

ESTUDO QUÍMICO DE UMA SAPOTACEA
E DE *TOVOMITA BRASILIENSIS*

TESE

APRESENTADA AO DECANATO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE
FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO,
PARA O GRAU DE "MAGISTER SCIENTIAE"

CARLOS ALBERTO SILVA MIRANDA

1 9 7 9

A presente tese foi elaborada sob a orientação
do professor

RAIMUNDO BRAZ FILHO

A memória de meu pai

A minha mãe e meu tutor pela abnegação em meus estudos, minha gratidão.

A meu irmão e meus amigos, meu incentivo.

Olhe para o seu interior.
Nele está a fonte da sabedoria
que borbulhará se você a escavar.

O autor deseja expressar sinceros agradecimentos

ao Prof. Raimundo Braz Filho, pela dedicação na orientação, confiança, estímulo, amizade e por sua valiosa contribuição na realização deste trabalho;

ao Prof. Otto Richard Gottlieb, pela co-orientação, ensinamentos, estímulo e amizade;

à Profa. Maria Auxiliadora Coelho Kaplan, por seus ensinamentos, estímulo e amizade;

ao Prof. Schezna Elias Cynamon, Chefe do Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental da Escola Nacional de Saúde Pública (FIOCRUZ), a gratidão pela oportunidade, compreensão, estímulo e facilidades oferecidas que permitiram a realização deste trabalho;

ao Prof. Hermann G. Schatzmayr (FIOCRUZ), a gratidão pelo incentivo;

aos colegas e funcionários da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela amizade, incentivo e serviços prestados;

aos Profs. Paul M. Baker e J. Jóia, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN) - UFRJ, pela obtenção dos espectros de massa, r.m.n. ^1H a 100 MHz e r.m.n. ^{13}C ;

ao Dr. Hugo E. Gottlieb, pela obtenção dos espectros de R.M.N. ^1H a 270 MHz;

ao Dr. Mauro Taveira Magalhães, pelo material botânico para realização deste trabalho;

à Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), pela oportunidade concedida para realização deste trabalho;

aos Professores e funcionários da Universidade Federal do Ceará, pela obtenção dos espectros de infra-vermelho;

ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudos durante a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	xiv
ÍNDICE DE QUADROS	xvii
INTRODUÇÃO	1
<u>CAPÍTULO I</u>	
Estudo químico da Sapotácea nº 250 (INPA)	5
1. A planta e seus constituintes	5
2. Determinação estrutural de seus constituintes	6
3. Parte experimental	21
<u>CAPÍTULO II</u>	
Estudo de r.m.n. ¹³ C de xantonas	45
1. Xantona	45
2. Efeito de substituintes oxigenados em xantonas	46
2.1 - Xantonas mono-oxigenadas	46
2.2 - Xantonas dioxigenadas	51
2.3 - Xantonas trioxigenadas	55
2.4 - Xantonas tetra e penta oxigenadas	58
2.5 - Xantonas preniladas	61
<u>CAPÍTULO III</u>	
Estudo químico de <i>Tovomita brasiliensis</i>	70

	Pág.
1. A planta e seus constituintes	70
2. Determinação estrutural dos constituintes de <i>Tovomita brasiliensis</i>	71
3. Parte experimental	157
4. Dados físicos e espectroscópicos	166
 <u>CAPÍTULO IV</u>	
Biossíntese de xantonas	175
 <u>CAPÍTULO V</u>	
RESUMO	188
ABSTRACT	189
BIBLIOGRAFIA	190

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1 Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado de Sa-3C, em CDCl ₃	28
Fig. 2 Espectro de r.m.n. ¹ H (270 MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl ₃	29
Fig. 3 Espectro de r.m.n. ¹ H (270 MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl ₃ , expandido	30
Fig. 4 Espectro de r.m.n. ¹ H (270 MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl ₃ , com dupla irradiação.	31
Fig. 5 Espectro de r.m.n. ¹ H (270 MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl ₃ , com dupla irradiação.	32
Fig. 6 Espectro de r.m.n. ¹ H (270 MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl ₃ , com dupla irradiação.	33
Fig. 7 Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado hidrolisado de Sa-3C em CDCl ₃	34
Fig. 8 Espectro de massa de Sa-3C	35
Fig. 9 Espectro de massa do derivado hidrolisado de Sa-3C	36
Fig. 10 Espectro de massa de sitosterol	37
Fig. 11 Espectro no infra-vermelho de Sa-3C. Fase KBr...	41
Fig. 12 Espectro no infra-vermelho do derivado acetilado de Sa-3C. Fase KBr	42
Fig. 13 Espectro no infra-vermelho do derivado hidrolisado de Sa-3C. Fase KCl	43

	Pág.
Fig. 14	Valores de absorção dos átomos de carbono em r.m.n. ¹³ C de Sa-3Cac 44
Fig. 15	Espectro no infra-vermelho de Tb-3. Fase KBr... 90
Fig. 16	Espectro no infra-vermelho de Tb-3Ac. Fase KBr.. 91
Fig. 17	Espectro no ultra-violeta de Tb-3. 1) EtOH. 2) EtOH + NaOH. 3) EtOH + NaOH + HCl 92
Fig. 18	Espectro no ultra-violeta de Tb-3. 1) EtOH. 2) EtOH + AlCl ₃ . 3) EtOH + AlCl ₃ + HCl 93
Fig. 19	Espectro no ultra-violeta de Tb-3. 1) EtOH. 2) EtOH + AcONa. 3) EtOH + AcONa + H ₃ BO ₃ 94
Fig. 20	Espectro de massa de Tb.3 95
Fig. 21	Espectro de massa de Tb-3Ac 95
Fig. 22	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) de Tb.3. CDCl ₃ + (CD ₃) ₂ SO como solventes e TMS como referência interna 98
Fig. 23	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) de Tb.3, com adição de D ₂ O. CDCl ₃ + (CD ₃) ₂ SO como solventes e TMS como referência interna 99
Fig. 24	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) de Tb-3Ac. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 100
Fig. 25	Espectro de r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) totalmente desacoplado de Tb-3Ac. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 101
Fig. 26	Espectro de r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) com acoplamento residual de Tb-3Ac. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 102

Fig. 27	Espectro no infra-vermelho de Tb-1. Fase KBr...	106
Fig. 28	Espectro no ultra-violeta de Tb-1. 1) EtOH. 2) EtOH + NaOH. 3) EtOH + NaOH + HCl	107
Fig. 29	Espectro no ultra-violeta de Tb-1. 1) EtOH. 2) EtOH + AlCl ₃ . 3) EtOH + AlCl ₃ + HCl	108
Fig. 30	Espectro de massa de Tb-1	109
Fig. 31	Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) de Tb-1. CCl ₄ como solvente e TMS como referência interna	111
Fig. 32	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) de Tb-1. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	112
Fig. 33	Espectro no infra-vermelho de Tb-5. Fase KBr...	116
Fig. 34	Espectro no ultra-violeta de Tb-5. 1) EtOH. 2) EtOH + NaOH. 3) EtOH + NaOH + HCl	117
Fig. 35	Espectro no ultra-violeta de Tb-5. 1) EtOH. 2) EtOH + AlCl ₃ . 3) EtOH + AlCl ₃ + HCl	118
Fig. 36	Espectro de massa de Tb-5	119
Fig. 37	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) de Tb-5. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	121
Fig. 38	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) com adição de D ₂ O de Tb-5. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	122
Fig. 39	Espectro no infra-vermelho de Tb-6. Fase KBr...	127

