



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

ESTUDO FITOQUÍMICO DAS FOLHAS DE VIOLA
SURINAMENSIS E OSTEOPHLOEUM PLATYSPERMUM

Marçal de Queiroz Paulo

Tese de Mestrado

1983

Orientador: Prof. Dr. Lauro Euclides Soares Barata

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Aos meus irmãos:

Emerson e Marcelo,

sempre presentes...

A G R A D E C I M E N T O S

O autor deseja expressar seu reconhecimento:

Ao Prof. Dr. Lauro Euclides S. Barata pela orientação e amizade.

À Direção do Instituto de Química da Unicamp e ao Departamento de Química da UFPb, pelas facilidades proporcionadas para que este trabalho pudesse ser realizado.

À Prof^a. Dra. Anita J. Marsaioli pela disponibilidade na obtenção dos espectros de RMN-¹³C.

Aos Professores Roberto Siqueira Camargo e Dra. Concetta Kascheres pela obtenção dos espectros de massa.

Ao Prof. Dr. Sebastião F. Fonseca pela amizade e colaboração.

À Dirce Koga pela obtenção de vários espectros de infravermelho.

Aos funcionários, em especial a Eduardo e Dna. Nena pela colaboração durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Taka pela dedicação e esmero no trabalho de datilografia.

Aos colegas: Angela, Rosa, Antonio, Everaldo, Denise, Lourivaldo, Patricia, Marília, Cris, Paulo, Lucia, Roberto e Mirtis, pelo apoio e convivência agradável.

À Carmen, Emerson, Janaína e Marcos Marçal pelo amor, apoio, ajuda, compreensão ...

Aos meus pais e irmãos pelo incentivo durante a realização do trabalho.

Í N D I C E

	<u>Pág.</u>
RESUMO	i
SUMMARY	ii
SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	iii
CAPÍTULO 1 -	1
1.1 - INTRODUÇÃO	2
1.2 - CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <u>VIROLA</u>	3
1.3 - CONSTITUINTES QUÍMICOS DE <u>OSTEOPHLOEUM</u>	4
1.4 - BIOSÍNTESE DE FLAVONÓIDES	13
CAPÍTULO 2 - CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE <u>VIROLA SU</u> <u>RINAMENSIS</u>	17
2.1 - PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS EXTRA- TOS CLOROFÓRMICO , ETANÓLICO E METANÓLICO DAS FOLHAS DE <u>VIROLA SURINAMENSIS</u>	18
COMPOSTO VS-1 (β -SITOSTEROL)	18
COMPOSTO VS-2 (ELEMICINA)	18
COMPOSTO VS-3 (VERAGUENSINA)	18
COMPOSTO VS-5 (GALBACINA)	18
COMPOSTO VS-6 (GALBELGINA)	19
COMPOSTO VS-4 (ÉTER DIMETÍLICO DO PINORESINOL)	24
COMPOSTO VS-10 (7,3',4'-TRIMETOXI FLAVONA) ..	29
COMPOSTO VS-11 (TITONINA)	33

CAPÍTULO 3 - CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE O. PLATYS
PERMUM 42

3.1 - PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS
DE O. PLATYSPERMUM 43

COMPOSTO OP-1 (ESPATULENOL) 43

COMPOSTO OP-2 (δ -CADINOL) 46

COMPOSTO OP-3 (-)Ácido(-)Kauran-16-en-19-ôico 49

COMPOSTO OP-4 ((-) Kauran-16-en-19-al) 51

COMPOSTO OP-5 (Eperu-13-en(8(β)18-diol) 54

COMPOSTO OP-6 (Eperu-8(20),13-dien-13(β),15-
diol 58

CAPÍTULO 4 - ANÁLISE CONFORMACIONAL 65

4.1 - ESTUDO CONFORMACIONAL DO (+) δ -CADINOL EN SO
LUÇÃO 67

CAPÍTULO 5 - ATIVIDADE BACTERIANA 82

5.1 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS E SUBS
TÂNCIAS ISOLADAS DE MYRISTICACEAE 83

CAPÍTULO 6 - EXPERIMENTAL 87

6.1 - MATERIAIS E MÉTODOS 88

6.2 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DAS FOLHAS DE
VIROLA SURINAMENSIS 89

6.2.1 - COLETA DO MATERIAL 89

6.2.2 - OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE VIROLA
SURINAMENSIS 89

6.2.3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES 93

6.2.4 - ISOLAMENTOS DE ALGUNS CONSTITUINTES ATRA-
VÉS DE MÉTODO ALTERNATIVO 95

	<u>Pág.</u>
6.3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DAS FOLHAS DE OSTEOPHLOEUM PLATYSPERMUM	99
6.3.1 - COLETA DE MATERIAL	99
6.3.2 - OBTENÇÃO DO EXTRATO	99
6.3.3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES	100
6.4 - DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DOS CONSTI TUENTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE <u>V. SURINAMEN</u> <u>SIS</u> E DE SEUS DERIVADOS	103
6.5 - DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DOS CONSTI TUENTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE <u>O. PLATYSPER</u> <u>MUM</u> E DE SEUS DERIVADOS	106
CONCLUSÕES	111
BIBLIOGRAFIA	112

ÍNDICE DE ESPECTRO

	<u>Pág.</u>
E-01 - RMN- ¹ H da galbelgina	113
E-02 - RMN- ¹³ C da galbelgina	113
E-03 - IV da galbelgina	114
E-04 - IV do éter dimetílico do pinoresinol	114
E-05 - UV da galbelgina	115
E-06 - UV do éter dimetílico do pinoresinol	115
E-07 - EM da galbelgina	116
E-08 - EM do éter dimetílico do pinoresinol	116
E-09 - RMN- ¹ H do éter dimetílico do pinoresinol	117
E-10 - RMN- ¹ H da 7,3',4'-Trimetoxiflavona	117
E-11 - IV da 7,3',4'-Trimetoxiflavona	118
E-12 - IV de 3'-Ac-7,4'-Dimetoxiflavona	118
E-13 - EM da 3'-OH, 7,4'-Dimetoxiflavona	119
E-14 - EM da 7,3',4'-Trimetoxiflavona	119
E-15 - UV de 7,3',4'-Trimetoxiflavona	120
E-16 - UV de 3'-OH,7,4'-Dimetoxiflavona	120
E-17 - IV de 3'-OH,7,4'-Dimetoxiflavona	121
E-18 - RMN- ¹ H de 3'-OH,7,4'-Dimetoxiflavona	122
E-19 - RMN- ¹ H de 3'-Ac,7,4'-Dimetoxiflavona	122
E-20 - EM de 3'-Ac,7,4'-Dimetoxiflavona	123
E-21 - EM de 3OH,7,4'-Dimetoxiflavona	123
E-22 - RMN- ¹ H de Espatulenol	124
E-23 - RMN- ¹³ C de Espatulenol	124
E-24 - IV do Espatulenol.....	125
E-25 - IV do δ-cadinol	125
E-26 - EM do Espatulenol	126

E-27 -	EM do δ -cadinol	126
E-28 -	RMN- ^1H do δ -cadinol	127
E-29 -	RMN- ^{13}C do δ -cadinol	127
E-30 -	RMN- ^1H do Ácido(-)kauran-16-en-19-óico	128
E-31a -	RMN- ^1H do éster do ácido(-)kauran-16-en-19-óico ...	128
E-31b -	IV do (-) kauran-16-en-19-al	129
E-32 -	UV do éster do ácido(-)kauran-16-en-19-óico	129
E-33 -	EM de (-)kauran-16-en-19-ol	130
E-34 -	EM do ácido (-) kauran-16-in-19-óico	130
E-35 -	EM do éster do ácido (-) kauran-16-en-19-óico	131
E-36 -	RMN- ^1H do ácido (-) kauran-16-em-19-óico	131
E-37 -	IV de (-) kauran-16-en-19-ol	132
E-38 -	IV de (-) kauran-16-en-19-al	132
E-39 -	RMN- ^1H de (-) Eperu-13-en-8(β),15-diol	133
E-40 -	RMN- ^1H de (-) Eperu-13-en-15-acetoxi-8(β)-ol	133
E-41 -	IV de (-) Eperu-13-en-15-acetoxi-8(β)-ol	134
E-42 -	IV de (-) Eperu-13-en-8(β),15-diol	134
E-43 -	EM de (-) Eperu-13-en-16-acetoxi-8(β)-ol	135
E-44 -	EM de (-) Eperu-13-en-8(β),15-diol	135
E-45 -	RMN- ^1H (-) Eperu-13-en-3(β),15-diol	136
E-46 -	RMN- ^{13}C (-) Eperu-13-en-3(β),15-diol	136
E-47 -	IV de (-) Eperu-13-en-3(β),15-diol	137
E-48 -	IV-de (-) Eperu-13-en-3(β),15-di-acetoxi.....	137
E-49 -	EM de (-) Eperu-13-en-3(β),15-diol	138
E-50 -	EM de (-) Eperu-13-en-3(β),15-di-acetoxi	138
E-51 -	RMN- ^1H de (-)Eperu-13-en-3(β),15-diol	139

E-52 -	RMN- ¹ H de (-) Eperu-13-en-3(β)-ol-15-al	139
E-53 -	EM de (-) Eperu-13-en-3(β),15-diol	140
E-54 -	EM de (-) Eperu-13-en-3(β)-ol-15-al	140
E-55 -	IV de (-) Eperu-13-en-3(β)-ol-15-al	141
E-56 -	RMN- ¹ H de (-) kauran-16-en-19-al	141

ÍNDICE DE ESQUEMA

Pág.

ESQUEMA 1		14
ESQUEMA 2		15
ESQUEMA 3		16
ESQUEMA 3a		22
ESQUEMA 4		28
ESQUEMA 5		32
ESQUEMA 6		38
ESQUEMA 7		45
ESQUEMA 8		53
ESQUEMA 9		57
ESQUEMA 10		61
ESQUEMA 11		90
ESQUEMA 12		91
ESQUEMA 13		92
ESQUEMA 14		96
ESQUEMA 15		100

ÍNDICE DE QUADROS

		<u>Pág.</u>
QUADRO	1	4
QUADRO	2	6
QUADRO	3	22
QUADRO	4	48

ÍNDICE DE TABELAS

	<u>Pág.</u>
TABELA 1	34
TABELA 2	58
TABELA 3	62
TABELA 3a	65
TABELA 4	69
TABELA 5	71
TABELA 6	73
TABELA 7	74
TABELA 8	75
TABELA 9	76
TABELA 10	85
TABELA 11	86
TABELA 12	86
TABELA 13	97
TABELA 14	98
TABELA 15	102

RESUMO

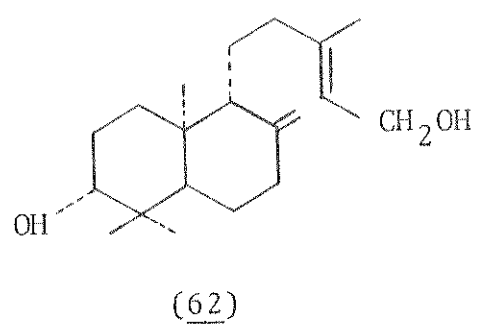
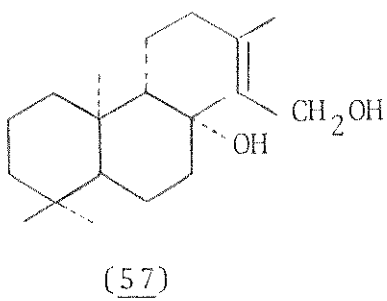
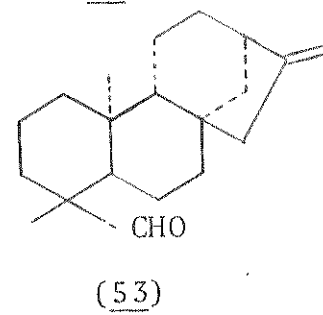
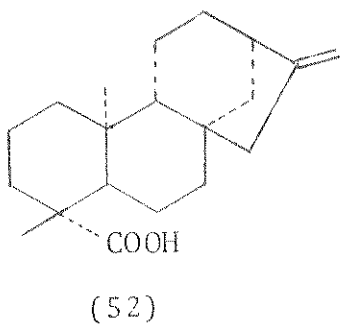
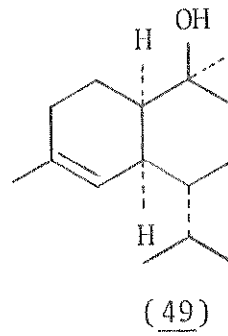
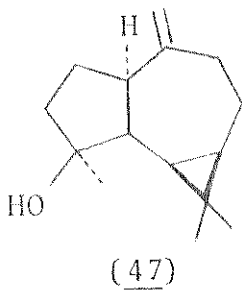
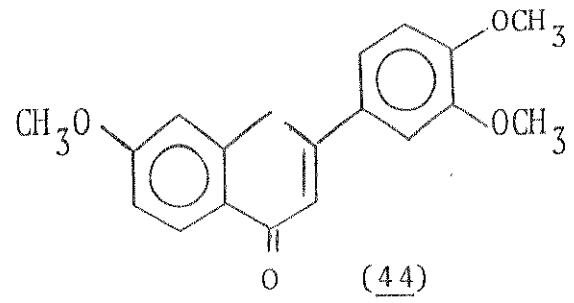
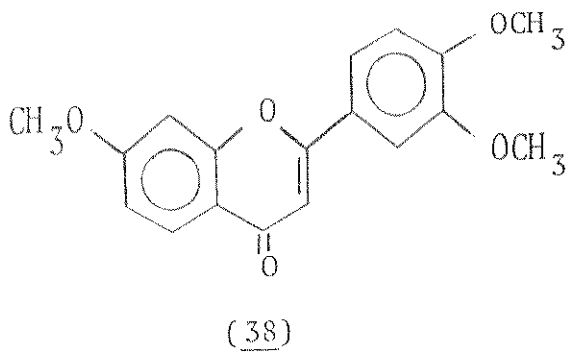
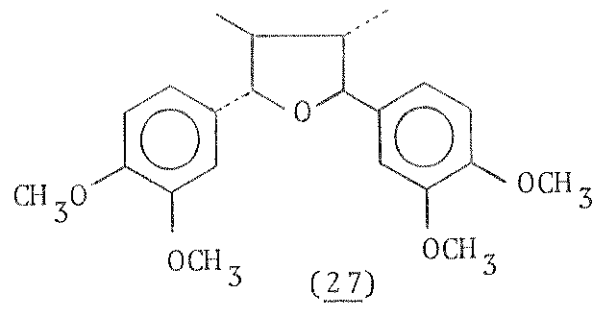
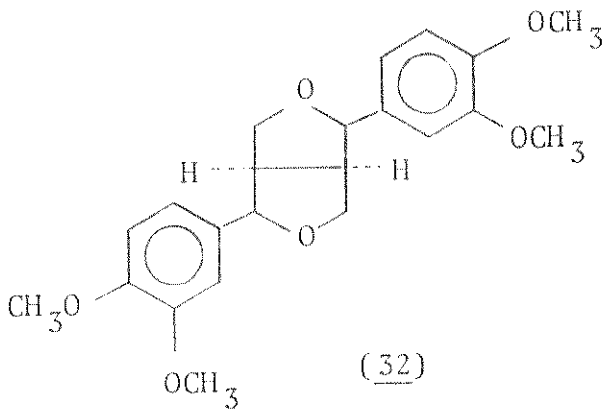
Neste trabalho efetuamos o estudo fitoquímico e ensaios antibacteriano preliminares das folhas de V. surinamensis e O. platyspermum, ambos os gêneros pertencentes a família Myristicaceae, coletadas no estado do Pará.

Os extratos clorofórmico, etanólico e metanólico das folhas da V. surinamensis, fracionados por métodos cromatográficos, forneceram a lignana éter dimetílico do pinoresinol (32), a neolignana galbelgina (27), o monossacarídeo manitol e duas flavonas 3',OH-7,4'-dimetoxiflavona (44) e 7,3',4'-trimetoxiflavona (58), ambas isoladas pela primeira vez em Myristicaceae.

Do extrato hexânico das folhas de O. platyspermum, isolamos dois sesquiterpenos, espatulenol (47) e δ -cadinol (49e) e quatro diterpenos: ácido kauran-16-en-19-óico (52), kauran-16-en-19-al (53), eperu-13-en-8(8),15-diol (57) e eperu-8(20),13,dien-3(8),15-diol (62) isolado pela primeira vez como produto natural.

A conformação preferencial do δ -cadinol (49e) em solução foi proposta através de cálculos, com base nos dados de RMN- ^{13}C .

Os ensaios antibacterianos (gram-positivo e gram-negativo) foram realizados com os extratos e substâncias puras das folhas de várias espécies de Myristicaceae, e apresentaram resultados positivos.



SUMMARY

Leaves of V. surinamensis and O. platyspermum, both species belonging to the Myristicaceae family, were submitted to phytochemical analysis and to biological assay.

Chromatographic fractioning of the chloroformic, ethanolic and methanolic crude extracts of V. surinamensis, resulted in the isolation of the lignan pinoresinol dimethyl eter (32), the monossacharid manitol, and two flavones, 3'-OH,7,4'-dimethoxyflavone (44) and 7,3',4'-trimethoxyflavone (38). This is the first time compound (44) and (38) have been isolated from Mirysticaceae.

From the hexanic extract of the leaves of O. platyspermum we have isolated two sesquiterpenes, sphatulenol (47), δ -cadinol (49c) and four diterpenes: kauran-16-en-19-oico acid (52), kauran-16-en-19-al (53), eperu-13-en-8(β), 15-diol (57) and eperu-8(20), 13-dien-3(β),15-diol (62). Although compound (62) has already been synthesized, this is the first time it has been isolated as a natural product.

The preferencial conformation of δ -cadinol (49e) in solution was proposed based on NMR- ^{13}C data.

The antibacterian assays (gram-positive and gram-negative) of the extracts and pure substances from the leaves of several species of Myristicaceae showed positive results.

SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

Ac	Acetato
DFL	Desacoplamento em faixa larga
E	Espectro
EM	Espectro de massa
Esq	Esquema
Fig.	Figura
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
M^+	Ion molecular
Me	Metila
m/e	Relação massa/carga
ppm	Parte por milhão
RMN- 1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN- ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
s, d, t, q	Sinal simples, duplo (dubleto), triplo e quádruplo
dd, l, m	Duplo dubleto, largo, múltiplo
α	Efeito, configuração ou posição relativa a um grupo funcional
β	Efeito, configuração ou posição relativa a um grupo funcional
δ	Deslocamento químico em ppm
$\Delta\delta$	Variação de deslocamento químico
ϕ	ângulo diedro
d. i.	Diâmetro interno
u.m.a.	Unidade de massa atômica
-	Aproximadamente

CAPÍTULO 1

1.1. INTRODUÇÃO

A descoberta do uso de rapé ("yakee") a partir de Myristicaceae, como fonte de narcótico poderosamente alucinogênico, utilizado pelos índios da Amazônia, despertou na década de cinquenta o interesse fitoquímico e farmacológico pelas espécies desta família, da citada região /1,2/.

O uso de algumas espécies do gênero Virola no preparo deste rapé, foi comprovado por Schultes /3/, e além desta utilização, chás, emplastos, gordura e etc., obtidos de várias partes das espécies de Myristicaceae são utilizados por estes índios nos mais diferentes tratamentos de enfermidades /4/, atribuindo-se a estes preparos, propriedades alucinogênicas, tóxicas, antifúngicas e anti-reumáticas /3,5/ entre outras.

Das 84 espécies de Myristicaceae aceitas na América, 59 se encontram difundidas nas mais diversas regiões do Brasil, principalmente na Amazônia, sendo o gênero Virola, das cinco espécies de Myristicaceae nativas brasileira, a que apresenta o maior número (quadro I), encontrando-se em quase todas as regiões. Por outro lado, o gênero Osteophloeum apresenta duas espécies, encontrando-se no Brasil apenas a O. platyspermum, difundida na Amazônia /6/.

QUADRO I

Distribuição das espécies de Myristicaceae na Flora Neotropical /6/

Gênero	Total	Amazônia bras.	Brasil(extra- Amazônia)	Fora do Brasil
<u>Compsonura</u>	10	5	-	5
<u>Dialyanthera</u>	7	1	-	6
<u>Iryanthera</u>	19	17	-	2
<u>Osteophloeum</u>	2	1	-	1
<u>Virola</u>	46	29	6	11

1.2. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE VIROLA

As espécies do gênero Virola constituem-se um fascinante campo de pesquisa, dada a sua importância como biossintetizadora de substâncias que tem revelado grande potencial de atividade biológica /1,5/, mas, apesar deste aspecto farmacológico e da importância quimiotaxonômica que dotam as Virolas de uma relevância incontestável, menos da metade das espécies encontradas na América foram estudadas até o presente (Quadro-1), e destas, a maioria apenas parcialmente a madeira ou a casca. A V. surinamensis, somado o presente trabalho, complementa o estudo fitoquímico das folhas e madeiras. Estes dados expressam a escassez de conhecimento sobre o gênero em questão.

Dentre as classes de substâncias isoladas a partir das espécies de Virola (Quadro-1), os alcalóides triptamínicos (3) e β -carbolínicos (4) /7/, ocupam um lugar de destaque, visto serem responsáveis pelo princípio ativo dos rapês utilizados pelos índios na Amazônia /1-3/.

As neolignanas é um dos principais grupos de substâncias que ocorrem em Myristicaceae, apresentando também importantes atividades biológicas /5,8,10/. No gênero Virola, ocorrem principalmente em três esqueletos básicos tipo 8.8',7.2' (5); 8.8',7.0.7' (6) e 8.0.4' (7).

Foi Wallace /13/ quem fez a primeira referência a neolignana, isolada de Myristicaceae (Myristica otoba) de onde obtve a otobaína (5g) e a hidroxiotobaína (5d). Atualmente, 17 espécies do gênero Virola foram estudadas, e as substâncias isoladas; isoflavonas (9), flavonas (10), virolano (12) e outras, juntamente com as neolignanas, são apresentados no quadro-2.

1.3. CONSTITUINTES QUÍMICOS DE OSTEOPHLOEUM

Das duas espécies de Osteophloeum conhecidas apenas a O. platyspermum difundida na Amazônia foi estudada fitoquimicamente até o presente. No quadro-1 se encontra compilados os seus órgãos estudados e as respectivas substâncias isoladas.

QUADRO-1

Constituintes químicos de O. platyspermum

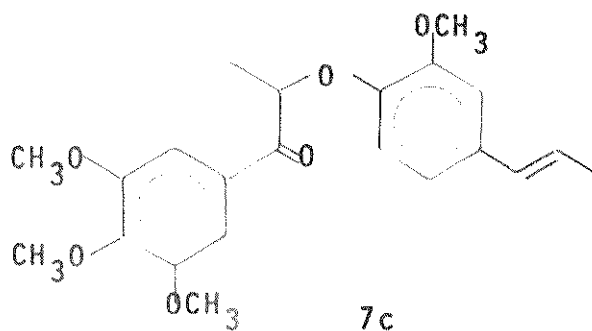
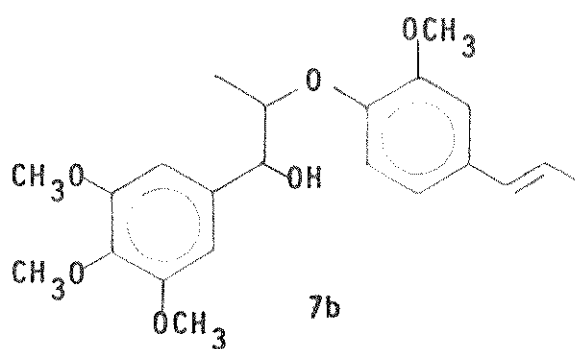
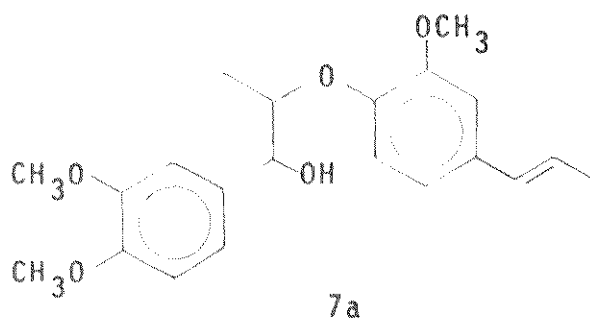
Parte da planta	Grupo de substâncias isoladas	Estruturas	Ref.
Folhas e galhos	isoflavonas	16,17	13
	diterpenos	51,53,54,60	
	sesquiterpenos	44,48e	
Sementes e frutos	neolignanas	5b,5e,5d,5i	23,37
	diterpeno	54	

1.4. PROPOSIÇÃO

O nosso estudo foi realizado com folhas de V. surinamensis e O. platyspermum. Esta escolha está relacionada ao interesse despertado pelo uso de Myristicaceae em medicina popular, bem como pelo estudo de seus constituintes químicos que têm apresentado acentuada atividade biológica, entre os quais podemos destacar as neolignanas surinamensina (1) e virolina (2) que impedem a penetração de cercárias do Schistosoma mansoni /7/, e o derivado cetônico (2a) que apresenta reconhecida atividade anti-câncer /8,9/.

Além disto, são atribuídas as neolignanas propriedades fungicidas /10/. As substâncias 7a, 7b e 7c foram isoladas das folhas de V. surinamensis por Barata /7/, num trabalho que ficou evidenciado a necessidade de informações acerca dos constituintes químicos das espécies de Myristicaceae, bem como do provável potencial de atividade biológica.

Paralelamente, o estudo fitoquímico das duas espécies, proporciona o aperfeiçoamento em técnicas de isolamento, purificação das substâncias, metodologia de identificação e proposição estrutural de substâncias através de análise espectroscópicas, além da efetivação de reações de caracterizações dos grupos funcionais, degradações e síntese das mesmas.



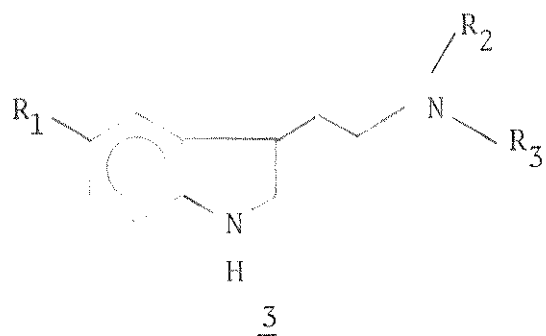
QUADRO-2

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE VIROLA

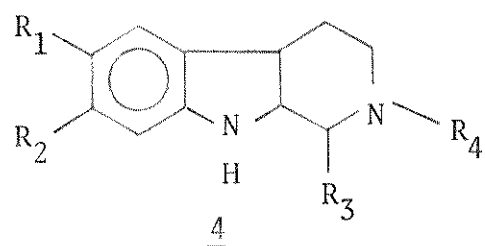
Espécie	Parte da planta	Grupo de substâncias isoladas	Nº das estruturas	Ref.
1. <u>V.caducifolia</u>	madeira	virolano isoflavona	12b, 12e e 12c 9a, 9b e 9c	11, 12, 13
2. <u>V.multinervia</u>	madeira raiz e folhas	lignana isoflavona alcalóides	14b, 14c, 18 e 19 12b, 12e e 12c 3c e 3b	13, 14, 15, 19, 33, 34, 38
3. <u>V.carinata</u>	madeira casca	flavonona neolignana neolignana	14a 7c e 8d 5a, 5b e 5c	16, 17, 30, 32
4. <u>V.venosa</u>	madeira	estilbeno	13a	13, 14
5. <u>V.cuspidata</u>	casca galhos e folhas	estilbeno neolignana alcalóides	13b 5f	18, 19
6. <u>V.theiodora</u> (sinônimo de <u>V.cuspidata</u>)	galhos e folhas cascas raiz flores folhas	alcalóides alcalóides alcalóides alcalóides alcalóides	4e e 4f 3c, 3f e 4b 3c, 3b, 3f e 3c 3c e 3b 3c, 3f e 4a	19, 20, 33, 37
7. <u>V.guggenheimii</u>	madeira	virolano neolignana	12b e 12c 8c	21, 22, 31
8. <u>V.pavonis</u>	casca	neolignana	8a e 8b	17, 21, 22, 31
9. <u>V.divergens</u>	madeira	virolano	12b e 12c	17, 21, 22

Continuação ...

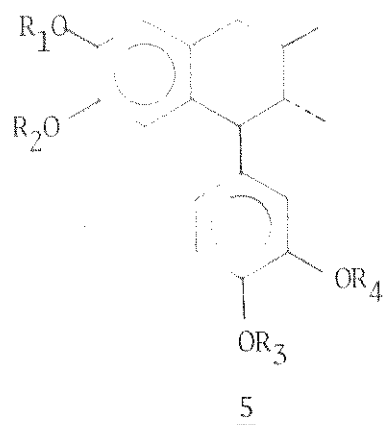
Espécie	Parte da planta	Grupo de substâncias isoladas	Nº de estruturas	Ref.
10. <u>V. surinamensis</u>	folhas	neolignana arilpropanoide lignana flavona monossacarídeo	6a, 6b, 6c, 7a e 7b 15 14 38 e 44 manitol	7
11. <u>V. minutiflora</u>	madeira	virolano	12b e 12d	24
12. <u>V. elongata</u>	madeira	lignana virolano flavonal neolignana	18 e 19a 12b, 12d, 12c, 12e e 12f 11a 5a	24, 40
13. <u>V. sebífera</u>	madeira casca sementes	neolignana diarilundecano alcalóide diarilundecano neolignana	5g, 5h e 5j 13c 3c e 4a 13c 5f	25, 26, 36
14. <u>V. flexuosa</u>	madeira	lignana etilbeno flavona	14c, 14b e 14a 13c 10c	13, 39
15. <u>V. calophylla</u>	casca raiz flores-rebentos folhas	alcalóide alcalóide alcalóide alcalóide	3c e 4c 3c e 4c 3c e 3b 3c e 3b	17, 19, 27, 33
16. <u>V. calophylloidea</u>	madeira	alcalóide	3a, 4c e 3b	19, 28, 29
17. <u>V. rufula</u>	madeira raiz folha	alcalóide alcalóide alcalóide	3f, 3c e 4b 3f e 3c 4b e 3c	19, 33

Estrutura das substâncias isoladas de Virola e Osteophloeum

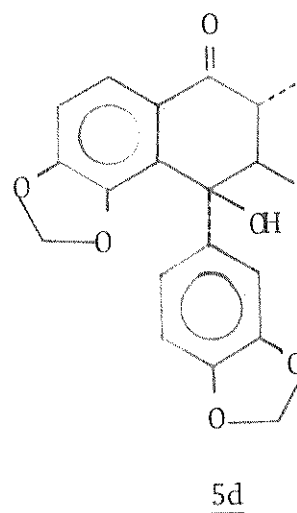
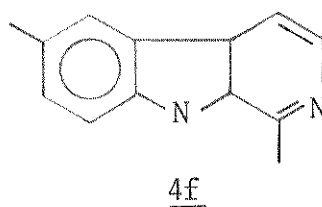
	R ₁	R ₂	R ₃
3a	H	H	H
3b	H	H	H
3c	H	CH ₃	CH ₃
3d	CH ₃ O	H	H
3e	CH ₃ O	CH ₃	H
3f	CH ₃ O	CH ₃	CH ₃
3g	OH	H	H
3h	OH	CH ₃	H
3i	OH	CH ₃	CH ₃

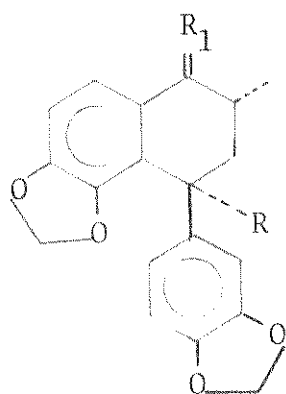


	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
4a	H	H	H	CH ₃
4b	CH ₃ O	H	H	CH ₃
4c	CH ₃ O	H	CH ₃	CH ₃
4d	H	CH ₃ O	CH ₃	CH ₃
4e	CH ₃ O	H	CH ₃	H

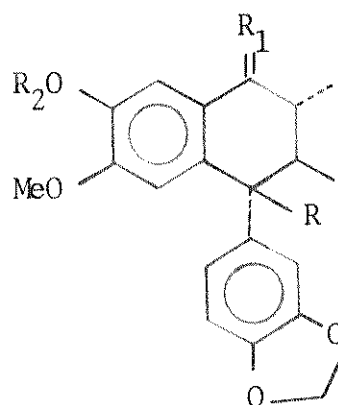


	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
5a	CH ₃	H	H	CH ₃
5b	CH ₃	H	(- CH ₂ -)	
5c	(- CH ₂ -)	CH ₃	CH ₃	

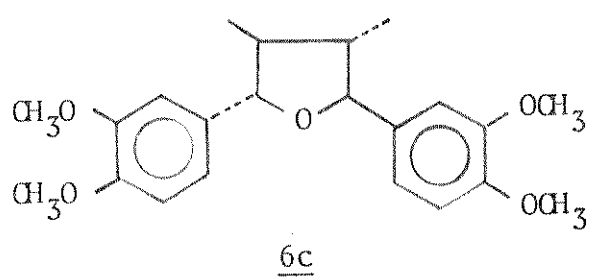
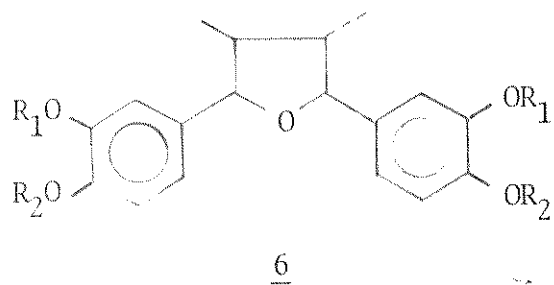




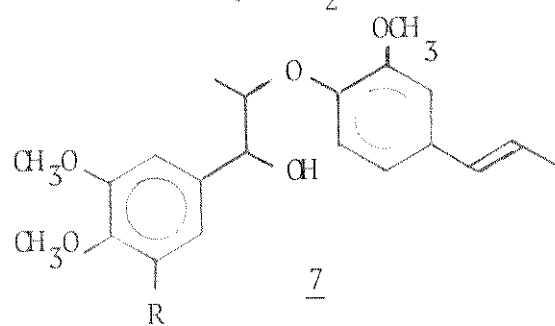
	R	R ₁
5e	OH	H.H
5f	OH	O
5g	H	H.H



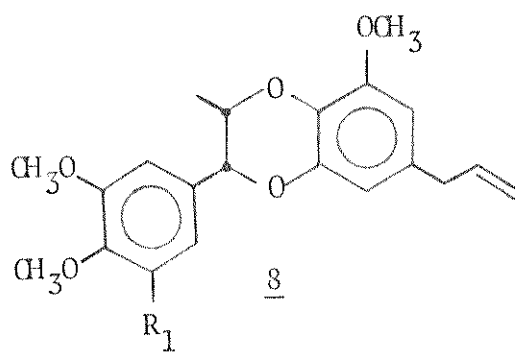
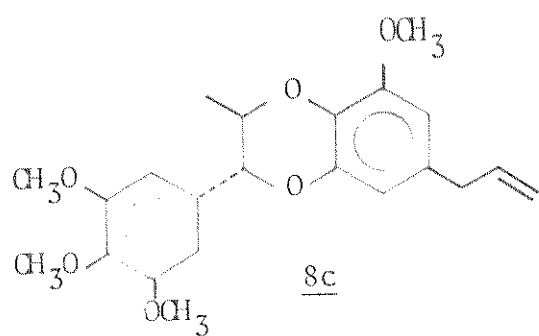
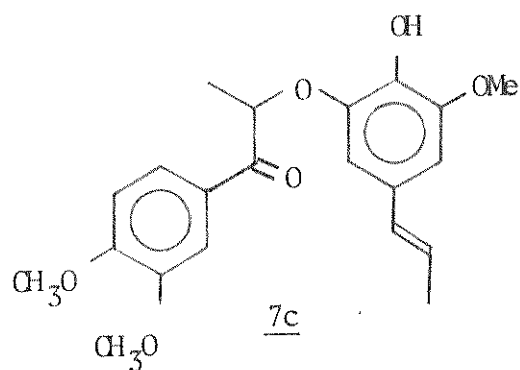
	R	R ₁	R ₂
5h	OH	O	Me
5i	H	H.H	H
5f	H	O	Me



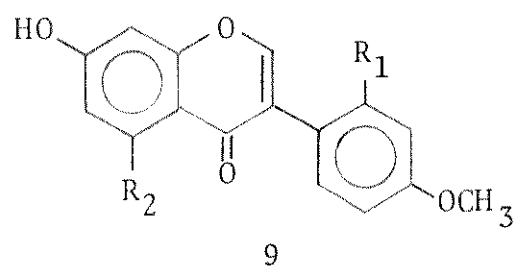
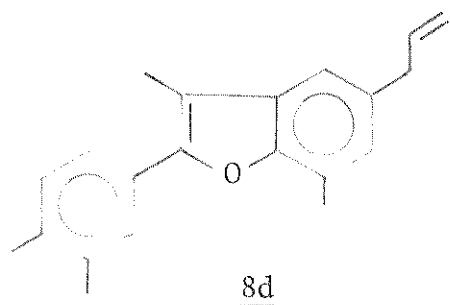
	R ₁	R ₂
6a	CH ₃	CH ₃
6b	(- CH ₂ -)	(-)



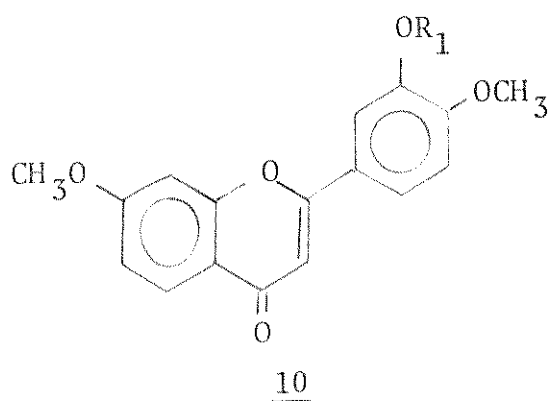
7a	R = H
7b	R = OCH ₃



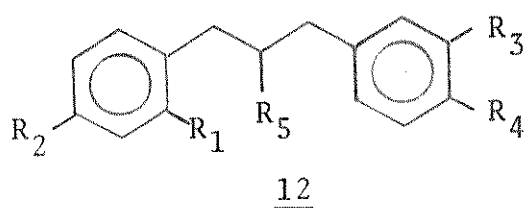
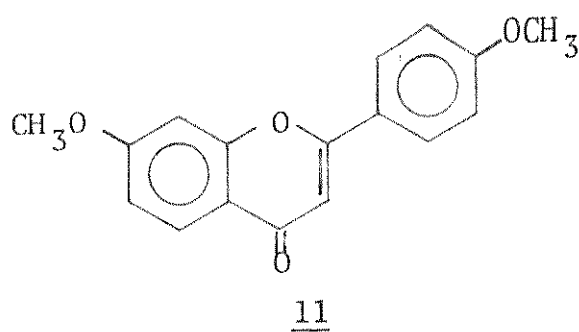
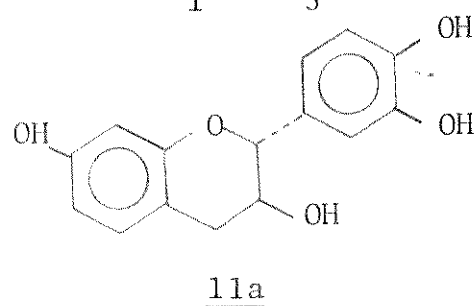
8a	R ₁ = OCH ₃
8b	R ₁ = H



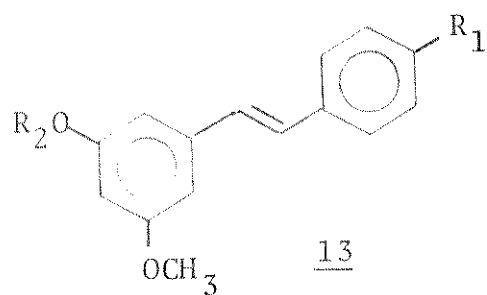
	R_1	R_2
9a	H	OH
9b	OH	OH
9c	OCH ₃	OH
9d	H	H



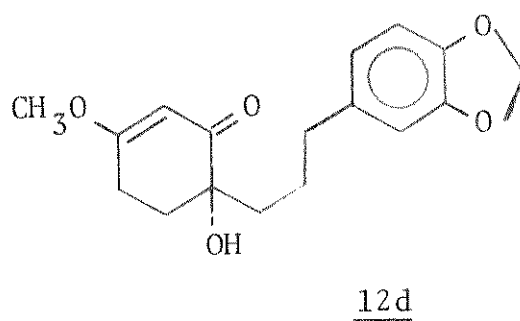
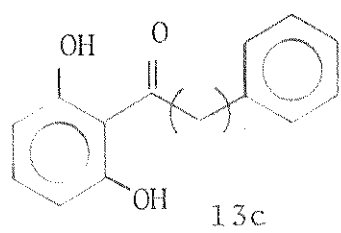
44	$R_1 = H$
33	$R_1 = CH_3$

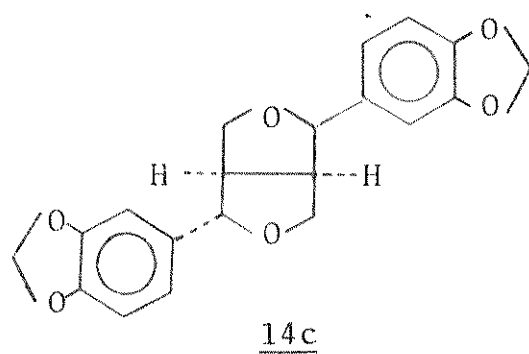
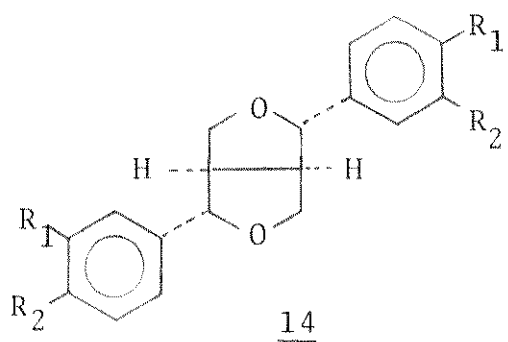


	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
12a	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH	H
12b	OH	OCH ₃	(-O-CH ₂ -O-)		H
12c	OH	OCH ₃	(-O-CH ₂ -O-)		OH
12d	OH	OH	OCH ₃	OH	OH
12e	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	OH

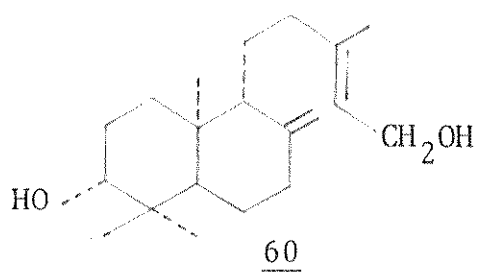
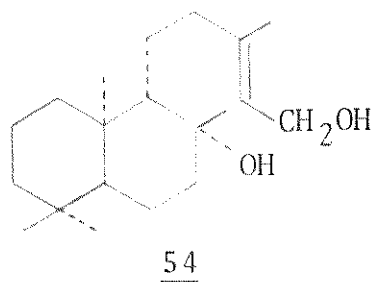
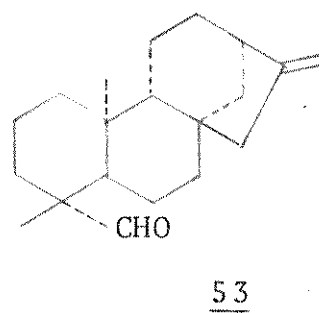
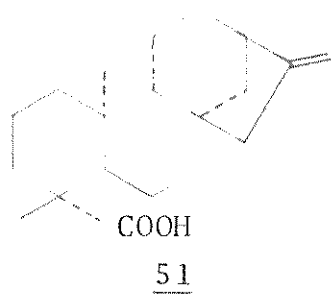
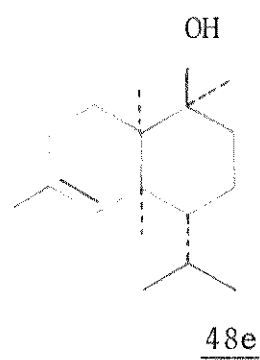
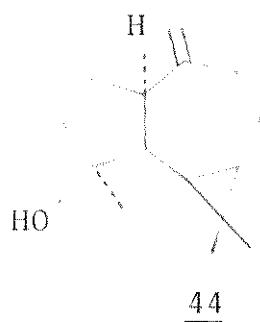
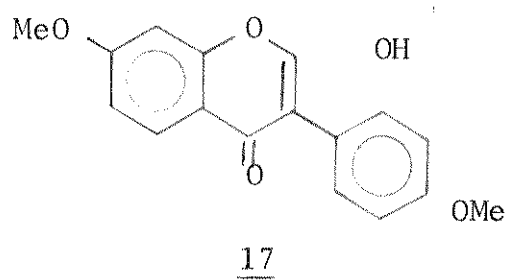
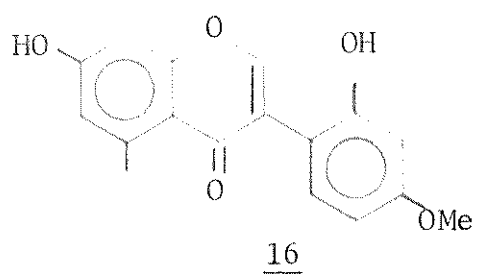


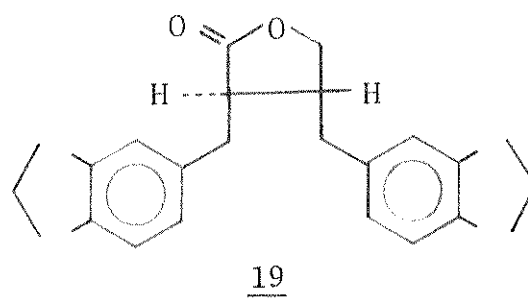
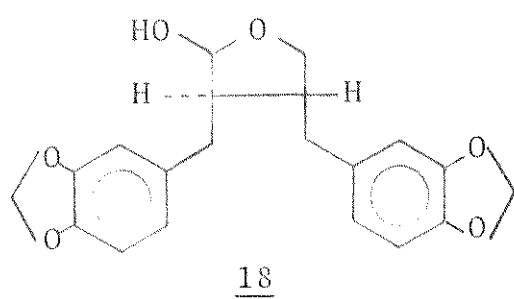
	R_1	R_2
13a	H	H
L/B	OCH ₃	CH ₃



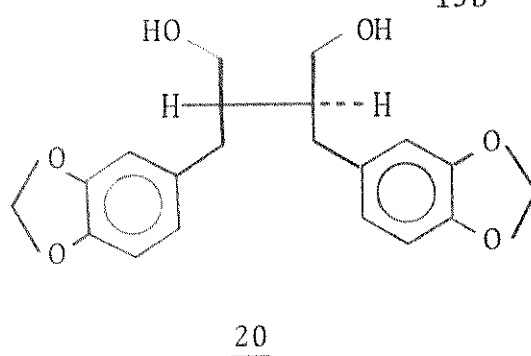


	R_1	R_2
14a	OMe	OMe
14b	(- O-CH ₂ -O -)	



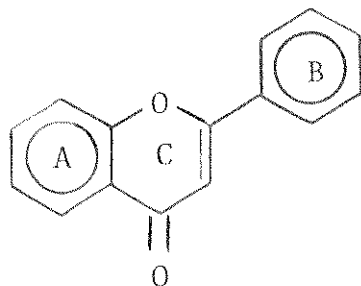


	R_1	R_2
19a	CH_3	CH_3
19b	$(-CH_2-)$	$(-CH_2-)$

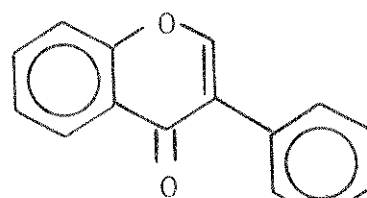


1.4. BIOSÍNTESE DE FLAVONÓIDES

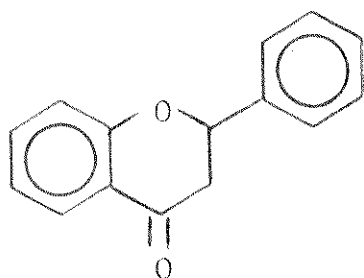
Os flavonóides (16-19) são representados por mais de 2000 constituintes que ocorrem naturalmente em plantas, tendo como membro mais simples, a flavona (16) /41,45/.



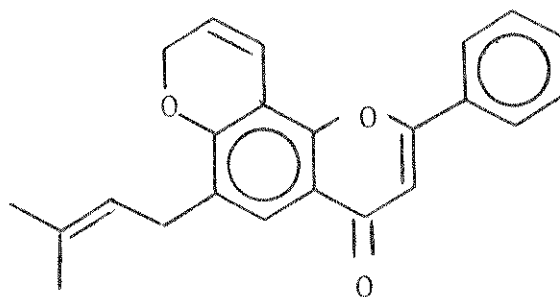
(16)



(17)



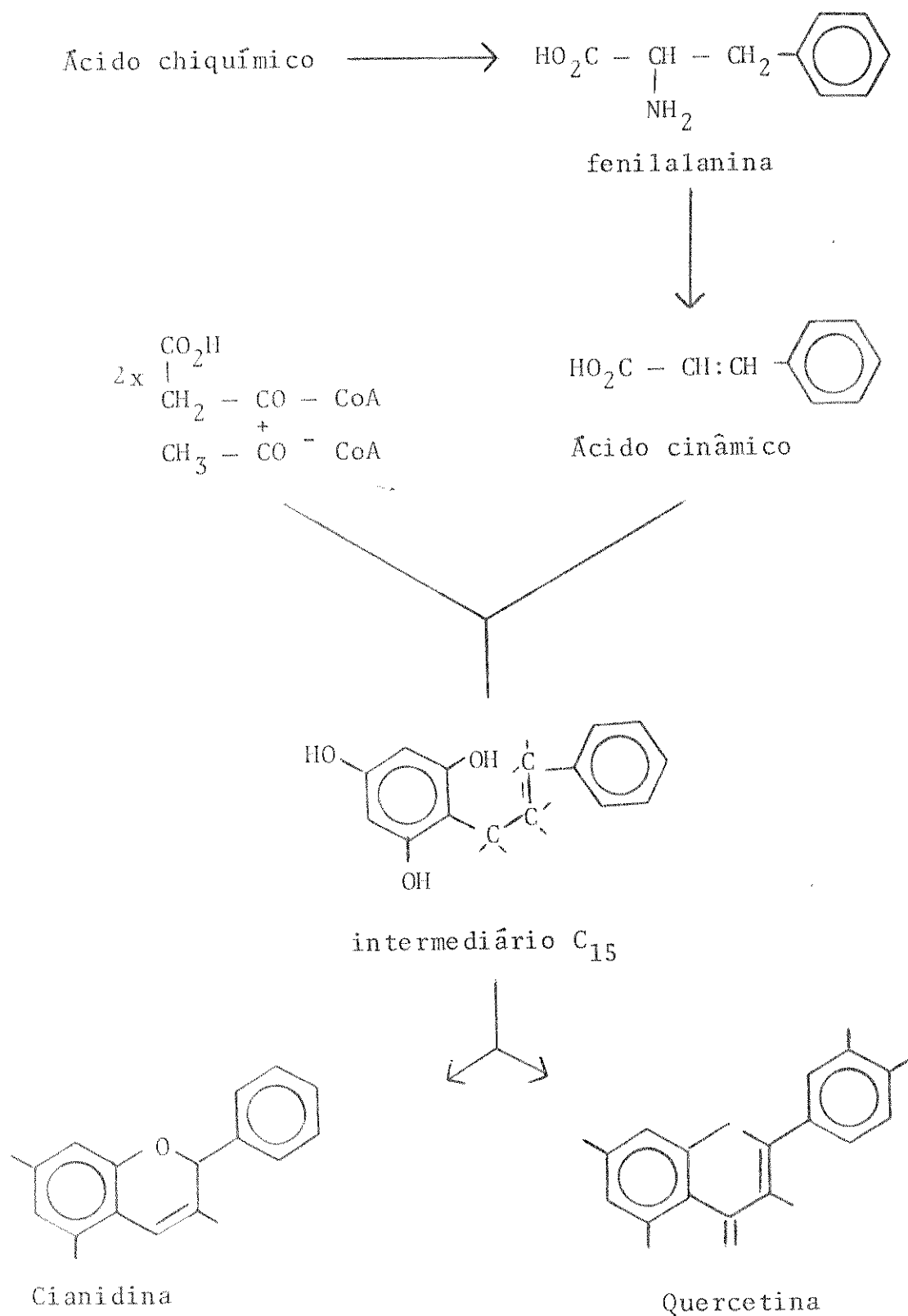
(18)



(19)

Estes compostos são geralmente divididos em classes, considerando o nível de oxidação do anel central c, apresentando-se em grupos estruturais relativamente uniformes, sem deixar com isto, de apresentar derivados bastante complexos como (19). Os flavonóides são relatados biossinteticamente a partir de aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e ácido chiquímico/42,43/, via um intermediário com esqueleto C_{15} , conforme esquema-1, onde observa-se o anel A resultante da condensação de duas unidades malonil Co-A e uma acetil Co-A, enquanto o anel B decorre do ácido chiquímico precursor.

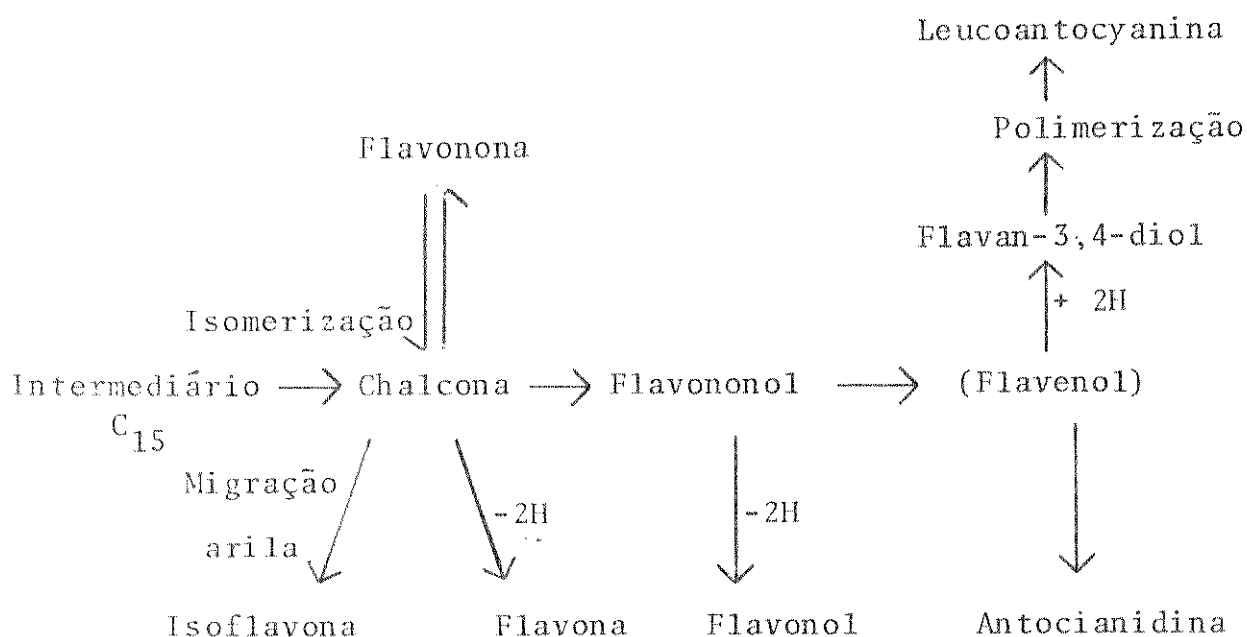
ESQUEMA 1
Biossíntese de flavonóides/42/



Apesar dos poucos dados sobre o seu mecanismo, é aceito variações no intermediário C_{15} formado, gerando as diferentes classes de flavonóides (esquema-2) /42/.

