



Instituto de Química

Araucaria angustifolia:

ESTUDO QUÍMICO DA CASCA

SEBASTIÃO FERREIRA FONSECA

Tese de Mestrado

Campinas

1975

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

O trabalho descrito nesta tese foi realizado sob a orientação do Prof. Dr. Jayr de Paiva Campello.

A Bibiano e Maria José, meus pais.

"Contudo, a química das substâncias naturais ainda hoje oferece um vasto campo de investigação a quem saiba, com novas idéias, ver além da pesquisa sistemática de novas substâncias."

Marini-Bettolo, G.B. (1974) Ciência e Cultura 26, 751.

AGRADECIMENTOS

O autor deseja expressar seu reconhecimento

À direção do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas pelas facilidades de trabalho proporcionadas.

Aos colegas de trabalho pelo estímulo e colaboração, particularmente ao professor Lauro E.S. Barata, pela obtenção dos espectros de ressonância magnética protônica.

Aos funcionários do Instituto de Química, especialmente a Cecília Iamarino, pelos auxílios prestados nas mais diversas tarefas.

A Inêz Valéria Pagotto, que iniciou conosco este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), ao Fund for Overseas Research Grant and Education (FORGE) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) pelos auxílios concedidos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de iniciação científica concedida a Inez Valéria Pagotto.

Ao Prof. Dr. Benjamin Gilbert, do Centro de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, pelo encaminhamento dos testes biológicos.

Ao Prof. Dr. Ernest Wenkert, da Universidade de Rice, E.U.A., pelo estímulo recebido e pela obtenção dos espectros de massa de alta resolução.

Ao Sr. William Kalaf pelo esmero no trabalho datilográfico.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO	1
2. CONSTITUINTES DA FAMÍLIA <u>ARAUCARIACEAE</u>	3
3. <u>ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA</u> : CONSTITUINTES DA CASCA	
3.1. Parte descritiva da planta	29
3.2. Considerações estruturais	31
3.2.1. Compostos alifáticos de cadeia longa	31
3.2.2. AA-5 (β -sitosterol)	32
3.2.3. AA-8 (éter dimetílico do pinosresinol)	32
3.2.4. AA-25 (sugiol)	34
3.2.5. AA-26 (ácido agático)	34
3.2.6. AA-27 (ácido agatólico)	40
3.2.7. AA-31 (ácido imbricatólico)	50
4. ALGUMAS CONSIDERAÇÕES BIOQUIMIOTAXONÔMICAS	55
5. PARTE EXPERIMENTAL	
5.1. Materiais e métodos	57
5.2. Coleta da casca	59
5.3. Extração	59
5.4. Fracionamento do extrato bruto	59
5.5. Isolamento dos constituintes	
5.5.1. Fração neutra	62
5.5.2. Fração intermediária	63
5.5.3. Fração ácida	64
5.6. Constituintes da casca da <u>Araucaria angustifolia</u> e seus derivados	73
5.7. Ensaio biológico	82
6. RESUMO	84
7. BIBLIOGRAFIA	85
8. ESPECTROS	91

ÍNDICE NUMÉRICO DE ESQUEMAS, TABELAS E FIGURAS

Página

ESQUEMAS

Esquema 1	41
Esquema 2	48
Esquema 3	53
Esquema 4	61

TABELAS

Tabela I	33
Tabela II	39
Tabela III	42
Tabela IV	44
Tabela V	46
Tabela VI	49
Tabela VII	54
Tabela VIII	67
Tabela IX	68
Tabela X	69
Tabela XI	70
Tabela XII	71
Tabela XIII	72
Tabela XIV	83

FIGURAS

Figura 1	30
Figura 8.1	92
Figura 8.2	93
Figura 8.3	94
Figura 8.4	95
Figura 8.5	96

	<u>Página</u>
Figura 8.6	97
Figura 8.7	98
Figura 8.8	99
Figura 8.9	100
Figura 8.10	101
Figura 8.11	102
Figura 8.12	103
Figura 8.13	104
Figura 8.14	105
Figura 8.15	106
Figura 8.16	107
Figura 8.17	108
Figura 8.18	109
Figura 8.19	110
Figura 8.20	111
Figura 8.21	112
Figura 8.22	113
Figura 8.23	114
Figura 8.24	115
Figura 8.25	116
Figura 8.26	117
Figura 8.27	118
Figura 8.28	119
Figura 8.29	120
Figura 8.30	121
Figura 8.31	122
Figura 8.32	123
Figura 8.33	124
Figura 8.34	125
Figura 8.35	126
Figura 8.36	127
Figura 8.37	128

	<u>Página</u>
Figura 8.38	129
Figura 8.39	130
Figura 8.40	131

1. INTRODUÇÃO

Os reinos vegetal e animal têm sido utilizados pelo homem, desde os primórdios, como fonte de substâncias necessárias para sua subsistência. As plantas, em particular, proporcionaram ao homem uma maneira de curar suas doenças, firmar-se no meio ambiente e facilitar-lhe a caça e a pesca, fornecendo-lhe substâncias que puderam ser utilizadas como medicamentos e venenos seletivos. Posteriormente, a necessidade de obter substâncias de interesse econômico ou biologicamente ativas deu origem à Química dos Produtos Naturais. Atualmente, após uma fase de transição, novas perspectivas deste ramo da Química parecem estar firmando-se e ganhando novos adeptos.¹

Entre as diversas classes de compostos naturais estudadas, existe uma que engloba as substâncias terpênicas. Ultimamente, um crescente número de terpenos têm mostrado ser responsável pela atividade biológica de vários sistemas.² Certos hormônios juvenis de insetos parecem ser derivados de sesquiterpenos, enquanto que hormônios de crescimento de plantas, como as giberelinas, são diterpenos.^{3, 4} Vários sesquiterpenos revelaram atividade contra tumores e existem diversos antibióticos entre os sesquiterpenos e diterpenos.^{4, 5} Por outro lado, utilizadas como marcadores químicos, lactonas sesquiterpênicas permitiram a reclassificação das tribos da família Compositae, uma das maiores famílias de plantas, cuja classificação sistemática é particularmente difícil, dada a grande variedade de espécies.⁶

Gilbert e colaboradores⁷ constataram que o extrato hexânico da madeira de diversas coníferas apresentava proteção tópica contra a penetração de cercárias de Schistosoma mansoni em camundongos. O extrato benzênico da casca da Araucaria angustifolia, uma conífera de grande porte largamente difundida no sul do Brasil, foi submetido a testes análogos e mostrou proteção similar.⁸

Decidimos então iniciar o estudo químico da Araucaria angustifolia pelos constituintes da casca visando:

a) contribuir para o desenvolvimento quimiotaxonômico do gênero Araucaria, pertencente à família Araucariaceae, onde tem sido verificada a ocorrência marcante de diterpenos;

b) tentar estabelecer quais as substâncias responsáveis pela proteção contra a infecção por cercárias.

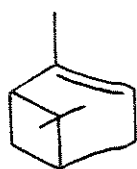
Posteriormente, investigaremos os constituintes das outras partes da planta.

2. CONSTITUINTES DA FAMÍLIA ARAUCARIACEAE

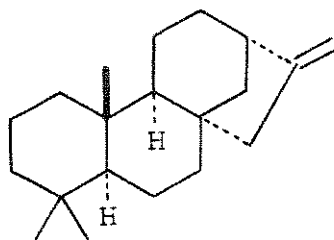
A investigação química da família Araucariaceae teve seu ponto de partida na Agathis australis, originária da Austrália, cuja resina, de fácil obtenção, teve grande importância industrial na fabricação de vernizes e lacas. Tschirch e Niederstadt,⁹ em 1901, verificaram que a resina da A. australis consistia de 12% de material neutro, 75% de material ácido e 13% de óleo. Obtiveram da fração ácida 1,5% de um composto cristalino, denominado ácido agático, cuja estrutura não foi determinada.

A resina da Agathis robusta foi investigada por Baker e Smith,^{10,11} que obtiveram, além de pineno (1), dois ácidos, denominados ácido dundático (p.f. 234-235^o, $[\alpha]_D + 56^o$) e ácido dundatólico (p.f. 101-102^o, $[\alpha]_D + 21^o$).

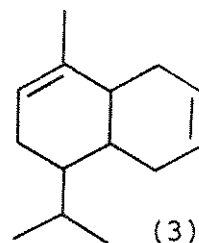
Investigando o óleo essencial das folhas de Agathis australis, obtido por destilação por arraste de vapor d'água, Hosking,¹² em 1928, verificou que as folhas coletadas em junho continham 0,05% de óleo que, submetido à destilação fracionada sob pressão reduzida, forneceu 75% de α -pineno (1), 6% de kaureno (2) e 3,5% de cadineno (3); enquanto que o óleo (0,16%) obtido das folhas coletadas em dezembro apresentou 64% de α -pineno (1), 13% de kaureno (2), 7% de cadineno (3), 3,2% de borneol (4), 1,4% de acetato de bornila (5), 1% de limoneno (6) e dipenteno [(+)-limoneno], 0,7% de canfeno (7), 0,6% de cineol (8), 0,2% de citronelal (9) e 3% de resina.



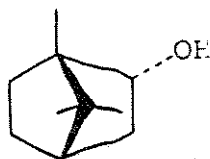
(1)



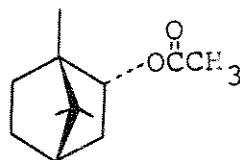
(2)



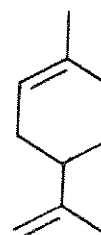
(3)



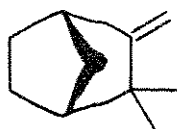
(4)



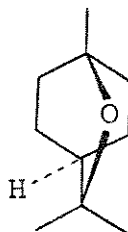
(5)



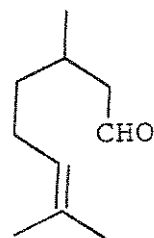
(6)



(7)

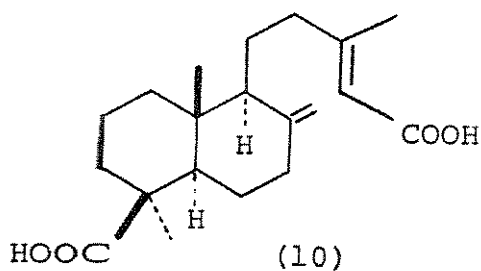


(8)

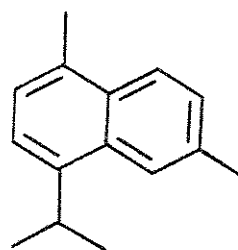


(9)

Ruzicka e Hosking,¹³ examinando a fração solúvel em éter da resina da Agathis australis, isolaram o componente principal da resina, um ácido, denominado agático por Tschirch e Niedersadt,¹⁰ e determinaram sua estrutura (10), baseando-se nas evidências químicas obtidas através de vários derivados.^{14,15}



(10)



(11)

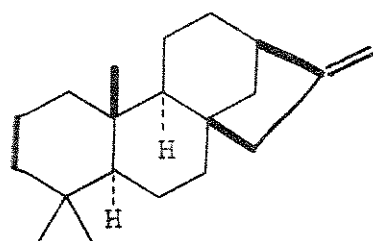
Koolhaas¹⁶ obteve de uma amostra de resina de Agathis labillardieri, por destilação a vapor d'água, 5,7-6,3% de óleo essencial, que foi submetido à destilação fracionada e cuja composição era a seguinte: α -pineno (0,6%) (1), limoneno, contendo dipenteno (97,4%) (6), um óxido de sesquiterpeno com núcleo de cadaleno (11) (0,5%) - cuja estrutura total não foi determinada - e resina (0,7%). De outra amostra de resina, utilizando o mesmo procedimento, obteve α -pineno (31,8%) (1), limoneno, contendo dipenteno (60,3%) (6) e um álcool sesquiterpênico (0,1%) não identificado. O autor sugeriu que as resinas eram provenientes de duas variedades diferentes de A. labillardieri.

A resina exudada da Araucaria angustifolia O. Ktze. (sin. Araucaria brasiliana, A. Rich.) foi analisada por Rangel e Schneider,¹⁷ que obtiveram o seguinte resultado: umidade 13%, goma (solúvel em água, insolúvel em álcool) 40%, resina 37,2%, terebentina 5% e "impurezas" 5,7%. Stellfeld¹⁸ verificou que a fração solúvel em álcool dava reações para taninos.

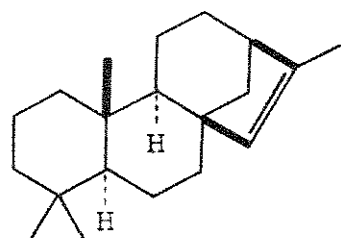
Utilizando destilação a vapor d'água e depois destilação fracionada sob pressão reduzida, Birch¹⁹ obteve limoneno (6) da resina exudada da Araucaria bidwilli.

Briggs,²⁰ em 1941, obteve do óleo essencial da Araucaria excelsa 70% de α -pineno (1), 19% de filocladeno (12), 9% de um sesquiterpeno não identificado e pequena quantidade de dipenteno, provavelmente formado do α -pineno durante a destilação. Posteriormente, após exaustivas cristalizações conseguiu separar isofiloclade-
no (13), das águas-mães de cristalização do filocladeno. Isto foi

comprovado pela isomerização da mistura de diterpenos com uma solução alcoólica de ácido sulfúrico a 10%, obtendo apenas isofilocladeno.²¹

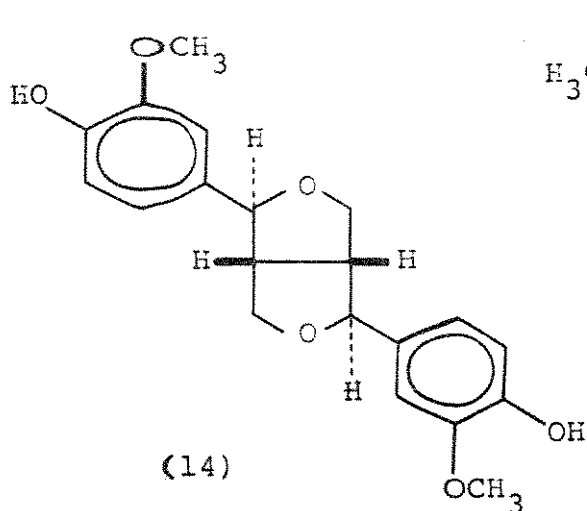


(12)

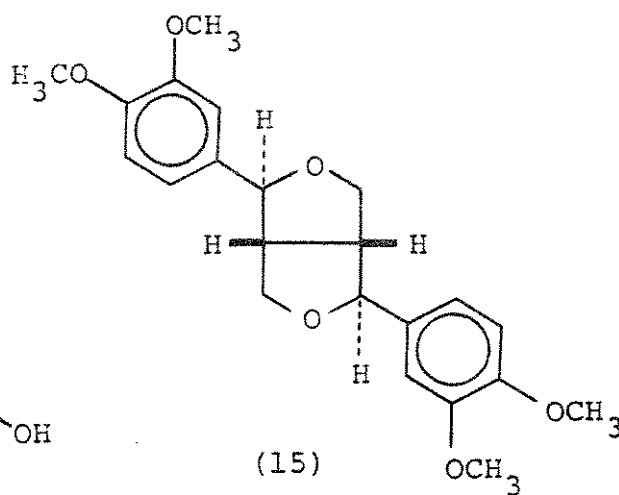


(13)

Dryse¹¹ e Lindberg,²² examinando o extrato etanólico das raízes da Araucaria angustifolia isolaram pinoresinol (14) e seu éter dimetílico (15). O éter dimetílico do pinoresinol ainda não havia sido isolado de fonte natural, apesar de seu antípoda óptico, eudesmina, já haver sido encontrado em várias espécies de Eucalyptus.²³



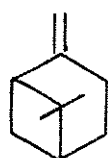
(14)



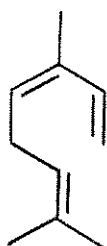
(15)

Examinando o óleo essencial da Araucaria cunninghami, cujo fracionamento foi feito por destilação sob pressão reduzida,

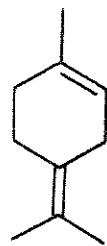
Gallagher e Sutherland,²⁴ obtiveram n-nonano, n-undecano, α -pineno (1), β -pineno (16), mirceno (17), (+)-limoneno (dipenteno) (6), terpinoleno (18), cariofileno (19) e humuleno (20).



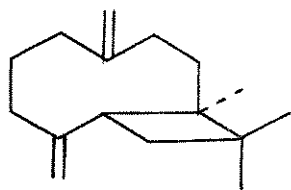
(16)



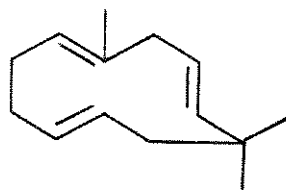
(17)



(18)

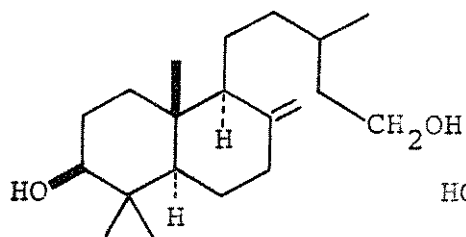


(19)

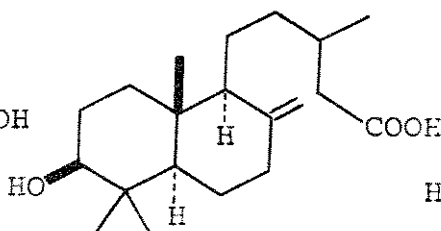


(20)

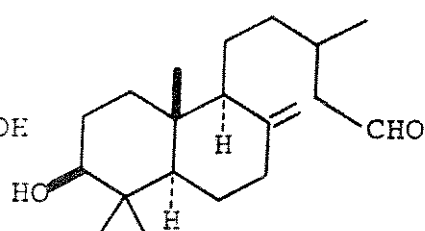
Chandra e colaboradores,²⁵ investigando o extrato de éter de petróleo da casca da Araucaria imbricata, isolaram e caracterizaram dois novos diterpenos: labd-8(17)-en-3 β ,15-diol (21) e ácido 3 β -hidroxilabd-8(17)-en-15-oico (22). A presença do aldeído correspondente em C₁₅ (23) também foi evidenciada.



(21)

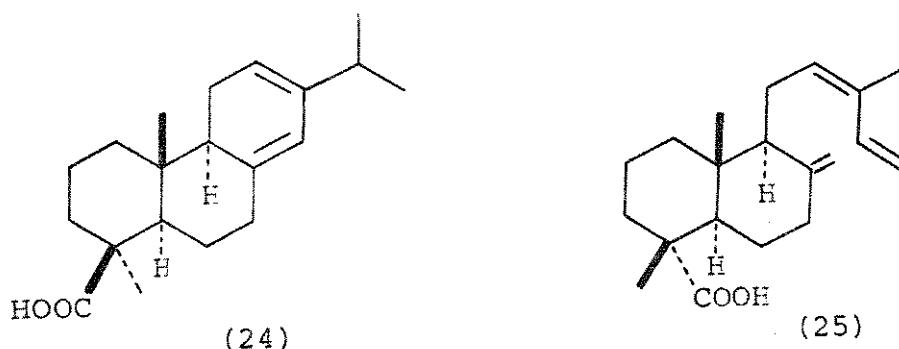


(22)



(23)

Investigando a resina da Agathis robusta, Carman e Dennis²⁶ identificaram os ácidos levopimárico (24) e comúnico (25), que foram isolados como ésteres metílicos, após reação com diazometano. Nenhum dos dois ácidos mostrou propriedades semelhantes aos ácidos dundático e dundatólico obtidos por Baker e Smith.^{10,11}

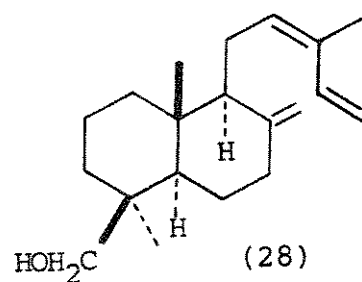
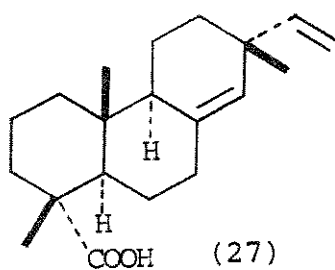
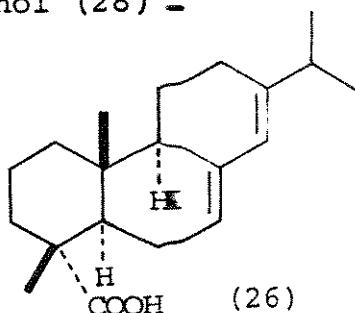


O ácido levopimárico possui grupo carboxila β (axial) em C_4 , enquanto que o ácido comúnico apresenta a carboxila em posição α (equatorial). Foi a primeira ocasião em que se notou a co-ocorrência de ácidos diterpênicos com grupos carboxila apresentando configuração oposta em C_4 . Carman e Dennis acharam que este fato era de considerável interesse biossintético.

Ainda em 1964, Carman²⁷ constatou que o constituinte principal da resina da Agathis microstachya, como na A. australis,²⁸ era o ácido agático (10). Este ácido diterpênico, no entanto, não foi encontrado na Agathis robusta.²⁶

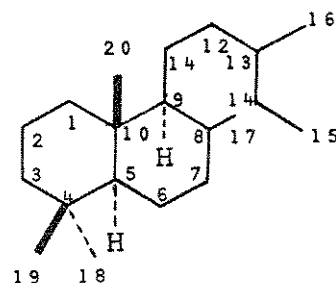
Gough,²⁹ examinando os ácidos diterpênicos isolados das resinas de diversas Coníferas, verificou vários exemplos do fenômeno observado por Carman e Dennis. Notou, assim, a ocorrência dos ácidos abiético (26) e sandaracopimárico (27), oxigenados e-

quatorialmente, na resina da Agathis australis. Ruzicka e Hosking^{14,15} já haviam isolado desta espécie o ácido agático (10), oxigenado axialmente. Face a variedade de exemplos, Gough concluiu que a co-ocorrência de diterpenos epimericamente oxigenados devia ser um fenômeno geral e de pouca significação químio-taxonômica. Sugeriu também que a parte insolúvel da resina por ele examinada consistia predominantemente de um copolímero do ácido comúncio (25) e comunol (28) -

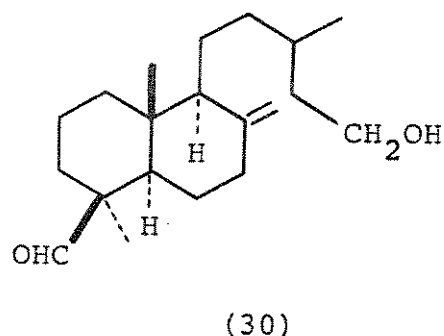
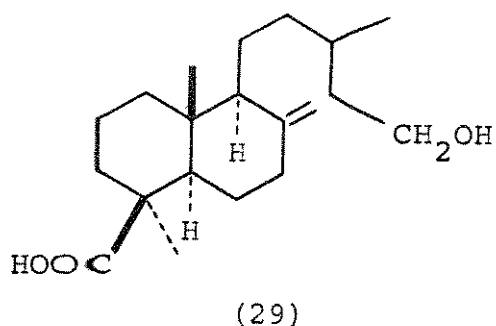


A resina da Araucaria imbricata foi estudada por Weissmann e Bruns,³⁰ que obtiveram o ácido 3 β -hidroxilabd-8(17)-en-15-oico (22) (*) isolado por Chandra e colaboradores²⁵ da casca da mesma planta. Weissmann e Bruns, posteriormente, isolaram e determinaram a estrutura do ácido imbricatólico (29), pela comparação dos derivados deste ácido com os derivados hidrogenados do ácido agático (10).^{31,32}

(*) A nomenclatura usada para esse e outros compostos com esqueleto labdânico mencionados nesta tese baseou-se na denominação sistemática de derivados do hidrocarbeto saturado (labdano).



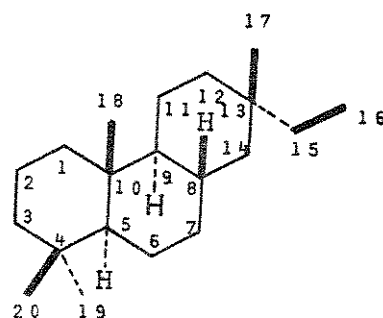
Bruns,³³ reinvestigando a resina da A. imbricata, isolou e caracterizou o imbricatolal (30).

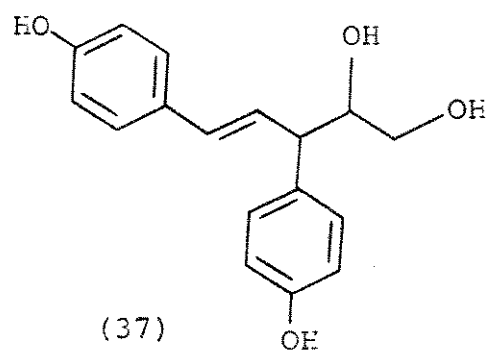
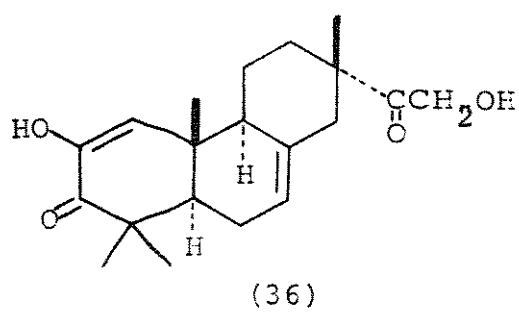
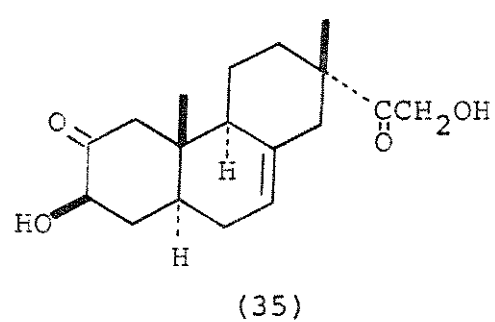
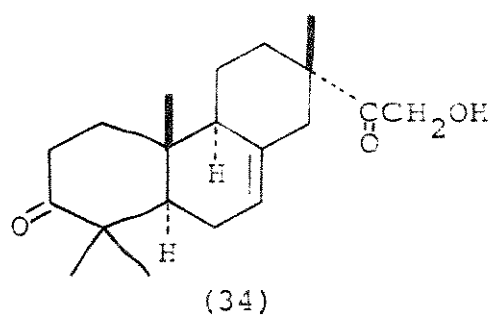
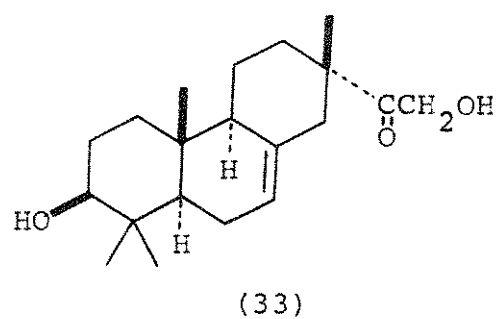
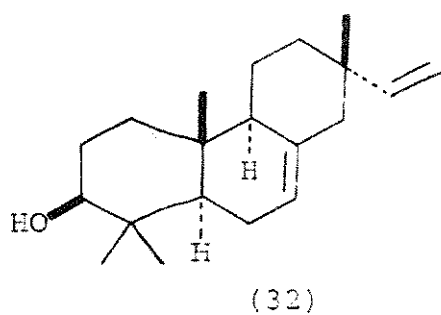
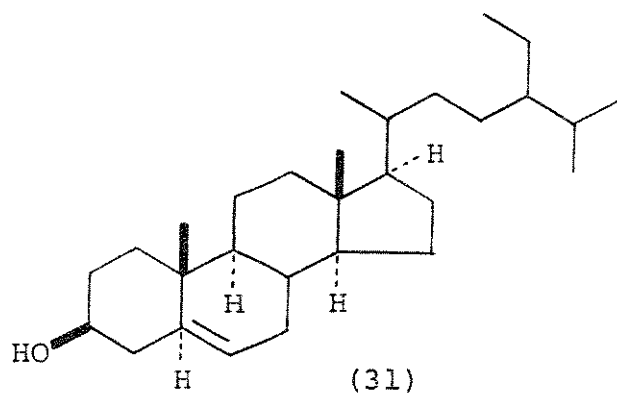


O extrato acetônico da madeira da Agathis australis foi estudado por Enzell e Thomas³⁴ que, além de β -sitosterol (31) e isopimaradien-3 β -ol (32), isolaram e determinaram a estrutura de quatro cetois diterpênicos estreitamente relacionados, que foram denominados araucarol (isopimar-7-en-15-ona-3 β ,16-diol) (33), araucarona (isopimar-7-en-3,15-diona-16-ol) (34), araucarolona (isopimar-7-en-2,15-diona-3 β -16-diol) (35) e araucarenolona (isopimar-1,7-dien-3,5-diona-2,16-diol) (36) (*) e um composto fenólico que recebeu a denominação de agataresinol (37).

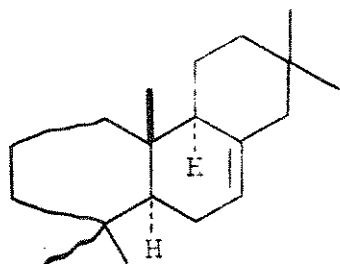
As estruturas dos cetois diterpênicos foram propostas, inicialmente, conforme considerações biogenéticas aceitas na época, sendo posteriormente confirmadas através da obtenção de vários derivados. O esqueleto carbônico foi estabelecido pela conversão da

(*) A nomenclatura adotada para esses compostos baseou-se na denominação sistemática de derivados do hidrocarboneto saturado (isopimarano).

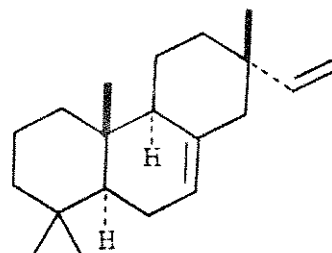




araucarona (34) em 16-norpimar-7-eno (38) e isopimara-7,15-dieno (39).^{35,36,37}



(38)



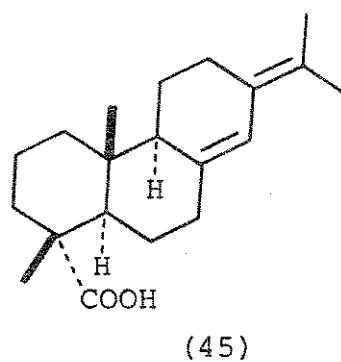
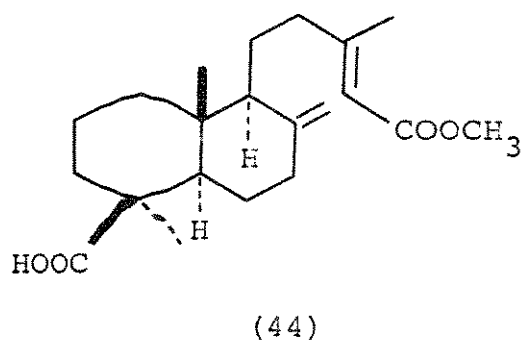
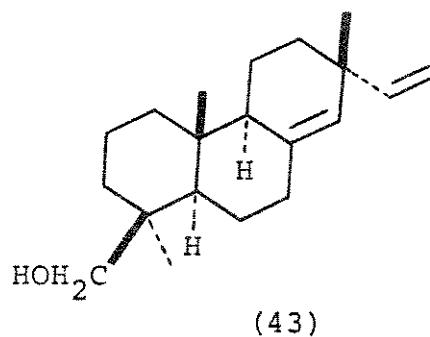
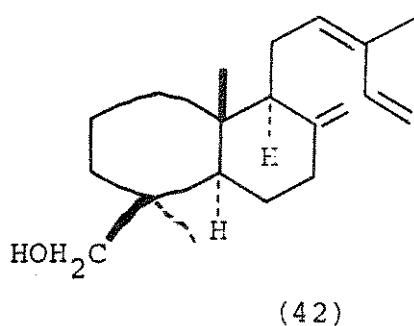
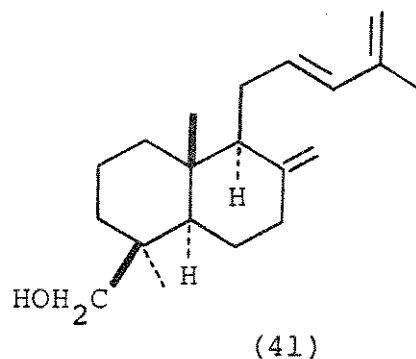
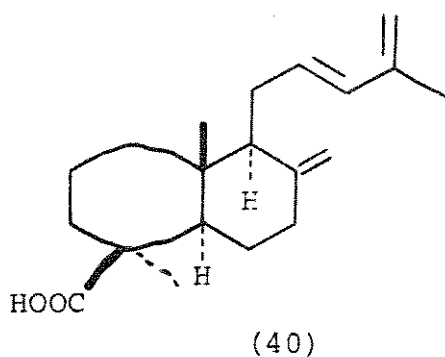
(39)

Thomas³⁸ investigando o extrato acetônico da resina exudada da A. australis isolou como constituintes principais os ácidos agático (10), cis-comúnico (40), trans-comúnico (25), sandaracopimárico (27) e abiético (26) e também cis-comunol (41), trans-comunol (42), sandaracopimaradienol (43) e o éster monometílico do ácido agático (44) (*). O autor observou a diminuição da solubilidade da resina após certo período de tempo e verificou que isto era devido à polimerização dos compostos mais lábeis, já que os ácidos comúnicos e respectivos álcoois não foram encontrados em resinas de 2-4 anos, confirmando a suposição de Gough.²⁹

Examinando mais detalhadamente a resina da Agathis microstachya Carman e Marty³⁹ verificaram que o ácido agático (10) contido nesta resina estava principalmente na forma do seu éster monometílico em C₁₅ (44). Além de (+)-limoneno (6), foram obtidos os ácidos abiético (26), cis-comúnico (40) e trans-comúnico (25),

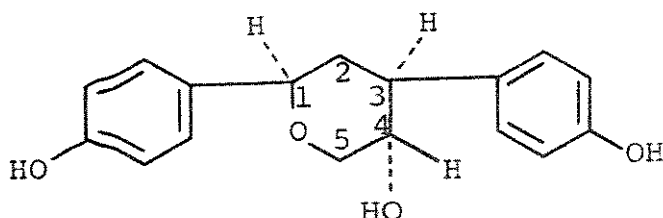
(*) Composto obtido na mesma época por Carman e Marty,³⁹ da resina da Agathis microstachya, e que ainda não havia sido isolado de fonte natural.

na forma de ésteres metílicos, de certas frações cromatográficas submetidas à reação com diazometano. O ácido agático (10) e seu éster metílico (44) foram isolados de frações não submetidas à reação acima e o ácido neoabiético (45) através do sal de butanolamina.

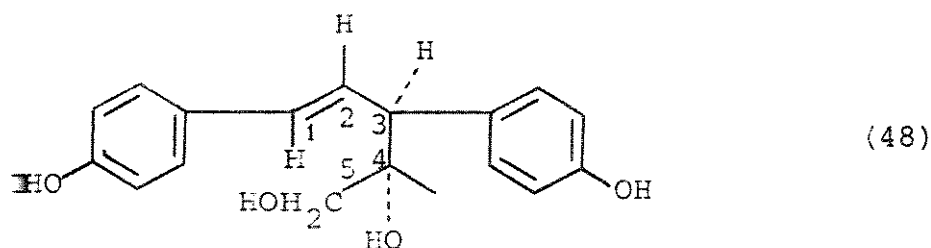
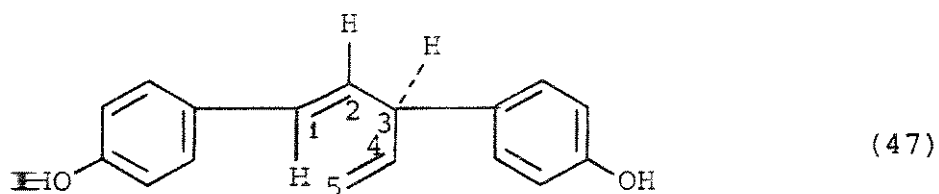


Carman e Cowley,⁴⁰ isolaram o ácido neoabiético (45) como sal de butanolamônio, e os ácidos abiético (26), cis- (40) e trans-comúnico (25) como ésteres metílicos, após tratamento da resina da Agathis robusta com diazometano em solução etérea. Para investigação do ácido dundatólico a resina foi tratada da maneira descrita por Baker e Smith.¹⁰ Os resultados obtidos permitiram aos autores sugerirem que o "ácido dundatólico" era uma mistura dos ácidos abiético (c. 20%), neoabiético (c. 10%), trans-comúnico (c. 25%) e cis-comúnico (c. 20%), loc. cit. A variação do ponto de fusão foi explicada pela polimerização e isomerização dos ácidos comúnicos, à temperatura ambiente, confirmando as observações feitas por Gough²⁹ e Thomas.³⁸

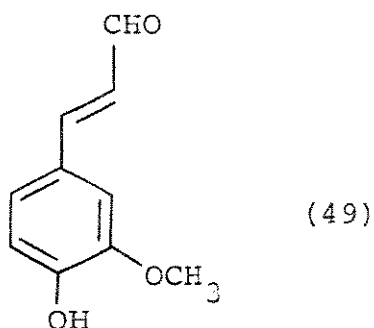
Enzell, Hirose e Thomas⁴¹ identificaram como sugiresinol (46) e hinokiresinol (47)⁴² dois dos componentes menos abundantes da Agathis australis, pela comparação direta com amostras autênticas. A estereoquímica do sugiresinol, ainda não esclarecida, foi determinada. As configurações absolutas em C₃ dos dois compostos (46 e 47), também determinadas neste trabalho, mostraram-se idênticas à do agataresinol (48).³⁴ Para analisar os efeitos causados nos centros assimétricos dos derivados obtidos das três substâncias, foi utilizada espectroscopia de ressonância magnética nuclear e dispersão óptica rotatória.



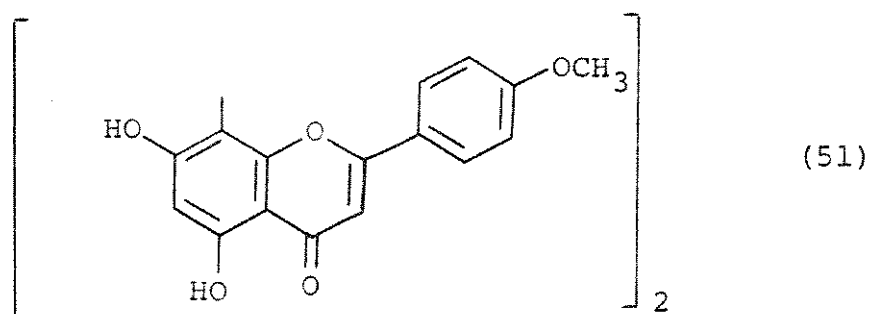
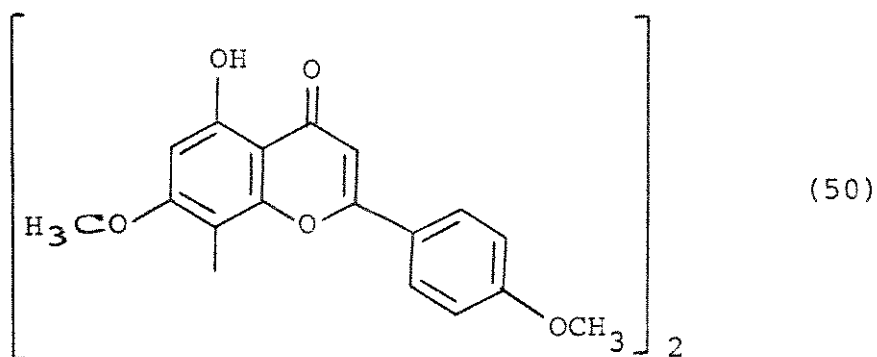
(46)



Observando que a pirólise de certos alcalóides na presença de aparas de zinco produzia pirrol e indol na fase gasosa, Lombardi, Santamaría e Bonino⁴³ encontraram uma maneira de detectar esses compostos utilizando o extrato etanólico da madeira da Araucaria angustifolia. A adição de ácido clorídrico concentrado a uma solução etanólica do extrato, produzia colorações características na presença daquelas substâncias heterocíclicas e o composto responsável por essas reações foi isolado e identificado como sendo o coniferaldeído (49).



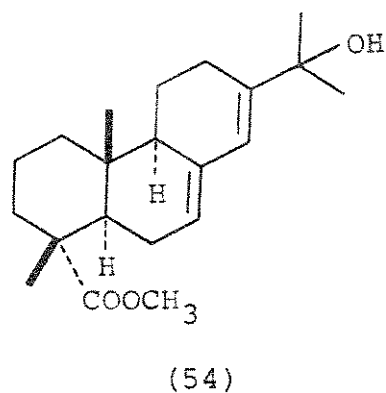
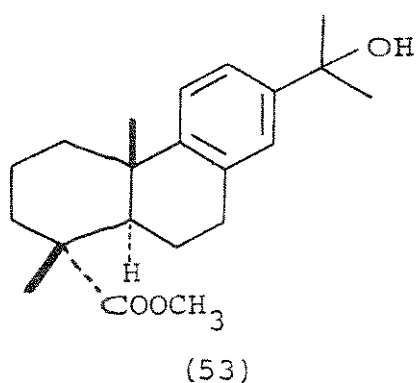
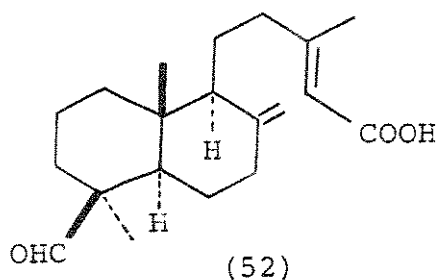
Utilizando cromatografia preparativa em camada delgada, Rahman et al.⁴⁴ obtiveram do extrato acetônico das folhas da Araucaria cunningghami e da Araucaria cooki, as duas primeiras biflavonas opticamente ativas: (-)-4,4'',7,7''-tetra-O-metilcupressuflavona (50) e (+)-4',4'',di-O-metil-cupressuflavona (51).



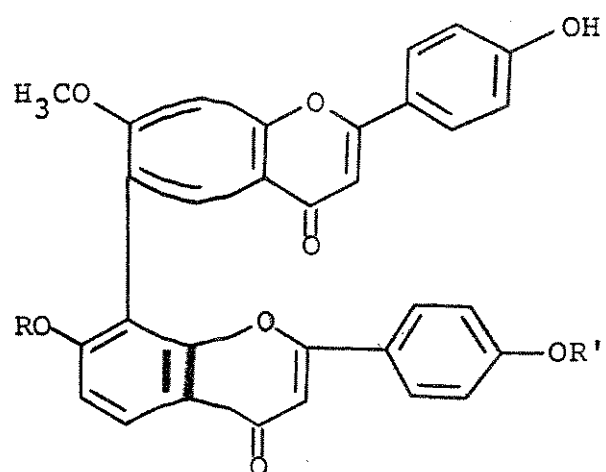
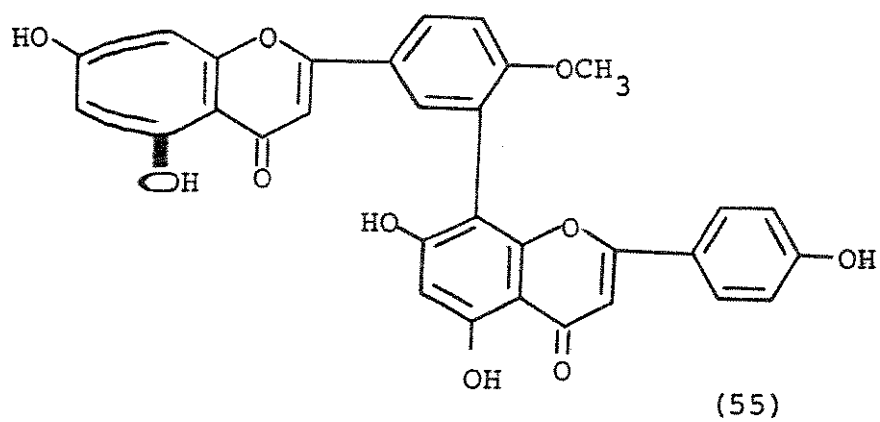
Continuando o exame da fração ácida da resina da Agathis robusta, da qual já haviam sido obtidos os ácidos cis- (40) e trans- comúnicos (25), abiéticos (26), neoabiéticos (45), agáticos (10) e monometilagáticos (44),⁴⁰ Carman e Marty⁴⁵ isolaram, utilizando o reagente de Girard P, um novo diterpenoide aldeídico, que foi caracterizado e denominado ácido agatálico (52).