	Pág.
Fig. 40	Espectro no ultra-violeta de Tb-6. 1) EtOH. 2) EtOH + NaOH. 3) EtOH + NaOH + HCl 128
Fig. 41	Espectro no ultra-violeta de Tb-6. 1) EtOH. 2) EtOH + AlCl ₃ . 3) EtOH + AlCl ₃ + HCl 129
Fig. 42	Espectro de massa de Tb-6 130
Fig. 43	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) de Tb-6. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 132
Fig. 44	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) com adição de D ₂ O de Tb-6. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 133
Fig. 45	Espectro no infra-vermelho de Tb-4. Fase KBr... 139
Fig. 46	Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) de Tb-4. C ₅ D ₅ N como solvente e TMS como referência interna 140
Fig. 47	Espectro de massa de Tb-4 141
Fig. 48	Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) do derivado metilado de Tb-4. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 143
Fig. 49	Espectro de r.m.n. ¹ H (60 MHz) do derivado metilado de Tb-4. C ₅ D ₅ N como solvente e TMS como referência interna 143
Fig. 50	Espectro de massa do derivado metilado de Tb-4.. 144
Fig. 51	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado acetilado do metilado de Tb-4. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna 146

Fig. 52	Espectro no infra-vermelho do derivado metilado de Tb-4. Fase KBr	147
Fig. 53	Espectro no infra-vermelho do derivado acetilado do metilado de Tb-4. Fase KBr	148
Fig. 54	Espectro de r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) do derivado metilado de Tb-4 totalmente desacoplado. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	149
Fig. 55	Espectro de r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) do derivado metilado de Tb-4 totalmente desacoplado, expandido. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	150
Fig. 56	Espectro de r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) do derivado metilado de Tb-4 com acoplamento residual. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	151
Fig. 57	Espectro de r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) do derivado metilado de Tb-4 com acoplamento residual, expandido. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	152
Fig. 58	Espectro no infra-vermelho do derivado acetilado de Tb-7. Filme	164
Fig. 59	Espectro de r.m.n. ¹ H (100 MHz) do derivado acetilado de Tb-7. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	165

ÍNDICE DE TABELAS

		Pág.
Tabela 1.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ¹ H (270 MHz) de Sa-3CAc. CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	14
Tabela 2.	Deslocamento em r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) dos carbonos da xantona (ppm). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna.....	46
Tabela 3.	Incrementos nos deslocamentos químicos em r.m.n. ¹³ C de Metoxixantonas	48
Tabela 4.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) dos carbonos de xantonas mono-oxigenadas (ppm). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	50
Tabela 5.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) dos carbonos de xantonas dioxigenadas (ppm). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	54
Tabela 6.	Posições relativas dos átomos de carbono 4a e 9a em relação a funções oxigenadas	56
Tabela 7.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ¹³ C (25,2 MHz) dos carbonos de xantonas trioxigenadas (ppm). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	57

Tabela 8	Deslocamentos químicos em r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) dos carbonos de xantonas tetraoxigenadas (ppm). CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna	59
Tabela 9.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) dos carbonos de xantonas pentaoxigenadas (ppm). CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna	60
Tabela 10.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ^{13}C (25,2 MHz) dos carbonos de xantonas preniladas (ppm). CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna	63
Tabela 11.	Deslocamentos químicos calculados para o próton isolado das estruturas (40) a (45)	77
Tabela 12.	Comparação dos deslocamentos químicos em r.m.n. ^{13}C (ppm) dos carbonos 1,2,3,4,4a,9 e 9a de Tb-3Ac com os dos carbonos da 1,5-diacetoxixantona	80
Tabela 13.	Deslocamentos químicos dos carbonos do núcleo aromático monosubstituído	81
Tabela 14.	Deslocamentos químicos dos carbonos 2,3,4 (dupletos) e 1,4a,9 e 9a (singletos) da 1,5-dimetoxixantona CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna	82

Tabela 15.	Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos carbonos 4b,5,6,7,8 e 8a da Tb-3Ac com os dos carbonos dos modelos (52) e (53). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	84
Tabela 16.	Deslocamentos químicos (ppm) das substâncias modelo (54) e (55). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	85
Tabela 17.	Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos átomos de carbono dos modelos (56) e (57). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	87
Tabela 18.	Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos átomos de carbono 4b,5,6,7,8 e 8a da Tb-3Ac com os correspondentes do modelo (56). CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	88
Tabela 19.	Comparação dos espectros de r.m.n. ¹ H da Tb-6 e de amostra autêntica 8-hidroxi-3,5-dimetil-3,4-dihidroisocumarina, em CDCl ₃ como solvente e TMS como referência interna	126
Tabela 20.	Comparação dos deslocamentos químicos dos grupos metila do derivado metilado do ácido betulínico em CDCl ₃ e C ₅ D ₅ N como solventes e TMS como referência interna	136
Tabela 21.	Comparação dos espectros de r.m.n. ¹³ C do derivado metilado de Tb-4 (I) e betulinato de metila	

	Pág.
(II). CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna	138
Tabela 22. Xantonas do gênero <i>Tovomita</i> . Constituição e ocorrência	186

ÍNDICE DE QUADROS

		Pág.
Quadro 1.	Principais caminhos fragmentários da unidade glicosídica de Sa-3C	38
Quadro 2.	Análise comparativa dos principais fragmentos de Sa-3C [⊕] e dihidrodinosterol, dinosterol e dinosterona	39
Quadro 3.	Análise comparativa dos espectros de massa de Sa-3C [⊕] e sitosterol	40
Quadro 4.	Fracionamento do extrato etanólico da Sapotácea n° 250 (INPA)	22
Quadro 5.	Cromatografia em coluna de sílica gel da fração C do extrato etanólico da Sapotácea n° 250 (INPA)	24
Quadro 6.	Deslocamentos químicos em r.m.n. ¹³ C dos carbonos dos substituintes de xantonas preniladas (ppm)	65
Quadro 7.	Deslocamentos químicos dos carbonos dos substituintes de Tajixantonas e derivados	67
Quadro 8.	Interpretação dos espectros de massa de Tb-3...	96
Quadro 9.	Principais caminhos de fragmentação no espectro de massa de Tb-3Ac	97
Quadro 10.	Interpretação do espectro de massa de Tb-1	110
Quadro 11.	Interpretação do espectro de massa de Tb-5	120

	Pág.
Quadro 12. Interpretação do espectro de massa de Tb-6	131
Quadro 13. Interpretação do espectro de massa de Tb-4	142
Quadro 14. Interpretação do espectro de massa de Tb-4Me... ..	145
Quadro 15. Cromatografia em coluna de sílica gel do extra- to benzênico de <i>Tovomita brasiliensis</i>	158
Quadro 16. Frações cromatográficas reunidas e substâncias isoladas de <i>Tovomita brasiliensis</i>	158
Quadro 17. Oxigenação e desoxigenação do anel derivado de acetato (A) em xantonas	181
Quadro 18. Formação de xantonas via benzofenona	182
Quadro 19. Hipótese biogenética para desoxigenação (redu- ção) de substâncias fenólicas, exemplificada pe- las conversões de xantonas 5,6- e 6,7- dioxige- nadas em 5- e 7- mono-oxigenadas, respectivamen- te, do anel derivado de chiquimato (B)	183
Quadro 20. Oxigenação e desoxigenação evolutivas do anel derivado de chiquimato (B) em xantonas	184
Quadro 21. Provável evolução no caminho biossintético de 1,5-dihidroxi-6,7-dimetoxixantona (Tb-3)	185

1. INTRODUÇÃO

Ao que se me afigura, tudo parece ter sido meticulosamente preparado para que a vida neste planeta não só fosse implantada, mas também mantida indefinidamente.

Um dos princípios da biologia diz que todos os compostos naturais são biodegradáveis. Isto significa dizer que tudo que é tomado do meio deve posteriormente ser devolvido a ele, para que possa ocorrer a continuidade de todas as transformações dos compostos que compõem e acompanham a natureza. Parece-me no entanto, que esta não estava preparada para reciclar certos compostos sintetizados pelo homem. De todos os seres que habitam a Terra, o homem é o único que destrói, rompendo a cadeia de elos que unem os seres dos reinos animal, vegetal e mineral.

A produção de compostos sintéticos recalcitrantes e a devastação indiscriminada das matas virgens são fatos que revelam claramente tão lastimável verdade.