ESQUEMA 2

Interconversão dos compostos flavonóides

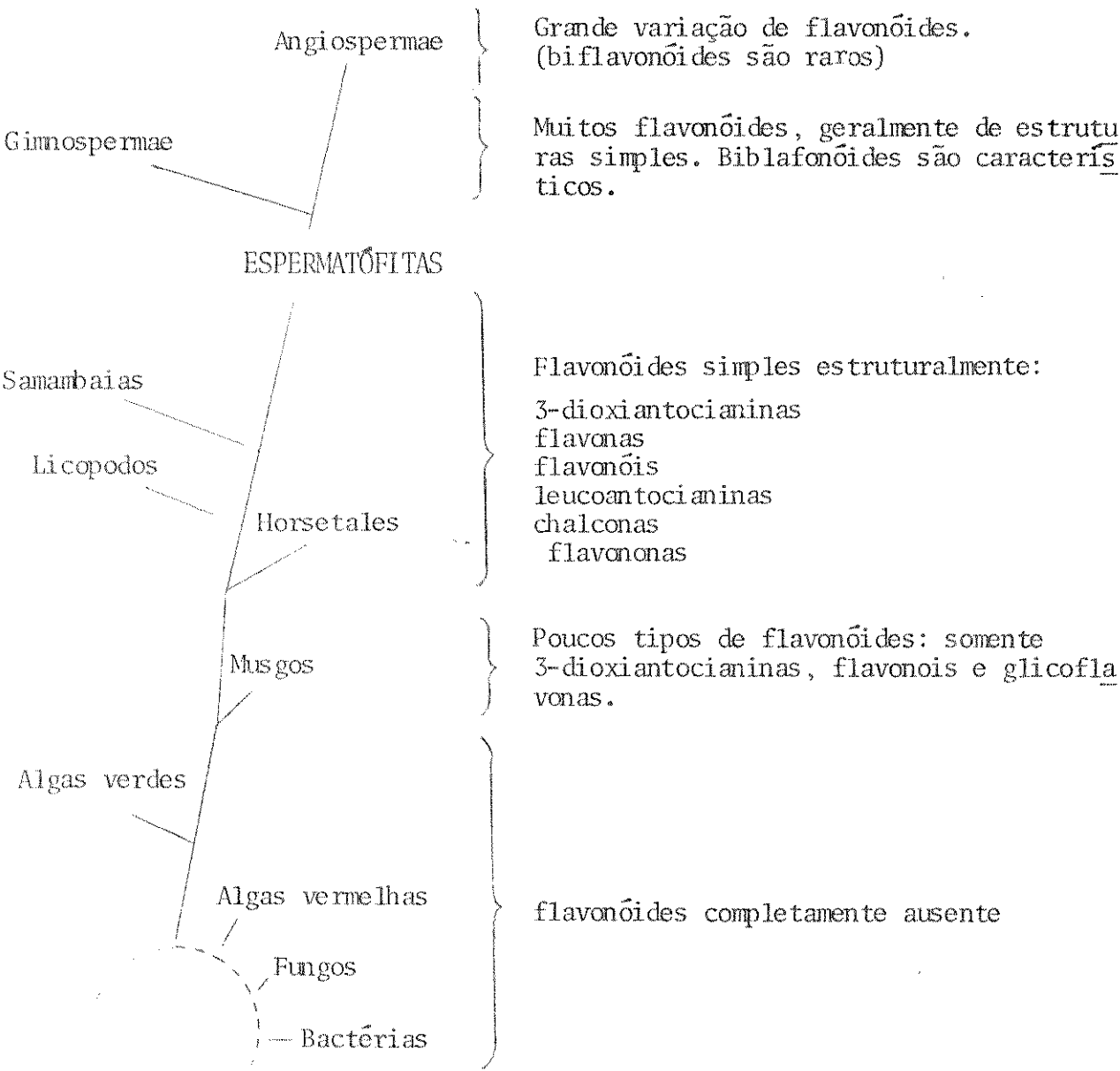


Portanto, as flavonas 3'-OH, 7,4'-dimetoxiflavona e 7,3',4'-trimetoxiflavona isoladas a partir das folhas de V. surinamensis, constituindo-se na primeira ocorrência registrado em Myristicaceae, é justificada do mesmo modo que as isoflavonas (9) flavonol e outros flavonóides isolados nesta família.

Os estudos realizados por Harborne e outros /42, 44/ sobre a distribuição dos flavonóides em plantas é sumarizado no esquema-3 onde as Angiospermae ocupam a posição de mais evoluída, como sinterizadora destes compostos, apresentando constituintes flavonóides mais complexos e variados, principalmente as espécies da classe Dicotyledoneae /42/, que agrupam a família Myristicaceae.

ESQUEMA - 3

Filogenia dos flavonóides nas plantas



CAPÍTULO - 2

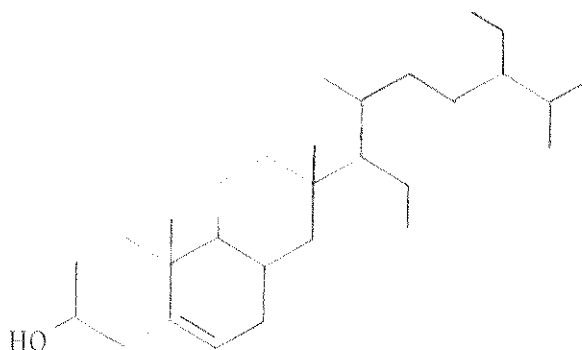
CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE V.SURINAMENSIS

2.1 - PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS EXTRATOS CLOROFÓRMICO, ETANÓLICO E METANÓLICO DAS FOIHAS DE VIROLA SURINAMENSIS

A separação cromatográfica dos extratos clorofórmico, etanólico e metanólico das folhas de V. surinamensis, conduziu-nos ao isolamento de nove substâncias, codificadas como: VS-1, VS-2, VS-3, VS-4, VS-5, VS-6, VS-10, VS-11 e VS-30. A identificação das estruturas destes compostos foram obtidas a partir das suas constantes físicas e métodos físicos espectroscópicos de IV, EM, UV, RMN- ^1H e ^{13}C .

VI-1 - (β -sitosterol)

O composto VS-1 foi identificado como β -sitosterol (21) com base na análise dos dados espectrais: IV, RMN- ^1H comparados aos registrados na literatura /46/ e corroborados com o ponto de fusão em mistura com amostra autêntica.

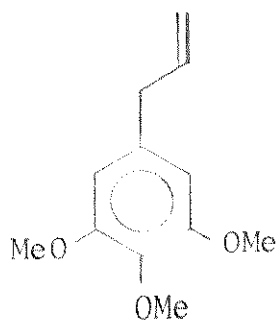
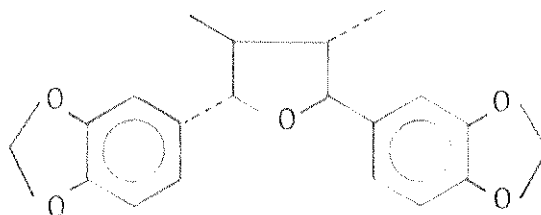
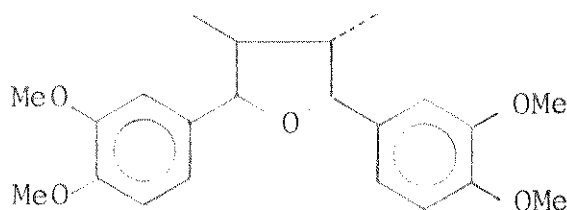


21

VS-2, VS-3 e VS-5 - ARIL E BIS-ARILPROPANÓIDES

As substâncias VS-2, VS-3 e VS-5, foram identificadas como elemicina (22), veraguensina (23) e galbacina (24) respectivamente, através de seus dados espectrais e constantes físicas.

O arilpropanóide 22 e as duas neolignananas tetrahidrofurânicas 23 e 24, já haviam sido isoladas no extrato hexânico das folhas de V. surinamensis / 7/.

222423

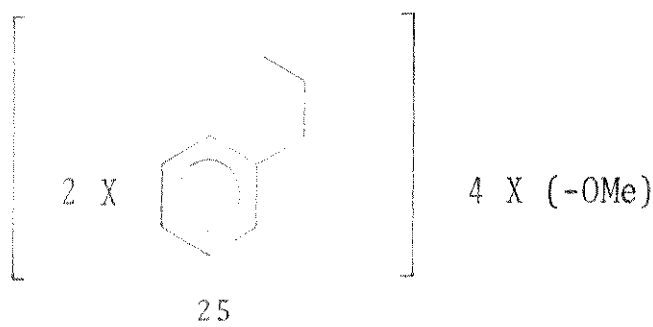
VS-6 - (Galbelgina)

O composto cristalino VS-6 apresentou ponto de fusão a 140,1-140,8°C e peso molecular 372 u.m.a., obtido por espectrometria de massa, compatível com a fórmula molecular $C_{22}H_{28}O_5$.

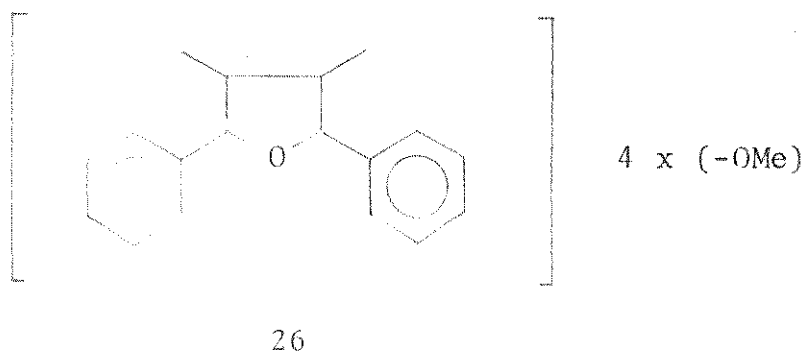
O espectro de IV (E-03, pág.114) apresenta bandas de absorção em 3.060, 1.600 e 1.510 cm^{-1} características do estiramento C-C de anel aromático e em 2.830, 1.260 e 1.028 cm^{-1} atribuídas a metoxilas aromáticas /47,48/. Estes indícios foram ratificados através do espectro de RMN- 1H (E-01, pág.113) onde se observa dois singletos em δ 3,80 (6H) e 3,84 (6H) atribuídos a quatro metoxilas, enquanto os sinais registrados em campo mais baixo deste espectro: δ 6,70 - 7,24 (6H,m), foram atribuídos a pró-

tons aromáticos. O dubleto ($J=6,0$ Hz) observado em δ 1,04 referente a seis prótons alifáticos, sugerem a presença de dois grupos metílicos.

Com os dados obtidos até o presente, podemos expandir nossa fórmula para $C_{18}H_{16}O$ (OMe) $_4$, sugerindo uma estrutura básica bis-arylpropanóide 25 para o composto VS-6.



O índice de deficiência de hidrogênio /49/ igual a nove, exige além dos dois anéis benzênicos, uma dupla ligação ou um anel para ser completado. A estrutura contendo uma dupla ligação é excluída, pois no espectro de RMN- ^1H de VS-6, o dubleto ($J=9,0$ Hz) em δ 4,52 (2H) é característico de prótons benzílicos de carbonos ligados a oxigênio. Isto nos levou a considerar uma estrutura com um anel contendo um átomo de oxigênio, um anel tetrahydrofurânico, reforçado pelas bandas de absorção em 1.160 e 1.140 cm^{-1} , exibidas no espectro de IV para éter /47,48/. Estas considerações, leva-nos a uma estrutura básica de neolignanas do tipo 7.0.7',8.8' (26) /50/.

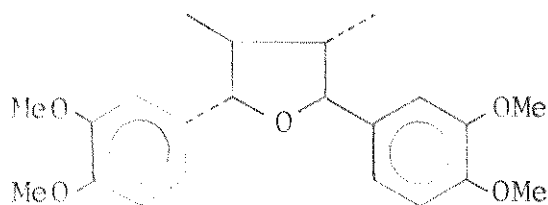


O espectro de massa (E-07, pág. 116) ratifica a estrutura proposta à VS-6, através do pico base em m/e 206, resultante da perda de 74 u.m.a. a partir do íon molecular, característico de neolignana tipo THF /51,52/, entre outros fragmentos (Esquema-3a).

Na natureza ocorrem quatro isômeros configuracionais de neolignanas do tipo 7.0.7',8.8' (Quadro-3), todas apresentando o mesmo padrão de substituição: 1, 3 e 4 nos anéis aromáticos. Estes registros /50/ estão em acordo com as bandas em 960, 830 e 800 cm^{-1} , registradas no espectro de IV /47/ e com os sinais em δ 6,70 - 7,24 para seis prótons aromáticos, observados no espectro de RMN- ^1H (E-01, pág. 113), pertinentes ao referido sistema.

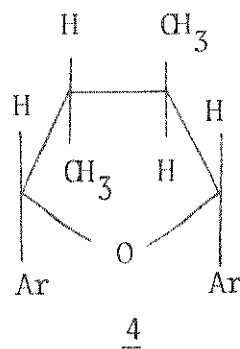
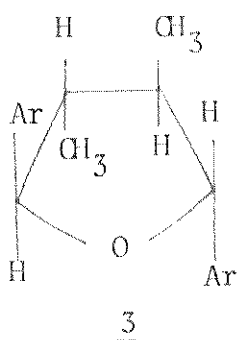
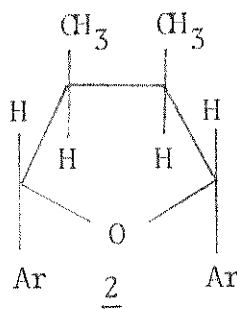
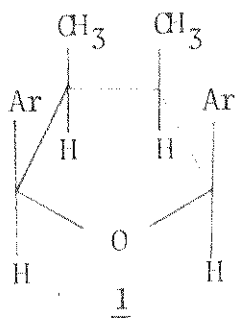
O composto VS-6 apresenta rotação ótica $[\alpha]_D^{22} = -104^\circ$ ($c=1,2$, CHCl_3), e assim, os isômeros 1 e 2 meso (Quadro-2), são excluídos entre os dois isômeros restantes: 3 e 4, os grupos metila do primeiro apresenta uma vizinhança estrutural idêntica, o que não ocorre com 4. Os sinais observados no espectro de RMN- ^1H do composto VS-6 em δ 1,04 (6H, d, $J=6,0$ Hz) foram portanto, atribuídos aos dois grupos metílicos do isômero 3 denominado galbelgina (24).

A comparação dos dados espectrais e ponto de fusão de VS-6 com os de galbelgina (27) registrados na literatura /50,53, 54/, confirmou a sua identidade.



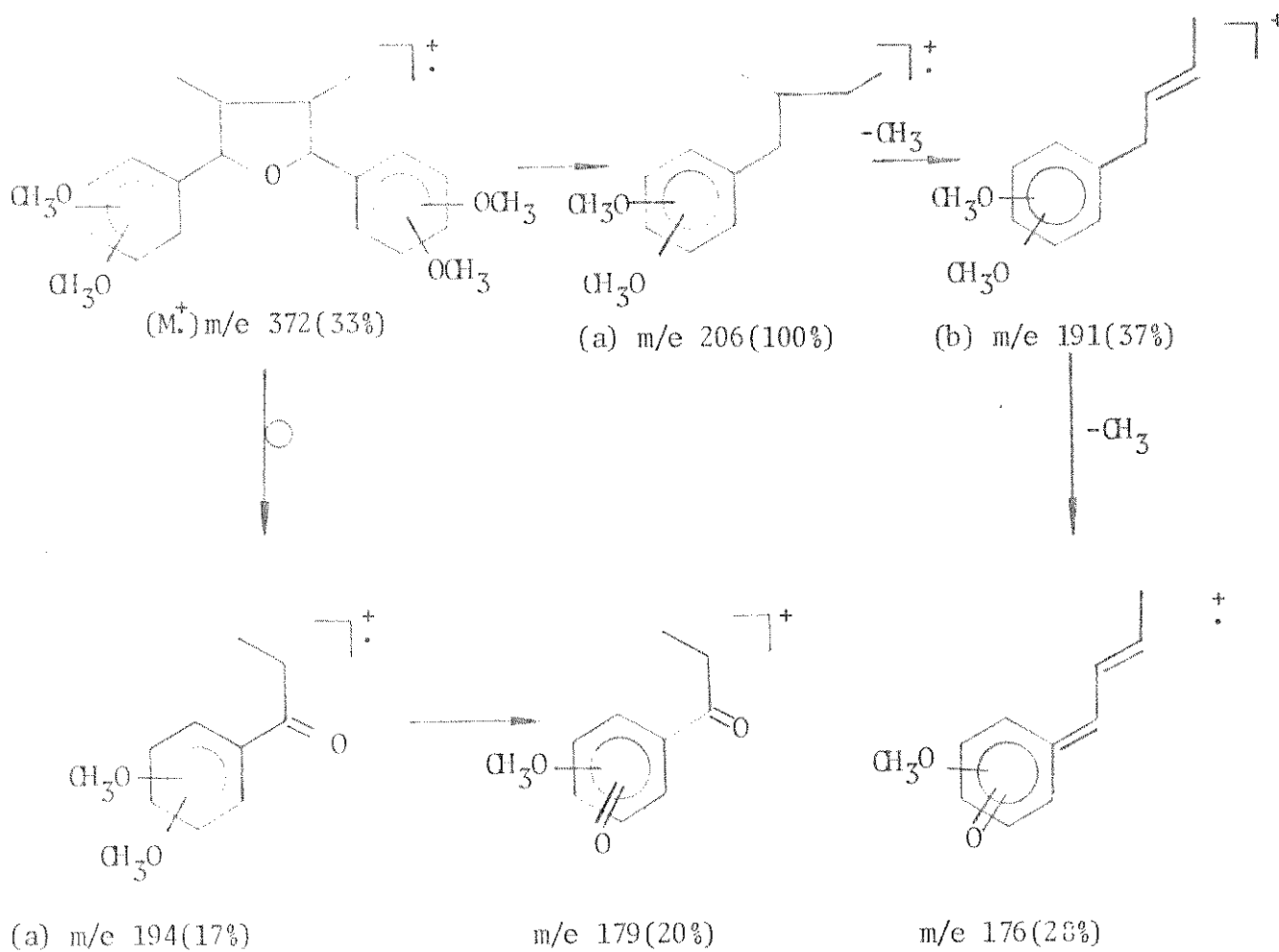
QUADRO - 3

Neolignanas naturais tipo 7.0.7',8.8'



ESQUEMA - 3a

Fragmentação de neolignanas 7.0.7',8.8'

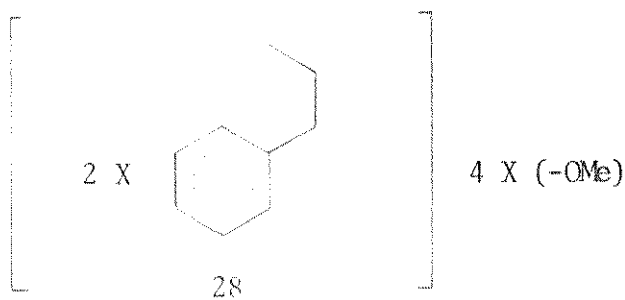


VS-4 (Éter dimetílico do pinioresinol)

O composto VS-4 recristalizado em metanol apresentou ponto de fusão 105,0-106,4°C e peso molecular 386 u.m.a. obtido por espectrometria de massa, o qual, com auxílio da contagem de hidrogênios efetuado no espectro de RMN-¹H (E-09 , pág.117) condiz com a fórmula C₂₂H₂₆O₆.

Através da análise do espectro de absorção no IV (E-04, pág.114) o caráter aromático de VS-4 ficou evidenciado através das bandas com 3.000, 1.600 e 1.460 cm⁻¹, e as bandas em 2.950, 2.830 e 1.260 cm⁻¹ correspondendo ao ν C-H e ν C-O-C de metoxila aromática /47/.

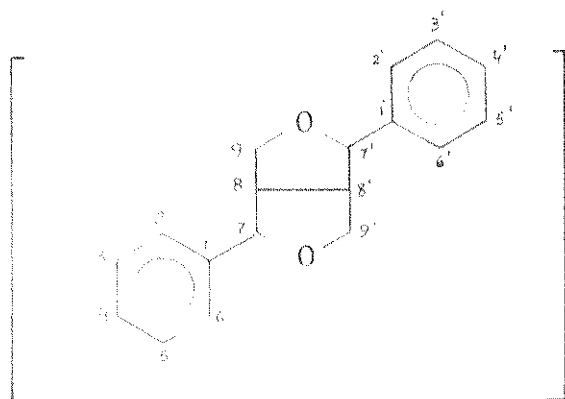
Os dois singletos em δ 3,93 (6H) e 3,97 (6H) registrados no espectro de RMN-¹H, foram atribuídos a quatro metoxila aromáticas, já observadas no IV. Os sinais em δ 6,98-7,24 referem-se a seis prótons aromáticos, exibindo uma feição espectral que sugeriu a existência de pelo menos dois anéis benzênicos substituídos. Estes dados permitiram expandir a fórmula para C₁₈H₁₄O₂(OMe)₄ o que conduz a um esqueleto básico bis-(C₆-C₃) para o composto VS-4 28



As bandas de absorção em $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ (nm) 232 e 278 (ϵ_0 19.739 e 6.952) no espectro de UV (E- 06 , pág. 115) de Vs-4, exibem o mesmo cromóforo do composto VS-3 (24) , no entanto, este

composto contém grupos metila alifáticos, e o espectro de RMN- ^1H de VS-4 não apresenta sinais em campo alto, que possam justificar a existência destes grupos, excluindo assim a estrutura de neolignana do composto VS-3, para o composto VS-4. A presença de um oxigênio a mais na fórmula molecular de VS-4, deve acentuar as diferenças espectrais observadas.

A presença de um esqueleto de lignana tipo sesamina foi evidenciado através (a) das bandas de absorção no espectro de IV em 1.040 e 1.030 cm^{-1} , atribuídas à grupo éter ($\nu\text{ C-O-C}$), (b) do índice de deficiência de hidrogênio igual a dez, sendo oito insaturações correspondentes a dois anéis aromáticos, e as duas insaturações restantes, atribuídas à dois anéis tetraidrofurânicos fundidos, justificando os dos dois átomos de oxigênio que faltavam ser atribuídos, e os seis carbonos alifáticos, e (c) do dubleto ($J=5,0\text{ Hz}$) em $\delta\ 4,82\ (2\text{H})$, registrado no espectro de RMN- ^1H , atribuído à dois prótons benzílicos em carbonos ligados à oxigênio /54/. Estes dados nos conduzem a estrutura parcial 29, para o composto VS-4.

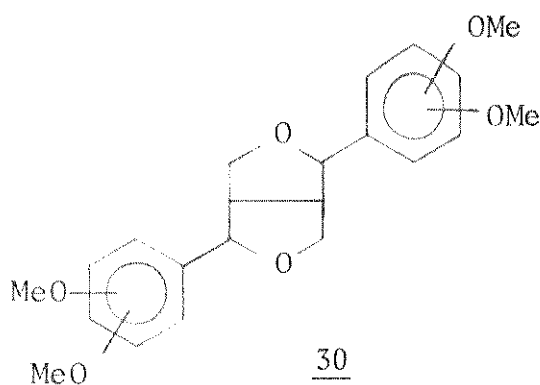


29

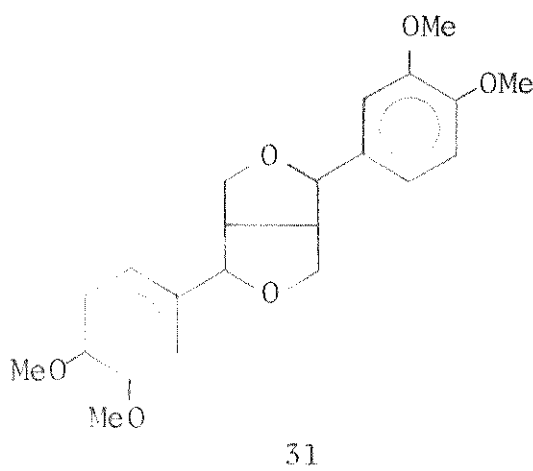
Esta proposição foi reforçada com emprego da técnica de dupla irradiação /49/ através da qual observou-se o colapso de dubleto para singlete dos sinais em $\delta\ 4,80\ (2\text{H}, d, J=5,0\text{ Hz})$ e a simplificação na multiplicidade dos sinais em $\delta\ 4,27\ (2\text{H}, m)$, quando se irradia na região de $\delta\ 3,17\ (2\text{H}, m)$, sinais estes, re-

gistrados no espectro de RMN- ^1H (E-09 , pág.117). O acoplamento dos sinais assim observados, permitiu-nos atribuí-los aos prótons nos carbonos 7,9 e 8 respectivamente.

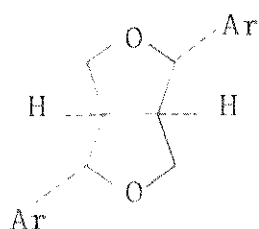
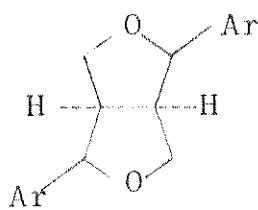
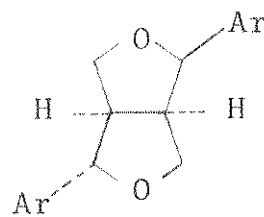
A formação proeminente no espectro de massa (E-08, pág. 116) do composto VS-4, é constituído principalmente a partir dos íons fragmentários m/e 151(50%), 165(70%) e 177(70%), esquema-4, característicos de lignanas do tipo sesamina, sustentando dois grupos metoxila em cada anel aromático /55/. Estes dados nos conduzem a uma estrutura como 30.



A existência dos dois anéis aromáticos com o mesmo padrão de substituição: 1,3,4, é sugerido pelas bandas de absorção em 870 e 815 cm^{-1} , observadas no espectro IV /47/ e pela feição espectral dos sinais em δ 6,98-7,24 (6H), registrados no espectro de RMN- ^1H , condizentes com a estrutura - 31

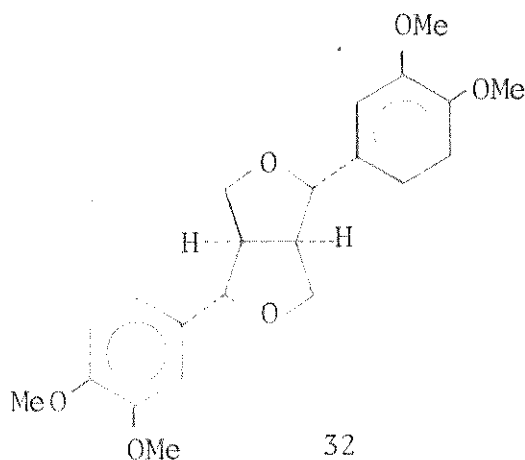


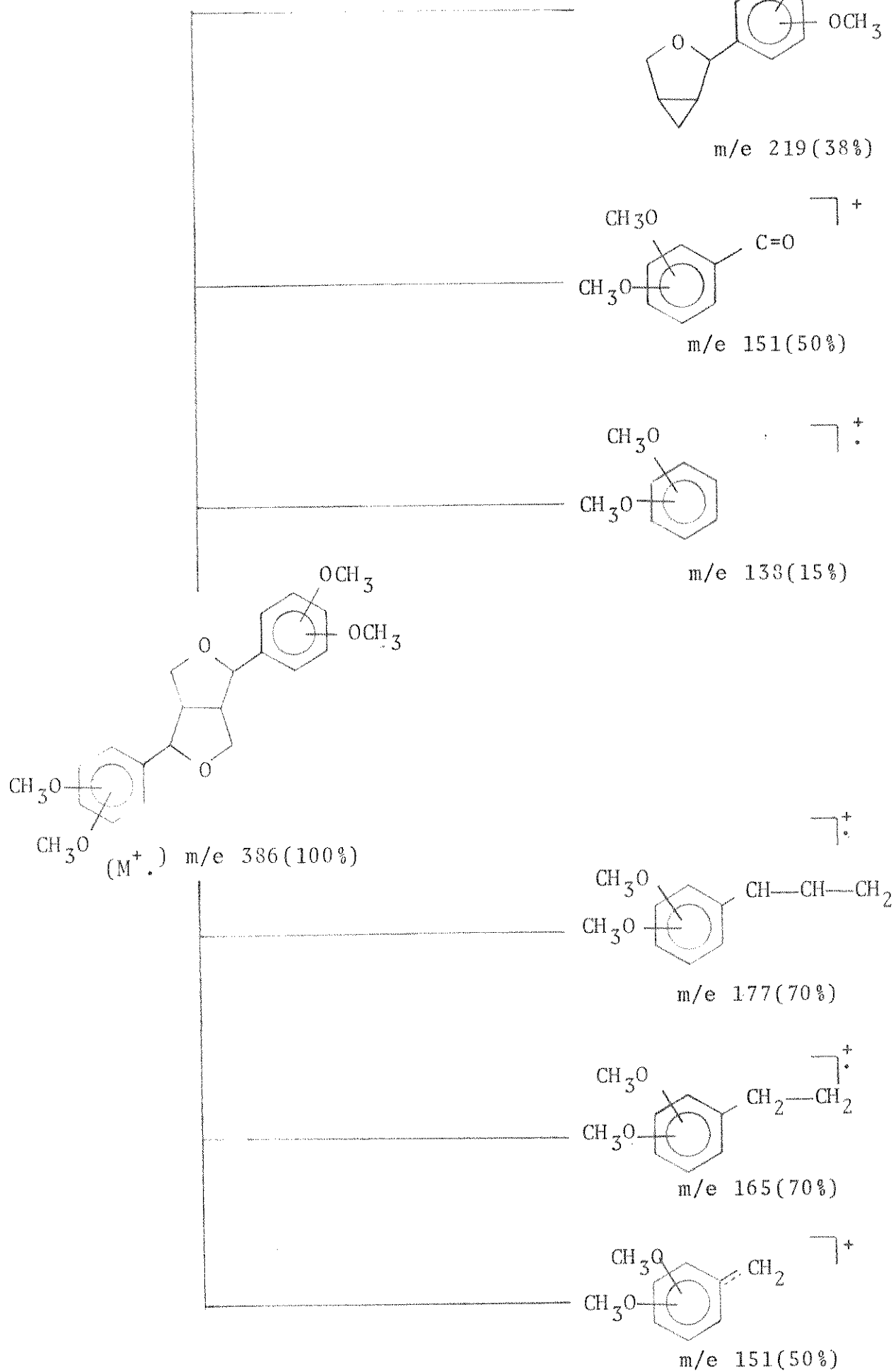
As lignanas (naturais) do tipo eudesmina (31) apresentam os dois anéis heterocíclicos fundidos em posição cis, e os dois anéis aromáticos, orientados de três maneiras diferentes: diequatorial, diaxial e equatorial-axial, formando assim as três séries de esteroisômeros: normal (31a), dia (31b) e epi (31c) respectivamente.

31a31b31c

O estudo de RMN- ^1H destes compostos, fizeram parte do trabalho realizado por Pelter e col. /56,57/, através dos quais ficou estabelecido os deslocamentos químicos dos prótons em C-9 e C-9', bem como os dos prótons benzílicos, utilizados em conjunto com outros dados como diagnóstico para estabelecer a estrutura destes isômeros.

Os sinais observados no espectro de RMN- ^1H do composto VS-4 em δ 4,82 (2H,d,J=5,0 Hz) e em δ 4,27 (2H,m), são próprios de isômero da série normal /56/. Estas considerações nos conduzem ao éter dimetílico do pinoresinol (32), reforçado pelo ponto de fusão em mistura com amostra autêntica, e pela comparação das constantes físicas e dados espectrais, registrados na literatura /56,58/.

32



VS-10 e VS-11 (Flavonas)

Os compostos VS-10 e VS-11, isolados do extrato clorofórmico (pág. 94), apresentaram testes positivos para alcalóides com reagentes de Dragendorff e Mayer /59/. O fato destes compostos já terem sido isolados em Virolas, e as indicações das bandas de absorção em 3.500 e $1.650 - 1.300 \text{ cm}^{-1}$ para estiramento N-H e C-N observadas no espectro de IV destes compostos, sugeriam a presença de alcalóides nas folhas de *V. surinamensis*.

Os dados obtidos para os compostos VS-10 e VS-11, foram corretamente interpretados a partir do resultado da análise elementar que apresentou ausência de nitrogênio no composto VS-11.

VS-10 (7,3',4'-trimetoxiflavona)

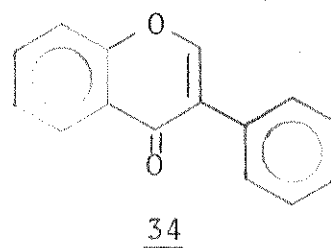
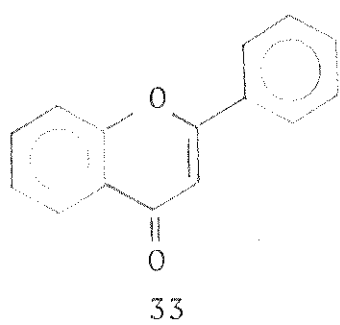
O composto VS-10 recristalizado em metanol, apresentou ponto de fusão $179,4 - 180,0^{\circ}\text{C}$ e peso molecular 312 u.m.a. obtido por espectrometria de massa, o qual em conjunto com a contagem de hidrogênio efetuada no espectro de RMN- ^1H (E-10, pag.117) é compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_5$.

Este composto apresentou falso-teste positivo para alcalóides com reagentes de Mayer e Dragendorff /60/, estes indícios sugeriam com base no EM, um alcalóide com número par de nitrogênio.

Na análise do espectro de absorção no IV (E-11, pág.118) o caráter aromático ficou evidenciado pelas bandas em 3.000 , 1.600 e 1.520 cm^{-1} (ν C-H e C=C), as em 2.830 , 1260 e 1.030 cm^{-1} foram atribuídas ao estiramento de C-H e C-O-C de metoxila aromática, e a de maior intensidade em 1.660 cm^{-1} , a uma carbonila α , β conjugada /47, 48/.

Os três singletes observados no espectro de RMN- ^1H

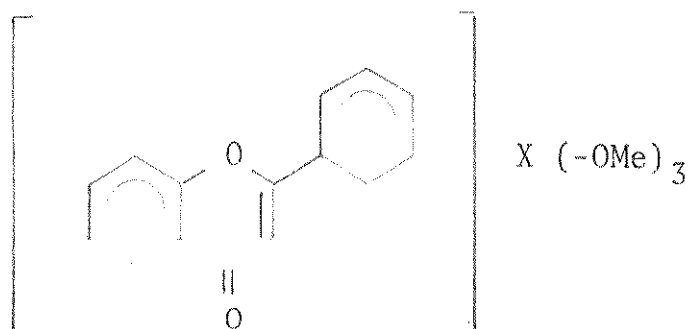
(E-10 , pág. 117) em δ 3,96, 3,98 e 4,00 com integração para três prótons cada, foram atribuídos a três grupos metoxila aromáticas, enquanto os sinais em δ 6,65 - 8,17 estão relacionados a sete prótons em anéis aromáticos. Estes dados nos permitiu expandir a fórmula para $C_{15}H_7O_2$ (-OMe)₃. A ausência de indícios de outros substituintes, sugeriu a partir desta fórmula, um esqueleto básico de compostos diarilpropanóide /61-63/, ou seja com duas unidades C_6 e uma C_3 de flavonas (33) ou isoflavonas (34).



O espectro de absorção no UV (E-15 , pág. 120) apresenta bandas de intensidade relativamente alta nas regiões de 300-337 nm (banda I) e em 237 nm (banda II) tabela-1, típicas de flavonas /64/, corroborada pelo cálculo da razão entre as absortividade molar (ϵ_o) das bandas I e II, maior do que a unidade /71/.

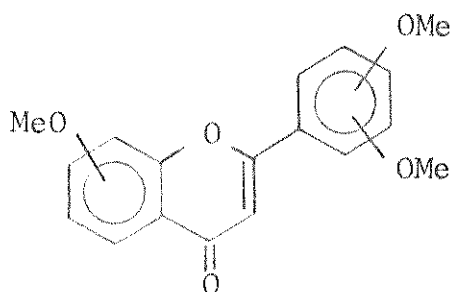
$$\frac{\epsilon_o \text{ (banda I)}}{\epsilon_o \text{ (banda II)}} = \frac{13.350}{12.435} = 1,07$$

Para crédito da estrutura flavônica, o espectro de RMN-¹H apresenta um singlete em δ 6,68 (1H) próprio de H-3 nestes compostos /65, 66/. Além destas considerações, o teste de solubilidade em ácido sulfúrico concentrado, dando uma solução amarelo-laranja /67/, ratifica a classificação, permitindo uma estrutura parcial 35 para o composto VS-10.

35

Os espectros de massa das flavonas, apresentam uma formação proeminente com intensidade relativa baixa, comparada ao íon molecular (M^+) pico base do espectro /67/. A fragmentação basicamente decorre de uma retro-Diels-Alder no anel heterocíclico, permitindo estabelecer os substituintes nos anéis A e B /68,69 /. O espectro de massa (E-14 , pág.119) do composto VS-10 apresenta um pico em m/e 151 (8,6%) fragmento a, (Esquema-5) o qual sugere o anel A sustentando uma metoxila e pico em m/e 162 (14,3%) fragmento b, o anel B sustentando duas metoxilas.

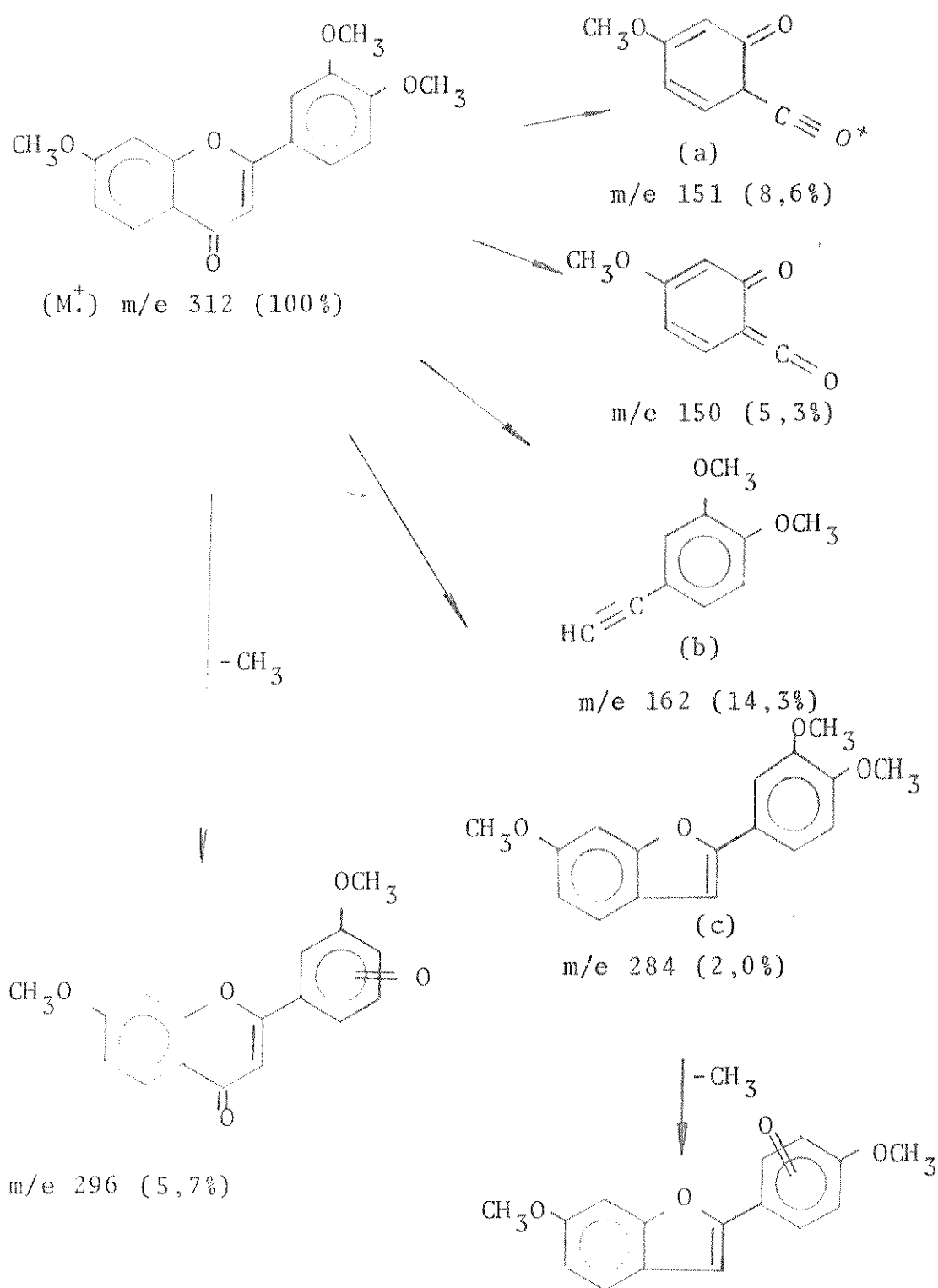
A possibilidade de uma substituinte no C-3 é excluída pela atribuição bem caracterizada de um próton nesta posição, como foi mencionado anteriormente. Estas considerações nos conduz a estrutura 36

36

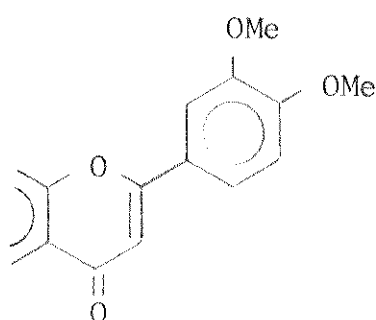
Congruente com esta proposição, o espectro de UV exhibe a banda I com dois picos e a banda II com um pico e uma inflexão, características de flavonas com C-3' e C-4' sustentando grupos metoxílicos /64/. Uma evidência adicional destes substituintes nes-

ESQUEMA - 5

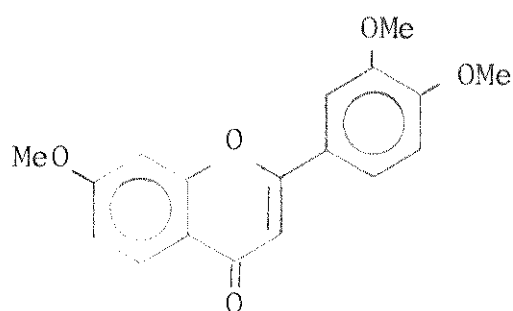
Fragmentação de 7,3',4'-Trimetoxiflavona



tas posições, é apresentada no espectro de RMN- ^1H , através dos sinais em δ 7,55 (1H, dd, $J=9,0$ e $2,0$ Hz) atribuído a H-6', pertencente a um sistema ABX, integrado pelos sinais em δ 7,37 (1H, d, $J=2,0$ Hz) para H-2' e em δ 7,0 (1H, d, $J=9,0$ Hz) para H-5'/70, 73/, conforme estrutura parcial 37

37

Neste último espectro, o próton de mais fácil atribuição é H-5, o qual apresenta os sinais mais desprotegidos do espectro: δ 8,17 (1H, d, $J=9,0$ Hz), exigindo para este acoplamento, um substituinte em relação meta, isto é, o que exige uma metoxila em C-7. Os sinais em δ 7,05 (1H, dd, $J=9,0$ e $2,0$ Hz) e 7,00 (1H, d, $J=2,0$ Hz), foram correlacionados aos prótons H-6 e H-8 respectivamente, compondo um sistema de acoplamento tipo ABX no anel A /72/. Estas considerações nos conduz ao composto 7,3',4'-trimetoxiflavona (58).

38

O ponto de fusão, rotação ótica e os dados espectrais de VS-10, comparados aos registrados na literatura para 7,3',4'-trimetoxiflavona /73,74/, confirmaram sua identificação.

TABELA 1

Composto	Aditivo	$\lambda_{\max}(\epsilon_o)$ nm	Solvente
VS-11	neutro	237(15.264), 300(12.059) e 337(14.679)	EtOH
	Sol.NaOH-1N	235(13.975), 307(8.970) e 380(11.950)	EtOH
	Sol.HCl-1N	237(15.260), 307(12.060) e 337(14.980)	EtOH
	Sol.AlCl ₃ -conc.	237(15.260), 307(11.965) e 337(12.385)	MeOH
	Sol.AcONa	237(15.260), 307(12.090) e 337(12.682)	MeOH
VS-10	Neutro	237(12.435), 300(11.080) e 337(13.350)	EtOH
	Sol.NaOH-1N	237(12.243), 300(9.145) e 337(17.430)	EtOH
	Sol.HCl-1N	237(11.438), 300(11.075) e 337(12.310)	EtOH

VS-11 (Titonina)

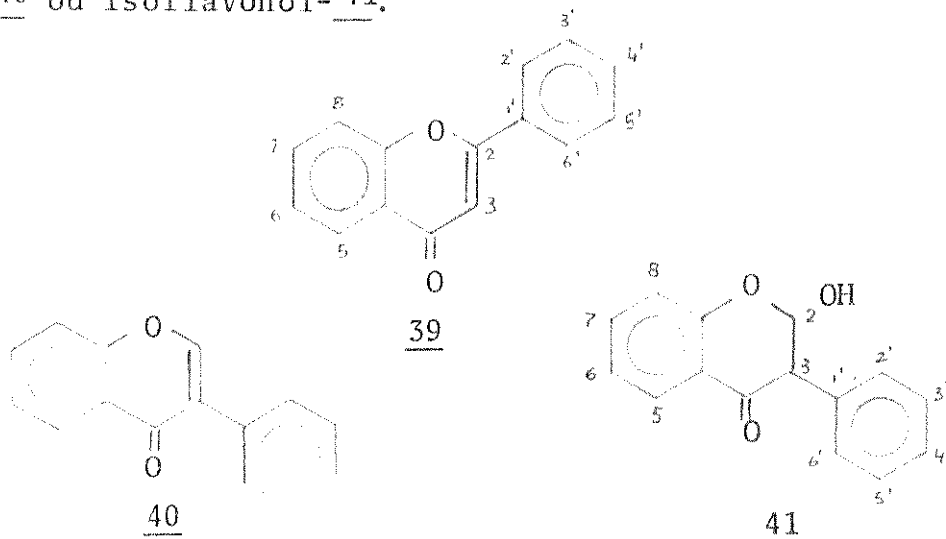
O composto VS-11, recristalizado em metanol, apresentou ponto de fusão 197,0-198,1°C e peso molecular 298 u.m.a. obtido por espectrometria de massa. Os testes positivos utilizando reagentes de Dragendorff e Mayer, sugeriam tratar-se de um alcalóide. Estes falsos-testes /60/ só permitiram uma correta interpretação, após análise elementar de VS-11, condizente com a fórmula $C_{17}H_{14}O_5$.

O espectro de IV (E- 17, pág.121) apresenta bandas de absorção em 3.550 cm^{-1} , característica do estiramento de -OH 2.850 e 1.250 cm^{-1} próprias de ν C-H e C-O-C em metoxila aromática e em 1.625 cm^{-1} atribuída a carbonila conjugada /47,48/.

O espectro de absorção no UV (E-16 , pág.120) apresenta deslocamento batocrômico da banda em 337 nm com adição de duas gotas de solução aquosa de NaOH (20%) tabela-3, reforçando a presença de grupo hidroxila fenólico. A acetilação de VS-11 em meio

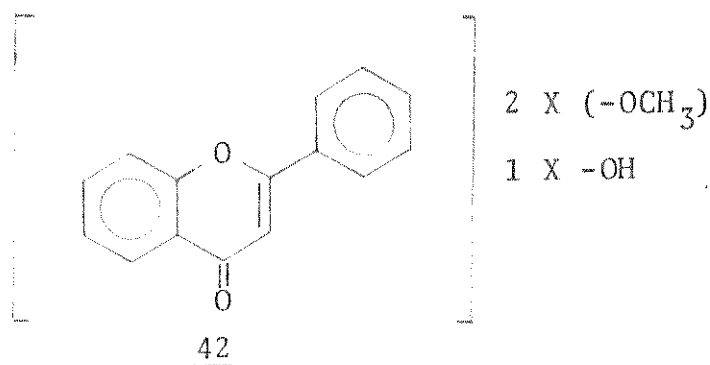
a anidrido acético e piridina, produzindo (VS-11)Ac, foi acompanhada pelo espectro de IV (E-12 , pág.118) que mostrou bandas em 1.765 e 1.630 cm^{-1} , a primeira, característica do estiramento C=O de éster, observando-se ainda neste espectro, a ausência de bandas para hidroxila. No espectro de RMN- ^1H (E-19 , pág.122) do composto (VS-11)Ac, o singlete registrado em δ 2,40 para três prótons de um grupo acetato, está de acordo com o espectro de massa (E-20 , pág.123) que apresenta o pico do íon molecular (M^+) em m/e 340 (52,0 %), ratificando a monoacetilação e estabelecendo a presença de um único grupo hidrofílico no composto VS-11.

O espectro de RMN- ^1H (E-18 , pág.122) do composto VS-11 apresenta dois singletos em δ 4,00 e 3,98 três prótons cada, atribuídos a dois grupos metoxila aromáticas, confirmando as informações obtidas no espectro de IV, permitindo expandir a fórmula molecular para $\text{C}_{15}\text{H}_7\text{O}_2 (\text{OMe})_2\text{OH}$, o que nos leva a um esqueleto básico bisarilpropanóide /62,63/ correspondente a flavona 39, isoflavona-40 ou isoflavonol-41.



O espectro de UV do composto VS-11 em meio neutro, exibe três bandas de absorção em 227 (banda II), 300 e 337 nm (banda I) tabela-3, sugerindo tratar-se de uma flavona-39 ou isoflavona-40, devido a elevada intensidade da banda I característica de flavonas /64/ e pela razão entre o ϵ_0 das bandas I e II, menor do que a unidade, que pode ser atribuída a flavonas ou isoflavonas /71/.

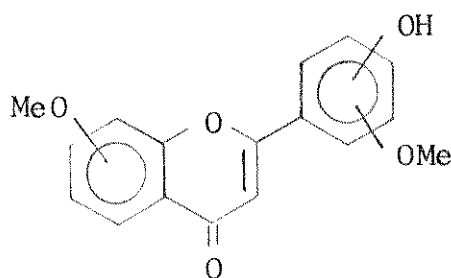
O espectro de massa (E-13, pág.119) do composto VS-11 apresenta os seguintes picos em m/e 298 (M^+ , 100%), 270 (M-CO, 38%) 148(8,8%) e 135 (M-CO/2e, 12%), todos característicos de fragmentação de flavonas /46/. Estes indícios são ratificados pelo singlete em δ 6,67 (1H) no espectro de RMN- 1H , atribuído a H-3, próprio desta classe de compostos /72/, por outro lado, a ausência de um sinal simples na região de δ 7,73-8,37 para prótons em C-2 de isoflavonas /65, 72/, reforça a exclusão de VS-11 desta classe de compostos, em acordo, a banda de absorção em 1.625 cm^{-1} no espectro de IV, é atribuída ao estiramento da carbonila flavônica /77/. Portanto, os dados analisados até o presente, nos conduz a estrutura parcial-42.



O teste de confirmação com H₂SO₄ concentrado em solução de VS-11, efetuada posteriormente, reforçou a estrutura flavônica indicada pela análise espectral /78/.

Os picos de maior intensidade relativa, apresentados no

espectro de massa do composto VS-11, são decorrentes de fragmentação originada de uma retro-Diels-Alder (esquema-6), através do qual, torna-se fácil definir a posição dos substituintes nos anéis A e B ou heterocíclico /68/. Assim, por meio do fragmento a (m/e 151 (28%)), concluímos que o anel A é monometoxilado, e a partir do fragmento b (m/e 148 (9,0%)), o anel B bissubstituído por um grupo hidroxila e um metoxila, conforme estrutura parcial 43.



43

O espectro de UV de VS-11 apresenta o mesmo cromóforo do composto VS-10, atribuído a substituição em 3' e 4' por grupos -OR (R=H ou Me) /64/. A substituição do anel B, é melhor evidenciada através da comparação dos espectros de RMN-¹H de VS-11 e de seu derivado acetilado (VS-11)Ac que permitiu visualizar a desproteção induzida naquele anel pela presença do grupo acetato, (tabela-2). O espectro RMN-¹H do composto VS-11, apresenta sinais em δ 7,60 (1H, ddd, J=9,0 e 2,0 Hz) para H-6' e em δ 7,50 (1H, d, J=2,0 Hz) para H-2' /79/, assim atribuídos, por serem estes prótons os que sofrem maior efeito da conjugação da carbonila do anel pirônico, como também, o efeito anisotrópico deste grupo e da dupla ligação $\Delta^{(2-3)}$. No espectro de RMN-¹H do composto (VS-11)Ac os sinais de H-6' e H-2' são observados em δ 7,80 (1H, dd, J=9,0 e 2,0 Hz) e em δ 7,70 (1H, d, J=2,0 Hz) respectivamente. O sinal em δ 7,06 (1H, dd, J=9,0 e 2,0 Hz) foi atribuído ao próton H-5' do com

ESQUEMA - 6

Fragmentação de 3'-OH-7,4'-dimetoxiflavona

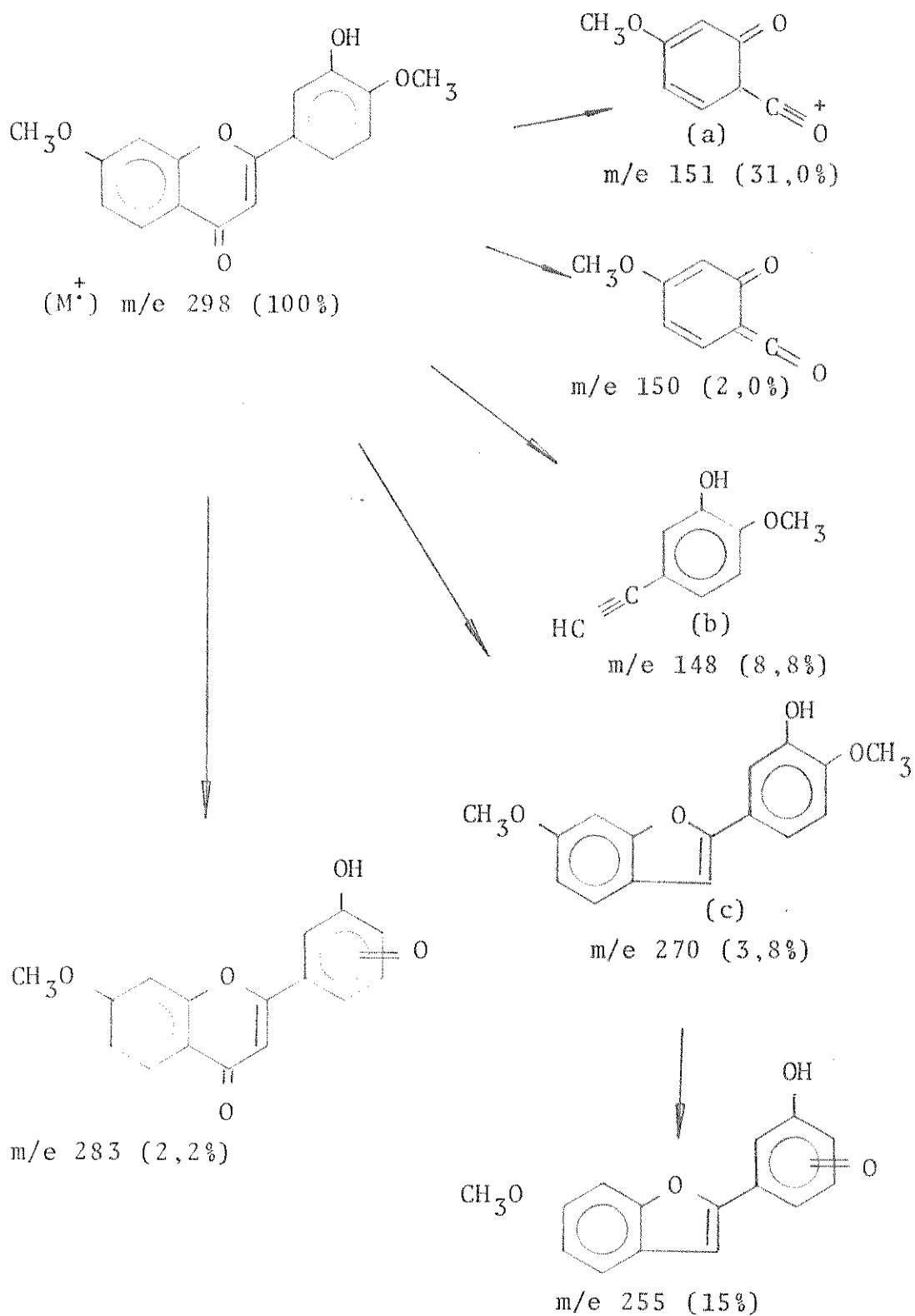
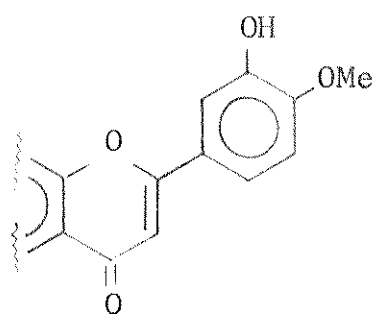


TABELA 2

Próton	VS-11*		(VS-11)Ac*		VS-10*		(VS-11)Me*		3-Metoxiflavona*	
	δ	J(Hz)	δ	J(Hz)	δ	J(Hz)	δ	J(Hz)	δ	J(Hz)
H-3	6,67	-	6,68	10,0	6,65	-	6,65	-	-	-
H-5	8,27	10,0	8,17	10,0	8,17	10,0	8,17	10,0	8,16	
H-6	7,60	10,0 e 2,0	7,07	10,0 e 2,0	7,05	10,0 e 2,0	7,05	10,0 e 2,0	7,00	
H-8	6,93	2,0	6,95	2,0	6,95	2,0	6,95	2,0	6,90	
H-2'	7,50	2,0	7,70	2,0	7,37	2,0	7,37	2,0		
H-6'	7,02	9,0 e 2,0	7,80	9,0 e 2,0	7,55	9,0 e 2,0	7,55	9,0 e 2,0		
CH ₃ -O-Ø	4,00 e 3,98	-	3,97	-	4,00 e 3,98 3,96	-	4,00 e 3,98 3,96	-		
Ac-O-Ø	-	-	2,40	-	-	-	-	-		
Ø-OH	6,47	-	-	-	-	-	-	-		

* Todos espectros de RMN-¹H em CDCl₃ (TMS)

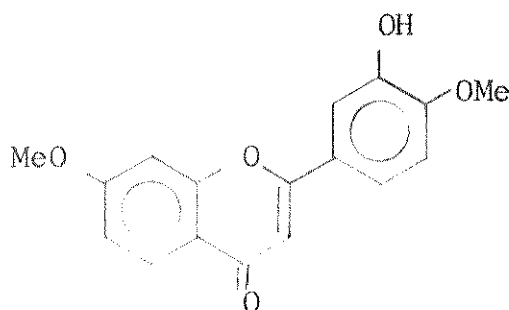
posto VS-11, complementando o sistema de acoplamento ABX, conforme estrutura parcial 43a.



