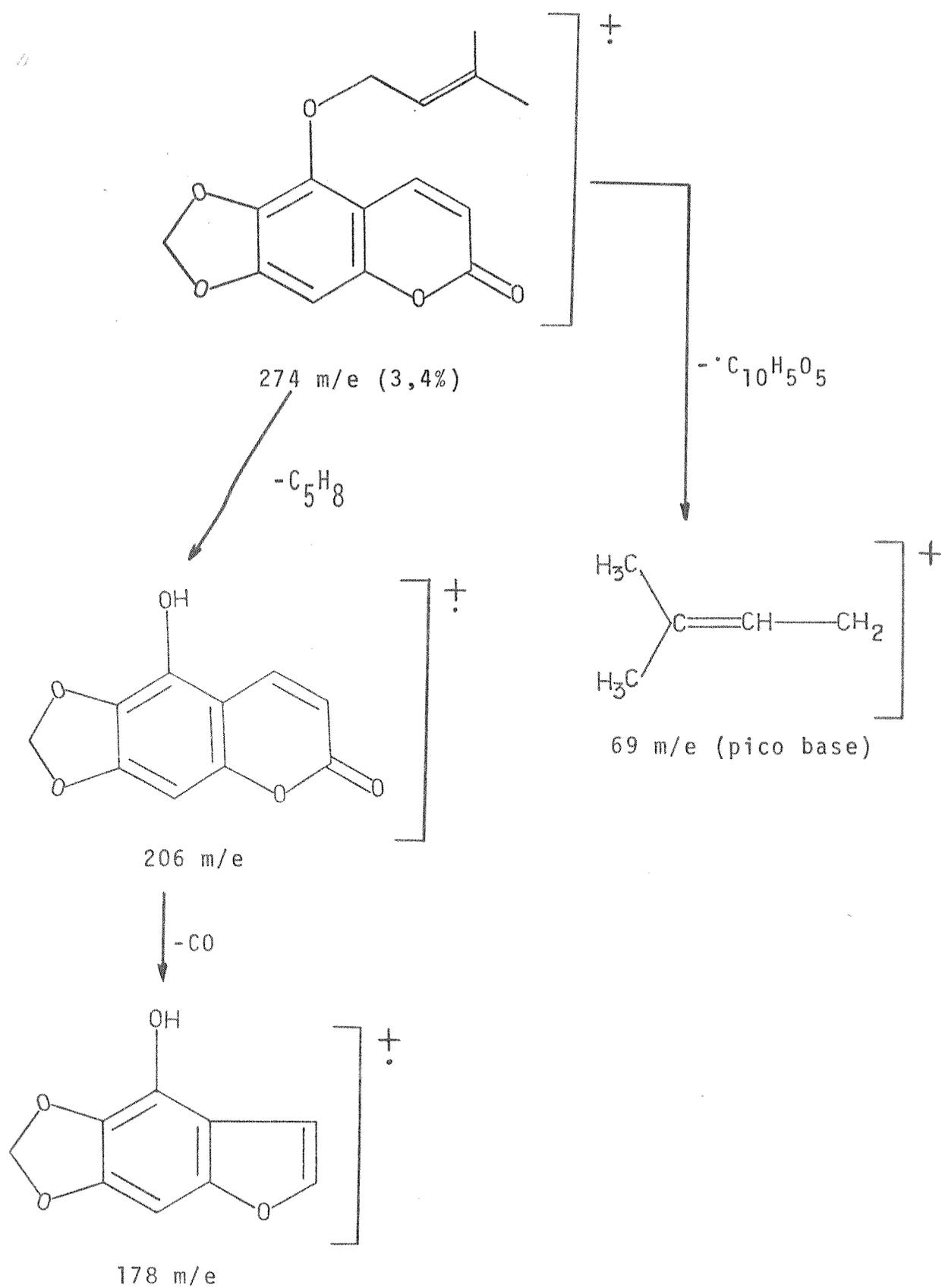


A estrutura L - c talvez possa ser descartada se considerarmos que somente as outras duas estruturas podem apresentar acoplamento a longa distância entre os prótons nas posições -8 e -4. Este acoplamento, apesar de ter uma constante de acoplamento pequena, torna os sinais envolvidos ligeiramente mais largos e conseqüentemente menores (29, 47, 48), precisamente o que nós observamos no espectro de RMN-¹H de Pb-1 para o dubleto "a" (8,05δ) e o singlete "b" (6,60δ).