Se o homem, na busca da criação, procurasse aprender com a natureza, tudo se tornaria muito mais fácil e menos predatório.

Felizmente, graças à alguns pensadores menos egoístas, nas últimas décadas começou-se apensar um pouco mais. O homem,

pouco a pouco, está aprendendo que se ele não trabalhar com a natureza, estará certamente cavando o seu próprio abismo.

Foram necessários cerca de 4,5 bilhões de anos para formar a vida atualmente existente neste planeta. O homem existe apenas há alguns milhões de anos e no espaço de somente um século, ele apreendeu a transformar compostos de carbono em drogas maravilhosas, detergentes fantásticos, supercombustíveis, plásticos para todo tipo de utilidade, pílulas para controle de natalidade. Todas essas transformações podem ser consideradas como uma benção que permite ao ser humano exercer poder sobre o meio ambiente [1].

Mas o que temos agora, além de todas essas sensacionais transformações? O ar está poluído, os peixes estão morrendo em lagos e rios, os mares estão ameaçados por uma combinação de óleos e dejetos industriais. Já se encontra o chumbo da gasolina em neves das regiões polares, o D.D.T. já está presente na gordura de focas e pinguins. Os detergentes, cujo problema não se encontra apenas na biodegradação, são produzidos com elevado teor de fosfatos, o que causa, quando lançados em rios ou lagos, aumento no teor de nutrientes das águas. Isto provoca um desequilibrado crescimento na reprodução dos seres que habitam àqueles mananciais, causando desta forma o conhecido fenômeno da eutroficação, que faz

com que diminua o teor de oxigênio dissolvido nas águas, muitas vezes a níveis incompatíveis com as necessidades respiratórias dos seres daquele ambiente [3].

Estes são fatos reconhecidos e que não podemos ignorar. Precisamos conhecer a natureza, estudá-la e entender como ela elaborou tantos milhões de compostos durante a sua evolução sem se autodestruir. O conhecimento destes processos naturais possibilita a sua aplicação em processos tecnológicos.

O Químico Orgânico, em especial o Químico de Produtos Naturais, vem a algum tempo, se dedicando a este tipo de estudo.

Procurando conhecer as moléculas, determinando as suas estruturas e estabelecendo a sua origem biossintética nas diversas espécies vegetais existentes, ele certamente está no caminho exato para fazer as transformações antes citadas, sem alterar o equilíbrio ecológico, mantendo em plena harmonia a tão importante e necessária inter-relação animal-vegetal-ambiente.

A Química de Produtos Naturais vem evoluindo para as mais diversas finalidades. Entre as principais metas estão sendo focalizadas: Determinação de estruturas de constituintes vegetais, estabelecimento de seqüências biogenéticas de metabólitos, reconhecimento do quimismo das relações animal-vegetal-ambiente e utilização de dados químicos para o estabelecimento das rela-

ções quimiotaxonômicas e filogenéticas entre os organismos [2].

O Químico de Produtos Naturais utiliza os métodos de análise orgânica para o isolamento de substâncias, tais como as várias técnicas cromatográficas. A determinação estrutural de substâncias é feita através de métodos diversos, sendo atualmente utilizados os métodos físicos espectroscópicos, tais como: Espectrometria no infravermelho, no ultravioleta e visível, de massa, de ressonância magnética nuclear e dispersão ótica rotatória.

O presente trabalho relata o isolamento e a determinação estrutural de 3 substâncias de uma planta da família das Sapotáceas, codificada no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) com o nº 250, e de 7 substâncias da *Tovomita brasiliensis*, família Guttiferae, incorporando-se também um estudo de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 de xantonas.

CAPÍTULO I

ESTUDO QUÍMICO DA SAPOTÁCEA N° 250 (INPA)

ESTUDO QUÍMICO DA SAPOTÁCEA N° 250 (INPA)

1. A planta e seus constituintes

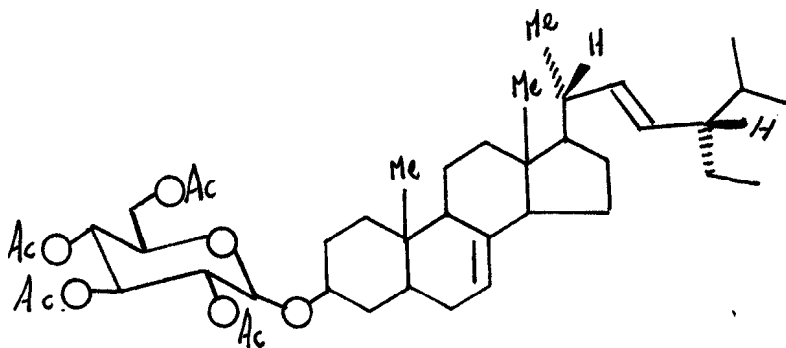
A Sapotácea estudada neste trabalho está codificada com o n° 250 no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

O estudo químico do extrato etanólico desta planta levou ao isolamento de 3 substâncias e à determinação estrutural de apenas duas (sitosterol e 3-O- β -glucopiranosil espinasterol

2. Determinação estrutural de seus constituintes

2.1 - 3-O- β -glucopiranosil espinasterol (Sa-3C).

A elucidação estrutural de 3-O- β -glucopiranosilespina-sterol. (1) foi baseada em dados espectrais fornecidos por espectros de r.m.n. ^1H , registrados a 100 e 270MHz com experiências de dupla irradiação, de massa,, no infravermelho e de r.m.n. ^{13}C .



(1)

2.1.1 Ressonância magnética nuclear protônica

Devido a grande insolubilidade da Sa-3C nos diversos solventes usados para o registro do espectro de r.m.n. ^1H ., foi preparado o seu derivado acetilado, o qual recebeu a denominação

de Sa-3CAc.

O espectro de r.m.n.¹H registrado a 100MHz (Fig. 1), mostrou ser de insuficiente resolução para a elucidação da estrutura da substância devido a sua grande complexidade, caracterizando-a apenas como um glicosídeo de natureza terpênic e definindo o número de hidroxilas acetiláveis.

O espectro de r.m.n.¹H registrado a 270MHz (Fig.2) permitiu caracterizar a natureza glicosídica esteroidal da substância.

A presença de quatro singletos em 2,07δ, 2,04δ, 2,02δ e 2,00δ foi atribuída a quatro grupamentos acetoxila, oriundos da acetilação (anidrido acético/piridina) de quatro hidroxilas.

Experiências de dupla irradiação permitiram deduzir qual a unidade açúcar presente na substância.

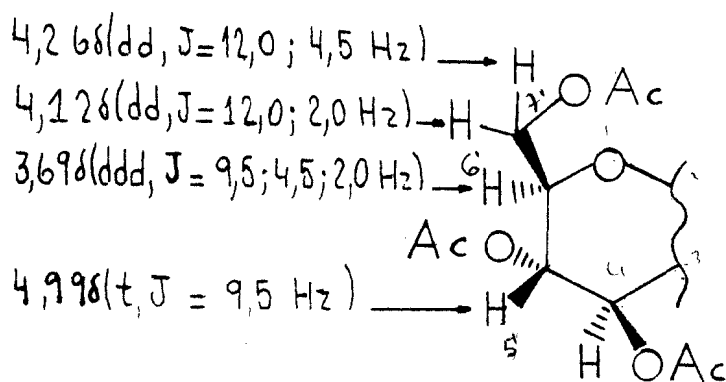
2.1.1.1. Caracterização espectral da unidade de açúcar por dupla irradiação

a - Irradiação na frequência do próton H-6', que absorve em 3,69 δ (Fig. 4), ocasiona modificações nas feições dos sinais referentes aos prótons H-5', H-7'a e H-7'b que absorvem em 4,99δ, 4,26δ e 4,12δ respectivamente. O sinal do

próton H-5' que absorve em 4,99δ dando um tripleto (J=9,5Hz) foi convertido num dubleto (J=9,5Hz). Os sinais dos prótons H-7'a e H-7'b que absorvem em 4,26δ e 4,12δ dando duplos dubletos (J=12,0Hz; J=4,5Hz e J=12,0Hz; J=2,0Hz) foram convertidos em dubletos (J=12,0Hz) após irradiação na frequência de H-6'. Este desdobramento revela a interação geminada de H-7'a e H-7'b.