Em 1970, Carman e Marty,⁴⁶ verificaram que o gênero Agathis, pelo menos na Austrália, necessitava de uma revisão botânica

e iniciaram um estudo das resinas das diversas espécies, para tentar diferenciá-las baseando-se na composição de suas resinas. Nesse ínterim, isolaram dois novos ácidos diterpênicos da resina da Agathis microstachya na forma de ésteres metílicos, assim obtidos após reação da resina com diazometano em solução etérica. Os ésteres foram caracterizados como 15-hidroxiabietato (53) e 15-hidroxidehidroabietato (54) de metila.

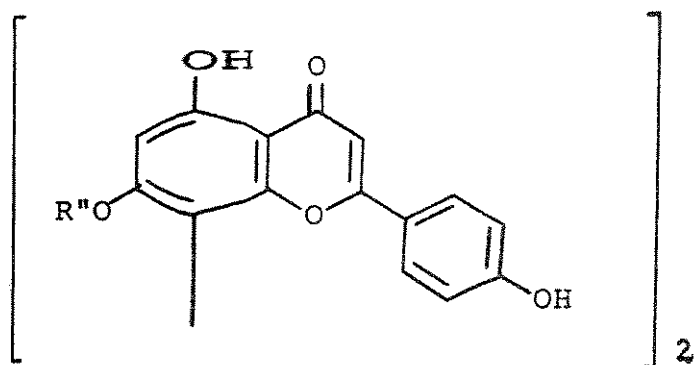


Rahman, Kawano e colaboradores^{47,51} obtiveram das folhas da Araucaria bidwilli bilobetina (55) e as seguintes novas biflavonas: 7-O-metilagathisflavona (56), 7,7"-di-O-metilagathisflavona (57), 7-O-metilcupressuflavona (58) e 7-7"-di-O-metilcupressuflavona (59).



(57) $R = CH_3; R' = H$

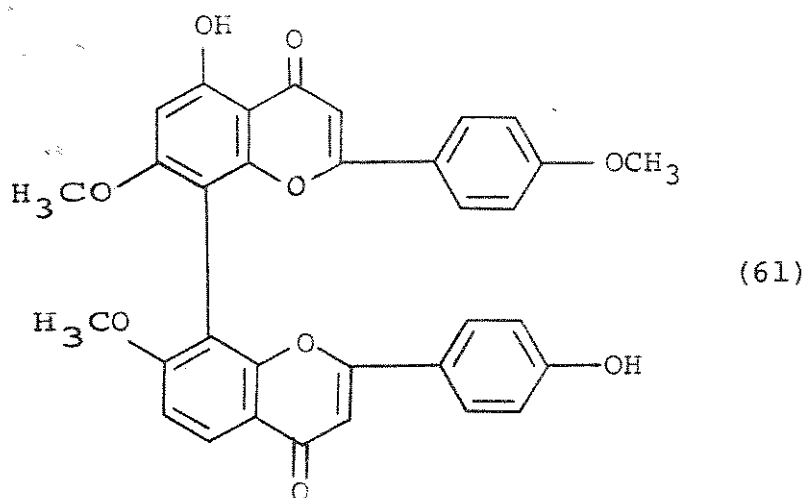
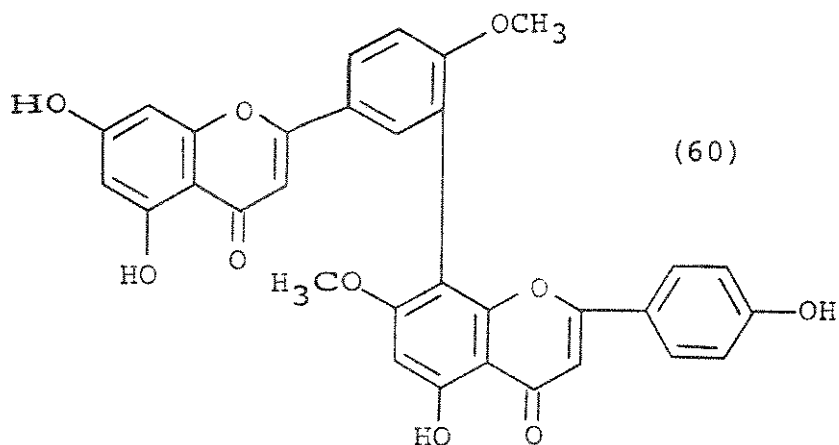
(57) $R = CH_3; R' = H$



(59) $R'' = CH_3$

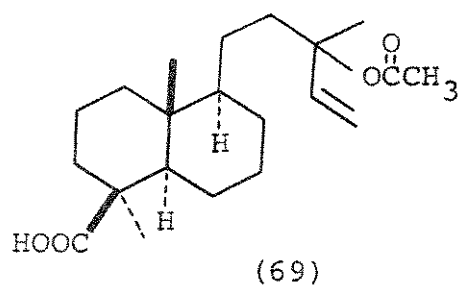
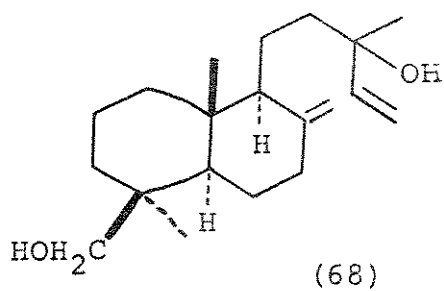
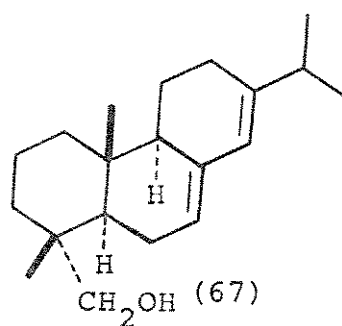
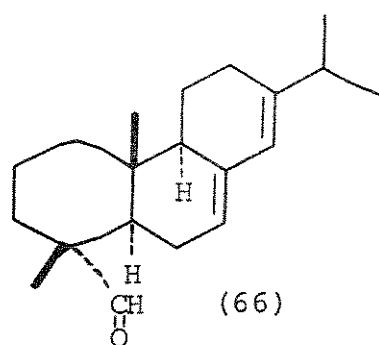
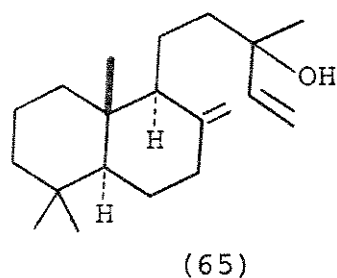
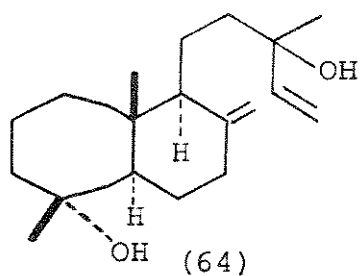
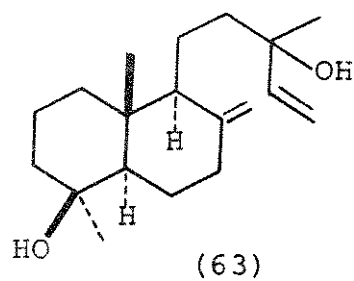
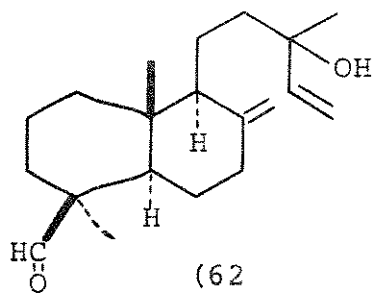
(59) $R'' = CH_3$

Os mesmos autores⁴⁸ isolaram duas novas biflavonas das folhas da Araucaria cunninghami, 4',7"-di-O-metilamentoflavona (60) e 4',7,7"-tri-O-metilcupressoflavona (61), que foram caracterizadas através de evidências obtidas por espectroscopia de ressonância magnética protônica.



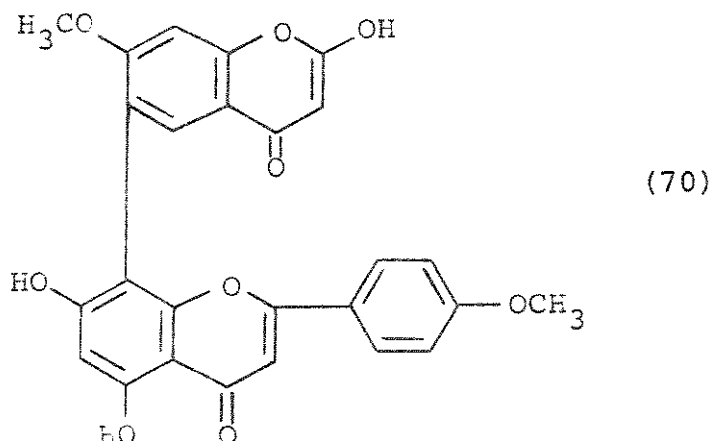
A fração neutra da resina da Araucaria excelsa investigada por Caputo e Mangoni,⁴⁹ além de torulosal (62), 19-norlabda-8(17),14-dien-4,13-diol (63) e 18-norlabda-8(17)-14-dien-4,13-diol (64), forneceu também manool (65), abietinal (66), abietinol (67)

e torulosol (68) como componentes principais. As estruturas dos dois nor-diterpenodiolos foram confirmadas por síntese parcial, partindo do ácido acetil-cuprêssico (69).

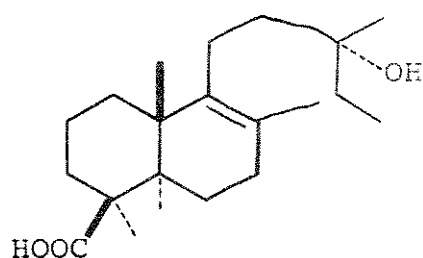


Constataando a oxidação do torulosal (62), isolado da resina da Araucaria excelsa, Caputo, Mangoni e colaboradores^{50, 53} sugeriram que os dois nor-diterpenodíolois, 63 e 64, isolados da mesma fonte,⁴⁹ poderiam ser provenientes do aldeído diterpênico.

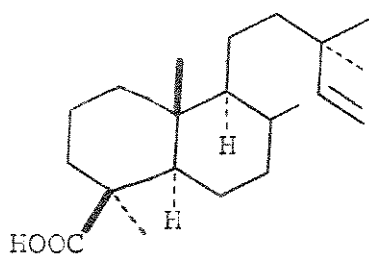
Continuando a investigação de biflavonas nas Araucariáceas Rahman, Kawano et al.⁵¹ isolaram das folhas da Agathis alba 7-O-metilcupressoflavona (58), 7,7"-di-O-metilcupressuflavona (59) e 4"-7-di-O-metilagathisflavona (70), uma nova biflavona.



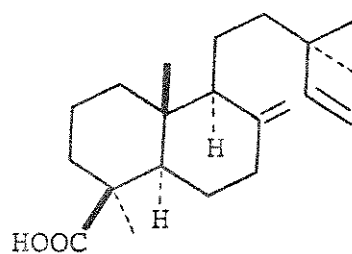
Carman, Craig e Shaw,⁵² dando sequência ao estudo das espécies do gênero Agathis, isolaram da fração ácida da resina da Agathis robusta, três novos ácidos resínicos isômeros, através de seus ésteres metílicos. Os três novos compostos, ácidos 13 β -hidroxilabda-8,14-dienoico (71), 13 β -hidroxilabda-7,14-dienoico (72) e 13 β -hidroxilabda-8(17),14-dienoico (73), foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética protônica, aliada a evidências químicas, entre as quais a interconversão dos ácidos na presença de lítio em diaminoetano.



(71)

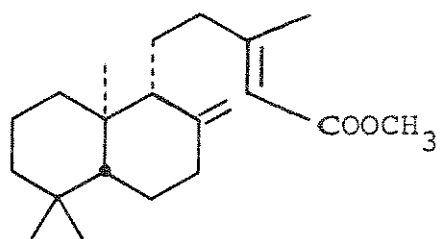


(72)

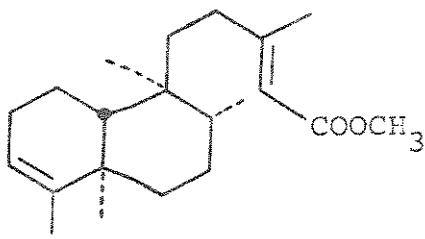


(73)

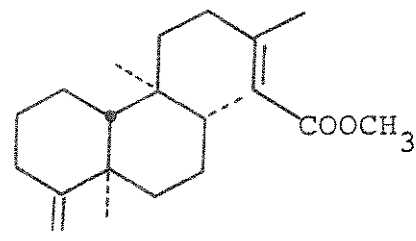
Recentemente, Caputo e Mangoni,⁵⁴ observando que as resinas das espécies de Agathis haviam sido estudadas extensivamente enquanto que as do gênero Araucaria haviam sido muito pouco investigadas, resolveram iniciar um estudo sistemático nesse sentido. Começaram por caracterizar mais detalhadamente e rever a nomenclatura dos ácidos diterpênicos por eles isolados da Araucaria bidwilli, na forma de esteres metílicos, em 1969.⁵⁵ Os compostos isolados apresentaram esqueleto labdânico ou clerodânico e foram os seguintes: enantio-8(17), E-13-labdadien-15-oato (74), enantio-3, E-13-clerodien-15-oato (75), enantio-4(18), E-13-clerodien-15-oato (76), enantio-8 β-hidroxilabda-E-13-en-15-oato (77), 19-hidroxi-8(17), E-13-labdadien-15-oato (agatolato) (78), 19-acetoxi-8(17), E-13-labdadien-15-oato (acetilagatolato) (79), 19-aldeído-8(17), E-13-labdadien-15-oato (80) e 8(17), E-13-labdadien-15,19-dioato de metila (agatato de dimetila) (81).



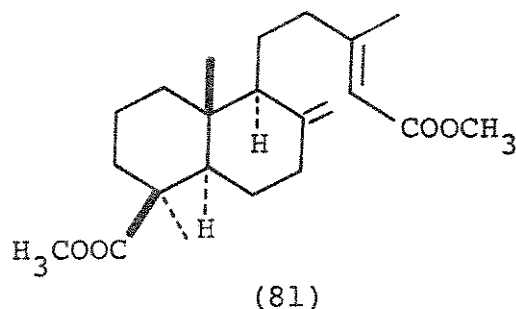
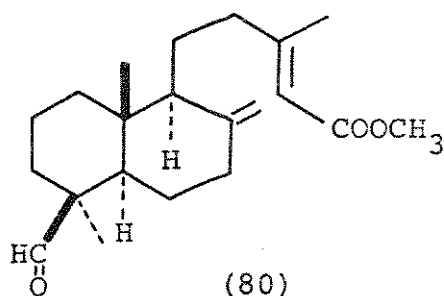
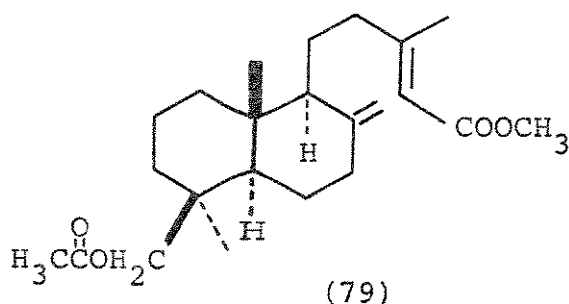
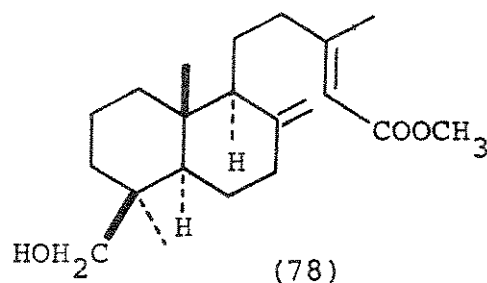
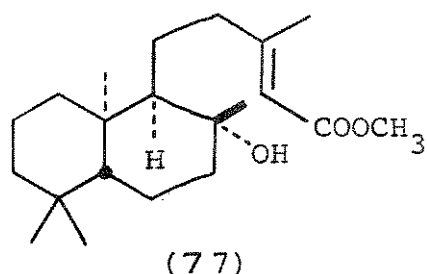
(74)



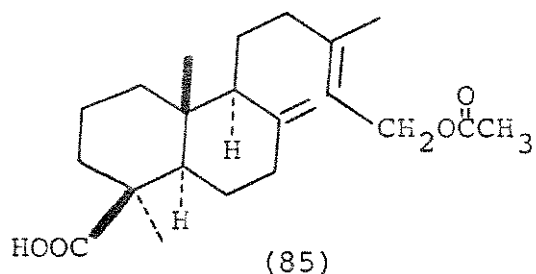
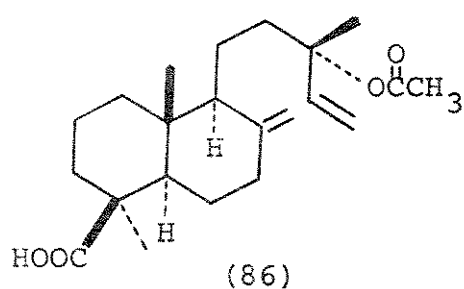
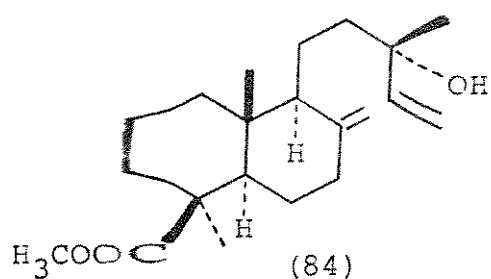
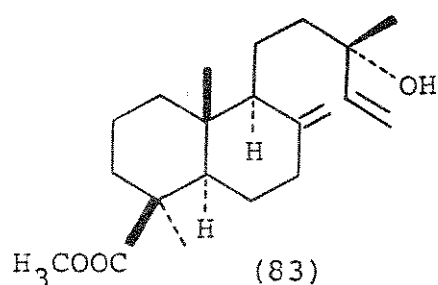
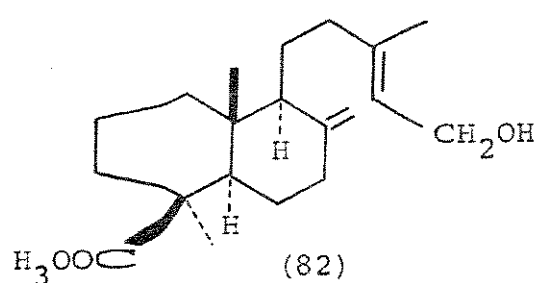
(75)



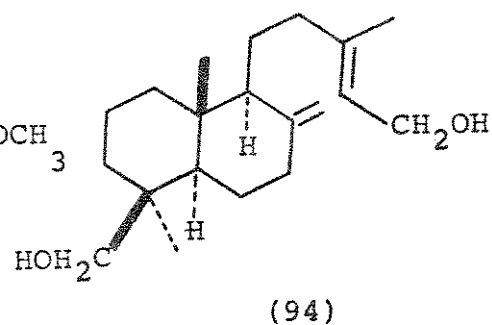
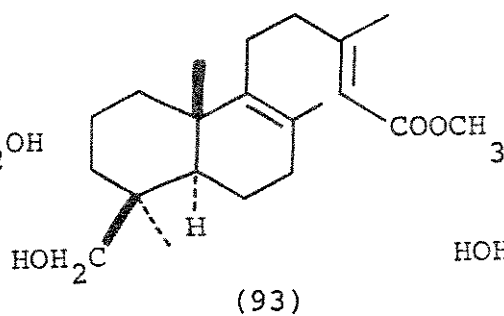
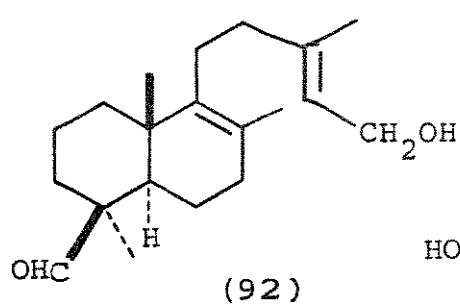
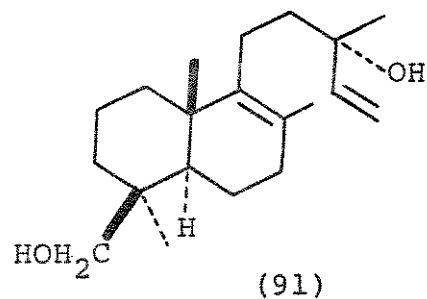
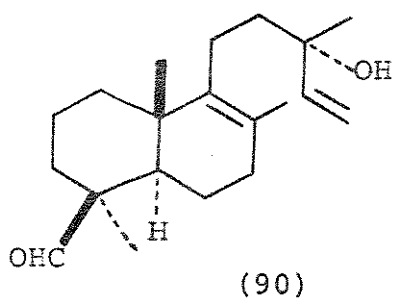
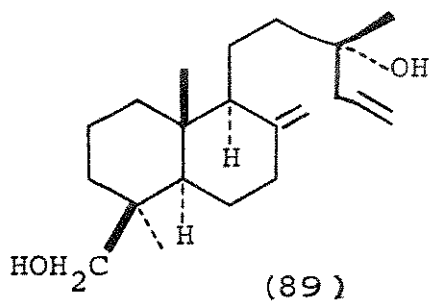
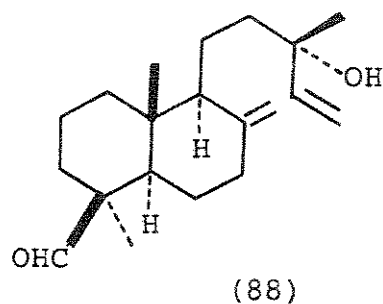
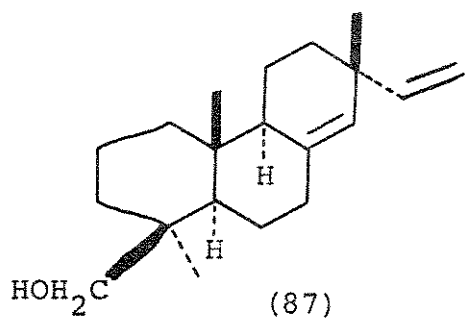
(76)



Caputo, Mangoni *et al.*⁵⁶ examinando a resina exudada da *Araucaria cooki*, isolaram e caracterizaram, através de evidências químicas e de espectroscopia de ressonância magnética protônica, vários diterpenos com esqueleto labdânico, alguns dos quais isolados pela primeira vez da natureza. Da fração ácida (66%) obtiveram: ácido 7,13-abietadien-18-oico (abiético) (26), 15-hidroxi-8(17),E-13-labdadien-19-oato (isocupressato) de metila (82), 13β-hidroxi-8(17),14-labdadien-19-oato de metila (83), 13β-hidroxi-8(17),14-labdadien-19-oato de metila (84), ácido 15-acetoxi-8(17),E-13-labdadien-19-oico (acetil-isocuprêssico) (85) e ácido 13β-acetoxi-8(17),14-labdadien-19-oico (86).

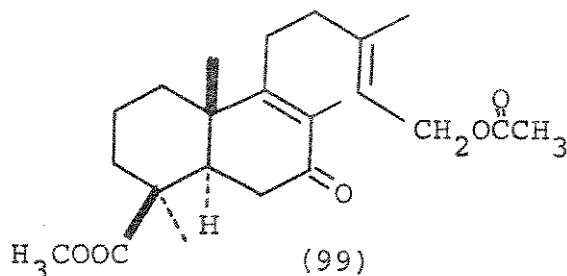
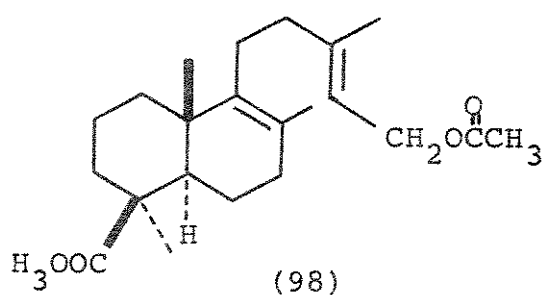
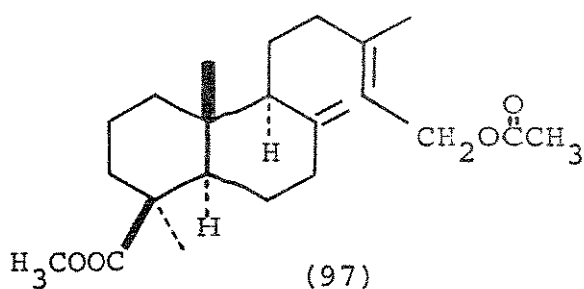
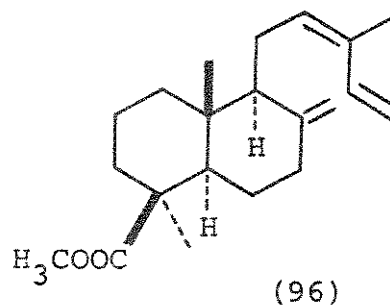
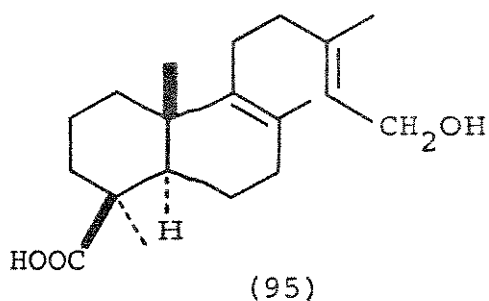


A fração neutra (34%) forneceu os seguintes compostos: 7,13-abietadien-18-al (abietinal) (66), 8(14),15-isopimaradien-18-ol (sandaracopimaradienol) (87), 13 β -hidroxi-8(17),14-labdadien-19-al (88), 8(17),14-labdadien-13 β ,19-diol (13-epitorulosol) (89), 13 β -hidroxi-8,14-labdadien-19-al (90), 8,14-labdadien-13 β ,19-diol (91), 15-hidroxi-8,E-13-labdadien-19-al (92), 19-hidroxi-8,E-13-labdadien-15-oato de metila (93) e 8(17),E-13-labdadien-15,19-diol (agatadiol) (94).

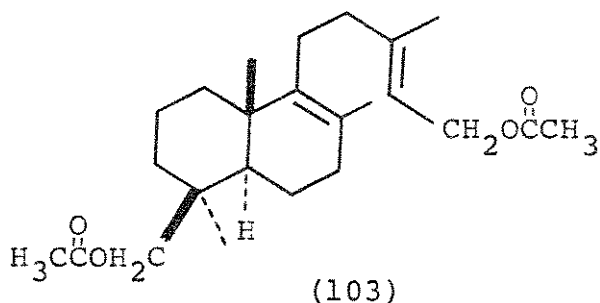
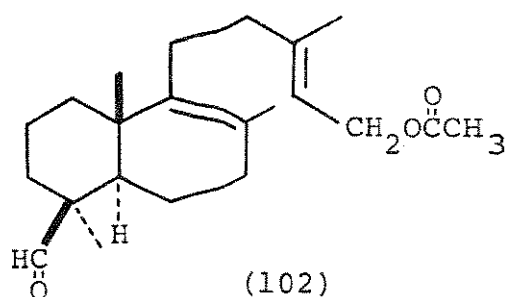
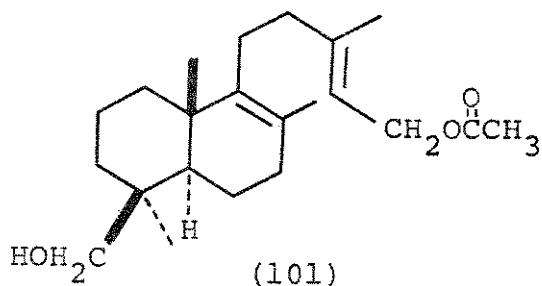
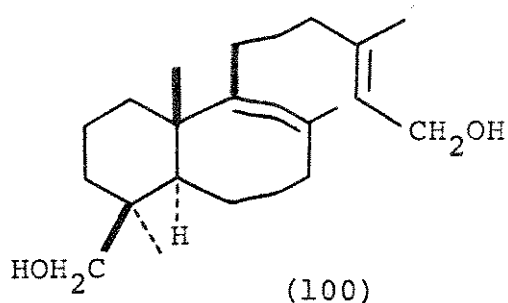


Continuando o estudo da resina das Araucariáceas, Caputo, Dovinola e Mangoni^{57, 58} obtiveram da resina exudada da Araucaria cunninghami onze diterpenos com esqueleto labdânico, nove dos quais eram compostos inéditos. As estruturas desses compostos fo-

ram propostas com base em evidências químicas e métodos físicos. A fração ácida (75%) forneceu o ácido 15-hidroxi-8,E-13-labdadien-19-oico (95), além dos seguintes ésteres, obtidos após reação com diazometano: 8 (17),E-12,14-labdatrien-19-oato (comunato) de metila (96), 15-hidroxi-8(17),E-13-labdadien-19-oato (isocupressato) de metila (82), 15-acetoxi-8(17),E-13-labdadien-19-oato (acetil-isocupressato) de metila (97), 15-acetoxi-8,E-13-labdadien-19-oato de metila (98) e 7-oxo-15-acetoxi-8,E-13-labdadien-19-oato de metila (99).



Da fração neutra (20%) foram isolados os seguintes compostos: 8,E-13-labdadien-15,19-diol (100), 15-hidroxi-8,E-13-labdadien-19-al (92), 15-acetoxi-8,E-13-labdadien-19-ol (101), 15-acetoxi-8,E-13-labdadien-19,al (102), 8-E-13-labdadien-15,19-diacetato (103). As estruturas desses compostos foram confirmadas por interconversão ao diol (100), além de evidências espectroscópicas.

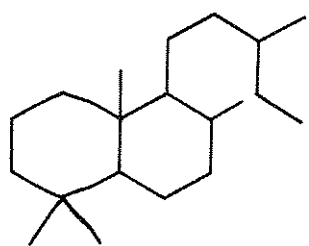


Os autores não excluíram a possibilidade de (99) ser formado por oxidação alílica de (98) pelo oxigênio do ar.

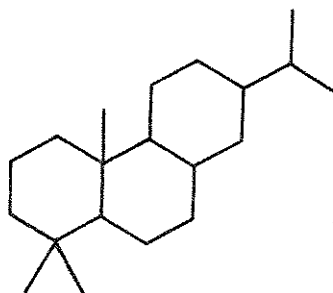
Nota-se, portanto, uma grande ocorrência de diterpenos, principalmente na resina, nas diversas espécies dos dois gêneros da família Araucariaceae: Agathis e Araucaria. Essas substâncias diterpênicas apresentaram esqueletos carbônicos dos tipos labdânico, abietânico, pimarânico e clerodânico (Quadro 1).

Quadro 1

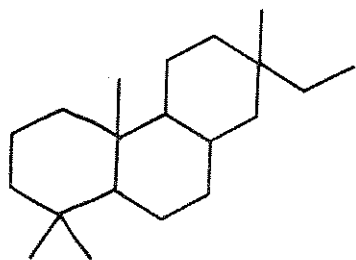
Tipos de esqueleto carbônico das substâncias
diterpênicas encontradas na família Araucariaceae:



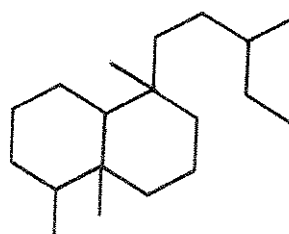
labdânico



abietânico



pimarânico



clerodânico

3. ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA: CONSTITUENTES DA CASCA

3. 1. Parte descritiva da planta

A Araucaria angustifolia O. Ktze. (sin. Araucaria brasili-
liana A. Rich.) é uma planta da divisão Gymnospermae, classe Coni-
feropsida, família Araucariaceae, gênero Araucaria, do qual só são
conhecidas duas espécies na América do Sul. A A. angustifolia ocor-
re em todo o sul do Brasil, especialmente no estado do Paraná, co-
mo indica sua denominação de "pinheiro do Paraná". Sua ocorrência
é também notada em pequena área do território de Misiones, na Ar-
gentina, onde é chamada "pino del Brasil". A outra espécie, Arauca-
ria imbricata Pav., tem seu habitat no sul do Chile e Argentina.

Segundo Joly,⁵⁹ as Araucarias são "plantas de sexo sepa-
rado. Flores femininas reunidas em grandes e densos estróbilos
com mais de duas centenas de flores. O óvulo nasce na axila de um
megaesporófilo pouco desenvolvido e é protegido por uma fôlha es-
téril, a escama de cobertura, que acaba envolvendo e encerrando o
óvulo fecundado, de tal sorte que o grande cone maduro é composto
por unidades isoladas, o chamado pinhão. Estróbilos masculinos
longos, onde cada microsporófilo transporta oito microsporângios a
longados".

A A. angustifolia é uma árvore de tronco reto, raramente
apresentando bifurcação, cuja altura média, na maturidade, varia
de 25 a 36 metros. A madeira, geralmente branca até os 20 anos de
idade, depois amarelo-clara, forma um cerne avermelhado nas árvo-

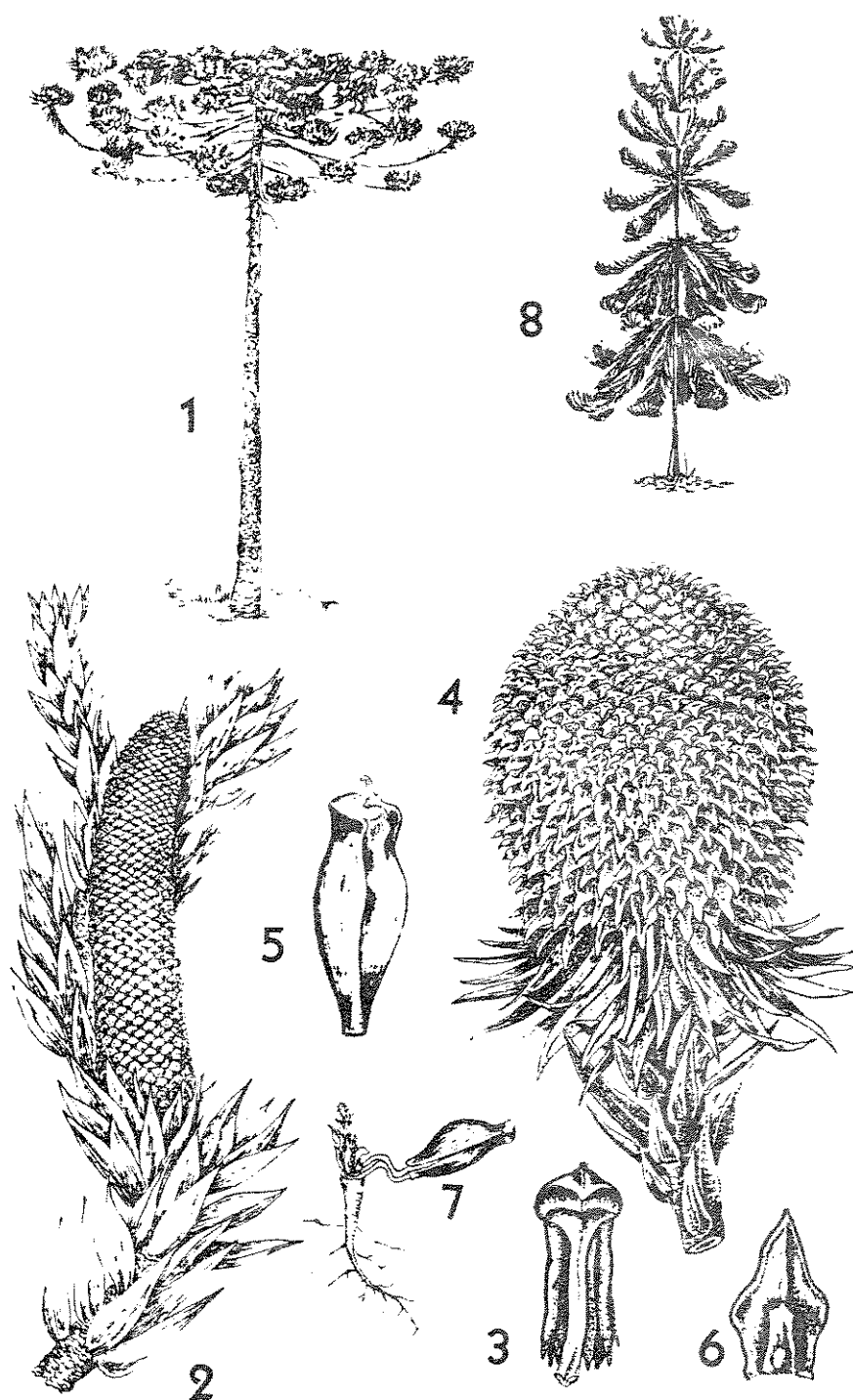


Fig. 1. 1. Aspecto geral de árvore de Araucaria angustifolia. 2. Estróbilo masculino. 3. Microsporófilo com 8 microspórângios. 4. Estróbilo feminino (pinha) jovem. 5. Semente (pinhão). 6. Megasporófilo com o óvulo e a grande escama de cobertura por trás. 7. Pinhão germinado. 8. Aspecto geral da planta jovem de A. excelsa.
Extraída de Joly.⁵⁹

res maduras. Nos pinheiros novos, o conjunto de galhos apresenta-se como um cone, mas nas árvores adultas a copa toma a forma de uma taça. Nos pontos de inserção dos ramos no tronco existe um material extremamente duro, chamado nã de pinho.

A casca é cinza-escura, espessa, de aspecto esponjoso, e varia de 2 a 15 cm conforme a idade. As folhas, incertas no tronco e densamente dispostas nos galhos, são oblongo-lanceoladas de pontas agudas. As sementes, ou pinhões, são comestíveis.

"A madeira é a mais importante do Brasil, pela abundância, preço e prestabilidade", de acôrdo com Rizzini,⁶⁰ e tem as mais variadas aplicações: compensados e laminados, caixotaria, embarcações leves, móveis, instrumentos musicais, fósforos, objetos escolares e de adorno e fabricação de pasta para papel.

O fracionamento do extrato benzênico da casca desta planta permitiu o isolamento de seis substâncias denominadas AA-5, AA-8, AA-25, AA-26, AA-29 e AA-31, além de vários compostos de cadeia longa.

3.2. Considerações estruturais

3.2.1. Compostos alifáticos de cadeia longa

Vários compostos alifáticos de cadeia longa foram isolados do extrato benzênico da casca da A. angustifolia. Esses constituintes, no entanto, não foram identificados, sendo-lhes atribuída apenas a designação dos grupos funcionais mais evidentes. Esta

Tabela I

Compostos alifáticos de cadeia longa			
Composto	IV $\nu_{\text{nujol max}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	RMP $\delta \text{ (CCl}_4\text{)}$	Caracterização parcial ^a
AA-1	725	1,25	hidrocarboneto
AA-2	1730, 1240, 1050, 725	1,25	éster
AA-3	3300, 725	1,25	álcool
AA-4	3300, 725	1,25	álcool
AA-6 ^b	3300, 725	1,25	álcool
AA-10	1740, 725	1,25	composto carbonílico
AA-11	3220, 725	1,25	álcool
AA-12	1700, 725	1,25	composto carbonílico
AA-13	1720, 720	1,25	composto carbonílico
AA-16	3220, 1710, 725	1,25	cetol
AA-20	3300, 725	1,25	álcool
AA-21	1710, 725	1,25	composto carbonílico

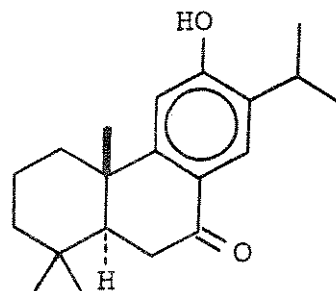
a) A caracterização parcial dos compostos mencionados no capítulo 3 desta tese foi baseada nas referências 61, 63 e 65.

b) AA-6 mostrou-se idêntico em todos os aspectos a AA-4.

AA-8 no espectrômetro de massa (fig. 8.5) foi análoga à do éter di metílico do pinoresinol.

3.2.4. AA-25

O ponto de fusão e os espectros de absorção no infra-vermelho (fig. 8.6) e de ressonância magnética protônica (fig. 8.7) de AA-25 foram idênticos aos de uma amostra autêntica de sugiol (104). A fragmentação de AA-25 no espectrometro de massa (fig. 8.8) mostrou-se análoga à do sugiol.



(104)

Além do correlacionamento espectroscópico, a identidade dos três compostos supra-citados foi confirmada pelo ponto de fusão misto e pela co-cromatografia em camada delgada, em vários eluentes.

3.2.5. AA-26

O composto cristalino AA-26, ponto de fusão 201-203°, apresentou peso molecular 334, obtido por espectrometria de massa (fig. 8.11).

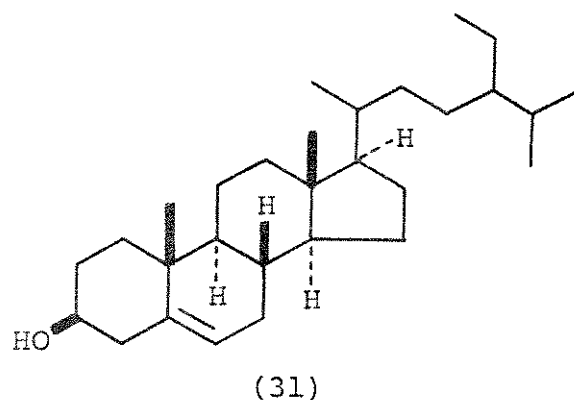
O espectro na região do infra-vermelho (fig. 8.9) mostrou bandas de absorção em 3400-2300 (-OH), 1685, 1255 ($\text{-}\overset{|}{\text{C}}=\overset{|}{\text{C}}\text{-COOH}$), 3070, 1635, 1415 e 895 (>C=CH_2) cm^{-1} , características de um ácido α - β insaturado, possuindo um grupo metilênico terminal.⁶¹ O espectro de

atribuição foi baseada nos espectros de infra-vermelho, ressonância magnética protônica e, em alguns casos, no espectro de massa desses compostos. As substâncias assim parcialmente caracterizadas estão relacionadas na Tabela I.

A fração denominada intermediária mostrou-se constituída quase que exclusivamente de compostos de cadeia longa. A fração neutra forneceu 11,81 g de AA-4 (álcool alifático de cadeia longa), componente principal do extrato benzênico da casca da A. angustifolia.

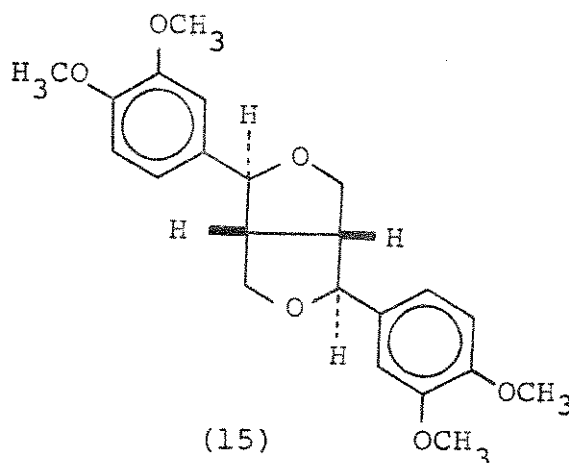
3.2.2. AA-5

AA-5 apresentou ponto de fusão e espectros de absorção no infra-vermelho (fig. 8.1) e ressonância magnética protônica (fig. 8.2) idênticos aos de uma amostra autêntica de β -sitosterol (31).