43a

A flavona que sustentam hidroxila em C-4', ionizam-se com acetato de sódio, usado como aditivo no espectro de UV, resultando num deslocamento batocrômico /79/, e como tal comportamento não foi observado em VS-11 (tabela-2), foi reforçada a presença do grupo hidroxila em C-3'.

O sinal em δ 8,27 (1H,d,J=10,0 Hz) registrado no espectro de RMN- ^1H de VS-11, é típico de H-5, e o seu acoplamento tipo AB de um sistema ABX, nos levaram a posicionar o único substituinte do anel A, grupo metoxila, em C-7. Os sinais em δ 7,02 (1H,dd, J=10,0 e 2,0 Hz) para H-6 e em δ 6,93 (1H,d,J=2,0 Hz) atribuído a H-8, reforçam aquela proposição conduzindo à estrutura 44 do composto titonina



44

Os dados obtidos para VS-11, estão em acordo com os existentes na literatura para o composto 3'-OH-7,4'-dimetoxiflavona("tithonine") /73/. Uma evidência adicional da identidade entre VS-11 e tithonina foi realizada através da esterificação de VS-11 em solução etérea com excesso de diazometano, produzindo o composto (VS-11)Me idêntico a VS-10, confirmado através dos seus dados espectrais e ponto de fusão em mistura.

CAPÍTULO - 3

CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE O. PLATYSPERMUM

3.1. PRINCIPAIS CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE O.PLATYSPER- MUM

As separações cromatográficas do extrato hexânico das folhas de O.platyspermum (pág.100) resultaram no isolamento de seis substâncias: dois sesquiterpenos, codificados como OP-1 e OP-2, e quatro diterpenos que receberam as siglas OP-3, OP,4,OP-5 e OP-6, sobre as quais passamos a tecer considerações acerca de suas estruturas com base em suas constantes físicas e dados espectrais.

OP-1 - (Espatuleno1)

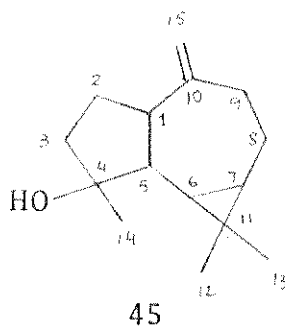
O espectro de absorção no IV (E-24 , pág.125) do composto oleoso OP-1 apresenta bandas em 3.410 e 1.150 cm^{-1} , características do estiramento O-H e C-O de grupo hidroxílico terciário, em 3.080, 1.630 e 890 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento C-H e C=C em grupo metileno terminal, e em 1.380 cm^{-1} , uma absorção típica de um grupo gem-dimetila /47,48 /.

Na análise do espectro RMN- ^1H (E-22 , pág.124), o sinal observado δ 4,62 (2H, b1) indica a presença de um grupo metileno terminal, já observado no espectro de IV. Os três sinais simples registrados em δ 1,03, 1,05 e 1,25, três prótons cada, estão relacionados a três grupos metila quaternários.

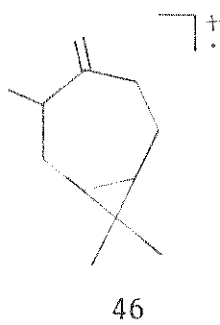
A presença de um grupo hidroxílico terciário foi reforçada pelas tentativas infrutíferas de acetilação em meio a um excesso de anidrido acético e piridina bem como pelo singlete em δ 1,25 (3H), registrado no espectro de RMN- ^1H próprio de metila quaternária ligada a oxigênio.

O espectro de massa (E- 26 , pág.126) revelou um peso molecular de 220 u.m.a., que em conjunto com a contagem do número

de hidrogênio, efetuada no espectro de RMN- ^1H e com os dados obtidos até o presente, levou-nos à fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ para OP-1. Esta substância, por conseguinte, deve conter quatro insaturações (índice de deficiência de hidrogênio) e com base na biogênese /80/, um esqueleto sesquiterpênico tricíclico tipo aromadendrano /81/ conforme estrutura 45.



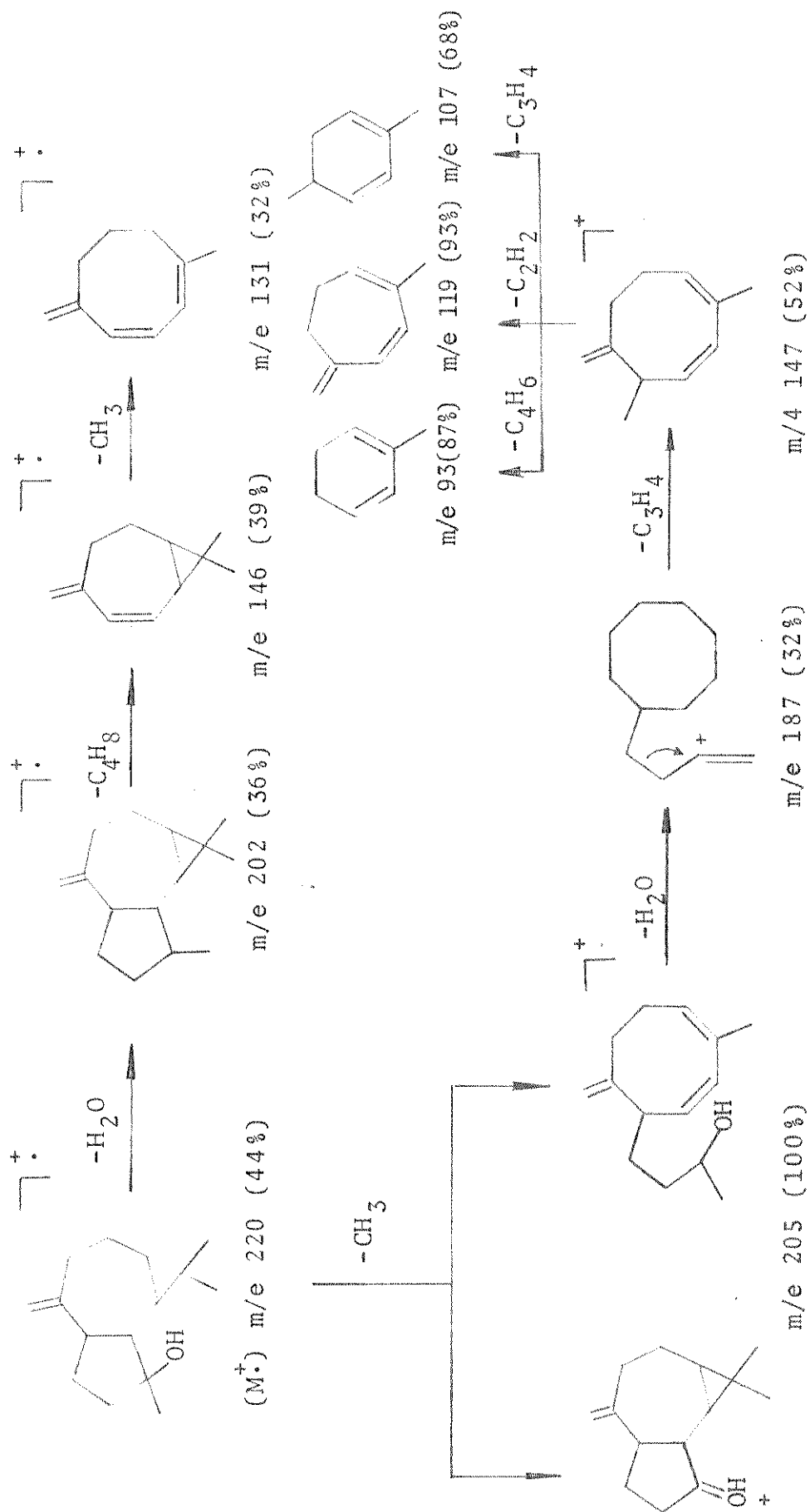
Os sinais em δ 0,48 (1H, dd, $J=16,0$ e $10,0$ Hz) observados no espectro de RMN- ^1H , foram atribuídos ao próton em C-6 do anel ciclopropano /82/. Por outro lado, o espectro de massa ($E=26$, pág. 126) apresenta o pico em m/e 146 (39%) que sugere a formação do íon 46, originado possivelmente conforme a proposta de fragmentação apresentada no esquema-7. Estas considerações reforçam a estrutura 45 para o composto OP-1.

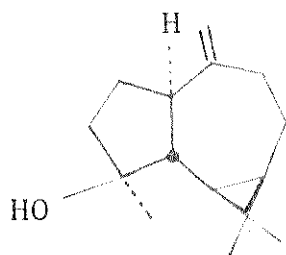


A revisão na literatura nos levou a constatar que os dados espectrais obtidos para OP-1, coincidem com aqueles registrados para o (+) espatulenol (47) /83-85/.

ESQUEMA - 7

Proposta de fragmentação para o espatulenol





47

OP-2 (δ -cadinol)

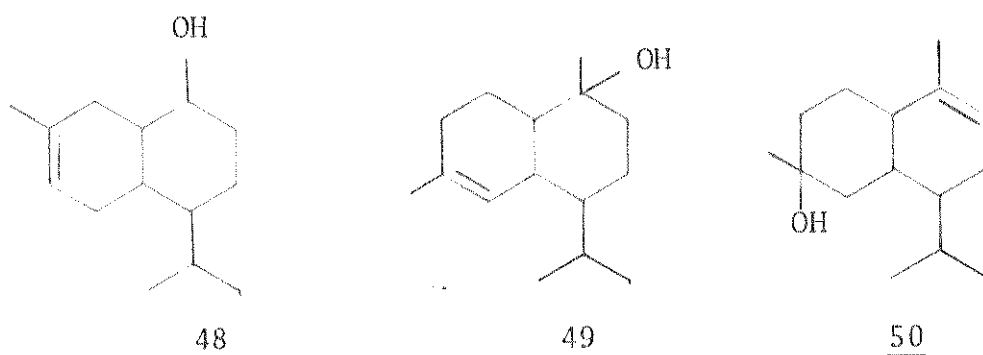
O composto OP-2 recristalizado em metanol, apresentou ponto de fusão $121,2 - 123,0^{\circ}\text{C}$. O seu espectro de absorção no IV (E-25 , pág.125) exibe bandas nas regiões de 3.300 e 1.120 cm^{-1} , características do estiramento O-H e C-O respectivamente de grupo hidroxílico terciário, em $3.020, 1.630$ e 860 cm^{-1} , atribuídas a $\nu\text{C-H}$ e $\nu\text{C=C}$ de ligação dupla trissubstituída, e em 1.380 cm^{-1} típica de grupo gem-dimetila /47,48/.

O espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (E-28 , pág.127) apresenta um sinal simples em $\delta\ 1,67$ (3H), próprio de grupo metila sobre ligação dupla. O pico largo mais desprotegido do espectro em $\delta\ 5,42$ (1H), é condizente com próton vinílico de uma ligação dupla tri-substituída, observada antes no IV.

As infrutíferas tentativas de acetilação do composto OP-2 em meio a anidrido acético e piridina sugeriram tratar-se de uma hidroxila terciária, como foi observado no espectro de IV. O singlete registrado em $\delta\ 1,25$ (3H) no espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ é característico de grupo metila quaternário em carbono ligado a hidroxila /57/, o que reforça a presença deste grupo.

A análise mais detalhada do espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ permitiu-nos observar dois dubletos ($J=6,5\text{ Hz}$) registrados em $\delta\ 0,81$ e $0,92$, três prótons cada, ratificando a presença de um grupo isopropila.

O espectro de massa (E-27 , pág.126) revelou um peso molecular de 222 u.m.a. para o composto OP-2, que em conjunto com a contagem do número de hidrogênios, efetuada no espectro de RMN- ^1H conduziu-nos a fórmula $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$, sugerindo um esqueleto sesquiterpênico como OP-1. O índice de deficiência de hidrogênio igual a três nesta fórmula, indica, além da ligação dupla já estabelecida, dois anéis alifáticos. Estas considerações e os dados encontrados na literatura sobre biogêneses de sesquiterpenos /87/, permitiram-nos a proposição de três possíveis estruturas sesquiterpênicas bicíclicas tipo cadinol 48, 49 e 50 /87,88 /.



Estas estruturas foram consideradas por Dauben e col./89/ que atribuíram ao próton H-4, os sinais em δ 5,42 (1H.s (1)) observados no espectro de RMN- ^1H (E-28 , pág.127) e através da constante de acoplamento entre este próton e H-5, estabeleceram a estrutura 49 para o composto δ -cadinol, considerando um ângulo diedro ϕ de -90° (fig. 1) com base na equação de Karplus /90/ indevidamente usada, contrariando o ângulo de -0° esperado para uma constante de acoplamento J^π /90/, conforme fig. 2.

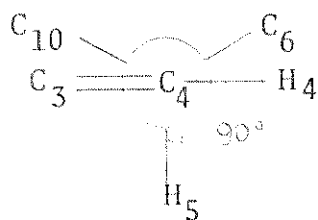


Fig. 1

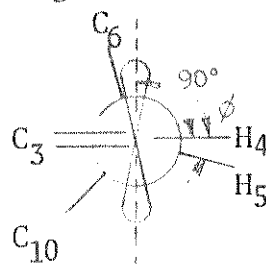
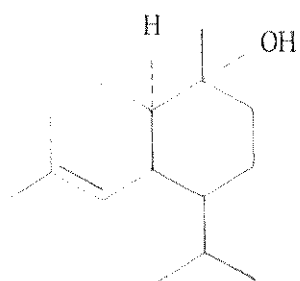
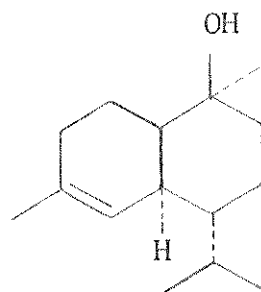
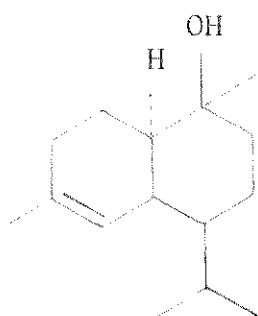
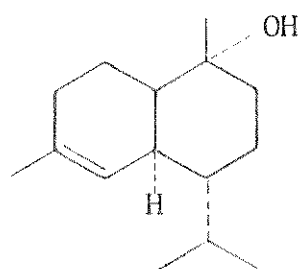


Fig. 2

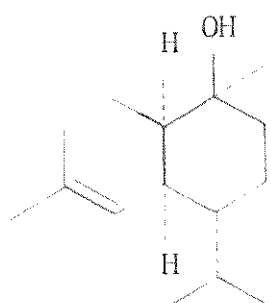
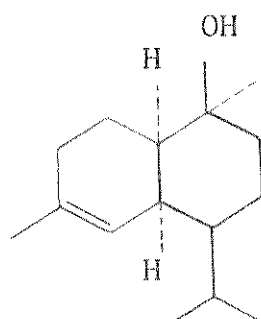
QUADRO - 4

Isômeros do δ -cadinol(-) α -cadinol49a(+) α -cadinol49b

(-) T-cadinol

49c

(+) T-cadinol

49d(+) δ -cadinol49e(-) δ -cadinol49f

A revisão da literatura permitiu-nos constatar a existência de seis estereoisômeros da estrutura 49, isolados diretamente da natureza (Quadro-4). O ponto de fusão, rotação óptica e os dados espectrais (incluindo RMN- ^{13}C) do composto (+) δ -cadinol (49e), registrados na literatura /91,92/, comparados aos do composto OP-2, permitiram-nos efetivar sua identificação. Um estudo conformacional através de RMN- ^{13}C é apresentado no capítulo IV.

OP-3 (Ácido(-) Kauran-16-en-19-oico)

O composto OP-3 recristalizado em metanol, apresentou ponto de fusão 172,1 - 172,9°C e peso molecular de 302 u.m.a. obtido por espectrometria de massa.

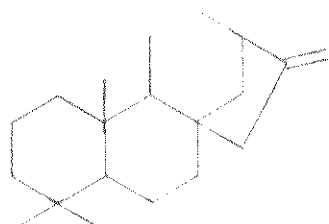
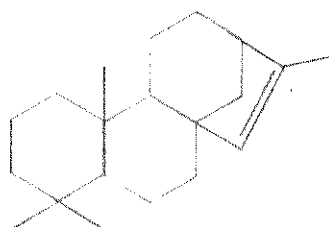
O espectro de absorção no IV (E- 31, pág.129) apresenta bandas em 3.500-2.300 cm^{-1} (ν -OH), 1.690 e 1.255 cm^{-1} , características do estiramento de C=O de ácido carboxílico, e em 3.070 , 1.650, 1.415 e 870 cm^{-1} , atribuídas a grupo metileno terminal /47,48/.

Na análise do espectro de RMN- ^1H (E-30 , pág.128) observou-se dois singletos em δ 1,25 e 0,97 (três prótons cada), atribuídos a dois grupos metila quaternários. A banda larga registrada em δ 4,80 (2H) é própria de prótons metilênicos exocíclicos e reforça a presença deste grupo indicado pelo espectro de IV.

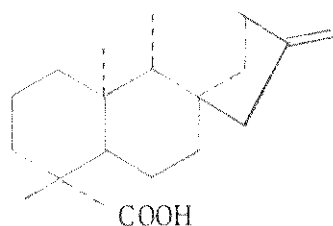
A esterificação de OP-3 em solução etérea com diazometano (pág.107) produziu o composto (OP-3)Me, cujo espectro de massa (E-35 , pág.131) registrou o íon molecular em m/e 316, indicando acréscimo de 14 u.m.a. a partir de OP-3, relacionada com a introdução de um grupo metila. O espectro de RMN- ^1H (E-31a , pág. 128) do composto (OP-3)Me está de acordo com a monoesterificação, indicada pelo singlete em δ 3,65 (3H). Por outro lado, o espectro de IV (E-32 , pág.129) deste derivado apresenta uma banda de absor-

ção em 1.720 cm^{-1} , característica do estiramento da carbonila de éster.

A contagem do número de hidrogênios através do espectro de RMN- ^1H do composto OP-3 e os dados obtidos até o presente, nos conduzem a fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$, apresentando portanto o índice de deficiência de hidrogênio igual a seis, sugerindo um esqueleto di-terpênico tetracíclico do tipo kauranico como 50 ou 51 /93/.

5150

A estrutura 50 é facilmente descartada por não apresentar grupo metileno terminal, já caracterizado através dos espectros de IV e RMN- ^1H . Por outro lado, os sinais simples em δ 2,06 (2H) foram atribuídos aos prótons em C-15, e o sinal largo em δ 2,65 (1H) a H-13. Estas absorções realizadas no espectro de RMN- ^1H do composto OP-3 sugeriram a presença do grupo metilenoterminal em C-16(17), reforçando assim a estrutura 51. A variação dos deslocamentos químicos apresentados pelos grupos metílicos quaternários dos compostos OP-3 e (OP-3)Me, sugeriram o grupo carboxila em C-4 axial /94/. Estes dados nos levam ao ácido(-) kauran-16-en-19-oico (52).

52

Os dados espectrais e as constantes físicas do ácido (-) kauran-16-en-19-oico registrados na literatura /94,95/, comparados aos do composto OP-3, permitiram sua identificação.

OP-4 ((-) kauran-16-en-19-al)

O espectro de absorção no IV (E-38 , pág.132) apresentou bandas em 3.060, 1.660 e 880 cm^{-1} , atribuídas a grupo metileno terminal, e em 2.820, 2.720 e 1.720 cm^{-1} , características do estiramento C-H e C=O de aldeído /47,96/.

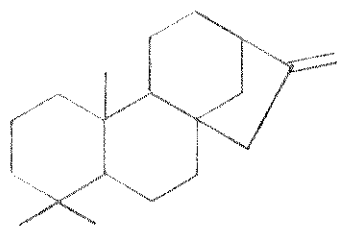
Os dois singletos em δ 0,90 e 0,97 (três prótons cada) observados no espectro de RMN- ^1H , foram atribuídos a dois grupos metílicos quaternários, e o sinal largo em δ 4,78 (2H) ratifica a presença de um grupo metilênico exocíclico. O dubleto ($J=2,0$ Hz) registrado em δ 9,43 (1H) foi atribuído a próton aldeídico /97/.

A instabilidade do composto OP-4 foi constatada várias vezes através de CCD e ponto de fusão, após vários isolamentos e purificações (pág.101).

A redução do composto OP-4 foi realizada com hidreto de lítio e alumínio (pág.100) produzindo o composto (OP-4)01 , o qual apresentou bandas de absorção no espectro de IV (E-37 , pág. 132) em 3.400 cm^{-1} característica do estiramento O-H de grupo hidroxila, observando-se ausência de bandas na região de 1.720 cm^{-1} para carbonila aldeídica. O espectro de RMN- ^1H (E-56 , pág. 141) do composto (OP-4)01 também não apresentou sinais para prótons aldeídico, observando-se dois singletos em δ 1,0 e 0,95, três prótons cada, atribuídos a dois grupos metila.

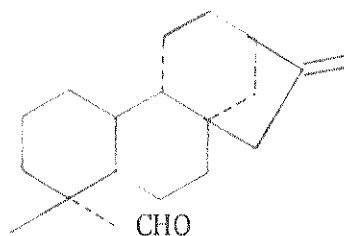
O composto (OP-4)01 apresentou peso molecular de 288 u.m.a. obtido por espectrometria de massa, condizente com a fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$ e portanto, com cinco insaturações (índice de deficiência de hidrogênio), que em conjunto com os dados espectrais suge-

riram um esqueleto diterpênico tetracíclico do tipo kaurênico 51 /93/, como o composto OP-3



51

A formação proeminente apresentada pelo espectro de massa (E-33 , pág.130) do composto (OP-4)01 reforça a proposição de um esqueleto tipo kaurênico para o composto OP-4 /98/. Por outro lado, os deslocamentos químicos dos grupos metílicos observados nos espectros de RMN- ^1H dos compostos OP-4 e (OP-4)01 já referidos, sugerem a posição de grupo aldeído axial em C-4 /94/, conforme estrutura 53.



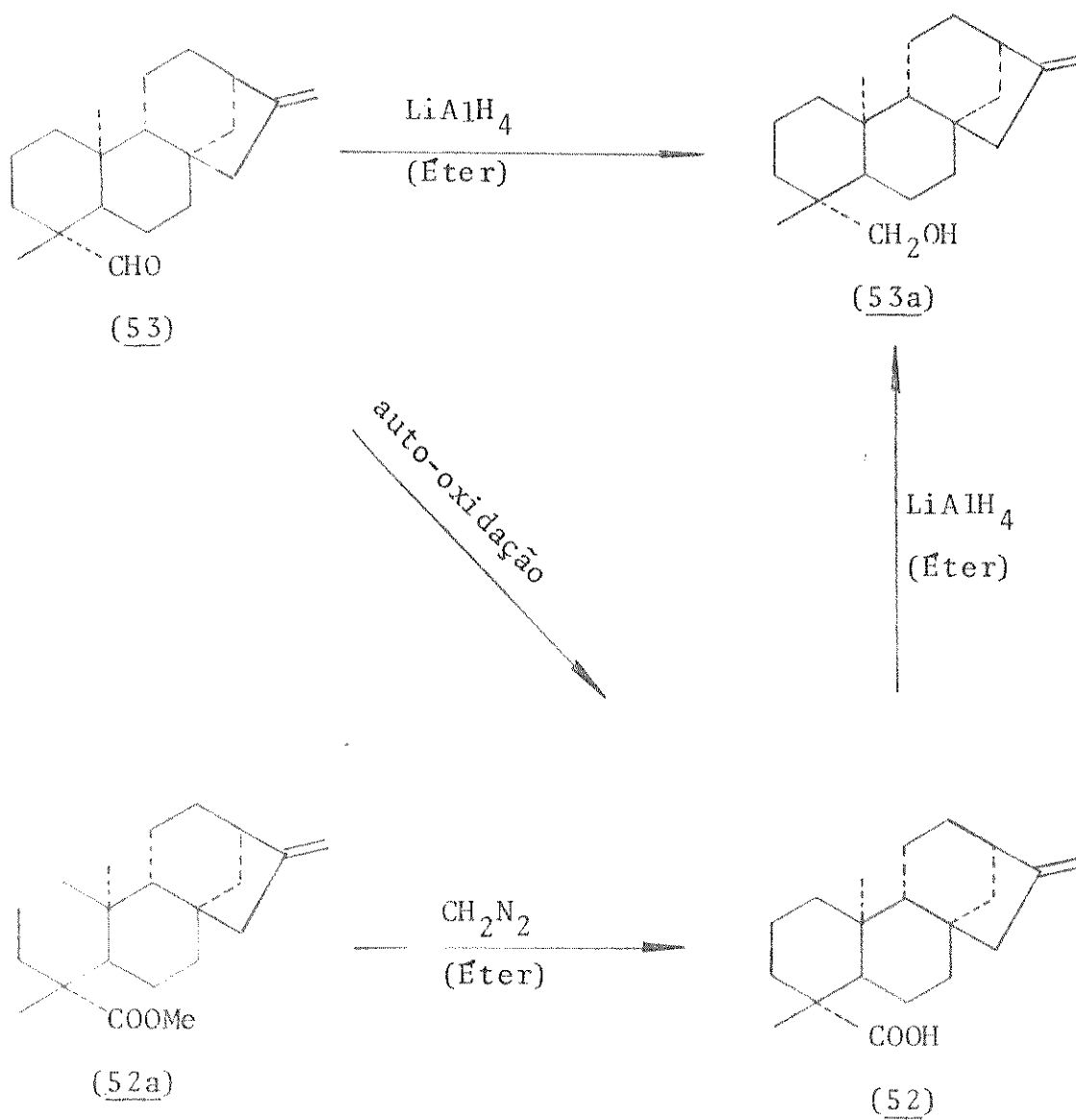
53

Os sinais observados em δ 9,43 (1H, d, $J=2,0$ Hz) no espectro de RMN- ^1H do composto OP-4 é característico de próton aldeídico em C-4 axial /99/, reforçando assim a estrutura do composto (-) kauran-16-en-19-al para o composto OP-4.

Outras evidências foram constatadas através da redução do composto OP-3 (52) com hidreto de lítio e alumínio (pág.108), produzindo o composto (OP-3)01 conforme esquema-8, o qual apresen

ESQUEMA - 8

Reação de interconversão dos compostos (53) e (52)



tou os espectros de IV, RMN- ^1H e EM, idênticos aos do composto (OP-4)01.

Os dados espectrais e as constantes físicas do composto OP-4 comparados aos registrados na literatura do composto (-) kauran-16-en-19-al /100/, confirmaram sua identificação. A presença deste composto nas folhas de O.platyspermum, permitiu confirmar sua auto-oxidação à ácido (-) kauran-16-en-19-oico, determinada anteriormente por Tanaka e col. /101/.

OP-5 (Eperu-13-en-8(β), 15-diol)

O composto OP-5 recristalizado em metanol, apresentou ponto de fusão 121°C e peso molecular de 308 u.m.a., obtido por espectrometria de massa.

Na análise do espectro de absorção do IV (E- 42 , pág. 134) observou-se uma banda larga em 3.250 cm^{-1} , característica do estiramento de grupo hidroxila (-OH), em 1.670 e 790 cm^{-1} bandas atribuídas ao estiramento C=C e C-H de ligação dupla trissubstituída, e absorção em 1.380 cm^{-1} típica de grupo gem-dimetila /47, 48/.

A acetilação do composto OP-5 em anidrido acético e piridina (pág.109), resultou em (OP-5)Ac. Este derivado apresentou no seu espectro de IV (E-41 , pág.134) uma única banda em 1.740 cm^{-1} , própria do estiramento da carbonila de grupo acetato, permanecendo na região de 3.250 cm^{-1} uma banda larga já atribuída a grupo hidroxila, confirmando assim, a presença de pelo menos dois grupos hidroxílicos no composto OP-5. O espectro de massa (E-43 , pág.135) do composto (OP-5)Ac apresenta o íon molecular em m/e 350 e portanto, 42 u.m.a. acima do peso molecular de OP-5, relacionada com a introdução de um grupo acetato, confirmado pelo o RMN- ^1H (E-40 , pág.133) deste derivado, que apresenta um singlete

em δ 2,0 (3H) característico daquele grupo.

Foi ratificado no espectro de RMN- ^1H a presença de uma ligação olefínica, por intermédio do tripleto ($J=7,0$ Hz) centrado em δ 5,47 (1H). O emprego da técnica de dupla irradiação permitiu simplificar o dubleto ($J=7,0$ Hz) apresentado em δ 4,22 (2H), quando foi efetuado irradiação na região de δ 5,47, confirmando assim o seu acoplamento. Por outro lado, o singlete em δ 1,73 (3H, d, $J=1,5$ Hz) é típico de prótons metílicos de sistemas olefínicos (fig. 3). As informações obtidas até este momento sugerem a estrutura parcial 54.

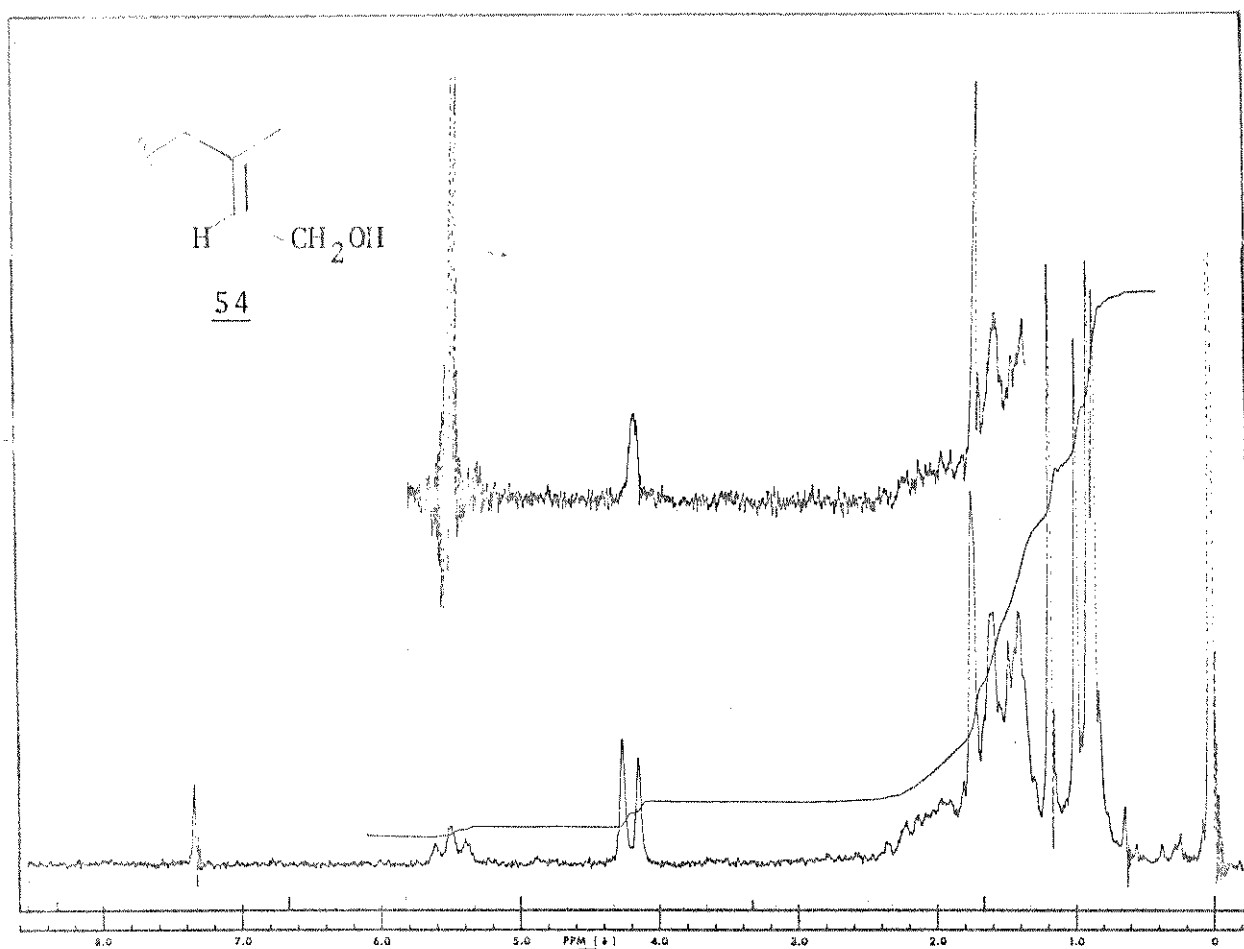
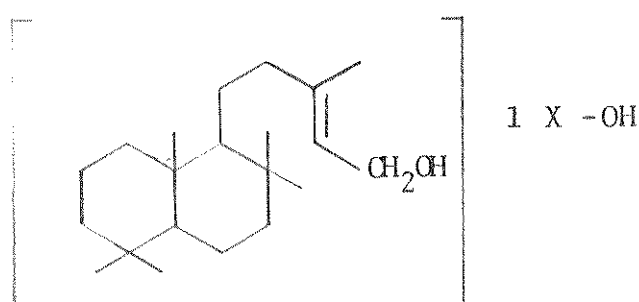


Fig. 3

Os sinais observados no espectro de RMN- ^1H em δ 0,83, 0,36, 0,96 e 1,24 três prótons cada, foram atribuídos a quatro grupos metila quaternários.

Na análise comparativa dos espectros de RMN- ^1H dos compostos OP-5 e (OP-5)Ac, apresentada na tabela-2, observa-se através dos deslocamentos químicos uma desproteção nos prótons carbonílicos, assim como, uma diminuição do efeito anisotrópico diamagnético da ligação dupla sobre o próton olefínico. Estas considerações reforçam a proposição 54 /102/.

O peso molecular, a contagem do número de hidrogênio efetuada no espectro de RMN- ^1H e os dados obtidos até o presente, nos conduzem a fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_2$, cujo índice de deficiência de hidrogênio igual a três, sugere com base nas indicações encontradas na literatura sobre biogênese de diterpenos /103/, um esqueleto diterpênico tipo labdano 55.

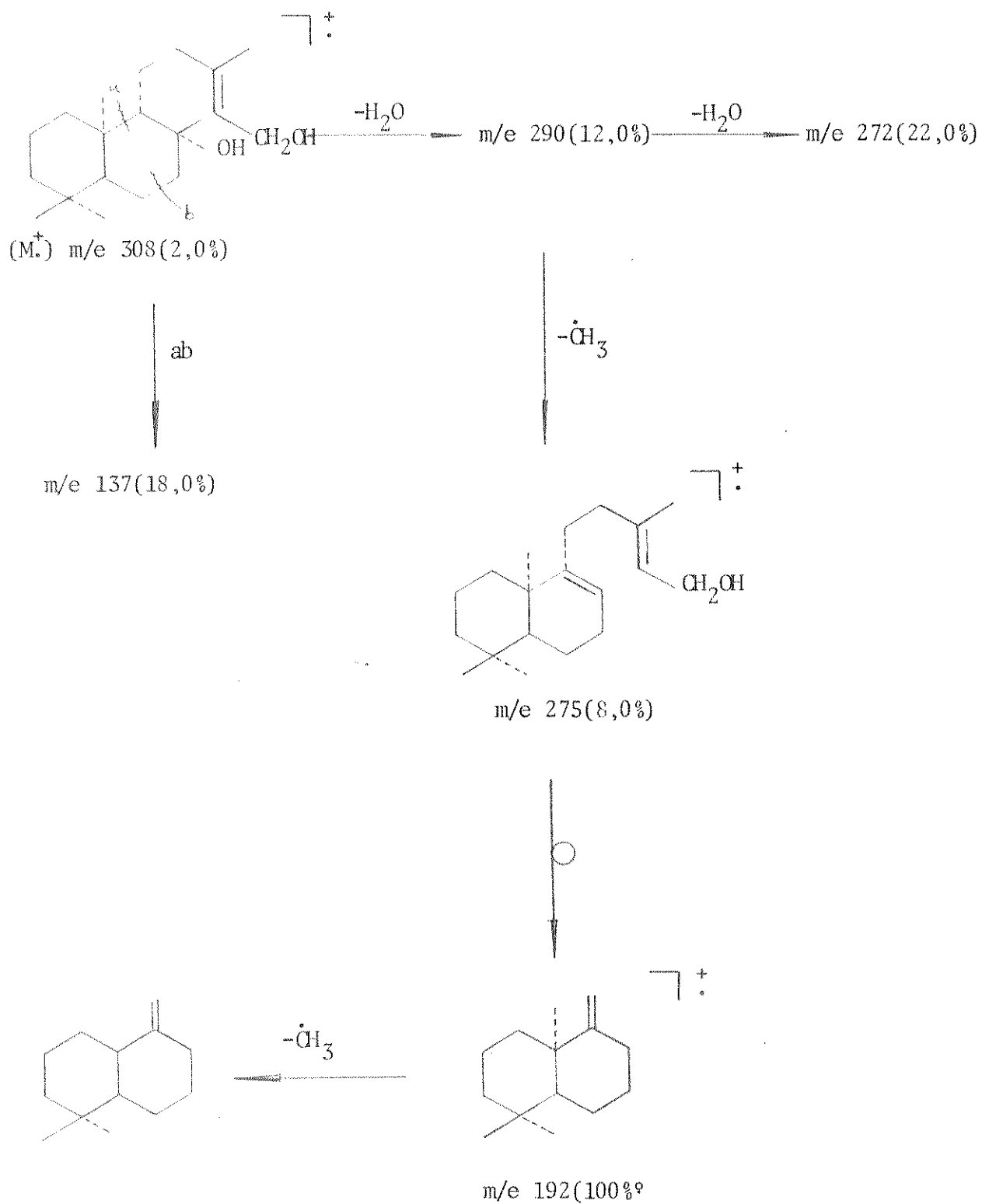


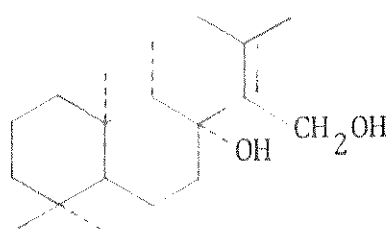
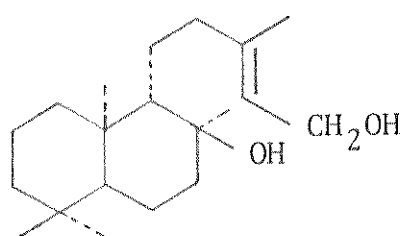
55

O sinal simples em δ 1,24 (3H) registrado no espectro de RMN- ^1H foi atribuído a um grupo metila em C-8, desprotegido pela presença de uma hidroxila ligada ao mesmo carbono /103/, cuja presença foi evidenciado pela acetilação, seletiva do composto OP-5, além de uma hidroxila primária. Estes dados e o valor negativo da rotação ótica $[\alpha]_D^{22} = -28,7$ ($c=1,01, \text{CHCl}_3$), nos levaram a deduzir que o composto OP-5 deveria pertencer a série anantiomérica dos compostos labdanólicos /104/, com uma das duas estruturas possíveis (56 ou 57) de acordo com o espectro de massa (E- 44, pág.135), que apresentou fragmentações atribuíveis aos compostos diterpênicos labdanólico-8-ol /105/, conforme esquema-9.

ESQUEMA - 9

Proposta de fragmentação de composto (54)



5657

Os deslocamentos químicos atribuídos aos grupos metílicos quaternários observados no espectro de RMN-¹H dos compostos OP-5 e (OP-5)Ac tabela-2, permitiram excluir a estrutura 55, uma vez que, estes dados são condizentes com uma hidroxila em C-8 axial /103/ como em 57.

Os dados espectrais, rotação ótica e o ponto de fusão do composto eperu-13-en-8(β),15-diol (57), encontrados na literatura /103,104/, comparados aos do composto OP-5 permitiram sua identificação.

TABELA- 2

Deslocamentos químicos (δ) do grupo metila de OP-5 e (OP-5)Ac								
Composto	Solvente	Me-17	Me-18	Me-20	Me-19	Me-16	H-15	H-14
OP-5	CDCl ₃	0,83	0,86	0,96	1,24	1,73	5,47	4,22
(OP-5)Ac	CCl ₄	0,83	0,86	0,95	1,13	1,77	5,22	4,59

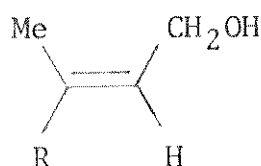
OP-6 (Eperu-8(20),13-dien-3(β),15-diol)

O composto OP-6 recristalizado em metanol apresentou ponto de fusão 159,2-160,9°C e peso molecular 306 u.m.a. obtido por espec

trometria de massa. (E-49, pág. 138).

Na análise do espectro de absorção no IV (E-47, pág. 137) observou-se uma banda larga em 3.320 cm^{-1} característica de grupo hidroxila em 3.070 , 1.640 e 885 cm^{-1} bandas atribuídas a grupo metileno terminal e absorção em 1.380 cm^{-1} , típica de grupo gem-dimetila /47,48/.

O espectro de RMN- ^1H (E-45, pág. 136) do composto OP-6 apresenta um tripleto ($J=7,0\text{ Hz}$) centrado em $\delta\ 5,40$ (1H) e um duplete ($J=7,0\text{ Hz}$) em $\delta\ 4,16$ (2H), semelhante aos exibidos no espectro de RMN- ^1H (E-39, pág. 133) do composto OP-5 e como tais, após aplicação da técnica da dupla irradiação foram também atribuídos a estrutura parcial 54, corroborado como naquele caso, pelo singlete em $\delta\ 1,73$ (3H) para grupo metila sobre dupla, indicada no espectro de IV, pelas bandas de absorção em 1.680 e 840 cm^{-1} atribuídas a ligação dupla trissubstituída /47/.



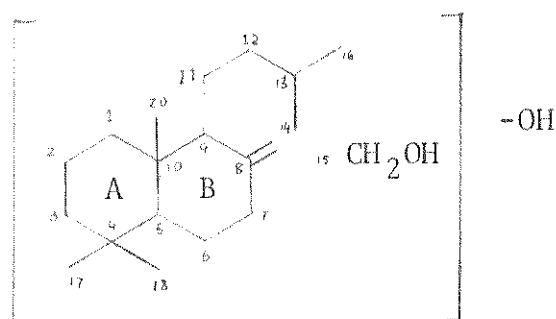
54

Os sinais simples em $\delta\ 0,73$, $0,83$ e $1,05$ três prótons cada, registrados no espectro de RMN- ^1H , foram atribuídos a três grupos metila quaternários. Por outro lado, a presença de um grupo metileno terminal foi reforçada pelos picos largos em $\delta\ 4,90$ (1H) e $4,85$ (1H), correspondentes aos dois prótons vinílicos deste grupo.

A presença de grupo hidroxila foi ratificada pela acetilação de OP-6 em excesso de anidrido acético e piridina (pág. 109) produzindo (OP-6)Ac, cujo espectro de massa (E-50, pág. 138) apre

senta o íon molecular (M^+) em m/e 390, condizente com a introdução de dois grupos acetatos no composto OP-6. Isto foi confirmado no espectro de RMN- 1H (E-51, pág.139) deste derivado através do singlete em δ 2,02 (6H) para os dois grupos metila de acetato, e no espectro de IV (E-48, pág.137), por intermédio da banda dupla na região de 1.740 cm^{-1} , atribuídas aos estiramentos das carbonilas destes, dos dois grupos. Estas considerações e a ausência de bandas de grupo hidroxila (ν O-H) na região de 3.300 cm^{-1} do espectro de IV de (OP-6)Ac, indicam a presença de apenas dois grupos hidroxila no composto OP-6.

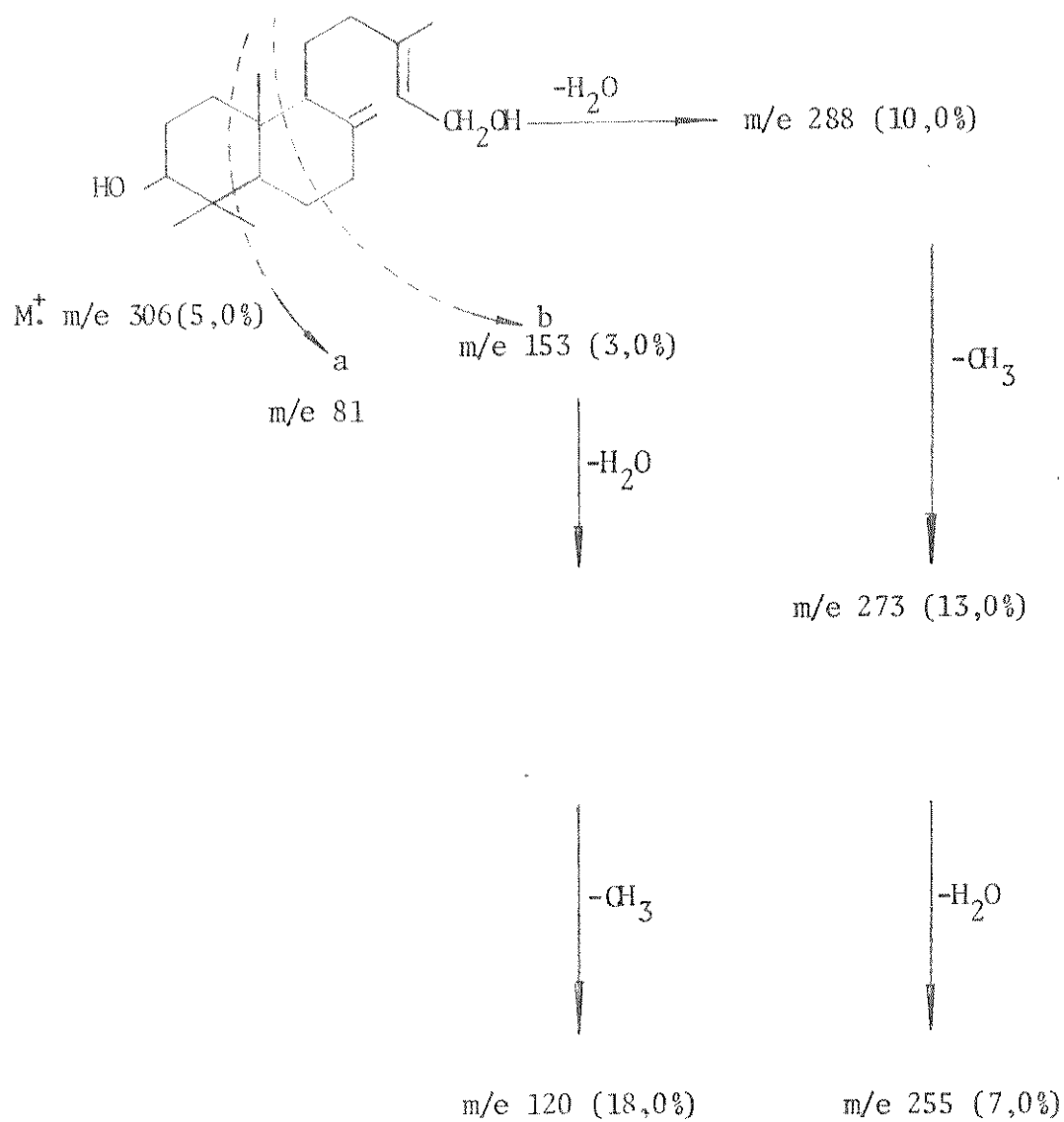
Os dados obtidos até o presente e a contagem do número de hidrogênio efetuada no espectro de RMN- 1H , nos conduzem a fórmula $C_{20}H_{34}O_2$ para o composto OP-6, apresentando por conseguinte, quatro insaturações (deficiência de hidrogênio) que em conjunto com as indicações sobre biogêneses de diterpenos /80/, sugeriram para este composto um esqueleto diterpênico tipo labdano, conforme estrutura parcial 58.



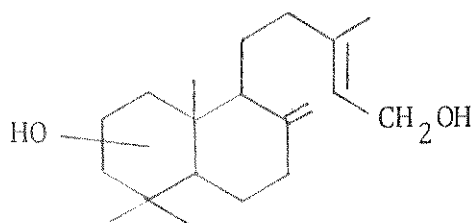
58

O espectro de massa do composto OP-6 apresenta o pico base em m/e 135, resultante da perda de 171 u.m.a. a partir do íon molecular, possivelmente decorrente das clivagens apresentadas no esquema-10, próprias desta classe de compostos /106,107,109/. Deste modo, o pico correspondente ao anel A com m/e 153, perde facilmente uma molécula de água resultando no íon com m/e 135 (100%).

ESQUEMA - 10
Fragmentação de OP-6



Estes indícios sugerem a presença de um grupo hidroxila no anel A do composto OP-6 (59).



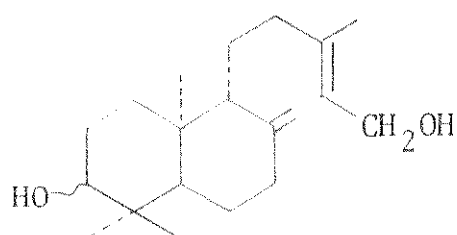
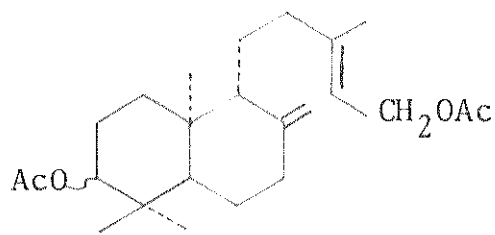
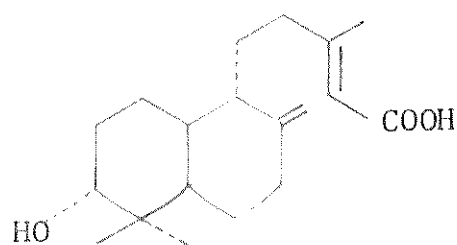
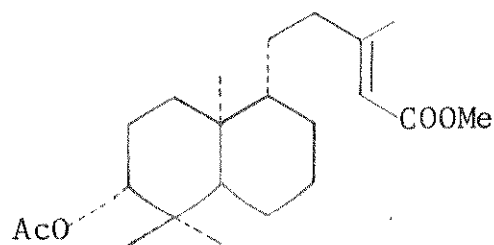
59

O composto OP-6 foi oxidado com reagente de Fetizon/108/ pág.110 produzindo o composto (OP-6)Al que apresentou bandas de absorção em 2.820 e 1.660 cm^{-1} , no espectro de IV (E-55 , pág. 141) atribuídas a (ν C-H e C=O) grupo aldeído. O espectro de massa (E-54 , pág.140) exibiu o íon molecular em m/e 304 (50,0%), pertiⁿente ao decréscimo de 2 u.m.a. a partir de OP-6, relacionada com a introdução de apenas um grupo aldeído, de acordo com o sinal ob^servado em δ 8,26 (1H,d,J=4,5 Hz) no espectro de RMN- ^1H (E- 52 , pág.139). A seletividade desta reação reforça a presença de uma hidroxila em C-15 e outra(secundária) no anel A do composto OP-6.

A existência de uma hidroxila em C-3 foi sugerida pelos deslocamentos químicos apresentados pelos grupos metila em C-17, C-18 e C-20 nos compostos OP-6, (OP-6)Ac, (60) e (61) (tabela- 3) observados através dos seus respectivos espectros de RMN- ^1H /109-111/.

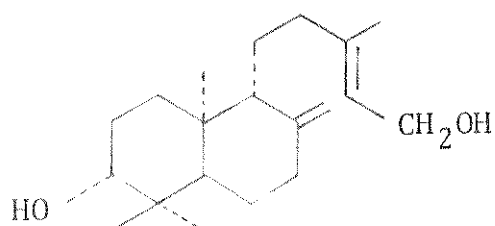
TABELA - 3

Deslocamentos químicos (δ) dos grupos metila			
composto	Me-17	Me-18	Me-20
OP-6	1,00	0,83	0,73
(OP-6)Ac	0,87	0,83	0,73
(<u>60</u>)	0,86	0,83	0,73
(<u>61</u>)	0,87	0,83	0,72

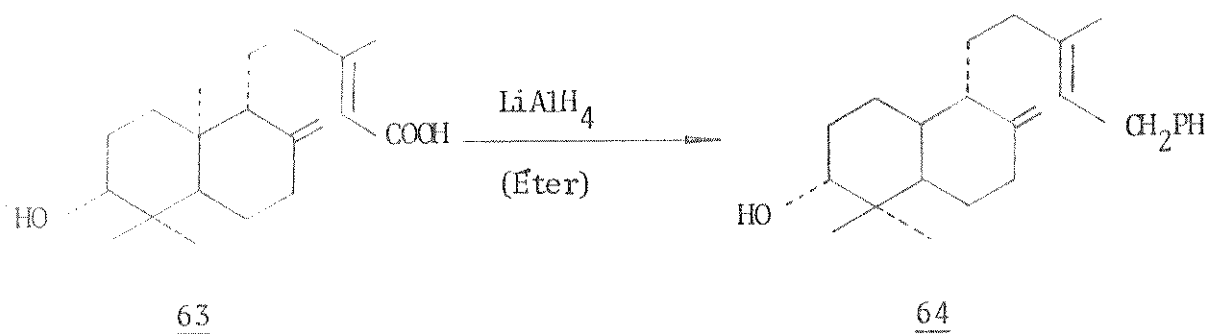
OP6(OP6)Ac6061

A presença do grupo acetato em C-3 nos compostos (61) e (OP-6)Ac, resulta em igual proteção aos grupos metila em C-17 enquanto os grupos Me-20 apresentam os mesmos deslocamentos em todos os compostos, não sofrendo nenhuma influência na presença do grupo acetato. Estas considerações sugerem a existência de grupo hidroxila equatorial em C-3 além do grupo Me-20 em posição β , como apresentado em (60). Os sinais observados em δ 3,27 (1H, dd, $J=10$ e 4 Hz) no espectro de RMN- ^1H do composto OP-6, foram atribuídos ao próton em C-3 em posição α , reforçando as considerações anteriores.

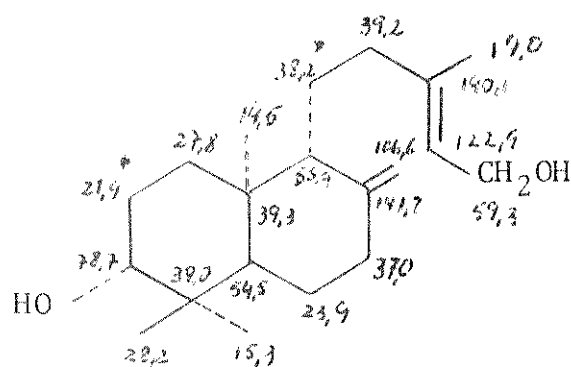
As informações obtidas até este momento e a rotação óptica negativa $[\alpha]_D^{22} = -29,8$ ($c=1,07, \text{CHCl}_3$), sugeriram que o composto OP-6 pertencia a série enantiomérica dos compostos labdanólicos, tal como OP-5, (60) e (61). Estes dados nos conduziram a estrutura 62 para o composto OP-6.