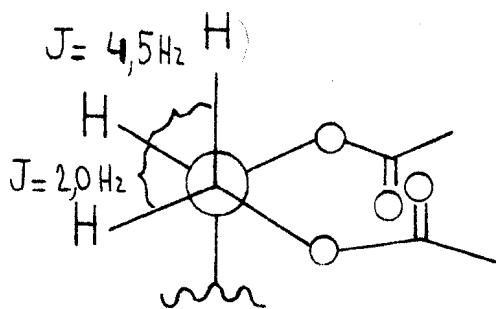
Estes dados permitiram caracterizar a interação entre os prótons responsáveis pelas absorções em 4,26δ e 4,12δ e entre ambos e o próton que absorve em 3,69δ (H-6'), bem como a interação deste último com o próton em 4,99δ (H-5').

Considerando os argumentos acima citados e os deslocamentos químicos dos prótons, foi possível sugerir a estrutura parcial (2).



(2)

Os valores das constantes de acoplamento vicinais ($J = 4,5\text{Hz}$ e $J = 2,0\text{Hz}$) dos prótons que absorvem em $4,26\delta$ (H-7'a) e 4.12δ (H-7'b) respectivamente, permitiram deduzir os ângulos diedros que estes fazem com o próton H-6' ($3,69\delta$), conforme indicado na fórmula (3). Esta dedução foi baseada na equação de Karplus [42].



(3)

$$J = 2,0\text{Hz} \quad \Phi = 60^\circ \text{ ou } 120^\circ$$

$$J = 4,5\text{Hz} \quad \Phi = 45^\circ \text{ ou } 135^\circ$$

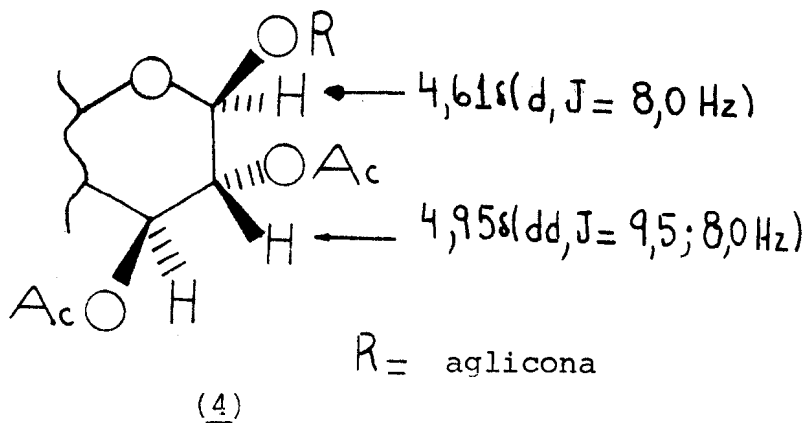
b - Irradiação na frequência do próton H-7'a, que absorve em $4,26\delta$ (Fig.4), modificou o duplo duplo dubleto ($J = 9,5\text{Hz}$, $J = 4,5\text{Hz}$, $J = 2,0\text{Hz}$) referente ao próton H-6' que absorve em $3,69\delta$, para um duplo dubleto (largo) ($J = 9,5\text{Hz}$, $J = 2,0\text{Hz}$).

Estes dados confirmaram as interações dos prótons do sistema proposto (2).

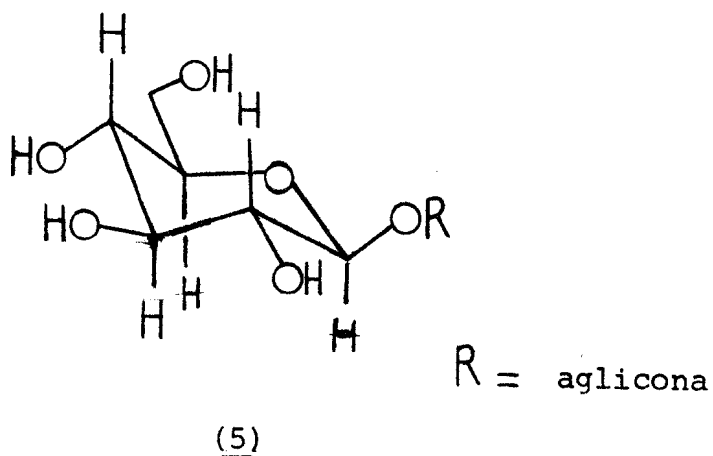
c - Irradiação na frequência do próton H-2', que absorve em 4,61 δ (Fig.4), causa modificação na feição do sinal referente ao próton H-3' em 4,95 δ . A modificação observada consiste na conversão de um duplo dubleto ($J = 9,5\text{Hz}$ e $J = 8,0\text{Hz}$) num dubleto ($J = 9,5\text{Hz}$).

d - Irradiação na frequência do próton H-3' (4,95 δ) modifica as feições dos sinais dos prótons H-2' e H-4', que absorvem em 4,61 δ e 5,20 δ respectivamente.

O dubleto ($J = 8,0\text{Hz}$) em 4,61 δ (H-2') transformou-se num singlete, confirmando sua interação apenas com o próton H-3' em 4,95 δ e o triplete em 5,20 δ ($J = 9,5\text{Hz}$) passou a ser representado por um dubleto ($J = 9,5\text{Hz}$). Estas evidências levaram a postular um sistema como representado em (4).

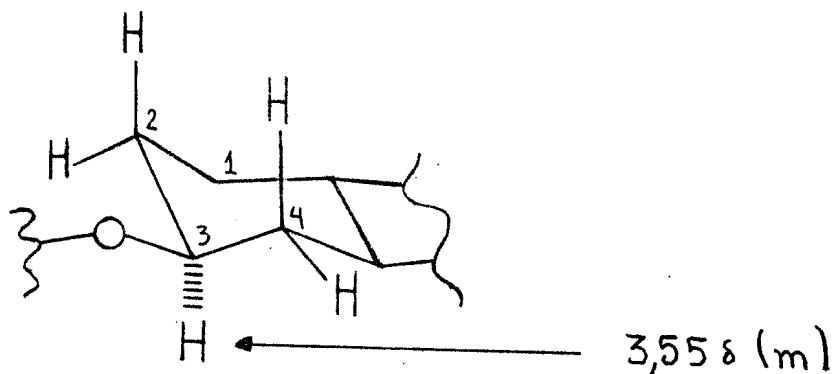


Com base nestas experiências de dupla irradiação, tornou-se possível caracterizar a unidade açúcar como derivado acetilado da glucose, tendo em vista que os valores de constantes de acoplamento revelaram interações axial-axial, e conseqüentemente, a substância original possui como açúcar a glucose (5).



2.1.1.2. Experiências de dupla irradiação na frequência dos prótons da aglicona

a - Irradiação na frequência do próton H-3 da aglicona, que absorve em $3,55\delta$ (Fig.5), provocou modificações na região em torno de $1,50\delta$ e $1,80\delta$, evidenciando, dessa forma, a presença dos prótons dos átomos de carbono 2 e 4, dois axiais e dois equatoriais (6).