As informações que pudemos extrair dos resultados ob-

tidos pela indução de deslocamento por solvente (tabela 8) também não são muito conclusivas. Os valores de Δ obtidos para os prótons em -3, e -8 e no metilenodioxí concordam razoavelmente com os valores correspondentes para o composto Pb-2 (XXVIII-a) e com os do composto de Bohlmann et al., estrutura XXVIII-b (tabela 5). Já os valores de Δ para o próton em -4 e para os prótons da cadeia lateral de Pb-1 não concordam com os de nenhum desses dois compostos. Talvez isto se deva à cadeia ser do tipo olefínico e não do tipo epóxido. Tentamos efetuar algumas reações para verificar se o composto Pb-1 seria um derivado de Pb-2, mas foram infrutíferas, a não ser pelo R_F de um produto da reação de Pb-2 com Ph_3P , que foi igual ao do composto Pb-1. Por razões biogenéticas, achamos que a cumarina 5 - (3' - metil - 2' - buteniloxi) - 6,7 - Metilenodioxí, estrutura L - a, é a mais provável para Pb-1. Mais uma vez, uma pesquisa bibliográfica indicou que se trata de um composto até o momento inédito.

O espectro de massas forneceu um íon molecular de 274 m/e, que está de acordo com a fórmula molecular ($C_{15}H_{14}O_5$) esperada. Uma proposta de fragmentação envolvendo os íons principais 274 m/e, 206 m/e, 178 m/e e 69 m/e é apresentada no quadro 6. Podemos notar o mesmo padrão de fragmentação observado para Pb-2 e Pb-4, sendo o pico base (69 m/e) a cadeia pentênica lateral.



QUADRO 6: Proposta de fragmentação do composto Pb-1.

III - PARTE EXPERIMENTAL

1. Os critérios de pureza adotados foram a nitidez do ponto de fusão e a observação de uma única mancha em cromatografia de camada delgada em diversos sistemas de solventes.

2. Os pontos de fusão foram determinados no aparelho Mettler FP-5 acoplado ao registrador de temperaturas FP-52. Estes valores não sofreram correções.

3. Os espectros de absorção na região do infravermelho foram feitos num espectrofotômetro Perkin-Elmer modelo 337 ou num Perkin-Elmer 339-B.

4. Os espectros de absorção no ultravioleta foram obtidos no espectrofotômetro modelo DMR 21 da Karl Zeiss, utilizando-se etanol como solvente.

5. Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H) foram obtidos em um espectrômetro Varian modelo T-60 e em um espectrômetro modelo XL-100 da Varian. Os deslocamentos químicos são dados em ppm, usando-se tetrametilsilano ... (TMS) como referência interna, correspondendo a $\delta = 0$, e tetracloreto de carbono, benzeno hexadeuterado ou deuteroclorofórmio como solvente. As constantes de acoplamento (J) são expressas em hertz. O sinal de cada próton é designado como: s = singleto; d = dubleto; t = tripleto; m = multipletto; ou dd = duplo dubleto.

6. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^{13}C (RMN- ^{13}C) foram registrados em um espectrômetro modelo XL-100 da Varian, à temperatura ambiente. Os deslocamentos químicos foram registrados em δ , ppm. Usamos TMS como referência interna e deuteroclorofórmio como solvente ($\delta_{\text{TMS}} = \delta_{\text{CDCl}_3} + 76,9$ ppm).

7. Os espectros de massa foram obtidos no espectrômetro de massa modelo MAT 311 a 70 eV ou Finnigan modelo 1015 S/L, tipo quadrupolar, a 20 eV.

8. Os valores de rotação ótica foram medidos em um polarímetro fotoelétrico (precisão $0,005^{\circ}$) da Karl Zeiss, com lâmpada de sódio (raia D), usando-se clorofórmio como solvente.

9. Para as cromatografias em camada delgada (0,25mm de espessura) utilizamos sílica-gel HF₂₅₄, 366 ou uma mistura 1:1 de Kieselgel G e Kieselgel GF₂₅₄, todos da Merck. A visualização dos compostos nos cromatogramas foi feita primeiramente através da irradiação de luz ultravioleta em 254 e 350 nm, seguindo-se a revelação em vapores de iodo.

10. Para as cromatografias preparativas usamos sílica-gel 60 PF₂₅₄, 366 (1,00mm de espessura) e sílica-gel H (0,75mm de espessura), ambos da Merck. A revelação dos cromatogramas foi feita através da absorção de radiação ultravioleta em 254 e 350 nm.

Descreveremos agora o isolamento dos compostos de interesse. Em seguida trataremos das reações efetuadas com eles e finalmente apresentaremos as suas constantes físicas e dados espectrais.