62

O composto (63)^{*} foi reduzido com hidreto de lítio e alumínio produzindo (64) o qual, revelou-se através da comparação dos dados espectrais, idêntico ao composto OP-6, reforçando a estrutura do composto(-)eperu-8 (20), 13-dien-3 (β), 15-diol (62) /111/ proposta para o composto OP-6.



* - Gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Yamamura, P.M. - Instituto de Química - Unicamp - Campinas.



* provavelmente invertidos

As assinalações acima foram realizadas com base nos cálculos semiempíricos de Beierback e col. /116/ conforme tabela 3a, em consonância com os espectros de RMN-¹³C (E-46 , ,pág.136) do composto OP-6, e as assinalações de 60 encontradas na literatura /109/.

TABELA - 3a

Deslocamentos químicos (δ) do composto OP-6, com base nos cálculos semi-empíricos de Beierback e col. / 116-119/

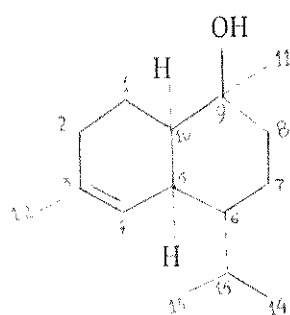
		Hidrocarboneto			Alcool			Olefina			
Carbono		HC	CC	HO	CO	γ	δ	β	cal.	Obs.	Δcal-obs
1	S	13,65	1,85	-	-	-1,28	-	-	31,84	27,8	4,0
2	S	-	-	4,41	-	-	-	-	22,03	21,9	0,1
3	T	13,65	1,85	-	-	-	-	-	76,49	78,9	-2,4
4	Q	-	7,40	-	4,56	-	-	-	38,49	39,0	-0,5
5	T	22,75	5,55	-	-	-1,28	-	-	52,47	54,5	-2,0
7	S	13,65	-	-	-	-	-	3,86	35,13	37,0	-1,87
17	P	9,10	-	-	-	-	2,56	-	16,54	15,3	1,2
18	P	18,20	-	-	-	-	-	-	25,64	28,2	-2,6
20	P	4,55	-	-	-	-	2,56	-	14,55	14,7	-0,15

CAPÍTULO - 4

ANÁLISE CONFORMACIONAL

4.1. ESTUDO CONFORMACIONAL DO (+) δ -CADINOL EM SOLUÇÃO

Muito embora o δ -cadinol (torreyol) tenha sido isolado a mais de 60 anos /112/, sua estrutura e conformação preferencial em solução, permanecem com dúvidas e contradições, sendo a estrutura 49e a mais aceita no presente momento.



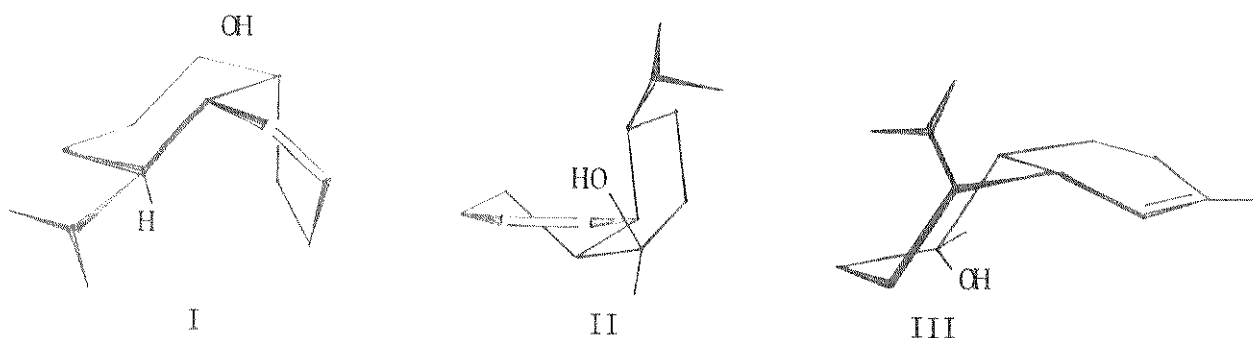
49e

A existência de uma estrutura básica cis-decalina é bem fundamentada /89/. A presença de uma ligação dupla no anel A, em $\Delta^{3(4)}$, pode levar esse anel a assumir a conformação de semi-cadeira, semi-bote ou bote, e o anel B, a conformação de cadeira, bote ou torcida, resultando em oito possíveis conformações para o (+) δ -cadinol, o que dificulta o seu estudo conformacional em solução.

Vários trabalhos, utilizando diferentes técnicas, foram aplicadas aos estudos relacionados à determinação da conformação preferencial do δ -cadinol em solução, destacando-se os de Dubovenko e colaboradores /113, 114/, que usando (a) RMN- ^1H com adição de reagente de deslocamento químico paramagnético: tris(dipivalometanato de europio ($\text{Eu}(\text{DPM})_3$), com aplicação das técnicas de dupla e tripla ressonância /113/ e (b) RMN- ^{13}C , também com

adição do mesmo reagente de deslocamento químico ($\text{Eu}(\text{DPM})_3$), aplicado em combinação no espectro FDFE. Além das conclusões oriundas das técnicas espectroscópicas, os autores compararam esses resultados, com os obtidos através de cálculos e modelos, tabela - 6 , /114/.

O primeiro estudo de RMN- ^1H com reagente de deslocamento químico paramagnético, $\text{Eu}(\text{DPM})_3$, e irradiações seletivas, possibilitou aos autores observarem no gráfico do deslocamento químico vs a razão molar entre o reagente e o substrato, uma linearidade e que foi atribuída à existência de uma única conformação complexada com $\text{Eu}(\text{DPM})_3$, para a qual os deslocamentos químicos e as constantes de acoplamento dos prótons H-5, H-6 e H-10, permitiam excluir a conformação bote no anel B. Os sinais registrados no espectro de RMN- ^1H , atribuídos aos prótons em C-5 e C-10, não apresentaram uma constante de acoplamento > 10 Hz, esperada pela equação de Karplus /115/ para aquela conformação. Muito bem embasada, é a exclusão da conformação "steroid-like" III. Nesta os prótons em C-2 e C-4 deveriam sofrer uma desproteção maior do que 1,5 ppm, registrado no espectro de RMN- ^1H com adição máxima de $\text{Eu}(\text{DPM})_3$. Este estudo, reforçado entre outros fatores pelos deslocamentos químicos de H-1 e H-10 mais próximos do sítio de coordenação, e por isto sofrendo maior desproteção, permitiu a Dubovenko atribuir a conformação "non-steroid-like" (I) ao composto δ -cadinol.



Este resultado não foi considerado satisfatório pelos autores, os quais posteriormente fizeram um estudo com base nos dados obtidos através de RMN- ^{13}C , com adição do mesmo reagente de deslocamento químico ($\text{Eu}(\text{DPM})_3$) /115/. Os resultados experimentais, permitiram aos autores estabelecer a conformação "twist" (II) para o composto δ -cadinol em solução. Os deslocamentos induzidos em C-1, C-5, C-8 e C-15 pelo $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ serviram de diagnóstico.

Os deslocamentos químicos obtidos através de cálculos para as conformações I e III, não puderam ser utilizados satisfatoriamente, devido a semelhança dos resultados para estas duas conformações. Soma-se a esta consideração a falta dos cálculos para a conformação II, sem a qual qualquer conclusão redundaria em um possível erro.

Apesar do alto nível técnico dos trabalhos mencionados anteriormente /113,114/, os seus resultados contraditórios, levantam dúvidas quanto a solução do problema.

O isolamento do δ -cadinol a partir das folhas de O. platyspermum, (pág.100), deu-nos a oportunidade de tentar contribuir com o estudo conformacional em solução deste composto, através dos dados obtidos nos espectros de RMN- ^{13}C (E-29a e E-29b, pág. 127) compilados na tabela- 4 .

TABELA - 4

Deslocamentos químicos dos carbonos do δ -cadinol

CH_3	CH_2	CH	C
27,8	35,0	36,6	133,8
23,5	31,0	43,9	124,5
21,4	21,4	54,4	72,1
15,2	18,4	26,3	

Nossa contribuição realizou-se através das atribuições feitas com aplicação dos parâmetros de adições semi-empíricas, formulados por Beierbeck e col. /116-119/, largamente utilizados. As definições dos parâmetros e os valores numéricos referenciais com os seus respectivos erros padrões, estão relacionados na tabela 5, /116/.

Os cálculos foram realizados nas conformações "nonsteroid-like" (I), "twist" (II) e "steroid-like" (III), considerando em todas a dependência dos parâmetros β com o ângulo diedro ϕ , fazendo valer as fórmulas (1) e (2) abaixo /116,119/.

$$2 \times HC \times \cos \phi \quad (1)$$

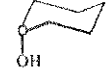
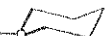
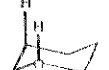
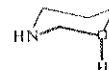
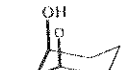
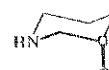
$$2 \times CC \times \cos \phi \quad (2)$$

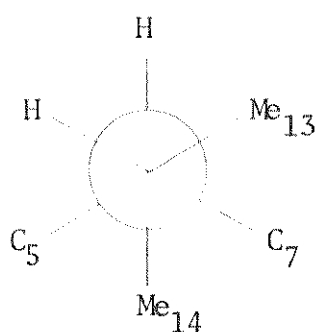
Os cálculos dos anéis A e B nas três conformações sofreram correções das fórmulas (1) e (2), onde se observou através de modelos dreiding, desvio do ângulo diedro $\phi < 90^\circ$ ($\neq 60^\circ$), na conformação II em todos os carbonos e nas conformações I e III apenas no anel A, devido a ligação dupla em $\Delta^{3(4)}$ provocar uma deformação neste anel. Como os anéis B das conformações I e III, já estão na forma cadeira sobre a qual foram desenvolvidos os parâmetros referências: hidrocarbonetos, hidroxila, etc./116/. Os cálculos envolvendo os carbonos do grupo isopropila nas conformações I, II e III, foram realizados conforme as projeções a, b e c.

O parâmetro hidrocarboneto no cálculo do deslocamento químico do carbono quaternário C-9, foi usado o valor numérico referencial 68,7 /118/, adicionado aos da tabela-5. Nas tabelas 7, 8 e 9 apresentamos os parâmetros usados, os ângulos observados (A°) e os deslocamentos químicos calculados (δ cal), a

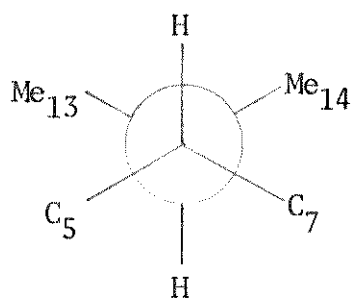
TABELA - 5

Definições de parâmetros, Valores numéricos e erros padrões

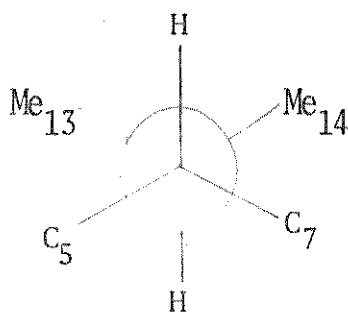
Hydrocarbons	Alcohols	Amines	Ketones	Olefins
P 7.44 0.42 	T 60.99 0.72 	P 28.82 0.63 	C 212.19 0.54 	T 125.99 0.93 
S 17.62 0.32 	OC 1.97 0.34 	S 38.29 0.56 	β 14.70 0.41 	Q 137.80 0.59 
T 24.17 0.47 	HO 4.41 0.18 	T 43.89 0.40 	γ_s -0.22 0.73 	R -8.47 0.93 
Q 26.53 0.86 	CO 2.28 0.22 	Q 45.67 0.96 	γ_a 5.16 0.42 	β 3.86 0.47 
HC 4.55 0.10 	γ -1.28 0.23 	HN 4.01 0.26 		γ_s 1.41 0.57 
CC 1.85 0.14 	δ 2.86 0.53 	CN 1.21 0.48 		γ_a 5.23 0.49 
δ 2.56 0.39 		HNC -0.80 0.45 		
		γ -2.04 0.34 		



projeção-a



projeção-b



projeção-c

partir das conformações "nosteroid-like" (I) "twist" (II) e "steroid-like" (III) respectivamente.

Comparando cuidadosamente os nossos dados experimentais (tabela 4), e os de Dubovenko (tabela 6) /114/ com os que obtivemos através de cálculos (tabelas 7, 8 e 9), concluímos com base nos resultados do $\Delta(\text{cal-obs})$ que a conformação "nonsteroid-like" (I) apresenta-se como a mais coerente. Isto porque os deslocamentos químicos calculados desta conformação diferem pouco dos obtidos experimentalmente, o que não ocorre com os das outras duas conformações (II e III) conforme assinalações apresentadas em 69, 70 e 71 para as conformações I, II e III, respectivamente e em 72, onde apresentamos as atribuições efetuadas por Dubovenko experimentalmente.

TABELA - 6

Deslocamentos químicos de ^{13}C do δ -cadinol (49e) /114/

Carbonos	Experimental $\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	Calculados		
		Conformação "Steroid-Like"	Conformação "Nonsteroid-Like"	δ -cadinol+Eu(DPM) ₃
1	35,3	21,0	20,9	10,8
2	31,1	28,3	28,3	2,4
3	133,8	134,3	134,3	2,0
4	124,7	122,3	122,3	2,4
5	36,6	28,5	30,7	4,8
6	44,0	45,7	44,8	4,4
7	21,6	17,3	19,5	4,6
8	18,3	33,5	37,6	8,4
9	71,5	73,2	74,0	30,2
10	45,5	42,5	46,6	9,96
11	28,1	29,8	29,8	14,7
12	23,6	23,8	23,8	0,8
13	21,6	20,5	20,5	1,6
14	15,4	16,1	16,1	1,8
15	26,3	33,6	33,6	-

(A)^C = ângulo diedro (ϕ) usado no cálculo do parâmetro CC(A)^H = ângulo diedro (ϕ) usado no cálculo do parâmetro HH

TABELA - 7
Deslocamentos químicos de ¹³C e parâmetros estruturais de δ-cadinol na conformação "nonsteroid-like" (Semi-bote no anel A)

Hidrocarboneto				Alcool				Olefina				δ(ppm)			
Carbano	HC	CC	(A)	OC	OH	CO	γ	δ	R	β	γ _S	γ _a	cal.	obs.	Δcal-obs
1	S	-	-	-	-	-	-1,28	-	-	-	1,41	-	17,75	18,4	-0,6
2	S	9,10 ²	-	-	-	-	-	-	-	3,86	-	-	30,58	31,0	-0,4
3	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	137,80	133,8	4,0
4	T	9,46 ³	0,64 (30,80) ^H (80) ^C	-	-	-	-	-	-8,47	-	-	-	127,62	124,5	3,1
5	T	9,10 ²	4,34 ³ (80)	-	-	-	-1,28	-	-	3,86	-	-	40,19	36,6	3,6
6	T	9,10 ³	7,40 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	5,23	45,90	43,9	2,0
7	S	4,55 ¹	-	-	-	-	-1,28	-	-	-	-	-	20,89	21,4	-0,5
8	S	9,10 ²	1,85	-	4,41	-	-	-	-	-	-	-	32,98	35,0	-2,0
9	Q*	-	5,55 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	74,25	72,1	2,1
10	T	4,55 ¹	7,40 ⁴	-	4,41	2,28	-	-	-	-	1,51	-	44,22	45,4	-1,2
11	P	9,10 ²	3,70	-	4,41	-	-	-	-	-	-	-	24,70	27,8	-3,1
12	P	16,98	-	(30) ^H	-	-	-	-	-	-	-	-	24,42	23,5	-0,9
13	P	9,10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16,54	15,2	1,34
14	P	13,65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,09	21,4	-0,3
15	T	-	5,53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	29,72	26,3	3,4

(A)^C = ângulo diedro (φ) usado no cálculo do parâmetro CC
(A)^H = ângulo diedro (φ) usado no cálculo do parâmetro HH

TABELA - 8

Deslocamentos químicos de ^{13}C e parâmetros estruturais do δ -cadinol (49e) na conformação "Twist" (II) (Semi-bote no anel A)

Hidrocarboneto				Alcool				Olefina						
Carbono	HC	CC	(A)*	OC	HO	CO	γ	δ	R	β	γ_s	γ_a	Obs	$\Delta cal-obs$
1	S	-	-	1,97	-	-	-	-	-	-	1,41	-	18,4	2,6
2	S	12,21 ³	(70)H	-	-	-	-	-	-	3,86	-	-	33,69	2,7
3	Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	133,8	4,0
4	T	7,88 ²	(30)H	-	-	-	-	-	-8,47	-	-	-	125,40	0,9
5	T***	7,66 ² 9,67 ⁵	(70)H (70,50)C	-	-	-	-1,28	-	-	3,86	-	-	44,08	7,5
6	T	9,10 ² 7,34 ⁴	(70,50)C	-	-	-	-	-	-	-	5,23	-	45,84	1,9
7	S	6,13 ²	(80)H	1,97	-	-	-	-	-	-	-	-	25,72	21,4
8	S	10,68 ³	(80)H	-	4,41	-	-	-	-	-	-	-	32,71	35,0
9	Q*	-	-	1,97	-	-	-	-	-	-	-	-	70,67	72,1
10	T	7,71 ³ 6,02	(80)H (70,50)C	-	-	2,28	-	-	-	-	-	5,23	48,41	45,4
11	P	10,68 ³	(80)H	-	4,41	-	-	-	-	-	-	-	22,53	27,8
12	P	16,98 ³	(30)H	-	-	-	-	-	-	3,86	-	-	28,28	23,5
13	P**	13,65 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,09	15,2
14	P**	13,65 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,09	21,4
15	T**	6,13 ² 3,72	(80)H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34,00	26,3

(A)^C = ângulo diedro (ϕ) usado no cálculo do parâmetro CC

(A)^H = ângulo diedro (ϕ) usado no cálculo do parâmetro HH

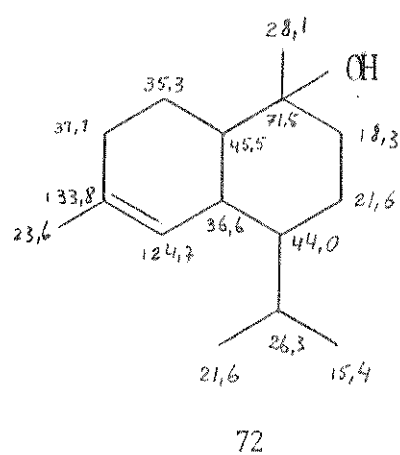
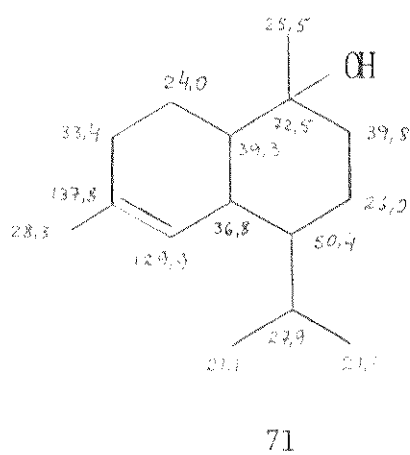
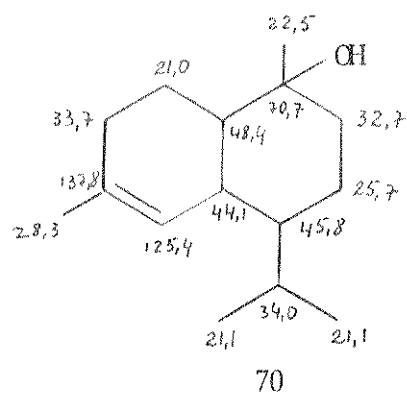
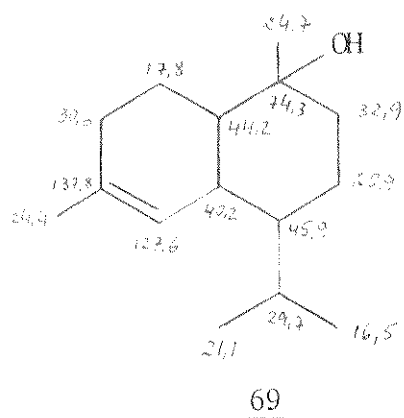
TABELA - 9

Deslocamentos químicos de ^{13}C e parâmetros estruturais do δ -cadinol (49e) na conformação "Steroid-like" (semi-bote no anel A)

Hidrocarboneto										Álcool				Olefina			
Carbono	HC	CC	(A)	OC	OH	CO	γ	δ	R	β	γ _S	γ _A	cal	obs	Δcal-obs.		
1 S	5,11 ¹	1,27 ¹	$\begin{smallmatrix} (70)H \\ (70)C \end{smallmatrix}$	1,97	-	-	-	-	-	-	1,41	-	23,97	18,4	5,6		
2 S	9,10 ²	-	-	-	-	-	-	2,68	-	3,86	-	-	33,44	31,0	2,4		
3 Q	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	137,80	133,8	4,0		
4 T	12,43 ²	-	(80)H	-	-	-	-	-	-8,47	-	-	-	129,95	124,5	5,4		
5 T	3,11	3,70 ²	(70)H	1,97	-	-	-	-	-	3,86	-	-	36,81	36,6	0,2		
6 T	13,65 ³	7,40 ⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,23	50,45	43,9	6,5		
7 S	4,55 ¹	1,85	-	1,97	-	-	-	-	-	-	-	-	25,99	21,4	4,6		
8 S	13,65 ³	1,85 ¹	-	-	4,41	2,28	-	-	-	-	-	-	39,81	35,0	4,8		
9 Q	-	1,85	-	1,97	-	4,56 ²	-	-	-	-	-	-	72,52	72,1	0,42		
10 T	9,10 ²	6,08 ²	(50)C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39,35	45,4	-6,0		
11 P	13,65 ³	-	-	-	4,41	-	-	-	-	-	-	-	25,50	27,8	-2,3		
12 P	16,98	-	-	-	-	-	-	-	-	3,86	-	-	28,28	23,5	4,8		
13 P	13,65 ³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,09	15,2	5,9		
14 P	13,65	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,09	21,4	-0,3		
15 T	-	3,70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27,87	26,3	1,6		

(A)^C = ângulo diedro (ϕ) usado no cálculo do parâmetro CC

(A)^H = ângulo diedro (ϕ) usado no cálculo do parâmetro HH



As nossas assinalações para a conformação "nonsteroid-like" através destes cálculos, estão em acordo com as obtidas por Dubovenko experimentalmente /114/ tabela-6, desde que se inverta suas atribuições para C_1 e C_8 . Esta inversão proposta também foi observada por aquele autor através de cálculos, mantida provavelmente devido a inversão nas atribuições de H-1 e H-8, que consequentemente redundou na inversão dos citados carbonos, através das experiências de desacoplamentos seletivos de carbonos.

Considerando a distância relativa de C-1 e C-8 ao sítio de coordenação do metal ($\text{Eu}(\text{DPM})_3$), relacionadas aos efeitos das interações de contato e pseudo-contato deste reagente sobre os deslocamentos químicos destes carbonos, justificariam a inversão das assinalações proposta por Dubovenko, uma vez que C-8 em

posição beta (β) ao $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ deverá sofrer maior efeito de desproteção.

Adicionalmente, o carbono secundário C-8 junto ao sítio de coordenação do metal, sofre maior efeito das interações de contato do que o carbono terciário C-10, proporcionando ao primeiro maior deslocamento químico /127/. Esta consideração não corresponde ao assinalado por Dubovenko, no entanto é estabelecida com a inversão de C-1 e C-8.

A nossa proposição é ratificada também pela equação de McConnell e Robertson modificada (3), utilizada em estudos de RMN- ^{13}C com adição de reagentes de deslocamentos químicos por Demarco e outros, com sucesso /128, 129/. A aplicação desta equação às conformações I, II e III, apresentadas nos gráficos 1, 2 e 3 do $\log \Delta\delta$ vs $\log r_i$, onde $\Delta\delta$ é o deslocamento químico induzido pelo $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ (tabela-6) e r_i é a distância em angston ($\text{\AA}$) do par de elétrons (periférico) do centro de complexação ao carbono considerado. As análises destes gráficos sugerem a conformação "nosteroid-like" para o composto (+) δ -cadinol em solução, visto que, a linearidade apresentada pelo gráfico-1 indica uma concordância entre a distância ao centro de complexação aos carbonos e o efeito de pseudo-contato observado.

$$\log(\Delta\delta) = -3 \log r_i + \log(3 \cos^2 \phi - 1) + \log k \quad (3)$$

Os estudos das energias potenciais átomo-átomo e de raio-X deste composto no estado livre e sólido respectivamente /128, 129/, sugerem a mesma conformação (I) proposta por nós, quando em solução.

GRÁFICO - 1

Aplicação da equação 3 na conformação "nonsteroid-like"(I)

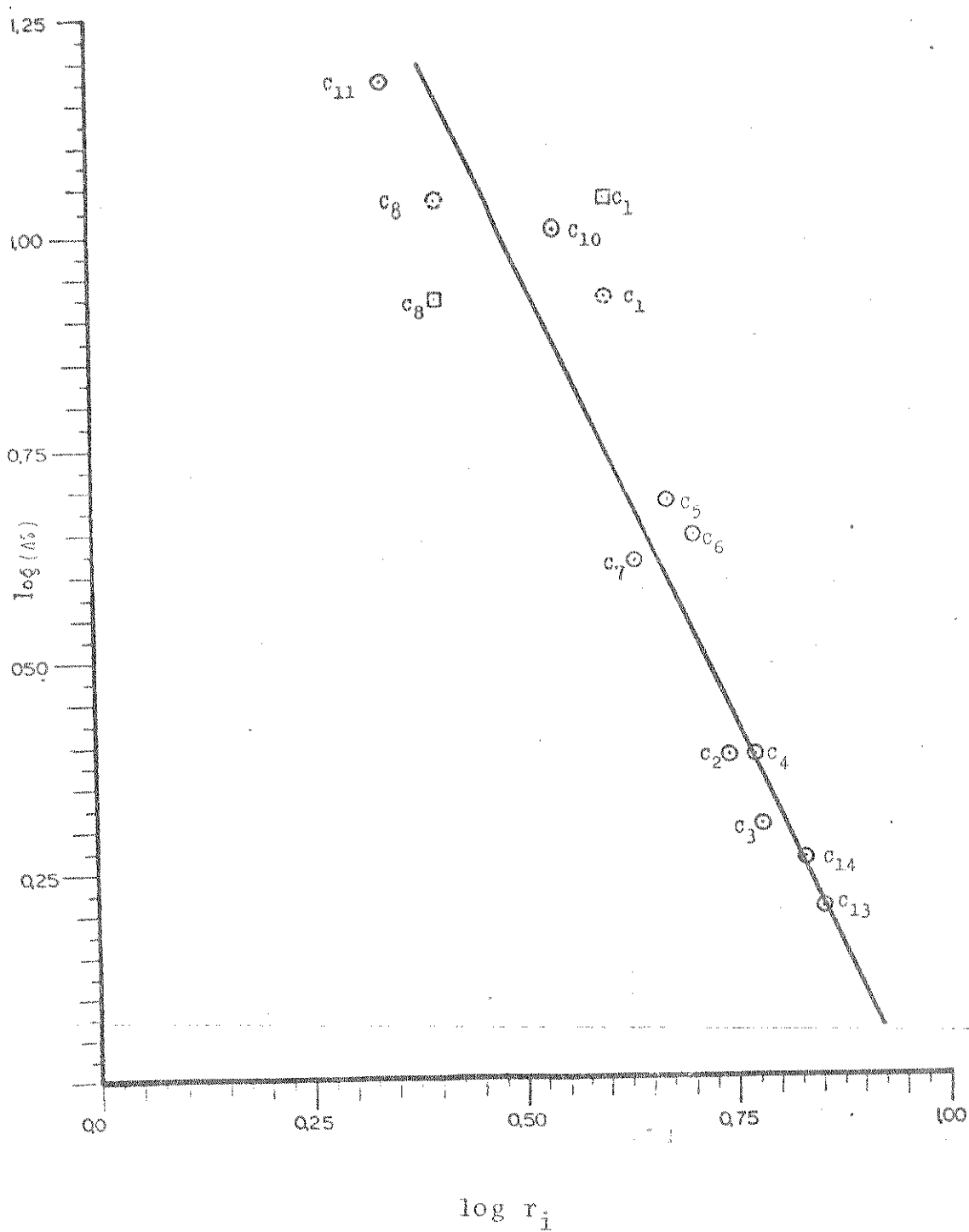


GRÁFICO - 2

Aplicação da equação 3 na conformação "twst" (II)

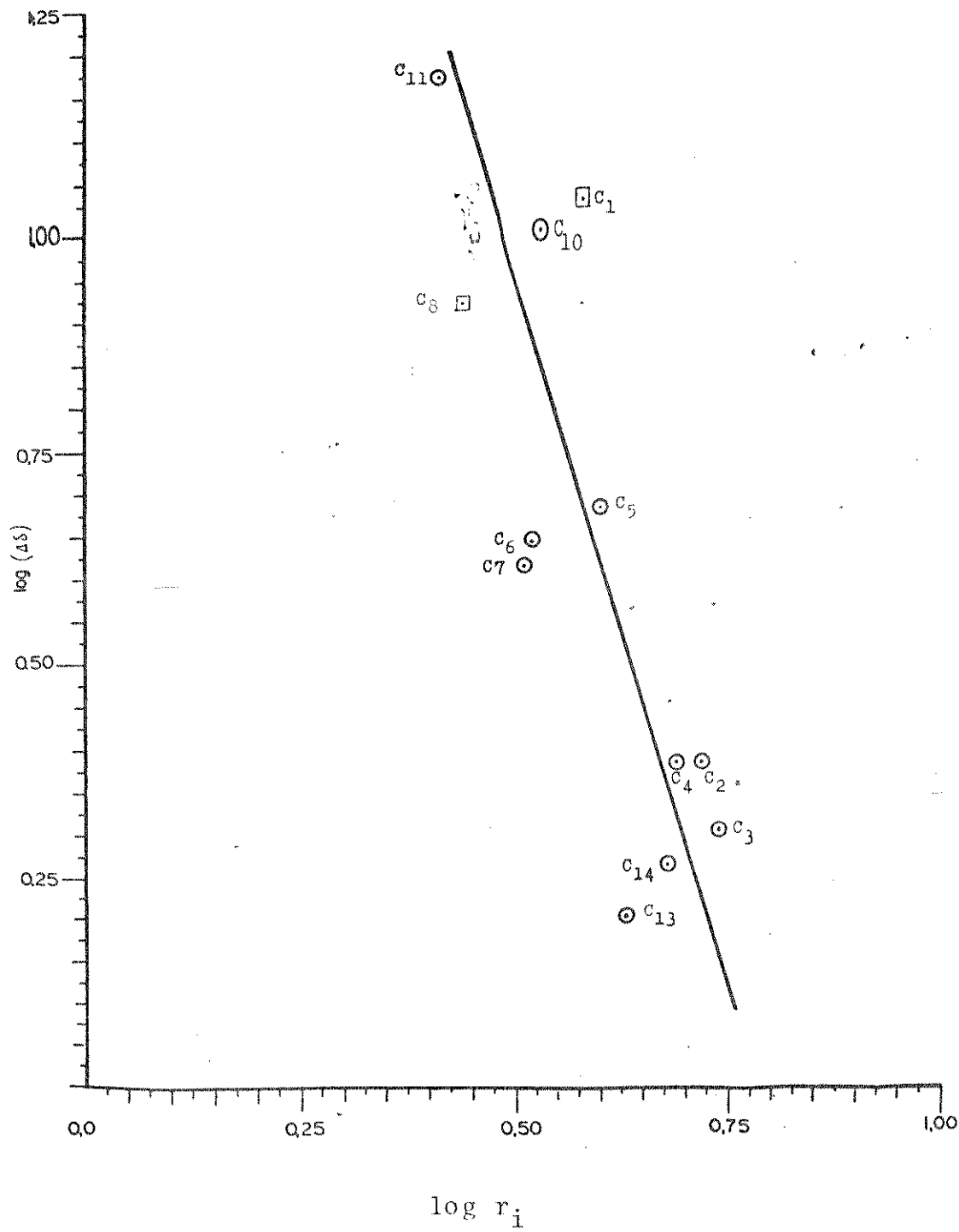
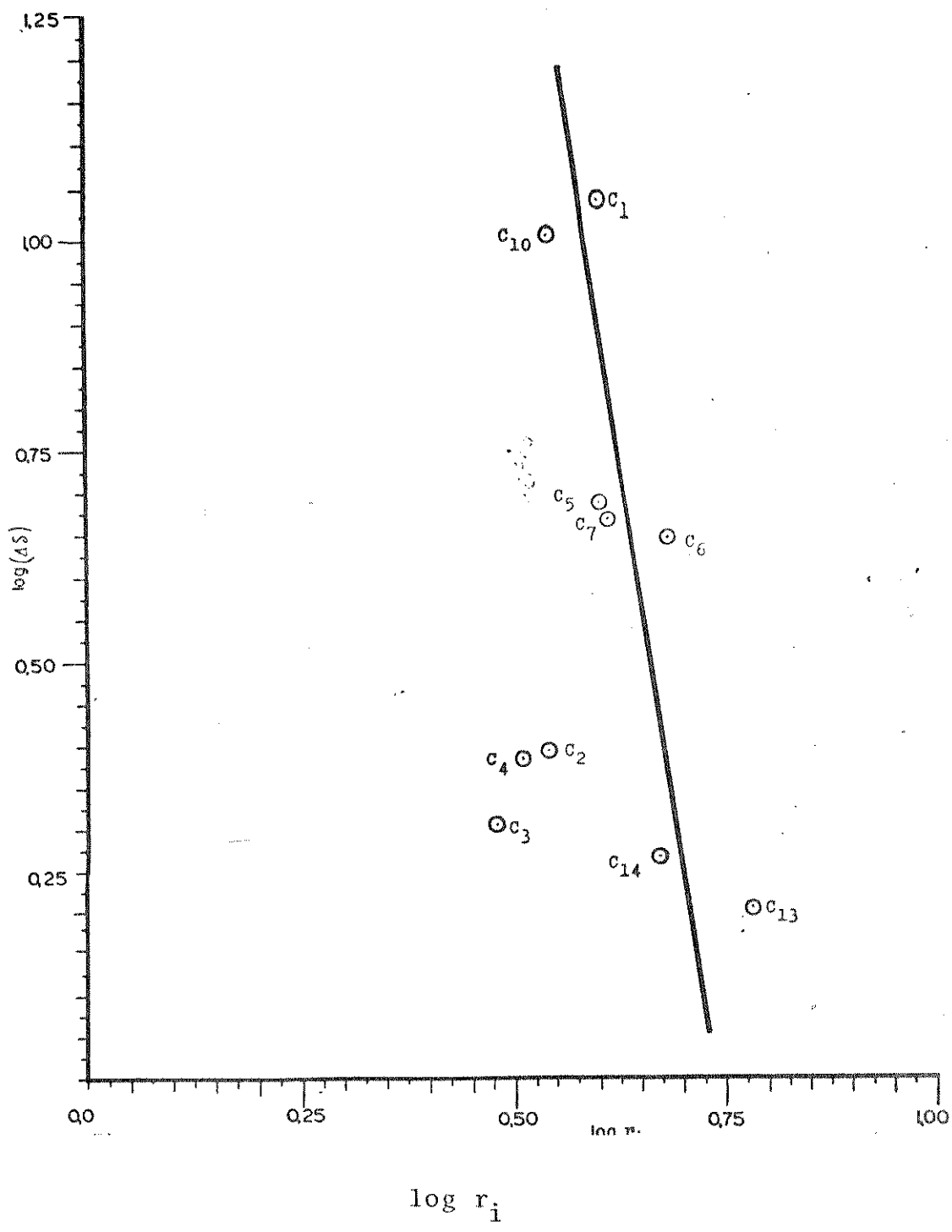


GRÁFICO - 3

Aplicação da equação 3 na conformação "steroid-like"(III)



CAPÍTULO - 5

ATIVIDADE BACTERIANA

5.1. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS E SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE MYRISTICACEAE

Como já foi reportado, várias espécies da família Myristicaceae são usadas em medicina popular na região Norte do país /1-5/, despertando grande interesse nas áreas fitoquímica e farmacológica.

Os trabalhos do nosso grupo de pesquisa, estão voltados para folhas das espécies desta família, por serem as partes menos estudadas e destas resultarem os chás e emplastros usados popularmente /4/.

A avaliação da atividade biológica foi realizada inicialmente com os extratos hexânico, clorofórmico e etanólico das folhas de V. surinamensis; hexânico e clorofórmico das folhas de O. platyspermum e hexânico das folhas de V. sebifera e V. carinata. A pré-seleção dos extratos com atividade antibacteriana foi realizado segundo a metodologia descrita por Croshaw e colaboradores /130/, onde diferentes extratos destas folhas foram embebidos em papel de filtro e em seguida colocados sobre a superfície de placas de Petri, previamente inoculadas com Escherichia coli ou Staphylococcus aureus a uma temperatura de 37°C, por 24 horas. A atividade antibacteriana foi evidenciada por halos em torno do papel de filtro, motivado pelo não crescimento da bactéria testada.

* Os testes biológicos apresentados foram realizados por Marise A. Rodrigues, sob orientação dos Professores Dr. Lauro E. S. Barata e Dr. Wanderlei Peres Canhos - Unicamp, Campinas, SP (1982).

Com a finalidade de identificar o componente responsável pela ação antibacteriana, os extratos que apresentaram testes positivos, foram submetidos a partição cromatográfica em coluna, testando-se novamente todas as frações quanto a formação do halo de inibição, na presença de E. coli e S. aureus.

Dos extratos hexânicos testados inicialmente (tabela - 10) apenas o de V. sebífera não apresentou atividade antibacteriana.

Um bom resultado, tanto com bactéria gram-positiva (E. coli) como com a gram-negativa (S. aureus), foi apresentado pelo extrato hexânico das folhas de V. surinamensis, e após sua partição cromatográfica, várias frações também deram resultados positivos (tabela - 11), no entanto, vários testes efetuados com seus constituintes puros, não permitiram identificar o(s) componente(s) químico(s) responsável(is) pela formação dos halos de inibição bacteriana (tabela - 12).

A acentuada atividade bacteriana (gram-positivo) apresentada pelo extrato hexânico das folhas de O. platyspermum, após partição cromatográfica, revelou-se na fração-4 (tabela - 10), da qual foi isolado o ácido Kauran-16-en-19-oico (ácido Kaurênico - (52)) responsável pela formação do halo de inibição bacteriana com S. aureus. (tabela - 12).

Estes resultados, somados a outros, comprovam a importância das espécies da família Myristicaceae, e torna ainda mais gratificante seu estudo, além de se constituir num forte estímulo para o prosseguimento das investigações neste campo.

OBSERVAÇÕES:

1. * culturas utilizadas: (1) E. coli e (2) S. aureus
2. Indicações dos resultados:
- (+) produção de halo de inibição
 - (++) acentuada produção de halo de inibição
 - (±) produção de halo de inibição irregular
 - (-) nenhuma produção de halo de inibição

TABELA- 10

Efeitos Antibacteriano* dos Extratos de Virola e Osteophloeum

Amos tra	Parte da Planta	Testes de atividade Antibacteriana					
		diluição		difusão		inóculo direto	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Ext. Hex. <u>V. surinamensis</u>	folhas	+	+	-	-	-	-
Ext. CHCl ₃ <u>V. surinamensis</u>	folhas	-	-	-	-	-	-
Ext. EtOH <u>V. surinamensis</u>	folhas	-	-	-	-	-	-
Ext. Hex. <u>V. carinata</u>	folhas	-	+	-	-	-	-
Ext. Hex. <u>V. sebífera</u>	folhas	-	-	-	-	-	-
Ext. Hex. <u>O. platyspermum</u>	folhas	-	++	-	++	-	-
Ext. CHCl ₃ <u>O. platyspermum</u>	folhas	-	-	-	±	-	-

TABELA - 11

Efeito Antibacteriano* das frações cromatográficas dos extratos de Virola e Osteophloeum

Amostra	folhas	Testes de atividade Antibacteriana					
		diluição		difusão		inóculo direto	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Fração IV - Ext. Hex.	<u>O.platyspermum</u>	-	++	-	++	-	-
Fração III - Ext. Hex.	<u>V.surinamensis</u>	+	+	-	-	-	-
Frações IV a VI Ext. Ex.	<u>V.surinamensis</u>	+	+	-	-	-	-
Frações II a XIX Ext. Hex.	<u>V. sebífera</u>	-	-	-	-	-	-
Frações V a XI Ext. Hex.	<u>V.surinamensis</u>	-	-	-	-	-	-

TABELA - 12

Efeito Antibacteriano* das substâncias puras isoladas dos extratos de V.surinamensis e O.platyspermum

Amostra	extrato	Testes de atividade antibacteriana					
		diluição		difusão		inóculo direto	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Veraguensina (23)	Ext. Hex. <u>V.surinamensis</u>	-	-	-	-	-	-
Galbelgina (27)	Ext. CHCl ₃ <u>V.surinamensis</u>	-	-	-	-	-	-
7,5',4'-trimetoxiflavona (38)	Ext. CHCl ₃ <u>V.surinamensis</u>	-	-	-	-	-	-
ácido Kaurênico (52)	Ext. Hex. <u>O.platyspermum</u>	-	++	-	++	-	-

CAPÍTULO - 6

EXPERIMENTAL

EXPERIMENTAL

6.1 - MATERIAIS E MÉTODOS

Os pontos de fusão foram determinados em placa de aquecimento, segundo Kofler, instalada em conjunto com um microscópio modelo Thermoplan (C. Reichert Optische Werk A.G.) e não sofreram correções.

Os valores de rotação ótica ($[\alpha]_D$), foram obtidos em clorofórmio num polarímetro fotoelétrico Carl Zeiss de precisão 0.005° .

Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos utilizando um espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo 337, em pastilhas de KBr, Nujol ou filme, conforme indicado.

Os espectros de ultra-violeta (UV) foram obtidos através de um espectrofotômetro DMR-21, Carl Zeiss, empregando-se etanol e metanol como solventes.

Os espectros de RMN- ^1H foram obtidos em aparelhos da Varian Associates, modelo T-60 ou XL-100, utilizando-se CDCl_3 , D_2O ou CCl_4 como solventes e TMS ou CH_3CN como referência interna. Os deslocamentos químicos foram medidos em $\delta(\text{ppm})$ e as constantes de acoplamentos em Hertz (Hz).

Os espectros de RMN- ^{13}C foram obtidos no aparelho Varian, modelo XL-100 (25,2 MHz) com transformada de Fourier, utilizando-se CDCl_3 como solvente. Os deslocamentos químicos foram medidos em $\delta(\text{ppm})$.

Os espectros de massa (EM) foram obtidos no instrumento Massenspektrometer (MAT-311A-Varian Mat Bremen).

As análises elementares foram realizadas no laboratório da Rhodia (Divisão Paulínia).

Os critérios de pureza adotados foram:

- 1- Ponto de fusão dentro de uma faixa no máximo de 2°C;
- 2- Uma só mancha em CCD, em diversos sistemas de desenvolvimento;
- 3- Um único pico no cromatograma, representativo de uma substância pura, na cromatografia líquida de alta pressão.

Nas cromatografias em colunas foram utilizadas sílica gel (0,063-0,200mm) Merck e alumina. O diâmetro e altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material adsorvido.

Para cromatografia em camada delgada (CCD), foram utilizadas Sílica Gel HF₂₅₄ ou PF₂₅₄ Merck, enquanto na cromatografia preparativa (CCD-P) foi empregado Sílica Gel PF₂₅₄ Merck.

6.2 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DAS FOLHAS DE VIROLA SURINAMENSIS

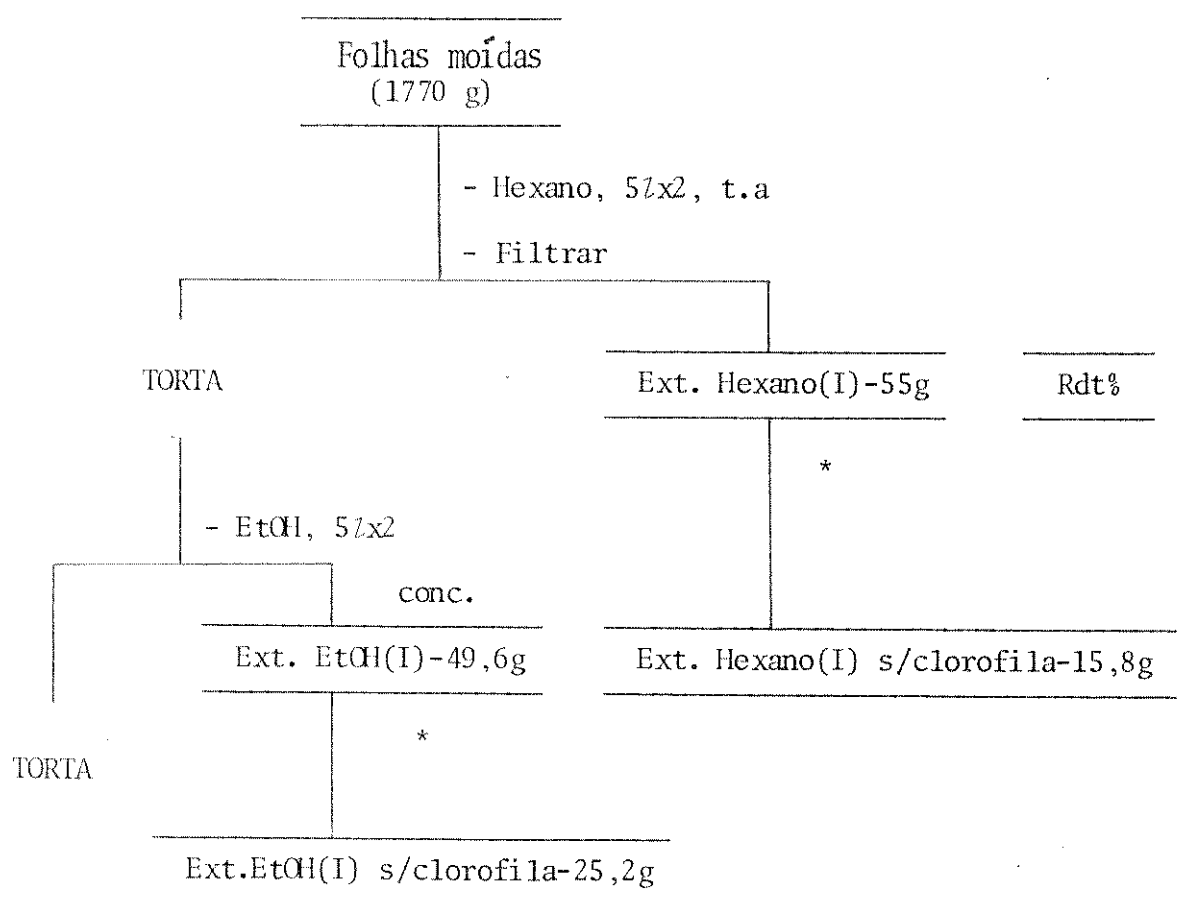
6.2.1 - Coleta do Material

As folhas de Virola surinamensis foram coletadas em Belém-Pará, no Bairro do Guamã, pelo Sr. Tenístocles, funcionário da UFPa e classificada pela Dra. Maria Elizabeth Van den Berg, botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi.

6.2.2 - Obtenção dos Extratos das folhas de Virola surinamensis

As folhas coletadas foram inicialmente secas ao ar, e em seguida postas em uma estufa a 40°C. Após trituração em moino Wiley foram feitas diferentes extrações utilizando-se diferentes solventes, em ordem crescente de polaridade. Inicialmente com hexano (I) seguido de etanol (I) conforme esquema-11.

ESQUEMA - 11

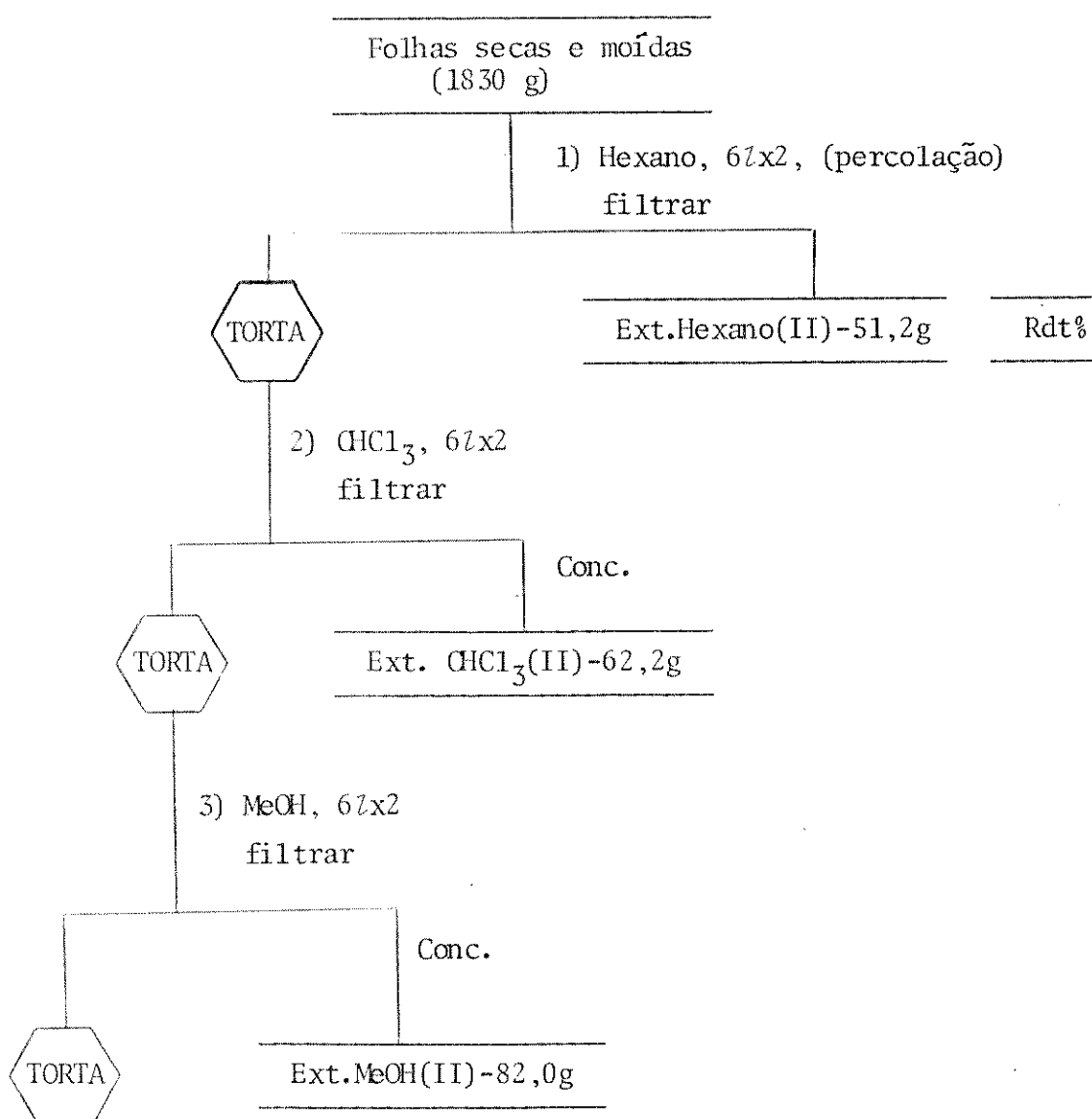


* Marcha sistemática para eliminar clorofila (Esquema-13).

O estudo dos primeiros extratos e as faixas de concentrações das substâncias isoladas nos conduziram a novas extrações onde a ordem de polaridade crescente dos solventes usados nas percolações, fossem menos abruptas. Para tanto foi usado a se-

guinte ordem: hexano (II), clorofórmio (II) e metanol (II) conforme esquema - 12.

ESQUEMA - 12

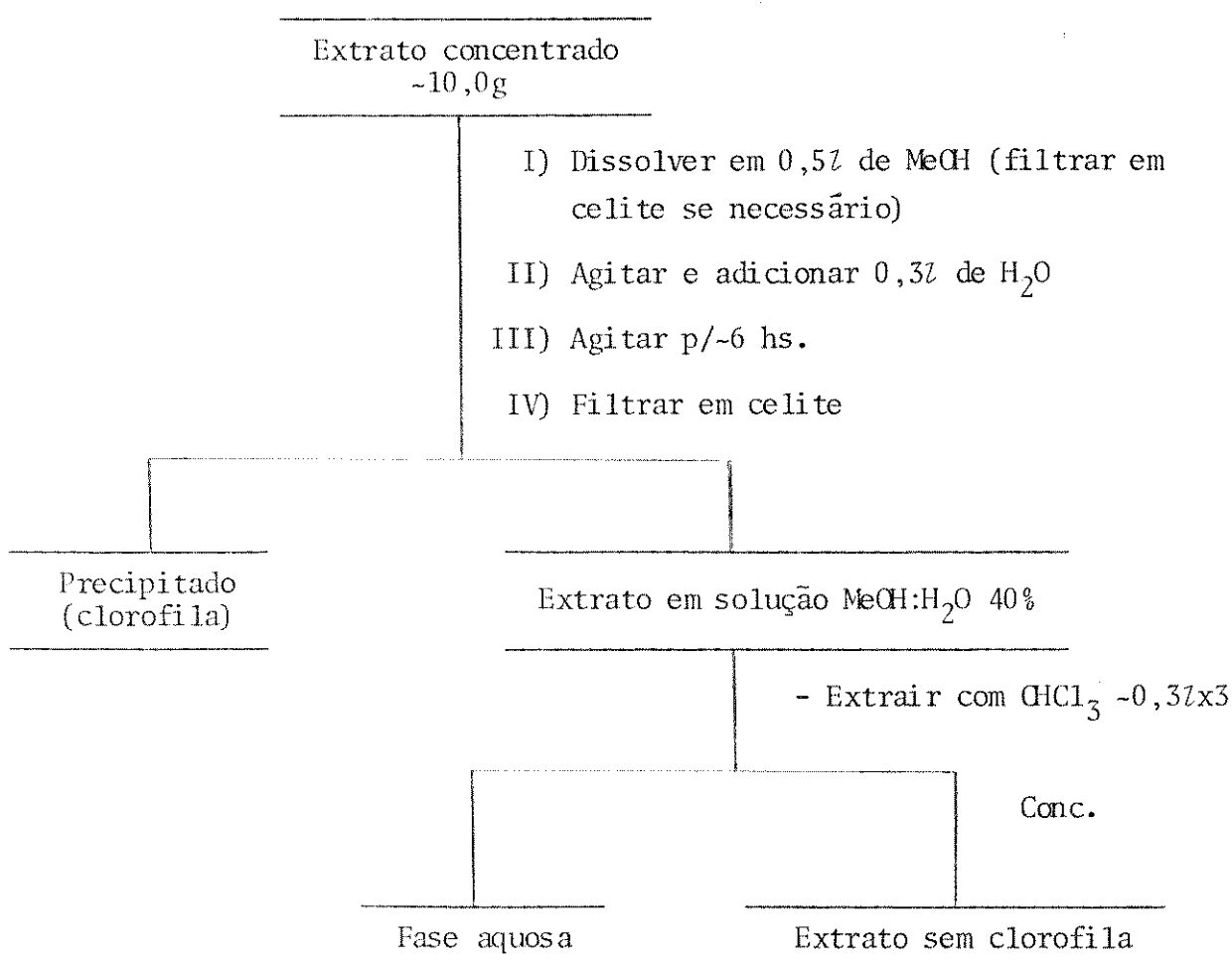


As extrações foram realizadas a temperatura ambiente, protegidas de luz, por 48 horas (duas vezes). Os percolados concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida, resultaram nos extratos estudados: hexênico (I), clorofórmico (II), etanólico (I) e metanólico (II). Os três primeiros extratos foram

submetidos a marcha sistemática descrita no esquema - 13. Os extratos isentos de clorofila prestaram-se muito bem para isolamento dos constituintes, através de cromatografia em coluna ou por precipitações seletivas com solventes.

ESQUEMA - 13

Marcha sistemática para eliminação de clorofilas e corantes dos extratos



* A percentagem de água pode variar, dependendo das concentrações de clorofilas e outros corantes presentes no extrato.

6.2.3 - Isolamento dos Constituintes

Conforme o relato anterior, das folhas secas e moídas da Virola surinamensis foram obtidas em duas etapas, diferentes extratos, Hexânico (I) e Etanólico (I) na primeira etapa e posteriormente a partir de novas folhas, os extratos hexânico (II), clorofórmico (II) e metanólico (II) dos quais apenas os dois últimos foram estudados.