3.2.3. AA-8

A substância AA-8 mostrou ponto de fusão e espectros de absorção no infra-vermelho (fig. 8.3) e de ressonância magnética protônica (fig. 8.4) idênticos aos de uma amostra autêntica de éter dimetílico do pinoresinol (15). A fragmentação de



absorção no ultravioleta indicou uma banda em 218 nm ($10g \epsilon=4,1$), que confirmou a existência de um grupo carboxila α - β insaturado.⁶²

No espectro de ressonância magnética protônica (fig.8.10) foram observados os sinais em 0,90 (3H, banda simples), 1,35 (3H, banda simples) e 2,45 δ (3H, banda dupla, $J = 1\text{Hz}$), correspondentes a três grupos metila. Em 4,65 (1H), 5,00 (1H) e 6,15 δ (1H) foram notadas bandas simples, largas, devidas a três prótons olefínicos. Observou-se, ainda, uma banda larga em 10,30 δ (2H), que foi atribuída a prótons carboxílicos.

A existência de dois grupos carboxílicos foi reforçada pela obtenção do éster monometílico, AA-26Me (Esquema 1), pelo método clássico, utilizando-se metanol e ácido sulfúrico. AA-26Me apresentou no espectro na região do infra-vermelho (fig. 8.12) absorções correspondentes a um grupo carbonila de um éster (1725, 1230 e 1150 cm^{-1}) e a um grupo carbonila de um ácido (1690 e 1275 cm^{-1}). O espectro de ressonância magnética protônica de AA-26Me (fig. 8.13) mostrou uma banda simples em 3,70 δ (3H) e o espectro de massa (fig. 8.14) indicou peso molecular 348,2293, correspondente à fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_4$, confirmando a esterificação de apenas um grupo carboxílico.

A esterificação de AA-26Me, com diazometano em solução etérea (Esquema 1), levou ao éster dimetílico, AA-26diMe, cujo espectro na região do infra-vermelho (fig. 8.15), não apresentou as absorções típicas de grupos carboxílicos, mas permitiu visualizar uma banda um pouco larga na região de absorção de grupos carbonilas de ésteres (1720 cm^{-1}). O espectro de ressonância magnética

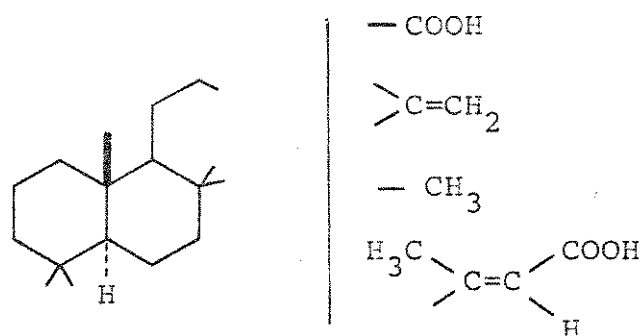
protônica (fig. 8.16) mostrou sinais em 3,65 (3H) e 3,70 δ (3H) pertencentes a dois grupos carbometoxílicos. A esterificação total foi ainda corroborada pelo espectro de massa (fig. 8.17) de AA-26diMe, cujo peso molecular encontrado foi 362,2462, correspondente à fórmula molecular $C_{22}H_{34}O_4$. A esterificação direta de AA-26 com excesso de diazometano forneceu um composto idêntico a AA-26diMe. AA-26 deve possuir, portanto, dois grupos carboxílicos.

Levando em consideração que o espectro na região do infra-vermelho de AA-26 (fig. 8.9) indicou a existência de um grupo metilênico terminal e um grupo carboxila conjugado a uma ligação dupla carbono-carbono, fez-se necessário o esclarecimento dessa conjugação, o que foi possível pela análise do espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8.10). Este espectro permitiu supor que os dois prótons olefínicos, cujos sinais aparecem em 4,65 e 5,00 δ , podem pertencer a um grupo metilênico terminal não conjugado, enquanto que o próton visualizado em 6,15 δ pode fazer parte de um sistema conjugado, pois está situado em campo relativamente baixo.⁶³ Isto sugeriu a existência de duas ligações duplas carbono-carbono.

Por outro lado, o sinal de um dos grupos metila (2,45 δ , d, J = 1Hz) apresenta-se em campo mais baixo que outros dois, indicando que o deslocamento pode ser devido a efeitos diamagnéticos anisotrópicos que ocorrem no plano de um sistema conjugado.⁶³ Assim, a dupla ligação carbono-carbono deste sistema, parece conter um próton (6,15 δ) e um grupo metila (2,45, d, J = 1Hz). O pequeno desdobramento do grupo metila (observado nos espectros de resso

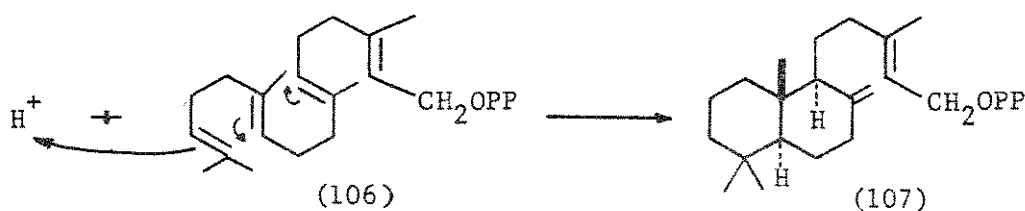
nância magnética protônica de AA-26 e de seus derivados), sugere um acoplamento alílico dos prótons do grupo metila com o próton olefínico, localizado em posição trans.^{64, 65}

Os dados espectroscópicos obtidos, as indicações encontradas sobre a biogênese de diterpenos⁶⁶(*) e a ocorrência predominante destes compostos - especialmente os bicíclicos - nas espécies estudadas do gênero Araucaria, permitiram a proposição da estrutura parcial 105 para AA-26.



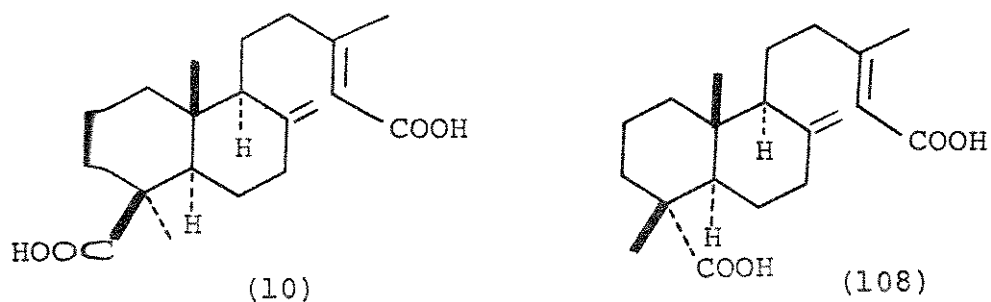
(105)

(*) A biogênese dos diterpenos bicíclicos a partir do geranilgeranilpirofosfato (106) é iniciada pela protonação da dupla ligação da unidade isopropilidênica inicial, considerando-se a regra do isopreno, para dar um intermediário com esqueleto labdânico (107).⁶⁶



Modificações posteriores do labdadieno podem levar a compostos com as características de AA-26.

As alternativas para a estrutura parcial 105 foram, desta maneira, limitadas a 10 e 108 e seus antípodas ópticos.



Na esterificação de AA-26 com metanol e ácido sulfúrico houve reação preferencial de um dos grupos carboxila. Isto permitiu supor que a posição destes grupos na molécula devia ser bem diferente para permitir tal seletividade. Examinando-se a estereoquímica de 10 e 108 verificamos que a estrutura 10 é a que apresenta tal situação, pois o grupo carboxila de C₄ está em posição (axial) bem menos favorável à esterificação do que o grupo carboxila da cadeia lateral (10a e 108a).

Por outro lado, comparando-se o espectro de ressonância magnética protônica de AA-26, em piridina deuterada e clorofórmio deuterado, Tabela II, pode-se notar um acentuado efeito de solvente (0,30 ppm) no grupo metila em 0,90 δ, indicando uma interação 1,3-diaxial entre este grupo e o grupo carboxila.⁶⁷

As informações obtidas para AA-26 concordaram em todos os aspectos com os dados mencionados na literatura^{27, 29, 68} para o â-

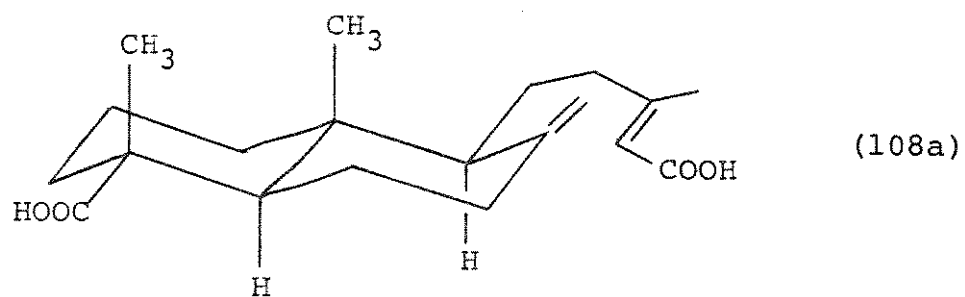
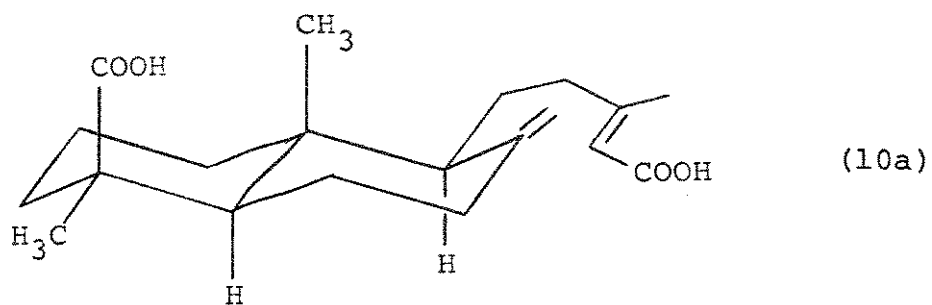
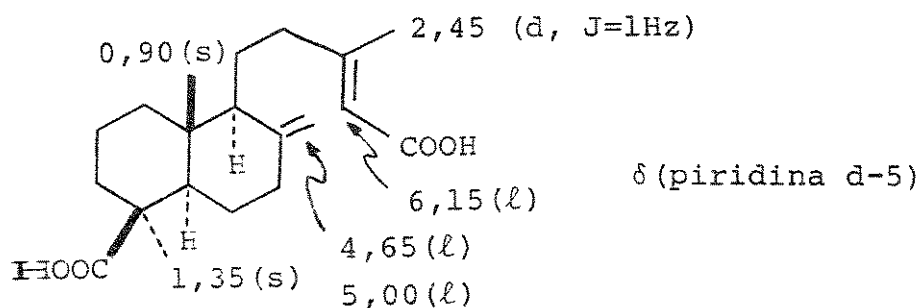


Tabela II

Deslocamentos químicos de AA-26 (δ)		
Piridina d-5	CDCl_3	Δ (ppm)
0,90 (s, 3H)	0,60 (s, 3H)	0,30
1,35 (s, 3H)	1,25 (s, 3H)	0,10
2,45 (d, 3H, $J=1\text{Hz}$)	2,15 (d, 3H, $J=1\text{Hz}$)	0,30
4,65 (l, 1H)	4,50 (l, 1H)	0,15
5,00 (l, 1H)	4,85 (l, 1H)	0,15
6,15 (l, 1H)	5,60 (l, 1H)	0,45

cido agático (10). Seu espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8.11) pode ser interpretado da seguinte maneira:

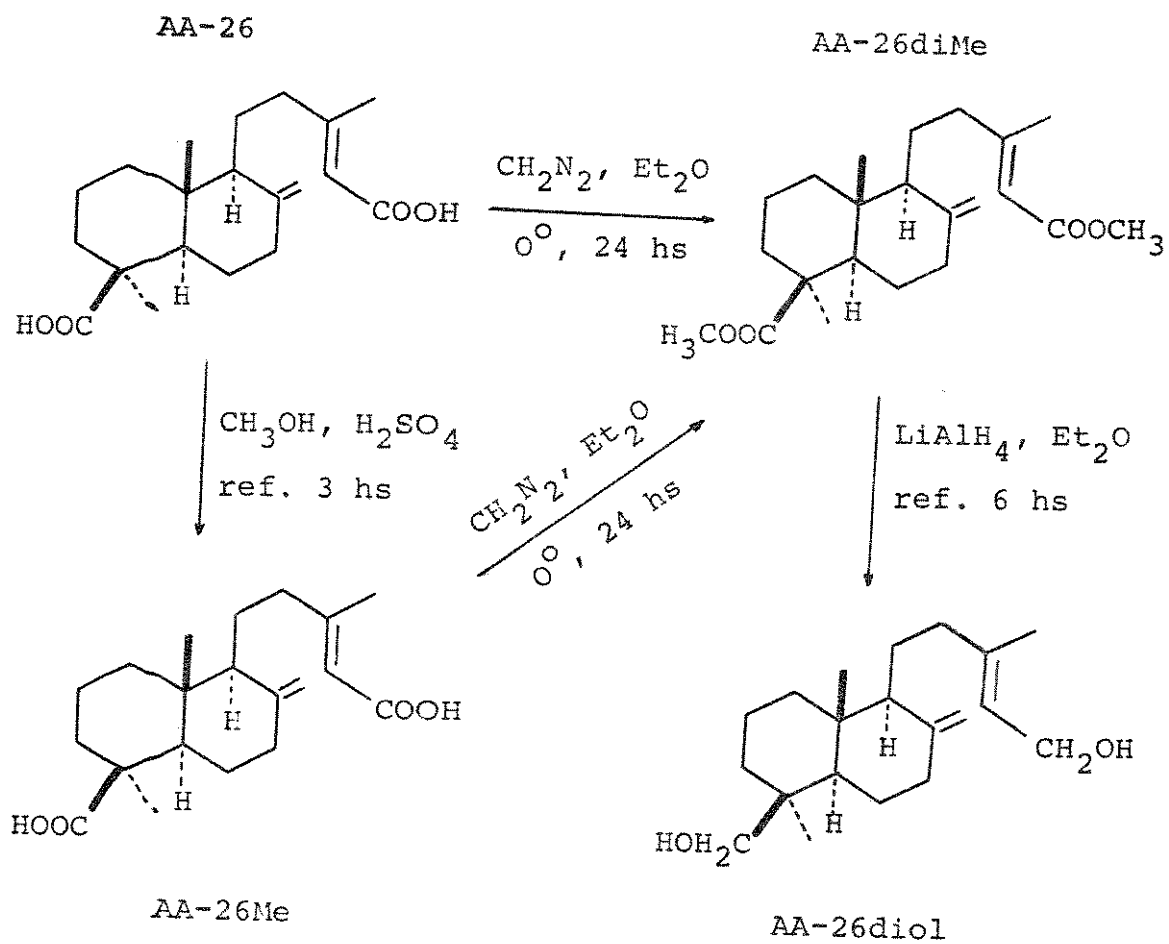


A identidade entre AA-26 e o ácido agático foi ainda evidenciada pela redução de AA-26diMe a AA-26diol (Esquema 1). O ponto de fusão, a rotação óptica e os dados espectroscópicos de AA-26diol (Tabela III e fig. 8.18, 19 e 20) estão plenamente de acordo com os do diol proveniente do agatato de dimetila (81), o agatadiol (95). ^{27,29,45,68}

3.2.6. AA-29

A substância cristalina AA-29, ponto de fusão 183-184°, mostrou no espectro de massa (fig. 8.23) pico molecular em m/e 320.

O espectro na região do infra-vermelho (fig. 8.21) apresentou absorções em 3280, 1040 (-OH), 3500-2400, 1680, 1250 (>C=C-COOH), 3075, 1655 e 905 (>C=CH_2) cm^{-1} que permitiram supor que AA-29 era um ácido α,β -insaturado, que possuía um grupo metilênico terminal e uma hidroxila que parecia ser primária. A existência do grupo carboxila α,β -insaturado foi confirmada pelo espectro de absorção no ultravioleta, que exibiu uma banda em 218 nm ($\log \epsilon=4,1$). ⁶²

Esquema 1

AA-26 e derivados.

Tabela III

Deslocamentos químicos (δ) de AA-26 e derivados				
Prótons	AA-26 (piridina-d5)	AA-26Me (CDCl ₃)	AA-26diMe (CDCl ₃)	AA-26diol (CDCl ₃)
C ₁₀ -CH ₃	0,90 (s)	0,60 (s)	0,55 (s)	0,65 (s)
C ₄ -CH ₃	1,35 (s)	1,15 (s)	1,20 (s)	1,00 (s)
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{COOR} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	2,45 (d) (J=1Hz)	2,15 (d) (J=1Hz)	2,15 (d) (J=1Hz)	1,70 (l)
-COOCH ₃	-	3,70 (s)	3,65 (s) 3,70 (s)	-
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	4,65 (l) 5,00 (l)	4,50 (l) 4,90 (l)	4,55 (l) 4,90 (l)	4,50 (l) 4,85 (l)
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{COOR} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	6,15 (l)	5,65 (l)	5,70 (l)	5,35 (tl) (J=7Hz)
C ₄ -CH ₂ OH	-	-	-	3,55 (qAB) (J=11Hz)
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_2\text{OH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C}=\text{C} \\ / \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	-	-	-	4,10 (d) (J=7Hz)
-OH	-	-	-	1,50 (s)

O espectro de ressonância magnética protônica em piridina deuterada (fig. 8.22) mostrou, como os espectros na região do infra-vermelho e ultravioleta, certas semelhanças com o do ácido agático (AA-26) - Tabela IV - excetuando-se a banda quádrupla em $3,80 \delta$ ($2H$, $J = 11\text{Hz}$). O sinal desta banda em CDCl_3 foi registrado em $3,55 \delta$. Os sinais observados em $0,75$ (s, $3H$), $1,20$ (s, $3H$) e $2,40 \delta$ ($3H$, d, $J = 1\text{Hz}$) foram atribuídos a três grupos metilas e as bandas simples, largas, apresentadas em $4,60$ ($1H$), $4,95$ ($1H$) e $6,15 \delta$ ($1H$), foram correlacionadas a três prótons olefínicos. Em virtude dessas semelhanças supuzemos que AA-29 podia possuir esqueleto carbônico diterpênico similar ao do ácido agático.

A esterificação com diazometano em solução etérica (Esquema 2) forneceu o éster metílico, AA-29Me, conforme indicaram as absorções em 1710 e 1230 cm^{-1} , observadas no espectro de absorção no infra-vermelho (fig. 8.24), e a banda simples registrada em $3,65 \delta$ no espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8.25). O peso molecular $334,2502$, obtido através do espectro de massa (fig. 8.26), correspondente à fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_3$, confirmou as indicações acima.

O acetato de AA-29, AA-29Ac (Esquema 2), apresentou no espectro de absorção no infra-vermelho (fig. 8.27) bandas provenientes de dois grupos carbonila: de um acetato (1770 e 1245 cm^{-1}) e de um ácido (1680 cm^{-1}).

O espectro de ressonância magnética protônica de AA-29Ac (fig. 8.28), em CDCl_3 , permitiu a visualização do sinal correspon-

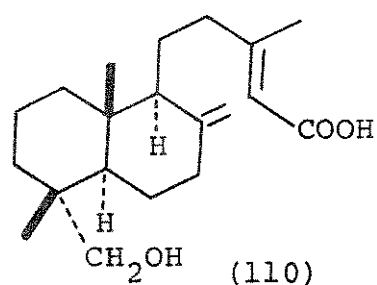
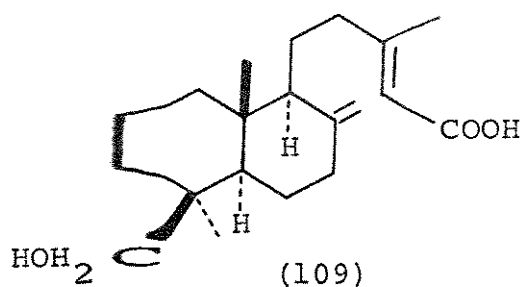
Tabela IV

Deslocamentos químicos $[(\delta) \text{ pi-d5}]$	
AA-26	AA-29
0,90 (s, 3H)	0,75 (s, 3H)
1,35 (s, 3H)	1,20 (s, 3H)
2,45 (d, 3H, J=1Hz)	2,40 (d, 3H, J=1Hz)
4,65 (l, 1H)	4,60 (l, 1H)
5,00 (l, 1H)	4,95 (l, 1H)
6,15 (l, 1H)	6,15 (l, 1H)
	3,80 (q, 2H, J=11Hz)

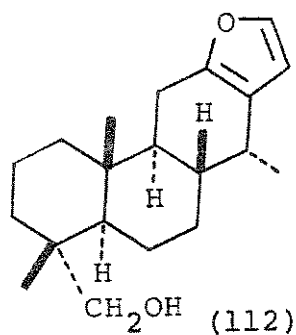
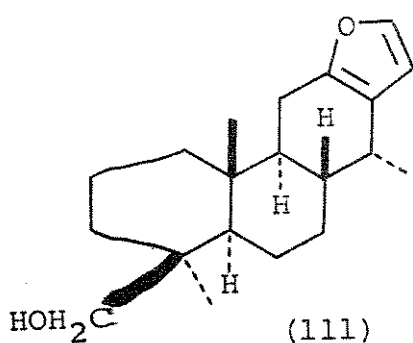
dente a um grupo acetato em 2,15 δ (s, 3H) e o deslocamento da banda quádrupla (2H, J=11Hz), antes observada em 3,55 δ , para 4,00 δ . Este deslocamento sugeriu que a banda quádrupla era devida aos prótons de carbono adjacente ao grupo acetato.⁶⁹ A banda múltipla em questão podia ser, portanto, o sinal dos prótons de um grupo metilênico (a integração indicou apenas dois prótons) que estivesse ligado a um carbono assimétrico ou cuja rotação estivesse restringida devido à estereoquímica da molécula. Os dois prótons constituiriam, assim, um sistema AB cujo sinal é uma banda quádrupla.⁷⁰ AA-29 deve possuir, portanto, uma hidroxila primária.

Em face da similaridade espectroscópica entre o ácido agáutico e AA-29 e das informações obtidas, as estruturas prováveis pa

ra AA-29 foram limitadas a 109 e 110.

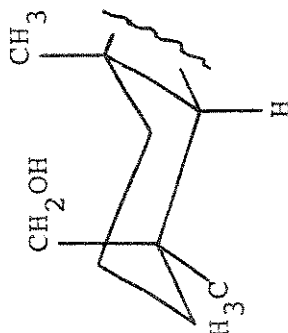
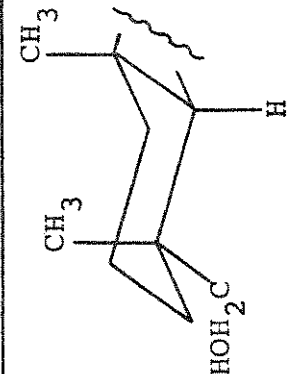


Examinando novamente a banda quádrupla metilênica centrada em 3,65 ($J = 11\text{Hz}$) e comparando as medidas encontradas por Wenkert e Beak⁶⁹ para o vouacapenol (111) e o vinhaticol (112) - Tabela V - podemos eliminar a estrutura 110. Portanto, AA-29 deve possuir um grupo hidroximetílico em posição axial, como o da estrutura 109.



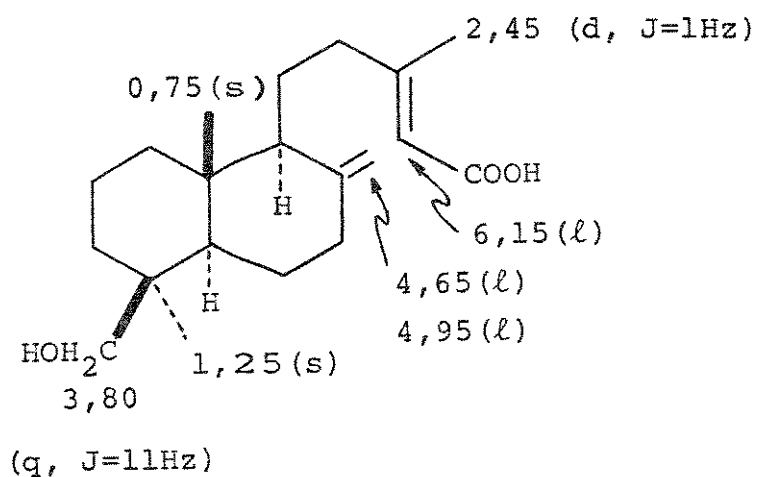
Os prótons de C_{19} apresentam deslocamentos químicos diferentes devido a restrição na rotação sobre a ligação C_4-C_{19} .⁷¹

Tabela V

Composto	Deslocamento químico* (δ)	Estrutura parcial
vousacapenol (111)	3,60 (q, J = 10,9Hz)	
vinhaticol (112)	3,25 (q, J = 10,2Hz)	
AA-29	3,55 (q, J = 11Hz)	

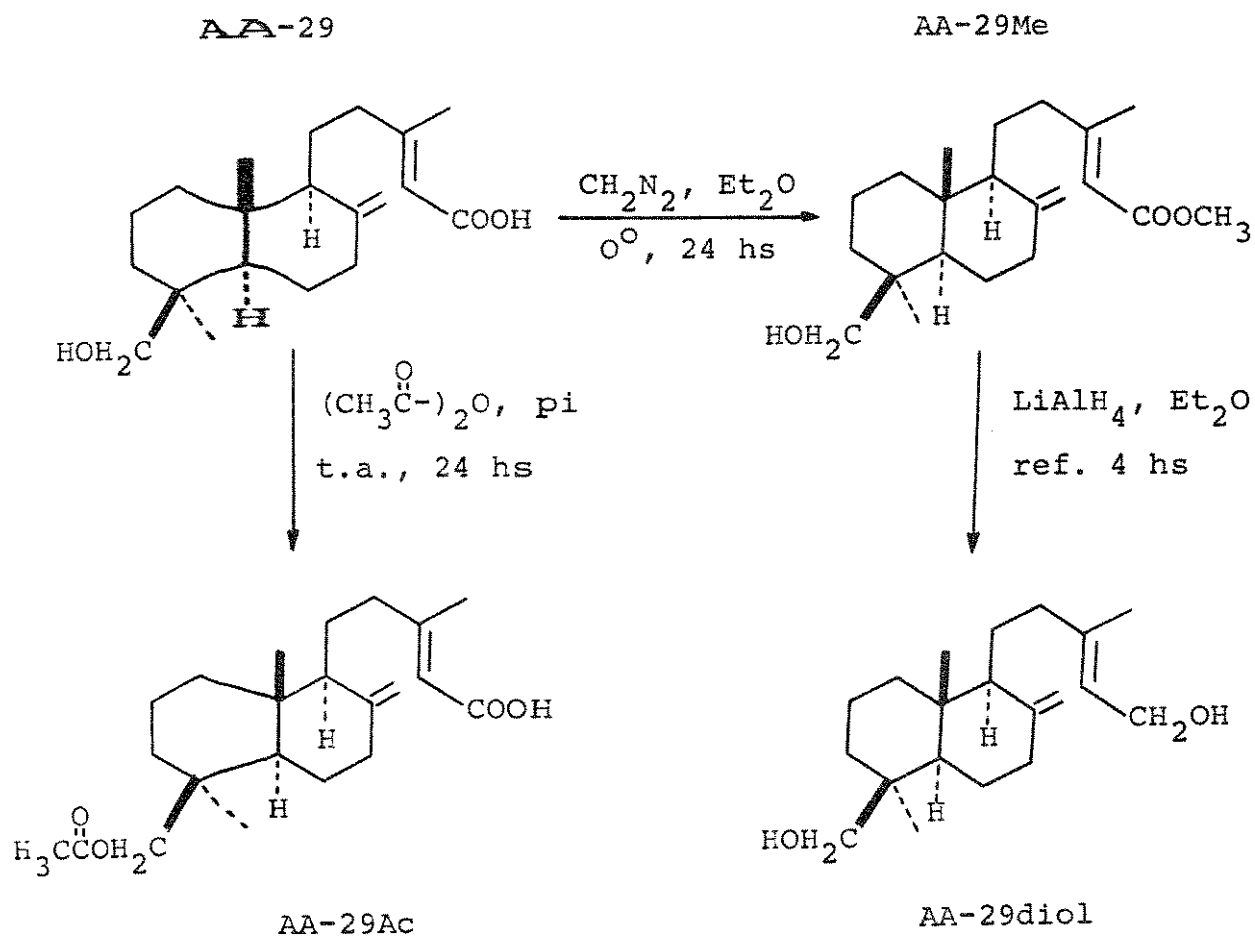
* CDCl₃

Os dados obtidos para AA-29, Tabela VI, estão de acordo com os existentes na literatura para o ácido agatólico (109).^{45,72} O espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8.22) deste composto pode ser interpretado da maneira a seguir:



δ (piridina d-5)

Uma evidência adicional para a confirmação da identidade entre AA-29 e o ácido agatólico foi a redução de AA-29Me a AA-29 diol (Esquema 2), composto idêntico ao agatadiol [AA-26diol (95)], obtido também a partir do ácido agático [AA-26 (10)].

Esquema 2

AA-29 e derivados

Tabela VI

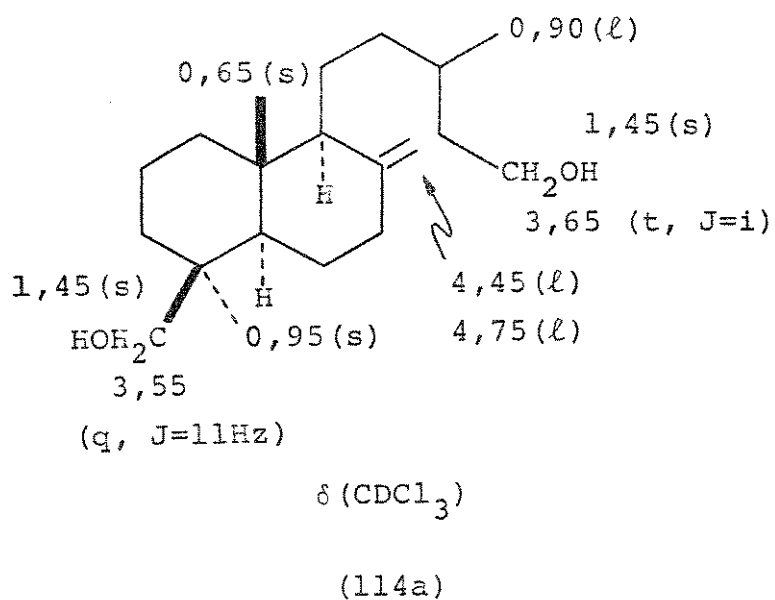
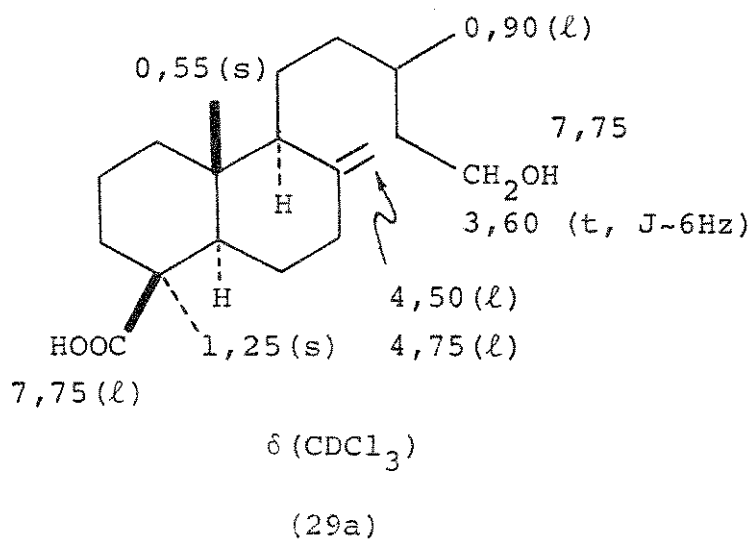
Deslocamentos químicos de AA-29 e derivados				
Prótons	AA-29 (piridina-d5)	AA-29Me (CDCl ₃)	AA-29Ac (CDCl ₃)	AA-29diol AA-26diol (CDCl ₃)
C ₁₀ -CH ₃	0,75 (s)	0,70 (s)	0,70 (s)	0,65 (s)
C ₄ -CH ₃	1,20 (s)	1,00 (s)	0,95 (s)	1,00 (s)
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{COOR} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	2,40 (d) (J=1Hz)	2,20 (d) (J=1Hz)	2,15 (l)	1,70 (s)
-CH ₂ OCOCH ₃	-	-	2,05 (s)	-
-CH ₂ OCOCH ₃	-	-	4,05 (qAB) (J=11Hz)	-
-COOCH ₃	-	3,70 (s)	-	-
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	4,60 (l) 4,95 (l)	4,50 (l) 4,85 (l)	4,50 (l) 4,85 (l)	4,50 (l) 4,85 (l)
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{COOR} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	6,15 (l)	5,65 (l)	5,65 (l)	5,35 (tl) (J~7Hz)
C ₄ -CH ₂ OH	3,80 (qAB) (J=11Hz)	3,55 (qAB) (J=11Hz)	-	3,55 (qAB) (J=11Hz)
$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_2\text{OH} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \end{array}$	-	-	-	4,10 (d) (J=7Hz)
-OH	-	-	-	1,50 (s)

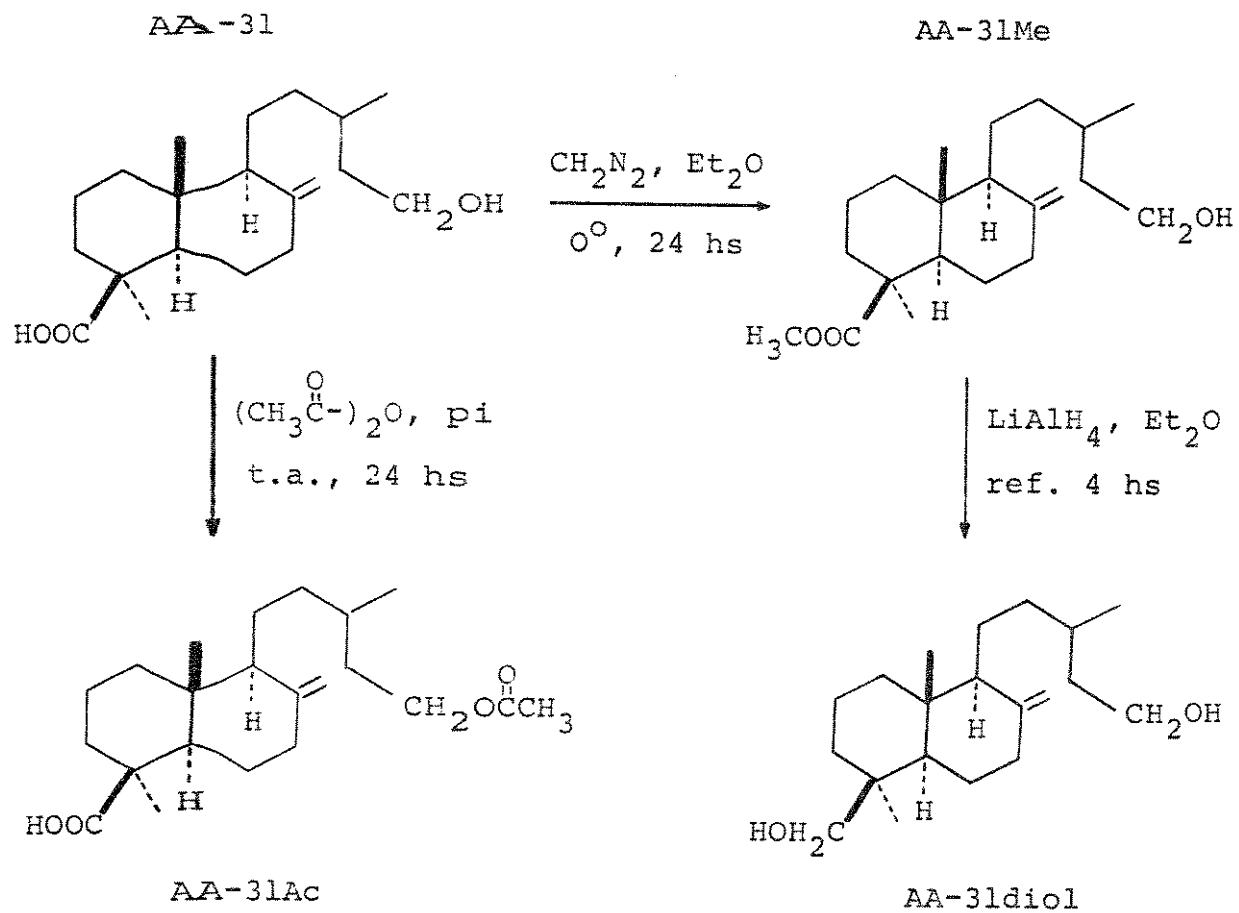
AA-31

A substância AA-31, de larga faixa no ponto de fusão ($52-60^{\circ}$), mostrou no espectro de absorção no infra-vermelho (fig. 8.29) bandas características de um ácido ($3220-2500$, 1700 e 1265 cm^{-1}), contendo um grupo metilênico terminal (3080 e 890 cm^{-1}). A banda larga em 3400 cm^{-1} sugeriu a existência de um grupo hidroxila. Esta observação foi reforçada pelo espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8.30) que apresentou uma banda larga em $7,75\delta$ (2H), indicando a possibilidade de uma rápida troca química entre os prótons de um grupo carboxila e um grupo hidroxila.⁷³ Neste espectro foram também registrados sinais correspondentes a três grupos metila em $0,55$ (banda simples, 3H), $0,90$ (banda larga, 3H) e $1,25\delta$ (banda simples, 3H). Além de uma banda tríplice em $3,60\delta$ (J=6Hz, 2H), foram observadas duas bandas simples, largas, em $4,50$ (1H) e $4,75$ (1H), região típica de prótons olefínicos. O espectro de massa de AA-31 (fig. 8.31) apresentou pico molecular em m/e 322.

A acetilação de AA-31 (Esquema 3) forneceu AA-31Ac, em cujo espectro de absorção no infra-vermelho (fig. 8.32) foi notada a ausência da banda larga em 3400 cm^{-1} . Foi observada, entretanto, mais uma absorção forte na região de grupos carbonila (1740 cm^{-1}) e uma banda em 1240 cm^{-1} , corroborando a obtenção do acetato. O espectro de ressonância magnética protônica (fig. 8.33) apresentou uma banda simples em $2,05\delta$ (3H) e o deslocamento da banda tríplice para $4,05\delta$ (2H). Isto indicou que um grupo metilênico adjacente a um

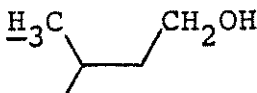
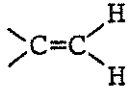
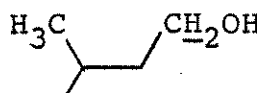
Os espectros de ressonância magnética protônica do ácido imbricatólico (fig. 8.32) e do imbricatadiol (fig. 8.39), cujos dados estão dispostos na tabela VII, podem ser interpretados da maneira seguinte (29a e 114a):



Esquema 3

AA-31 é derivados.

Tabela VII

Deslocamentos químicos (δ) de AA-31 e derivados				
Prótons	AA-31 (CDCl ₃)	AA-31Me (CDCl ₃)	AA-31Ac (CDCl ₃)	AA-31diol (CDCl ₃)
C ₁₀ -CH ₃	0,55 (s)	0,55 (s)	0,60 (s)	0,65 (s)
	0,90 (l)	0,95 (l)	0,90 (l)	0,90 (l)
C ₄ -CH ₃	1,25 (s)	1,25 (s)	1,25 (s)	0,95 (s)
-CH ₂ OCOCH ₃	-	-	2,05 (s)	-
-CH ₂ OCOCH ₃	-	-	4,05 (tl) (J~6Hz)	-
-COOCH ₃	-	3,60 (s)	-	-
	4,50 (l) 4,75 (l)	4,50 (l) 4,85 (l)	4,45 (l) 4,80 (l)	4,45 (l) 4,75 (l)
C ₄ -CH ₂ OH	-	-	-	3,55 (qAB) (J=11Hz)
	3,60 (t) (J~6Hz)	3,80 (t) (J=8Hz)	- -	3,65 (t) (J=i) *
-OH	7,75 (l) **	-	-	1,45 (s)

* i = indeterminado

** -OH, -COOH

4. ALGUMAS CONSIDERAÇÕES BIOQUIMIOTAXONÔMICAS

Observa-se nos dois gêneros da família Araucariaceae uma incidência muito grande de diterpenos.

No gênero Agathis, ao lado de compostos bicíclicos com esqueleto labdânico, são igualmente encontrados diterpenos tricíclicos do tipo abietânico ou pimarânico (Quadro 1). A única espécie que apresentou compostos fenólicos do tipo do agataresinol (48) foi a Agathis australis, a espécie mais estudada.

Aliás, as resinas do gênero Agathis estão sendo estudadas minuciosamente, para que os resultados obtidos possam ser utilizados na reclassificação de algumas espécies deste gênero. Na classificação anterior ficaram algumas lacunas, de maneira que existem vários trabalhos onde a mesma espécie parece ter recebido denominações diferentes.^{4 6}

Nas espécies do gênero Araucaria, os diterpenos bicíclicos do tipo labdânico são mais abundantes, ao passo que os tricíclicos são raros. Substâncias do tipo labdânico com um grupo hidroxila em C₃ foram encontradas apenas na Araucaria imbricata, e com um grupo hidroxila em C₁₃, somente na A. cooki. A Araucaria bidwilli foi a única espécie a apresentar diterpenos bicíclicos com esqueleto clerodânico (Quadro 1) e substâncias do tipo enantio-labdânico.

A Araucaria angustifolia mostrou entre seus constituintes um composto do tipo abietânico - sugiol (106) - e três ácidos resínicos com esqueleto labdânico: ácidos agático (10), agatólico

(108) e imbricatólico (29). Substâncias do tipo lignóide, como o pinoresinol (14) e seu éter dimetílico (15), foram encontradas exclusivamente nesta planta.

Os ácidos resínicos se situam entre as substâncias produzidas em grande escala por várias famílias de plantas. Além de conceder uma propriedade coesiva às fibras vegetais, esses ácidos, principalmente os fenólicos, possuem uma ação antibiótica moderada e preservam as plantas do apodrecimento pelo ataque de micróbios. É possível que a cobertura resinosa de certas plantas que apresentem substâncias diterpênicas também sirva para protegê-las contra predadores.^{74, 75}

Gilbert e colaboradores⁷ verificaram que os extratos hexânicos de diversas coníferas conferiam proteção contra cercárias de Schistosoma mansoni, após a aplicação desses extratos à pele de animais de laboratório. Os autores sugeriram, após testarem também várias substâncias puras, que a proteção era devida à presença de ácidos diterpênicos.

Realmente, apenas a fração ácida do extrato benzênico da casca da Araucaria angustifolia apresentou atividade tópica contra a penetração de cercárias (V. Ensaio biológico). Os principais componentes ácidos, diterpenos, estão sendo testados.

Se positivos, os resultados destes testes serão uma evidência adicional da atividade tópica de ácidos diterpênicos contra a penetração de cercárias de Schistosoma mansoni.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. Materiais e métodos

1) As cromatografias em coluna foram feitas utilizando-se sílica gel (0,05-0,20 mm) ou óxido de alumínio neutro atividade I da Merck A.G. Darmstadt, Alemanha. O diâmetro e o comprimento das colunas de vidro utilizadas variaram de acordo com a quantidade de adsorvente utilizado.

2) As colunas foram preparadas fazendo-se uma suspensão do adsorvente no solvente inicial de eluição, introduzindo-se esta suspensão na coluna e deixando-se o solvente correr até sedimentação total do adsorvente. O material a ser cromatografado era então misturado com a quantidade necessária de adsorvente e introduzido na coluna.

3) A eluição foi feita com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade, coletando-se frações de 50 a 200 ml que foram, em seguida, evaporadas a vácuo num evaporador rotativo. O controle das frações foi feito pelo seu peso e por cromatografia em camada delgada. As frações semelhantes, de acordo com a cromatografia em camada delgada, foram combinadas.