III-1 - COLETA DO MATERIAL E OBTENÇÃO DO EXTRATO

A amostra da espécie Pterocaulon balansae, Chodat, foi coletada em local próximo ao campus da Universidade Estadual de Campinas. Restringimos nosso estudo à parte aérea (folhas, galhos e flores) da amostra coletada, que depois de seca ao ar livre e moída (560g) foi percolada a frio numa mistura 1:2 de hexano e éter dietílico durante sete dias. A solução resultante foi concentrada à temperatura ambiente em evaporador rotativo (pressão reduzida), obtendo-se 16,7g de extrato seco.

III-2 - ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO
DAS CUMARINAS

O extrato foi submetido a cromatografia em coluna (diâmetro interno $\phi_i = 5,5\text{cm}$ e altura $H = 74,5\text{cm}$) de sílica-gel (1000g, diâmetro ϕ das partículas 0,05 - 0,20mm), iniciando-se a eluição com hexano e clorofórmio 1:1 e aumentando-se a polaridade com clorofórmio, seguido de metanol. Foram recolhidos primeiramente 900ml correspondentes ao volume morto e em seguida coletadas 276 frações de 150ml cada. As frações foram evaporadas em evaporador rotativo e reunidas conforme comparações destas em placas de cromatografia em camada delgada.

A tabela 9 registra apenas as frações contendo cumarinas. As demais frações não são registradas porque o objetivo precípua do nosso trabalho é isolar e identificar as cumarinas existentes na espécie em estudo. A presença das cumarinas foi constatada primeiramente através da observação das manchas em placa de cromatografia em camada delgada, que caracteristicamente tornam-se fluorescentes sob radiação UV (13, 14), e confirmada em seguida pelos espectros de RMN- ^1H das frações correspondentes a essas manchas.

TABELA 9 - Coluna de cromatografia do extrato bruto

Solvente	Frações reunidas	Quantidade (gramas)	Composto isolado
CHCl_3	76 - 87	0,3281	Pb-1
	102 - 110	1,9015	Pb-2
	118 - 180	0,9145	Pb-3
$\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 96:04	221 - 233	2,3660	Pb-4, Pb-5

Frações 76 - 87:

Das diversas manchas na placa de cromatografia em camada delgada, apenas uma apresentou-se muito brilhante sob radiação UV. O método empregado para isolá-la foi a cromatografia em coluna curta sob pressão de nitrogênio (68). Na coluna pronta (ϕ_i = 3,5cm, h = 14,0cm, 33,0g de Kieselgel G) foram aplicados 328mg de material e a eluição foi realizada com clorofórmio e metanol (95:05). Foram coletadas 40 frações de 10ml (v. tabela 10).

TABELA 10 - Coluna de cromatografia das frações 76 - 87
(solvente: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 95:05)

Frações reunidas	Quantidade (gramas)	Composto isolado
1 - 4	0,0049	-
5 - 10	0,0069	-
11 - 13	0,0778	-
14 - 17	0,0251	-
18 - 23	0,0275	Pb-1
24 - 26	0,0205	-
27 - 40	0,0065	-

Como as frações 18 - 23, que continham a cumarina, permaneciam impuras, resolvemos efetuar uma cromatografia em placa preparativa usando clorofórmio como solvente. Conseguimos assim isolar 15,8mg de 5 - (3' - metil - 2' - buteniloxi) - 6,7 - metil-enodioxo cumarina, denotada pela sigla Pb-1.

Frações 102 - 110:

A cromatografia em camada delgada destas frações revela, além de uma cumarina, a presença de muita substância corante. A remoção destes corantes foi feita juntando-se à reunião das frações 102 - 110 uma solução de hexano e acetona e aquecendo-se até quase ebulição. Adicionamos então carvão ativo e mantivemos o aquecimento durante uns 5 minutos, depois do que prontamente filtramos. O filtrado foi posto para recristalizar numa mistura de éter dietílico e acetona. Depois de duas recristalizações obtivemos 498mg de 5 - (2', 3' - epoxi - 3' - metilbutiloxi - 6,7 - metilenodioxycumarina, denotada por Pb-2.

Frações 118 - 180:

A impurificação destas frações era basicamente de substâncias corantes, porém em proporção inferior à das frações 102 - 110, sugerindo a recristalização como técnica de purificação. Desta forma, apenas foi necessário solubilizar a amostra em hexano a quente, adicionar um pouco de acetona até completar a solubilização, e deixar em repouso a solução resultante. Os cristais assim formados foram submetidos a mais duas recristalizações, das quais resultaram 750mg do composto Pb-3, a 6 - metoxi - 7 (2', 3' - epoxi - 3' - metilbutiloxi) cumarina.