EXTRATO HEXÂNICO (I)

O extrato hexânico bruto (Esquema-11) produziu 55,0g com rendimento de 3,1% e após a aplicação da marcha sistemática para eliminação de clorofila (esquema-13), obteve-se 15,8g. As cromatografias em coluna aplicadas a este extrato não apresentou outro resultado, se não o já obtido anteriormente /7/, onde foi isolado: β -sistotero (21), gabacina (24), veraguensina (23), Virolina (1), surinamensina (2), elemicina (22) e mais hidrocarbonetos de cadeia longa e ésteres glicéricos.

EXTRATO ETANÓLICO (I)

O extrato etanólico (I) produziu 49,6g com rendimento portanto de 2,8% em relação ao peso das folhas secas. Após aplicação da marcha seletiva para eliminar clorofila (esquema-13), resultou em 30,2g, dos quais 10g foram submetidas a cromatografia em coluna ($\phi_1=8,0$ cm) de sílica gel (620g; $d=0,063-0,200$ mm) utilizando como eluente hexano, acetato de etila e metanol em ordem crescente de polaridade, eluindo inicialmente com hexano-acetato de etila 2,0%. Foram coletadas 110 frações de ~100 ml, reunidas conforme o R.F. das manchas em CCD. (Tabela-13)

As frações que apresentaram através do IV e RMN-¹N como mistura de substâncias alifáticas não foram estudadas.

EXTRATO CLOROFÓRMICO (II)

O extrato clorofórmico, após evaporação do solvente em evaporador rotativo, produziu 62,2g com rendimento, portanto de 3,4% em relação às folhas secas. Deste extrato foram obtidos 20,8g de precipitados com acetona, dos quais 10g foram submetidos a cromatografia em coluna (d.i.=8,0 cm) de sílica gel (600 g, $\phi=0,063-0,200$ mm) utilizando como eluente hexano, clorofórmico e metanol, combinados em ordem crescente de polaridade, eluindo inicialmente com hexano-clorofórmico 5,0%. Foram coletados 88 frações de ~100,0 ml (tabela -14) reunidas de acordo com os resultados da CCD, realizadas paralelamente.

Foi aplicado testes com reagentes de Dragendroff, e as frações que apresentaram resultados positivos foram considerados prioritárias para o estudo. As frações que através de IV, RMN- ^1H e CCD apresentaram misturas de substâncias alifáticas, não foram estudadas.

EXTRATO DE METANÓLICO (II)

O extrato metanólico (30g) após concentração em evaporador relativo resultou num óleo escuro de difícil solubilidade nos solventes usuais.

Neste extrato foi constatado a presença do monossacarídeo manitol^a através de cromatografia em camada delgada (CCD)

a) Isolado na madeira de V. surinamensis - Iamamura, P.M., "Relatório de Iniciação Científica; Inst. de Química. UNICAMP-Campinas-SP (1975).

impregnada com ácido bórico /123,124/ utilizando anisaldeído - H_2SO_4 como revelados e vários sistemas em desenvolvimento (1-3), e como padrões os monossacarídeos e dissacarídeos abaixo /125/.

I - Sistema em desenvolvimento

- 1 - i-propanol-água (4:1)
- 2 - Acetato de etila-piridina-água (3:3:2)
- 3 - n-butanol-ácido acético-água (3:2:6)

II- Padrões utilizados em co-cromatografia

- 1 - monossacarídeos: frutose, xilose, glicose, manitol, manose e arabinose
- 2 - dissacarídeo: sacarose

III- Revelador

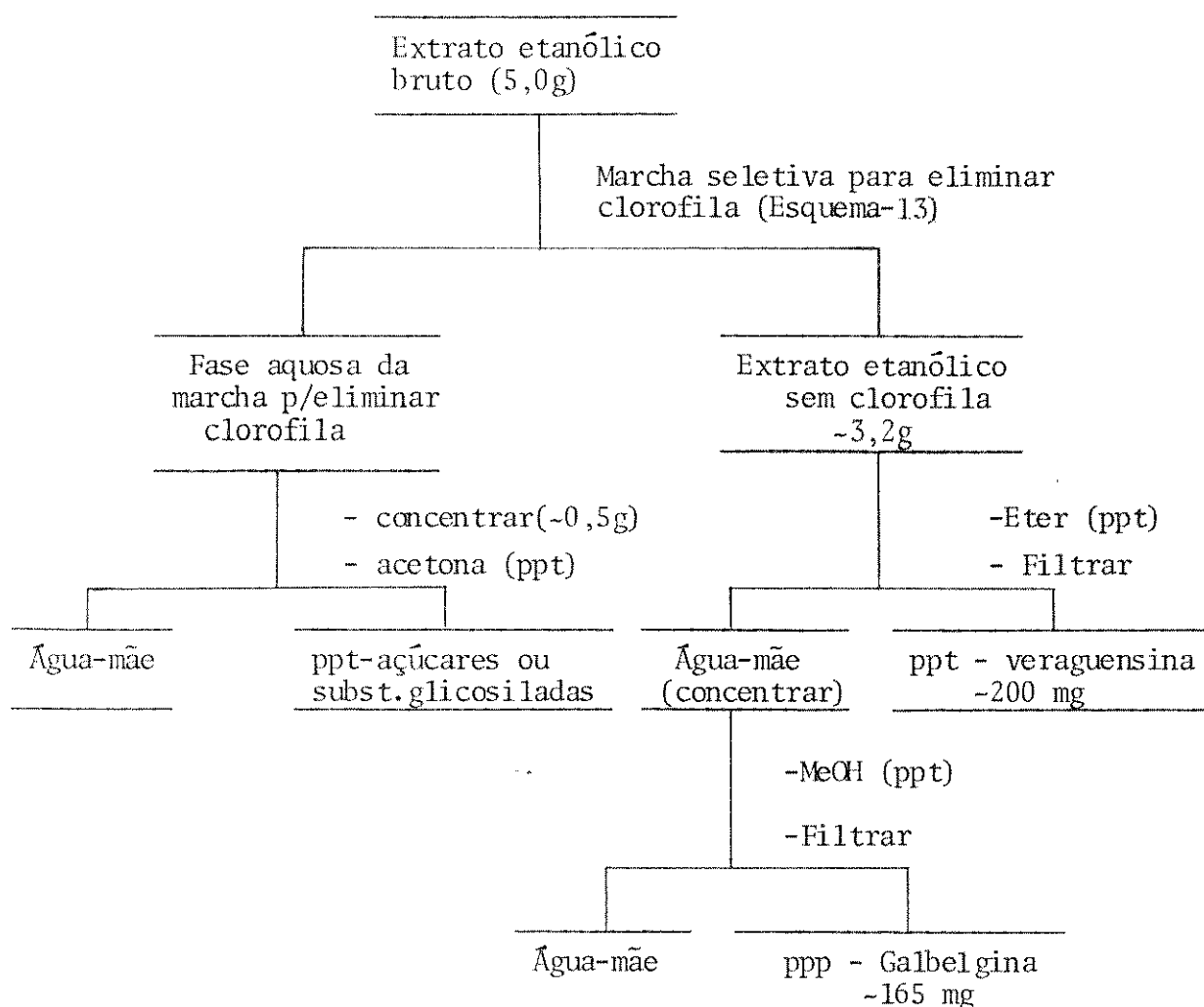
- a) Anisaldeído - H_2SO_4 (aquecimento brando)
- b) Solução alcalina com $AgNO_3$

6.2.4 - Isolamentos de alguns constituintes através de método alternativo

Vários constituintes químicos das folhas de V.surinamensis foram também obtidos diretamente a partir do extrato etanólico (Esquema-11), através de precipitações seletiva, utilizando solventes comerciais em quantidades mínima necessárias para dissolvê-lo (esquema-14), e em seguida resfriando-o a $-0^{\circ}C$.

ESQUEMA - 14

Obtenção de veraguensina e galbelgina por precipitações seletivas



Assim, as neolignanas veraguensina (23) e galbelgina (27), além de açúcares, podem ser facilmente isoladas.

A comparação através de cromatografia em camada delgada, constatamos a presença de três açúcares, um dos quais o monossacarídeo manitol, também isolado a partir do extrato metanólico (pag. 94).

TABELA - 13
Cromatografia do Extrato Etanólico

Frações Reunidas	Solvente (%)	Peso das Frações (g)	Teste c/** Dragen-dorff	Constituintes*	Peso das subst.isoladas (g)
1-5	Hex.:AcOEt-2%	0,243	-	-	
6-7	" " "	0,138	-	corantes	
8-9	" " "	0,206	-	+	
10-14	Hex.:AcOEt-4%	0,185	-	Ácidos de cadeia longa	
15-18	" " "	0,236	-	+	
				?	
19-24	Hex.:AcOEt-10%	0,384	-	VS-1*	VS-1(0,062g)
25-28	" " "	0,402	-	+	
				VS-2*	
29-33	Hex.:AcOEt-20%	0,358	-	+	
				?	
34-36	" " "	0,594	-		
37-52	Hex.:AcOEt-40%	0,668	-	VS-2*	VS-2(0,048g)
53-58	" " "	0,582	-	+	
				VS-3*	
59-65	" " "	0,450	-	+	
				?	VS-3(0,132g)
66-71	" " "	0,445	-	VS-3	
72-73	Hex.:AcOEt-60%	0,212	-	+	
				VS-5*	VS-5(0,038g)
74-78	" " "	0,523	-	+	
				VS-6*	
79-85	" " "	0,244	-	-	
86-90	" " "	0,335	+	-	VS-6(0,183g)
91-98	AcOEt	0,216	+	-	
99-102	AcOEt:MeOH-2%	0,284	+	-	
103-110	" " 10%	0,416	-	-	

- Recuperado 71,21%

-*Substâncias isoladas

-** Teste com reagente de Dragenderff /59/ (-) negativo, (+) positivo

- ? Substância em pequena concentração não isolada

TABELA - 14

Cromatografia do Extrato clorofórmico

Frações Reunidas	Solvente (%)	Peso das Frações (g)	Teste c/** Dragen-dorff	Constituintes* (* subst. isolada)	Peso das subst. isoladas (g)
1-4	Hex.:CHCl ₃ -5%	0,568	-	Hidrocarbonetos	
5-8	" " "	0,460	-	+ ácidos de cadeia longa*	
9-12	" " "	0,142	-	+ corantes	
13-15	" " "	0,318	-		
16-17	Hex.:CHCl ₃ -10%	0,342	-	VS-1*	VS-1(0,236g)
18	" " "	0,216	-	+	
19-21	" " "	0,421	-	?	
22-23	Hex.:CHCl ₃ -15%	0,362	-		
24-25	" " "	0,210	-	-	
26-27	" " "	0,103	-	-	
28-31	" " "	0,338	-	VS-3*	VS-3(0,185g)
32-35	Hex.:CHCl ₃ -30%	0,210	-	+	
36-37	" " "	0,310	-	?	
38-39	" " "	0,288	-	-	
40-41	Hex.:CHCl ₃ -60%	0,201	+	VS-4*	VS-4(0,055g)
42-43	" " "	0,165	+	VS-10*	
44-45	" " "	0,345	+	VS-10	VS-10(0,108g)
46-55	CHCl ₃	0,906	+	VS-11	
56-58	"	0,584	+	+ ?	VS-11(0,582g)
59-61	CHCl ₃ :MeOH 2%	0,242	+	VS-11	
62-65	" " "	0,283	+	?	
66-68	CHCl ₃ :MeOH 4%	0,234	-	-	
69-78	CHCl ₃ :MeOH 10%	0,184	-	-	
79-88	CHCl ₃ :MeOH 30%	0,306	-	-	

- Recuperado 73,4%

- * Substâncias isoladas

- ** Teste com reagente de Dragendorff/59/ (-) negativo, (+) positivo

- ? substâncias em pequenas concentrações (não isoladas)

6.3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DAS FOLHAS DE OSTEOPHIOEUM PLATYSPERMUM

6.3.1 - Coleta de material

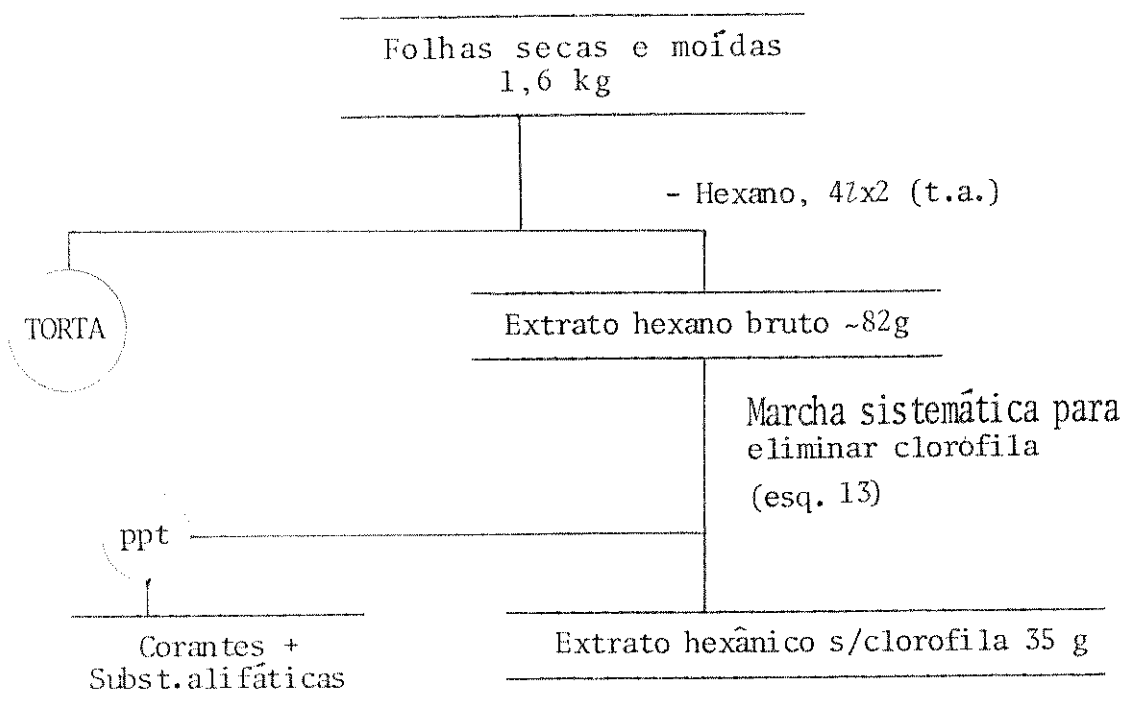
As folhas foram coletadas em Belém-Pará, no bairro do Guamã pelo Sr. Benedito da Silva, funcionário da EMPRAPA-PA-Belém e classificada como Virola pavonis. Posteriormente, reclassificada pelo botânico William A. Rodrigues do I.N.P.A.(CNPq (Manaus - AM) como O. platyspermum.

6.3.2 - Obtenção do extrato

As folhas parcialmente secas ao ar foram condicionadas em uma estufa a 40°C com a finalidade de complementar a secagem, em seguida, triturada em moído tipo Wiley (1,60 kg). A extração foi realizada com hexano (duas vezes) por 48 horas, a temperatura ambiente ao abrigo da luz. Após a concentração em evaporadores rotativos a pressão reduzida, resultou o extrato hexânico (esquema - 15).

ESQUEMA - 14

Obtenção do extrato hexânico a partir das folhas de O. platyspermum



6.3.3 - Isolamento dos constituintes

O extrato hexânico bruto produziu 82,0g (rendimento de 5,5% em relação as folhas secas) e após eliminação da clorofila, foi obtido apenas 35,0g. O precipitado decorrente da aplicação desta marcha (esquema-15), foi consideravelmente grande, apresentando além de corantes, uma mistura de hidrocarbonetos de cadeia longa, os quais, após serem analisados no IV, e RMN-¹H foram desprezados.

O extrato hexânico isento de clorofila (10g) foi colocado no topo de uma coluna cromatográfica de 60,0g de sílica Kieselgel (60-0,063-0,200mm 70-230 mesh) usando como eluentes, hexa-

no e acetato de etila, em ordem crescente de polaridade (tabela-15) obtendo-se 104 frações de ~80,0 ml, reunidas após comparação através de CCD.

As frações 19-35 foram recromatografados em colunas (d.i. 3,0 cm) de sílica gel (0,63-0,20 mm). Merck, usando como eluente clorofórmico-metanol, coletando frações de ~20 ml a partir das quais foram isoladas as substâncias OP-3 (majoritária) e OP-4. Este último composto apresentou "impurezas" que após várias tentativas de separação, usando várias técnicas, constatou-se a ocorrência de uma auto-decomposição, principalmente em solução e aumentando com vários fatores (pg. 51) não totalmente estabelecidos.

TABELA - 15

Cromatografia do extrato hexânico das folhas de

O. Platyspermum

Frações Reuni- das	Solventes (%)	Peso das Frações	Teste de cor**	Constituintes*	Peso das subst.iso- ladas(g)
1-5	Hex.:AcOEt 2%	0,282	-	Hidrocarbonetos	
6-8	" " "	0,562	+	OP-1*+OP-2*+?	OP-1(0,140g)
9-14	Hex.:AcOEt 5%	0,373	+	" " "	
15-18	" " "	0,216	+	OP-2*+OP-3*+?	OP-2(0,072g)
19-21	" " "	0,321	+	OP-3'+OP-4*+6	
22-28	Hex.:AcOEt 10%	0,608	+	" " "	OP-3(0,420g)
29-35	" " "	0,334	+	" " "	
36-40	" " "	0,410	+	OP-3*+?	OP-4(0,121g)
41-44	Hex.:AcOEt 20%	0,283	+	-	
45-49	" " "	0,263	+	-	
50-58	" " "	0,401	+	-	
59-60	" " "	0,182	+	-	
61-67	Hex.:AcOEt 30%	0,763	+	OP-5*+?	OP-5(0,290g)
68-72	" " "	0,312	+	" "	
73-76	" " "	0,281	+	" "	
77-81	" " "	0,228	+	" "	
82-85	Hex.: AcOEt 50%	0,316	+	-	
86-88	" " "	0,283	+	OP-6*+?	OP-6(0,216g)
89-95	" " "	0,565	+	" "	
96-102	Hex:AcOEt 70%	0,209	+	" "	
103-104	AcOEt	0,368	-	-	

- Recuperado 75,6 %

-* Substâncias Isoladas

-** Anisaldeído - $H_2SO_4/97/$ (+) positivo, (-) negativo /126/

- ? substâncias em pequenas concentrações(não isoladas).

6.4. DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE V.SURINAMENSIS E DE SEUS DERIVADOS.

VS-1 (β -sitosterol)

Ponto de fusão: 135,0-137,0°C (MeOH-Éter) (Lit. / 46 / 139,0-140,0); IV, $\nu_{\text{máx.}}^{\text{nujol}}$: 3.450, 2990, 2940, 1.620, 1.480, 1.250, 1.140, 1.100, 1.060, 950, 840 e 800 cm^{-1} ; RMN- ^1H δ (CDCl_3): 0,80 (3H,s), 1,0(3H,s), 3,2(1H,m) e 5,3(1H,d); EM, M^+ em m/e 408.

VS-4 (Éter dimetílico do pinoresinol)

Ponto de fusão: 10,5-106,4°C (MeOH); rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = +45^\circ$ ($c=1,13$, CHCl_3); UV (E-06, pag. 115) $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH}}$ (ϵ .) 278(6.952) e 232(19.539); IV (E-04, pag. 114), $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.000, 2.970, 2.830, 1.600, 1.480, 1.230, 1.150, 865, 850, 810 e 755 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-09, pag. 117) δ (CDCl_3): 3,17(2H,m), 3,93(6H,s), 3,97(6H,s), 4,27(2H,m), 4,82(2H,d, $J=5,0$ Hz) e 6,98(6H,m), EM (E-08, pag.116), m/e (abundância relativa) 166(28,6), 165(70,5) e 151(51,8).

VS-6 (galbelgina)

Ponto de fusão: 140,1-140,8°C (MeOH); rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -104^\circ$ ($c=1,18$, CHCl_3); UV (E-05, pag. 115) $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH}}$ (ϵ .) 233 (19.840), 278(8.660)nm; IV (E-03, pag. 114) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.600, 2.830, 1.600, 1.510, 1.260, 1.160, 1.028, 820, 800 e 735 cm^{-1} RMN- ^1H (E-01, pág. 113) δ (CDCl_3): 1,04 (6H,d, $J=5,0$ Hz), 3,80(6H,s), 3,84 (6H,s) e 6,7-7,0(6H); EM (E-07, pág.116), m/e (abundância relativa): 372 (M^+ , 5,0) e 206 (100); RMN- ^{13}C (E-02, pág. 113): ver pag. 23.

VS-10 (7,3',4'-trimetoxiflavona)

Ponto de fusão: 179,4-180,0°C (MeOH); rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = 0,0^\circ$; UV (E-15, pág.120) $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH}}$ (ϵ .) 237(12.435), 300(11.080) e 337(13.350) nm; IV (E-11, pag.118) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$ 3.000, 2.830, 1.630, 1.600, 1.480, 1.260, 960 e 830 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-10, pág. 117) δ (CDCl_3) 3,96(3H,s), 4,00(3H,s), 6,65(1H,s), 6,95(1H,d,J=2,0 Hz), 7,00(1H,d,J=9,0 Hz), 7,05(1H,dd,J=9,0 e 2,0 Hz) e 8,17 (1H,d,J=9,0 Hz); EM (E-14, pág.119) m/e (abundância relativa): 312 (M^+ , 100), 297(2,9), 284(20,0), 162(14,5), 151(14,5), 142(10,0) e 132(7,1).

VS-11 (3'-OH-7,4'-dimetoxiflavona)

Ponto de fusão: 197,0-198,1°C (MeOH); UV (E-16, pág.120) $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH}}$ (ϵ .): 237(15.264), 300(12.059) e 337(14.679)nm; IV (E- 17 , pág.121) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.550, 3.000, 2.850, 1.625, 1.600, 1.380, 1.250, 1.030, 970, 850 e 830 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-18, pág. 122) δ (CDCl_3): 3,99(3H,s), 4,00(3H,s), 6,47(1H,s), 6,67(1H,m), 6,93(1H,d,J=2,0 Hz), 7,02(1H,dd,J=10,0 e 2,0 Hz), 7,06(1H,dd,J=9,0 e 2,0 Hz), 7,50 (1H,d,J=2,0 Hz), 7,60 (1H,dd,J=9,0 e 2,0 Hz) e 8,27 (1H,d,J=10,0 Hz); EM (E-13, pag. 119) m/e (abundância relativa): 298 (M^+ , 100,0), 283(3,4), 270(3,8), 255(12,6), 165(11,5) e 151(28).

Acetilação de composto VS-11

0,250 g ($8,39 \times 10^{-4}$ moles) de VS-11 foram dissolvidos em uma mistura de anidrido acético (2,5 ml) e piridina (2,0 ml). A reação foi deixada a temperatura ambiente por 24 horas, sob agitação constante, em seguida a mistura reacional foi vertida em água gelada e extraída com éter etílico. As soluções etéricas

após serem lavadas com uma solução aquosa de ácido clorídrico a 5%, foram lavadas com água. A solução etérea livre de piridina, seca com sulfato de sódio anidro foi concentrada em evaporador rotativo, resultando num resíduo oleoso, o qual após ser cromatografado em CCD-P (sílica gel, PF_{254}) utilizando clorofórmio/metanol como eluente, obtivemos 0,175 g do composto denominado (VS-11) Ac. Este composto recristalizado de metanol apresentou ponto de fusão 177,1-178,5°C, rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = 4,2$ ($c=1,38$, CHCl_3) UV (E- 15, pág. 120) $\lambda_{\text{máx.}}^{\text{EtOH}}$ (ϵ .) 220(16.985) e 315(7.430) nm; IV (E-12, pág. 118) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.010, 2.840, 1.765, 1.630, 1.600, 965, 875, 830 e 810 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-19, pág. 122) δ (CDCl_3): 2,40(3H,s), 3,97(6H,s), 6,68(1H,s), 6,95(1H,d,J=2,0 Hz), 7,07(1H,dd,J=10,0 e 2,0 Hz), 7,10(1H,dd,J=9,0 e 2,0 Hz), 7,63(1H,d,J=2,0 Hz), 7,80(1H,dd,J=9,0 e 2,0 Hz) e 8,17(1H,d,J=10,0 Hz); EM (E-20, pág. 123) m/e (abundância relativa): 340 (M^+ 52,0), 298(100), 151(22,0), 148(8,0) e 135(2,0); análise elementar: C 66,92; H 4,82; N 0,0.

Eterificação do composto VS-11

0,050 g ($1,68 \times 10^{-4}$ moles) de VS-11 foram tratados com excesso de diazometano em solução etérea por 16 horas, sob temperatura de -0° , depois da evaporação natural do reagente e do solvente, obtivemos um resíduo cristalino (0,051g) o qual, após sucessivas recristalizações em metanol, resultou no composto denominado (VS-11)Me. Os dados espectroscópicos do composto foram idênticos aos de VS-10.

6.5. DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DAS FOLHAS DE O.PLATYSPERMUM E DE SEUS DERIVADOS.

OP-1 (Espatulenol)

Composto oleoso com rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = +52^{\circ}$ ($c=1,15$ CHCl_3); IV (E-24, pág.125) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{filme}}$: 3.080, 2.870, 1.630, 1.380, 1.240, 890, 785 e 755 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-22, pág.124) δ (CCl_4): 1,03 (3H,s), 1,05(3H,s), 1,25(3H,s), 2,87(1H,m) e 4,62(2H,m), EM (E-26, pág.126) m/e (abundância relativa): 220 (M^+ , 44,0), 205(100,0), 202(39,0), 162(56,0), 159(56,0) e 121(92,0); RMN- ^{13}C (E-23, pag. 104) δ (CHCl_3): 153,3(C-10), 106,1(C-15), 81,0(C-4), 54,2(C-5), 53,3(C-1), 41,8(C-3), 38,9(C-9), 30,0(C-6), 28,7(C-13), 27,6(C-7), 26,7(C-2), 25,9(C-14), 24,8(C-8), 20,2(C-11) e 16,2 (C-12).

OP-2 (δ -cadinol)

Ponto de fusão: 121,2-123,0 $^{\circ}\text{C}$; rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = +95^{\circ}$ ($c=1,01$, CHCl_3); IV (E-25, pág.125) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.300, 3.020, 1.630, 1.470, 1.380, 1.245, 980, 920 4 860 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-28, pág. 127) δ (CCl_4): 0,81(3H,d,J=6,5 Hz), 0,92(3H,d,J=6,5 Hz), 1,25 (3H,s), 1,67(3H,s) e 5,42(2H,b(1)); EM (E-27, pag.126) m/e (abundância relativa): 222(M^+ , 1,5), 105(30,0), 95(33,0), 80(23,0), 71(15,0) e 58(14,0); RMN- ^{13}C (E-29, pag.127): ver tabela-4, pág. 69).

OP-3 ((-) Kauran-16-en-19-óico)

Ponto de fusão: 172,1-172,9 $^{\circ}\text{C}$ (MeOH); rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -105^{\circ}$ ($c=0,84$, CHCl_3); IV (E-31, pág.129) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.600-2.450,

3.060, 1.695, 1.480, 1.470, 1.340, 970, 920, 885 e 800 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-30, pág. 128) $\delta(\text{CDCl}_3)$: 0,98 (3H,s), 1,26(3H,s), 1,53(3H,m), 2,60(1H,m) e 4,73(2H,m); EM (E-34, pág.130) m/e (abundância relativa): 302 (M^+ , 100,0), 287(24,0), 259(40,0), 131(35,0), 107(20,0) e 105(27,0).

Esterificação do composto OP-3

0,75g ($2,48 \times 10^{-4}$ moles) do composto OP-3 foram tratados com excesso de diazometano em solução etérea por 18 horas sob temperatura de -0° . Completada a reação, o reagente foi evaporado naturalmente, resultando num resíduo cristalino (0,076 g) o qual após recristalizações sucessivas resultou o composto (OP-3) Me com ponto de fusão: $148,2 - 149,8^\circ\text{C}$; rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -102^\circ$ ($c=0,98$, CHCl_3); IV (E-32, pág.129) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.050, 1.720, 1.640, 1.380, 1.110, 1.020 e 870 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-31a, pág. 128) $\delta(\text{CDCl}_3)$: 0,83 (3H,s), 1,17(3H,s), 2,07(2H,m), 3,63(3H,s) e 4,73(2H,m); EM (E-35, pág.131) m/e (abundância relativa): 316 (M^+ , 100), 301(25,0), 257(55,0) e 120(32,0).

OP-4 ((-) Kauran-16-en-19-al)

Ponto de fusão: -89°C (com impurezas) (Lit./100/ 114°C) IV (E-38, pág.132) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.060, 2.840, 2.820, 2.720, 1.710, 1.650, 1.460, 965 e 870 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-36, pág.131) $\delta(\text{CDCl}_3)$: 0,88(3H,s), 0,97(6H,s), 2,07(2H,m), 4,73(2H,m) e 9,17(1H,d, $J=2,0$ Hz); EM m/e (abundância relativa): 286 (M^+ , 100,0), 271(15,0) e 131(30,0).

Redução do composto OP-4

0,012 g ($4,2 \times 10^{-5}$ moles) do composto OP-4 foram dissolvidos em 15 ml de éter etílico anidro e em seguida adicionamos ~25 mg de hidreto de lítio e alumínio, ficando a mistura reacional sob refluxo por 10 horas.

Finda a reação, o excesso de LiAlH_4 foi destruído com acetato de etila e água. O produto foi extraído com éter etílico e os extratos reunidos, secos com sulfato de sódio anidro os quais foram concentrados em evaporadores rotativos, resultando num resíduo cristalino que após recristalizações sucessivas (hexano/ CHCl_3) resultou no composto denominado (OP-4)01, com ponto de fusão: 123°C ; rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -52,2^\circ$ ($c=0,40$ CHCl_3) (Lit. $[\alpha]_D^{22} = -82^\circ$ ($c=0,42$, EtOH) /100/); IV (E-37, pág. 132) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.420, 1.660, 1.380, 1.260, 930 e 870 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-56, pág. 141) δ (CDCl_3): 1,00(6H,s), 1,07(3H,s), 2,08(2H,m) e 4,83(2H,b(1)), EM (E-33, pág. 130) m/e (abundância relativa) 288(M^+ , 86,0), 273(28,0) 258(24,0) e 257(100,0).

OP-5 ((-) eperu-13-en-8(β),15-diol)

Ponto de fusão: 118,5-121,0 (MeOH); rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -29^\circ$ ($c=1,01$, CHCl_3); IV (E-42, pág. 134) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3,250, 1.680, 1.380, 1.230, 920, 850 e 800 cm^{-1} ; RMN- ^1H (E-39, pág. 133) δ (CDCl_3): 0,83(3H,s), 0,86(3H,s), 0,96(3H,s), 1,25(3H,3), 1,73(3H,s), 4,22(2H,d,J=7,0 Hz) e 5,47(1H,t,J=7,0 Hz); EM (E-44, pág. 135) m/e (abundância relativa: 308 (M^+ , 2,0), 290(12,0), 192(100,0) e 81(70,0).

Acetilação de OP-5

0,070 g ($2,27 \times 10^{-4}$ moles) do composto OP-5 foram submetidos a acetilação com anidrido acético (1,5 ml) e piridina (1,0 ml), segundo método usual (pág. 104). O produto da reação foi cromatografado em CCD-P (sílica gel PF₂₅₄) usando como eluente clorofórmio/metanol 1,0%, obtendo-se 0,065 g do composto oleoso denominado (OP-5)Ac com rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -26,7^\circ$ ($c=1,06$, CHCl₃); IV (E-41, pág. 134) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{filme}}$: 3.510, 1.740, 1.660, 1.560, 1.380, 1.230, 950, 910 e 780 cm⁻¹; RMN-¹H (E-40, pág. 133) δ (CCl₄): 0,83(3H,s), 0,86(3H,s), 0,95(3H,s), 1,13(3H,s), 1,17(3H,s), 1,77(3H,s), 2,0(3H,s), 4,50(2H,d,J=7,0 Hz) e 5,22(1H,t,J=7,0 Hz); EM (E-43, pag. 135) m/e (abundância relativa): 350(M⁺, 9,0), 335(8,0), 256(13,0), 204(100,0), 114(37,0) e 116(70,0).

OP-6 ((-) eperu-8(20),13-dien-3(β),15-diol).

Ponto de fusão: 159,2-160,9°C (MeOH); rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -29,8^\circ$ ($c=1,07$, CHCl₃); IV (E-47, pág. 137) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}}$: 3.300, 3.080, 1.680, 1.630, 1.225, 990, 875, 840 e 745 cm⁻¹; RMN-¹H (E-45, pág. 136) δ (CDCl₃): 0,70(3H,s), 0,77(3H,s), 1,0(3H,s), 1,52(3H,s), 1,67(3H,s), 4,18(2H,d,J=7,0 Hz), 4,58(1H,s), 4,90(1H,s), 5,43(1H,t,J=7,0 Hz); EM (E-49, pág. 138) m/e (abundância relativa): 306 (M⁺, 5,0), 291(10,0), 273(13,0), 135(100,0) e 107(25,0); RMN-¹³C (E-46, pág. 136) ver tabela-3a (pág. 65).

Acetilação do composto OP-6

0,046 g ($1,50 \times 10^{-4}$ moles) do composto OP-6 foram submetidos a acetilação com anidrido acético (1,0 ml) e piridina (0,5 ml), segundo método usual (pág. 104). O produto da reação foi

cromatografado em CCD-P (sílica gel PF₂₅₄) usando como eluente clorofórmio/metanol 1,0%, obtendo-se 0,040 g do composto oleoso denominado (OP-6)Ac que apresentou rotação óptica $[\alpha]_D^{22} = -36^{\circ}$ ($c = 1,16$, CHCl₃); IV (E-48, pág.137) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{filme}} = 3.080, 2.840, 1.740, 1.620, 1.380, 960, 885 \text{ e } 830 \text{ cm}^{-1}$; RMN-¹H (E-51, pág.139) δ (CCl₄): 0,73 (3H,s), 0,83(3H,s), 0,88(3H,s), 1,73(3H,s), 2,0(6H,s), 4,47 (1H,s(1)), 4,58(1H,s(1)) e 5,25(1H,m); EM(E-50, pág.138) m/e (abundância relativa) 390 (M⁺, 4,0), 375(3,0), 331(32,0), 330 (50,0), 135(70,0) e 61(100,0).

Oxidação do composto OP-6

0,075 g ($2,08 \times 10^{-4}$ moles) do composto OP-6 foram dissolvidos em 15 ml de benzeno anidro, adicionando em seguida um excesso (-0,40 g) de reagente de Fetizon /108/. A mistura reacional foi mantida sob refluxo por 10 horas sob abrigo da luz, até o complemento de reação. Após filtração, o solvente foi evaporado a pressão reduzida, resultando num resíduo cristalino recristalizado em metanol. O composto assim obtido foi denominado (OP-6)Al e apresentou ponto de fusão 120,0-121,9 °C; IV (E-55, pág. 141) $\nu_{\text{máx.}}^{\text{KBr}} : 3.420, 2.840, 1.660, 1.600, 1.420, 1.030 \text{ e } 900 \text{ cm}^{-1}$, RMN-¹H (E-52, pág. 139) δ (CDCl₃): 0,58(3H,s), 0,62(3H,s), 0,82 (3H,s), 1,78(3H,d, $J \approx 1,5 \text{ Hz}$), 3,78(1H,b(1)), 4,08(1H,s(1)), 4,84 (1H,d, $J = 6,0 \text{ Hz}$) e 8,26(1H,d, $J = 6,0 \text{ Hz}$); EM (E-54, pág. 140) m/e (abundância relativa): 304 (M⁺, 50,0), 269(55,0), 260(50,0), 243 (33,0), 203(25,0), 139(48,0), 135(100,0) e 105(75,0).

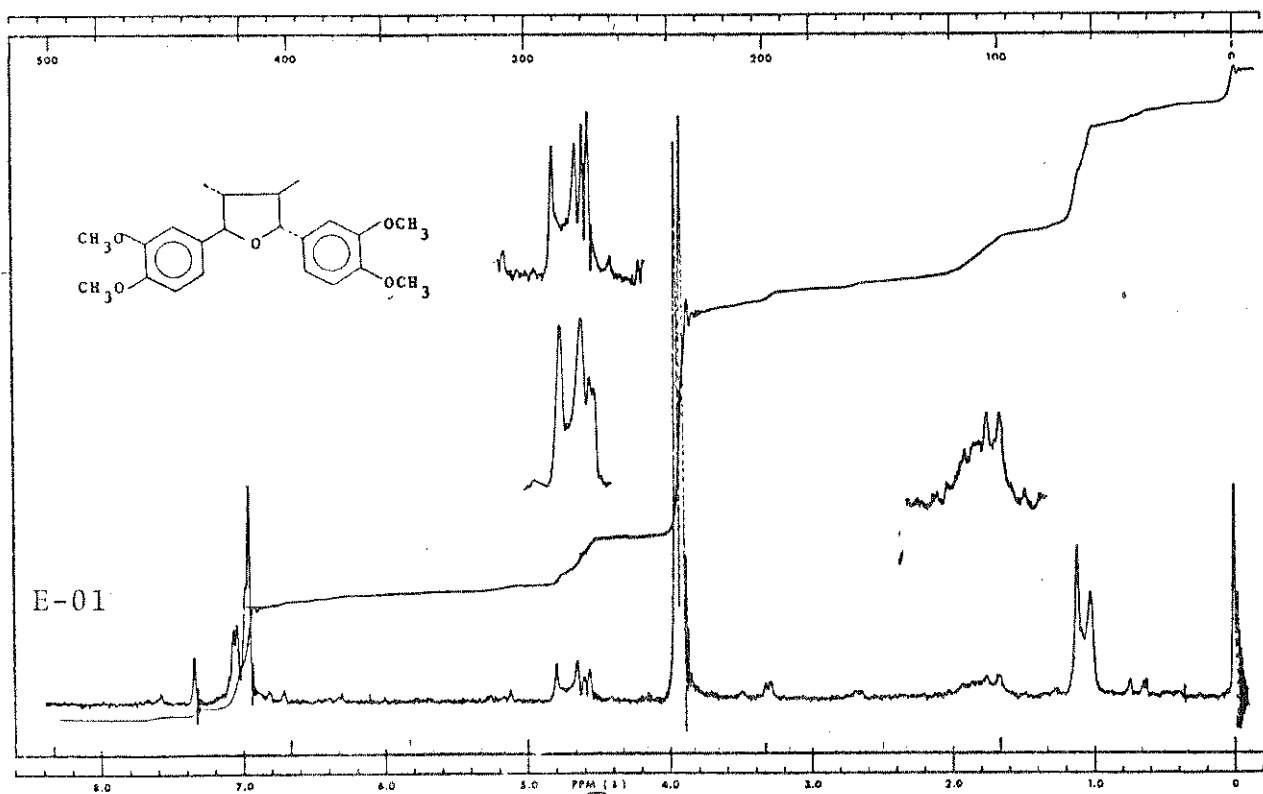
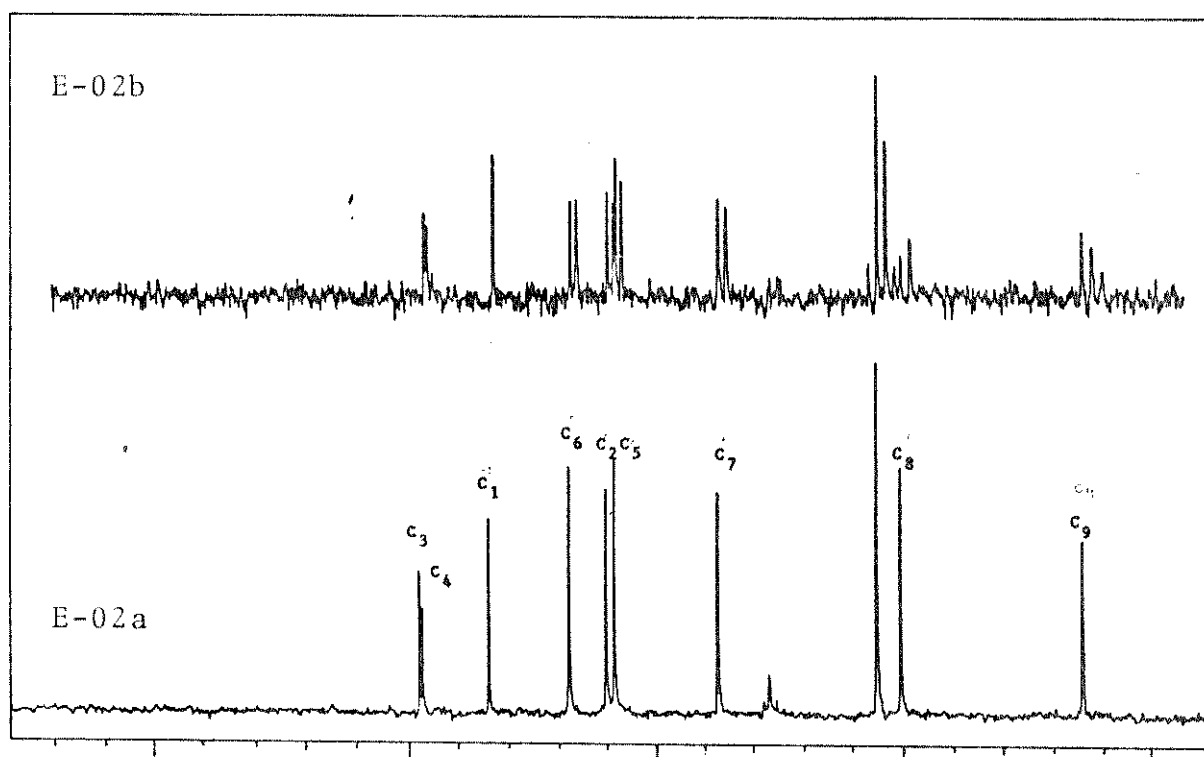
CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o presente trabalho permitiu-nos a seguinte conclusão:

- 1) Virola e Osteophloeum são gêneros da mesma família e costumam ser confundidos como no nosso caso, no entanto, suas composições químicas apresentam uma diferença marcante. As folhas de O.platyspermum apresentam sesquiterpenos e diterpenos ausente em Virola, por outro lado, destas não foram isoladas neolignanas ou flavonoides marcadores biológicos da família Myristicaceae, fato que não contraria sua classificação quimiotaxonômica devido estes compostos terem sido isolados a partir de sua madeira.
- 2) As flavonas (38) e (44) isoladas das folhas de V.surinamensis e (11) de V.sebífera, representam possivelmente um estágio de evolução na família Myristicaceae. Sua presença nestas espécies é compreendida biogeneticamente através da formação do esqueleto C_{15} , produzido em plantas que apresentam produtos metabólicos secundários decorrentes do acoplamento de unidade C_6-C_3 via ácido chiquímico, e três C_2 de unidades acetatos.
- 3) O uso conjunto dos cálculos semi-empíricos de ^{13}C formulados por Beierback e da equação aproximada de McConnell e Robertson, aplicados as conformações I, II e III, indicam claramente a conformação "nonsteroid-like" para o composto (+) δ -cadinol em solução, propo

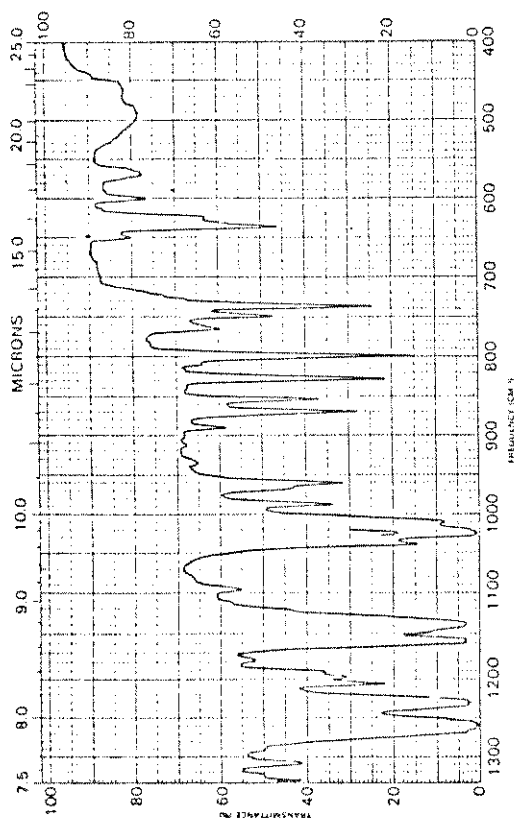
sição esta, contraria a "twist" proposta por Dubovenko e col.

- 4) As espécies da família Myristicaceae e seus constituintes químicos, são merecedores de estudos farmacolôgicos mais intensos e mais abrangentes. O registro neste trabalho de atividade bacteriana de seus componentes, representam um incontestável incentivo para o prosseguimento destes estudos.

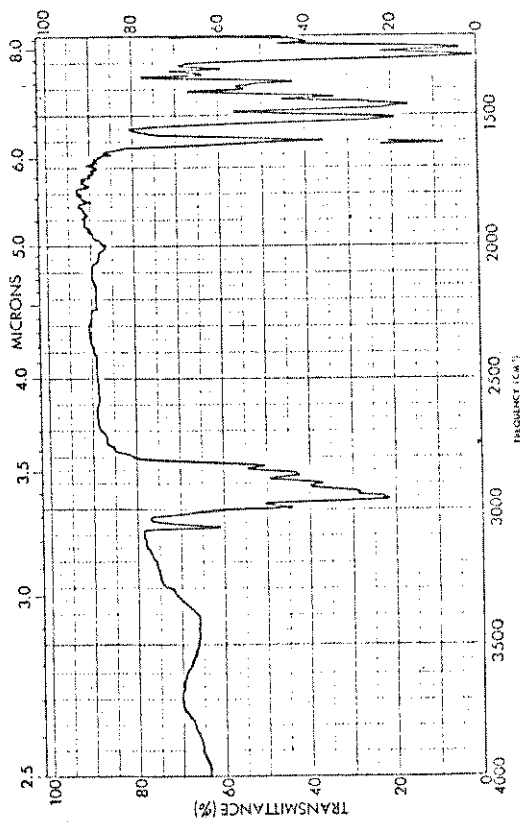
E-01 - Espectro de RMN- ^1H de VS-6E-02 - Espectros de RMN- ^{13}C de VS-6

a) FDFP

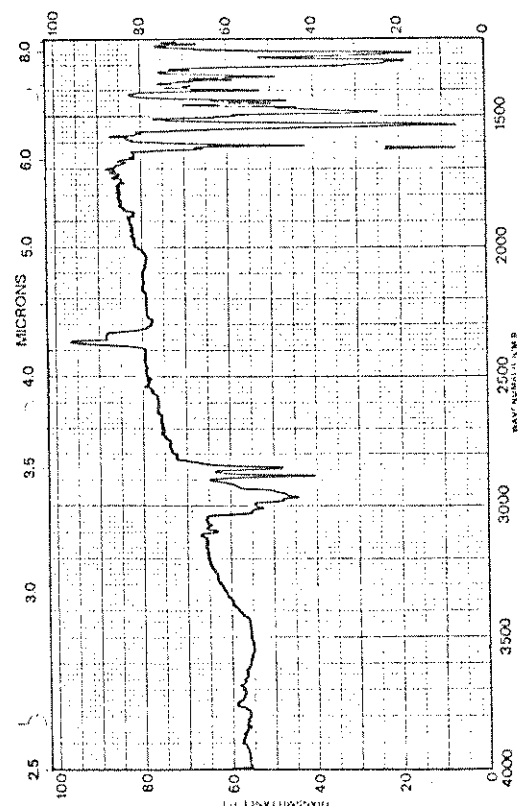
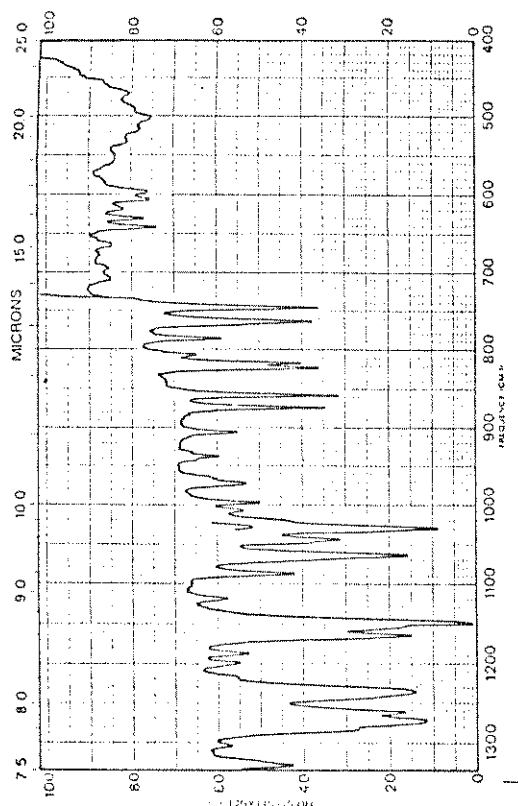
b) DFL