(6)

b - Irradiação na frequência dos prótons metílicos (Fig.5), representados por um dubleto ($J = 6,5\text{Hz}$) em $1,03\delta$, modificou a região em torno de $1,80\delta$, onde deve absorver o próton H-20.

c - Irradiação em $1,82\delta$ (Fig.5) converteu o sinal do próton que absorve $3,55\delta$ (H-3 da aglicona) num tripleto largo ($J = 10\text{Hz}$). Este valor de constante de acoplamento indicou que o H-3 ocupa posição axial e esta irradiação atingiu a frequência de absorção dos prótons equatoriais (Heq-2 e Heq-4). Esta irradiação modificou também a região em torno de $1,50 \delta$, onde aparecem os prótons axiais (Hax-2 e Hax-4).

d - Irradiação na frequência dos prótons metílicos (Fig. 6), que aparecem como um dubleto ($J = 7,0\text{Hz}$) em $0,85\delta$, provocou modificação na região em torno de $1,55\delta$. O mesmo ocorreu quando foi irradiado em $0,82\delta$ e $0,80\delta$ (Fig.6). Estes dados revelaram que os prótons que interagem com estes prótons metílicos absorvem em $1,55\delta$ e confirmaram que estas metilas não são representadas por singletos.

A Tabela 1 apresenta os dados referentes ao espectro de r.m.n. ^1H , incluindo as experiências de dupla irradiação. Os prótons olefínicos H-7, H-22 e H-23 absorvem entre $5,19$ e $5,00 \delta$.

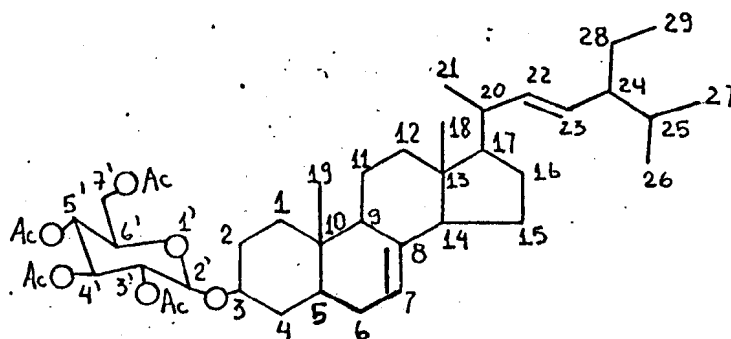
2.1.1.3. Espectro de r.m.n. ^1H do produto de hidrólise de Sa-3C.

A hidrólise da substância original com ácido clorídrico e metanol, forneceu a aglicona de Sa-3C, a qual recebeu a denominação de Sa-3CH $^{\oplus}$.

A análise do espectro de r.m.n. ^1H desta aglicona (Fig.7), registrado a 100MHz , permitiu reconhecer os sinais referentes a:

a - grupos metila: $0,55\delta$ (s, CH_3), $0,70\delta$ (s, CH_3), $0,75\delta$ (d, $J=7,0$ e $8,0\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{-26,27}$), $1,03\delta$ (d, $J=6,5\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{-21}$).

Tabela 1 - Deslocamentos químicos em r.m.n. ^1H (270MHz) de Sa-3CA₆.
Solvente CDCl_3 e TMS como referência interna.



δ (ppm)	FEIÇÃO	J (Hz)	H	Nº PRÓTONS	D. I.	FEIÇÃO MODIFICADA
5,20	t	9,5	4'	1		① = d
5,19-5,00	m		6; 22; 23	3		
4,99	t	9,5	5'	1		④ = d
4,95	dd	8,0; 9,5	3'	1		① — ② = d
4,61	d	8,0	2'	1		② — ① = s
4,26	dd	12,0; 4,5	7'	1		③ — ④ = d
4,12	dd	12,0; 2,0	7'	1		④ = d — ③ = d
3,69	ddd	12,0; 4,5; 2,0	6'	1		④ — ③ = d̄d
3,55	m		3	1		⑤ — ⑥ = t
2,07	s		AcO	3		
2,04	s		AcO	3		
2,02	s		AcO	3		
2,00	s		AcO	3		
1,90-1,20	m			25		⑥ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩
1,03	d	6,5	21	3		⑦ — ⑧ ⑨ ⑩
0,85				3		⑧ — ⑨ ⑩
0,82	d; d; t	7,0; 8,0	26; 27; 29	3		⑨ — ⑩
0,80				3		⑩
0,78	s		19	3		
0,55	s		18	3		

D. I. = DUPLA IRRADIAÇÃO

O sinal do grupamento metila CH₃-29, que deve apresentar-se como um tripleto, pode estar localizado entre 0,70 δ e 0,95 δ.

b - prótons olefínicos: multiplete entre 5,04 δ e 5,28 δ.

c - próton carbinólico H-3: multiplete em torno de 3,40 δ.

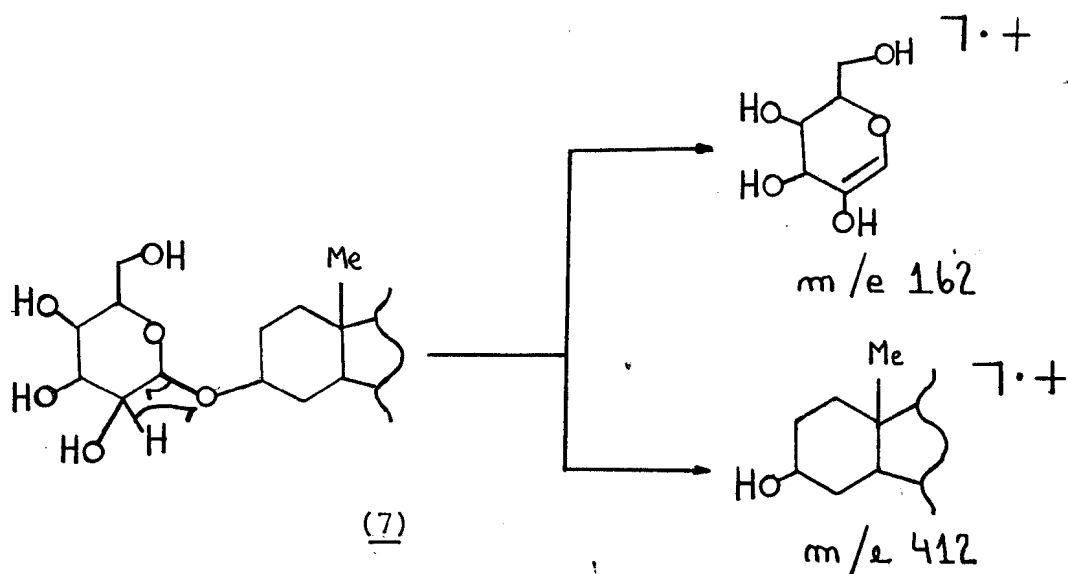
Os prótons restantes (CH₂ e CH) absorvem entre 0,70 δ de 2,1 δ.

Todos os argumentos discutidos até este ponto permitiram sugerir para a Sa-3C um esqueleto esteroidal tipo espi-nasterol, sustentando uma unidade de glucose na posição C-3.

2.1.2 Espectrometria de massa

O espectro de massa da Sa-3C (Fig.8) não forneceu o íon molecular. O pico em m/e 412, sendo o mais alto registrado no espectro, corresponde a fórmula molecular C₂₉H₄₈O, o qual

foi atribuído ao íon molecular da aglicona, e que está em acordo com a estrutura de espinasterol sugerida anteriormente. A formação deste íon pode ser facilmente racionalizada mediante rearranjo 1,4 de hidrogênio (7).



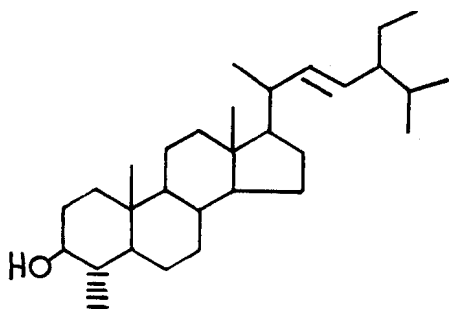
A presença do fragmento em m/e 162 constituiu uma evidência adicional para a presença da glucose, e para a fragmentação sugerida em (7).

Os fragmentos de m/e 412 e m/e 162 conduziram ao peso molecular 574 para a substância em estudo, se coadunando com a fórmula molecular $C_{35}H_{58}O_6$.