Frações 221 - 233:

A cromatografia em camada delgada destas frações revelou a presença de duas manchas fluorescentes, impurificadas mais uma vez por bastante substância corante. Aplicamos cerca de 500mg das frações 221-233 em seis placas preparativas de sílica-gel e, eluindo com benzeno e acetato de etila (40:60), separamos duas cu-

marinas, que foram submetidas a mais uma purificação em placa preparativa (usando-se o mesmo eluente), que resultou em 0,0588g de 5 - (2', 3' - dihidroxi - 3' - metilbutiloxi) - 6,7 - metilenodioxycumarina (Pb-4) e 0,0227g de 6 - metoxi - 7 - (3' - metil - 2', 3' - dihidroxibutiloxi)-cumarina (Pb-5).

III-3 - REAÇÕES QUÍMICAS EFETUADAS

III-3-A - Redução do epóxido de Pb-3 com o par zinco/cobre (69)

Dissolvemos o composto Pb-3 (138mg = 0,5mmol) em etanol (50ml), adicionamos o par zinco/cobre (29mg) (preparado a partir de zinco em pó (70)) e aquecemos sob refluxo durante 4 dias. A reação foi acompanhada através de cromatografia em camada delgada e verificamos que ela praticamente não se processou. Assim mesmo removemos o catalisador por filtração sobre celite e concentramos a solução em evaporador rotativo, obtendo uma mistura seca (135mg). Fizemos uma cromatografia desta mistura em coluna curta sob pressão de nitrogênio (clorofórmio, 85,3g de Kieselgel G) e recuperamos o reagente inicial Pb-3 (cerca de 120mg).

III-3-B - Redução do epóxido de Pb-2 com trifenilfosfina (71)

Pusemos Pb-2 (127mg = 0,44mmol) para reagir com o seu equivalente molar de Ph_3P (116mg) em etanol seco sob refluxo a

80°C e atmosfera inerte. Deixamos reagindo durante 10 dias consecutivos. O rendimento obtido foi tão baixo que não pudemos isolar e identificar os possíveis três produtos visualizados em cromatografia de camada delgada. Um deles possuía o mesmo R_F em diversos sistemas de solvente do composto Pb-1, que era nosso produto-objetivo. Repetimos esta mesma reação mas os resultados não se modificaram.

III-3-C - Clivagem ácida do epóxido de Pb-2 (72)

Ao composto Pb-2 (70mg = 0,24mmol) dissolvido em tetrahydrofurano (8ml) foi adicionado ácido sulfúrico 1M (1,5ml) com agitação magnética, à temperatura ambiente. A mistura reagiu durante doze horas, depois das quais foi jogada em água com gelo e neutralizada com bicarbonato de sódio a 10%. Em seguida extraímos a fase orgânica com clorofórmio, removemos o restante da água com sulfato de sódio e evaporamos até obter uma pasta seca. Aplicamos essa pasta em placa de cromatografia preparativa e eluindo com benzeno/acetato de etila 1:2, isolamos o composto posteriormente identificado como 5 - (2', 3' - dihidroxi - 3' - metilbutiloxi) - 6,7 - metilenodioxycumarina. Devido a um acidente de trabalho, o rendimento obtido foi menor do que poderíamos esperar. (15mg = 0,048mmol). O ponto de fusão foi 163,5 - 164,5 °C. Os sinais de RMN-¹H coincidiram com os de Pb-4.

III-3-D - Hidrólise ácida de Pb-3 (9)

Dissolvemos Pb-3 (150mg = 0,54mmol) em uma mistura

de ácido acético glacial (6ml) e ácido sulfúrico concentrado (6ml). A mistura de reação foi aquecida em um banho de água a 80°C durante 45 minutos, resfriada até temperatura ambiente e vertida sobre gelo picado. Adicionamos éter dietílico e extraímos Pb-3a (31mg = 0,16mmol), que os dados de RMN-¹H indicam tratar-se da escopoletina, estrutura V (41). RMN-¹H (acetona-d₆): 7,7δ (2H, d, J = 9,5 Hz); 7,0δ (1H, s); 6,8δ (1H, s); 6,2δ (2H, d, J = 9,5 Hz); 3,9δ (3H, s).

III-3-E - Clivagem ácida do epóxido de Pb-3 (72)

Dissolvemos o composto Pb-3 (80mg = 0,29mmol) em tetrahydrofurano (7,5ml), adicionamos ácido sulfúrico 1M (1,5ml) e pusemos para reagir com agitação magnética durante 22 horas à temperatura ambiente. O procedimento que se seguiu foi o mesmo empregado na clivagem do epóxido de Pb-2 (item C). A mistura reagente resultante foi colocada em placa preparativa, isolando-se um composto (47mg = 0,16mmol) identificado como a 6 - metoxi - 7 - (3' - metil - 2', 3' - dihidroxibutiloxi) - cumarina. p. f. = 144^o - 145^oC; IV_{KBr} (cm⁻¹): 3370, 1720, 1625, 1565; RMN-¹H (CDCl₃): 7,7δ (1H, d, J = 10 Hz); 6,9δ (2H, s); 6,4δ (1H, d, J = 10 Hz); 4,4δ (1H, dd, J = -10 + 3 Hz); 4,3δ (1H, dd, J = -10 + 6 Hz); 3,90 (1H, m); 3,97δ (3H, s); 1,37δ (3H, s); 1,33δ (3H, s).