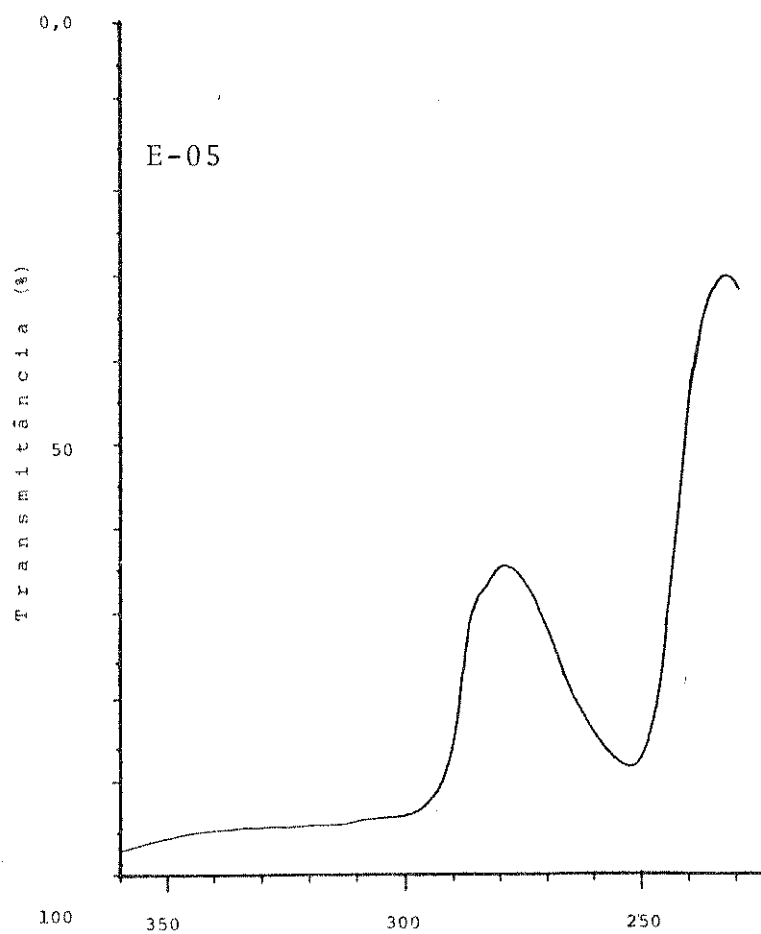


E-03 - Espectro de IV de VS-6

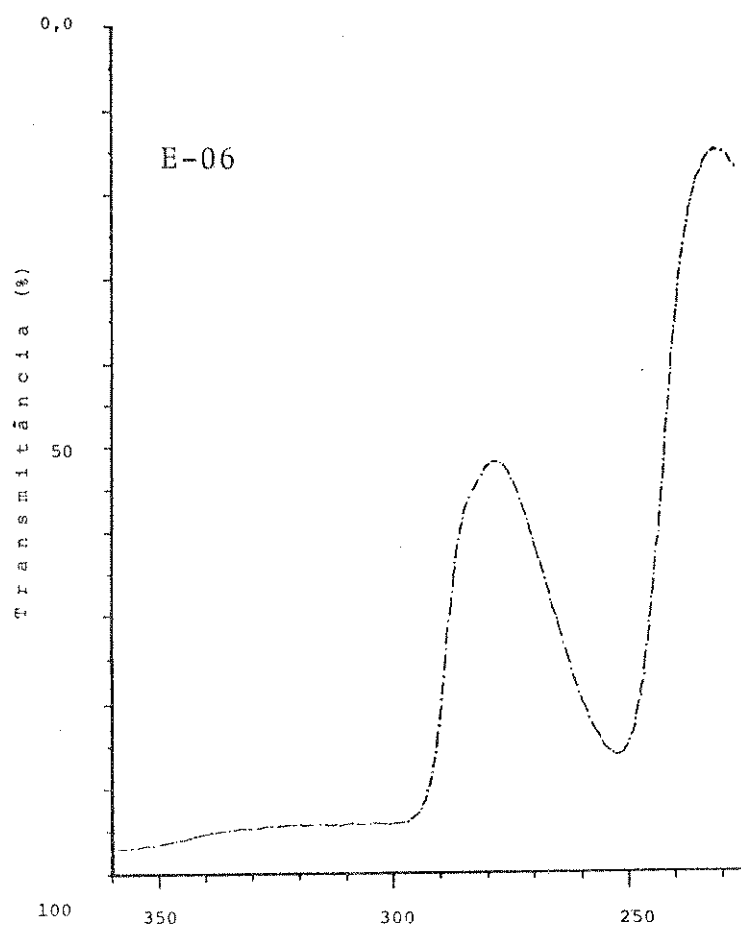


E-04 - Espectro de IV de VS-4

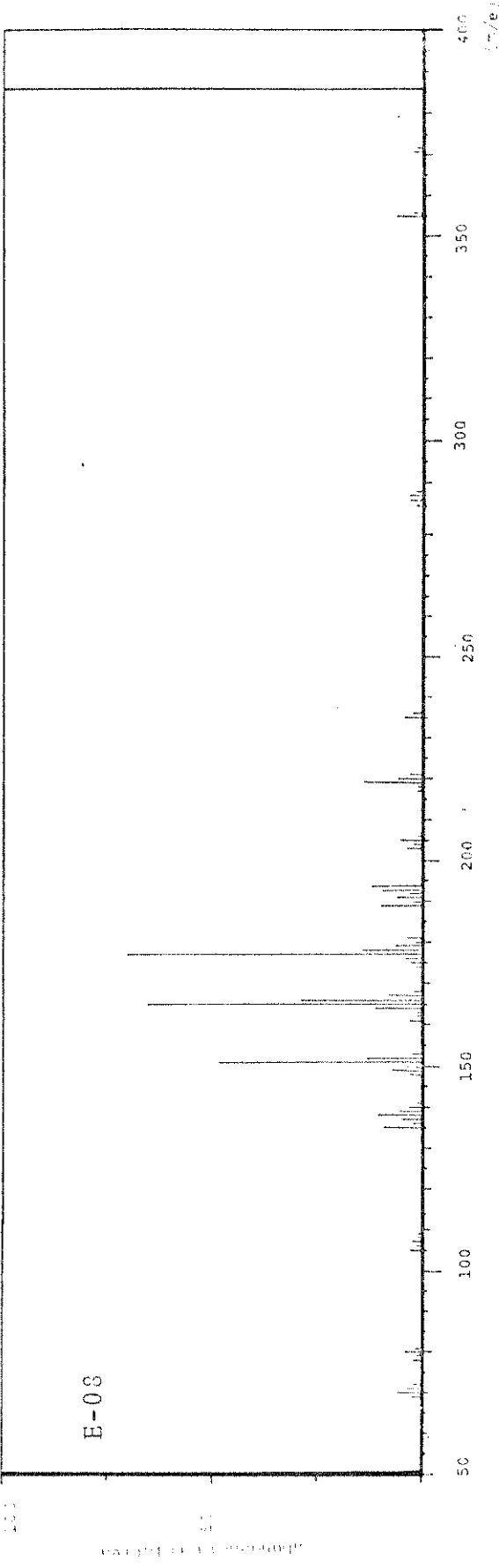




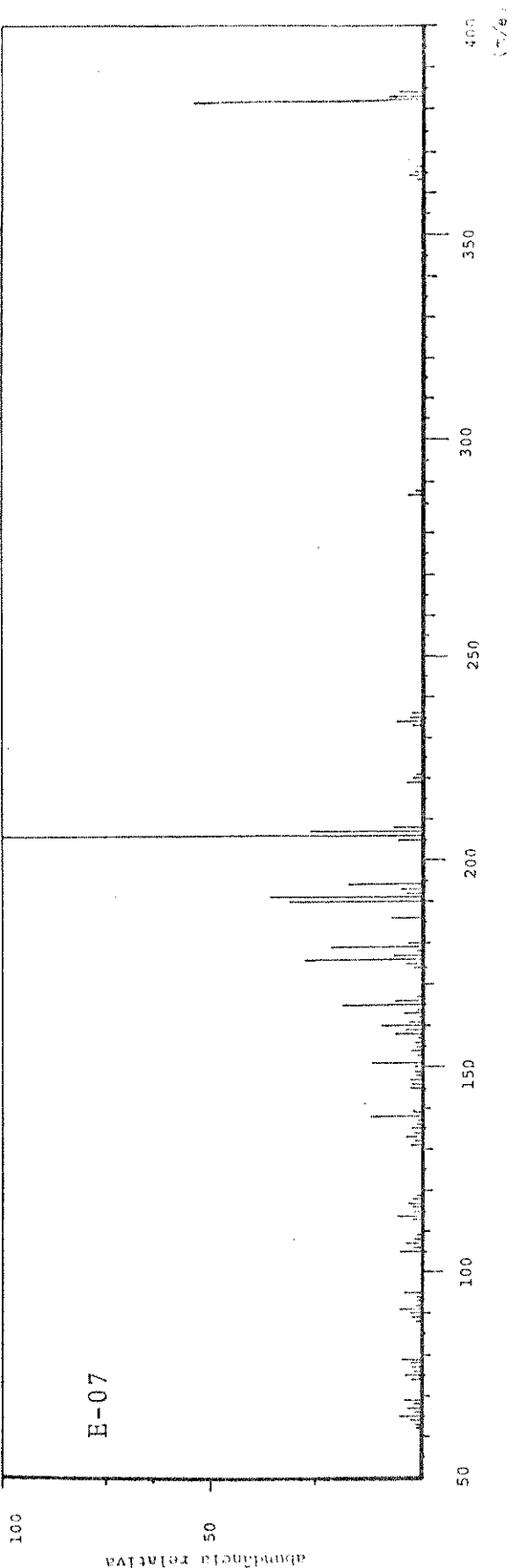
E-05 - Espectro de UV de VS-6



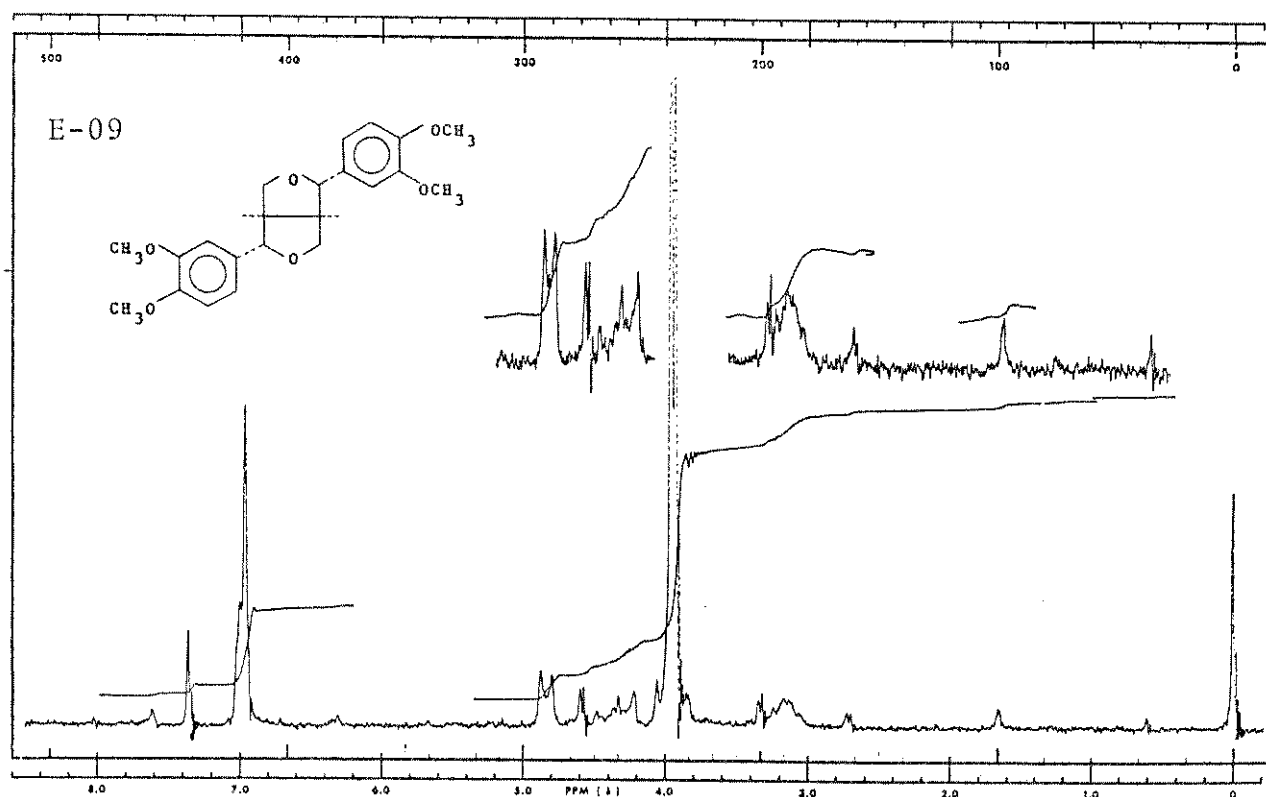
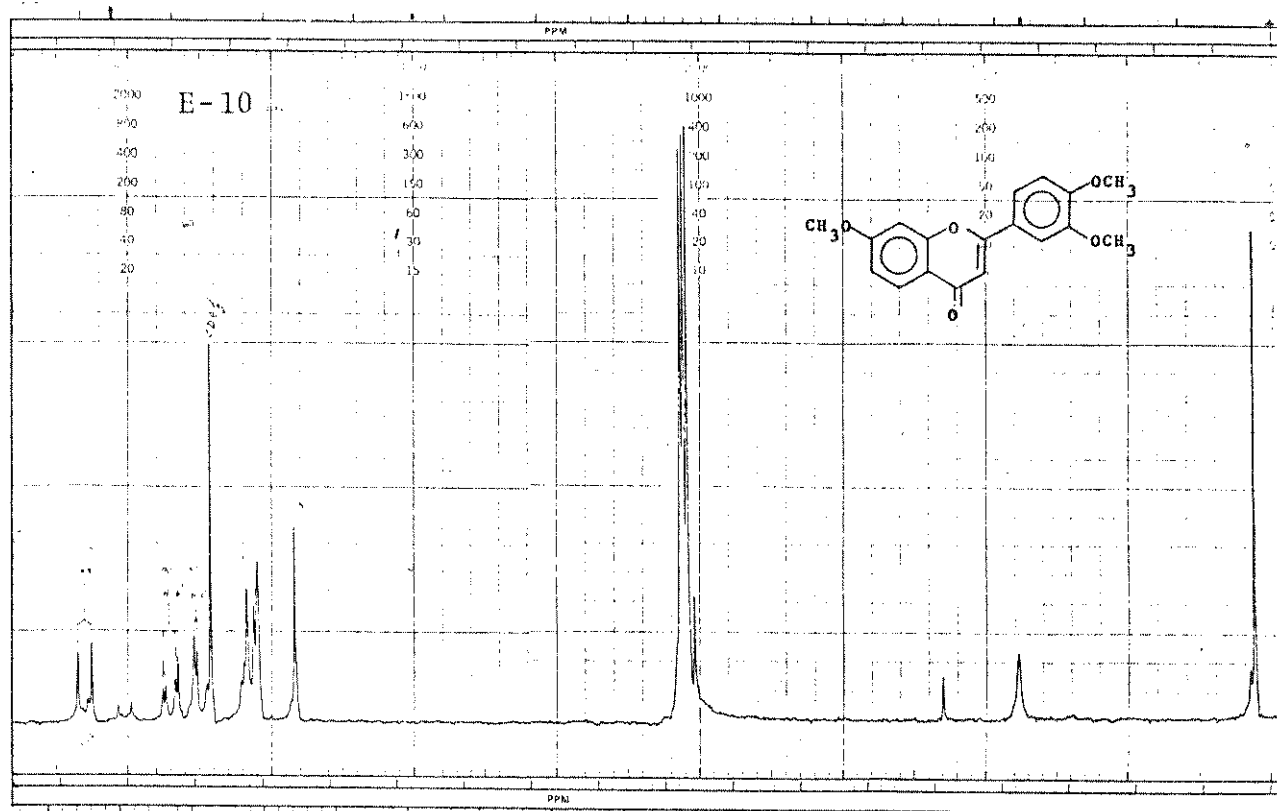
E-06 - Espectro de UV de VS-4

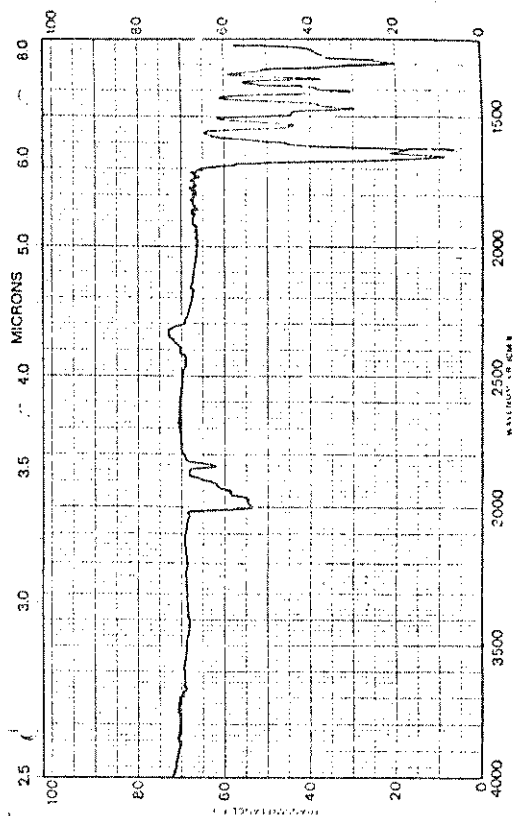
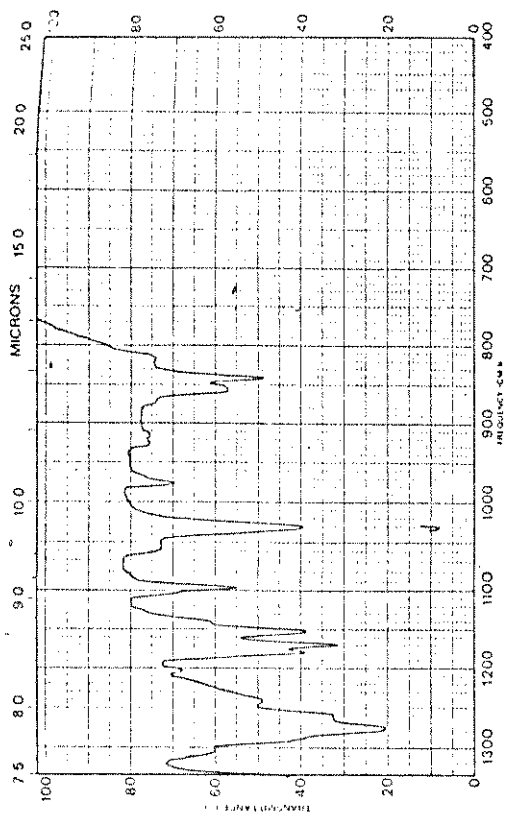


E-08 - Espectro de massa de VS-4

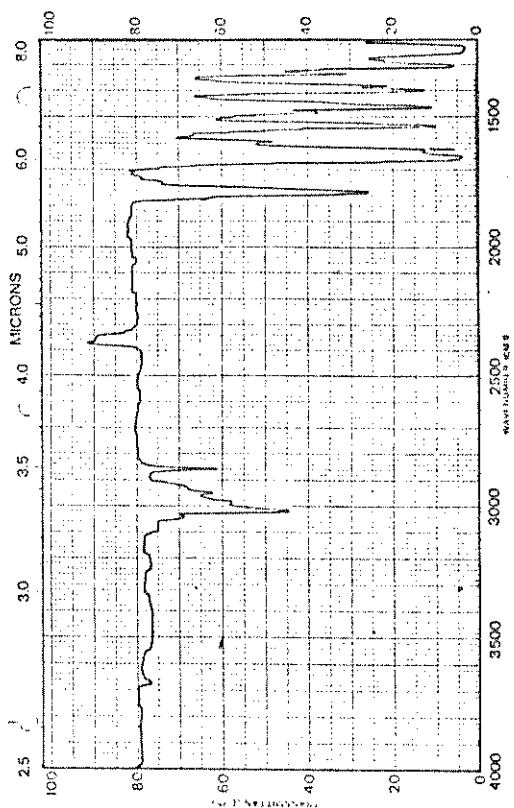
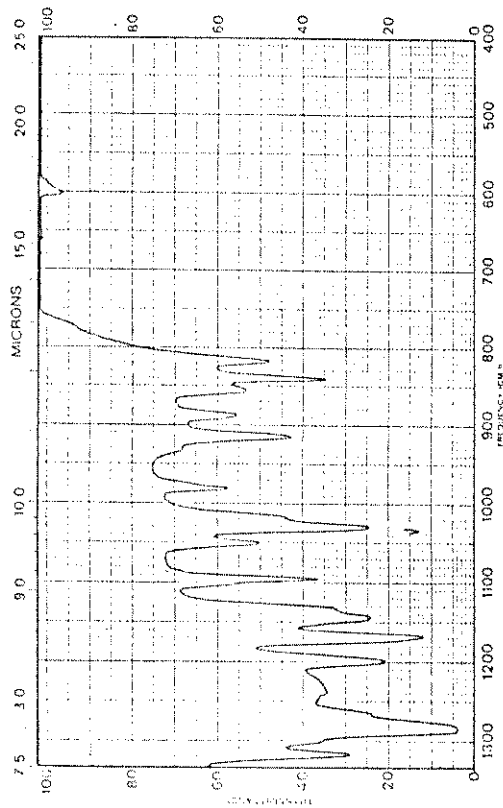


E-07 - Espectro de massa de VS-6

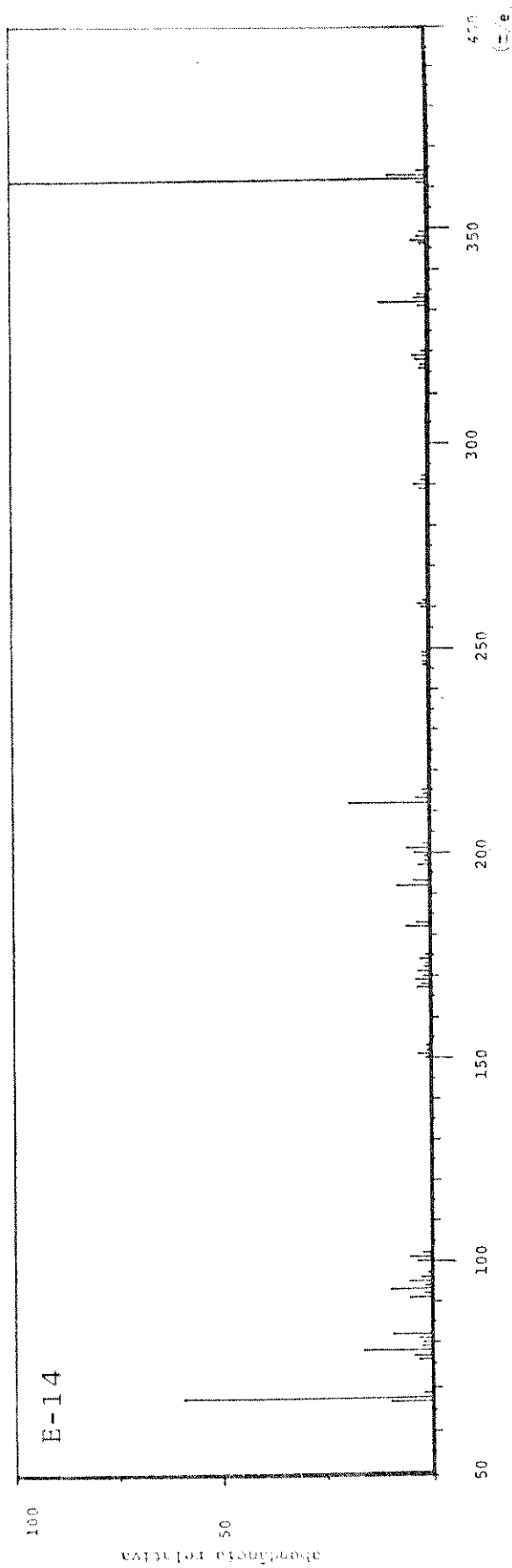
E-09 - Espectro de RMN-¹H de VS-4E-10 - Espectro de RMN-¹H de VS-10



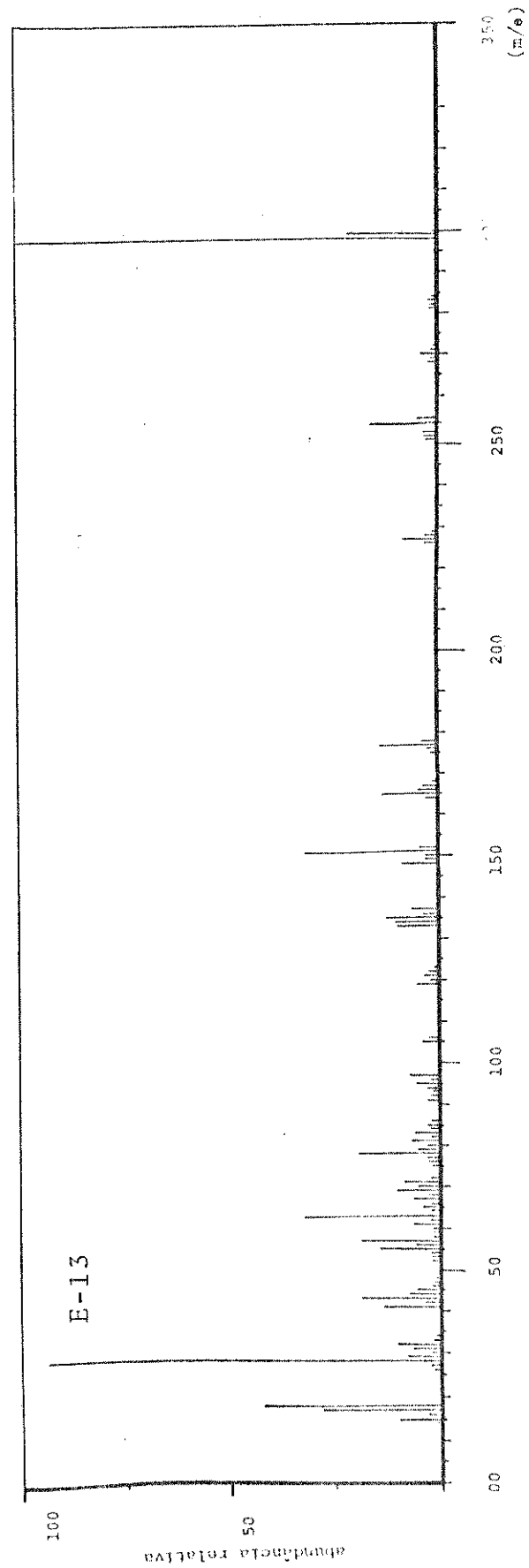
E-11 - Espectro de IV de VS-10



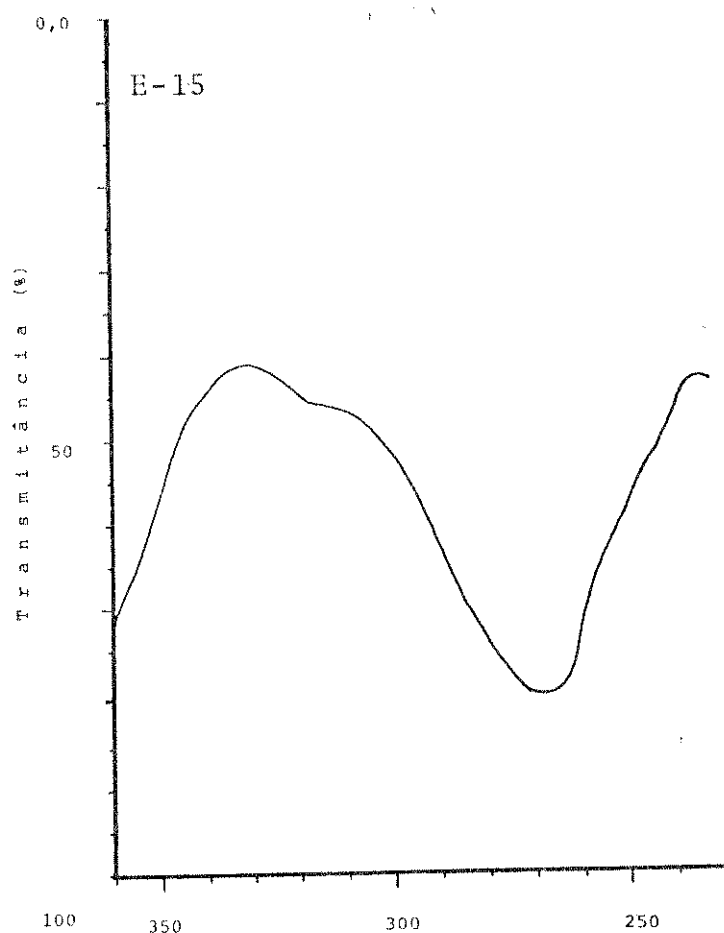
E-12 - Espectro de IV de (VS-11)Ac



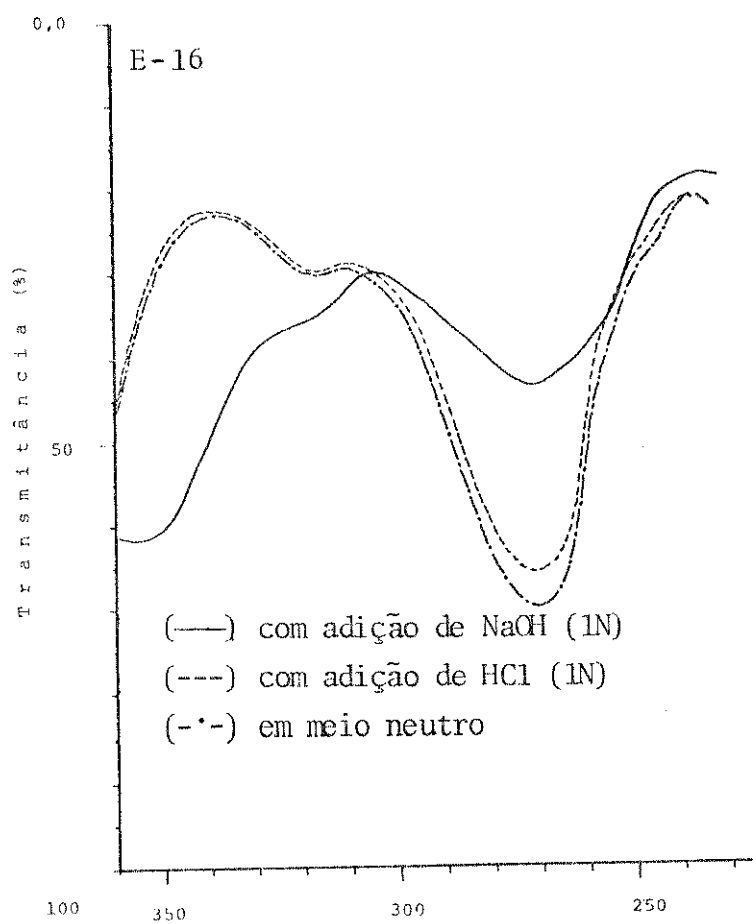
E-14 - Espectro de massa de VS-10



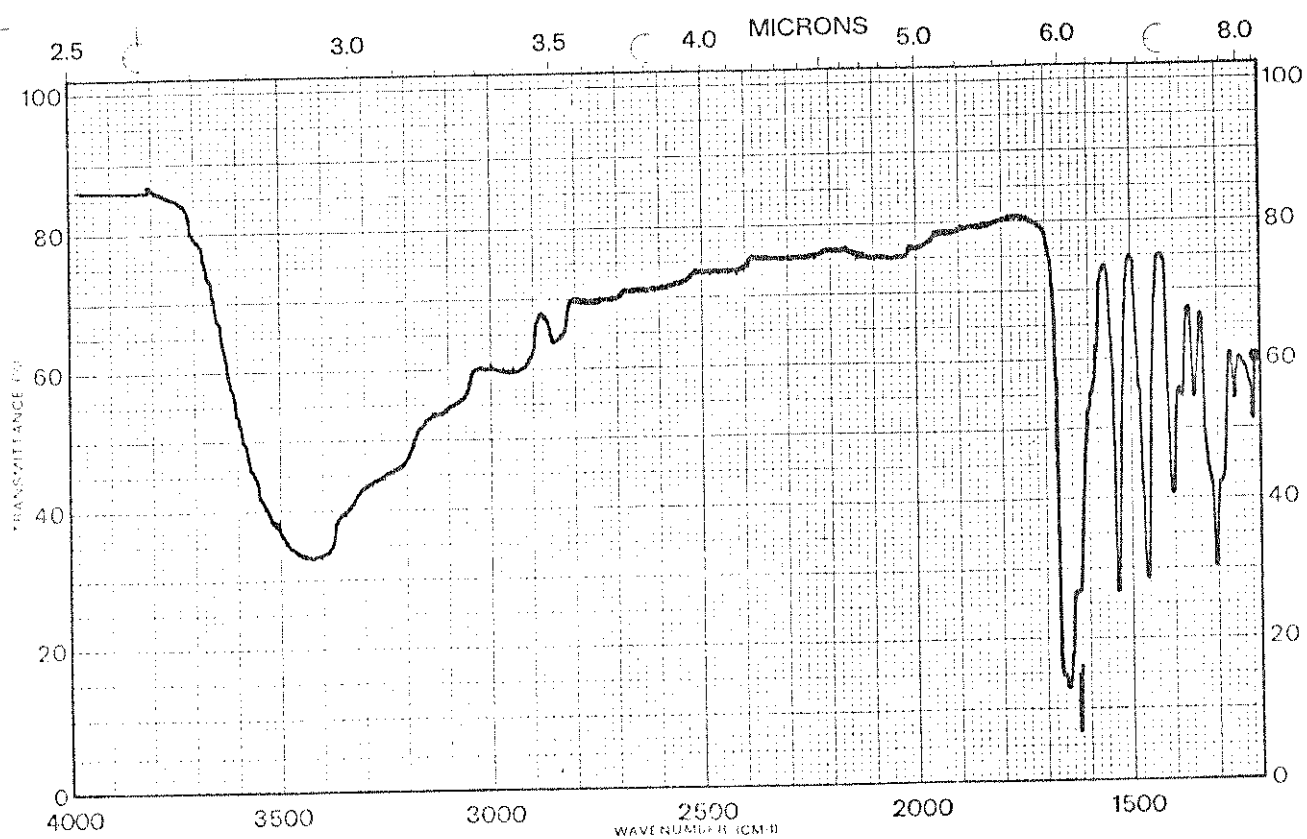
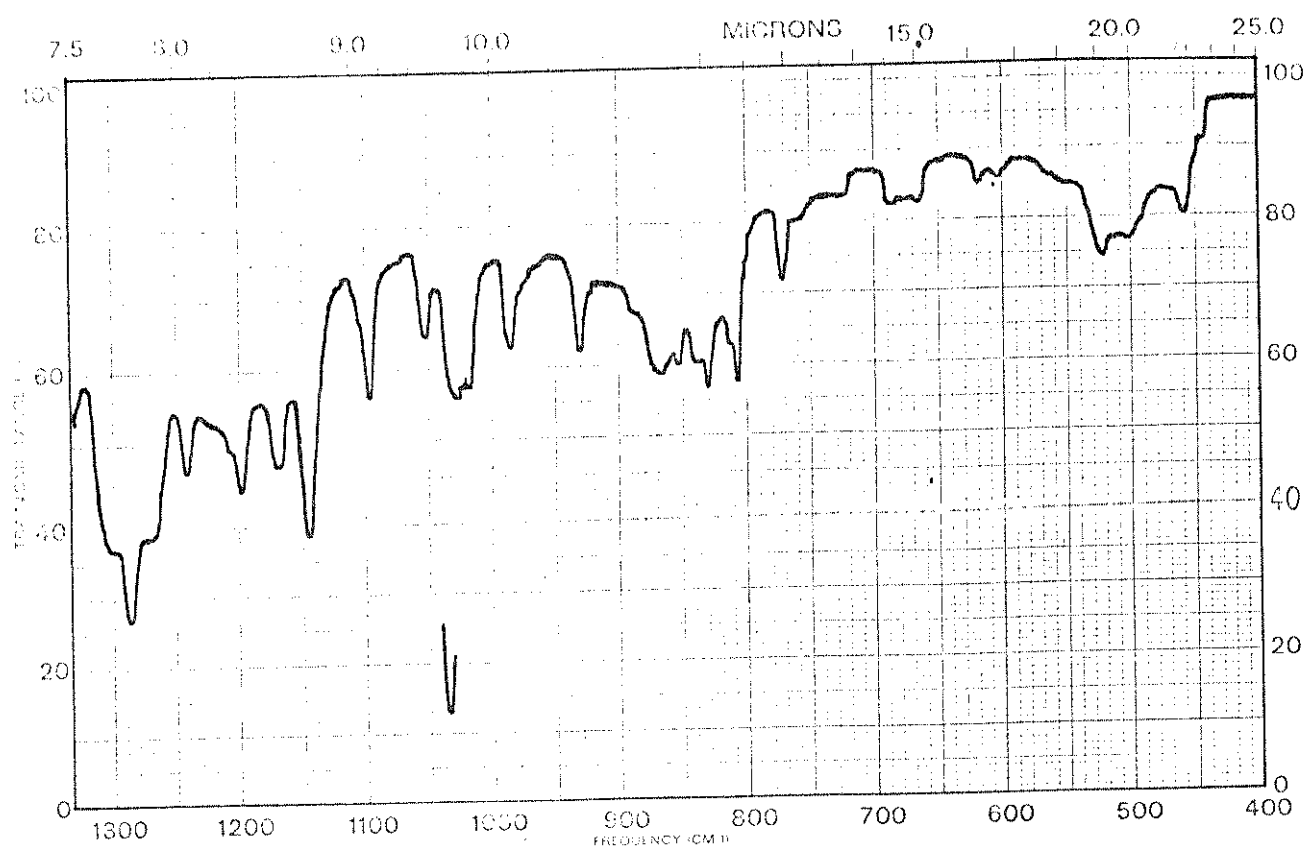
E-13 - Espectro de massa de VS-11.



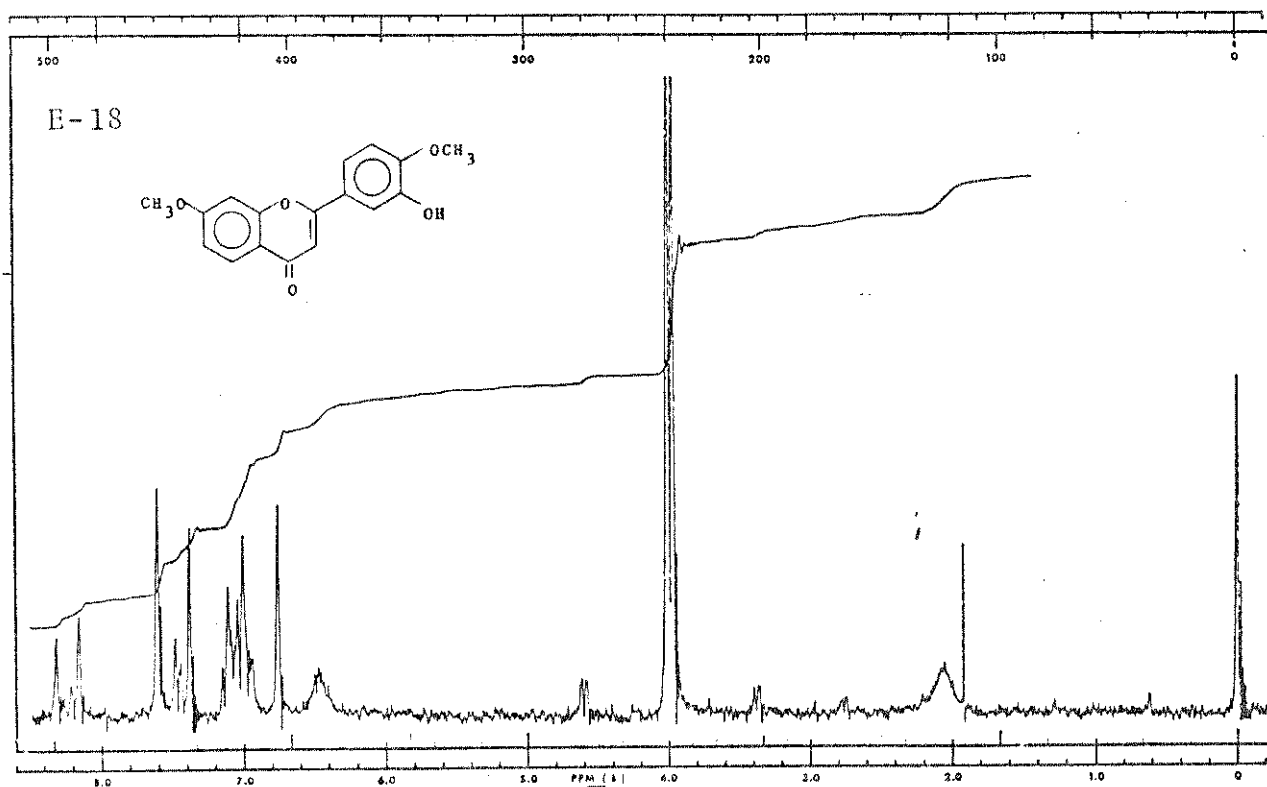
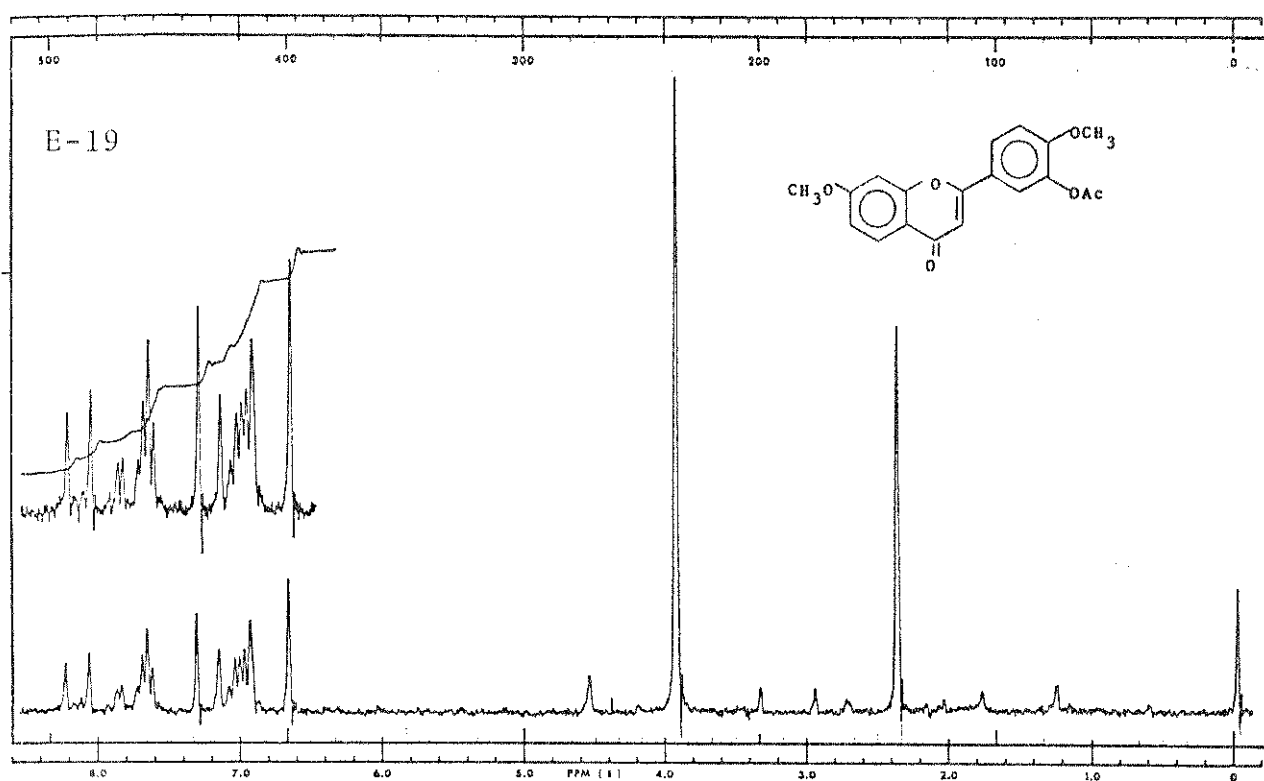
E-15 - Espectro de UV de VS-10.

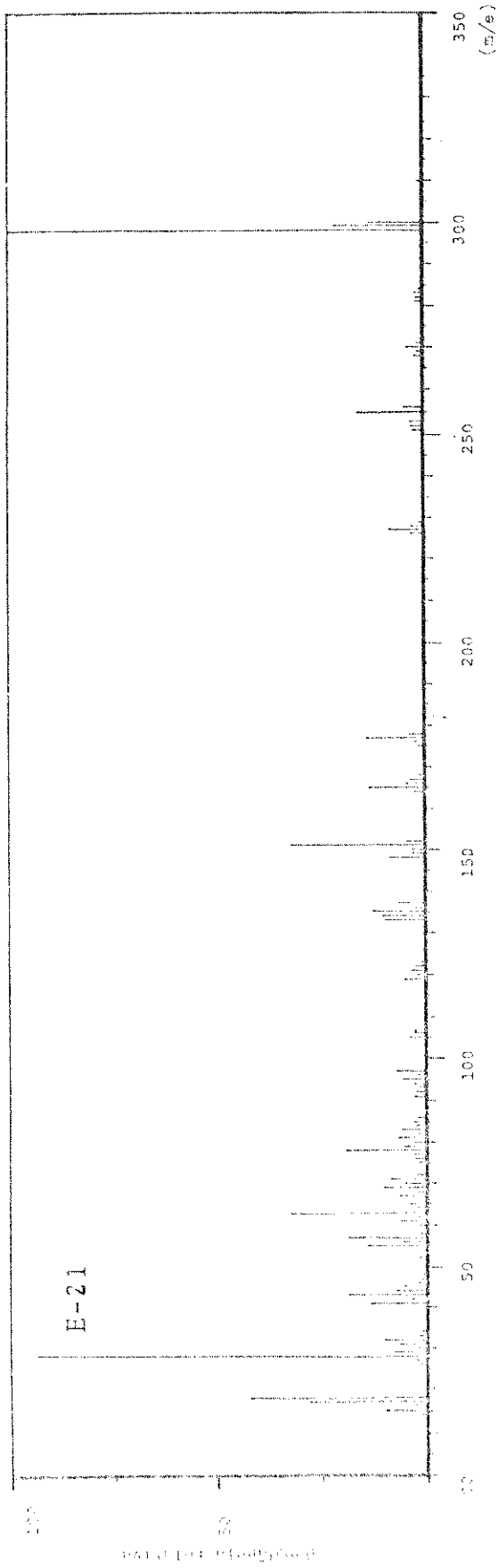


E-16 - Espectro de UV de VS-11.

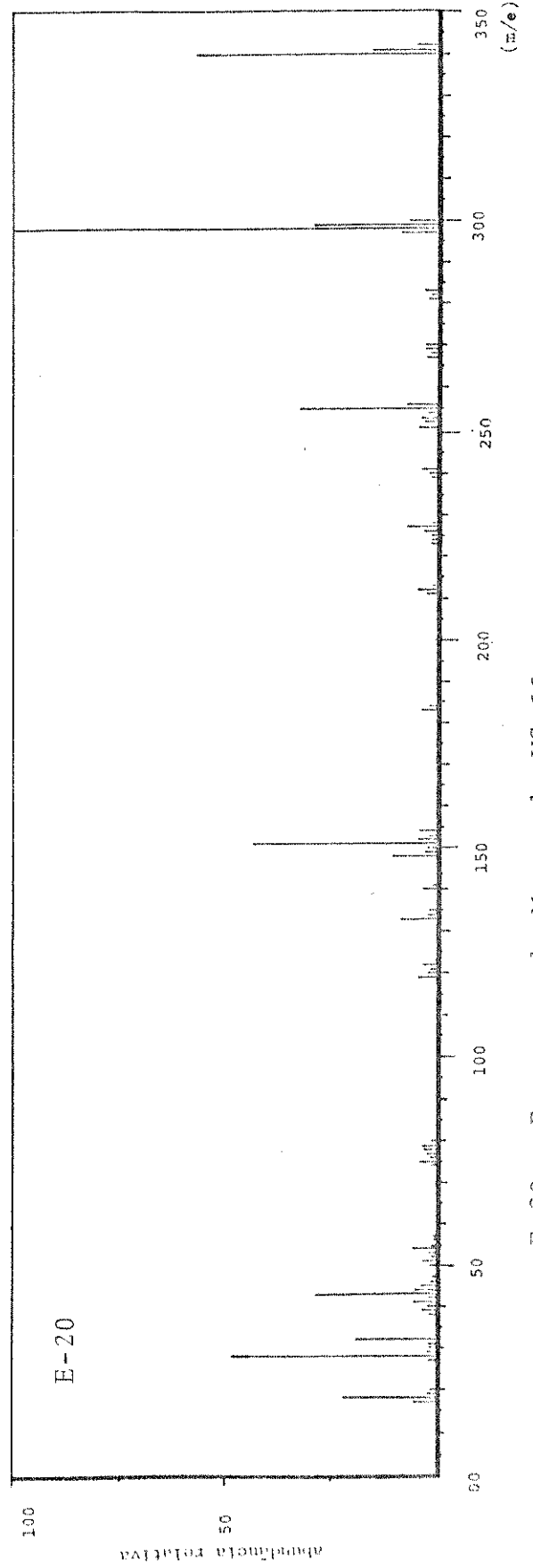


E-17 - Espectro de IV de VS-11

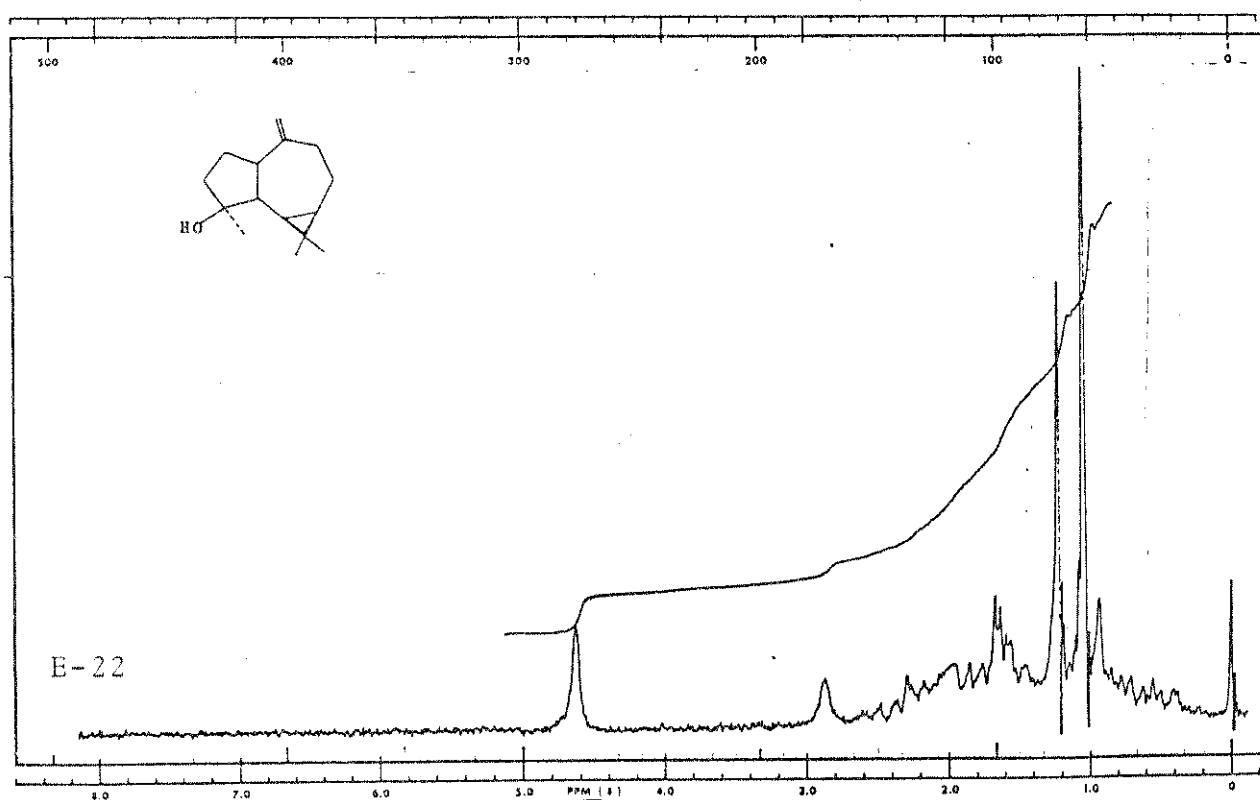
E-18 - Espectro de RMN- ^1H de VS-11E-19 - Espectro de RMN- ^1H de (VS-11)Ac.



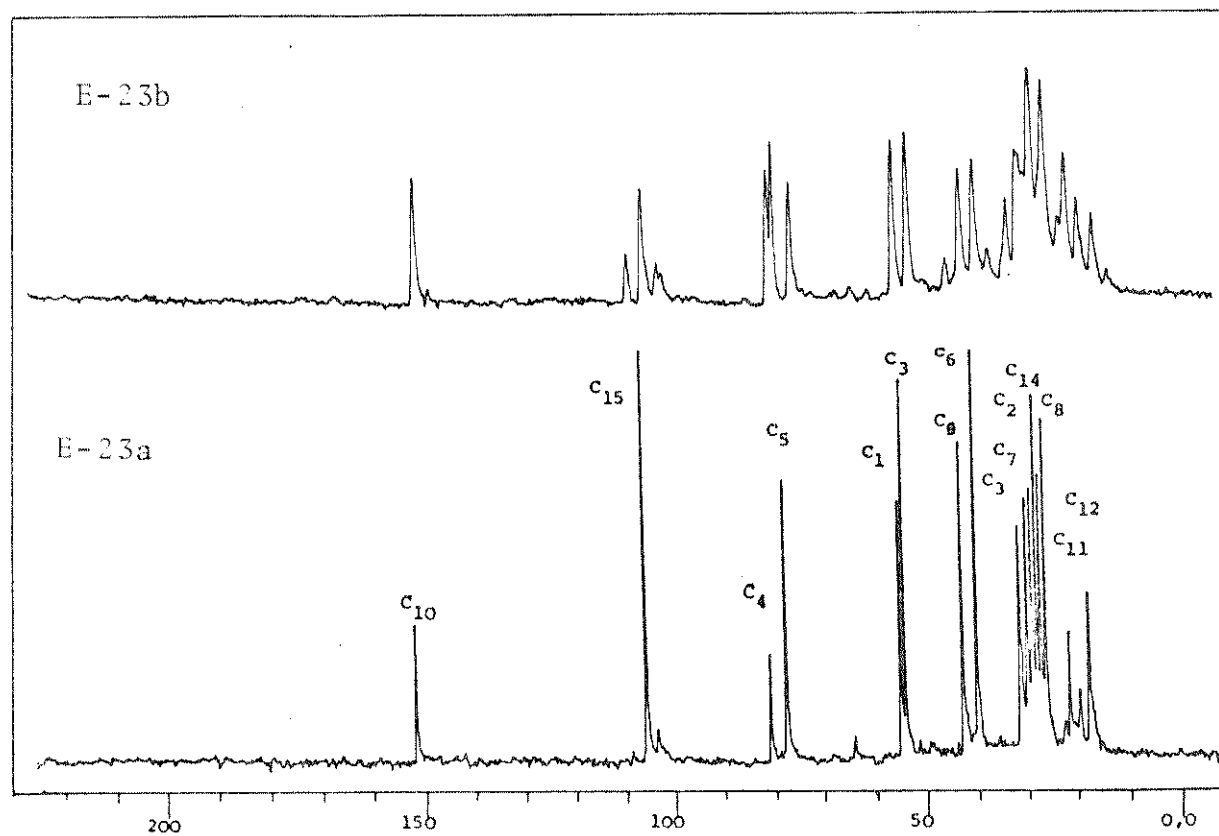
E-21 - Espectro de Massa de (VS-11)Ac



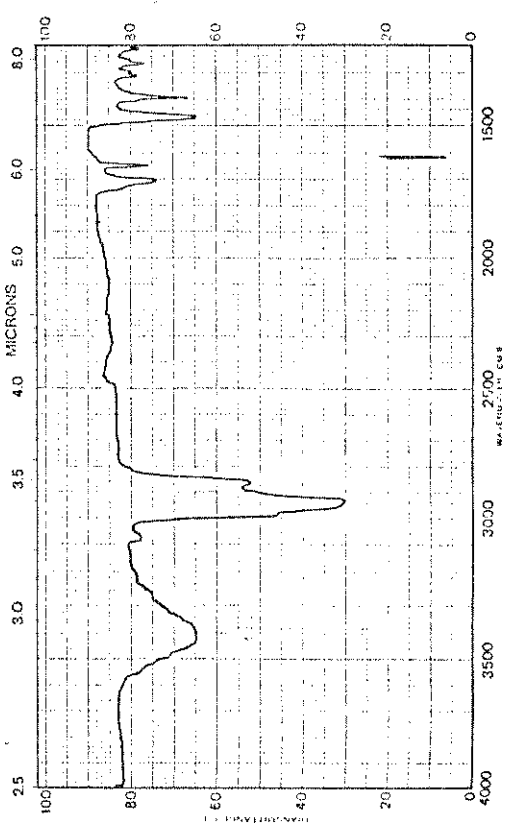
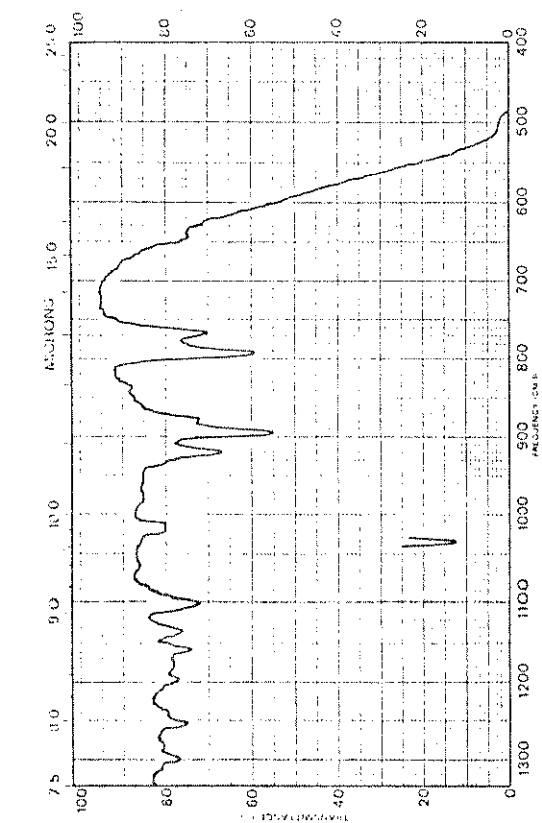
E-20 - Espectro de Massa de VS-11



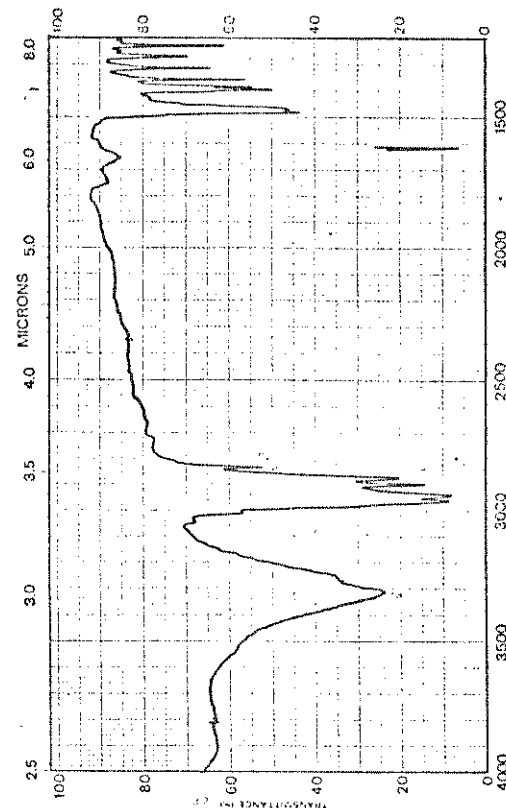
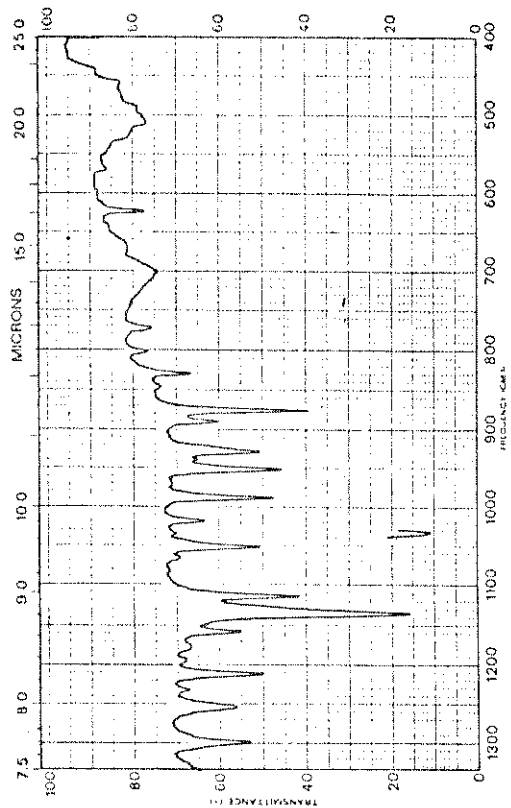
E-22 - Espectro de RMN- ^1H de OP-1



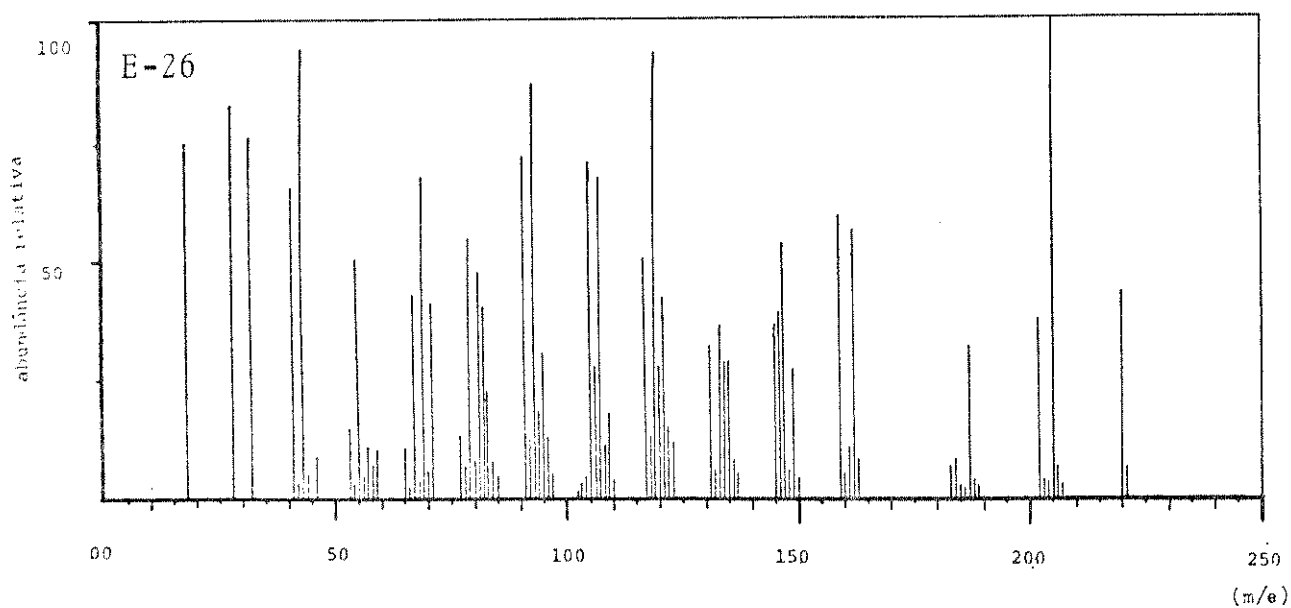
E-23 - Espectro de RMN- ^{13}C de OP-1
a) FDFP b) DFL