4) As cromatografias em camada delgada foram feitas utilizando-se sílica gel G ou GF 254 Merck A.G. suspensa em água destilada e distribuída em camada de 0,25 mm sobre placas de 5 x 20 cm, 10 x 20 cm ou 20 x 20 cm, utilizando-se um aparelho Quickfit. Essas cromatografias foram reveladas utilizando-se uma lâmpada ultravioleta GELMAN-CAMAG (254 nm) ou iodo ressublimado.

5) Os reagentes e solventes utilizados foram produtos analiticamente puros das marcas Baker, Fisher, Merck, Carlo Erba e Ki-Kion.

6) Os compostos isolados foram purificados por cristalização, ou cromatografia em coluna, até a cromatografia em camada delgada mostrar uma só mancha em vários eluentes e/ou o ponto de fusão um intervalo máximo de 2° .

7) Os pontos de fusão foram determinados em placa de aquecimento, segundo Kofler, instalada em um microscópio Reichert e não sofreram correções.

8) As rotações ópticas foram determinadas em etanol ou clorofórmio, utilizando-se um polarímetro fotoelétrico da Carl Zeiss (precisão $0,005^{\circ}$).

9) Os espectros de absorção no infra-vermelho (IV) foram feitos em filme da substância triturada com nujol, da substância pura ou da substância contendo tetracloreto de carbono, sobre placas de NaCl, em um instrumento Perkin-Elmer modelo 337. Foram utilizadas como referência as absorções em 1601 e 1028 cm^{-1} de um filme de poliestireno.

10) Os espectros de absorção no ultravioleta foram feitos em um instrumento DMR-21, Carl Zeiss, utilizando-se como solvente clorofórmio ou etanol.

11) Os espectros de ressonância magnética protônica (RMP) foram obtidos em um instrumento da Varian Associates, modelo T-60, à temperatura ambiente. Os solventes utilizados na obtenção desses espectros foram tetracloreto de carbono, clorofórmio deuterado

ou piridina deuterada, usando-se tetrametilsilano como referência interna. Os deslocamentos químicos foram registrados em unidades δ (ppm) e as constantes de acoplamento em Hz. As letras s, d, t, q, m e l foram utilizadas para designar bandas simples, duplas, triplas, quádruplas, múltiplas e largas, respectivamente.

12) Os pesos moleculares com aproximação de quatro decimais e os espectros de massa de algumas substâncias foram obtidos em instrumentos CH-7, da Varian Associates, e MS-9, da Associated Electrical Industries Ltd., por gentileza do Prof. Ernest Wenkert, da Universidade de Rice, E.U.A.. Os demais espectros foram obtidos em um instrumento 1015/SL, da Finnigan.

5.2. Coleta da casca

A casca da Araucaria angustifolia O. Ktze. foi coletada no município de Piraquara, Estado do Paraná, em julho, secada ao ar e, posteriormente, em estufa a 40°.

5.3. Extração

A casca foi cortada em pequenos pedaços e moída em um moinho Wiley, resultando um material similar à serragem. A casca moída (39,5 kg) foi colocada em porções de 2,0 kg, em um extrator tipo Soxhlet, e extraída durante 24 horas com benzeno (7,0 l). Pela evaporação do solvente a vácuo, em um evaporador rotativo, foram obtidos 721,4 g (1,8% do peso da casca) de um óleo viscoso marrom escuro que foi denominado extrato bruto.

5.4. Fracionamento do Extrato Bruto da Casca

O extrato bruto (721,4 g) foi dissolvido em 3,0 l de he-

xano obtendo-se um resíduo de 64,4 g constituído, na sua maior parte, de material polimérico da casca. A solução de hexano foi agitada durante meia hora, à temperatura ambiente, num funil de separação, com uma solução aquosa de hidróxido de potássio a 5%. Após repouso, três fases ficaram definidas e foram separadas: uma fase de hexano, uma intermediária (emulsão) e uma terceira, aquosa.

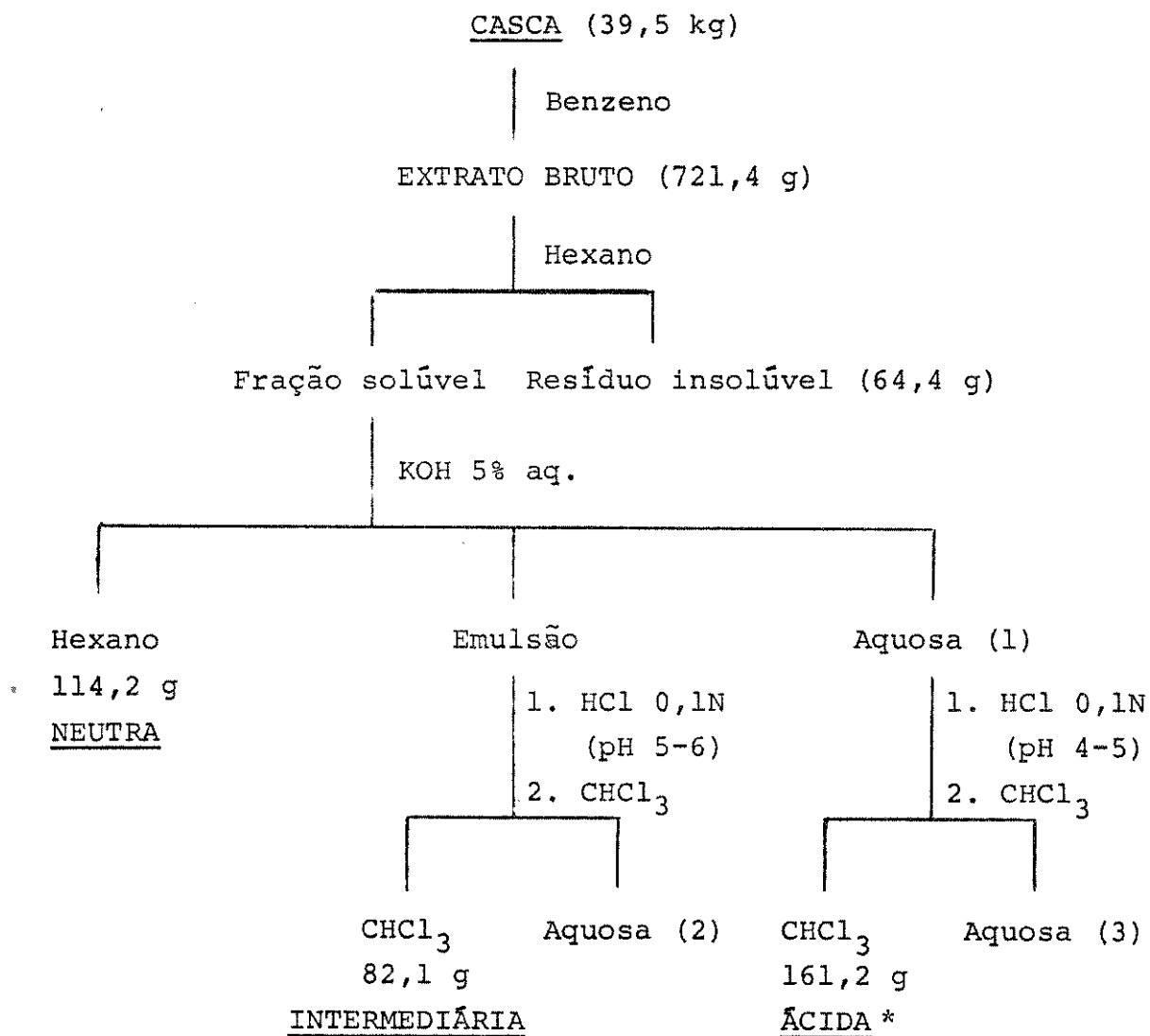
O material neutro, ou seja, a fase de hexano, foi lavado com água destilada e secado com sulfato de sódio anidro, recebendo a denominação de fração neutra.

A emulsão, após várias tentativas infrutíferas de separação, foi acidificada com ácido clorídrico 0,1 N até um pH 5-6 e submetida à extração com clorofórmio. As fases foram separadas e a orgânica foi lavada com água destilada e secada com sulfato de sódio anidro, recebendo a denominação de fração intermediária, sendo a fase aquosa desprezada.

A fase aquosa, da primeira separação, foi acidificada com ácido clorídrico 0,1 N até pH 4-5 (papel universal Merck) e submetida à extração com clorofórmio. As fases foram separadas e a de clorofórmio foi lavada com água destilada e secada com sulfato de sódio anidro, sendo denominada fração ácida, enquanto que a aquosa foi desprezada.

Os solventes das fases orgânicas foram removidos por evaporação a vácuo, em um evaporador rotativo, obtendo-se 114,2 g de fração neutra (0,3%), 82,1 g de fração intermediária (0,2%) e 161,2 g de fração ácida (0,4%, considerando-se o peso da casca).

Estas operações estão resumidas no Esquema 4.

Esquema 4

- * A fração ácida apresentou atividade tópica contra a penetração de cercarias de Schistosoma mansoni. Os testes em camundongos, similares aos efetuados por Gilbert e colaboradores, foram realizados pelo Prof. Dr. José Pellegrino, Divisão de Imunologia e Biologia Parasitária, Faculdade de Filosofia, Universidade Federal de Minas Gerais (V. Ensaio biológico).

5.5. Isolamento dos Constituintes

5.5.1. Fração Neutra

O material neutro (80,51g), de cor avermelhada e aspecto pastoso, foi fracionado em coluna (ϕ = 6,0 cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (1000 g) - Tabela VIII. Foram coletadas 125 frações de 200 ml. Os eluentes foram evaporados e os resíduos pesados, sendo a quantidade total de material recuperado 69,41 g.

As frações combinadas 1/2 (3,98 g) foram precipitadas com acetona, separadas das águas-mães e recristalizadas várias vezes de éter-acetona até a obtenção de um composto de ponto de fusão 58-60°, que foi denominado AA-1 (0,85 g).

As frações 4/11 (8,11 g) foram cristalizadas diversas vezes de éter-acetona obtendo-se uma substância que fundia a 62-64°, denominada AA-2 (4,17 g).

Após diversas cristalizações, utilizando-se acetona, as frações 47/59 (6,20 g) forneceram uma substância de ponto de fusão 78-80°, denominada AA-3 (1,56 g).

As frações 65/78 (19,05 g) foram cristalizadas diversas vezes de benzeno-éter até a obtenção de uma substância de ponto de fusão 80-82°, denominada AA-4 (11,81 g).

A cristalização das frações 82/95 (5,06 g), de éter-metanol, permitiu a obtenção de um composto cristalino que fundia a 136-138° (1,07 g), denominado AA-5.

Cromatografia das frações 79/81

As frações 79/81, Tabela VIII, mostraram duas manchas bem definidas, além de várias manchas difusas, na cromatografia em camada fina. As tentativas de cristalização não foram bem sucedidas, obtendo-se um material branco que continuou a mostrar várias manchas na cromatografia em placa. As frações 79/81 (4,83 g) foram então cromatografadas em coluna (ϕ = 3,5 cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (200 g) - Tabela IX. Foram coletadas 105 frações de 125 ml. Os eluentes foram evaporados e os resíduos pesados, sendo recuperados 4,13 g do material inicial.

As frações 49/56 (0,32 g) foram cristalizadas diversas vezes de benzeno-éter até a obtenção de um composto de ponto de fusão 80-82° (220 mg), denominado AA-6.

Após algumas cristalizações de éter-metanol, as frações 71/77 (0,71 g) forneceram uma substância cristalina de ponto de fusão 136-138° (290 mg), denominada AA-7.

O composto cristalino AA-8 (370 mg) de ponto de fusão 107-109°, foi obtido das frações 100/103 (0,45 g) depois de várias cristalizações de éter-acetona.

A cromatografia ou a cristalização das demais frações não conduziu ao isolamento de substâncias puras.

5.5.2. Fração Intermediária

O material sólido marrom-claro, denominado fração inter-

mediária (51,68 g), foi submetido à cromatografia em coluna (ϕ i = 6,0 cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (800,0 g) - Tabela X - sendo coletadas 120 frações de 200 ml. Após a evaporação dos eluentes, os resíduos foram pesados e a quantidade total recuperada foi 40,52 g.

A cristalização das frações 10/11 (0,65 g), usando-se acetona, forneceu 80 mg de uma substância, denominada AA-10, de ponto de fusão 80-82°.

As frações 39/47 (5,49 g) foram cristalizadas várias vezes de éter etílico obtendo-se um composto que fundia a 82-83° (3,09 g), denominado AA-11.

As frações 48/50 (5,69 g), 51/53 (3,43 g) e 54/55 (1,99 g) foram cristalizadas diversas vezes de benzeno até a obtenção de substâncias de ponto de fusão 79-80° (2,27 g), 77-79° (1,18 g) e 80-82° (0,50 g), denominadas, respectivamente, AA-12, AA-13 e AA-16.

Após sucessivas cristalizações de éter etílico, as frações 87/104 (5,09 g) forneceram um composto (1,35 g), denominado AA-20, que fundia a 79-81°.

A cristalização ou a cromatografia em coluna das demais frações não levou ao isolamento de substâncias puras.

5.5.3. Fração ácida

O material ácido (75,23 g), um óleo viscoso marrom-escuro, foi fracionado por cromatografia em coluna (ϕ i = 6,0 cm) de sí

lica gel 0,05-0,20 mm (800,0 g) - Tabela XI- sendo coletadas 234 frações de 150 ml. Os eluentes foram evaporados e os resíduos pesados. A quantidade total recuperada foi 63,28 g.

As frações 20/33 (4,21 g) foram cristalizadas diversas vezes de éter etílico obtendo-se uma substância de ponto de fusão 72-74° (1,26 g), denominada AA-21.

As substâncias cristalinas AA-26 (2,75 g) e AA-29 (0,35 g), de ponto de fusão 201-203° e 183-184°, respectivamente, foram obtidas das frações 79/91 (9,85 g) e 104/119 (6,56 g) depois de sucessivas cristalizações de metanol e, posteriormente, de metanol-água.

Cromatografia das frações 34/59:

Depois de várias tentativas insatisfatórias de purificação por cristalização, as frações 34/59 (5,41 g), Tabela XI, foram submetidas à cromatografia em coluna (ϕ = 4,0 cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (220,0 g) - Tabela XII. Após a evaporação dos eluentes das 161 frações coletadas, os resíduos foram pesados e a quantidade total de material recuperado foi 4,76 g.

As frações 20/46 (2,04 g) foram lavadas com acetona e, depois de diversas cristalizações de éter-acetona, forneceram 320 mg de um sólido branco de ponto de fusão 72-74°, denominado AA-23.

As frações 56/59 (0,32 g) foram cristalizadas várias vezes de éter-metanol obtendo-se 100 mg de um composto cristalino, denominado AA-24 que fundia a 136-138°.

A substância cristalina AA-25 (30 mg), de ponto de fusão 291-293^o, foi obtida das frações 60/63 (0,10 g), após várias cristalizações de acetona-metanol.

A cristalização ou a cromatografia em coluna das demais frações não levou ao isolamento de substâncias puras.

Cromatografia das frações 92/103

As tentativas de cristalização das frações 92/103 (Tabela XI), de cor marrom escura e aparência resinosa, utilizando-se diversas misturas de solventes, não apresentaram resultados satisfatórios. Assim, as frações 92/103 (4,61 g) foram cromatografadas em coluna (ϕ = 4,0 cm) de sílica gel 0,05-0,20 mm (220,0 g) - Tabela XIII. Os eluentes das 114 frações de 150 ml coletadas foram evaporados e os resíduos pesados, verificando-se a recuperação de 3,08 g de material.

As frações 27/29 (0,99 g) foram cristalizadas várias vezes de metanol e, posteriormente, de metanol-água, até a obtenção de 220 mg de uma substância cristalina de ponto de fusão 201-203^o, denominada AA-30.

As frações 30/41 (0,79 g) apresentaram-se como um óleo viscoso, que após secagem a vácuo tomou a forma de um sólido esponjoso de baixo ponto de fusão (52-60^o), que foi denominado AA-31.

A cristalização ou a cromatografia em coluna das demais frações não conduziu ao isolamento de substâncias puras.

Tabela VIII

Cromatografia do material neutro (80,51 g) do extrato benzênico da casca em coluna de óxido de alumínio neutro Atividade I (1000,0 g)				
Frações	Eluentes	Frações combinadas	Compostos isolados	Peso (g)
1- 40	Hexano	1- 2	AA-1	3,98
		3	-	4,26
		4- 11	AA-2	8,11
		12- 20	-	3,31
		21- 30	-	1,14
		31- 40	-	1,11
41- 58	Benzeno	41- 59	AA-3	6,20
59- 64	Benzeno-Êter (95:5)	60- 64	-	2,35
65- 99	Benzeno-Êter (80:20)	65- 78	AA-4	19,05
		79- 81	Tabela IX	4,89
		82- 95	AA-5	5,06
100-111	Benzeno-Êter (50:50)	96- 99	-	0,74
112-117	Êter	100-112	-	2,54
118-125	Acetato de etila	113-117	-	3,21
		118-125	-	3,46
				69,41

Tabela IX

Cromatografia da fração 79/81 (4,83 g) do material neutro em coluna de sílica gel 0,05-0,20 mm (200 g)				
Frações	Eluentes	Frações combinadas	Compostos isolados	Peso (g)
1- 15	Hexano-éter (98:2)	1- 15	-	0,12
16- 42	Hexano-éter (95:5)	16- 39	-	0,25
43- 70	Hexano-éter (90:10)	40- 48	-	0,17
		49- 56	AA-6	0,32
		57- 70	-	0,54
71- 86	Hexano-éter (80:20)	71- 77	AA-7	0,71
		78- 86	-	0,59
87- 96	Hexano-éter (50:50)	87- 95	-	0,47
97-103	Éter	96- 99	-	0,41
		100-103	AA-8	0,45
		104-105	-	0,10
				4,13

Tabela X

Cromatografia da fração intermediária do extrato benzênico da casca (51,65 g) em coluna de sílica gel 0,05-0,20 (800,0 g)				
Frações	Eluentes	Frações combinadas	Compostos isolados	Peso (g)
1- 41	Hexano-éter (95:5)	1- 9	-	0,26
		10- 11	AA-10	0,65
		14- 28	-	0,75
		29- 38	-	1,62
42- 57	Hexano-éter (90:10)	39- 47	AA-11	5,49
		48- 50	AA-12	5,69
		51- 53	AA-13	3,43
		54- 55	AA-16	1,99
58- 70	Hexano-éter (80:20)	56- 77	-	5,02
71- 93	Hexano-éter (65:35)	78- 83	-	2,22
94-105	Hexano-éter (50:50)	87-104	AA-20	5,09
106-108	Éter	105-108	-	2,29
109-112	Acetato de etila	109-112	-	2,78
113-120	Acetona	113-120	-	3,24
				40,52

Tabela XI

Cromatografia do material ácido do extrato benzênico da casca (75,23 g) em coluna de sílica gel 0,05-0,20 (800,0 g)				
Frações	Eluentes	Frações combinadas	Compostos isolados	Peso (g)
	Benzeno	1- 10	-	1,18
		11- 16	-	2,22
		17- 19	-	1,41
24- 33	Benzeno-Éter (98:2)	20- 33	AA-21	4,21
34- 67	Benzeno-Éter (95:5)	34- 59	Tabela XII	6,60
		60- 67	-	1,52
68- 91	Benzeno-Éter (90:10)	68- 76	-	2,24
		77- 91	AA-26	9,85
92-124	Benzeno-Éter (80:20)	92-103	Tabela XIII	4,61
		104-119	AA-29	6,56
		120-124	-	1,34
125-146	Benzeno-Éter (50:50)	125-136	-	4,05
		134-146	-	6,32
147-174	Éter	147-174	-	1,18
175-188	Acetato de Etila	175-188	-	4,35
189-216	Acetato-MeOH (95:5)	189-216	-	3,05
216-234	Acetato-MeOH (90:10)	216-234	-	2,59
				63,28

Tabela XII

Cromatografia da fração 34/59 (5,41 g) do material ácido em coluna de sílica gel 0,05-0,20 mm (220,0 g)				
Frações	Eluentes	Frações combinadas	Compostos isolados	Peso (g)
1- 9	Hexano-Éter(98:2)	1- 9	-	0,13
10- 69	Hexano-Éter(95:5)	10- 18	-	0,29
		20- 46	AA-23	2,04
		47- 54	-	0,33
		56- 59	AA-24	0,32
		60- 63	AA-25	0,10
		64- 69	-	0,10
70- 90	Hexano-Éter(90:10)	70- 90	-	0,39
91-113	Hexano-Éter(80:20)	91-113	-	0,15
114-136	Hexano-Éter(50:50)	114-121	-	0,44
		122-136	-	0,18
137-150	Éter	137-150	-	0,05
150-161	Acetato de etila	150-161	-	0,24
				4,76

Tabela XIII

Cromatografia da fração 92/103 (4,61 g) do material ácido em coluna de sílica gel 0,05-0,20 mm (220,0g)				
Frações	Eluentes	Frações combinadas	Compostos isolados	Peso (g)
1- 18	Hexano-éter (80:20)	1- 21	-	0,12
19- 56	Hexano-éter (75:25)	22- 26	-	0,40
		27- 29	AA-30	0,99
		30- 41	AA-31	0,79
		42- 56	-	0,26
57- 79	Hexano-éter (50:50)	57- 83	-	0,24
80- 95	Éter	80- 95	-	0,10
96-114	Acetato de etila	96-114	-	0,18
				3,08

5.6. Constituintes da casca da *Araucaria angustifolia*
e seus derivados

AA-1

Ponto de fusão: 58-60°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25 (s).

AA-2

Ponto de fusão: 62-64°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1730, 1240, 1050 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25 (s).

AA-3

Ponto de fusão: 78-80°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3300 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25 (s).

AA-4

Ponto de fusão: 80-82°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3300 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25 (s).

AA-5 (β -sitosterol)

Ponto de fusão: 136-138°; espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.1 (nujol); ressonância magnética protônica: fig. 8.2 (CDCl_3).

AA-6

Ponto de fusão: 80-82°; espectro de absorção no infra-

vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3300 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s).

AA-7

Ponto de fusão: 136-138°. Esta substância apresentou espectro de absorção no infra-vermelho (fig. 8.1) superponível e comportamento cromatográfico análogo ao de AA-5 (β -sitosterol).

AA-8 (éter dimetílico do pinoresinol)

Ponto de fusão: 107-109°; rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 46^\circ$ ($c=1$, CHCl_3); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.3 (nujol); ressonância magnética protônica: fig. 8.4 (CDCl_3); espectro de massa: fig. 8.5.

AA-10

Ponto de fusão: 67-69°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1740 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s).

AA-11

Ponto de fusão: 82-83°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3220 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CDCl}_3)$ 1,25(s).

AA-12

Ponto de fusão: 79-81°; espectro de absorção no infra-vermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1700 e 720 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s).

AA-13

Ponto de fusão: 77-79^o; espectro de absorção no infravermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1720 e 720 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s).

AA-16

Ponto de fusão: 80-82^o; espectro de absorção no infravermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3220, 1710 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CDCl}_3)$ 1,25(s).

AA-20

Ponto de fusão: 83-84^o; espectro de absorção no infravermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3300 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s).

AA-21

Ponto de fusão: 72-74^o; espectro de absorção no infravermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1710 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s).

AA-23

Ponto de fusão: 72-74^o; espectro de absorção no infravermelho: $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 1710 e 725 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: $\delta(\text{CCl}_4)$ 1,25(s). Este composto mostrou-se idêntico, em todos os aspectos, a AA-21.

AA-24

Ponto de fusão: 136-138^o. Esta substância apresentou espectro de absorção no infravermelho (fig. 8.1) idêntico e comportamento cromatográfico análogo ao de AA-5 (β -sitosterol).

AA-25

Ponto de fusão: 291-293°; rotação óptica $[\alpha]_D^{25} + 20^\circ$ (c=0,5, etanol), + 32° (c=1, piridina); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.6 (nujol); espectro de ressonância magnética protônica: fig. 8.7 (CDCl₃); espectro de massa: fig. 8.8.

AA-26 (ácido agático)

Ponto de fusão: 201-203° ; rotação óptica $[\alpha]_D^{25} + 64^\circ$ (c=1, etanol) espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.9 $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3400-2300, 3070, 1685, 1675, 1635, 1415, 1255 e 895 cm⁻¹; espectro de absorção no ultravioleta: $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 218 nm (log ε=4,1); ressonância magnética protônica: fig. 8.10, δ (piridina d-5) 0,90 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 2,45 (d, J=1Hz, 3H), 4,65 (ℓ, 1H), 5,00 (ℓ, 1H), 6,15 (ℓ, 1H) e 10,30 (ℓ, 2H); espectro de massa: fig. 8.11, M⁺ em m/e 334.

AA-26Me (agatato de metila -C₁₅)

500 mg de AA-26 foram dissolvidos em 15 ml de metanol, a adicionou-se 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado e a mistura foi submetida a refluxo durante 3 horas. Após neutralização com solução aquosa de NaOH a 2%, a mistura de reação foi extraída diversas vezes com éter etílico. Os extratos etéricos combinados foram lavados com água destilada e secados com sulfato de sódio anidro. A remoção do solvente a vácuo, em um evaporador rotativo, forneceu um resíduo oleoso (450 mg), que foi cromatografado em coluna de sílica gel 0,05-0,20 mm, eluída com hexano-éter (80:20), obtendo-se 380 mg do éster monometílico de AA-26, AA-26Me, como um óleo vis-

coso que cristalizou após alguns dias de repouso. Ponto de fusão: 60-62°; rotação óptica $[\alpha]_D^{25} + 63^\circ$, (c=1, etanol); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.12, $\nu_{\max}^{\text{nujol}}$ 3400-2400, 3080, 1725, 1690, 1650, 1275, 1230, 1150 e 890 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: fig. 8.13, $\delta(\text{CDCl}_3)$ 0,60 (s, 3H), 1,15 (s, 3H), 2,15 (d, J=1Hz, 3H), 3,70 (s, 3H), 4,5 (ℓ, 1H), 4,90 (ℓ, 1H), 5,65 (ℓ, 1H); espectro de massa: fig. 8.14, M^+ em m/e 348,2293 (calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_4$: 348,2302).

AA-26diMe (agatato de dimetila)

a) 200 mg de AA-26Me foram tratados com excesso de diazometano em solução etérica durante 24 horas a 0°. Após a evaporação do excesso de reagente e do solvente resultou um resíduo oleoso (206 mg) do éster dimetílico (AA-26diMe). Rotação óptica $[\alpha]_D^{25} + 54^\circ$ (c=1, CHCl_3); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.15, $\nu_{\max}^{\text{filme}}$ 3080, 1720, 1650, 1230, 1150 e 890 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: fig. 8.16, $\delta(\text{CDCl}_3)$ 0,55 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 2,15 (d, J=1Hz, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,70 (s, 3H), 4,55 (ℓ, 1H), 4,90 (ℓ, 1H) e 5,70 (ℓ, 1H); espectro de massa: fig. 8.17, M^+ em m/e 362,2462 (calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: 362,2459).

b) 200 mg de AA-26 foram tratados com excesso de diazometano em solução etérica, durante 24 horas a 0°. Após a evaporação do excesso de reagente e do solvente resultou um resíduo oleoso (215 mg), que mostrou-se idêntico, em todos os aspectos, ao composto acima citado, AA-26diMe.

AA-26diol (agatadiol)

100 mg de AA-26diMe foram dissolvidos em 25 ml de éter e

tílico anidro, adicionou-se 100 mg de hidreto de lítio e alumínio, e deixou-se a mistura sob refluxo. Após 6 horas, o excesso de hidreto de lítio e alumínio foi destruído adicionando-se inicialmente éter etílico contendo água e, depois, água. A mistura foi extraída várias vezes com éter etílico e os extratos etéricos foram combinados, seguindo-se lavagem com água e secagem com sulfato de sódio. A evaporação do solvente em um evaporador rotativo forneceu 80 mg do diol, que foi recristalizado de metanol-éter isopropílico e denominado AA-26diol. Ponto de fusão: 104-106°; rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 32^\circ$ (c=1, CHCl₃); espectro de absorção no infravermelho: fig. 8.18, $\nu_{\max}^{\text{nujol}}$ 3270, 3080, 1670, 1645, 1060, 1030, 995 e 900 cm⁻¹; espectro de ressonância magnética protônica: fig. 8.19, δ (CDCl₃) 0,65 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 1,70 1,50 (s, 2H, desapareceu após D₂O) (l, 3H), 3,55 (qAB, J=11Hz, 2H), 4,10 (d, J=7Hz, 2H), 4,50 (l, 1H), 4,80 (l, 1H), 5,35 (t, J~7Hz, 1H); espectro de massa: fig. 8.20, M⁺ em m/e 306.

AA-29 (ácido agatólico)

Ponto de fusão: 183-184°; rotação óptica $[\alpha]_D^{25} + 46^\circ$ (c=1, etanol); espectro de absorção no infravermelho: fig. 8.21, $\nu_{\max}^{\text{nujol}}$ 3280, 3500-2400, 3075, 1680, 1655, 1250, 1240, 1165, 1040 e 905 cm⁻¹; espectro de absorção no ultravioleta: $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 218 nm (log ϵ =4,1); ressonância magnética protônica: fig. 8.22, δ (piridina d-5) 0,75 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 3,80 (q, AB J=11Hz), 4,60 (l, 1H), 4,95 (l, 1H) e 6,15 (l, 1H); espectro de massa: fig. 8.23, M⁺ em m/e 320.

AA-29Me (agatolato de metila)

100 mg de AA-29 foram tratados com excesso de diazometano em solução etérica, durante 24 horas a 0°. A evaporação do excesso de reagente e do solvente forneceu um resíduo cristalino (104 mg) de ponto de fusão 71-73°. Rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 43^\circ$ (c=1, CHCl₃); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.24, $\nu_{\max}^{\text{nujol}}$ 3530, 3080, 1710, 1655, 1230, 1170, 1155, 1045, 885 e 870 cm⁻¹; espectro de ressonância magnética protônica: fig. 8.25, δ (CDCl₃) 0,70 (s, 3H), 1,00 (s, 3H), 2,20 (d, J=1Hz, 3H), 3,55 (qAB, J=11Hz, 2H), 3,70 (s, 3H), 4,50 (l, 1H), 4,85 (l, 1H) e 5,65 (l, 1H); espectro de massa: fig. 8.26, M⁺ em m/e 334,2502 (calculado para C₂₁H₃₄O₃: 334,2510).

AA-29Ac (ácido acetil-agatólico)

50 mg de AA-29 foram dissolvidos em 2 ml de piridina, adicionou-se 3 ml de anidrido acético e a mistura de reação foi deixada à temperatura ambiente. Após 24 horas, a mistura foi vertida em água gelada e em seguida foi extraída diversas vezes com éter etílico. As soluções etéricas foram combinadas, lavadas com uma solução aquosa de ácido clorídrico a 5%, para eliminação da piridina, e depois foram lavadas com água destilada. A solução etérica foi então secada com sulfato de sódio anidro e evaporada a vácuo em um evaporador rotativo, resultando um resíduo oleoso, denominado AA-29Ac. Rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 40^\circ$ (c=1, CHCl₃); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.27, $\nu_{\max}^{\text{CCl}_4}$ 3075, 1770, 1680, 1640, 1240, 1035 e 890 cm⁻¹; ressonância magnética protônica: fig. 8.28 δ (CDCl₃) 0,70 (s, 3H), 0,95 (s, 3H), 2,05 (l, 3H), 2,15 (l, 3H), 4,05 (qAB, J=11Hz, 2H), 4,50 (l, 1H), 4,85 (l, 1H) e 5,65 (l,

1H).

AA-29diol

100 mg de AA-29Me foram reduzidos segundo técnica descrita anteriormente, obtendo-se um composto cristalino (86 mg), denominado AA-29diol, que foi recristalizado de éter etílico-éter isopropílico. Ponto de fusão: 107-109°; rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 32^\circ$ (c=1, etanol). Este composto mostrou-se idêntico, em todos os aspectos, a AA-26diol (agatadiol).

AA-30

Ponto de fusão: 201-203; rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 64^\circ$ (c=1, etanol); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.10 (nujol). Esta substância apresentou-se idêntica, em todos os aspectos, a AA-26 (ácido agático).

AA-31 (ácido imbricatólico)

Ponto de fusão: 52-60°; rotação óptica: $[\alpha]_D^{25} + 48^\circ$ (c=1, CHCl₃); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.29, $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4}$ 3400, 3220-2400, 3080, 1700, 1650, 1265 e 890 cm⁻¹; ressonância magnética protônica: fig. 8.30, δ (CDCl₃) 0,55 (s, 3H), 0,90 (l, 3H), 1,25 (s, 3H), 3,60 (t, J~6Hz, 2H), 4,50 (l, 1H), 4,75 (l, 1H) e 7,75 (l, 2H); espectro de massa: fig. 8.31, M⁺ em m/e 322.

AA-31Ac (ácido acetil-imbricatólico)

AA-31 (75 mg) foi acetilado da maneira anteriormente descrita obtendo-se um óleo viscoso que foi purificado por cromatografia em coluna de silicagel 0,05-0,20 mm (15 g), eluindo-se com hexano-éter em ordem crescente de polaridade, sendo obtidos 50 mg de

AA-31Ac. Rotação Óptica: $[\alpha]_D^{25} + 45^\circ$ ($c=1$, CHCl_3); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.32, $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4}$ 3070, 1740, 1690, 1640, 1240 e 880 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: fig. 8.33, $\delta(\text{CDCl}_3)$ 0,60 (s, 3H), 0,90 (l, 3H), 1,25 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 4,05 (tl, $J=6\text{Hz}$, 2H), 4,45 (l, 1H) e 4,80 (l, 1H); espectro de massa: fig. 8.34, M^+ em m/e 364,2602 (calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$: 364,2616).

AA-31Me (imbricatolato de metila)

300 mg de AA-31 foram tratados com diazometano em solução etérica a 0° , durante 24 horas. Após a evaporação do solvente e do excesso de reagente resultou um resíduo oleoso (310 mg) que foi submetido à cromatografia em coluna de silicagel 0,05-0,20 (35 g), eluída com hexano-éter (80:20). AA-31Me, assim obtido, apresentou rotação Óptica $[\alpha]_D^{25} + 47^\circ$ ($c=1$, CHCl_3); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.35, $\nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ 3370, 3080, 1650, 1155 e 890 cm^{-1} ; ressonância magnética protônica: fig. 8.36, $\delta(\text{CDCl}_3)$ 0,55 (s, 3H), 0,95 (l, 3H), 1,25 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,65 (t, $J=8\text{Hz}$, 2H), 4,50 (l, 1H) e 4,85 (l, 1H); espectro de massa: fig. 8.37, M^+ em m/e 336.

AA-31diol (imbricatadiol)

100 mg de AA-31Me foram reduzidos conforme técnica descrita anteriormente obtendo-se um composto cristalino (86 mg), denominado AA-31diol, que foi recristalizado de metanol-éter isopropílico. Ponto de fusão: $111-113^\circ$; rotação Óptica $[\alpha]_D^{25} + 25^\circ$ ($c=1$, CHCl_3); espectro de absorção no infra-vermelho: fig. 8.38, $\nu_{\text{max}}^{\text{nujol}}$ 3250, 3080, 1650, 1060, 1030 e 895 cm^{-1} ; ressonância magnética pro

tônica: fig. 8.39, (CDCl_3) 0,65 (s, 3H), 0,90 (l, 3H), 1,45 (s, 2H, desapareceu após D_2O), 3,55 (q AB, $J=11\text{Hz}$, 2H), 3,65 (t, $J=1$, 2H), 4,45 (l, 1H) e 4,75 (l, 1H); espectro de massa: fig. 8.40, M^+ em m/e 308,2.

5.7. Ensaio biológico

Testes de proteção contra esquistossomose:

Foram feitos em camundongos. O material (a fração ácida do extrato benzênico da casca de A. angustifolia) foi diluído em acetona e passado na cauda dos animais. Estes foram expostos a cerca de 200 cercárias de Schistosoma mansoni, durante 24 horas, pelo método de imersão da cauda. Após sete semanas, os animais foram sacrificados para perfusão do fígado e vasos mesentéricos para coleta dos esquistossômulos. Outro grupo de animais não tratados, mas expostos às cercárias, foi utilizado como controle para a avaliação do grau de proteção (Tabela XIV)

O grau de proteção foi avaliado pela relação:

$$\text{Grau de proteção: } 100 \left(1 - \frac{\text{EA}}{\text{EC}}\right).$$

EA: média de esquistossômulos por animal tratado (com a fração ácida do extrato benzênico da casca de Araucaria angustifolia).

EC: média de esquistossômulos por animal não tratado (controle).

O grau de proteção apresentado pela fração ácida foi de

98%. As frações neutra e intermediária não mostraram atividade protetora significativa (aproximadamente 20%).

Tabela XIV

Teste de proteção contra esquistossomose						
<u>Araucaria an-</u> <u>gustifolia</u> (extrato benzênico da casca)	Diluição	Número de animais	Animais mortos	Varição do número de vermes	Média de esquistossomos por animal	Grau de proteção
Fração ácida	10% em acetona	11	2	0-1	1,0	98%
Contrôle	-	11	4	35-72	47,6	-

6. RESUMO

O extrato benzênico da casca da Araucaria angustifolia O. Ktze. foi fracionado em vários compostos alifáticos de cadeia longa, β -sitosterol, éter dimetílico do pinoresinol e quatro substâncias diterpênicas: sugiol e os ácidos agático, agatólico e imbricatólico. Os ácidos diterpênicos parecem ser os responsáveis pela proteção contra infecção por cercárias de Schistosoma mansoni.

6. ABSTRACT

The benzenic extract of the bark of Araucaria angustifolia O. Ktze. was fractionated into several aliphatic long chain compounds, β -sitosterol, pinoresinoldimethylether and four diterpenic substances: sugiol and agathic, agatholic and imbricatolic acids. The diterpenic acids seem to be responsible for the protection against the infection by cercarias of Schistosoma mansoni.

7. BIBLIOGRAFIA

1. MARINI-BETTÖLO, G.B. (1974) Ciência e Cultura 26 (8), 751.
2. HEROUT V. (1971) "Aspects of Terpenoid Chemistry and Biochemistry" (Ed. T.W. Goodwin), Cap. 3, Academic Press, New York and London.
3. HANSON, J.R. (1972) "Chemistry of Terpenes and Terpenoids" (Ed. AA. Newmann), p. 6 e Cap. 4, Academic Press, New York and London.
4. MACMILLAN, J. (1971) "aspects of Terpenoid Chemistry" and Biochemistry (Ed. T.W. Goodwin), Cap. 6 Academic Press, New York and London.
5. KUPCHAN, S.M. (1969) "Chemistry of Natural Products", Vol. 6, p. 227, Butterworths, New York and London.
6. HEROUT, V. e FORM, S. (1969) "Perspectives in Phytochemistry" (Ed. J.B. Harborne e T. Swain), Cap. 7, Academic Press, New York and London.
7. GILBERT, B., SOUZA, J.P., FASCIO, M., KITAGAWA, NASCIMENTO, S.S.C., FORTES, C.C., SEABRA, A.P. e PELLEGRINO, J. (1970) An. Acad. Brasil. Cienc., 42 (supl.).
8. GILBERT, B., comunicação pessoal.
9. TSCHIRCH, A. e NIEDERSTADT, B. (1901) Arch. Pharm. 239, 145; Cf. ref. 35.
10. BAKER, R.T. e SMITH, H.G. (1910) "A Research on Pines of Australia", p. 376, Gov. Printer, Sidney.
11. SMITH, H.G. (1911) J. Soc. Chem. Ind. 30, 1353; (1912) Chem. Abstr. 6, 1493.

12. HOSKING, J.R. (1928) Rec. Trav. Chim. 47, 578.
13. RUZICKA L. e HOSKING, J.R. (1929) Ann. 469, 147; (1929) Chem. Abstr. 23, 3711.
14. RUZICKA, L. e HOSKING, J.R. (1930) Helv. Chim. Acta 13, 1402.
15. RUZICKA, L. e HOSKING, J.R. (1931) Helv. Chim. Acta 14, 203.
16. KOLHAAS, D.R. (1932) Rec. Trav. Chim. 51, 389.
17. RANGEL, J.L. e SCHNEIDER, H.S. (1936) Rev. Brasil. Quím. 2, 261.
18. STELLFELD, C. (1937) Tribuna farm. 5, 61; (1937) Chem. Abstr. 31, 5943.
19. BIRCH, A.J. (1938) J. Proc. Roy Soc. N. S. Wales 71, 259; (1938) Chem. Abstr. 32, 7665.
20. BRIGGS, L.H. e TAYLOR, W.I. (1941) J. Soc. Chem. Ind. 60, 222.
21. BRIGGS, L.H. e TAYLOR, W.I. (1946) J. Soc. Chem. Ind. 66, 168.
22. DRYSELIUS, E. e LINDBERG, B. (1956) Acta Chem. Scand. 10, 445.
23. ROBINSON R. e SMITH, (1915) Proc. Roy. Soc. N. S. Wales 48, 449; (1915) Chem. Abstr. 9, 2288.
24. GALLAGHER, M.J. e SUTHERLAND, M.D. (1960) Aust. J. Chem. 13, 367.
25. CHANDRA, G., CLARK, J., McLEAN, J., PAULSON, P.L. e WATSON, J. (1964) J. Chem. Soc. 3648.
26. CARMAN, R.M. e DENNIS, N. (1964) Aust. J. Chem. 17, 390.
27. CARMAN, R.M. (1964) Aust. J. Chem. 17, 393.
28. SIMONSEN, J. e BARTON, D.H.R. (1961) "The Terpenes", Vol. III, 2a. ed., p. 459, Cambridge University Press, London.
29. GOUGH, L.J. (1964) Chem. Ind. 50, 2054.

30. WEISSMANN, G. e BRUNS, K. (1965) Naturwissen 52, 186; (1965) Chem. Abstr. 63, 8415.
31. WEISSMANN, G., BRUNS, K. e GRUETZMACHER, H., Fr. (1965) Tetrahedron Letters 51, 4623.
32. BRUNS, K. e WEISSMANN, G. (1966) Tetrahedron Letters 17, 1901.
33. BRUNS, K. (1968) Tetrahedron 24, 3417.
34. ENZELL, C.R. e THOMAS, B.R. (1964) Tetrahedron Letters 8, 391.
35. ENZELL, C.R. e THOMAS, B.R. (1965) Acta Chem. Scand. 19, 913.
36. ENZELL, C.R. e THOMAS, B.R. (1965) Acta Chem. Scand. 19, 1875.
37. ENZELL, C.R. e THOMAS, B.R. (1966) Tetrahedron Letters, 22, 2395.
38. THOMAS, B.R. (1966) Acta Chem. Scand. 20, 1074.
39. CARMAN, R.M. e MARTY, R.A. (1966) Aust. J. Chem. 19, 2403.
40. CARMAN, R.M. e COWLEY, D.E. (1967) Aust. J. Chem. 20, 193.
41. ENZELL, C.R., HIROSE, Y. e THOMAS, B.R. (1967) Tetrahedron Letters 9, 793.
42. HIROSE, Y., OISHI, N., NAGAKI, H. e NAKATSUDA, T. (1965) Tetrahedron Letters 41, 3665.
43. LOMBARDI, N., SANTAMARIA, P.M. e BONINO, R.C.D.C. (1967) Rev. Soc. Quim. Mex. 11, 148; (1968) Chem. Abstr. 69, 27170.
44. ILYAS, MOHD., USMANI, J.N., BHATNAGAR, S.P., ILYAS, M. e RAHMAN, W. (1968) Tetrahedron Letters 53, 5515.
45. CARMAN, R.M. e MARTY, R.A. (1968) Aust. J. Chem. 21, 1923.
46. CARMAN, R.M. e MARTY, R.A. (1970) Aust. J. Chem. 23, 1457.
47. KHAN, N.U., ILYAS, M., RAHMAN, W., OKIGAWA, M. e KAWANO, N. (1970) Tetrahedron Letters 33, 2941.