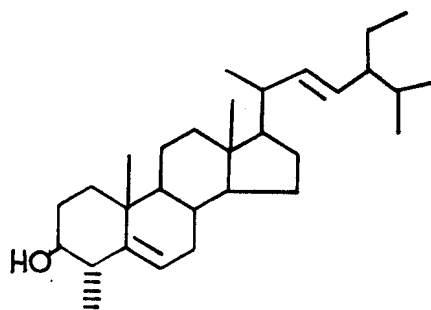
O espectro de massa apresentou ainda picos que foram atribuídos a fragmentos oriundos do pico em m/e 162, corres-

pondendo à unidade açúcar da substância (Quadro 1), uma vez que estão ausentes no espectro de massa do produto de hidrólise (Fig. 9).

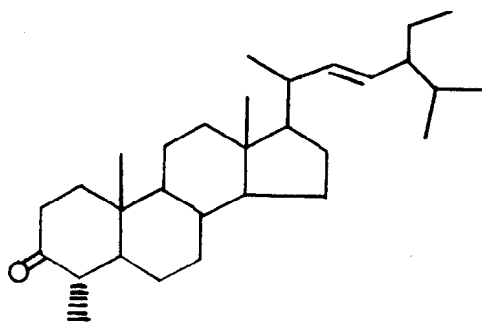
A análise comparativa dos espectros de massa do produto de hidrólise de Sa-3C (11) e de dihidrodinosterol (8), dinosterol (9) e dinosterona (10) forneceu evidência para o estabelecimento da estrutura deste produto [15]. Dihidrodinosterol possui 16 u.m.a, a mais, enquanto dinosterol e dinosterona possuem 14 u.m.a, a mais. A diferença de 16 u.m.a, se deve ao grupamento metila no C-4 e a ausência de dupla entre C-5 e C-6 no dihidrodinosterol. A diferença de 14 u.m.a, em relação ao dinosterol e dinosterona é devido a presença de metila no C-4, sendo que os dois hidrogênios a menos, correspondente à carbonila em C-3 da dinosterona, são compensados pela ausência da ligação dupla entre C-7 e C-8.



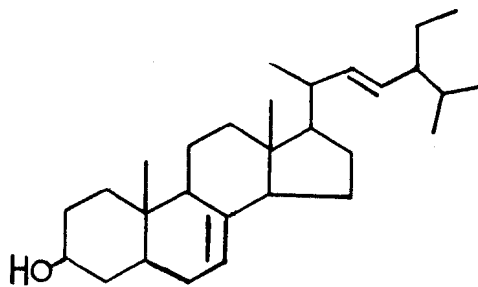
(8)



(9)



(10)



(11)

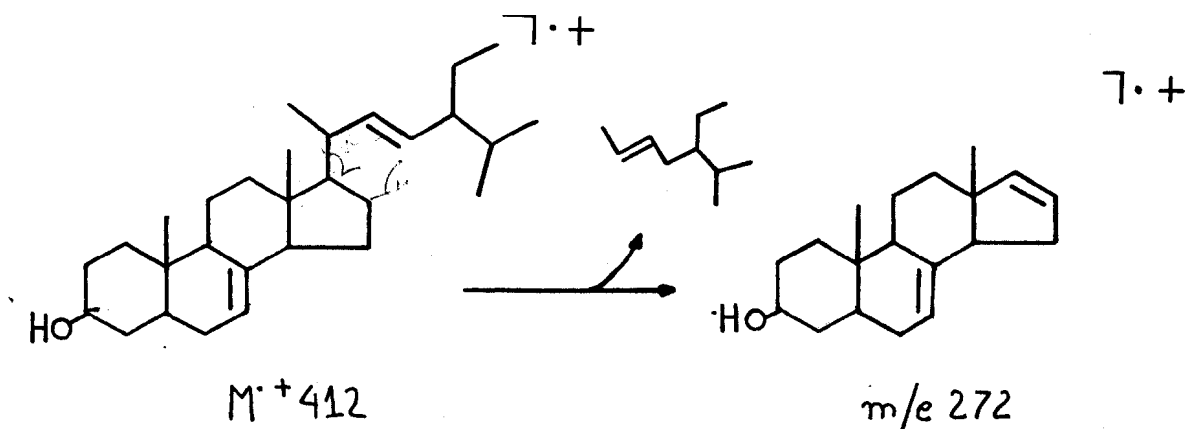
O Quadro 2 mostra os fragmentos correspondentes a cada uma das substâncias, sugerindo todos esses derivados possuírem o mesmo esqueleto carbonico cíclico.

A comparação dos espectros de massa da aglicona de Sa-3C e sitosterol (Fig. 10), também isolado desta planta (Sa-1C), foi de grande valia. A diferença entre estas duas substâncias decorre da presença de uma dupla ligação adicional na Sa-3CH[⊕].

Todos os fragmentos contendo a cadeia lateral diferem de 2 u.m.a, enquanto que os fragmentos que não sustentam esta cadeia possuem o mesmo valor de massa/carga.

A presença do pico em m/e 272 no espectro da Sa-3CH[⊕] pode ser justificada através de fragmentação envolvendo rearranjo tipo Mac Lafferty, devido a existência de dupla ligação na cadeia lateral (12). Este dado sugeriu a localização da ligação dupla entre os átomos de carbono 22 e 23.

O Quadro 3 resume a análise comparativa dos espectros de massa da Sa-3CH[⊕] e sitosterol.



(12)

2.1.3. Espectrometria no infravermelho

O espectro no infravermelho da Sa-3C (Fig. 11) revelou uma banda forte, larga, centrada em 3400cm^{-1} e várias bandas fortes entre 1160 e 1010cm^{-1} , caracterizando a natureza glicosídica da substância. A banda em 968cm^{-1} sugeriu a existência de uma dupla ligação com configuração E.

O espectro do derivado acetilado (Fig. 12) confirmou a natureza glicosídica, através do desaparecimento da banda correspondente ao estiramento de grupos hidroxila e o aparecimento de uma banda forte em 1765cm^{-1} correspondente ao estiramento $\text{C} = \text{O}$ dos grupos ester formados.

O espectro do produto de hidrólise (Fig.13) apresentou uma banda em 3400cm^{-1} , sugerindo a presença de hidroxila, e uma banda em 965cm^{-1} correspondente a ligação dissubstituída E.

Todos os argumentos apresentados permitiram sugerir a estrutura do espinasterol (11) para a aglicona de Sa-3C.

2.1.4. Ressonância Magnética nuclear de Carbono 13.

Espectrometria de r.m.n. ^{13}C , permitiu confirmar a estrutura de Sa-3CAc como o derivado acetilado de 3-O- β -glucopiranosil espinasterol.

Os valores de absorção dos átomos de carbono estão representados na Fig.14.

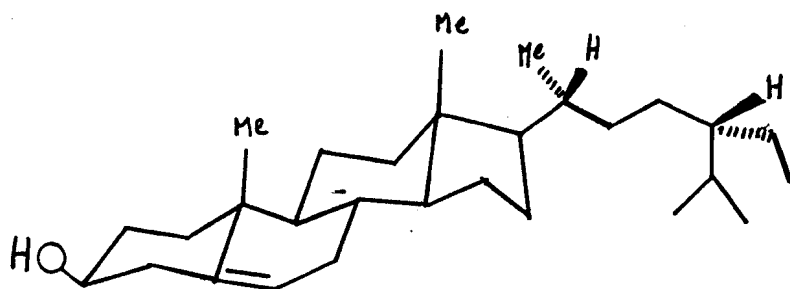
A comparação dos valores dos deslocamentos químicos dos carbonos C-5, C-6, C-7 e C-8 de Sa-3CAc com os correspondentes de sitosterol [4] mostram que a dupla tri-substituída deve estar entre C-7 e C-8 e não entre C-5 e C-6.