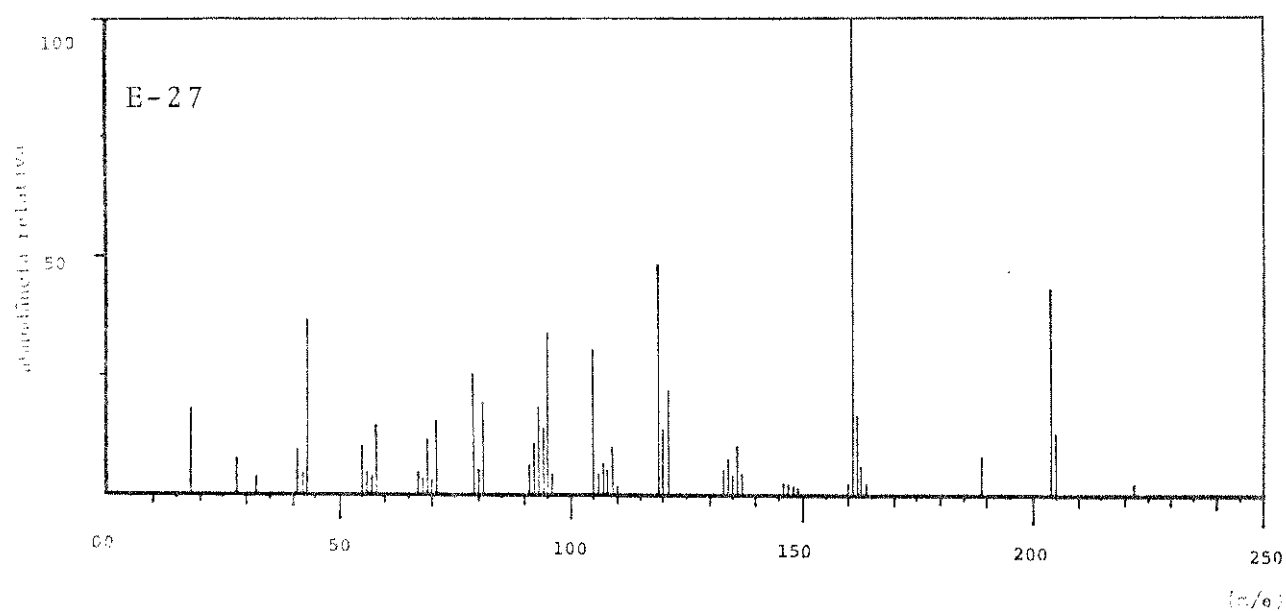
E-24 - Espectro de IV de OP-1



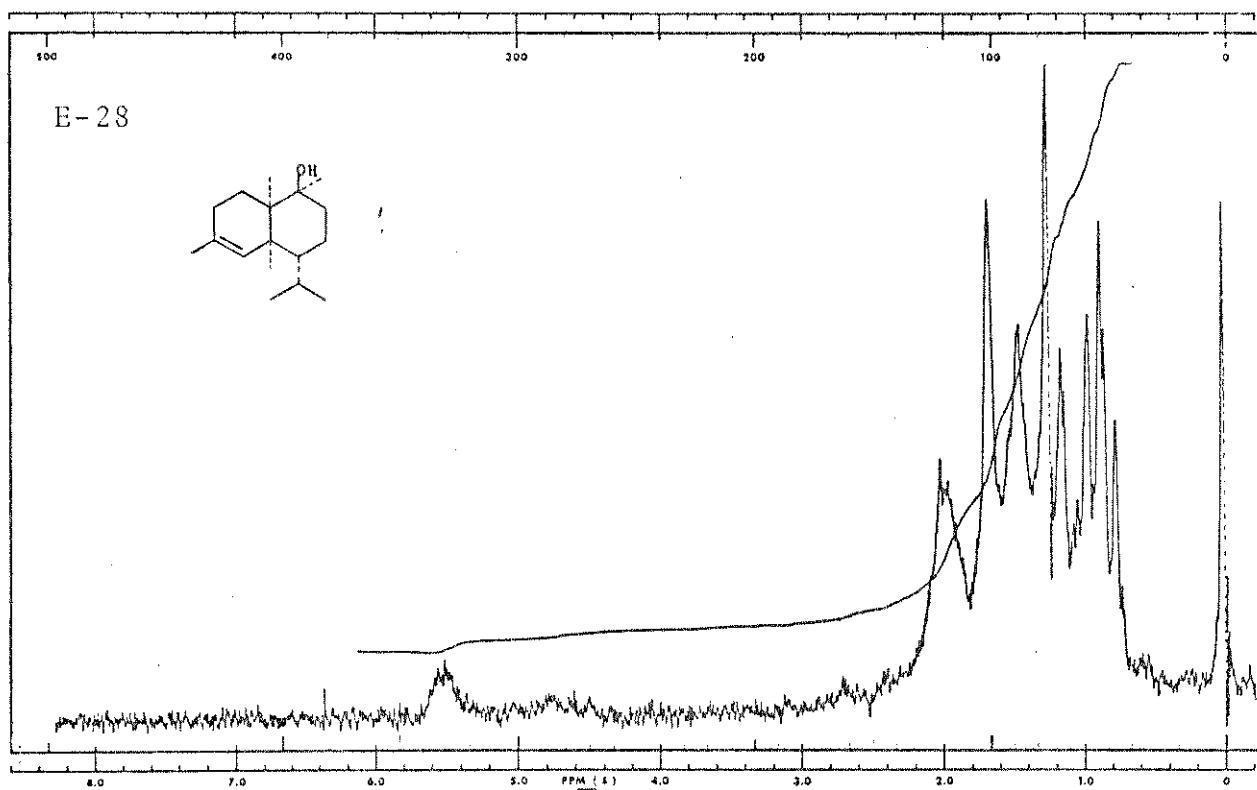
E-25 - Espectro de IV de OP-2



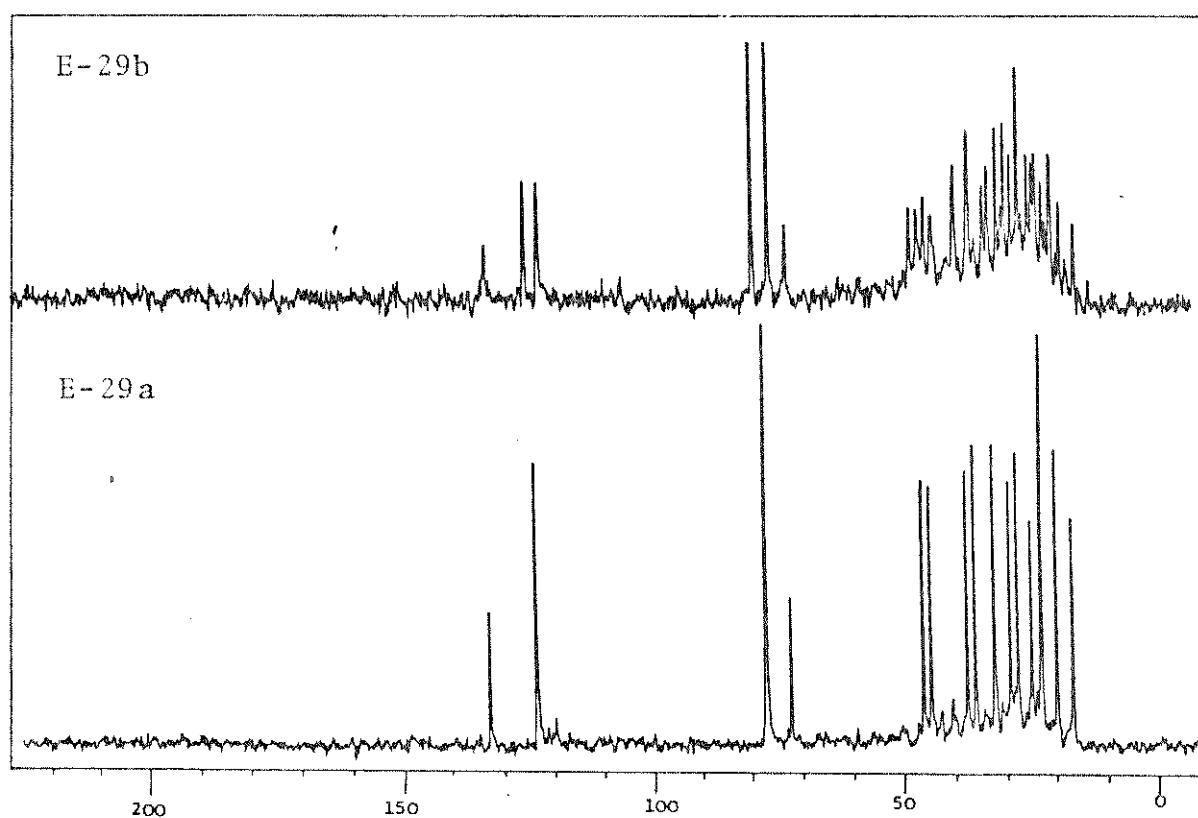
E-26 - Espectro de massa de OP-1



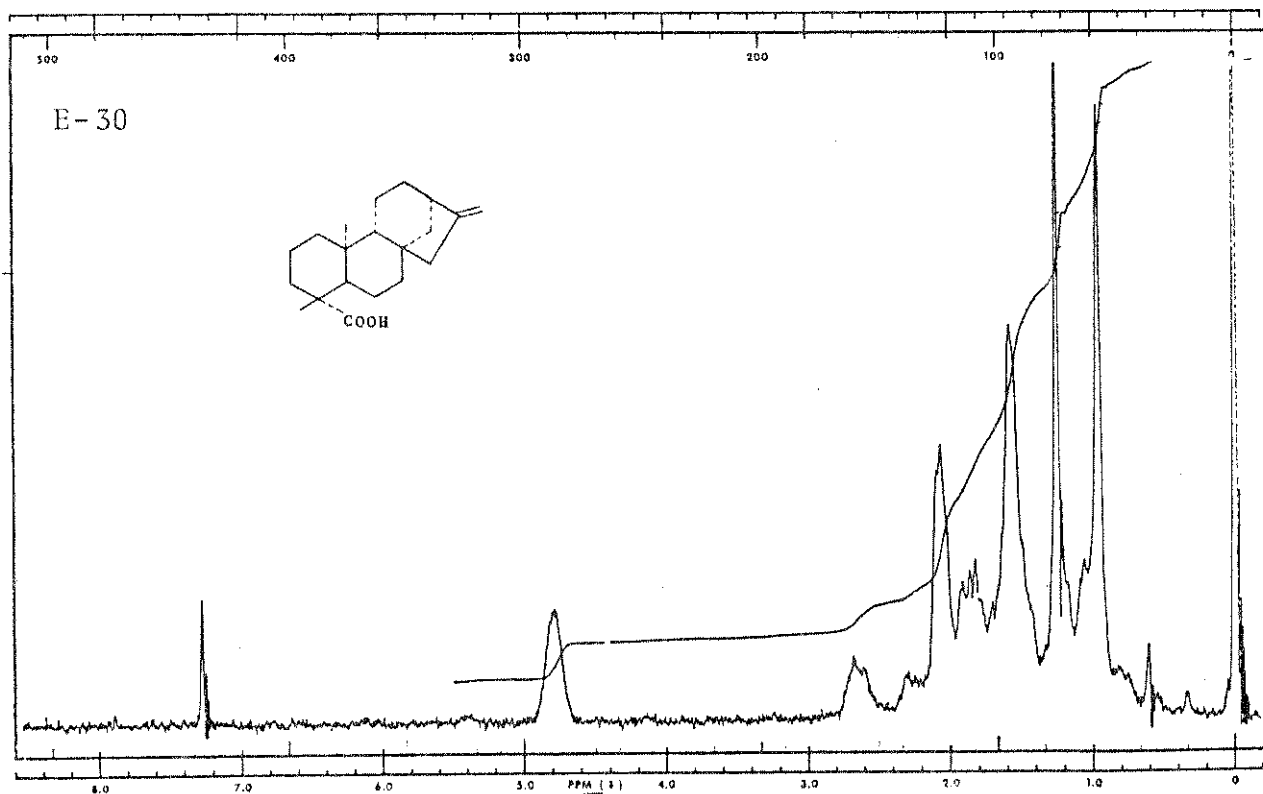
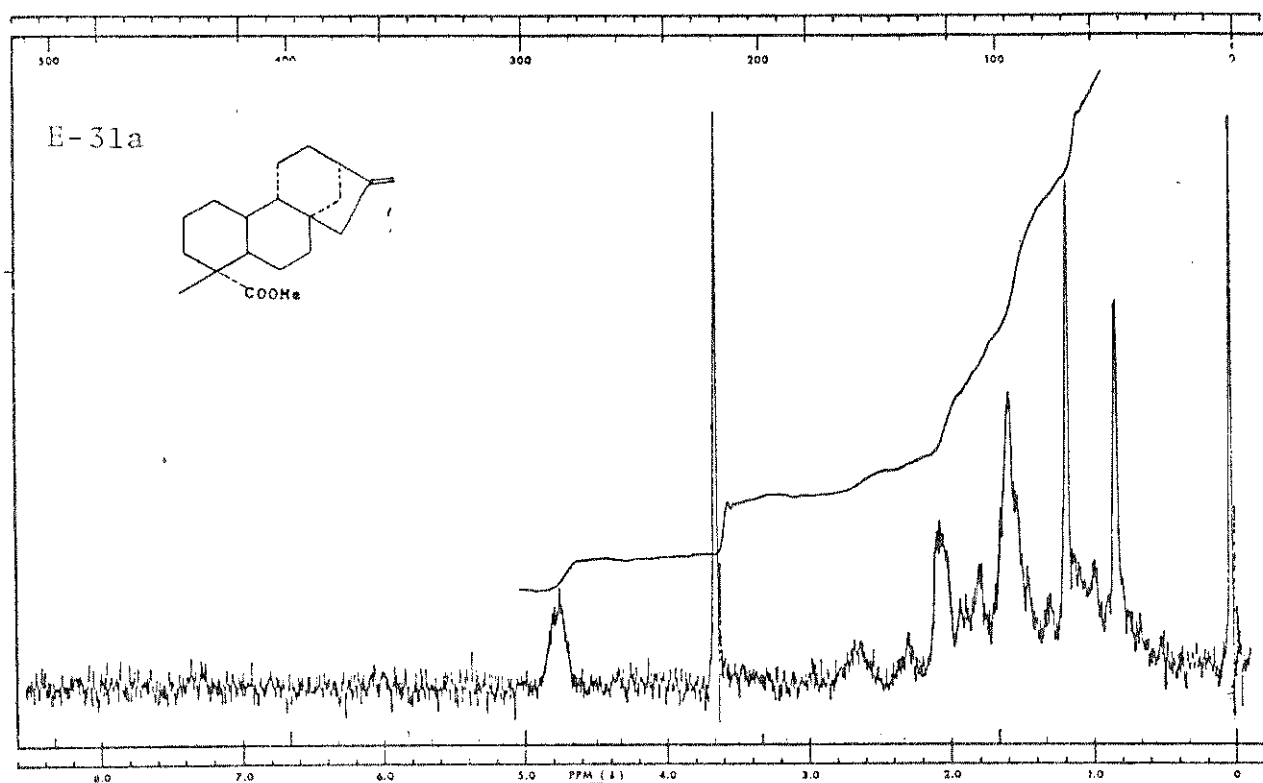
E-27 - Espectro de massa de OP-2

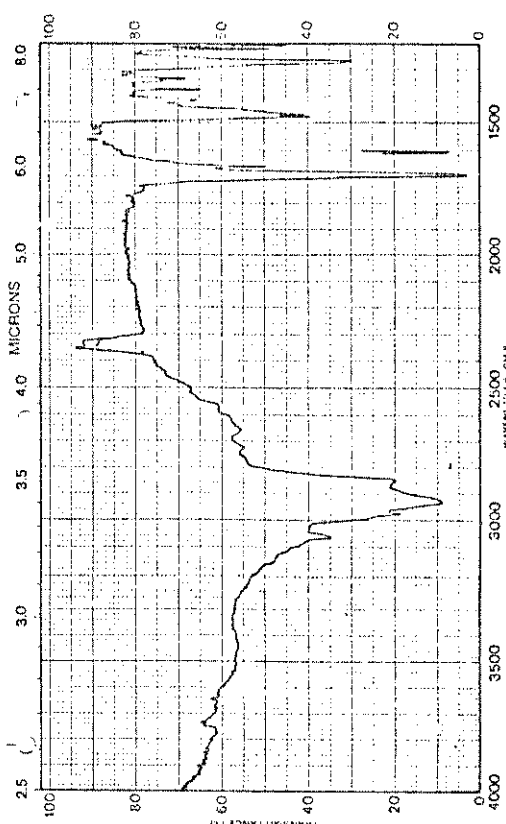
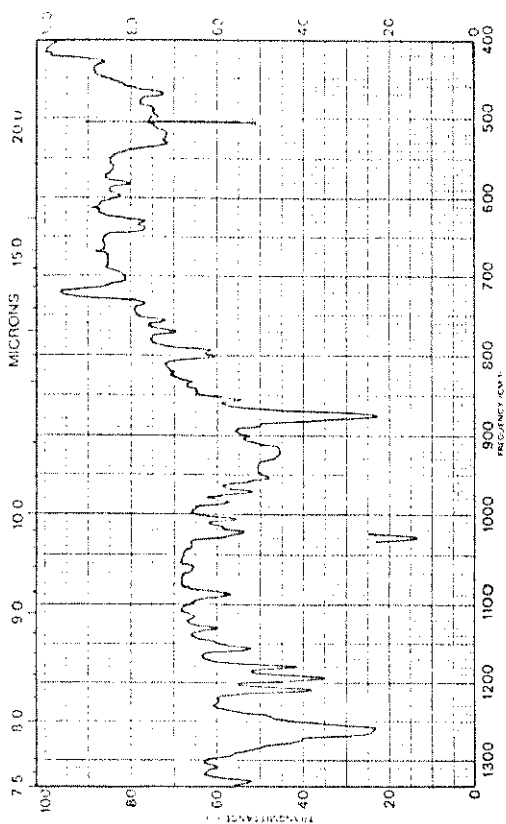


E-28 - Espectro de RMN- ^1H de OP-2

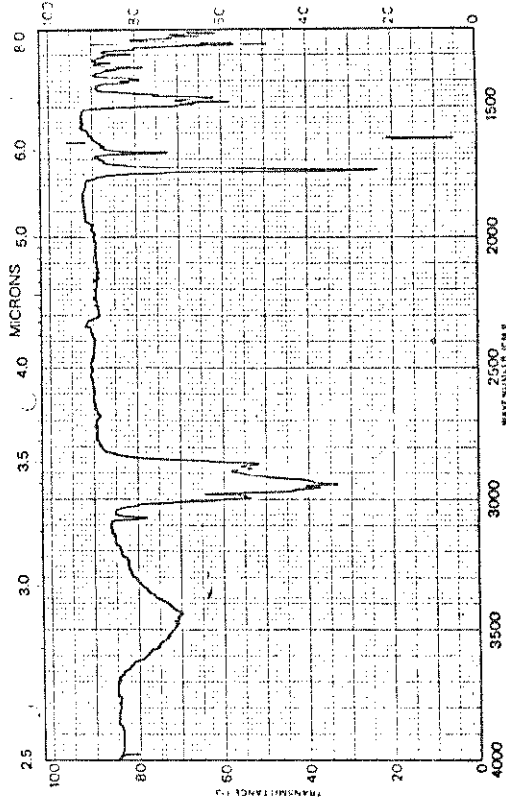
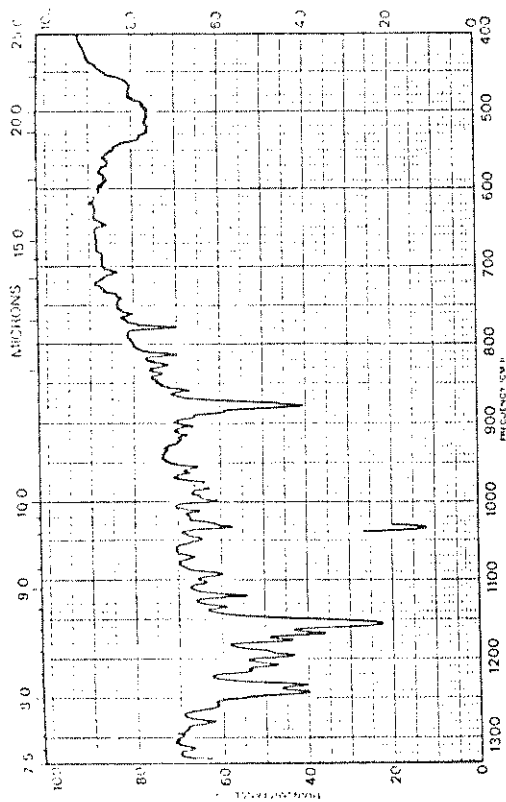


E-29 - Espectro de RMN- ^{13}C de OP-2
a) EDEF b) DEL

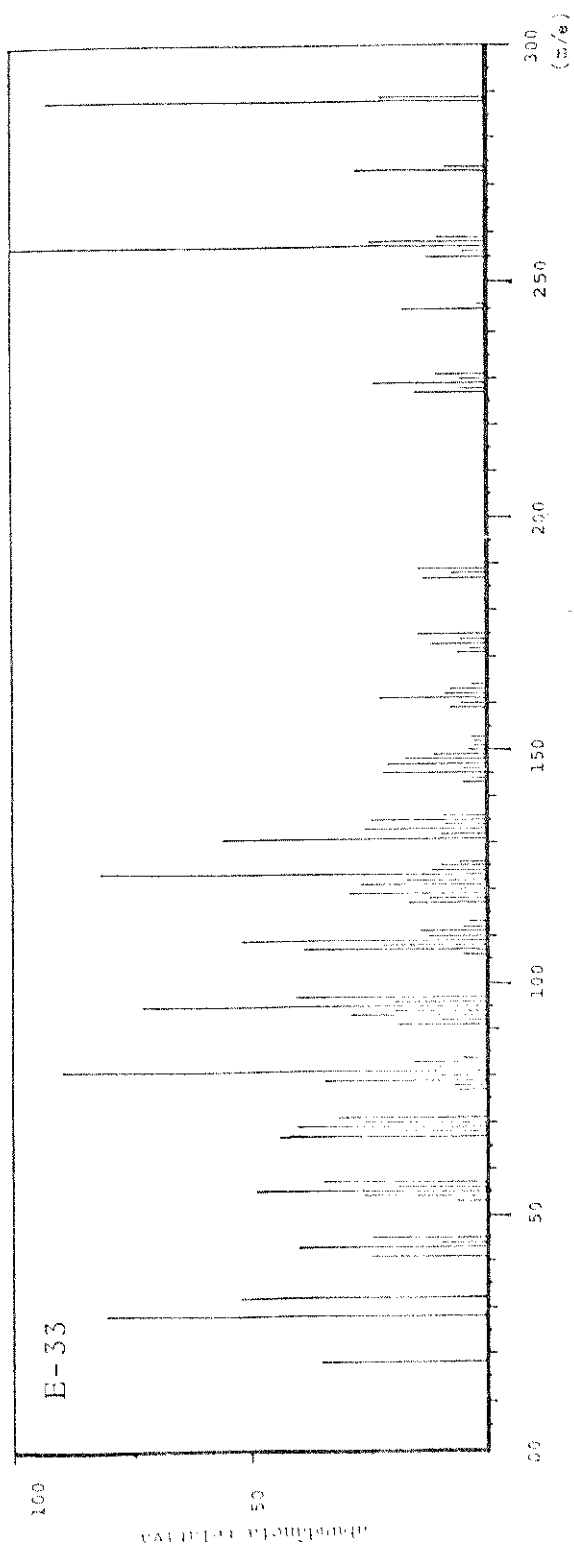
E-30 - Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ de OP-3E-31a - Espectro de $\text{RMN-}^1\text{H}$ de (OP-3)Me



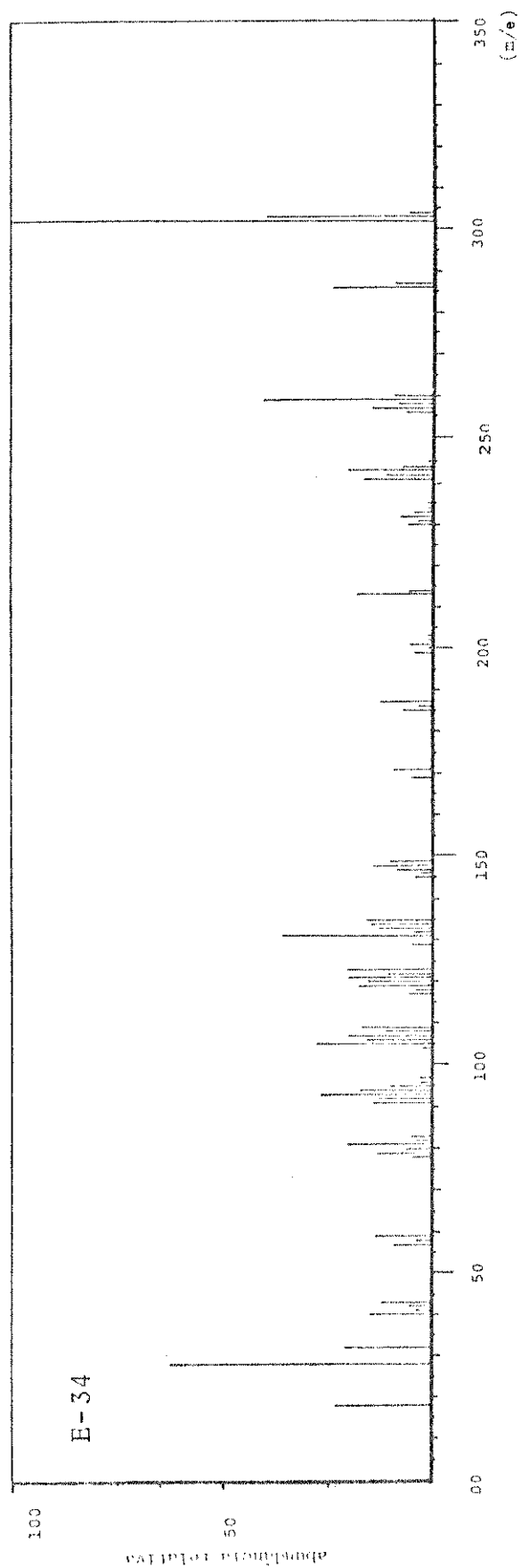
E-31b - Espectro de IV de OP-3



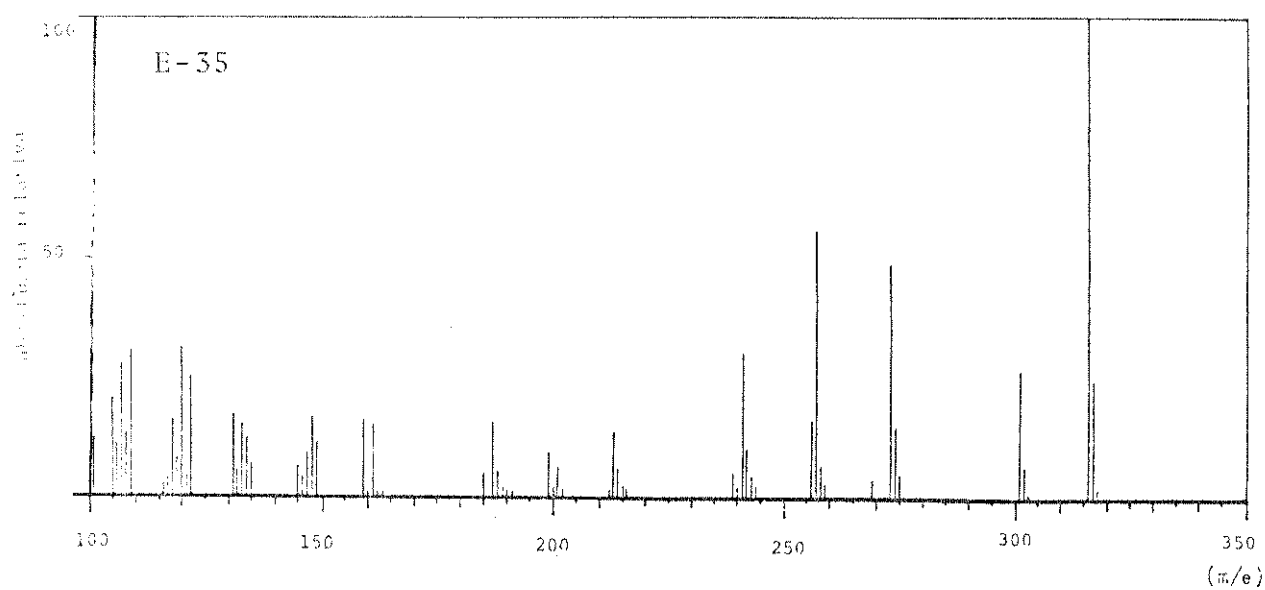
E-32 - Espectro de IV de (OP-3)Me



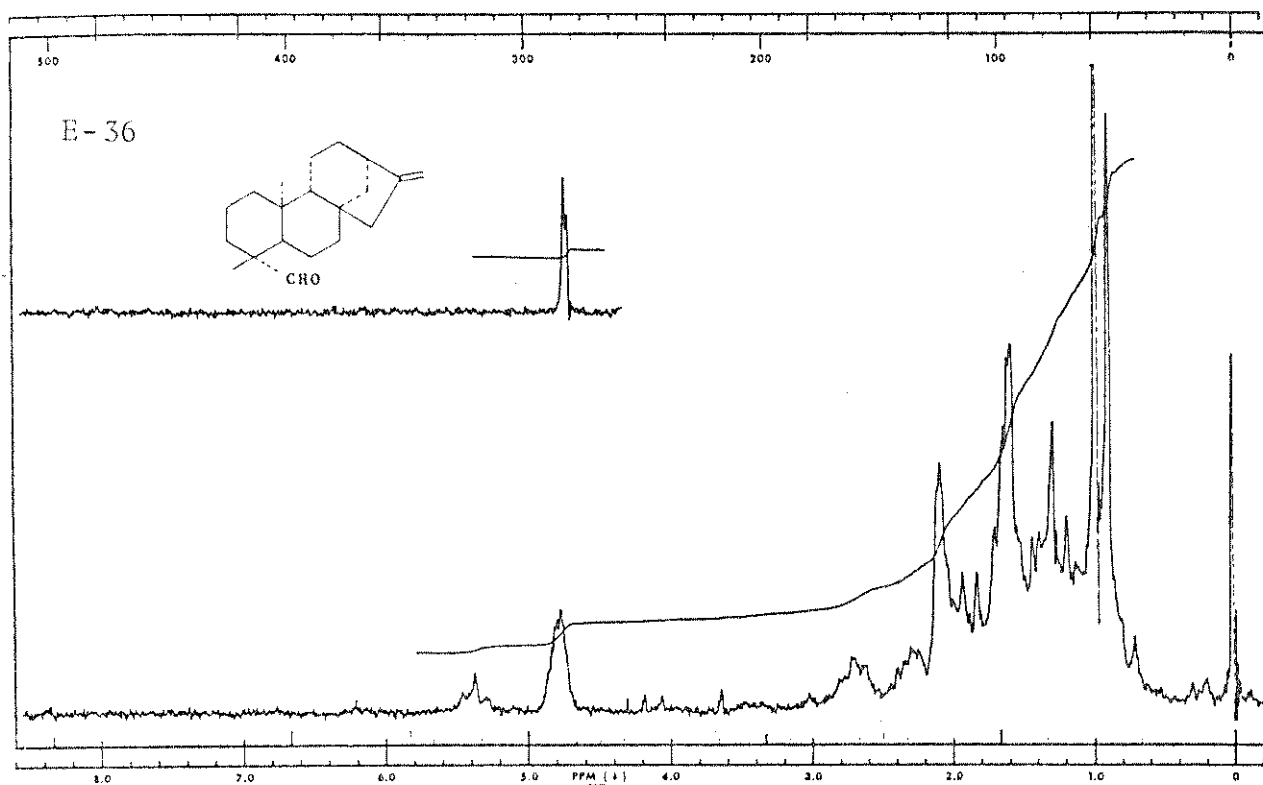
E-33 - Espectro de massa de (OP-4)OP

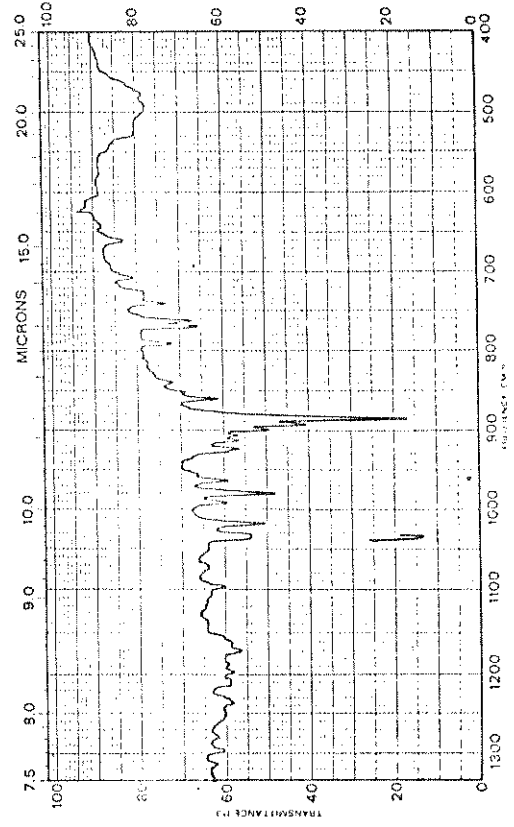
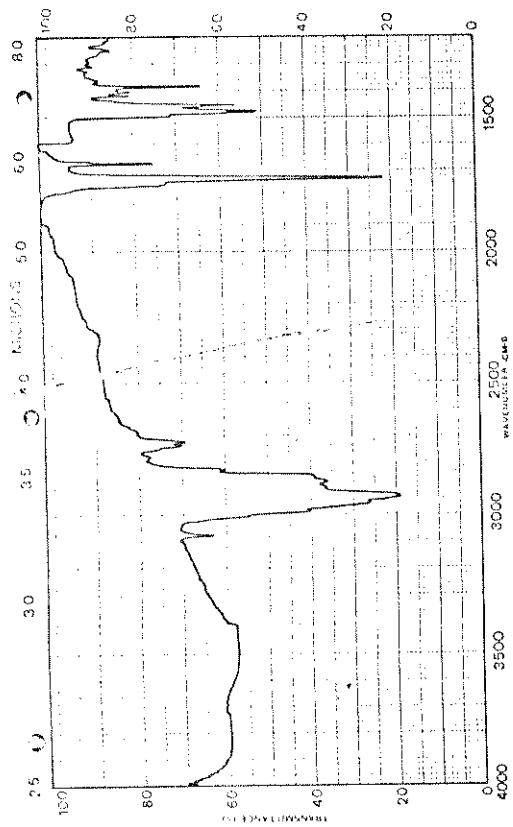


E-34 - Espectro de massa de OP-3

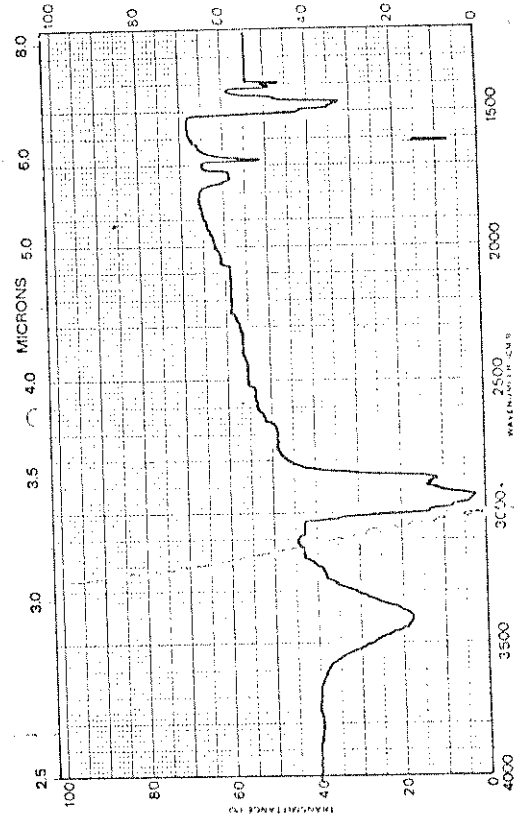
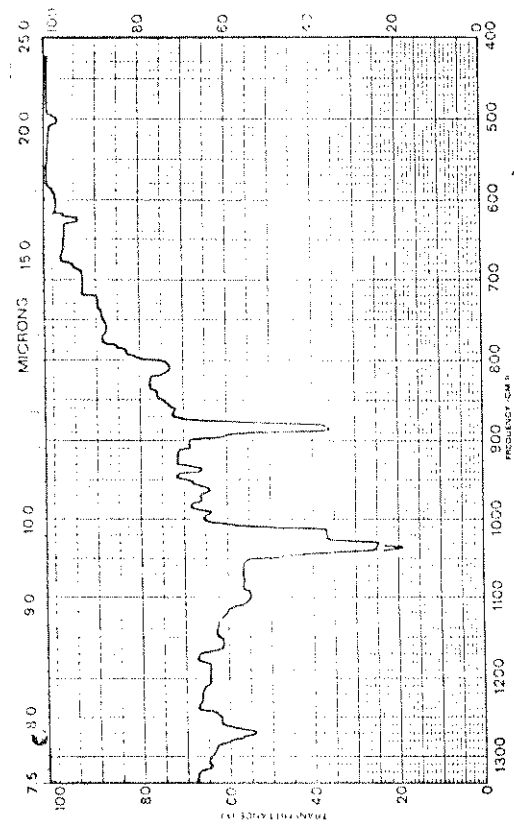


E-35 - Espectro de massa de (OP-3)Me

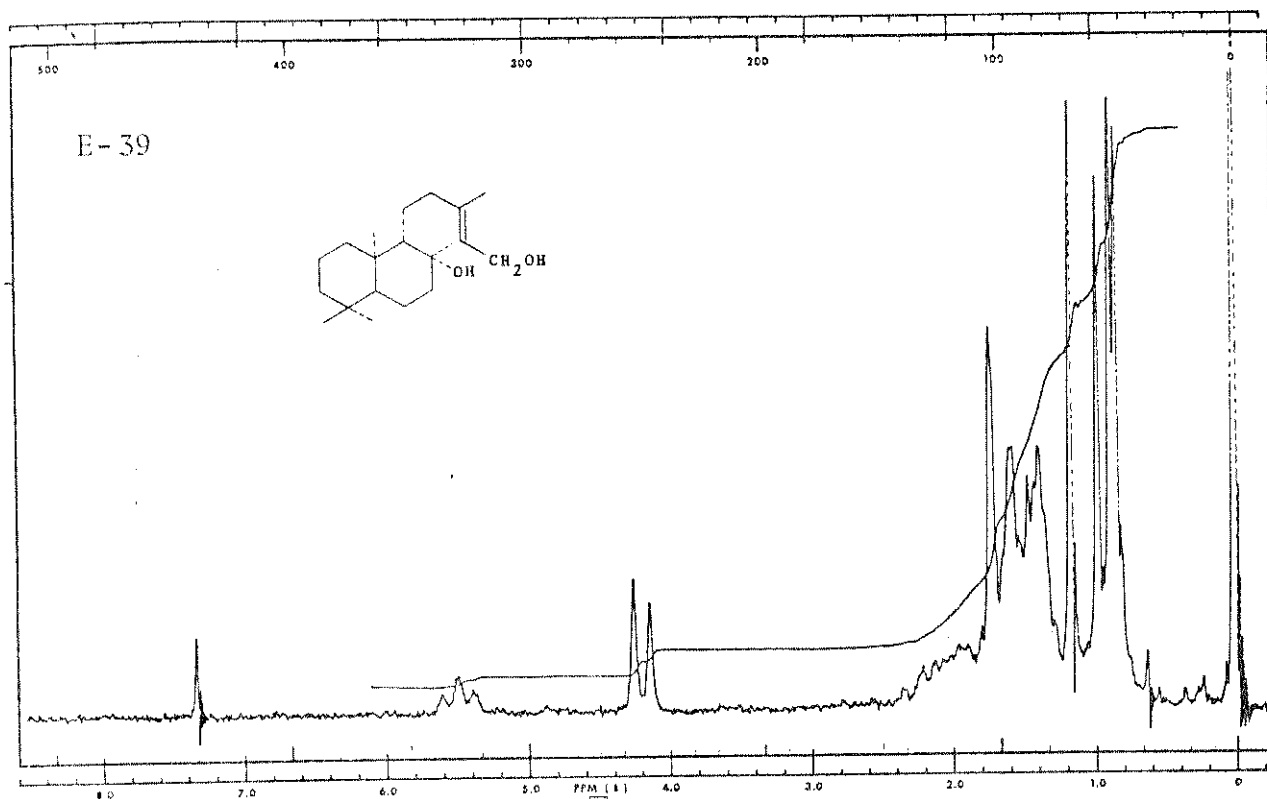
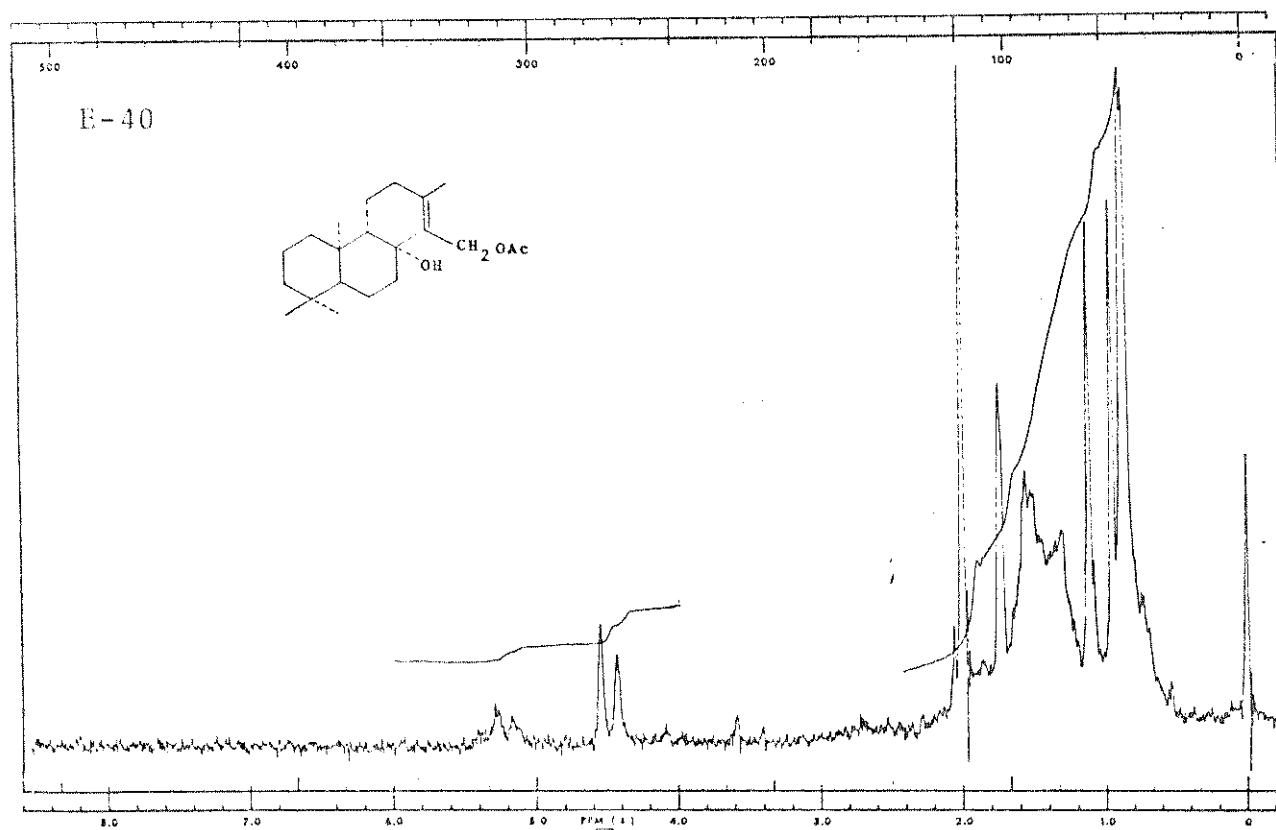
E-36 - Espectro de RMN- ^1H de OP-4

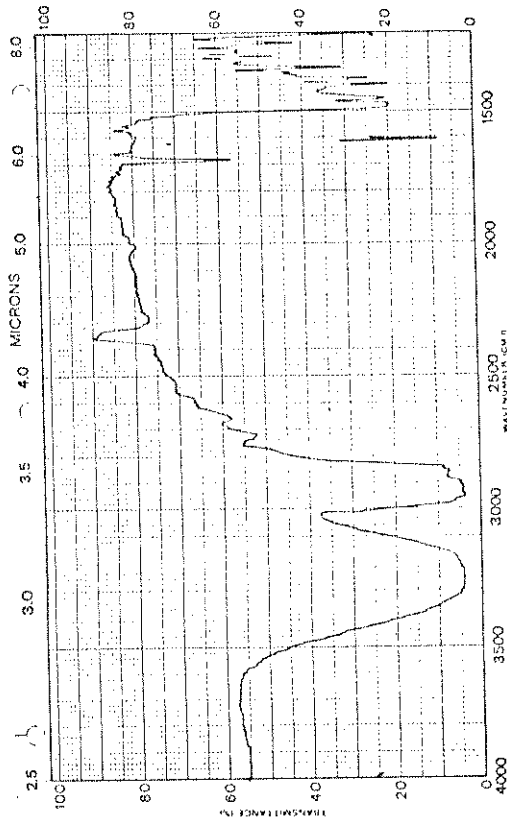
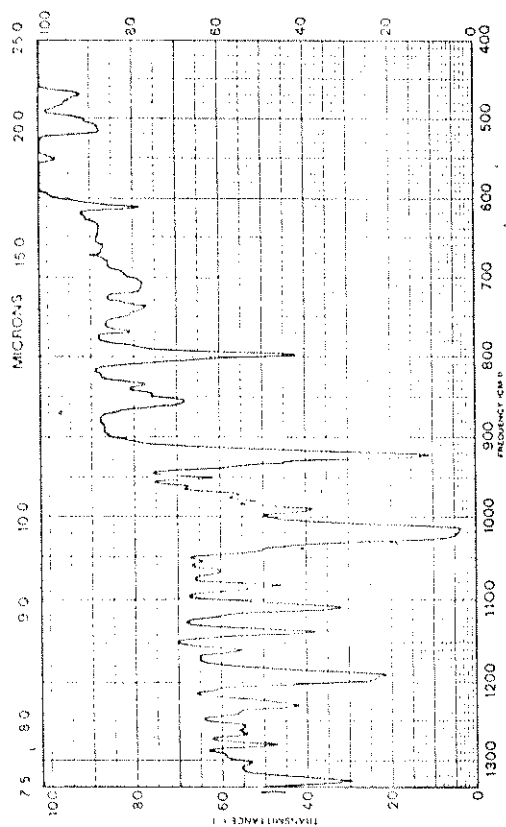


E-38 - Espectro de IV de OP-4

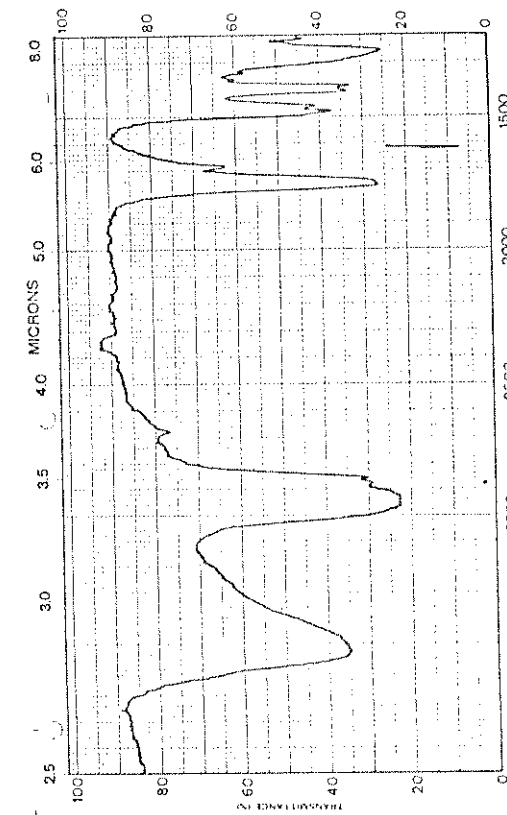
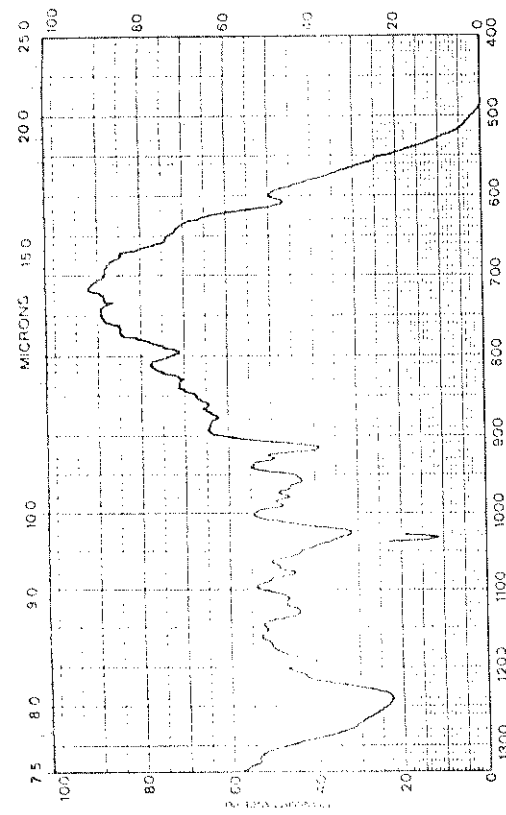


E-37 - Espectro de IV de (OP-4)OP

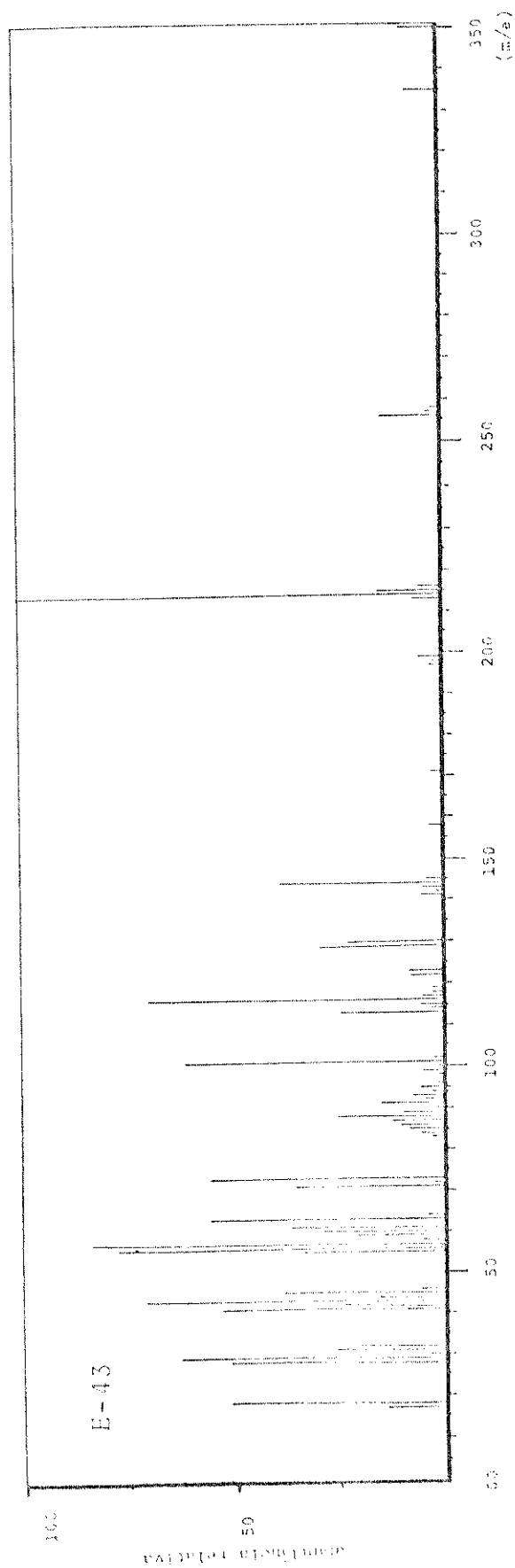
E-39 - Espectro de RMN-¹H de OP-5E-40 - Espectro de RMN-¹H de (OP-5)Ac