48. KHAN, N.U., ILYAS, M., RAHMAN, W., OKIGAWA, M. e KAWANO, N.
(1971) Chem. Pharm. Bull. 19, 1500.
49. CAPUTO, R. e MANGONI, L. (1971) Phytochemistry 11, 839
50. CAPUTO, R., MANGONI, L., PREVITERA L. e IACCARINO R. (1971)
Tetrahedron Letters 40, 3771.
51. KHAN, N.U., ILYAS, M., RAHMAN, W., MASHIMA, T., OKIGAWA, M. e
KAWANO, N. (1972) Tetrahedron 28, 5889.
52. CARMAN, R.M., CRAIG, W.J. e SHAW, I.M. (1973) Aust. J. Chem.
26, 209.
53. CAPUTO, R., MANGONI, L., PREVITERA, L. e IACCARINO, R. (1973)
Tetrahedron 29, 2047.
54. CAPUTO, R. e MANGONI, L. (1974) Phytochemistry 13, 467.
55. CAPUTO, R. e MANGONI, L. (1969) La Chimica e l'Industria 51,
1382.
56. CAPUTO, R., MANGONI, L., MONACO, P. e PREVITERA, L. (1974)
Phytochemistry 13, 471.
57. CAPUTO, R., DOVINOLA, V. e MANGONI, L. (1969) La Chimica e
l'Industria 51, 1383.
58. CAPUTO, R., DOVINOLA, V. e MANGONI, L. (1974) Phytochemistry
13, 475.
59. JOLY, A.B. (1966) "Botânica - introdução à taxonomia vegetal"
p. 202, Companhia Editora Nacional, São Paulo.
60. RIZZINI, C.R. (1971) "Árvores e Madeiras Úteis do Brasil -
Manual de Dendrologia Brasileira" p. 31, Editora da Universi-
dade de São Paulo.

61. NAKANISHI, K. (1966) "Infrared Absorption Spectroscopy - Practical", Holden-Day, Inc., San Francisco.
62. SCOTT, A.I. (1964) "Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products", p. 80, The Macmillan Co., New York.
63. DYER, J.R. (1969) "Aplicações da Espectroscopia de Absorção dos Compostos Orgânicos", p. 82, Editora da Universidade de São Paulo.
64. idem, p. 103.
65. SILVERSTEIN, R.M. e BASSLER, G.C. (1967) "Spectrometric Identification of Organic Compounds", 2nd. Ed. p. 161, John Wiley & Inc., New York.
66. HANSON, J.R. (1972) "Chemistry of Terpenes and Terpenoids" (Ed. A.A. Newman), p. 158, Academic Press, London and New York.
67. DEMARCO, P.V., FARKAS, E., DODDRELL, D., MYLARY, B.L., e WENKERT E., (1968) J. Amer. Chem. Soc. 90, 5480.
68. ARYA, U.P., ERDTMAN e KUBOTA, T., (1961) Tetrahedron, 16, 255.
69. WENKERT, E. e BEAK, P. (1961) Tetrahedron Letters 11, 358.
70. FLEMING, I. e WILLIAMS, D.H. (1966) "Spectroscopic Methods in Organic Chemistry", p. 97, McGraw-Hill Publishing Company Limited, London.
71. CARMAN, R.M. e DENNIS W. (1964) Aust. J. Chem. 17, 395.
72. ENZELL, C. (1961) Acta Chem. Scand. 15, 1303.
73. DYER, J.R. (1969) "Aplicações da Espectroscopia de Absorção dos Compostos Orgânicos", p. 96, Editora da Universidade de São Paulo.

74. HANSON, J.R. (1972) "Chemistry of Terpenes and Terpenoids" (Ed. A.A. Newman), Cap. 4, Academic Press, New York and London.
75. WHITAKER, R.H. (1970) "Chemical Ecology" (Ed. E. Sondheimer e J.B. Simeone), Cap. 3, Academic Press, New York and London.

8. ESPECTROS

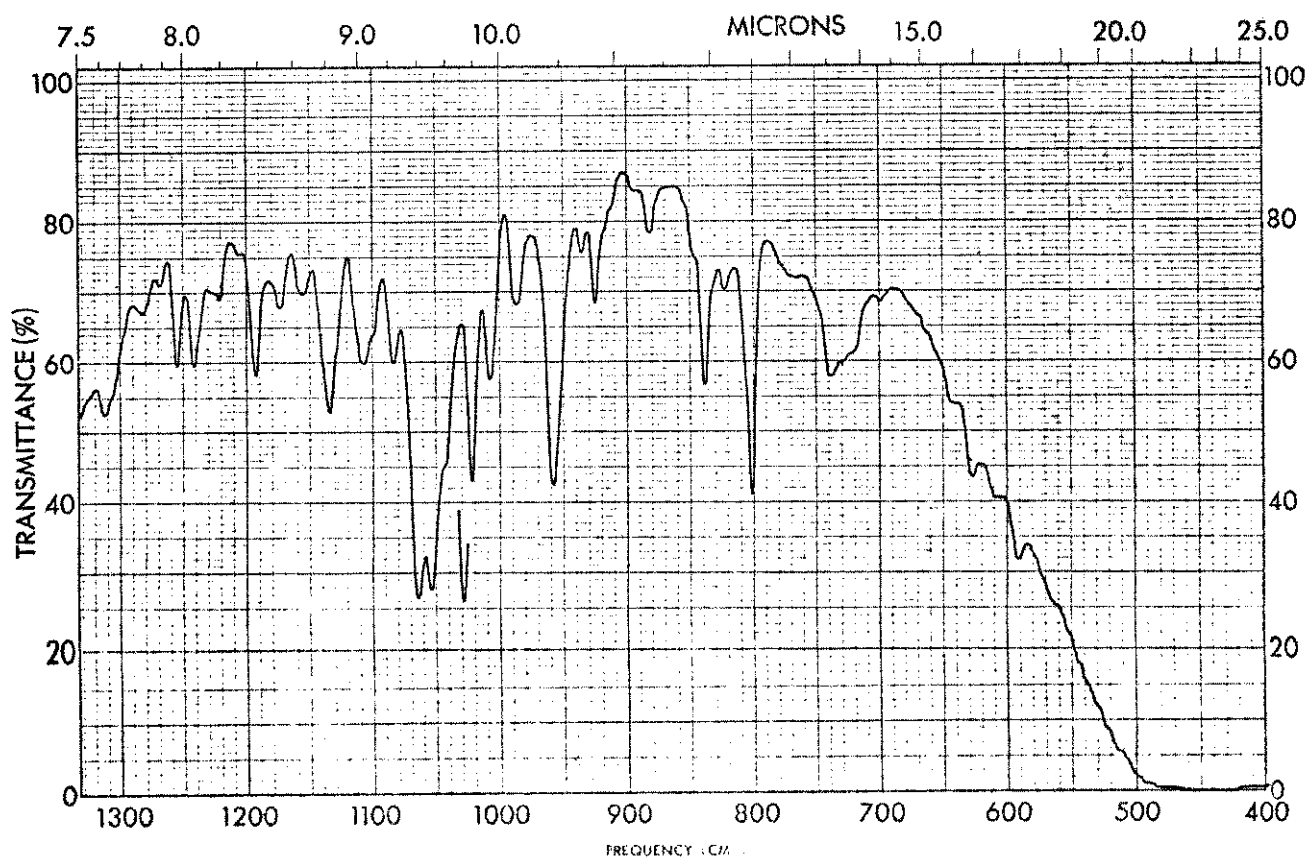
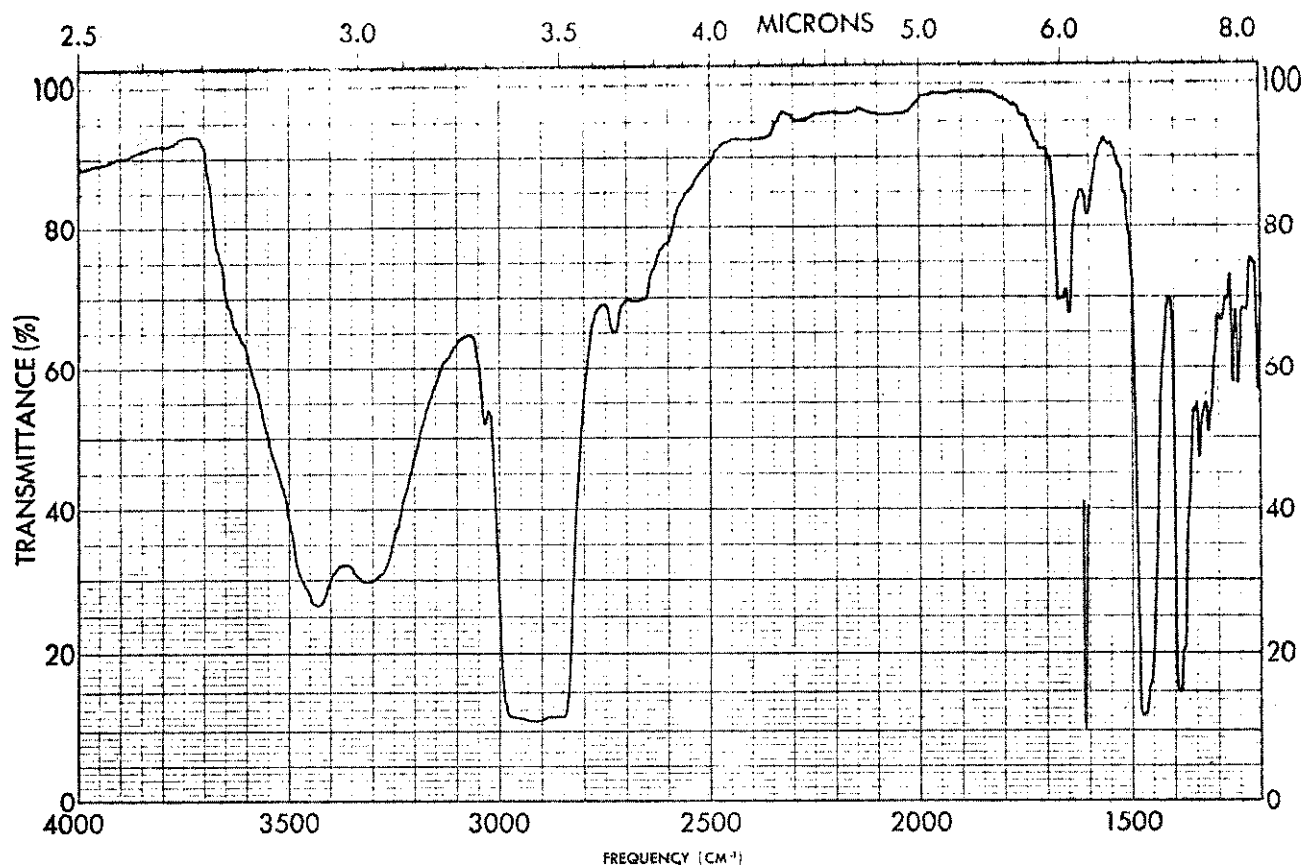


Fig. 8.1. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-5 (β -sitosterol).

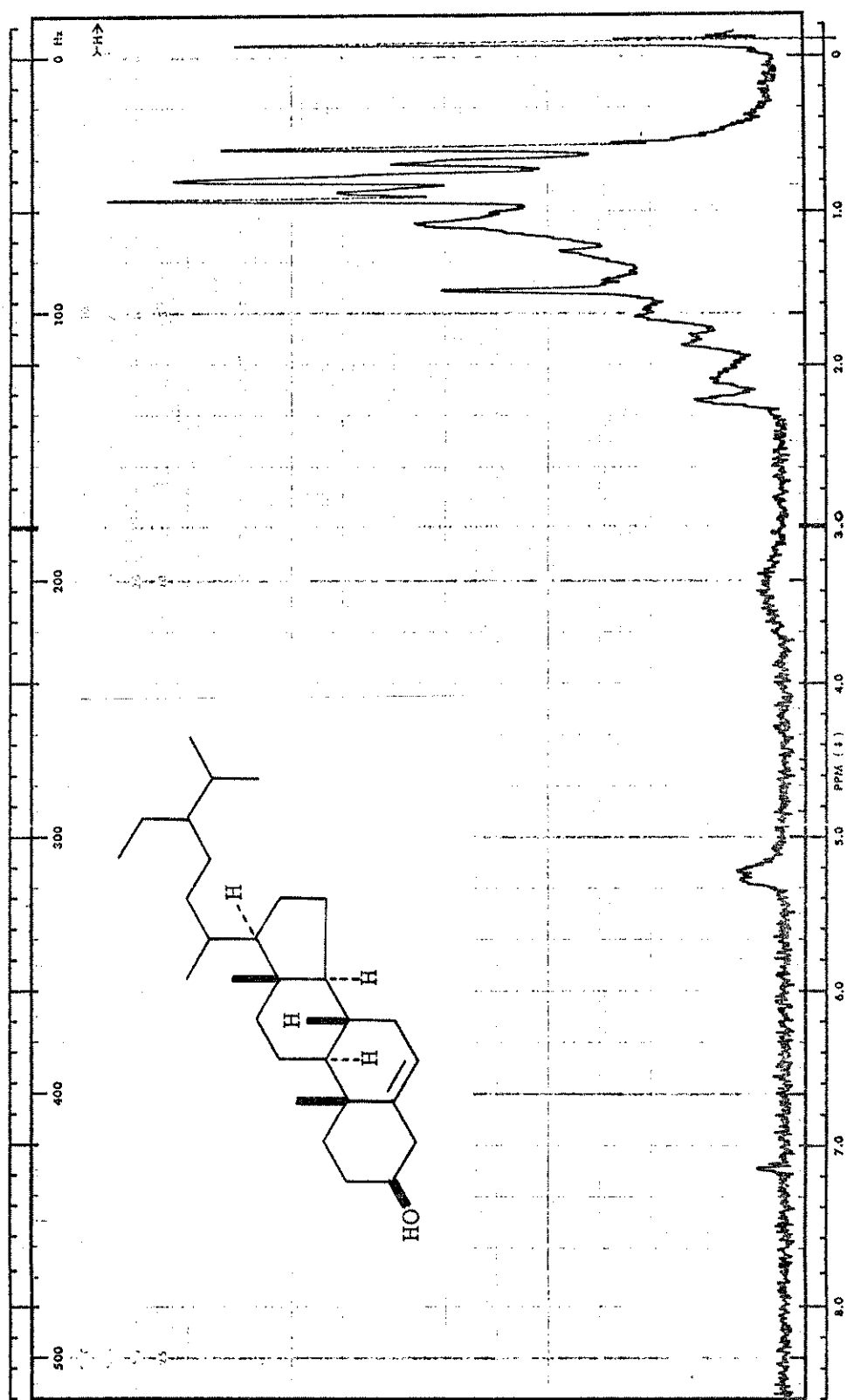


Fig. 8.2. Espectro de RMP (CDCl₃) de AA-5 (β-sitosterol).

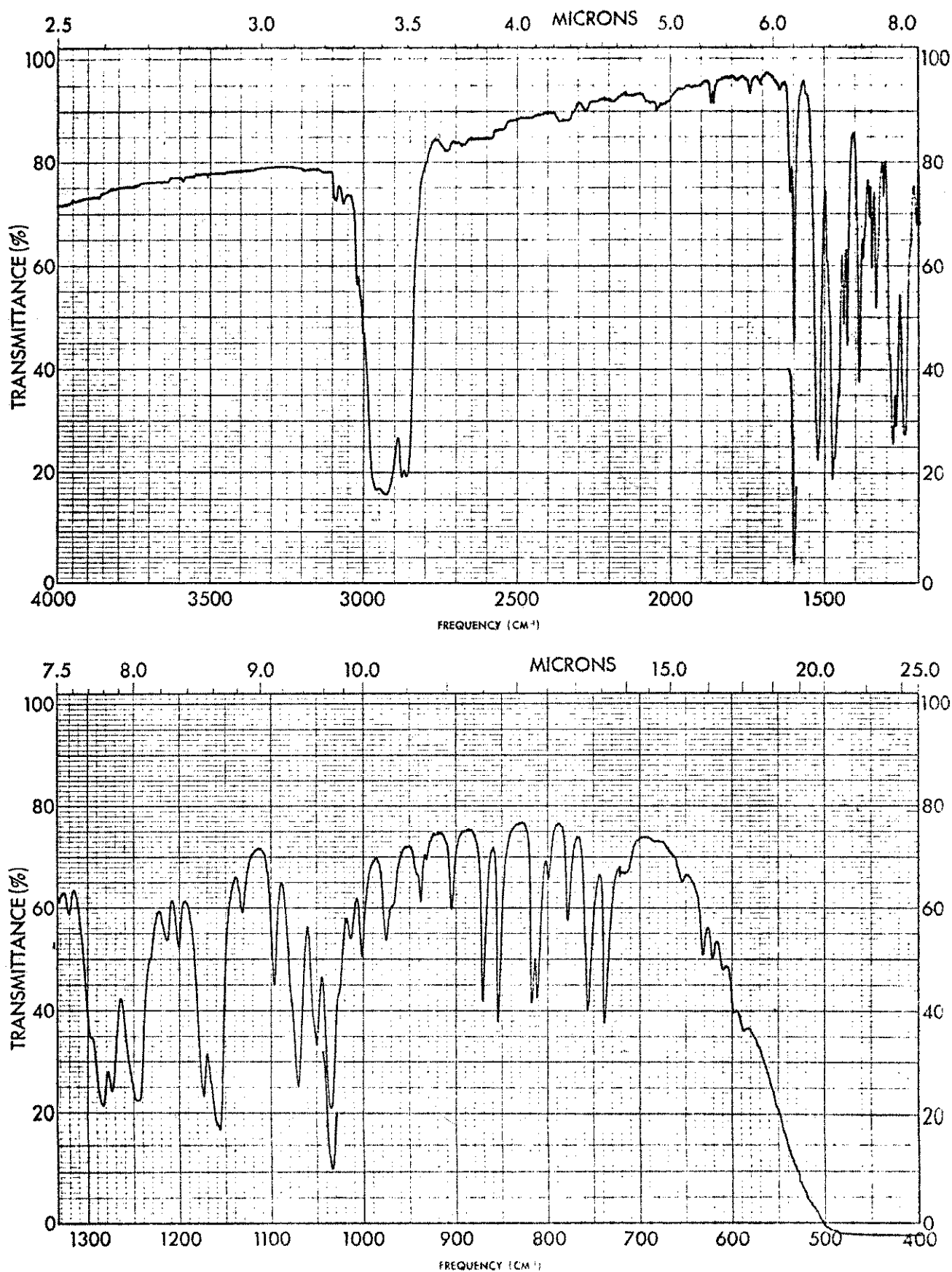


Fig. 8.3. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-8
(éter dimetílico do pinoresinol).

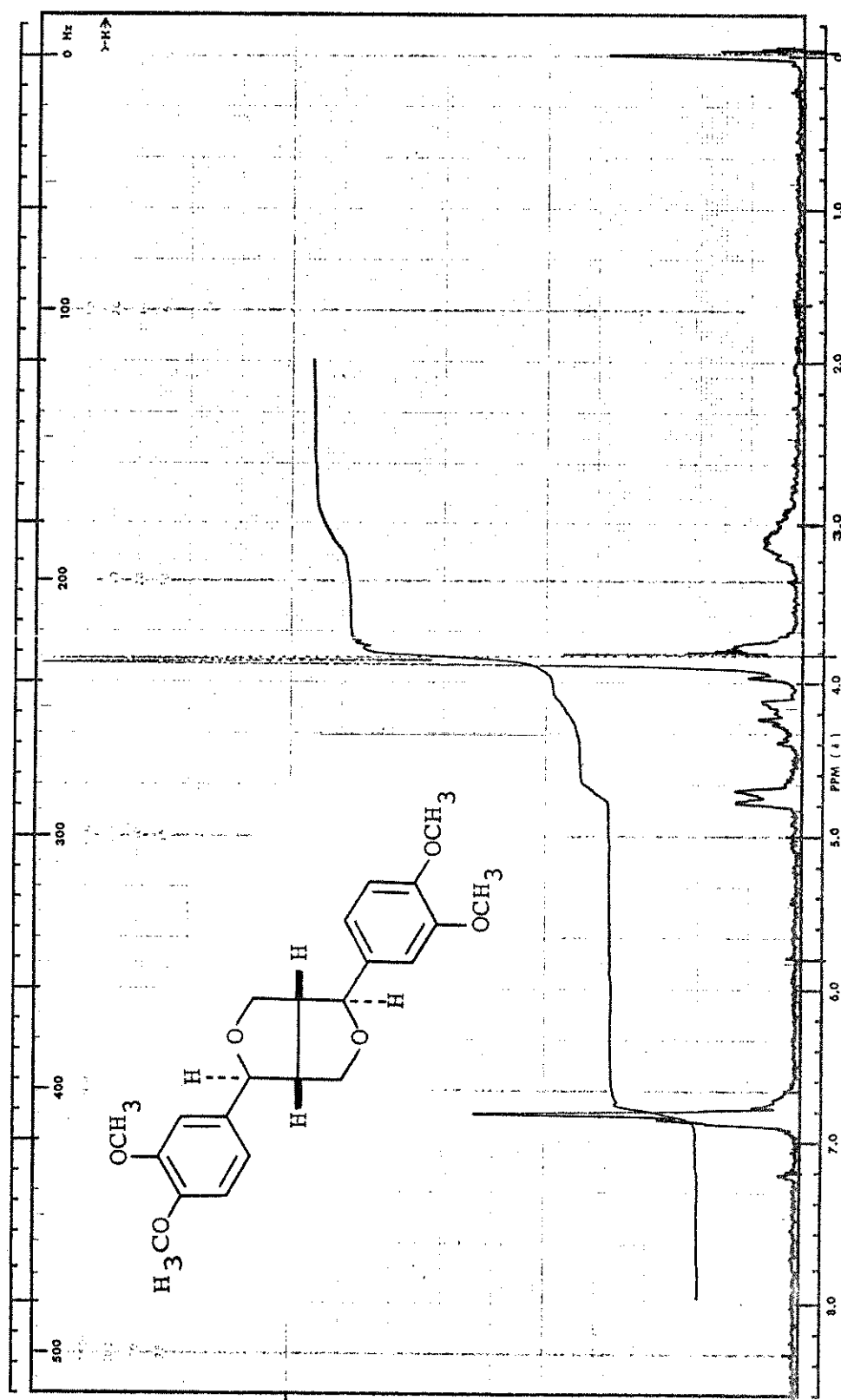


Fig. 8.4. Espectro de RMP (CDCl₃) de AA-8 (éter dimetílico do pinoresinol).

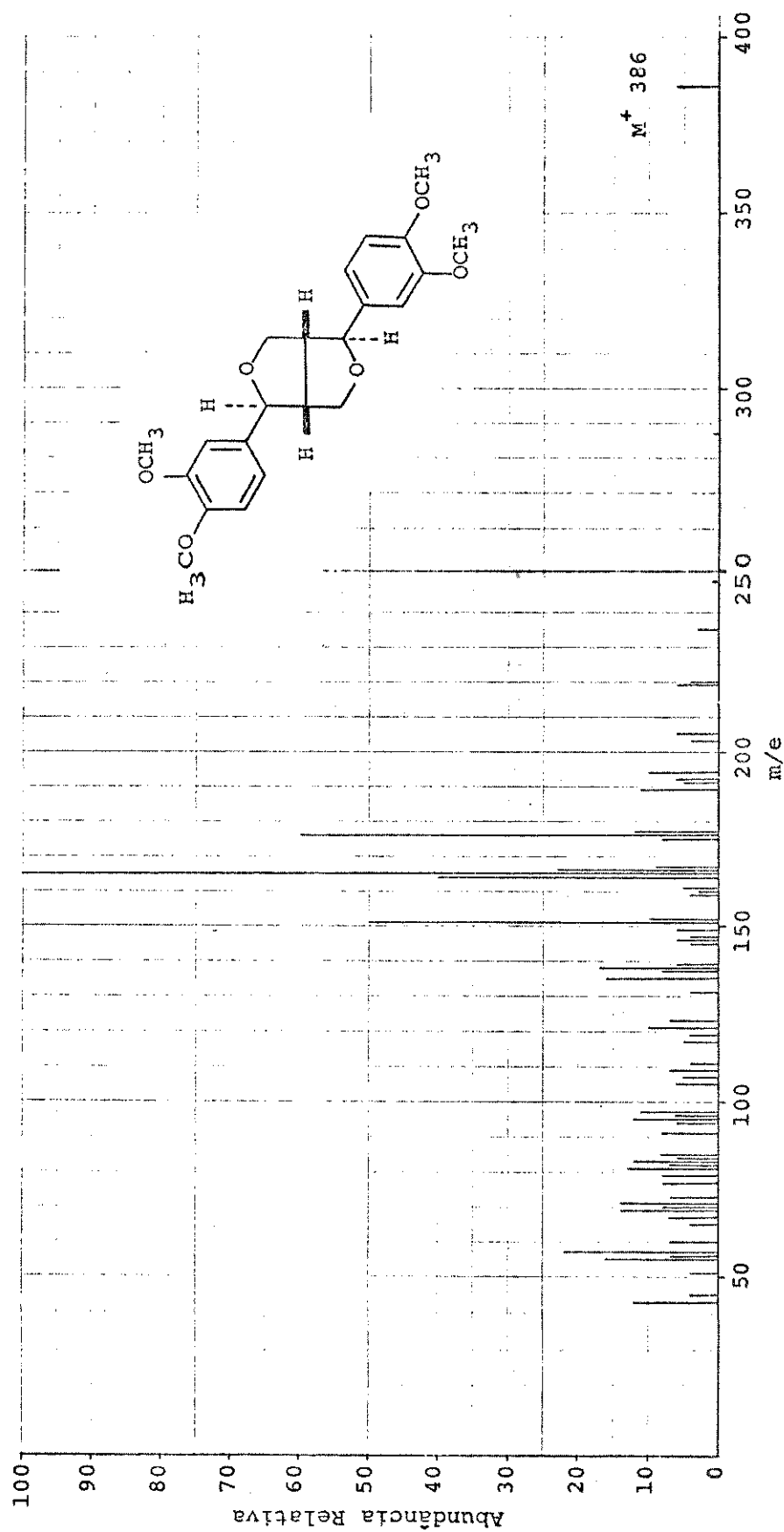


Fig. 8.5. Espectro de massa (1015/SL) de AA-8 (éter dimetílico do pinoresinol).

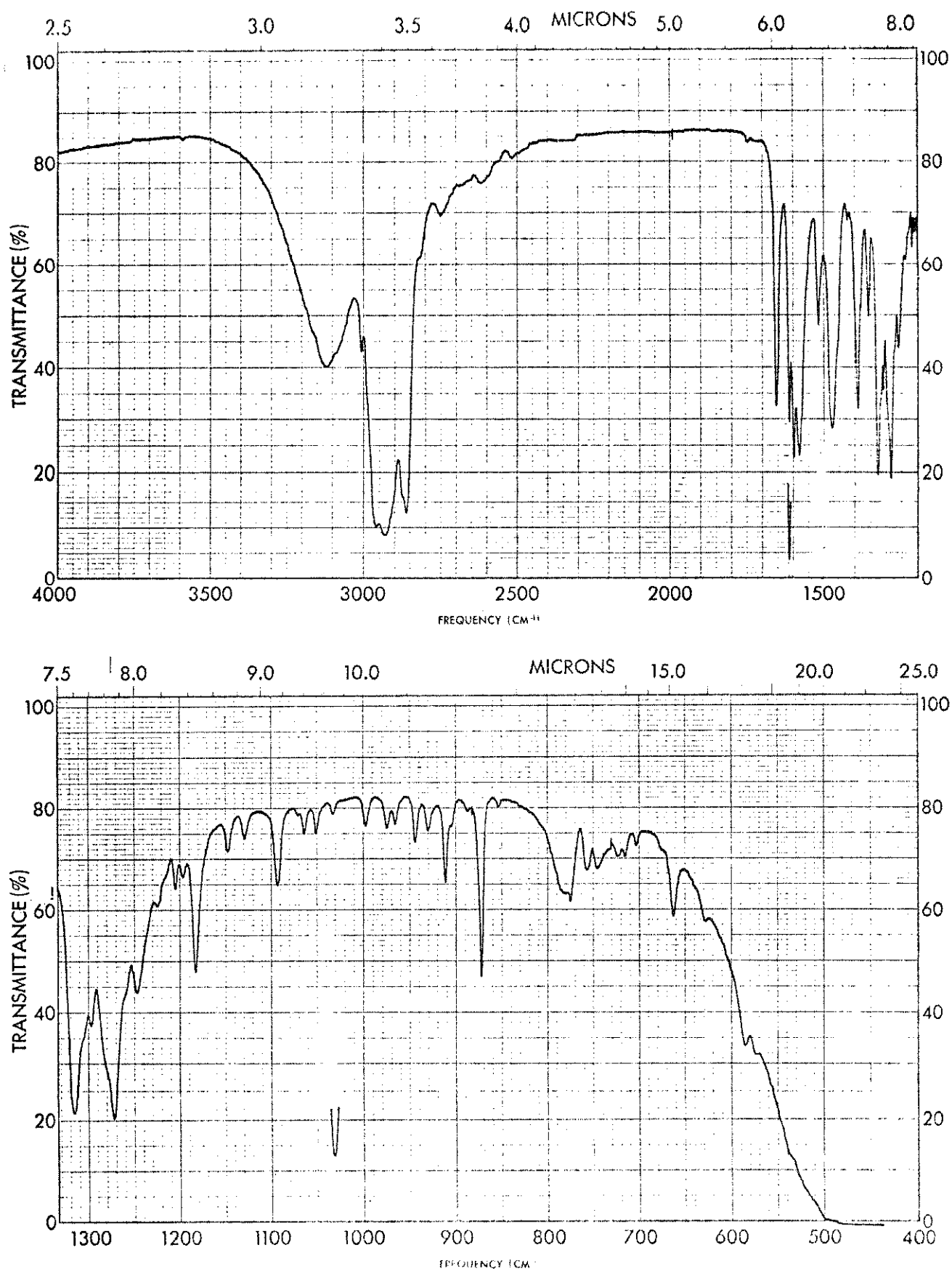


Fig. 8.6. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-25 (sugiol).

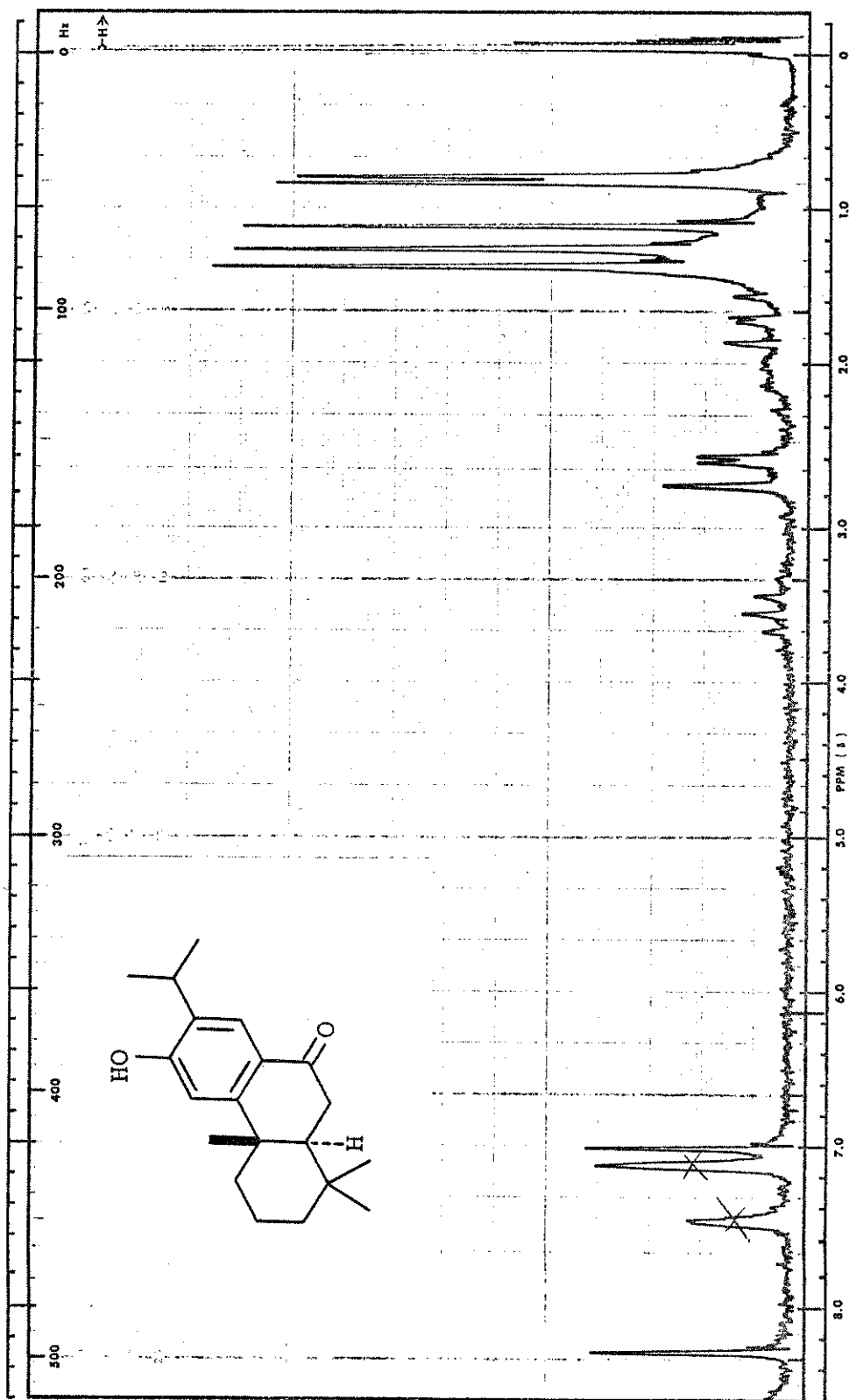


Fig. 8.7. Espectro de RMP (piridina d-5) de AA-25 (sugiol).

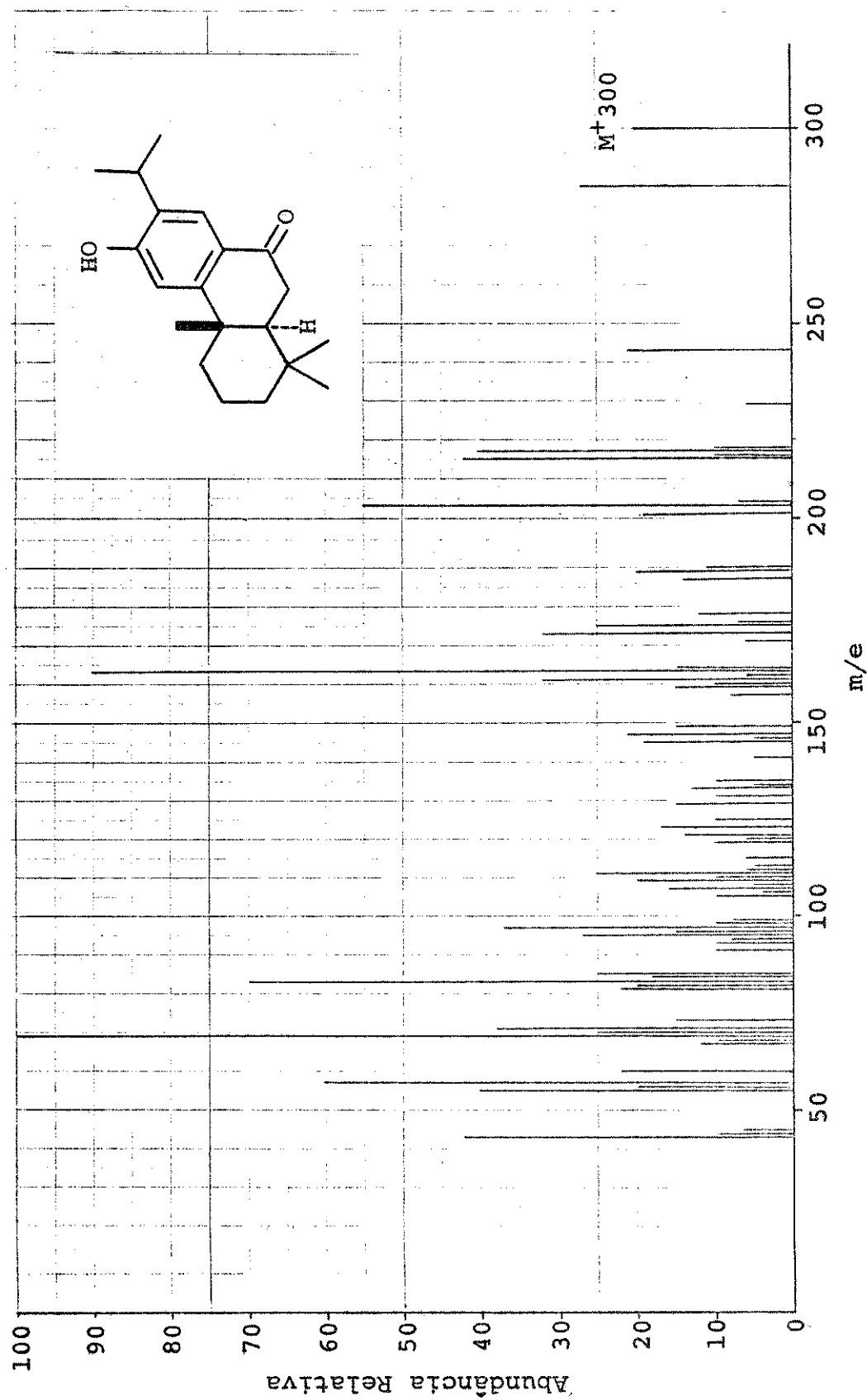


Fig. 8.8. Espectro de massa (1015/SL) de AA-25 (sugiol).

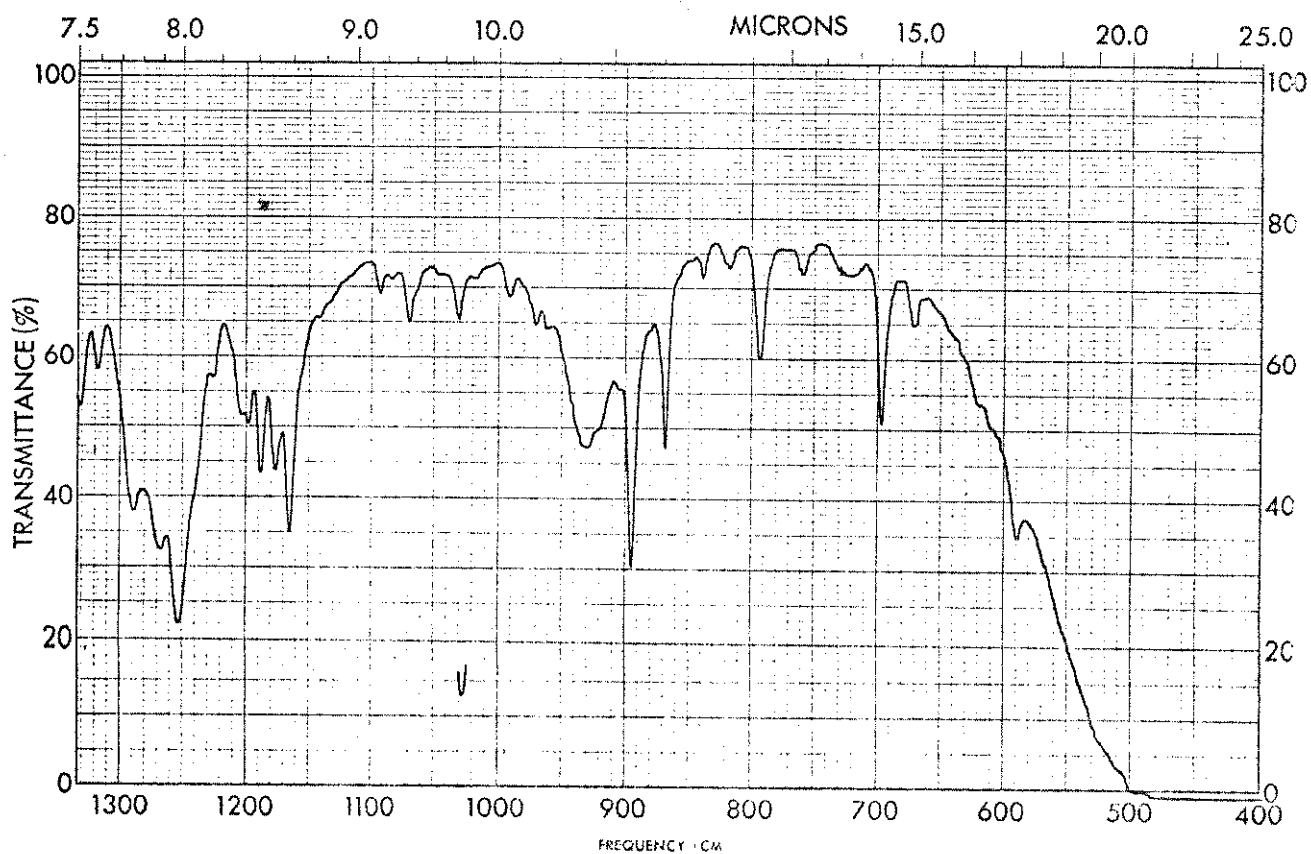
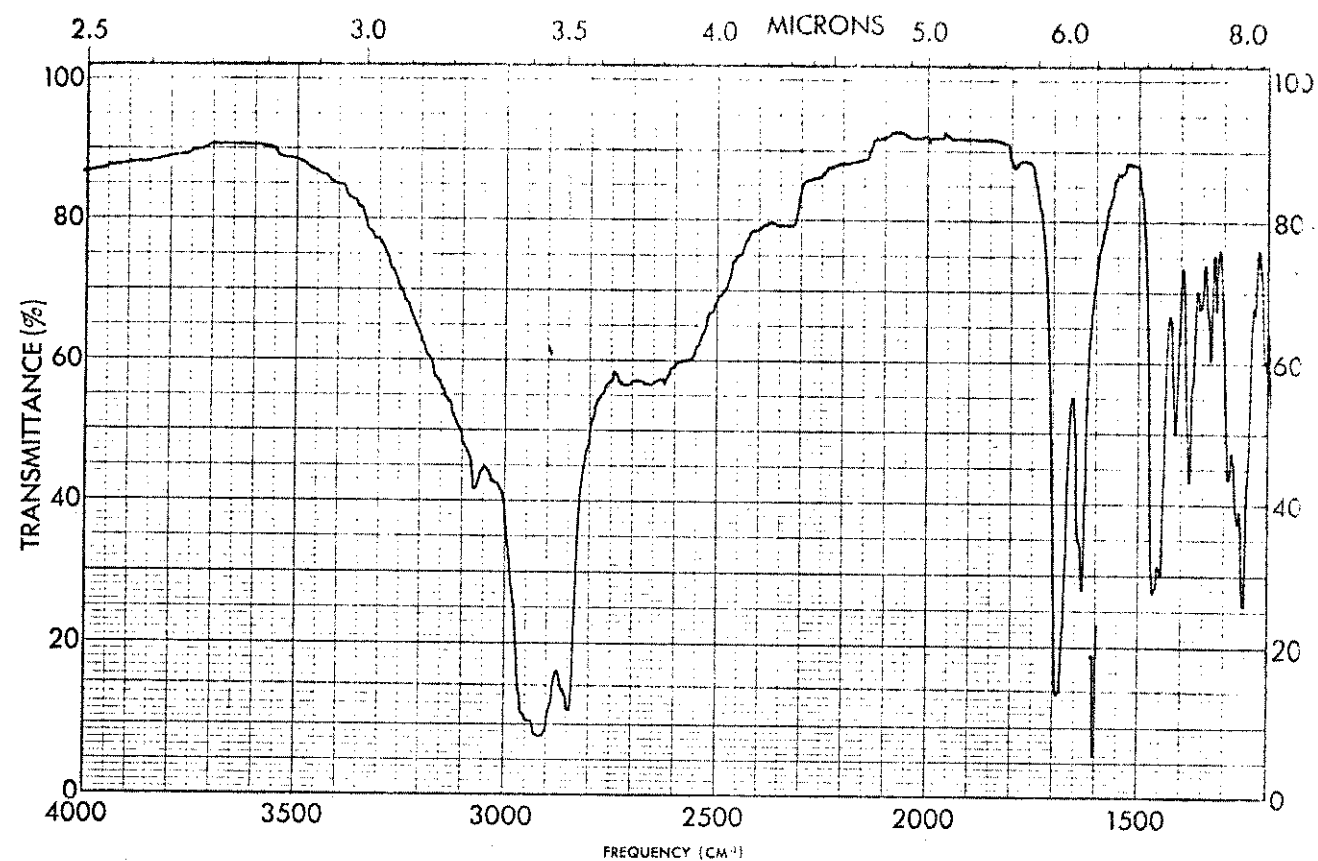


Fig. 8.9. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-26 (ácido agático).