III-4 - DADOS ESPECTRAIS E CONSTANTES FÍSICAS

Pb-1: 5 - (3' - metil - 2' - buteniloxi) - 6,7 - metilenodioxycumarina

C₁₅ H₁₄ O₅ (encontrado: C, 65,69; H, 5,14; Calculado: C, 65,37; H, 5,34).

p.f. 129⁰ - 130⁰C (crist. em ēter de petrōleo/EtOH).

UV, $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, nm (log ϵ): 313,0 (3,93), 258,4 (ombro: 3,62), 232,8 (ombro: 3,99), 211,0 (4,38).

IV, ν_{\max} (cm⁻¹): 1725, 1625, 1575, 1410, 1390, 1250, 938.

RMN-¹H, CDCl₃, δ (ppm) = 1,76 (3H, s); 1,80 (3H, s); 4,92 (2H, d largo, J = 7 Hz); 5,55 (1H, t largo, J = 7 Hz); 6,11 (2H, s); 6,25 (1H, d, J = 10 Hz); 6,60 (1H, s); 8,05 (1H, d, J = 10 Hz).

EM, m/e (%): 274-M⁺; 206 (64); 178 (31); 69 (100); 41 (68).

Pb-2: 5 - (2', 3' - epoxi - 3' - metilbutiloxi) - 6,7 - metilenodioxicumarina

p. f. 108⁰ - 109⁰C (crist. em Et₂O/acetona).

$[\alpha]_{\text{D}}$ = -5,6⁰ (CHCl₃; 0,0161g/ml).

UV, $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, nm (log ϵ): 337,2 (ombro: 3,91); 312,0 (3,96); 258,2 (ombro: 3,59), 236,4 (4,01); 208,9 (4,43).

IV, ν_{\max} (cm⁻¹): 1720, 1625, 1580, 1400, 1380, 1250, 938, 865.

RMN-¹H, CDCl₃, δ (ppm): 1,36 (3H, s), 1,40 (3H, s); 3,18 (1H, m, J = 4 + 6 Hz); 4,45 (1H, dd, J = -12 + 6 Hz); 4,61 (1H, dd, J = -12 + 4 Hz); 6,11 (2H, s); 6,27 (1H, d, J = 10 Hz); 6,60 (1H, s); 8,10 (1H, d, J = 10 Hz).

EM, m/e (%): 290 - M⁺ (54); 206 (29); 178 (7,5); 161 (2,1); 147 (6,5); 85 (100); 59 (84,6).

RMN-¹³C, CDCl₃, δ (ppm): 18,8 (CH₃); 24,4 (CH₃); 57,8 (C); 60,9 (CH); 71,0 (CH₂); 92,4 (CH); 101,7 (CH₂); 106,5 (C); 111,5 (CH); 131,7 (C); 136,3 (C); 138,5 (CH); 151,0 (C); 152,1 (C); 160,7 (C).

Pb-3: 6 - metoxi - 7 - (2', 3' - epoxi - 3 - metil-butiloxi)cumarina

p. f. 125⁰ - 126⁰C (crist. em hexano/acetona);
lit. (9): 125⁰C - éter de petróleo/Et₂O.

[α]_D = -3,60⁰ (0,065g/ml); lit.(9): [α]_D = -8,0
(C = 0,85).

UV, $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, nm (log ϵ): 343,0 (4,07); 293,5 (3,83);
258,6 (ombro: 3,79); 250,0 (ombro: 3,85); 229,2 (4,31).

IV, ν_{\max} (cm⁻¹): 1715, 1675, 1610, 1560, 1240, 1190,
850.

RMN-¹H, CDCl₃, δ (ppm): 1,45 (6H, s largo); 3,20
(1H; m, J = 4,5 + 6 Hz); 4,00 (2H, s); 4,20 (1H, dd, J = -12 + 6
Hz); 4,33 (1H, dd; J = -12 + 4,5 Hz); 6,37 (1H, d, J = 10 Hz); 6,98
(1H, s); 7,03 (1H, s); 7,72 (1H, d, J = 10 Hz).