Assim, a Sa-3C foi definida como 3-O- β -glucopiranosil espinasterol (1).

2.2. Sitosterol (Sa-1C).

A comparação direta desta substância, envolvendo cromatografia em camada delgada de sílica, ponto de fusão mixto,

espectrometria no infravermelho e de massa, com amostra autêntica de sitosterol (13) permitiu deduzir que as duas substâncias são idênticas.



(13)

3. Parte Experimental

3.1. Processamento da planta e isolamento de seus constituintes

3.1.1. Coleta

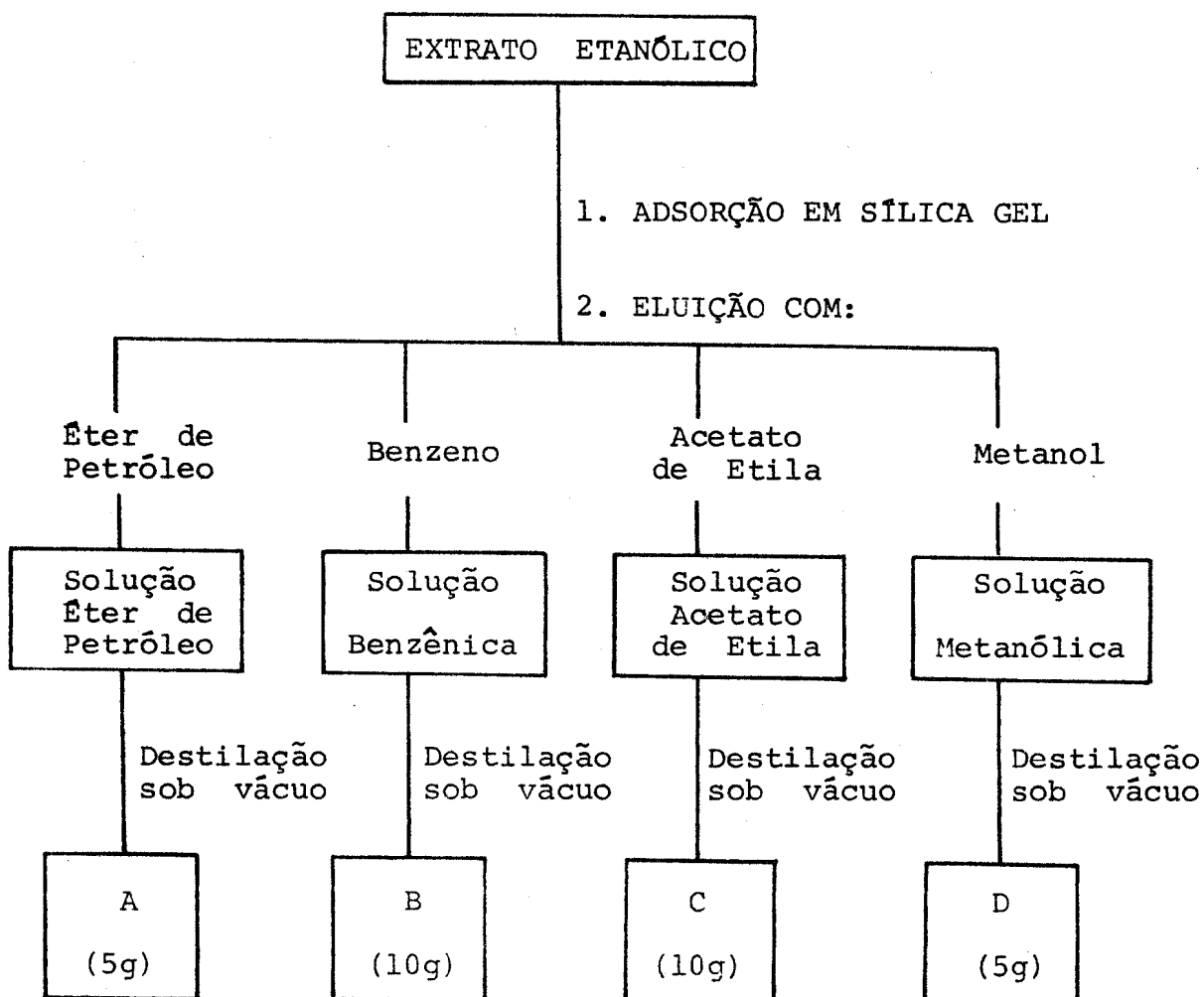
O material usado para estudo foi coletado pelo Prof. Ayssor Paulo Mourão, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas.

3.1.2. Extração

A madeira do tronco, seca e moída, foi submetida a extração exaustiva com etanol a frio. Destilação do solvente forneceu 180g de material.

Parte deste extrato etanólico (40g) for adsorvida em sílica gel, até obtenção do material fino e seco, colocado em um funil de separação e eluído, sucessivamente, com éter de petróleo, benzeno, acetato de etila e metanol. Foram obtidas 4 frações: A, B, C e D (Quadro 4).

Quadro 4 - Fracionamento do extrato etanólico da Sapotácea



A fração A, eluída com éter de petróleo, revelou cristais de cor branca. Análise cromatográfica e espectrométrica deste material revelou tratar-se de uma mistura de ésteres alifáticos, com pouco interesse de estudo adicional.

A fração B, eluída com benzeno, analisada por cromatografia em camada delgada de sílica mostrou-se como mistura dos ésteres alifáticos existentes na fração de éter de petróleo e mais uma substância predominante.

Esta fração benzênica (10g) foi submetida a cromatografia em coluna, usando-se sílica gel (300g) como adsorvente. Foram coletadas 50 frações de 250ml cada, utilizando-se benzeno e benzeno : metanol em polaridades crescentes como eluentes. Foram reunidas todas as frações que, com base em análise por cromatografia em camada delgada, possuíam apenas o produto predominante. Recristalização deste material em metanol, forneceu uma substância, na forma de cristais incolores, com ponto de fusão 133-135°C, que foi denominada Sa-1C. Análise comparativa deste material com amostra autêntica de sitosterol, envolvendo cromatografia em camada delgada de sílica em três sistemas de solventes (benzeno; benzeno : metanol, 99,5 : 0,5; benzeno : metanol, 99 : 1), ponto de fusão, ponto de fusão mixto, espectrometria no infravermelho e de massa, revelaram a identidade das duas substâncias.

O material da fração C, de consistência viscosa e cor escura, foi analisado por cromatografia em camada delgada de sílica, constatando-se a presença de duas substâncias principais.

A separação deste material foi realizada submetendo-o a cromatografia em coluna de sílica gel como adsorvente. Como eluentes usou-se CH_2Cl_2 e CH_2Cl_2 : MeOH em polaridades crescentes (Quadro 5). Foram coletadas 120 frações de 10ml cada e reunidas em 4 grupos com base em análise por cromatografia em camada delgada.

Quadro 5 - Cromatografia em coluna de sílica gel da fração C do extrato etanólico da Sapotácea n° 250 (INPA)

Eluente	Frações Reunidas	Grupo
CH_2Cl_2	1 - 20	I
CH_2Cl_2 :MeOH (99:1)	21 - 43	II
CH_2Cl_2 :MeOH (98:2)	44 - 92	III
CH_2Cl_2 :MeOH (95:5)	93 - 120	IV

O grupo I forneceu pequena quantidade (3mg) de uma substância que já foi codificada como Sa-2C. Trata-se de uma

substância insolúvel nos solventes usados em espectrometria de r.m.n.¹H. A quantidade isolada dificultou a continuação do trabalho de determinação estrutural.

O grupo II revelou-se constituído de Sa-2C e, principalmente, de uma outra substância que foi denominada Sa-3C. Esta substância foi encontrada também no grupo III, em maior quantidade. Os grupos II e III foram reunidos e recristalizados em metanol, obtendo-se, 70 mg desta substância, bom ponto de fusão acima de 320°C.

O material do grupo IV não foi elaborado devido ao aspecto resinoso, alta polaridade, mistura complexa e pequena quantidade.