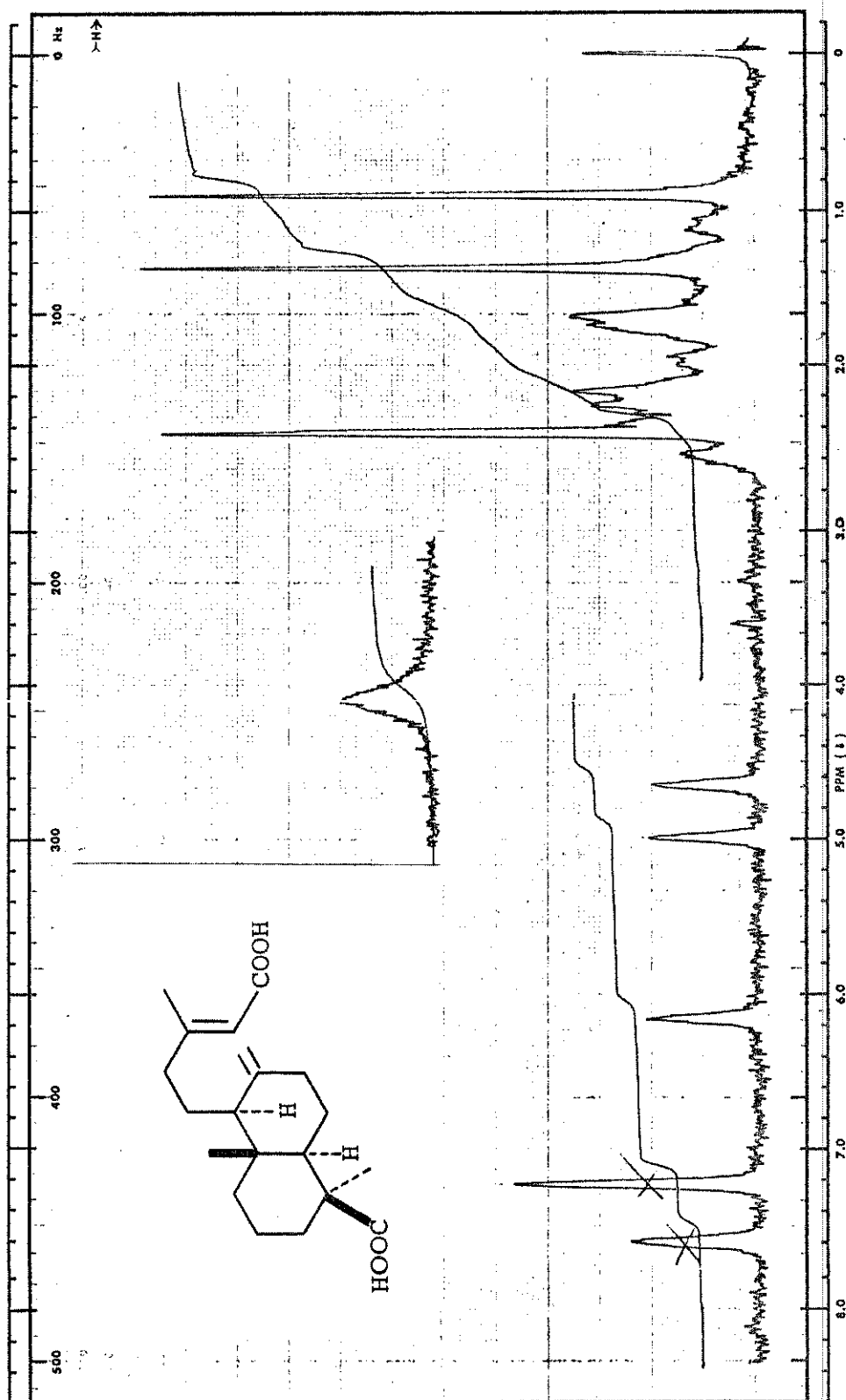


Fig. 8.10. Espectro de RMP (piridina d-5) de AA-26 (ácido agático).

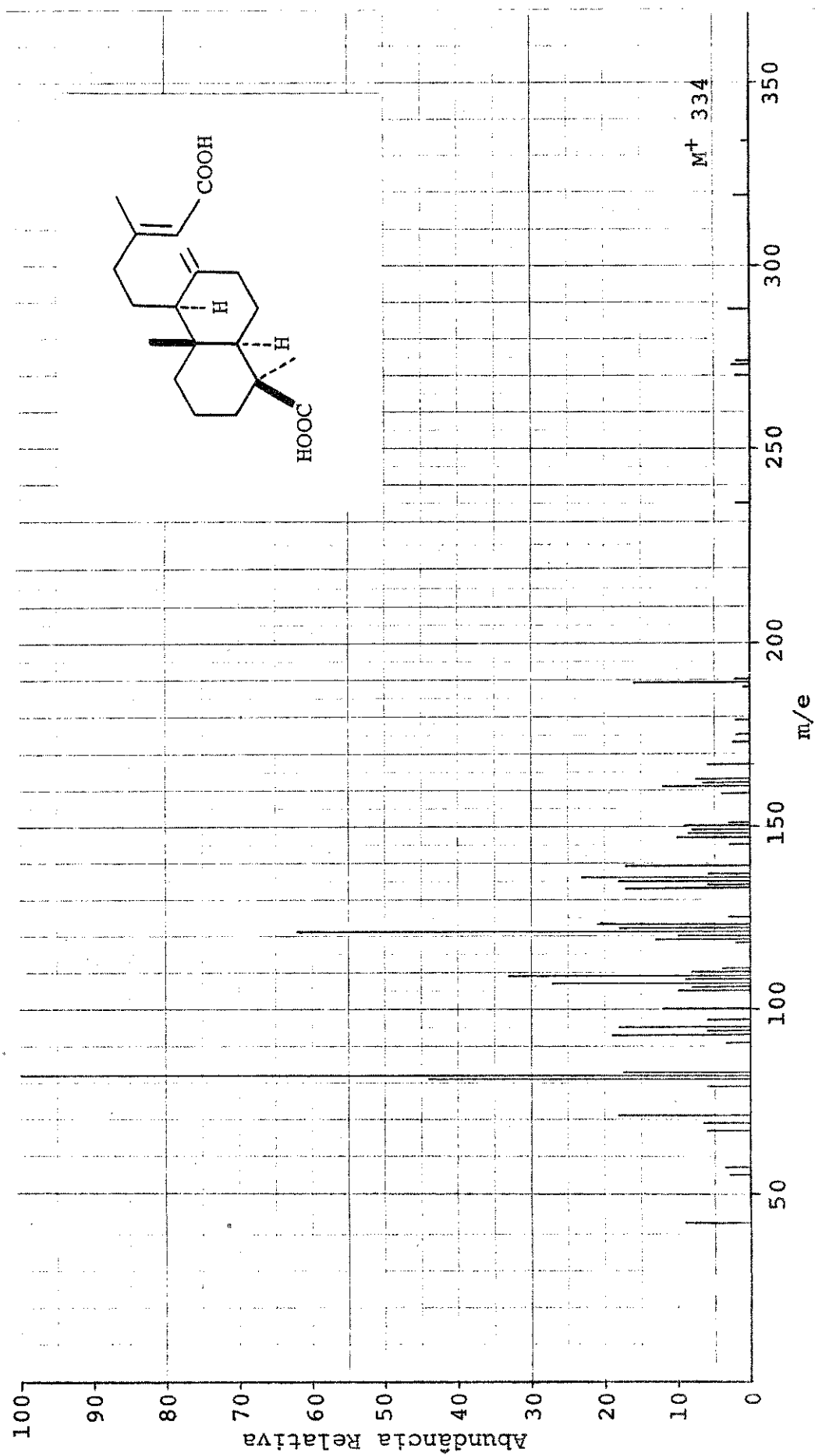


Fig. 8.11. Espectro de massa (1015/SL) de AA-26 (ácido agático).

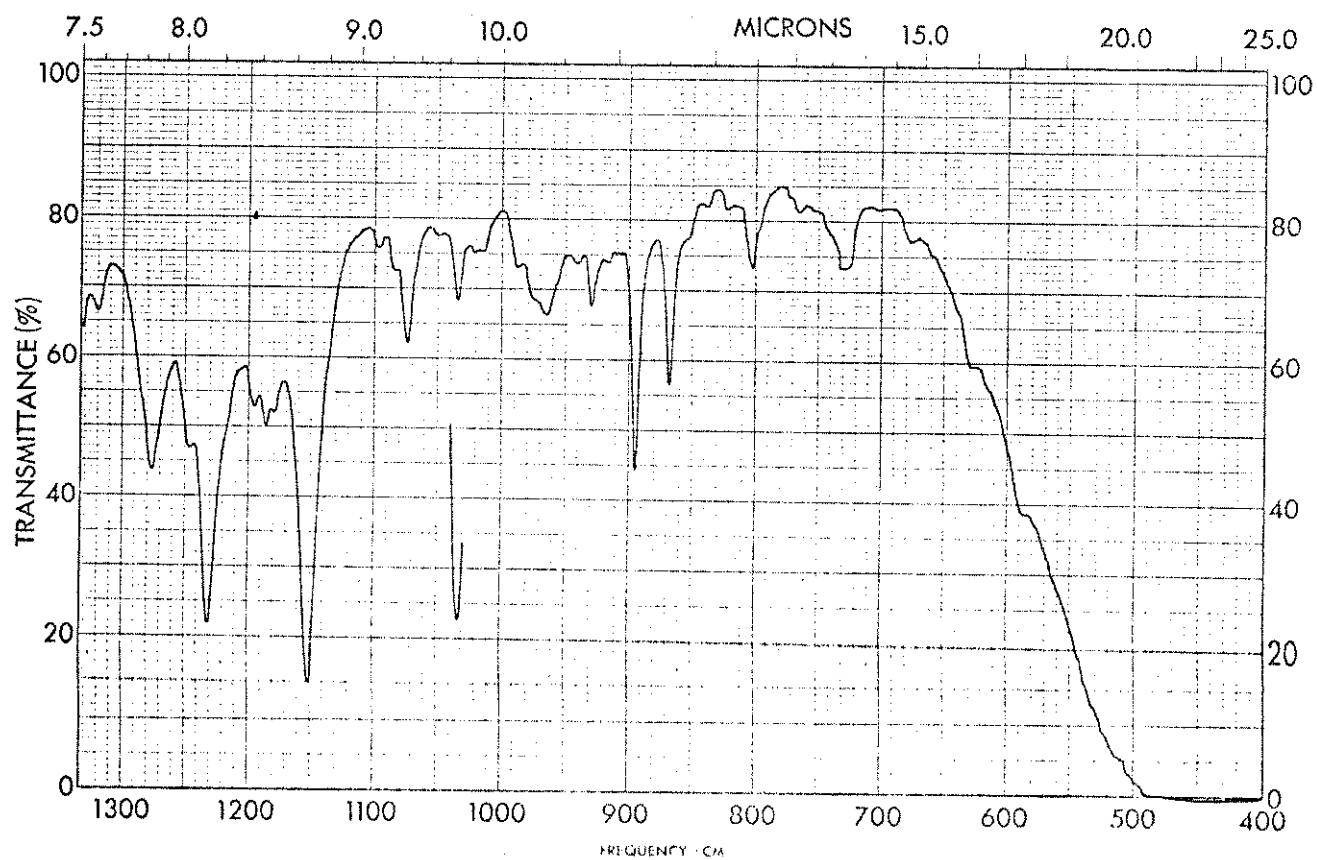
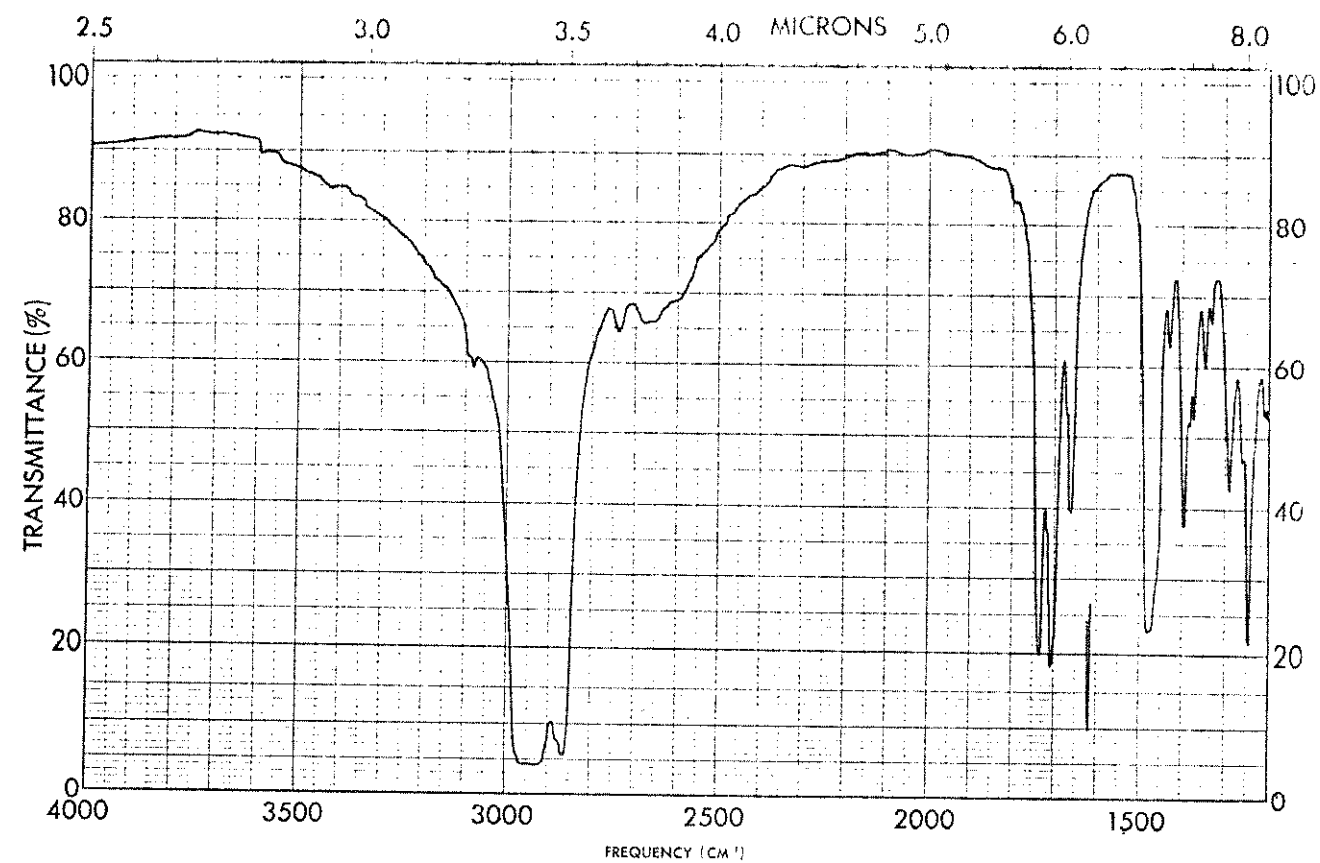


Fig. 8.12. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-26Me (agatato de metila C₁₅).

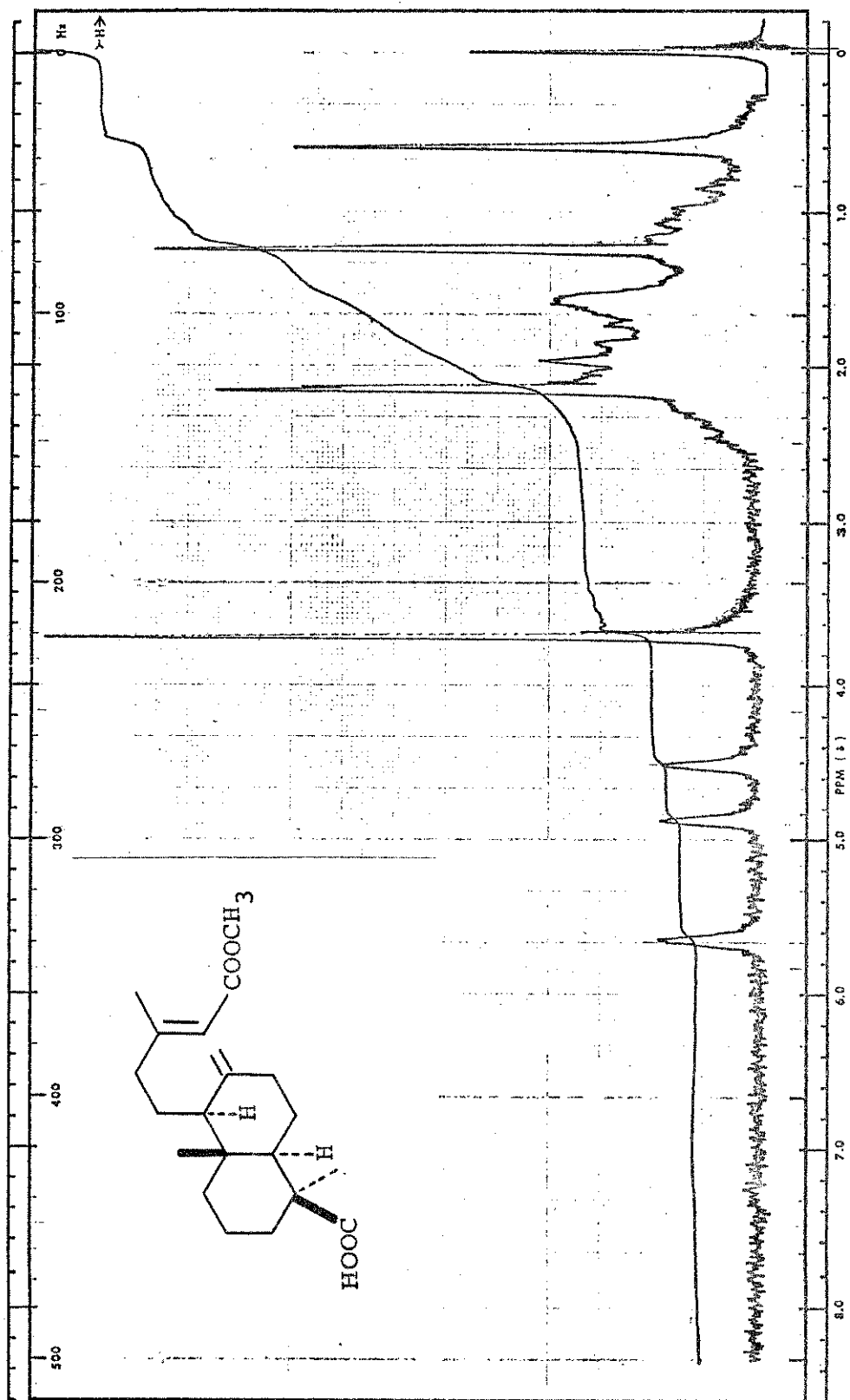


Fig. 8.13. Espectro de RMP (CDCl_3) de AA-26Me (agatato de metila C_{15}).

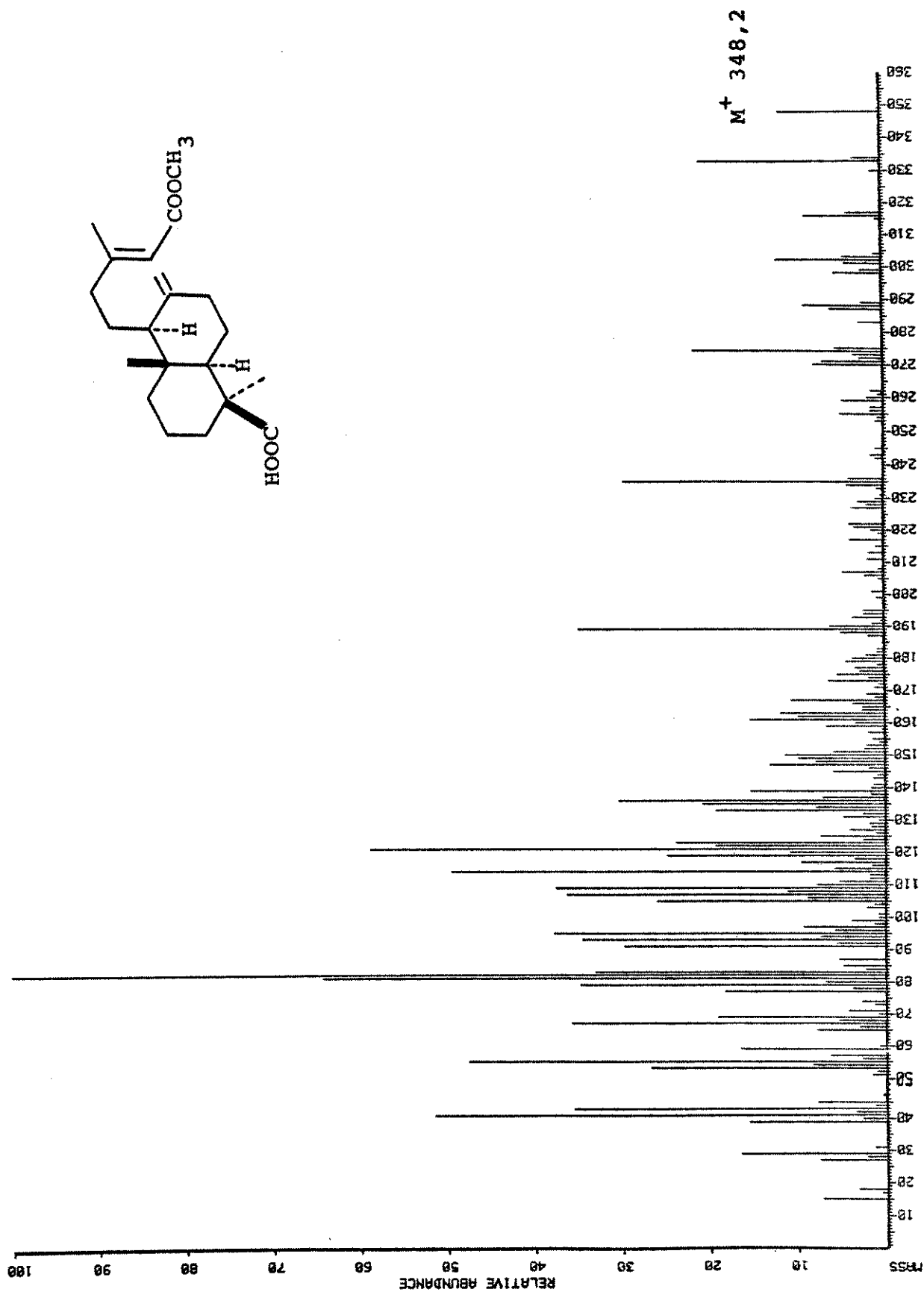


Fig. 8.14. Espectro de massa (CH-7) de AA-26Me (agatato de metila C₁₅).

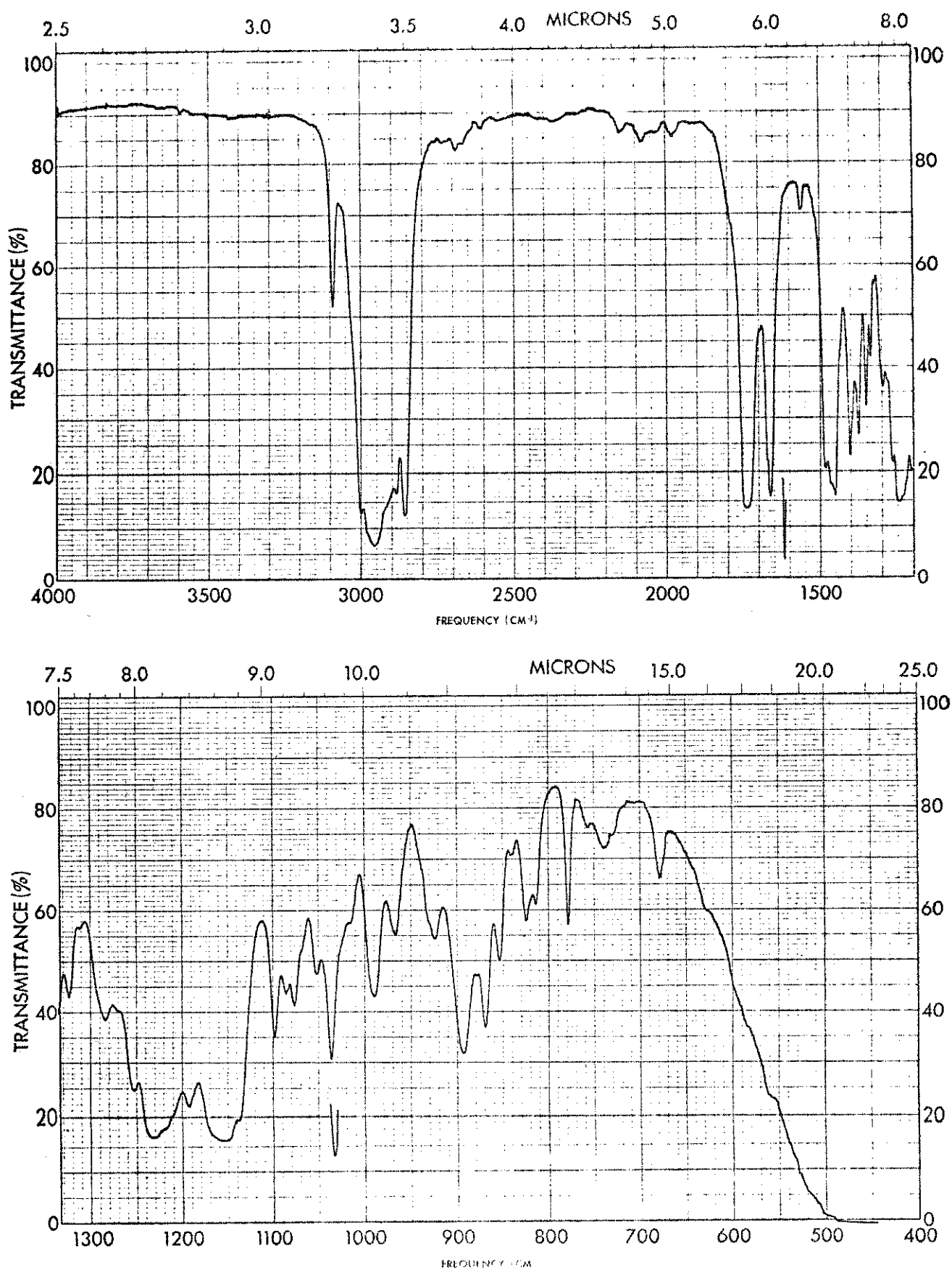


Fig. 8.15. Espectro de absorção no IV (filme) de AA-26diMe (agatato de dimetila).

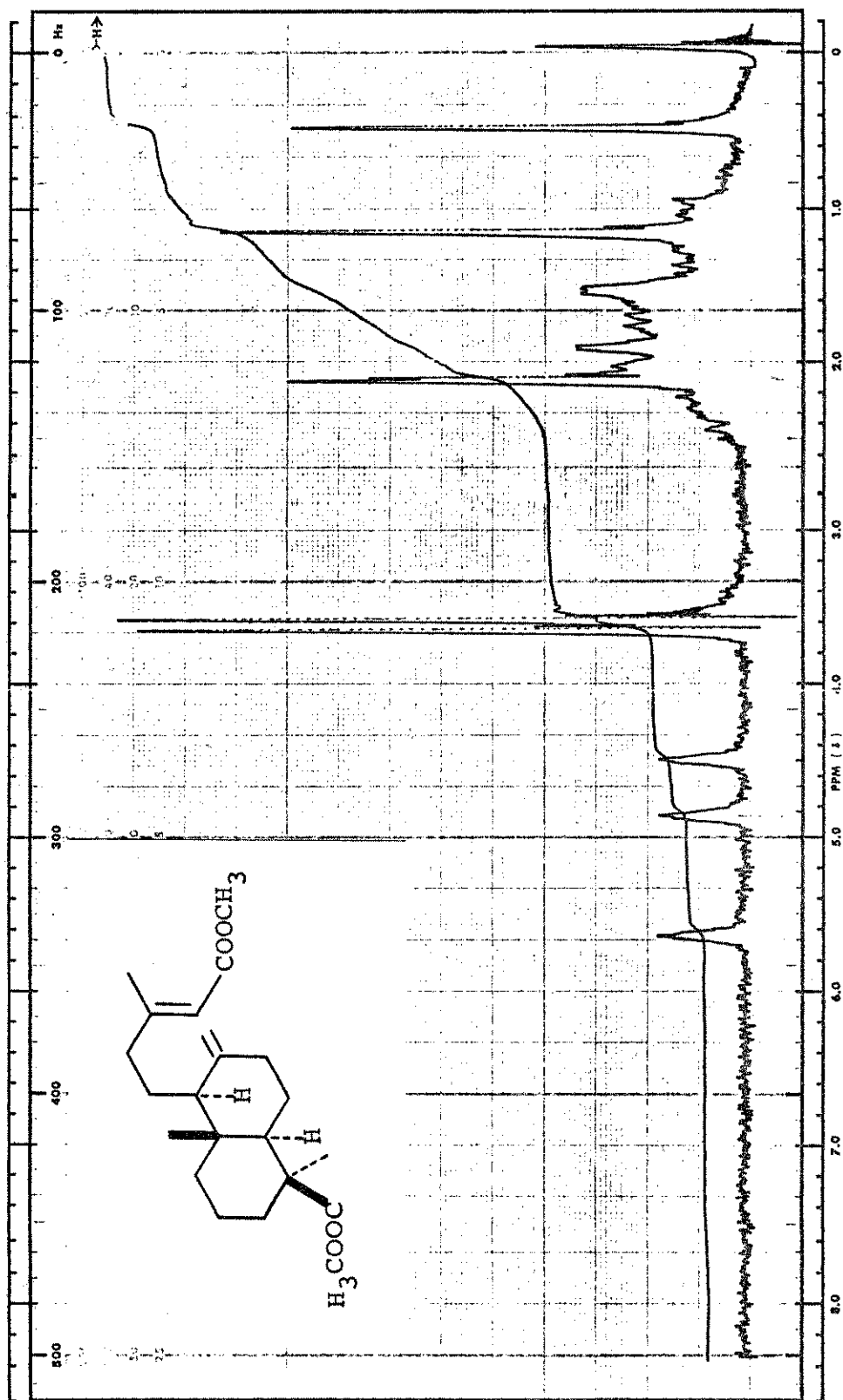


Fig. 8.16. Espectro de RMP (CDCl_3) de AA-26diMe (agatato de dimetila).

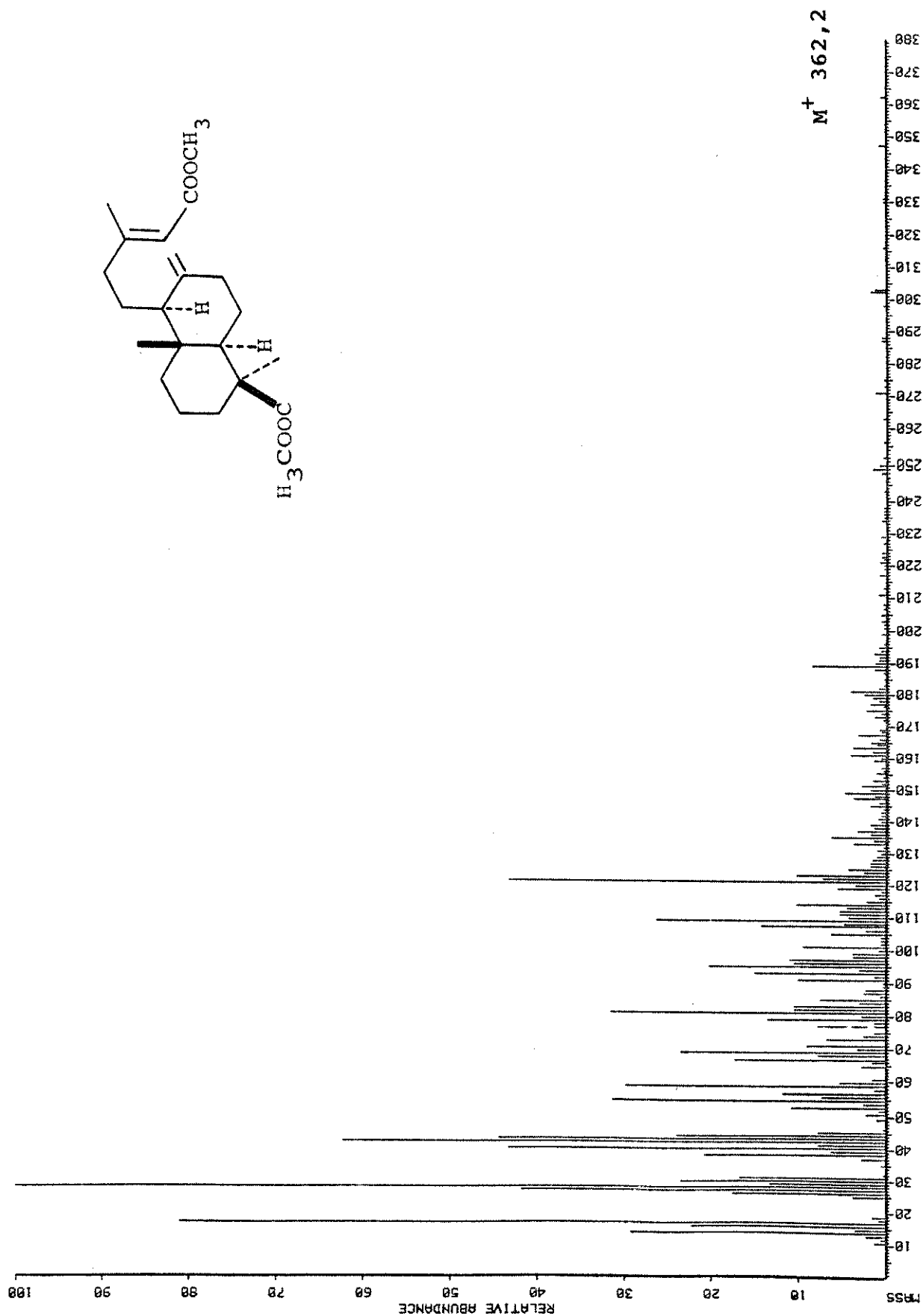


Fig. 8.17. Espectro de massa (MS-9) de AA-26diMe (agatato de dimetila).

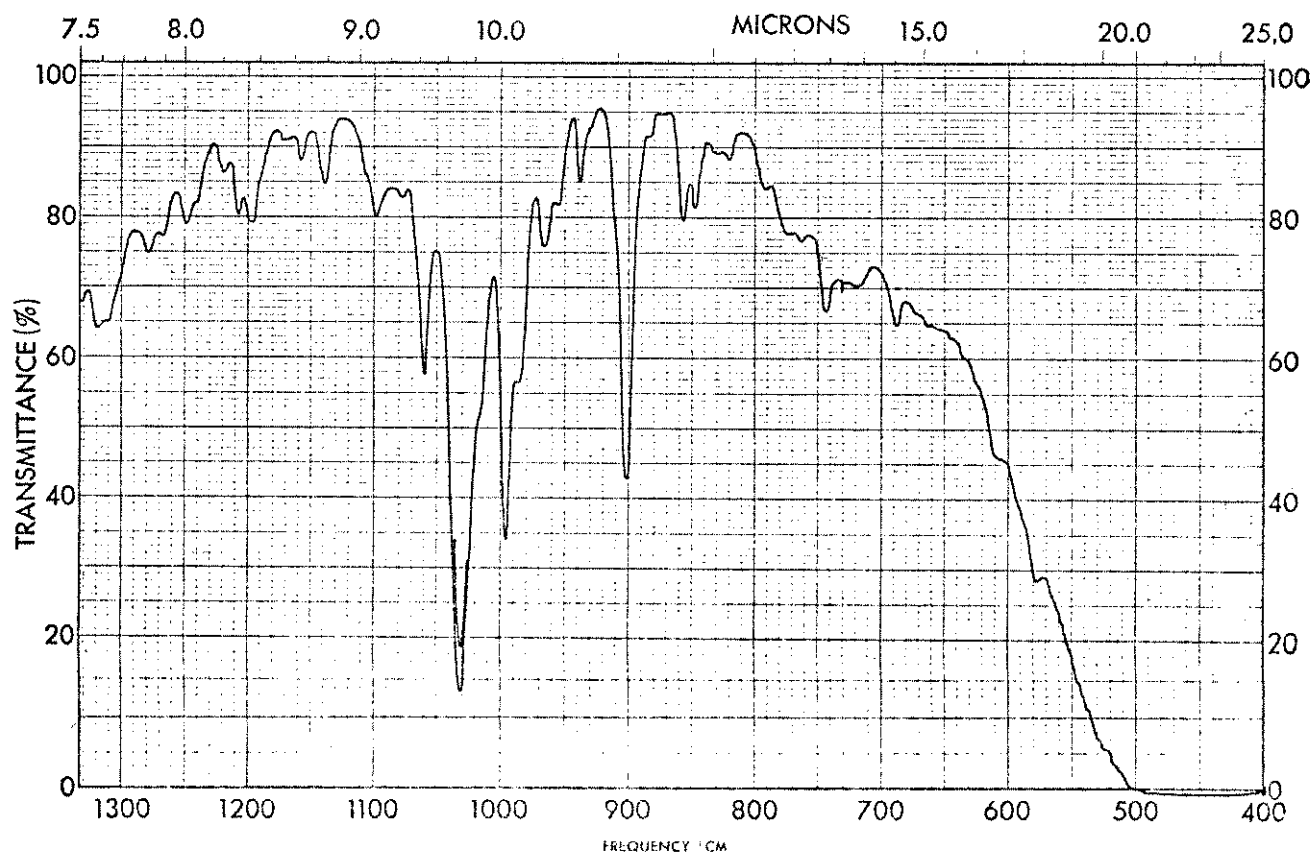
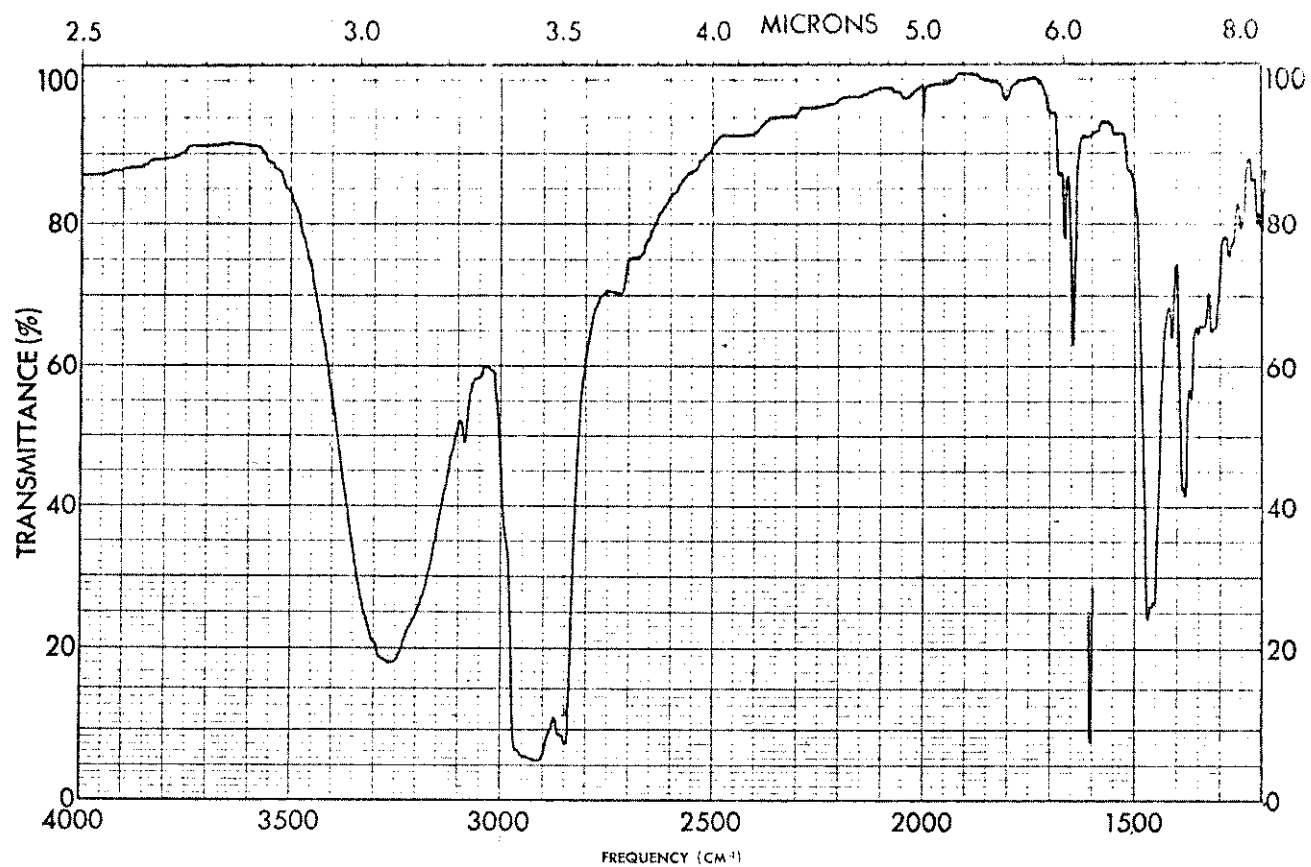


Fig. 8.18. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-26diol (agatadiol).

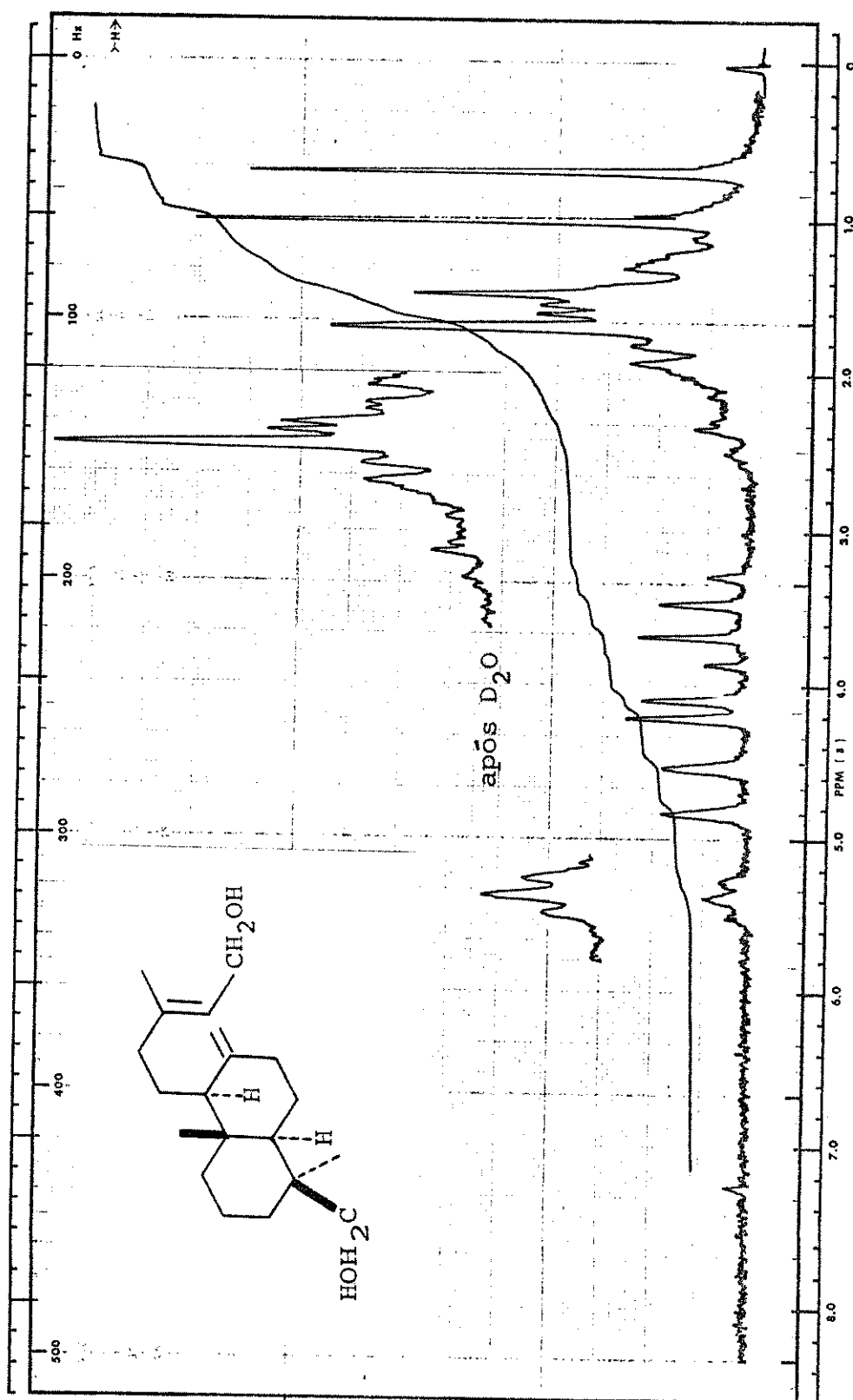


Fig. 8.19. Espectro de RMP (CDCl₃) de AA-26diol (agatadiol).