EM, m/e (%): 276 - M⁺ (33); 192 (36); 177 (9,1); 85
(100); 149(4,5); 59 (80).

RMN-¹³C, CDCl₃, δ (ppm): 18,7 (CH₃); 24,2 (CH₃);
55,9 (OCH₃); 57,8 (c); 60,4 (CH); 68,1 (CH₂); 101,0 (CH); 108,2
(CH); 111,4 (C); 113,0 (CH); 142,0 (CH); 146,0 (c); 149,1 (C);
151,2 (C); 160,6 (C).

Pb-4: 5 - (2', 3' - dihidroxi - 3' - metilbutil-oxi) - 6,7 - metilenodioxycumarina

p. f. 162⁰ - 163⁰C (crist. em Et₂O/acetona).

[α]_D = -12,5⁰ (0,0064 g/ml)

UV, $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, nm (log ϵ): 340,0 (ombro: 3,57); 315,0
(3,65); 260,0 (ombro: 3,18); 238,0 (3,58); 203,0 (4,02).

IV, ν_{\max} (cm⁻¹): 3370, 1690, 1630, 1575, 1250, 938.

RMN-¹H, CDCl₃, δ (ppm): 1,28 (3H, s); 1,34 (3H, s);
2,16 (1H, m); 2,80 (1H, m); 3,84 (1H, m, J = 2,7 + 7,4 Hz); 4,38
(1H, dd, J = -10,2 + 7,4 Hz); 4,60 (1H, dd, J = -10,2 + 2,7 Hz) ;
6,06 (2H, s); 6,18 (1H, d, J = 10,0 Hz); 6,59 (1H, s); 7,98 (1H,
d, J = 10,0 Hz).

EM, m/e (%): 308 - M⁺ (0,3); 206 (8,3); 178 (58,6); 103 (0,5); 85 (24,2); 59 (100).

Pb-5: 6 - metoxi - 7 - (3' - metil - 2', 3' - di-
hidroxibutiloxi)cumarina

p. f. 141⁰ - 142⁰C (CHCl₃/MeOH); lit. (9): oleo.

[α]_D = +9,2⁰ (0,0119 g/ml)

UV, λ_{max}^{EtOH}, nm (log ε): 343,5 (3,94); 294,0 (3,63); 270,0 (min., 3,59); 257,0 (ombro: 3,56); 252,0 (ombro: 3,61); 239,0 (4,41); 207,0 (4,06).

IV, ν_{max} (cm⁻¹): 3525, 1720, 1610, 1560.

RMN-¹H, CDCl₃, δ (ppm): 1,33 (3H, s); 1,37 (3H, s); 3,90 (1H, m); 3,97 (3H, s); 4,25 (1H, dd, J = -10 + 6 Hz); 4,35 (1H, dd, J = -10 + 3 Hz); 6,37 (1H, d, J = 10 Hz); 6,81 (2H, s largo); 7,73 (1H, d, J = 10 Hz).

EM, m/e (%): 294 - M⁺ (2,5); 192 (100); 177 (37).

IV - BIBLIOGRAFIA

- 1 - ERDTMAN, H. G. H. (1969), Perspectives in Molecular Taxonomy, em "Perspectives in Phytochemistry", ed. Harborne, J. B. e Swain, T., pp. 107 - 120, Academic Press, London.
- 2 - ERDTMAN, H. G. H. (1968), Chemical Principles in Chemosystematics, em "Recent Advances in Phytochemistry". ed. Marbry, T. J., pp. 13 - 56. Appleton Century-Crofts, New York.
- 3 - SØRENSEN, N. A. (1968), The Taxonomic Significance of Acetylenic Compounds, em "Recent Advances in Phytochemistry", ed. Marbry, T. J., pp. 187 - 227, Appleton Century-Crofts, New York.
- 4 - HEGNAUER, R. (1977), The Chemistry of Compositae, em "The Biology and Chemistry of the Compositae", ed. Harborne, J. B., Turner, B. L. e Heywood, V. H., pp. 283 - 335, Academic Press, London.
- 5 - MARBRY, T. J. e Bohlmann, F. (1977), Summary of the Chemistry of the Compositae, em "The Biology and Chemistry of the Compositae", ed. Harborne, J. B., Turner, B. L. e Heywood, V. H., pp. 1097 - 1104, Academic Press, London.
- 6 - MERXMULLER, H., Leins, P. e Roessler, H. (1977), Inuleae - Systematic Review, em "The Biology and Chemistry of the Compositae", ed. Harborne, J. B., Turner, B. L. e Heywood, V. H., pp. 577 - 602, Academic Press, London.
- 7 - HARBORNE, J. B. (1977), Inuleae - Chemical Review, em "The Biology and Chemistry of the Compositae", ed. Harborne, J. B., Turner, B. L. e Heywood, V. H., pp. 603 - 619, Academic Press, London.
- 8 - MURRAY, R. D. H. (1978), Naturally Occurring Plant Coumarins, em "Progress in the Chemistry of Natural Products", 35, ed. Herz, W., Grisebahr, H. e Kirby, G. W., pp. 199 - 429, Sprin-