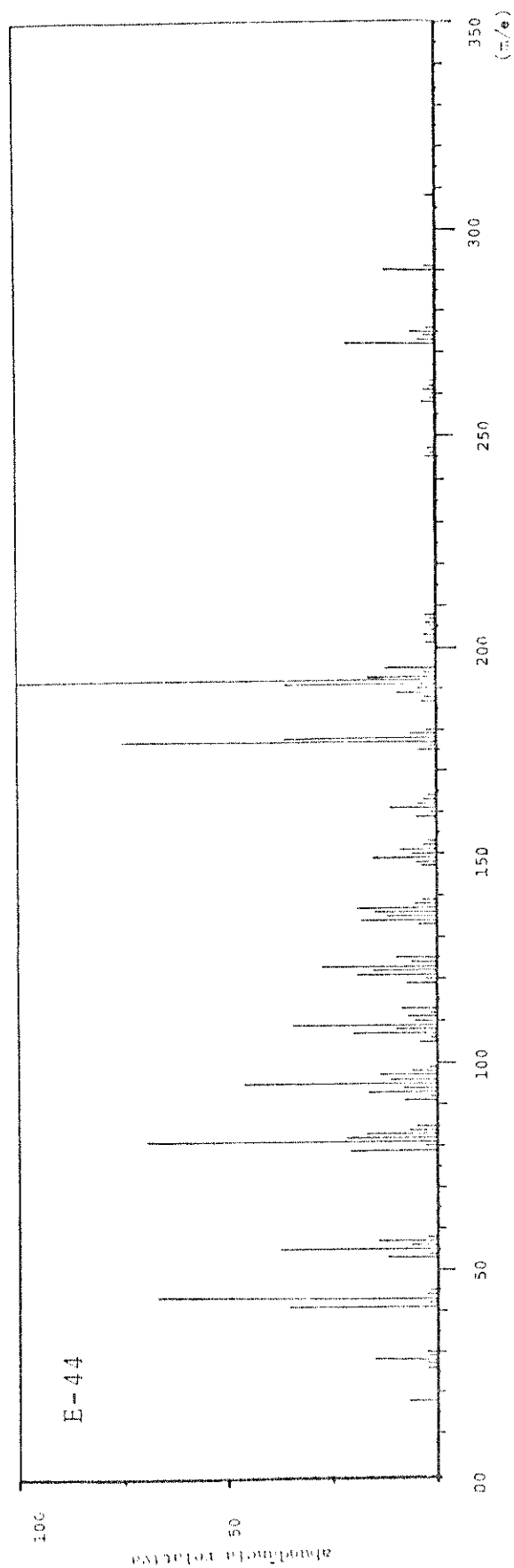
E-42 - Espectro de IV de OP-5



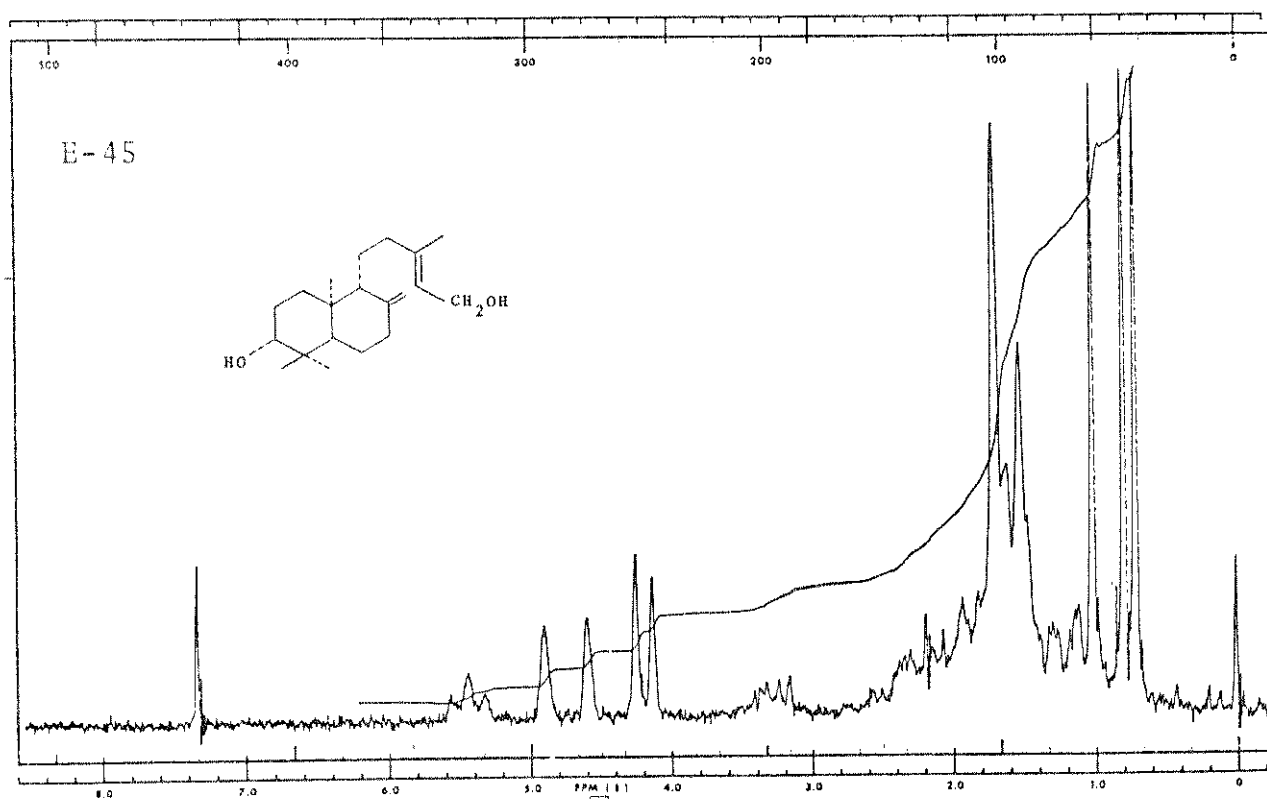
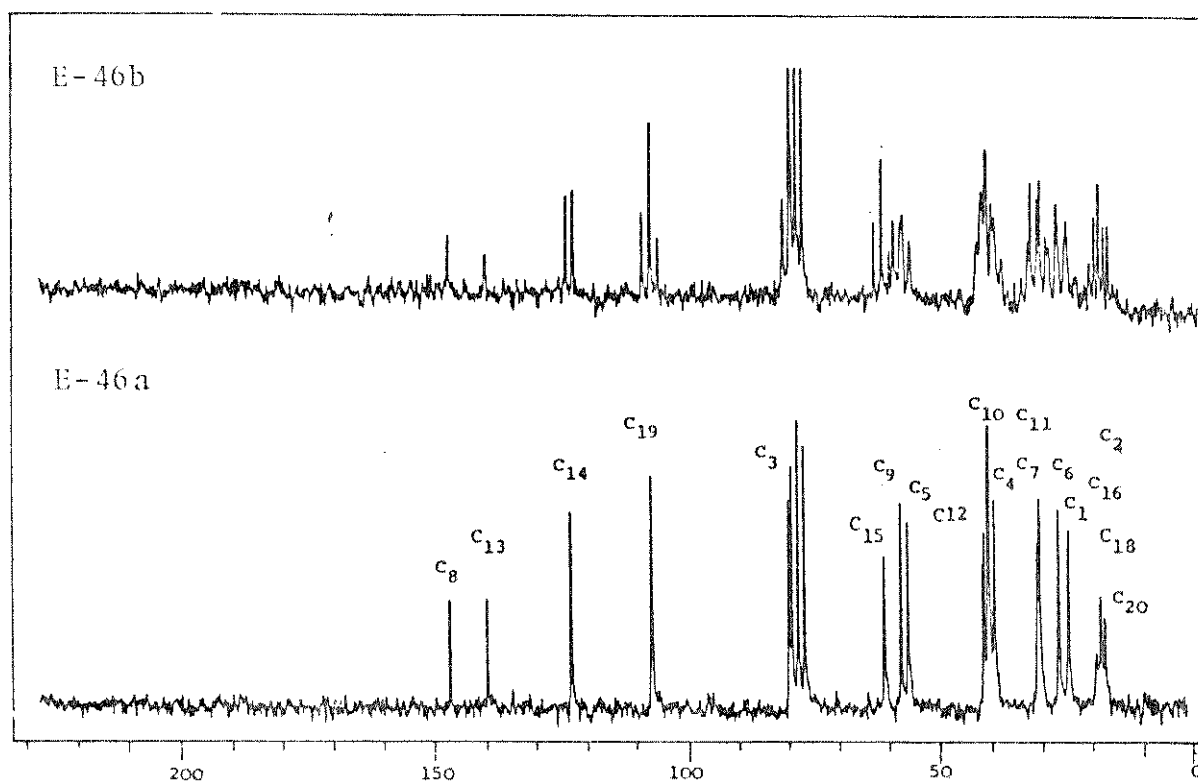
E-41 - Espectro de IV de (OP-5)Ac



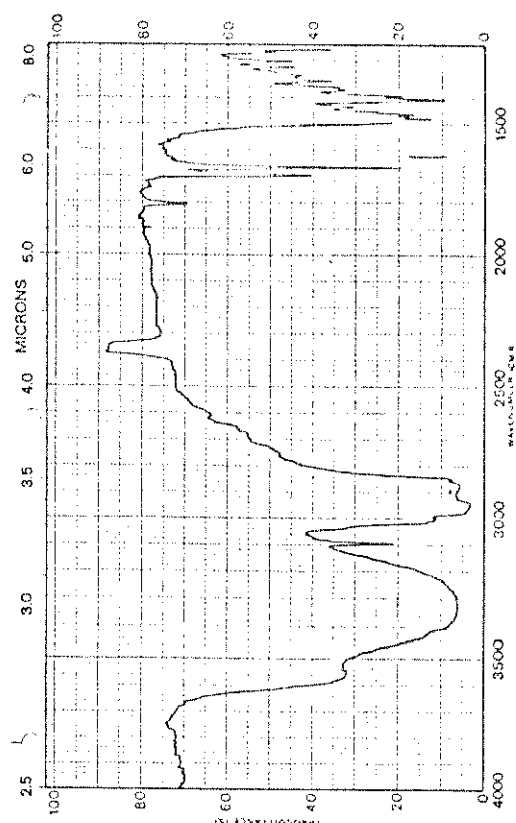
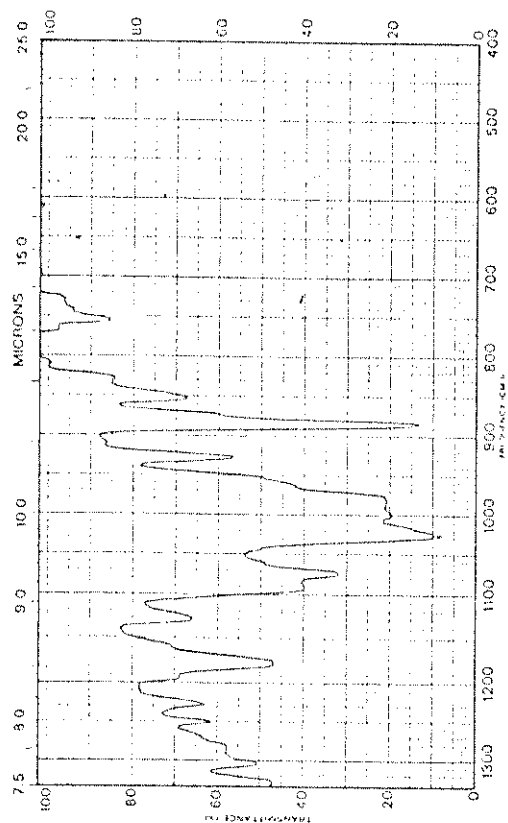
E-43 - Espectro de massa de (OP-5)Ac



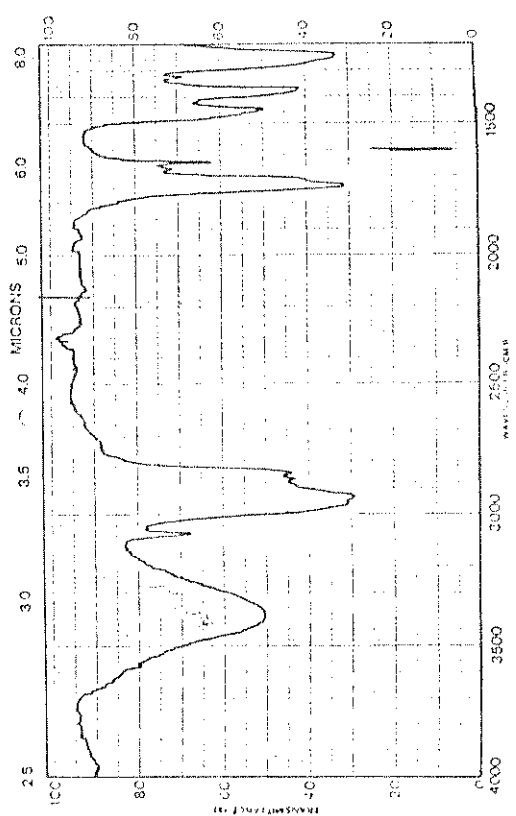
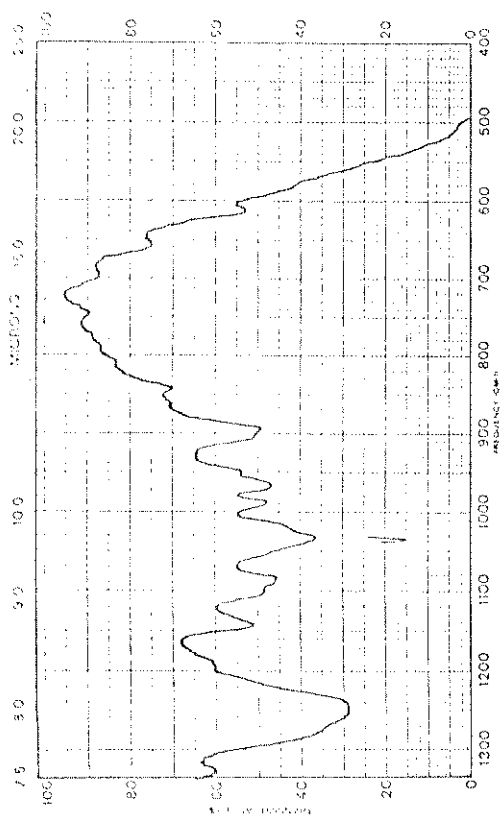
E-44 - Espectro de massa de (OP-5)

E-45 - Espectro de RMN- ^1H de OP-6E-46 - Espectro de RMN- ^{13}C de OP-6

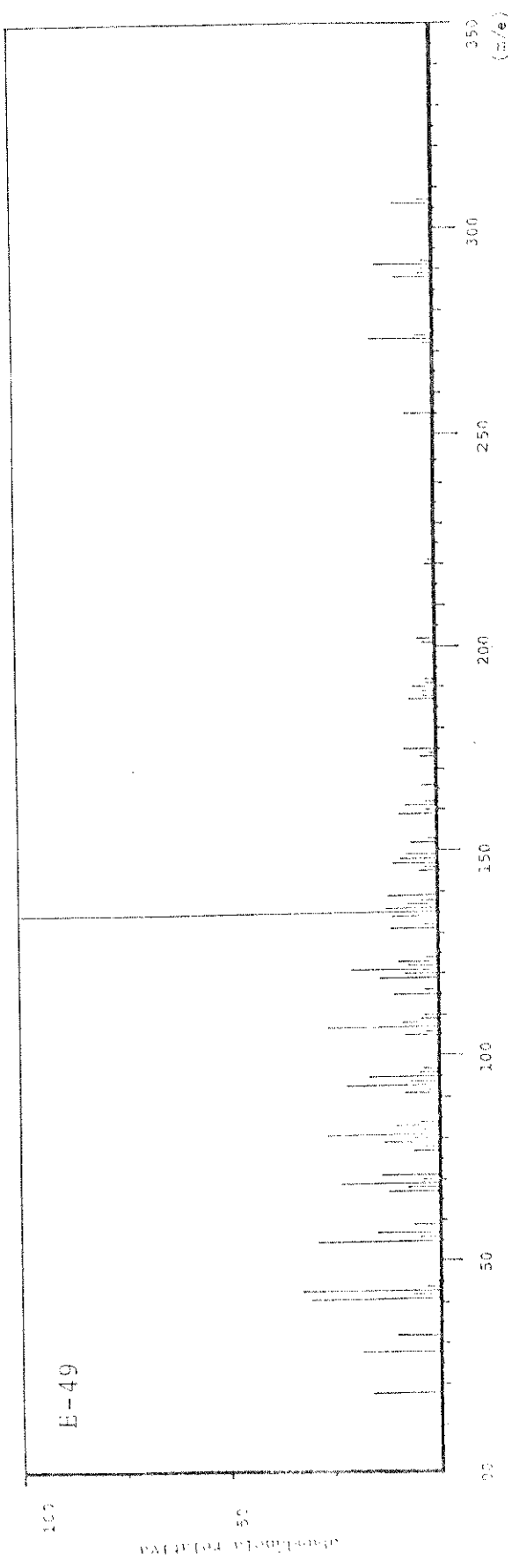
a) FDFE b) DFL



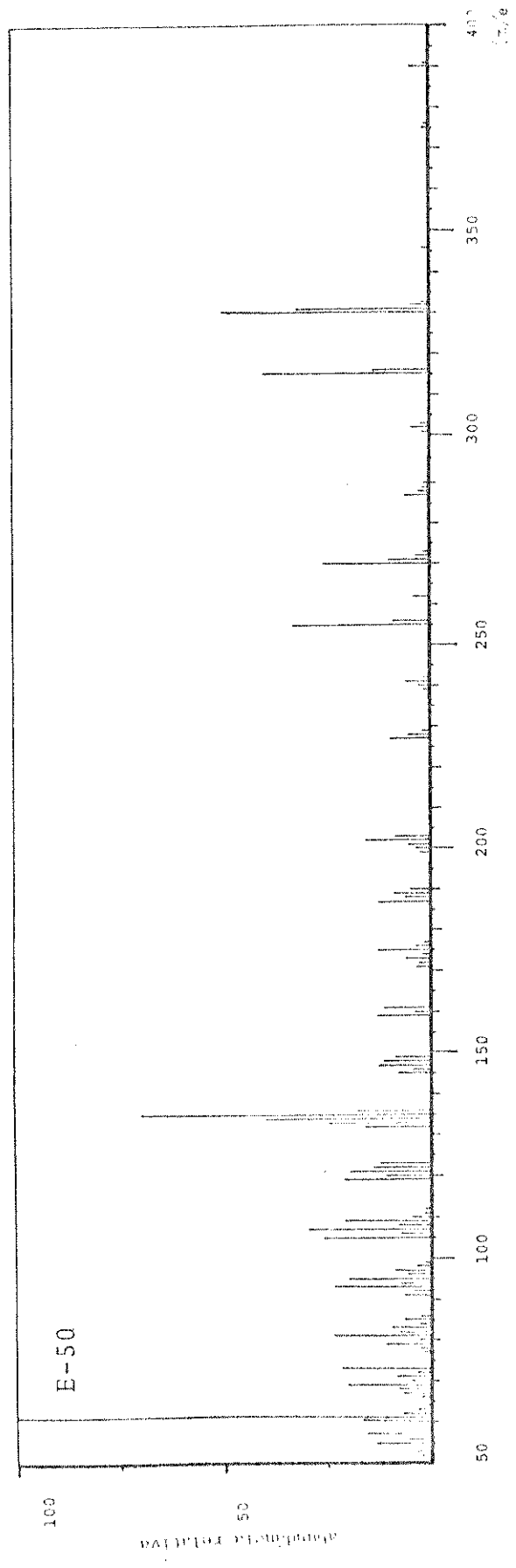
E-47 - Espectro de IV de OP-6



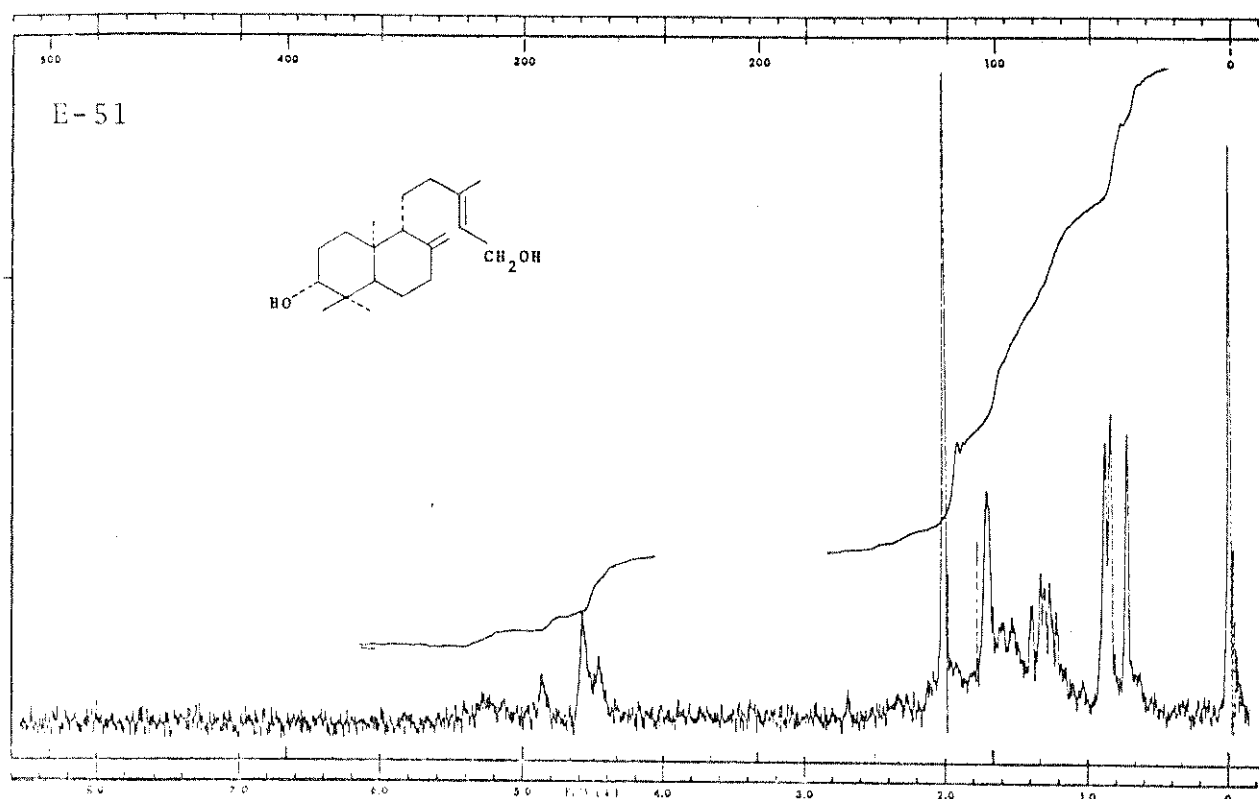
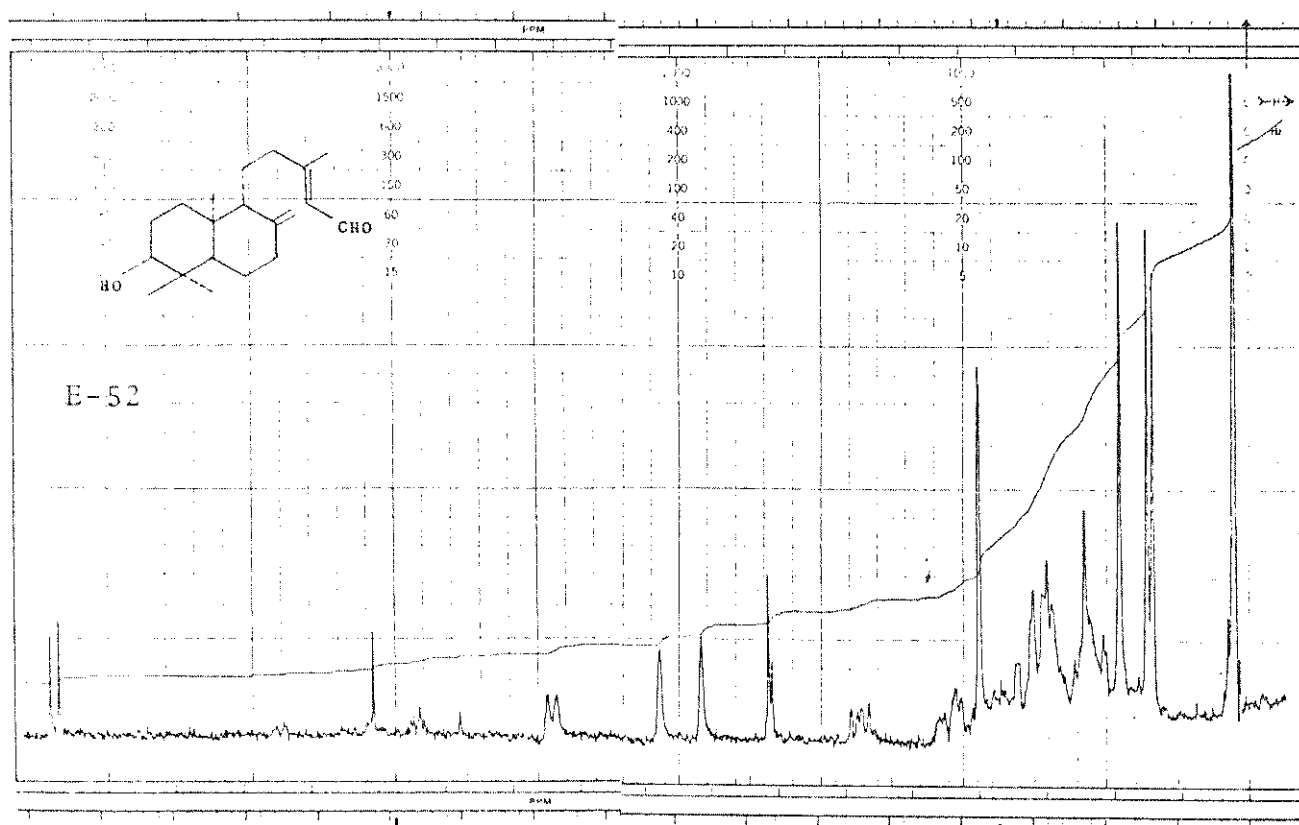
E-48 - Espectro de IV de (OP-6)Ac

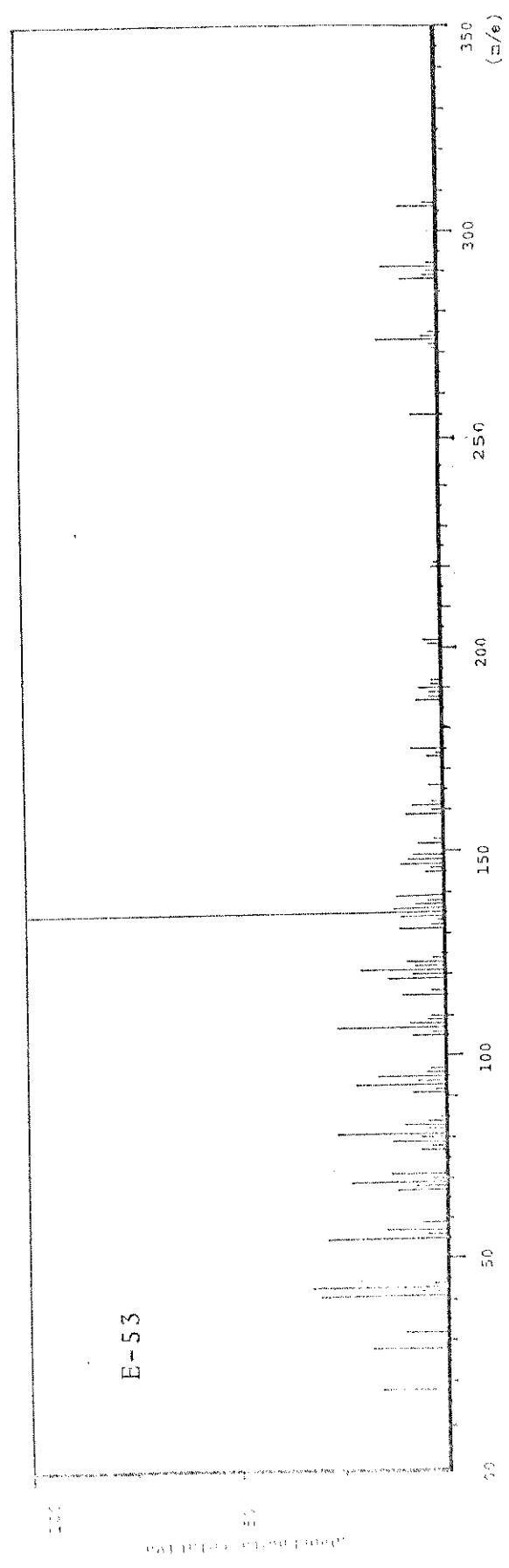


E-49 - Espectro de massa de OP-6

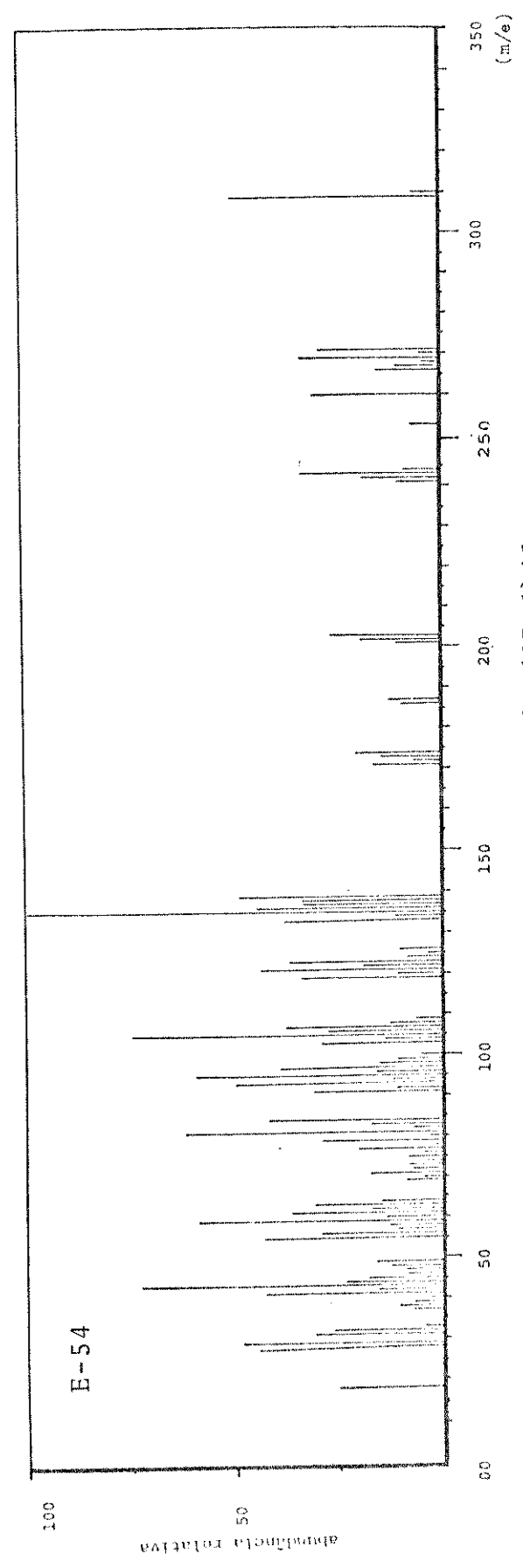


E-50 - Espectro de massa de (OP-6)Ac.

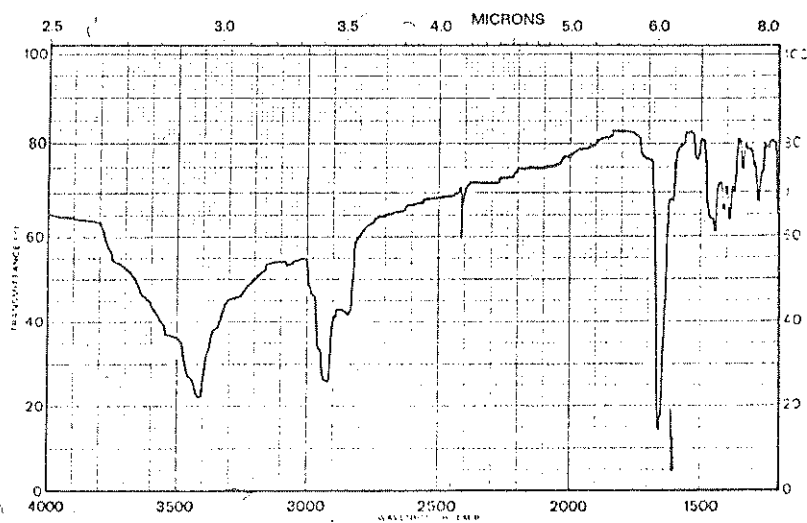
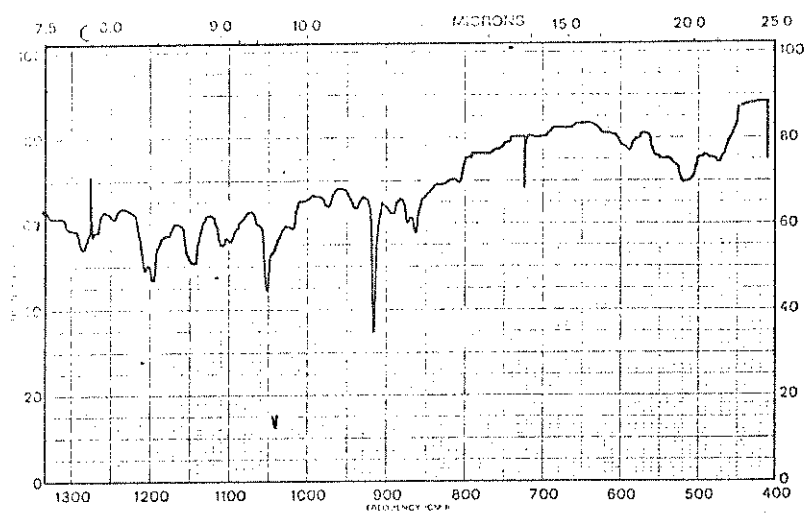
E-51 - Espectro de RMN- ^1H de OP-6E-52 - Espectro de RMN- ^1H de (OP-6)A1.



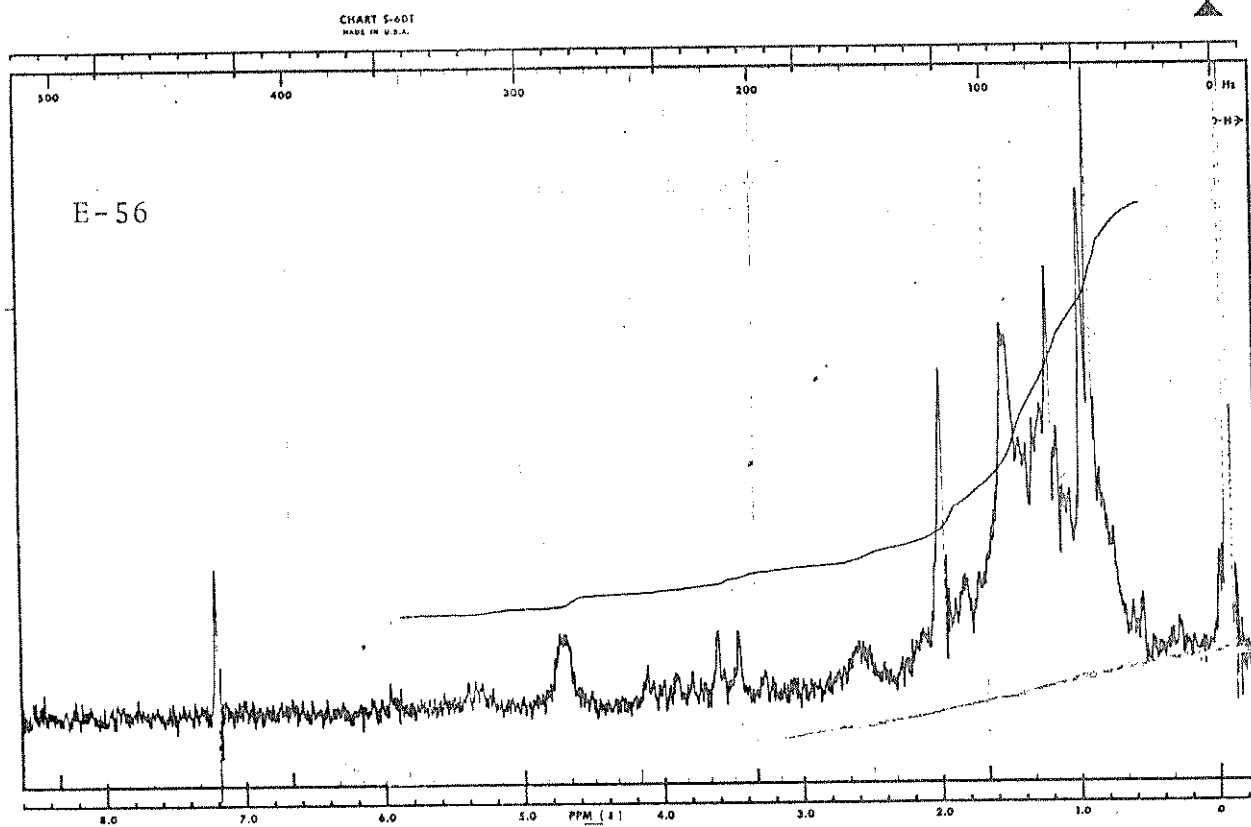
E-53 - Espectro de massa de OP-6



E-54 - Espectro de massa de (OP-6)Al



E-55 - Espectro de IV de (OP-6)A1

E-56 - Espectro de RMN-¹H de (OP-4)A1.

BIBLIOGRAFIA

01. SCHULTES, R.E. e HOLMSTEDT, B.; "De plantis toxicariis e mundo novo tropicale commentationes"; Lloydia, 34, 61 (1971).
02. _____ "Hallucinogens of plant origin"; Science, 163, 245-254 (1969).
03. _____ "Tropical American hallucinogens: Where are we and where are we going?"; Ciência e Cultura, 25, 543 (1973).
04. GOTTLIEB, O.R.; "Miristicáceas medicinais da Amazonia", Ciência e Cultura, Supl., 32, 18(1978).
05. _____ "Chemical studies on medicinal Myristicaceae from Amazonia, Simposio Internacional sobre Medicina Indígena e popular da América Latina", Roma (1977).
06. RODRIGUES, W.A.; "Botânica sistemática das Miristicáceas do Brasil"; Ciência e Cultura, Supl. 32, 12(1978).
07. BARATA, L.E.S.; Tese de Doutorado, Unicamp, Campinas - SP (1976).
08. OLIVEIRA, M.M. e SAMPAIO, M.R.P.; "Ação da lignana Virolina e derivado em leucemia, experimental"; Ciência e Cultura, Supl., 32, 104 (1978).
09. GOTTLIEB, O.R. e YOSHIDA, M.; "Neolignanas antitumorais"; Ciência e Cultura, Supl., 32, 93(1978).
10. GOTTLIEB, O.R.; "Neolignans"; Fortschritte Chem. Org. Naturst. 35, 1(1977).
11. PEDREIRA, G.; Tese de Mestrado, UFMG, Belo Horizonte-MG (1976)
12. BRAZ, F.R.; GOTTLIEB, D.R. e MAIA, J.G.S.; Phytochemistry 15, 1020(1976).

13. BRAZ, F.R., GOTTLIEB, O.R. e outros. "The chemistry of Brazilian Myristicaceae. Isoflavonoids from Amazonian Species". Lloydia, 40 (3), 236(1977).
14. GOTTLIEB, O.R., MAIA, J.G.S. e PINHO, S.L.V., "Ciência e Cultura, Supl. 27, 172(1975).
15. BRAZ, F.R., GOTTLIEB, O.R. e PINHO, S.L.V., Phytochemistry, 15 567 (1976).
16. GOTTLIEB, O.R., MAIA, J.G.S. e RIBEIRO, M.N., Phytochemistry 15, 773 (1976).
17. GOTTLIEB, O.R.; MAIA, J.G.S. e SOUZA, M.N.F.R., Ciência e Cultura, Supl., 27, 172 (1973).
18. GOTTLIEB, O.R.; LOUREIRO, A.A.; SANTOS, M.^a dos e ROCHA, A.I.; Phytochemistry, 12, 1830 (1973)
19. CASSADY, J.M.; BLAIR, G.E.; RAFFAUT, R.F. e TYLER, V.E.; Lloydia, 34, 161 (1971).
20. MAIA, J.G.S. e RODRIGUES, W.A.; Acta Amazônica, 4 (1), 21 (1974).
21. FERNANDES, J.B.; GOTTLIEB, O.R. e RIBEIRO, M.N.; Ciência e Cultura, Supl., 29, 438 (1977).
22. GOTTLIEB, O.R.; FERNANDES, J.B. e RIBEIRO, M.N.; Ciência e Cultura, Supl. 30 (1978).
23. CARVALHO, M.G.; BRAZ, R.F. e GOTTLIEB, O.R.; "Configuração relativa de neolignanas dos frutos de O. platyspermum", Ciência e Cultura, 33,(7), 464 (1981).
24. KIJJOA, A.; GRESBRECHT, A.M.; GOTTLIEB, O.R. e GOTTLIEB, H.E.; Chemistry of Brazilian Myristicaceae", Phytochemistry, 20, 1385 (1981).
25. CAROTHIE, E. e NAKANO, T.; Planta médica, 17, 184(1969)

26. LOPES, L.M.X.; MASSAYOSHI, Y. and GOTTLIEB, O.R.; "1,1,1-Diarylundecan-1-one and 4 Aryltetralone neolignans from Virola Sebifera. Phytochemistry, 21, 751 (1982).
27. HASHIMOTO, Y.; KAZUKO, K.; OSAMER, Y. e ARATA, I.; An.Acad. Bras. Ciências, 42, 377 (1970).
28. SHULTES, R.E. e HOLMSTED, B.; Rhodora, 70, 113(1968).
29. SHULTES, R.E.; Bot. Mus. Leaf1. Harvard Univ. 16, 241(1954).
30. KAZUKO, K.; UHARA, Y. and HASHIMOTO, Y.; The neolignans (-) Carinatone and carinatin from Virola Carinata. Phytochemistry, 21, 929 (1982).
31. FERNANDES, J.B.; RIBEIRO, M.N.; GOTTLIEB, O.R. e BOTTLEB, H. E.; Phytochemistry, 19, 1523 (1980).
32. KAZUKO, K. e HASHIMOTO, Y.; "Dehydrodieugenol and its monomethyl ether from Virola Carinata, Phytochemistry, 20(5) 1166(1981).
33. AGURELL, S.; HOLMSTEDT, B.; LINDGREN, J. e SCHULTES, R.E.; Alkaloids in certain species of Virola and other south American Plants of ethnopharmacologic interest, Acta. Chem. Scand. 23, 903-916 (1969).
34. AGURELL, S.; HOLMSTEDT, B.; LINDGREN, J. e SCHULTES, R.E.; Biochem. Pharmacol., 17, 2487 (1968).
35. MAIA, J.G.S. e RODRIGUES, W.A., Acta Amazônica, 4, 21 (1974).
36. FARNSWORTH, N.R.; Science, 162, 1086 (1968)
37. CARVALHO, M.G.; BRAZ, R.F. e GOTTLIEB, O.R.; "Neolignanas de O.platyspermum", Ciência e Cultura, 33(7), 454 (1980).
38. PAULINO, H.F.; GOTTLIEB, O.R. e YOSHIDA, M.; "Constituintes químicos de V.multinervia Duke". Ciência e Cultura, 34(7), 498 (1982).

39. FERNANDES, D.; GOTTLIEB, O.R. e YOSHIDA, M.; "Ocorrência de flavonas em Myristicaceae". Ciência e Cultura, 34(7), 502 (1982).
40. CARNEIRO, M.O.; MICHELÃO, M.A.; KATO, M. e outros. "Constituintes químicos de Virola elongata"; Ciência e Cultura, 34(7), 499 (1982).
41. VENKATARAMAN, K., "Flavones" in The Flavonoids, Academic Press, N.Y., vol. 1, 267 (1975).
42. HARBORNE, J.B., "Flavonoids" in Phytochemistry, Van Nostrand Reinhold Company, N.Y., Vol. 2, 344 (1973).
43. BARZ, W. and HÖSEL, W.; "Metabolism of Flavonoids" in The Flavonoids, Academic Press, N.Y., Vol. 2, 916 (1975).
44. SWAIN, T.; "Evolution of Flavonoid Compounds" in The Flavonoids, Academic Press, N.Y., Vol. 2, 1096 (1975).
45. WOLLENWEBER, E. e DIETZ, V.H.; Occurrence and distribution of free Flavonoid Aglycones in plants; Phytochemistry, 20(5), 869-932 (1981).
46. THOMPSON, M.J.; Dutky, S.R.; PATTERSON, G.W. e GOODEN, E.L. NMR Spectra of C-24 isomeric sterols" Phytochemistry, 11, 1781 (1972).
47. NAKANISHI, K., Infrared absorption spectroscopy - practical; 2a. ed. Holden - Day, Inc.; San Francisco (1977).
48. DYER, J. R.; Applications of Absorption Spectroscopy of organic compounds; Prentice-Hall, Inc., (1965).
49. SILVERSTEIN, R.M. e outros; Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, 3a. ed., Guanabara Dois - Rio (1979).
50. GOTTLIEB, O.R.; Lignans and Neolignans. Fortschr. Chem. Org. Naturst. 36, 1-75 (1978).

51. PELTER, A.; STAINTON, A.P. and BARBER, M.; The Mass Spectra of Oxygen Heterocycles. An Examination of Simple Lignans. J. Hetero. Chem., 3, 191 (1966).
52. PELTER, A.; The Mass Spectra of Oxygen Heterocycles. The Mass Spectra of Some Complex Lignans. J. Chem. Soc. (c); 1376 (1967).
53. BIREH, A.J.; MILLIGAN, B.; SMITH, E. and SPEAKE, R.N.; "Some Stereochemical Studies of Lignans". J. Chem. Soc. 4, 4471, (1958).
54. FONSECA, S.F.; Tese de Doutorado. UNICAMP, Inst. de Química, Campinas-SP (1980).
55. PELTER, A. and WARD, R.S.; "Substituted Furofurans in Chemistry of Lignans"; Andhra University Press, pg. 227 (1978).
56. PELTER, A. and WARD, R.S.; "Substituted Furofurans (2,6-Diaryl-3,7-dioxabicyclo/3.3.0./octanes)". In Rao, C.B.S., ed. "Chemistry of Lignans". Waltair, Andhra University Press, pg. 227 (1978).
57. PELTER, A.; WARD, R.S. RAO, E.V. and SASTRY, K.V.; "Revised Structures for Pluviatilol, Methyl Pluviatilol and Xanthoxylol. General Methods for the Assignment of Stereochemistry to 2,6-Diaryl-3,7-dioxabicyclo/3.3.0./octanes Lignans". Tetrahedron, 32, 2783 (1976).
58. ATAL, C.K. and DHAR, K.L.; "Isolation and Structure Determination of (+) Diaeudesmin, the first Naturally Occuring Diaxially Substituted 3,7-Dioxabicyclo/3.3.0./octane Lignan". J. Chem. Soc. (c), 2228 (1967).
59. HARBORNE, J.B. - "Nitrogen Compounds" in Phytochemical Methods; Chapman and Hall, London, Cap. 5, pg. 182 (1973).
60. HABIB, A.A.M.; "False-positive alkaloid reactions". J. Pharm. Sei., 69(1), 37-43 (1980).

61. BRAZ, R.F.; GOTTLIEB, O.R. e outros; "The Chem. of Brazilian Myristicaceae. Isoflavonoids from Amazonian Species". Lloydia, 3, 236 (1977).
62. BRAZ, R.F.; GOTTLIEB, O.R.; PEDREIRA, G.; MARIZ, J.G.; "Isoflavone from *Viola caducifolia*" Phytochemistry, 15, 1029 (1976).
63. BRAZ, R.F. and GOTTLIEB, O.R. "The Flavones of *Apuleia Leiocarpa*", Phytochemistry, 10, 2433 (1971).
64. JURD, L.; "Spectral Properties of Flavonoid Compounds" in The Chemistry of Flavonoids Compounds. The MacMillan Company, N.Y., pg. 107 (1962).
65. GROVILLER, M.A.; "Aplication de la RMN à la Determination de Structure des Composes Flavoniques". Bull. Chim. Soc. de France. 2405 (1966).
66. JALAL, M.A.F.; OVERTON, K. and RYCROFT, D.S.; "Formation of Three New Flavones by Differentiating Callus Culture of *Anorographis Paniculata*". Phytochemistry, 18, 149 (1979).
67. GOUDARD, M.; FAVRE-BONVIN; LEBRETON, P. et CHOPIN, J.; "Differentiation des dihydroxy-5,7 metoxy-6 ou 8 Flavones Flavonols et Methyl-3 Flavonols par Spectrometric de Masse". Phytochemistry, 17, 145 (1978)
68. AUDIER, H.; "Étude des Composes Flavoniques par Spectrométrie de Masse, Bull. Soc. Chim. France, 9, 2892 (1966).
69. NASCIMENTO, M.C. do and MORS, W.B.; "Flavonoids of *Derris Araripensis*. Phytochemistry, 20, 147 (1981).
70. MARKHAM, K.R. and MABRY, T.J.; "Ultraviolet-Visible and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoids" in the Flavonoids, Academic Press, N.Y., Vol. 1, 45 (1975).
71. BRAZ, R.F.; Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - Rio de Janeiro (1971).

72. MASSICOT, J.; MARTHE, J. et HEITZ, M.S.; "RMN de Produits Naturels - Nouvelles Données sur les Dérivés Flavoniques". Bull. Soc. Chim. 2, 2712 (1963).
73. CORREA, J. et CERVERA, M.L.; "Isolament et Structure de la Tithonine". Bull. Soc. Chim. France, 2, 475(1971)
74. WOLLENWEBER, E. and DIETZ, V.H.; "Occurrence and Distribution of Free Flavonoid Aglycones in plants (Review). Phytochemistry, 20(5), 869-932 (1981).
75. MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; "Mass Spectrometry of Flavonoids" in The Flavonoids, Academic Press, N.Y., Vol. 1, pg. 78 (1975).
76. LE-VAN, N.G. e PHAM, T.V.C.P.; "Two New Flavones from Eupatorium Coelestinum" Phytochemistry, 18, 1859 (1979).
77. BRIGGS, L.H. and COLEBROOK, L.D.; Infra-red spectra of flavonones and flavones. Carbonyl and hydroxyl stretching and CH out-of-plane bending absorption; Spectrochimica Acta, 18, 939-957 (1962).
78. VENKATARAMAN, K.; "Methods for Determining the Structure of Flavonoid Compounds" in The Chemistry of Flavonoids. Geissman, N.Y., pg. 70 (1962).
79. TIMMERMAN, B.N.; MUES, R.; MABRY, T.J. and POWELL, M.; "6-Methoxyflavonoids from Brickellia Laciniata (Compositae); Photochemistry, 18, 1855 (1979).
80. ROBERTS, J.S.; "The Sesquiterpenes". in Chemistry of Terpenes and Terpenoids. Academic Press, N.Y., 142 (1972).
81. DOLEJS, L. and SORM, F.; "On Terpenes" Coll. Czech. Chem. Comm. 25, 1837 (1960).
82. THERHUNE, S.J., HOGG, J.W. and LAWRENE, B.M.; " β -Spathulene: A new sesquiterpene in Schines Nolle Oil". Phytochemistry 13, 865 (1974).

83. BOWYER, R.C. and JEFFERIES, A.. "Structure of Spathulenol". Chemistry and Industry, 1245 (1963).
84. BEECHAM, C.H. and DJERASSI, C., "The Sesquiterpenes From the Soft Coral *Simularia Mayl*". Tetrahedron, 34, 2503 (1978).
85. SHIGA, M.; "Studies on Some Japanese Citrus Oils" Anais da Academia Brasileira de Ciências, 44, (Supl.), 186 (1972).
86. WILLIAMS, D.H. e FLEMING, I.; Spectroscopic Methods in Organic Chemistry,; McGraw-Hill, N.Y., Cap. 4, pg. 126 (1966).
87. TEMPLETON, W.; "An introduction to the chemistry of the terpenoids and steroids". Butterworths, London, pg. 71 (1969).
88. HEROUT, V. and SYROKA, V.; "The Chemistry of Cadinenes and Cadinols". Tetrahedron, 4, 246 (1958).
89. DAUBEN, G.W.; WEINSTEIN, B.; LIM, P. and ANDERSON, A.B.; "The Structure of δ -cadinol". Tetrahedron, 15, 217 (1961).
90. WILLIAMS, D.H. e FLEMING, I.; Spectroscopic Methods in Organic Chemistry; McGraw-Hill, N.Y., cap. 4, pg. 104 (1966).
91. WESTFELT, L.; "(-) Torreyol (" δ -cadinol")". Acta Chem. Scand. 24, 1618 (1970).
92. REZVUKHIN, A.I.; KHAN, V.A. and DUBOVENKO, Zh. V.; "NMR-¹³C Spectroscopy of Natural Componds. Communication 1. Investigation of the Sesquiterpene Alcohol δ -cadinol". Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim. 6, 1310 (1975).
93. HANSON, J.R.; The Bioynthesis of the Diterpenes; Fortsehrutte Chem. Org. Naturst., 29, 395 (1971).
94. HENRICK, C.A. and JEFFERIES, P.R.; "The Chemistry of the Euphorbiaceae". J. Chem. Aust., 17, 915 (1964).
95. JEFFERIES, P.R. and PAYNE, T.G.; "The Chemistry of the Euphorbiaceae". J. Chem. Aust., 18, 1441 (1965).

96. LAMBERT, J.B.; SHURVELL, H.F.; VERBIT, L.; COOKS, R.G. and STOUT, G.H.; "Organic Structural Analysis", MacMillan Publishing Co., Inc., N.Y., pg. 253 (1976).
97. DYER, J.R.; "Applications of Absorption Spectroscopy of Organic Compounds". Prentice-Hall, Inc.; London, pg. 85 (1965).
98. RODRIGUES, G.B.; An. Quim., 67 (1), 73-83 (1971).
99. FETIZON, M.; MOREAU, G. and MOREAU, N.; "Determination de la conformation d'aldehydes em position 4 β , em serie di ou triterpenique" Bull. Soc. Chim. France, 8, 3295 (1968).
100. PIOZZI, F.; PASSANNANTI, S. and PATERNESTRO, M.P.; "Kauranoid Diterpenes in Speletia Grandiflora. Phytochemistry, 10, 1164 (1971).
101. TANAKA, O.; MIHASHI, S. e outros; "Chemical Studies of Oriental Plant Drugs. Tetrahedron, 28, 4523 (1972).
102. BOHLMANN, F. and JAKUROPOVIC, J.; "Nene Labdan-derivate und andere inhaltsstoffe aus Relhania Acerosa. Phytochemistry 18, 631 (1979).
103. ENZELL, G.; OEHLISCHLAGER, A.C. and OURISSON, G.; "The Chemistry and Stereochemistry of Diterpenes from Trochylodium Verrucosum Oliv.; Tetrahedron, Suppl. 8, 1, 203(1966).
104. CAPUTO, R. and MANGONI, L.; "Diterpenes from Araucaria Bidwilli, Phytochemistry, 13, 467 (1974).
105. ENZELL, C.; "The Chemistry of Natural Order Cupressales. Acta Chem. Scand. 15, 1303 (1961).
106. CHANDRA, G.; CLARK, J., McLEAN, J. e outros; "New Diterpenes from Araucaria Imbricata". J. Chem. Soc., 3648 (1964).

107. KHAC, D.; BASTARD, J. e FETIZON, M.; "Acid nor-19 Anticopali que d'agethis Lanceolata". Phytochemistry, 18, 1839(1979).
108. FIESER, M. e FIESER, F.L.; Reagents for Organic Synthesis; Wiley-Interscience Publication, N.Y., Vol. 6, 511 (1977).
109. BRAUN, S. and BREITENBACH, S.; "Einer Neven Diterpenesaure Aus Metasequoia Glyptostroboides Mit Hilfer der ^{13}C -NMR-Spektroskopie". Tetrahedron, 33, 145 (1977).
110. IAMAMURA, P.M.; Tese de Doutorado - UNICAMP, Inst. de Química - Campinas-SP (1981).
111. MAHAJAN, J.R. and FERREIRA, G.A.L.; "New Diterpenoids from Copaiba Oil", An. Acad. Brasil. Cienc., 43, 611 (1971).
112. SHINOZAKI, E.J.; J. Soc. Chem. Ind. Japan, 25, 4262 (1922).
113. REZVUKHIM, A.I.; BABKIM, V.A. and DUBOVENKO, Zh. V., "Use of $\text{Eu}(\text{DPM})_3$ to initiate paramagnetic shifts in the spectra during investigation of the conformation of δ -cadinol", Jour. of Org. Chem. USSR, 8, 2280 (1972).
114. REZVUKHIM, A.J.; KHAM, V.A. and DUBOVENKO, Zh. V., "NMR- ^{13}C Spectroscopy of Natural Compounds. Investigation of the Conformation of the Sesquiterpeno Alcohol δ -cadinol. Bull of Acad. of Science of the USSR, 6, 1208 (1975).
115. COOPER, J. W.; "Spectroscopic Techniques for Organic Chemists. A Wiley - Interscience Publication, N.Y., p. 84 (1980).
116. BEIERBECK, H.; SAUNDERS, J.K. and ApSIMON, J.W., "The Semi-empirical of ^{13}C NMR chemical shifts. Hydrocarbons, alcohols, Amines and olefins". J. Chem. Can., 55, 2813 (1977).
117. BEIERBECK, H. and SAUNDERS, J.K., " β -carbon Shielding Effects in Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy". J. Chem. Can., 53, 1307 (1975).

118. BEIERBECK, H. and SAUNDERS, J.K., "The shielding effect of heterosubstituents in ^{13}C nuclear magnetic resonance"; J. Chem. Can., 54, 632 (1976).
119. BEIERBECK, H. and SAUNDERS, J.K., "A reinterpretation of beta, gamma and delta substituent effects on ^{13}C chemical shifts". J. Chem. Can. 54, 2985 (1976).
120. COCKRILL, A.F.; DAVIES, G.L.O.; HARDEN, R.C. and RACKHAM, D. M.; "Lanthanide Shift Reagents for Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy" Chemical Reviews, 73, 553 (1973).
121. GATILOV, Yu. V. and DUBOVENKO, Zh. V., "Study of the conformations of the sesquiterpene alcohol δ -cadinol by the method of atom-atom potentials". Chem. of Natural Compounds 15, 203 (1979).
122. GATILOV, Yu. V.; KHAM, V.A. and DUBOVENKO, Zh. V., "Crystal and molecular structure of the sesquiterpene Ketone 9α -hidroxymurola-4-one". Chem. of Natural Compounds, 15, 133 (1979).
123. LATO, M.; BRUNELLI, B.; CIUFFIN, G. e MAZETTI, T.; "Thinlayer chromatography of carbohydrates on silica gel impregnated with sodium acetato, monosodium phosphate and disodium phosphate". J. Chromatog. 39, 407 (1969).
124. _____ "Bidimensional TLC of carbohydrates on silica gel impregnated with boric acid". J. Chromatog., 34, 26 (1968).
125. BAPTISTELA, L.H.B.; Tese de Mestrado. Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP, pg. 70 (1981).
126. "Reativos de coloracion para cromatografia em capa fina y en papel". E. Merck AG-Darmstadt, Alemanha, pg. 3.
127. ApSIMON, J.W.; BEIERBECK, H. e SAUNDERS, J.K., Lanthanide Shift Reagents in NMR- ^{13}C : Quantitative Determination of Pseudocontact shifts and Assignment of ^{13}C chemical shifts of Steroids. J. Chem. Can., 51, 3874 (1973).

128. DEMARCO, P.V.; ELZEY, T.K.; LEWIS, R.B. e WENKERT, E.; Tris-(dipivalomethanato)europium(III). A shift Reagent for use in the Proton Magnetic Reasonance Analysis of Steroids and Terpenoids; J. Amer. Chem. Soc., 92, 5734 (1970).
129. COCKERILL, A.F. e RACKHAN, D.M.; Elucidation of the PMR Spectrum of 2-hidroxy-1-(2-hidroxyethyl)Adamantane in presence of tris(dipivalomethanato)Europium III; tetrahedron lett, 5153 (1970):
130. CROSHAW, B.; HALE, L.J. e SPOONER, D.F.; Some Isolation tecniques used in the evolution of antibacterial compounds; in Isolation Methods of Microbiologists, ed. D.A. Shapton e G.W. Gould, Academic Press, N.Y., pg. 143 (1969).
131. WALLACE, R., PORTE, A.L. e HODGES, R.; "Lignans from Myristica otoba. The structures of hydroxiotobain and iso-otobain"; J. Chem. Soc., 2, 1445 (1963).