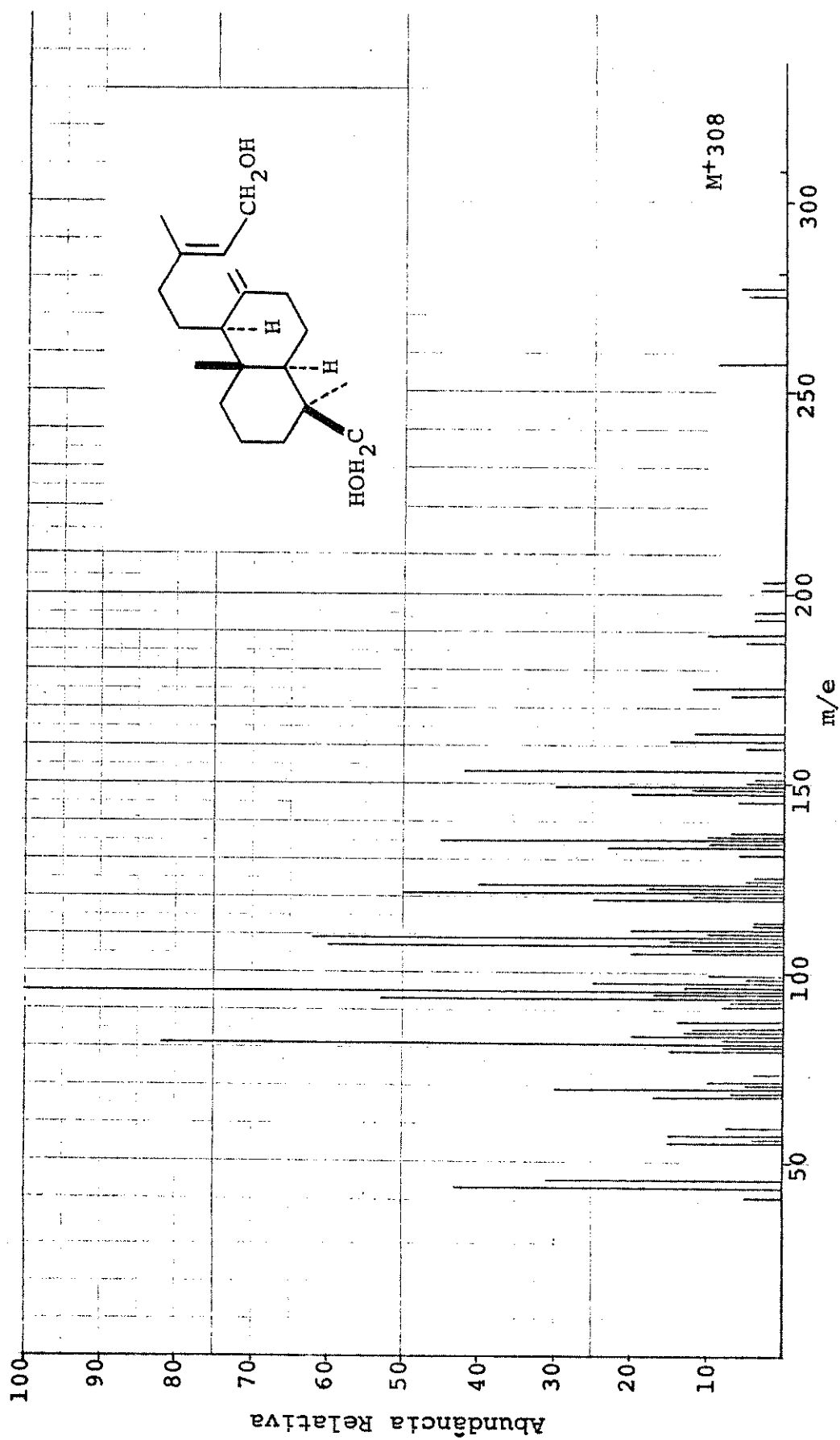


Fig. 8.20. Espectro de massa de AA-26diol (agatadiol).

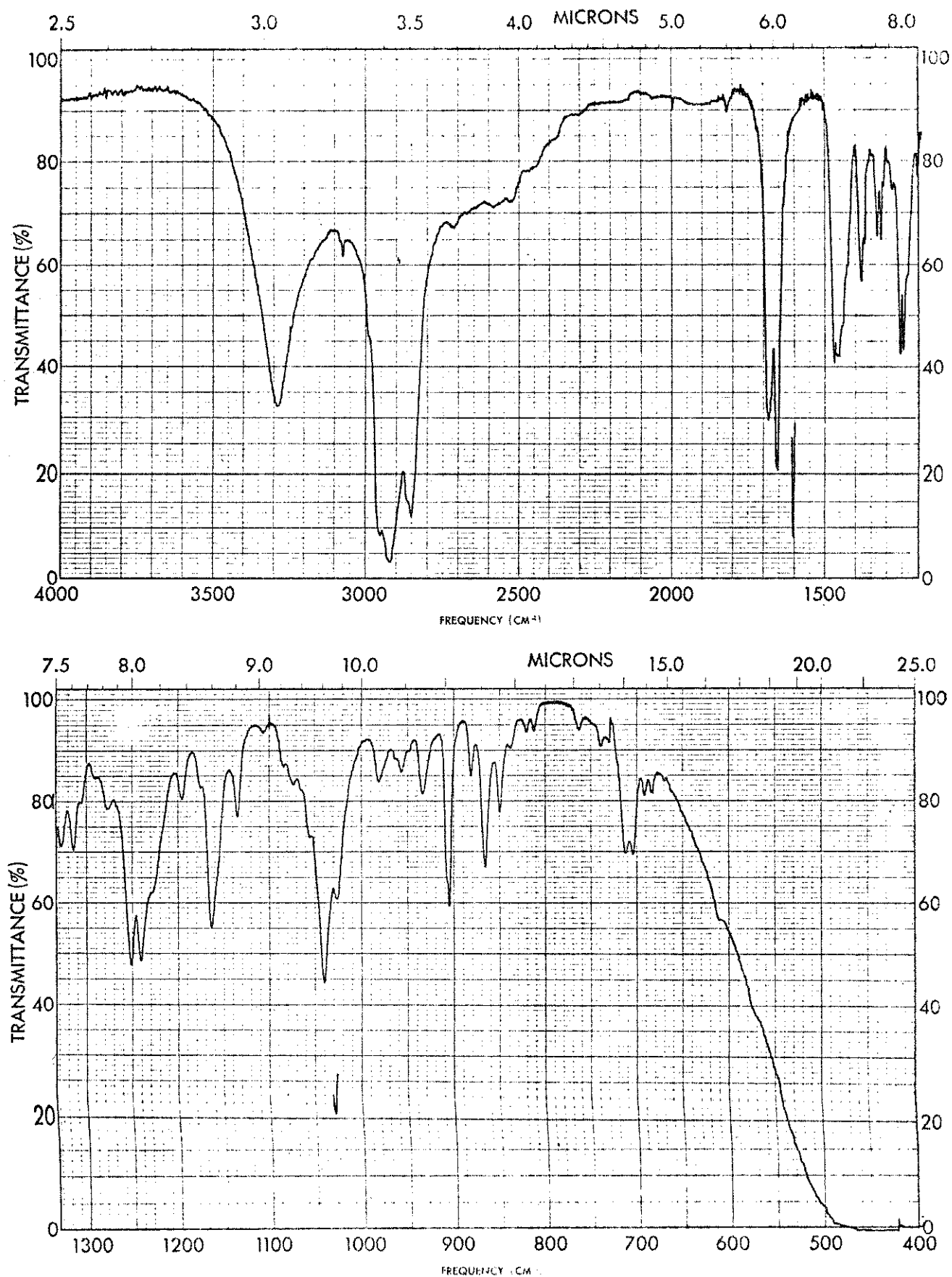


Fig. 8.21. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-29 (ácido agatônico).

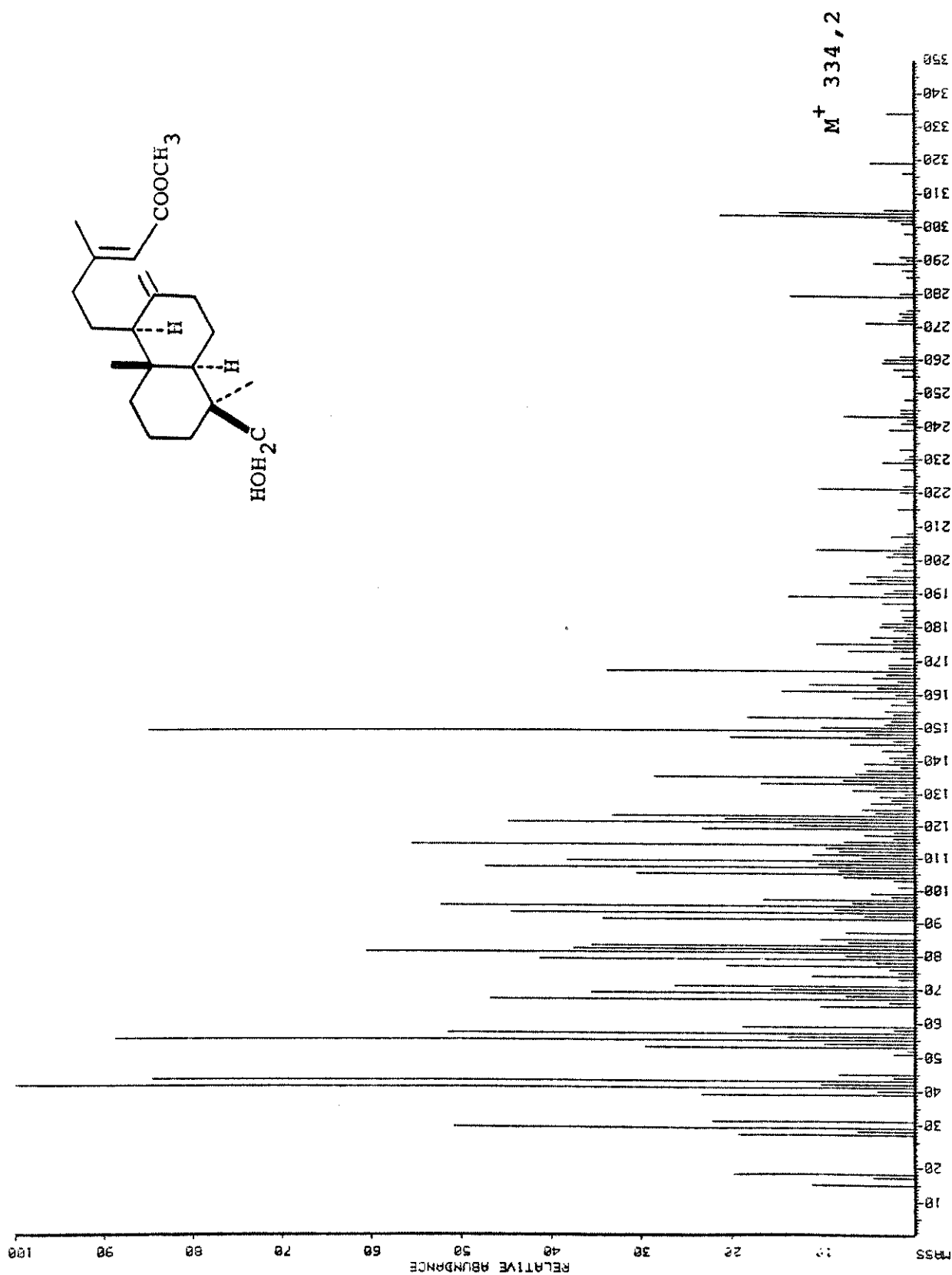


Fig. 8.26. Espectro de massa (CH-7) de AA-29Me (agatolato de metila).

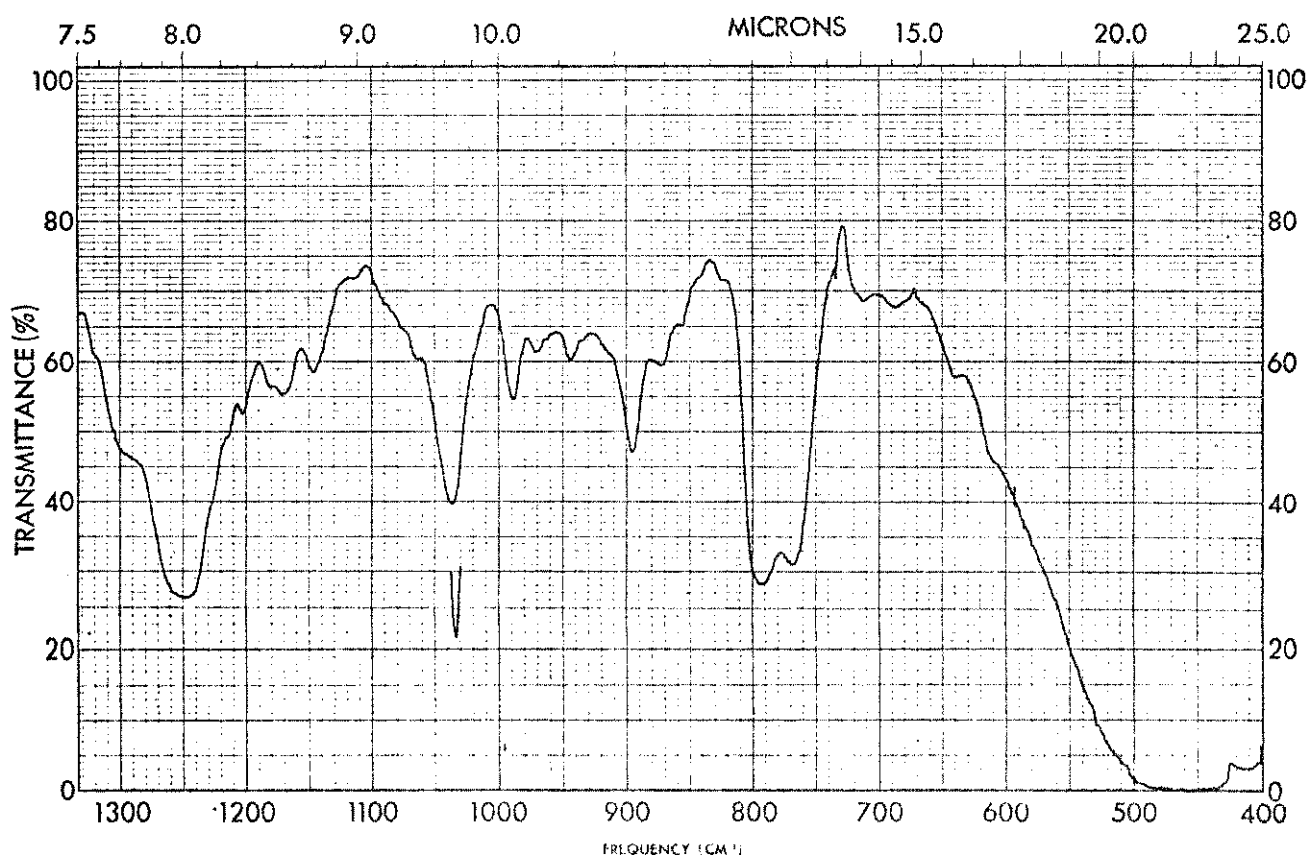
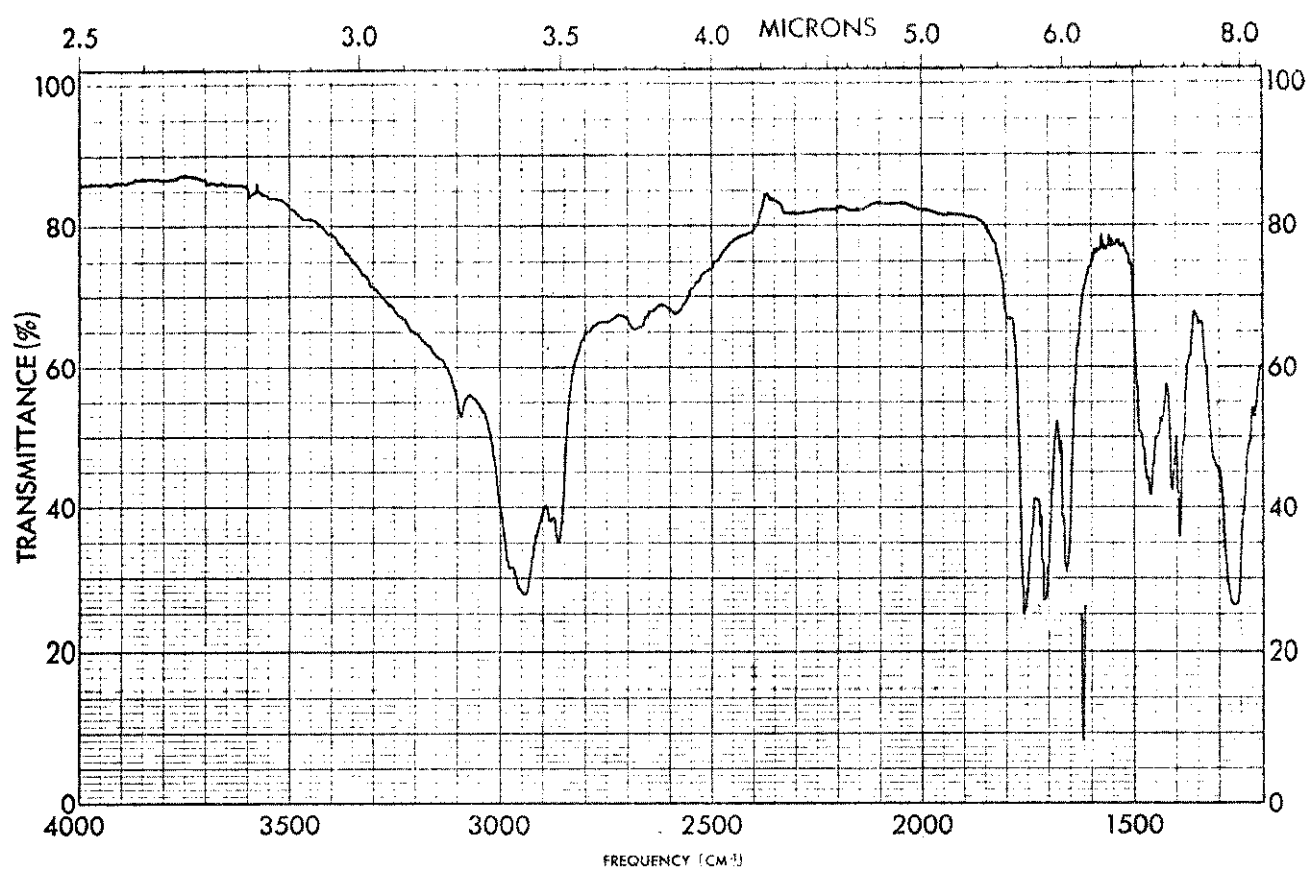


Fig. 8.27. Espectro de absorção no IV (CCl₄) de AA-29Ac (ácido acetil-agatólico).

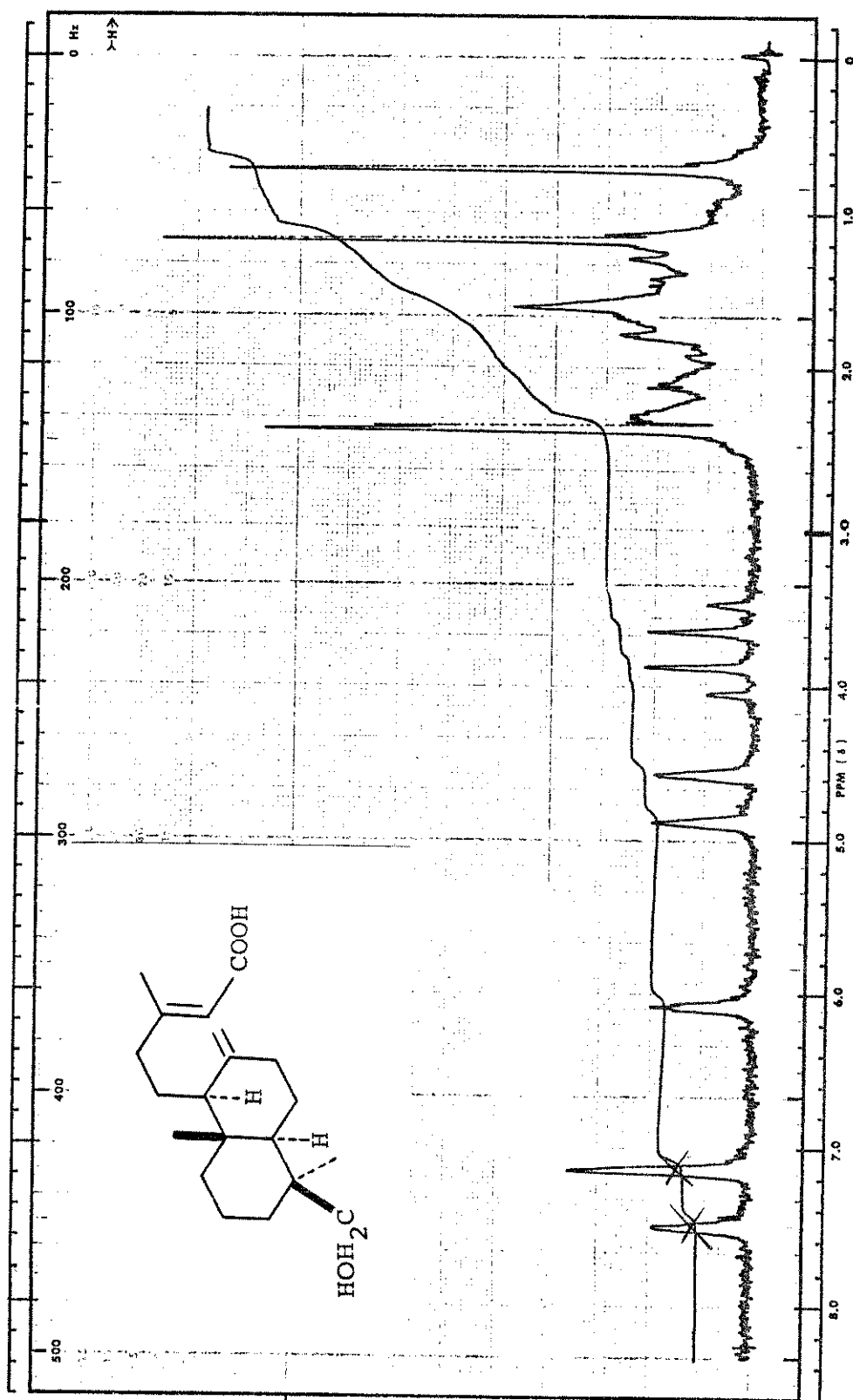


Fig. 8.22. Espectro de RMP (piridina d-5) de AA-29 (ácido agatólico).

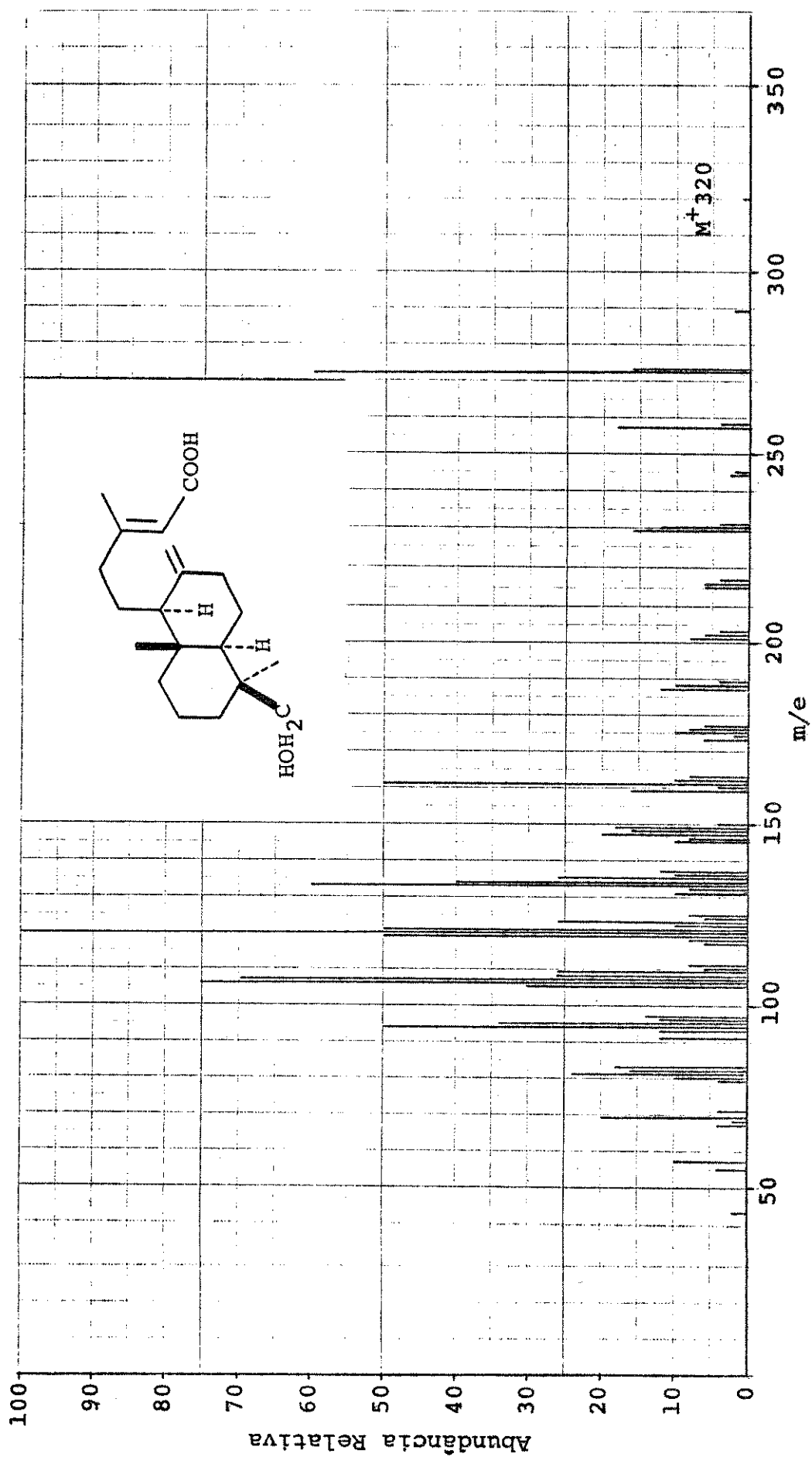


Fig. 8.23. Espectro de massa (1015/SL) de AA-29 (ácido agatônico).

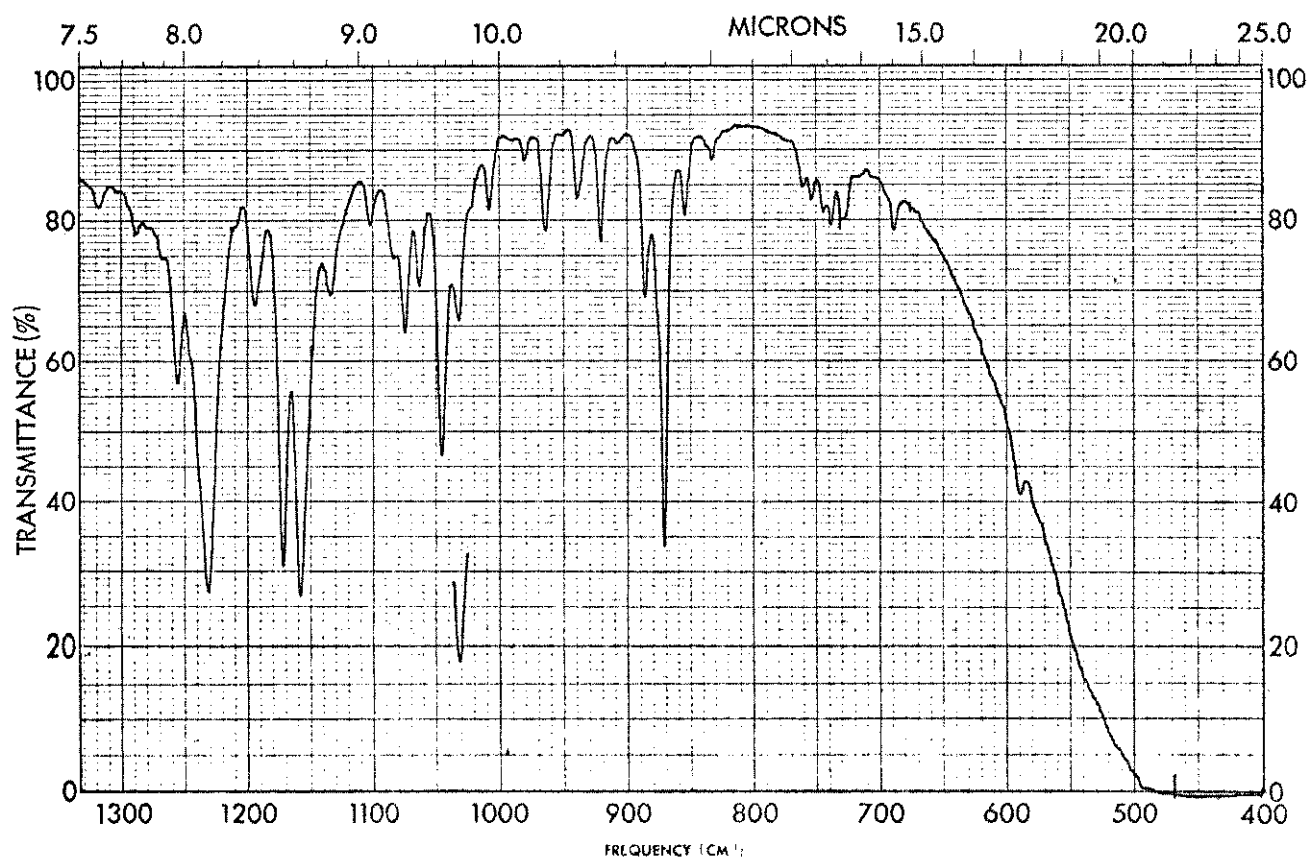
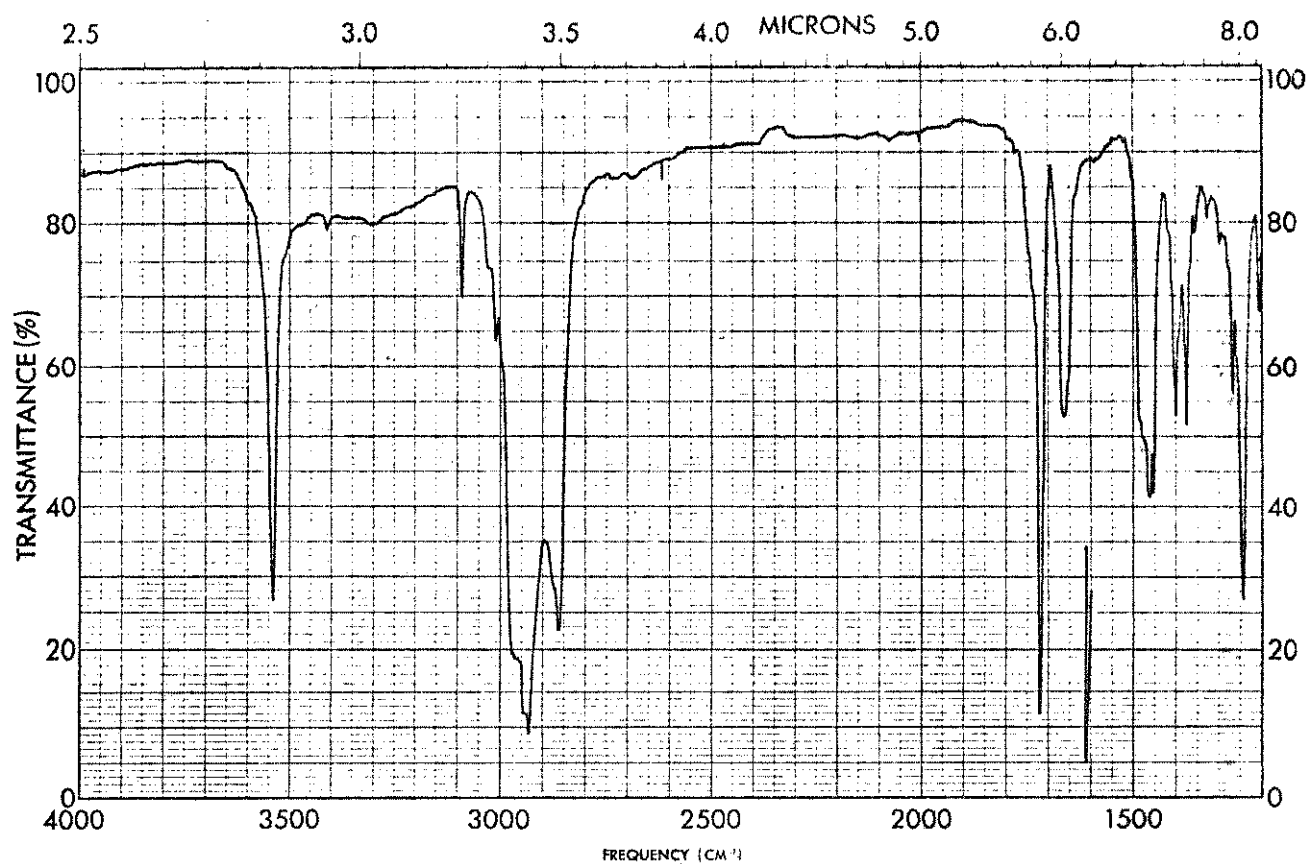


Fig. 8.24. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-29Me (agatolato de metila).

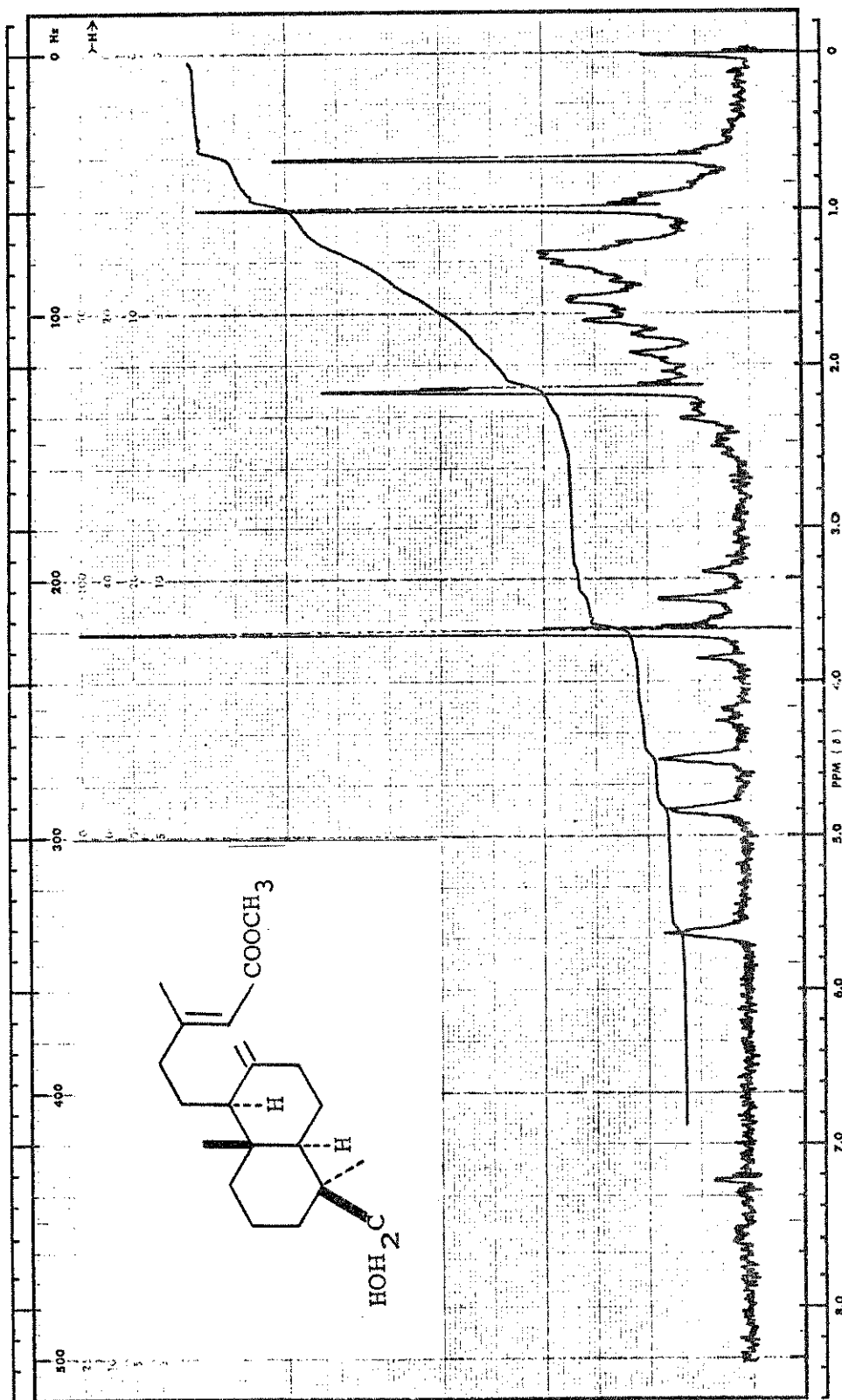


Fig. 8.25. Espectro de RMP (CDCl_3) de AA-29Me (agatolato de metila).

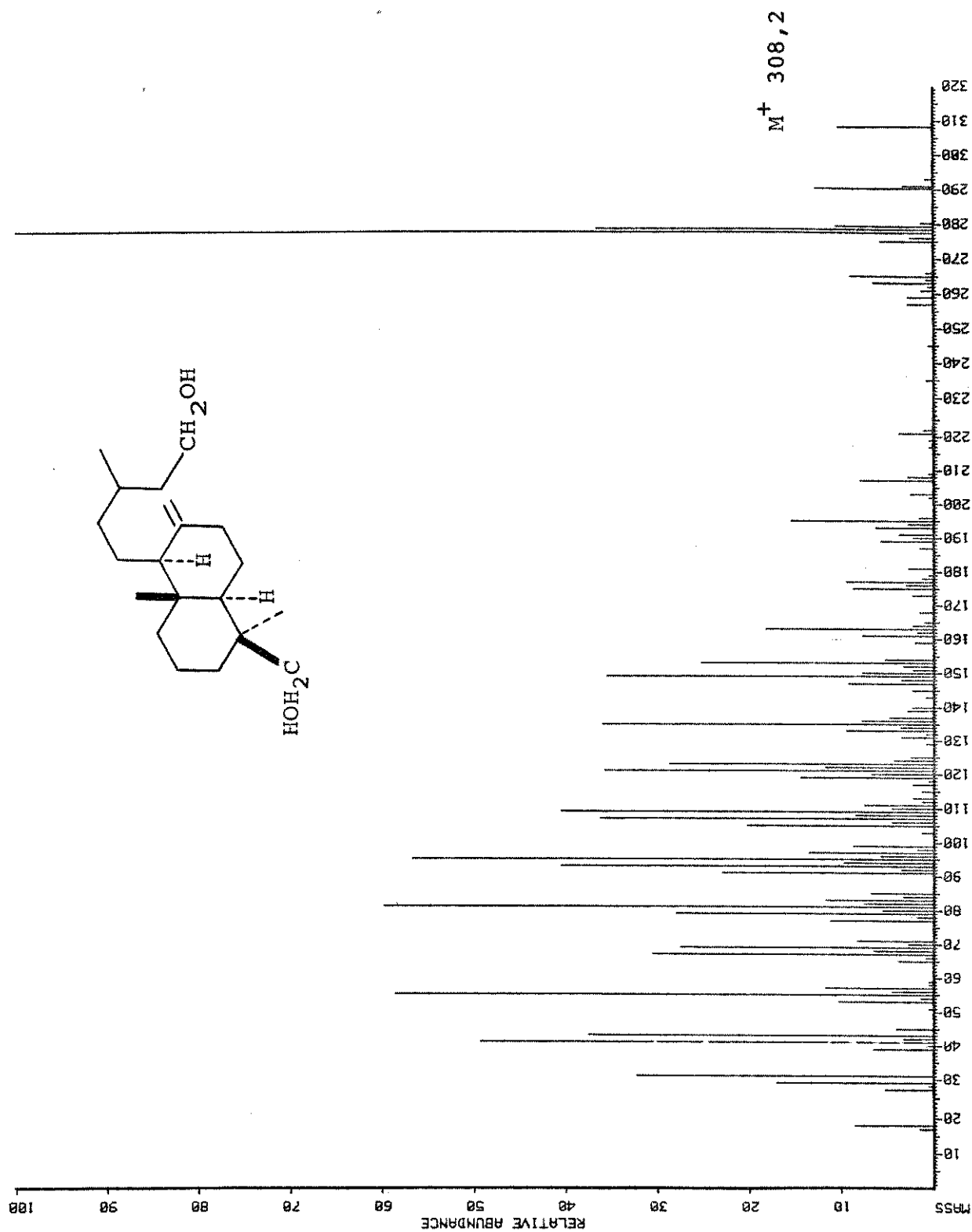


Fig. 8.40. Espectro de massa (CH-7) de AA-3ldiol (imbricatadiol).