- 9 - BOHLMANN, F. e Jakupovic, J. (1979), *Phytochem.* 18, 1367.
- 10 - BOHLMANN, F. e Franke, H. (1973), *Phytochem.* 12, 726.
- 11 - JOHNS, S. R., Lamberton, J. A., Price, J. R. e Sioumis, A. A. (1968), *Aust. J. Chem.* 21, 3079.
- 12 - ABERNETHY, J. L. (1969), *J. Chem. Ed.* 46, 561
- 13 - SOINE, T. O. (1964), *J. Pharm. Sci.* 53, 231.
- 14 - DEAN, F. M. (1963), *Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds*, pp. 176 - 219, Butterworths, London.
- 15 - GONZÁLEZ, A. G., Barroso, J. T., Dorta, H. L., Luis, J. R. e Luis, F. R. (1978), *Anales de Quimica* 74, 979.
- 16 - GOODWIN, R. H. e Pollock, B. M. (1954), *Arch. Biochem. Biophys.* 49, 1.
- 17 - STANLEY, W. L., Weiss, A. C., Jr., Lundin, R. E. e Vannier, S. H. (1965), *Tet.* 21, 89.
- 18 - NAKANISHI, K. e Solomon, P. H. (1977), *Infrared Absorption Spectroscopy*, 2ª ed., Holden-Day, San Francisco.
- 19 - BRIGGS, L. H., Colebrook, L. D., Fales, H. M. e Wildman, W. C. (1957), *Anal. Chem.* 29 (6), 904.
- 20 - AVRAM, M. e Mateescu, G. H. D. (1972), *Infrared Spectroscopy*, Wiley-Interscience, Bucarest.
- 21 - BOMSTEIN, J. (1958), *Anal. Chem.* 30 (4), 544.
- 22 - PATTERSON, W. A. (1954), *Anal. Chem.* 26 (5), 823.
- 23 - BELLAMY, L. J. (1958), *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, 2ª ed., Wiley, New York.
- 24 - FISHER, J. F. e Nordby, H. E. (1966), *Tet.* 22, 1489.

- 25 - PEREL'SON, M. E., Scheinker, Yu. N., Syrova, G. P. e Turchin, K. F. (1970), Khym. Prirod. Soed. 6 (1), 6.
- 26 - DEAN, F. M., Costa, A. M. B. S. R. C. S., Harborne, J. B. e Smith, D. M. (1978), Phytochem. 17, 505.
- 27 - GONZÁLEZ, A. G., Estévez, R. e Jaraiz, I. (1971), Phytochem. 10, 1621.
- 28 - GONZÁLEZ, A. G., Chico, E. D., Dorta, H. L., Medina, J. M. e Luis, F. R. (1976), Anales de Quimica 72, 191.
- 29 - BOHLMANN, F., Grenz, M. e Zdero, C. (1975), Chem. Ber. 108, 2955.
- 30 - WILLIAMS, D. H. e Fleming, I. (1966), Spectroscopic Methods in Organic Chemistry, pp. 77 - 129, McGraw-Hill, London.
- 31 - KUZNETSOVA, G. A., Ayshev, A. Z., Perel'son, M. E., Scheinker, Yu. N. e Per, G. Yu. (1966), Khym. Prirod. Soedin. 2 (5), 310.
- 32 - GASHIMOV, N. F. e Kuznetsova, G. A. (1974), Khym. Prirod. Soedin, (3), 303.
- 33 - AUSTIN, P. W., Seshadri, T. R., Sood, M. S. e Vishwapaul, S. (1968), Tet. 24, 3247.
- 34 - SAIKI, Y., Uchida, M., Okegawa, O. e Fukushima, S. (1974), Chem. Pharm. Bull. 22, (6), 1227.
- 35 - BOHLMANN, F., Rao V. S. e Grenz, M. (1968), Tet. Lett., 3947.
- 36 - VUL'FSON, N. S. e Golovkina, L. S. (1975), Russ. Chem. Rev. 44 (7), 603.
- 37 - SZYMANSKI, H. A. (1967), Interpreted Infrared Spectra, V. 3. Plenum Press, New York.
- 38 - BREDEBERG, J. B. e Shoolery, J. N. (1961), Tet. Lett., 285.