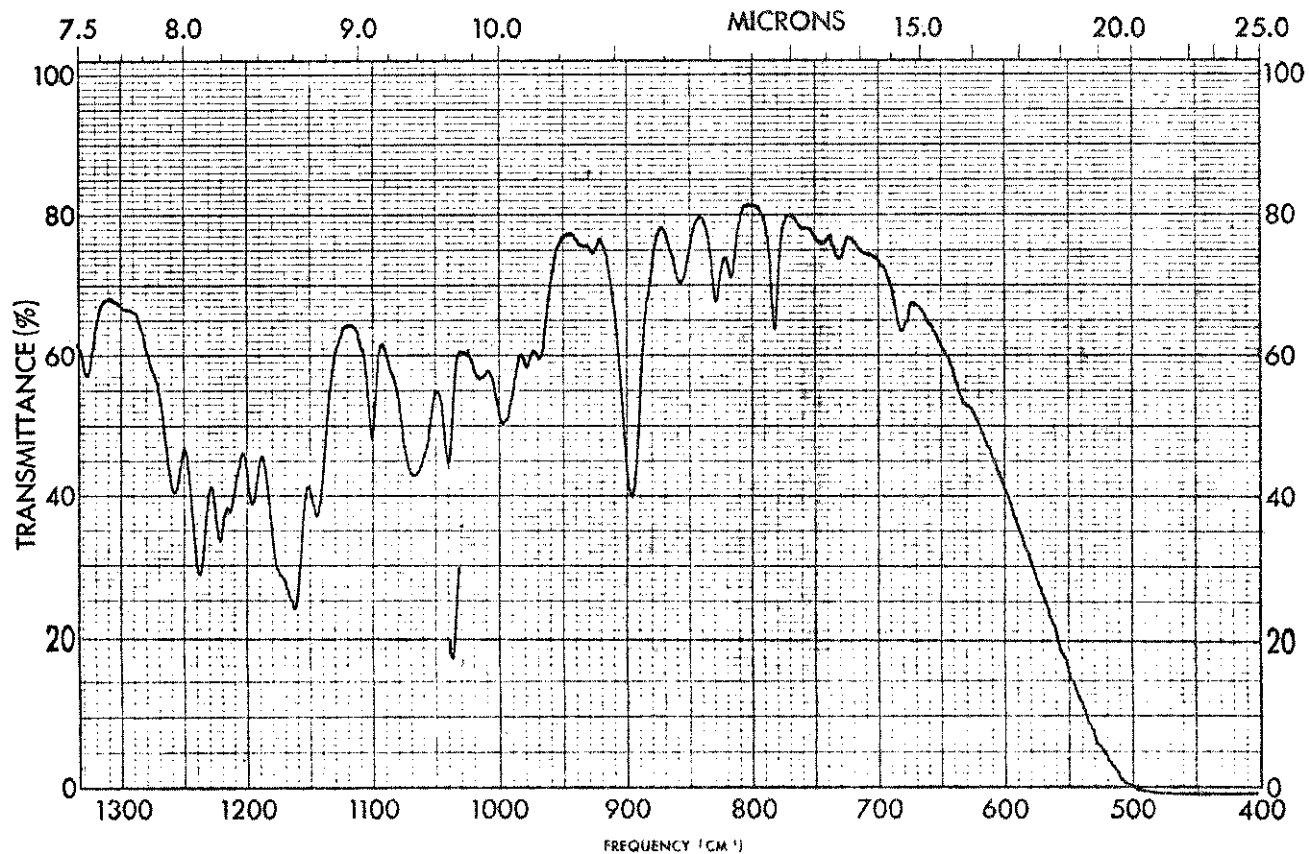
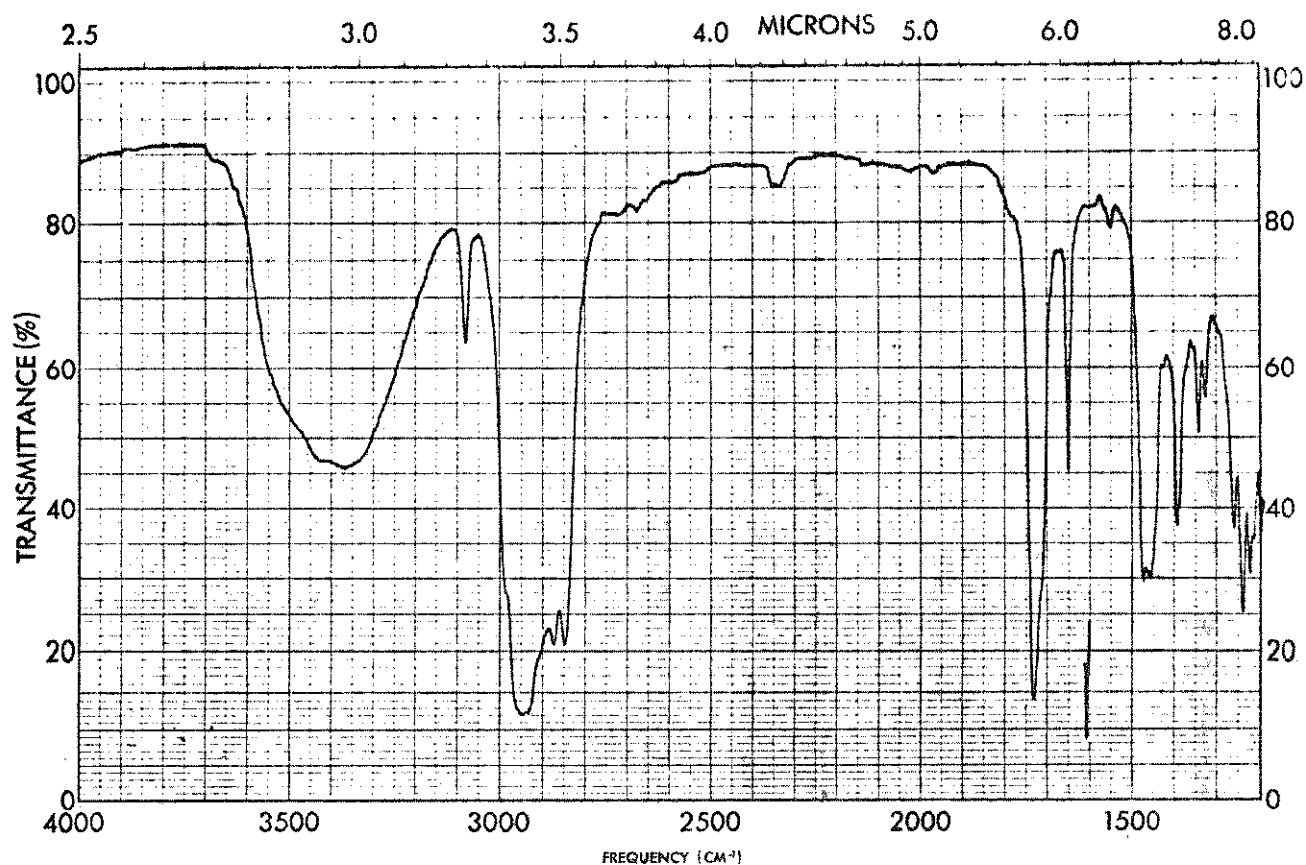


Fig. 8.35. Espectro de absorção no IV (filme) de AA-31Me (imbricatolato de metila).

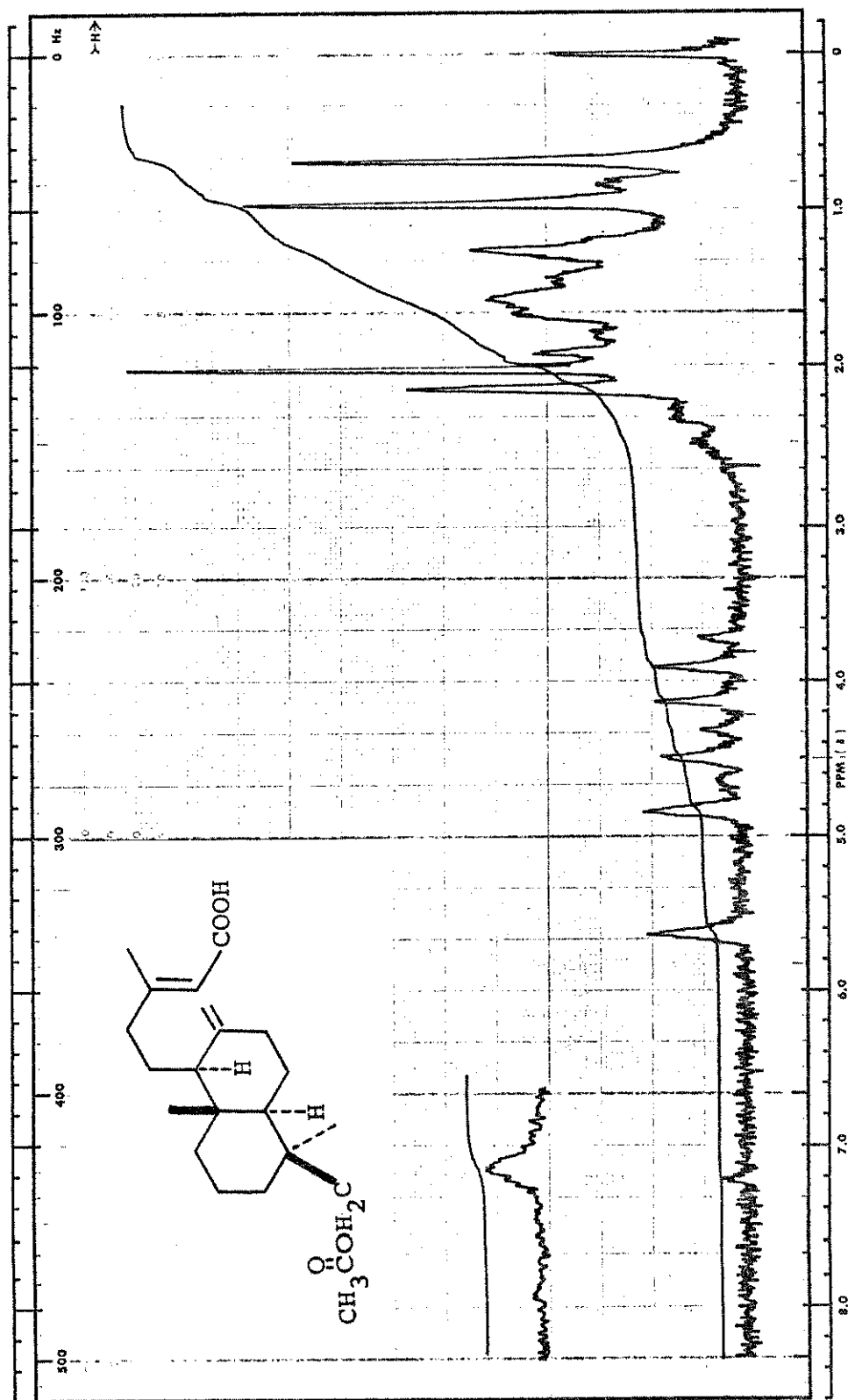


Fig. 8.28. Espectro de RMP (CDCl_3) de AA-29Ac (ácido acetil-agatólico).

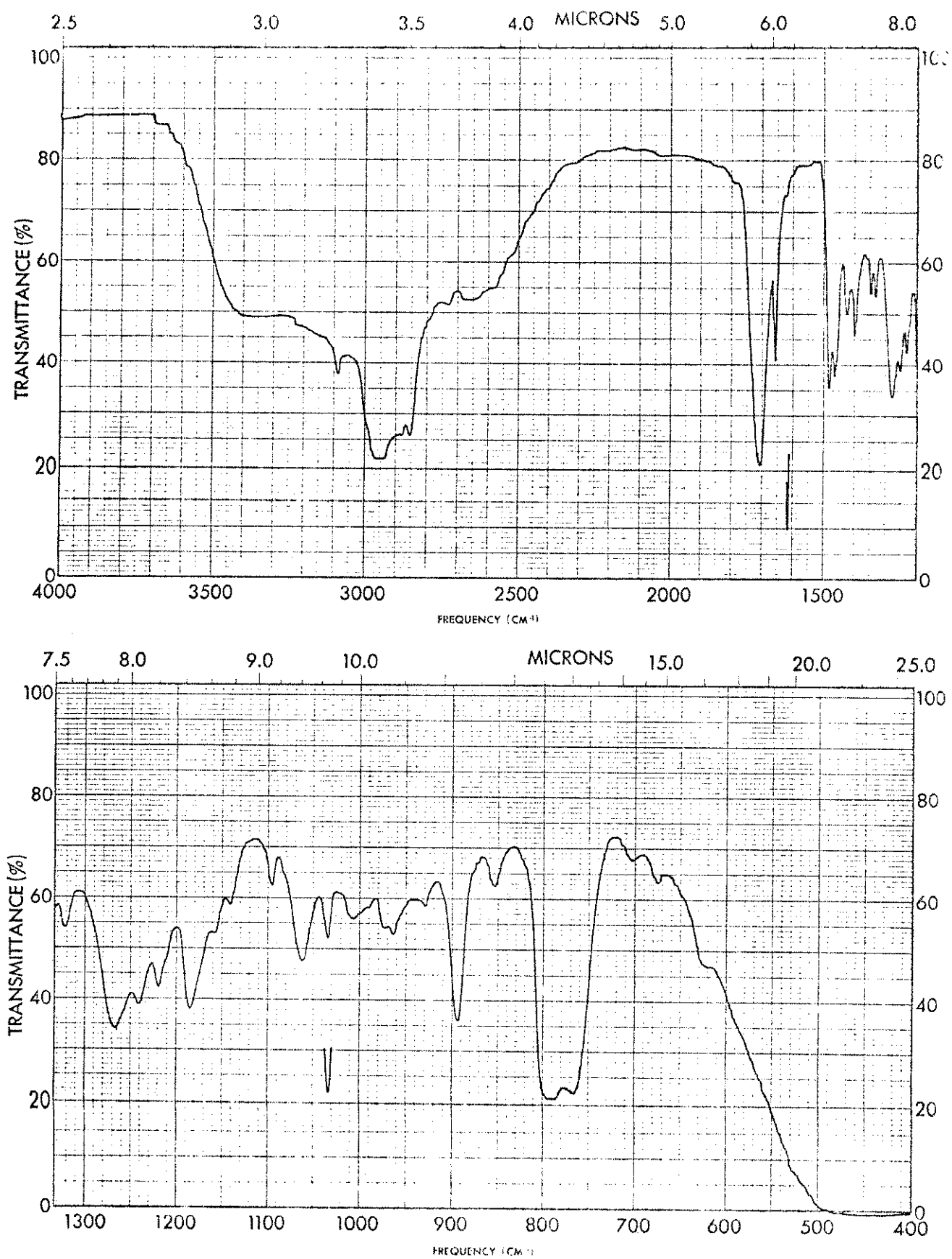


Fig. 8.29. Espectro de absorção no IV (CCl_4) de AA-31 (ácido imbricatônico).

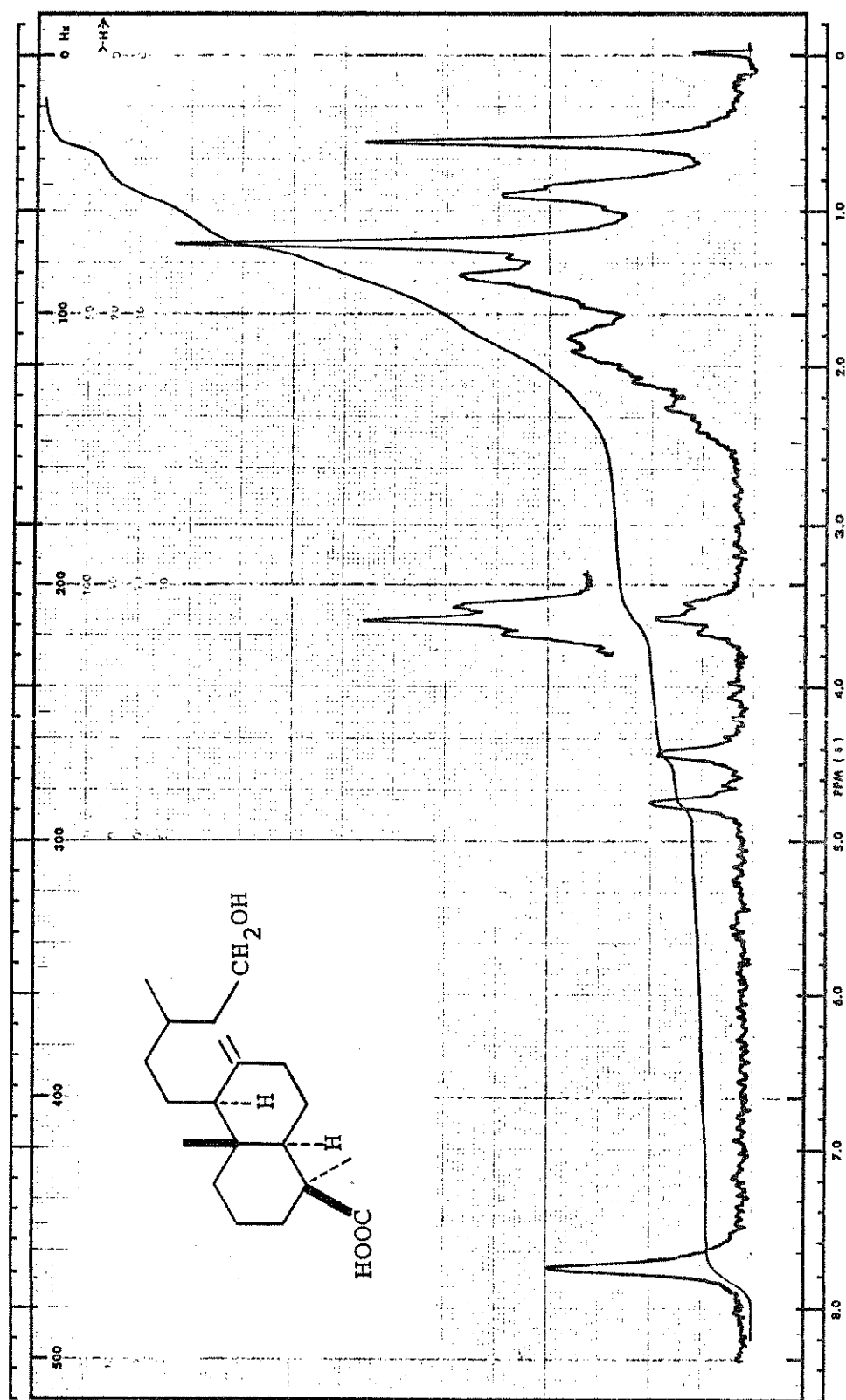


Fig. 8.30. Espectro de RMP (CDCl_3) de AA-31 (ácido imbricatólico).

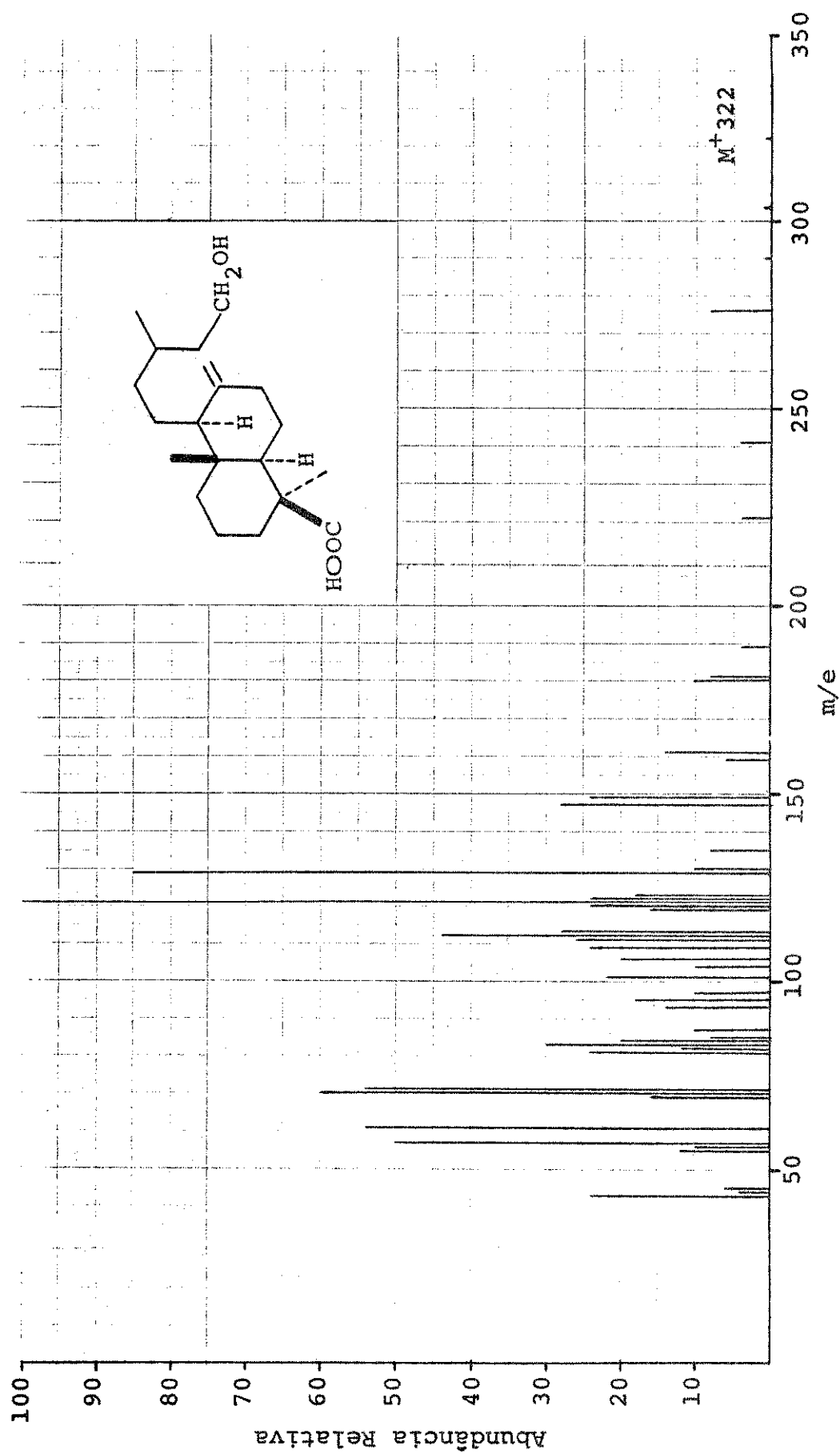


Fig. 8.31. Espectro de massa (1015/SL) de AA-31 (ácido imbricatólico).

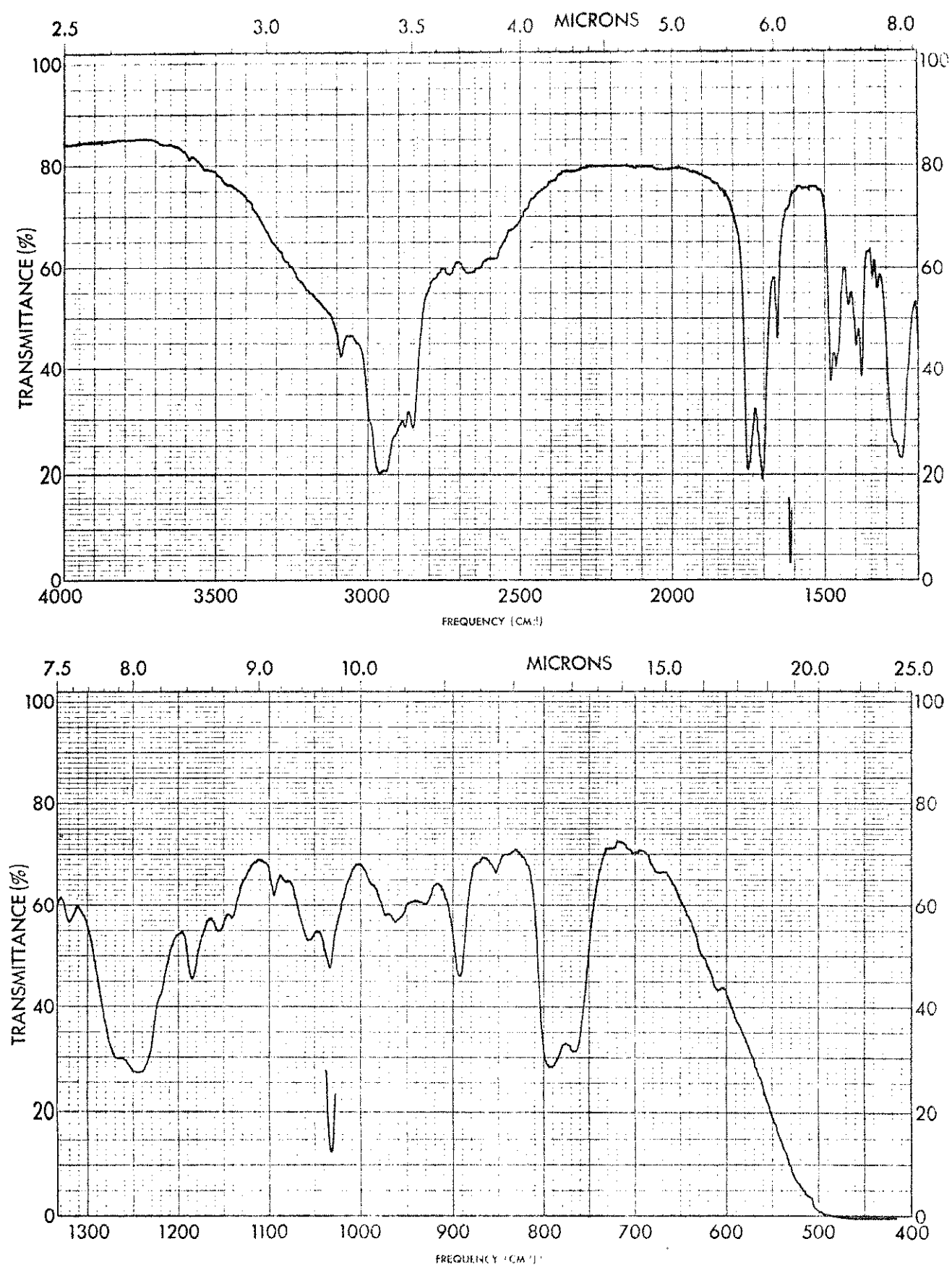


Fig. 8.32. Espectro de absorção no IV (CCl₄) de AA-31Ac (ácido acetil-imbricatólico).

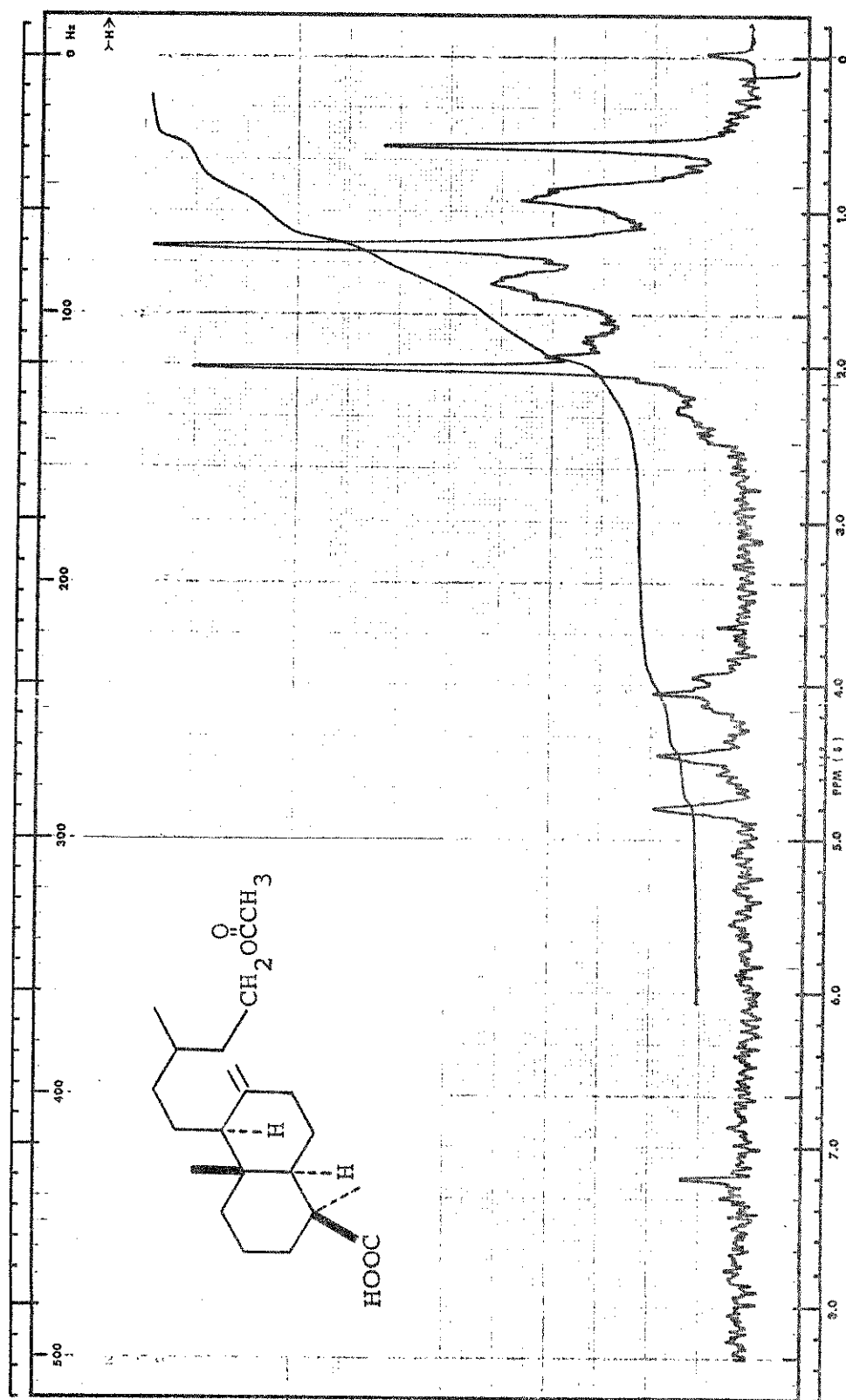


Fig. 8.33. Espectro de RMP (CDCl₃) de AA-3lac (ácido acetil-imbricatólico).



Fig. 8.34. Espectro de massa (MS-9) de AA-31Ac (ácido acetil-imbricatólico).

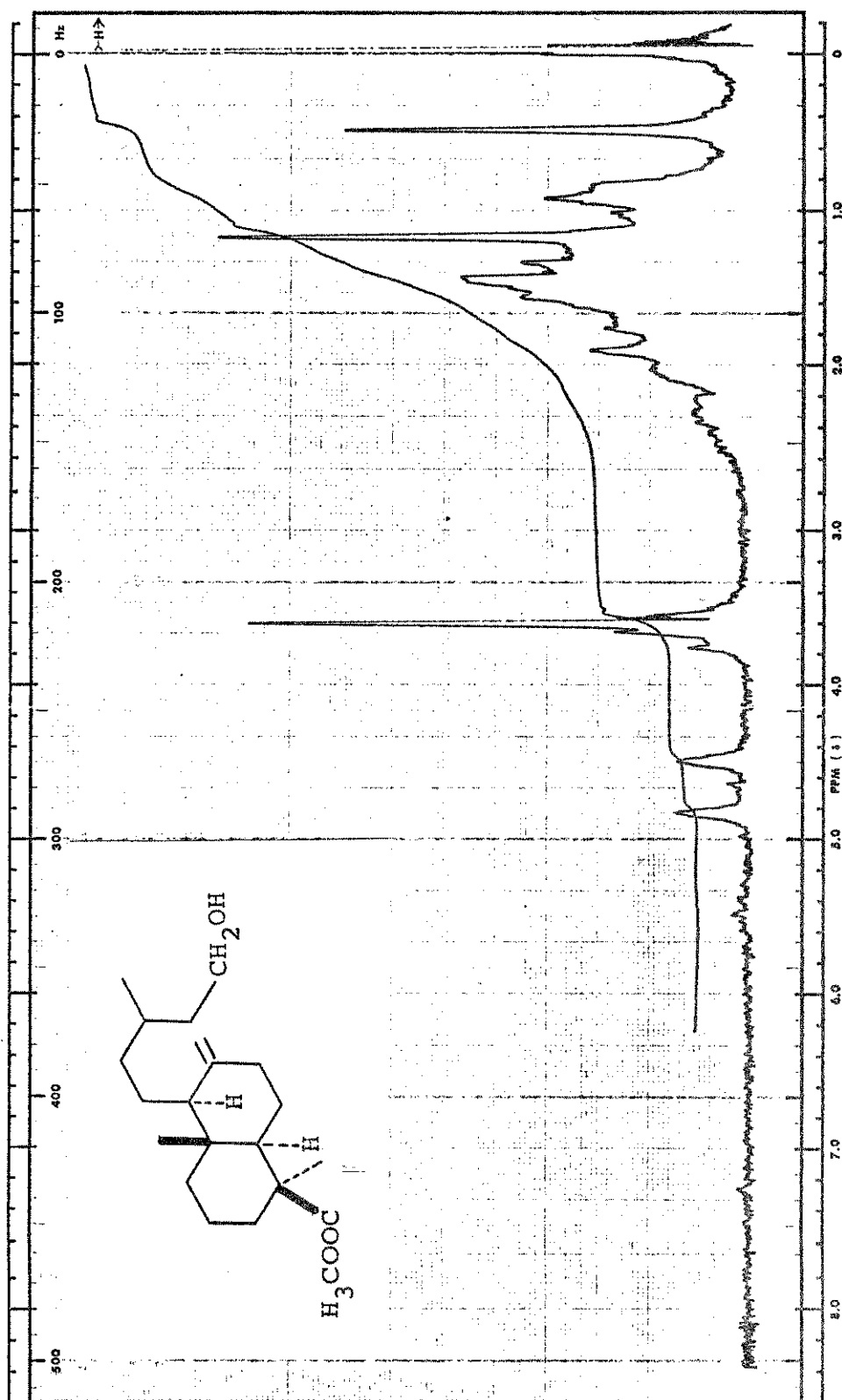


Fig. 8.36. Espectro de RMP (CDCl₃) de AA-3lMe (imbricatolato de metila).

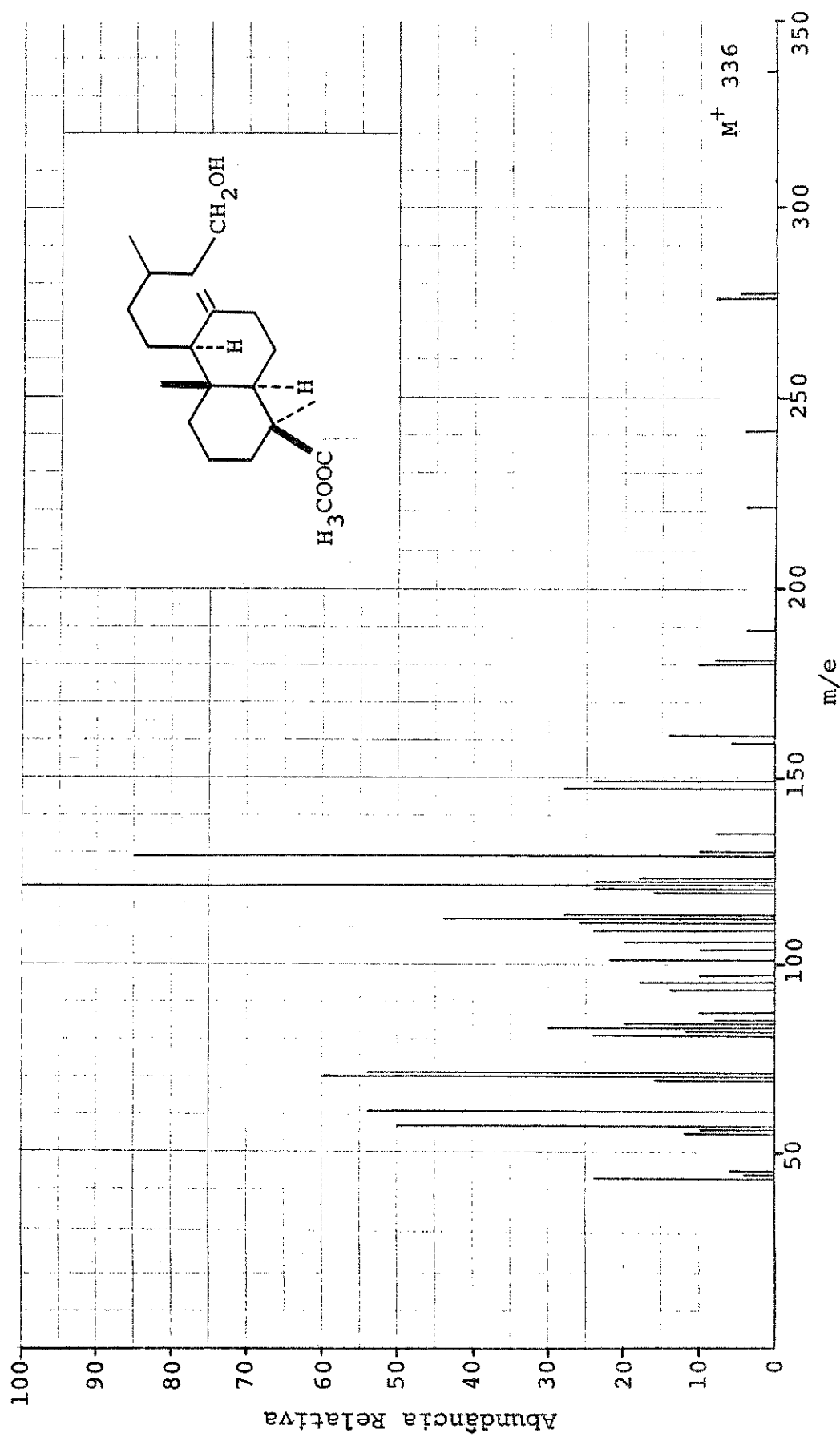


Fig. 8-37. Espectro de massa (1015/SL) de AA-3lMe (imbricatolato de metila).

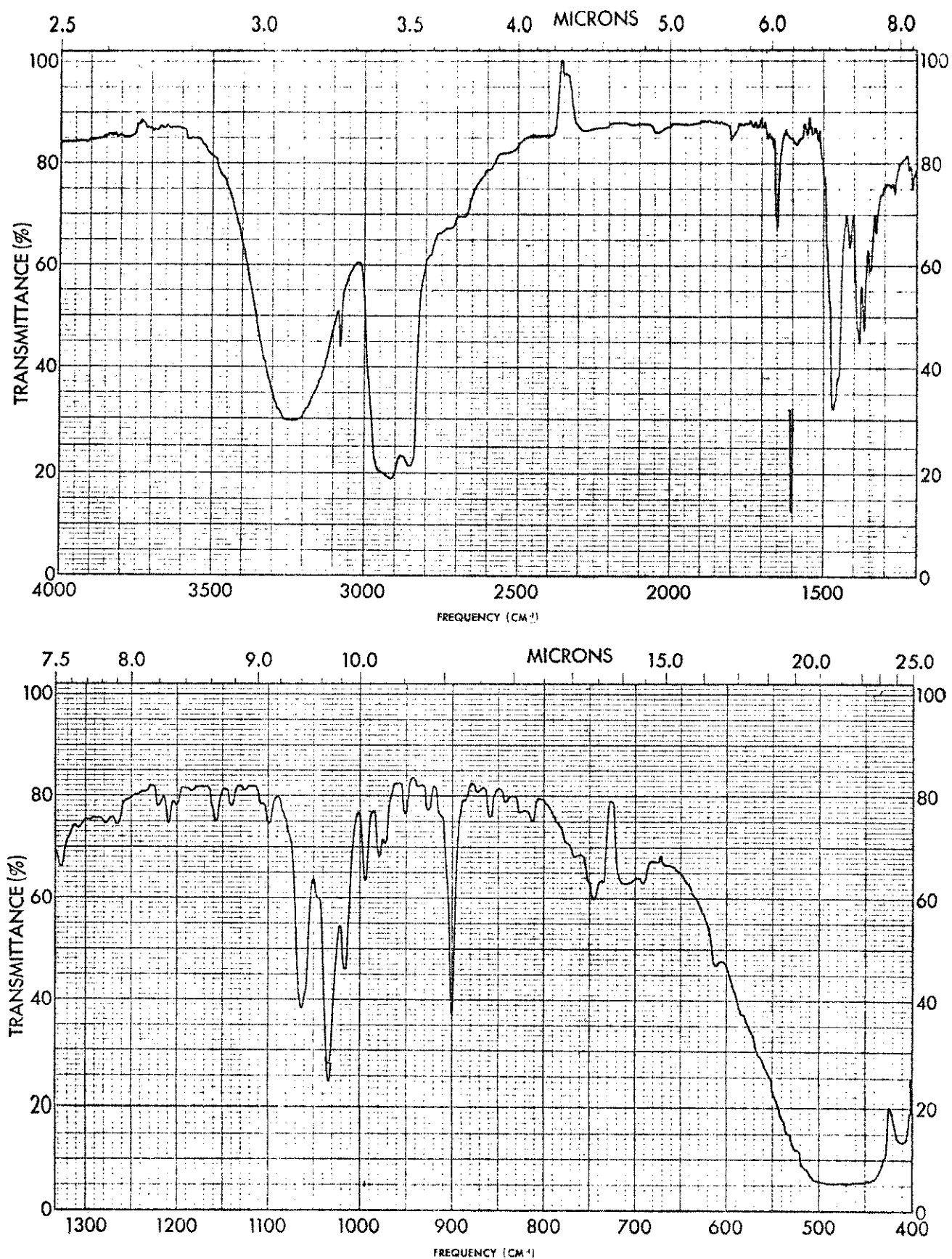


Fig. 8.38. Espectro de absorção no IV (nujol) de AA-3ldiol (imbricatadiol).

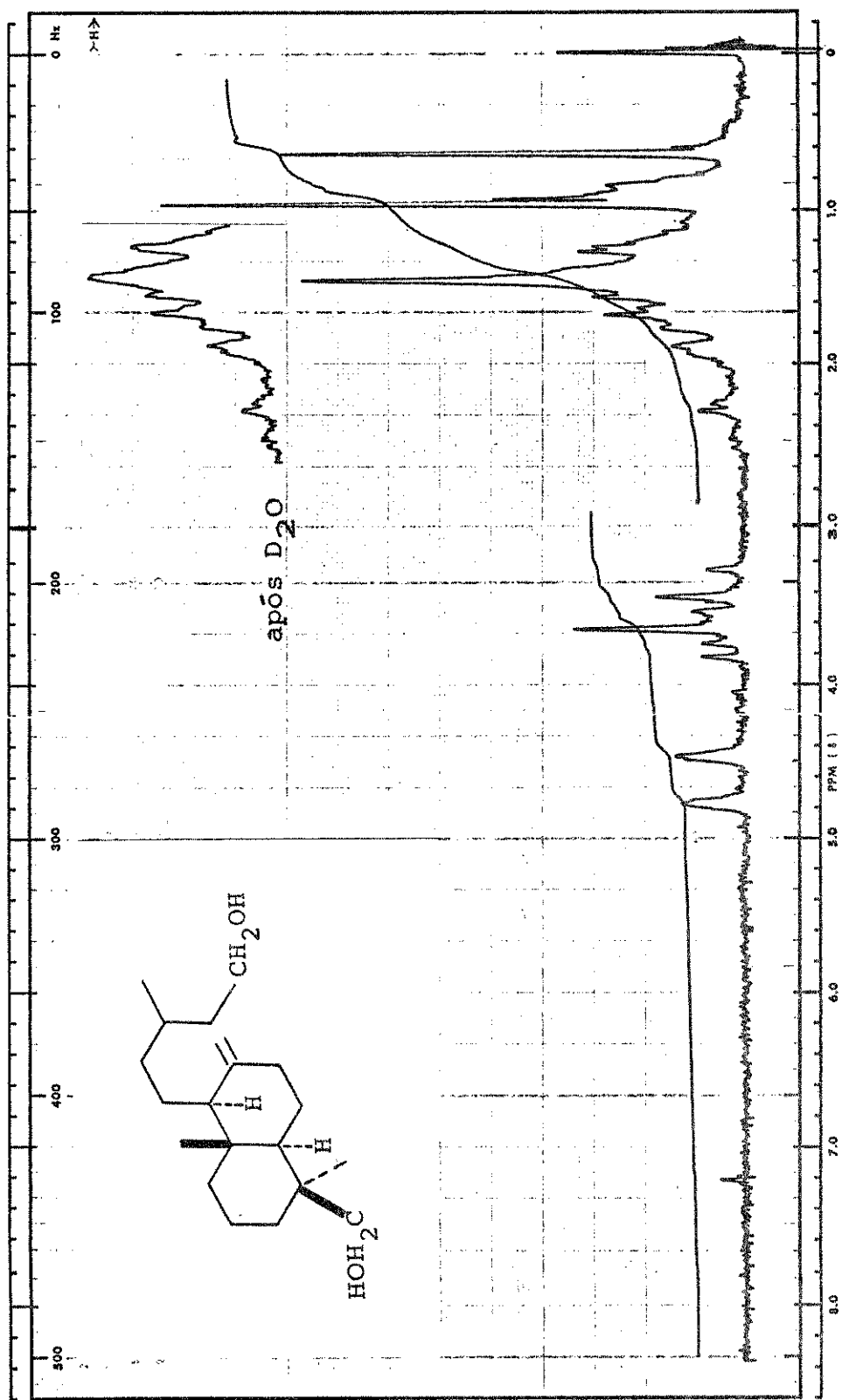


Fig. 8.39. Espectro de RMP (CDCl_3) de AA-3Idiol (imbricatadiol).