- 39 - GRIGG, R., Knight, J. A. e Roffey, P. (1966), Tet. 22, 3301.
- 40 - BROWN, D., Asplund, R. O. e Mc Mahon, V. A. (1974), Phytochem. 13, 1923.
- 41 - HERZ, W., Bhat, S. V. e Santhanam, P. S. (1970), Phytochem. 9, 891.
- 42 - WAGNER, H., Bladt, S., Abraham, D. J. e Lotter, H. (1974), Tet. Lett. 43, 3087.
- 43 - WAGNER, H. e Bladt, S. (1975), Phytochem. 14, 2061.
- 44 - JENSEN, S. R. e Nielsen, B. J. (1976), Phytochem. 15, 221.
- 45 - ABYSHEV, A. Z. (1974), Khym. Prirod. Soedin. 5, 568.
- 46 - PEREL'SON, E. M., Sheinker, Yu. N. e Wyrova, G. P. (1971), Khim. Prirod. Soedin. 7, 576.
- 47 - JARVIS, M. W. e Moritz, A. G. (1968), Aust. J. Chem. 21, 2445.
- 48 - ABRAHAM, P. J. e Loftus, P. (1979), Proton and Carbon - 13 NMR Spectroscopy, p. 49, Heyden, London.
- 49 - BANERJEE, S. K., Gupta, B. D., Kumar, R. e Atal, C. K. (1980), Phytochem. 19, 281.
- 50 - BUDZIKIEWICZ, H. Djerassi, C. e Williams, D. H. (1974), Structure Elucidation of Natural Products, pp. 275 - 276, Holden-Day, San Francisco.
- 51 - WILLHALM, B., Thomas, A. F. e Gautschi, F. (1964), Tet. 20, 1185.
- 52 - BREITMAIER, E. e Voelter, N. (1974), Carbon-13 NMR Spectroscopy, V. 5, pp. 69 - 117, Verlag-Chemie, Berlin.
- 53 - LAPPER, R. D. (1974), Tet. Lett., 4293.

- 54 - LEVY, G. C. e Nelson, G. L. (1972), Carbon-13 NMR for Organic Chemists, pp. 1 - 30, Wiley - Interscience, New York.
- 55 - CUSSANS, N. J. e Huckerby, T. N. (1975), Tet. 31, 2591.
- 56 - CUSSANS, N. J. e Huckerby, T. N. (1975), Tet. 31, 2587.
- 57 - GUNTHER, H., Prestien, J. e Joseph-Natan, P. (1975), Organic Magnetic Resonance 7, 339.
- 58 - CHANG, C., Floss, H. G. e Steck, W. (1977), J. Org. Chem. 42 (8), 1337.
- 59 - MITRA, A. K., Patra, A. e Ghosh, A. (1979), Indian J. Chem. 17B, 385.
- 60 - BERGENTHAL, D., R̄osza, Z., Mester, I. e Reisch, J. (1978), Arch. Pharm. 311, 1026.
- 61 - CUSSANS, N. J. e Huckerby, T. N. (1975), Tet. 31, 2719.
- 62 - 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. (1976), Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Naturally Occurring Substances, em "Topics in Carbon-13 NMR Spectroscopy", ed. Levy, G. C., pp. 81 - 119, Wiley, New York.
- 63 - PATRA, A., Mukhopadhyay, A. K., Ghosh, A. e Mitra, A. K. (1979), Indian J. Chem. 17B, 385.
- 64 - GOLAPAKRISHNA, E. M., Watson, W. H., Bittner, M. e Silva, M. (1977), J. Cryst. Mol. Struct. 7, 107.
- 65 - Deslocamentos quīmicos de RMN-¹³C atribuїdos a partir de espectro gentilmente fornecido por Rosa T. Frighetto.
- 66 - FONSECA, S. F., Nielsen, L. T. e Rūveda, E. (1979), Phytochem 18, 1703.
- 67 - GONZÁLEZ, A. G., Estēvez, R., Arencibia, J. B. e Pērez, T. R. (1973), Anales de Quimica 69, 1141.

- 68 - HUNT, B. J. e Rigby, W. (1967), Chem. & Ind., november.
- 69 - KUPCHAN, S. M. e Maruyama, M. (1971), J. Org. Chem. 36
(9), 1187.
- 70 - FIESER, L. F. e Fieser, M. (1967), Reagents for Organic Synthesis, pp. 1292 - 1293, Wiley, New York.
- 71 - SPEZIALE, A. J. e Bissing, D. E. (1963), J. Am. Chem. Soc. 85, 3878.
- 72 - LUNNON, M. W. e Mc Millan, J. (1977), J. C. S. Perkin I, 2317.