A fração D revelou-se como uma mistura complexa, sendo os seus constituintes muito polares.

3.2. Dados físicos e espectroscópicos dos constituintes químicos e derivados.

3.2.1. 3-O-β-glucopiranosil espinasterol (Sa-3C).

Cristais brancos, p.f. > 320°C (metanol).

i.v.: ν ^{KBr} máx (cm⁻¹): 3400, 2920, 1460, 1380, 1160, 1150 - 990, 968; e.m.: m/e (%): 412 (10), 397 (4), 395 (7),

379 (2), 369 (3), 351 (2), 327 (1), 300 (4), 281 (3), 273 (8),
272 (5), 271 (16), 255 (18), 229 (8), 213 (7), 162 (9), 161
(13), 145 (19), 143 (7), 131 (15), 127 (5), 115 (6), 113 (3),
97 (22), 85 (17), 83 (100), 69 (67), 57 (50), 55 (90), 43
(60), 41 (42).

3.2.2. Derivado acetilado de 3-O- β -glucopíranosil espi- nasterol (Sa-3CAc).

A Sa-3C (35mg) foi tratada com uma mistura de anidrido acético (1ml) e piridina (1ml). A solução foi mantida na temperatura ambiente por 24 horas. A seguir, juntou-se água e extraiu-se com clorofórmio. A solução clorofórmica foi lavada com ácido clorídrico 10% até eliminação da piridina e, posteriormente, com água e sêca com sulfato de sódio anidro, forneceu 30 mg do derivado acetilado, cristais brancos, ponto de fusão 170-172°C.

i.v.: ν $\begin{matrix} \text{KBr} \\ \text{máx} \end{matrix}$ (cm^{-1}): 2900, 2870, 1765, 1390, 1245,
1060, 930; r.m.n.¹H. (270MHz, CDCl_3, δ) : 0,55 (s), 0,78 (s),
0,80 (t), 0,82 (d, J = 7,0Hz), 0,85 (d, J = 8,0Hz), 1,03
(d, J = 6,5Hz), 1,90- 1,20 (m), 2,00 (s), 2,02 (s), 2,04
(s), 2,07 (s), 3,55 (m), 3,69 (ddd, J = 12,0; 4,5; 2,0 Hz),

4,12 (dd, J = 12,0; 2,0Hz), 4,26 (dd, J = 12,0; 4,5Hz), 4,61 (d, J = 8,0Hz), 4,95 (dd, J = 9,5; 8,0Hz), 4,99 (t, J = 9,5Hz), 5,19 - 5,00 (m), 5,20 (t, J = 9,5Hz).

3.2.3. Hidrólise de 3-O- β -glucopiranosil espinasterol (Sa- 3CH⁺).

A Sa-3C (35mg) foi tratada com HCl 6% (H₂O : MeOH) e a solução aquecida em banho-maria durante 45 minutos. A solução, após resfriamento, foi extraída com clorofórmio. A solução clorofórmica foi lavada com água, sêca em Na₂SO₄ anidro e destilada. Recristalização em MeOH forneceu espinasterol (28mg), cristais brancos de ponto de fusão 158-160° C (lit. [43], p.f. 167-169°c).

i.v.: ν $\frac{KCl}{m\acute{a}x}$ (cm⁻¹): 3400, 2940, 1460, 1380, 1040, 965;
r.m.n, ¹H. (100MHz, CDCl₃, δ): 0,55 (s), 0,70 (s), 0,75 (d, J = 7,0 e 8,0Hz), 1,03 (d, J = 6,5Hz), 0,70- 2,10 (m), 3,40 (m), 5,04 - 5,28 (m); e.m.: m/e (%): M⁺412 (89), 397(25), 379 (4), 369 (20), 351 (8), 327 (14), 300 (23), 273 (67), 272 (88), 271 (100), 255 (55), 253 (8), 231 (17), 229 (29), 213 (15), 139 (12), 135 (53), 97 (35), 69 (60), 55 (80), 43 (75).

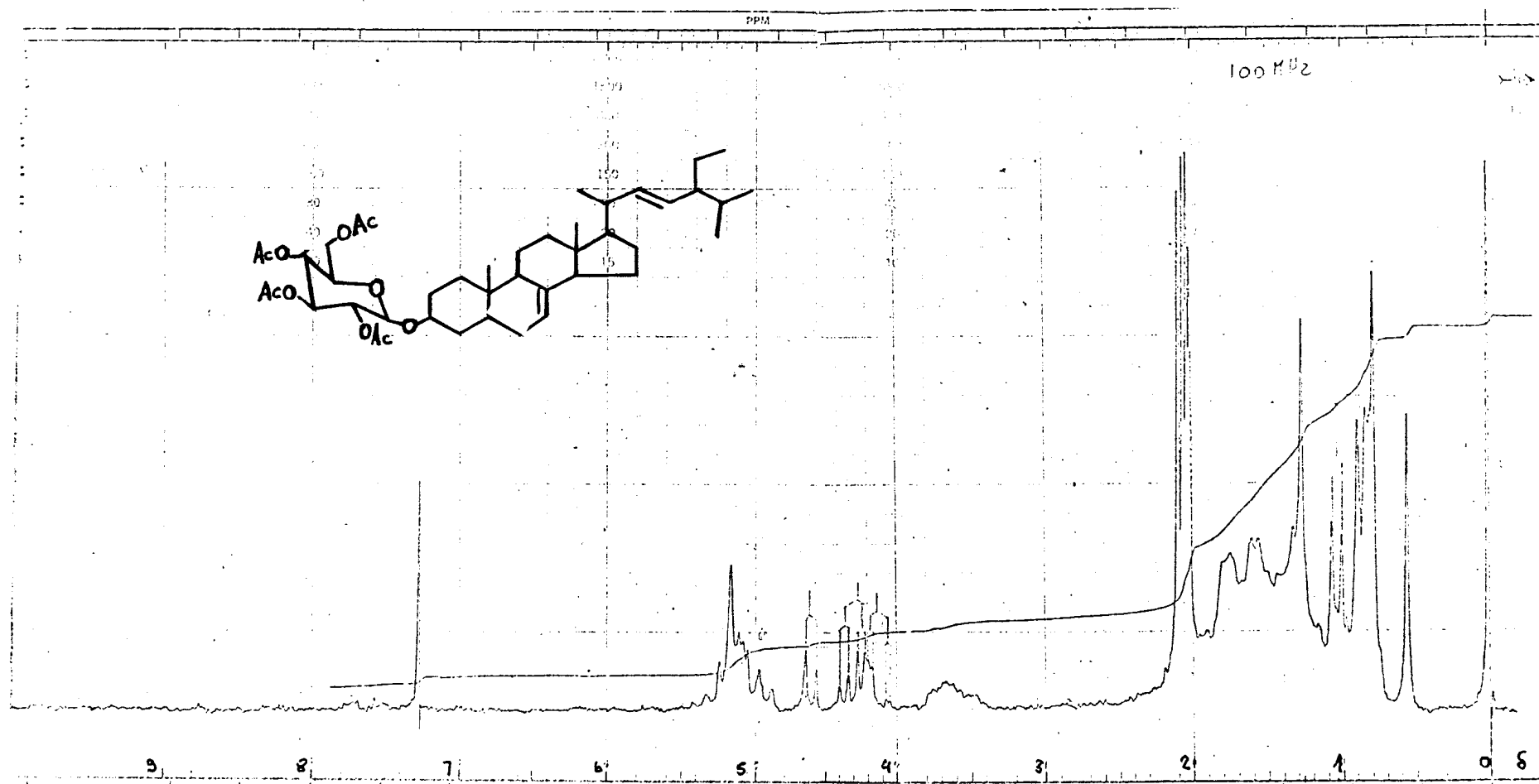


Fig. 1 - Espectro de r.m.n. ^1H (100MHz) do derivado acetilado de Sa-3C em CDCl_3 .

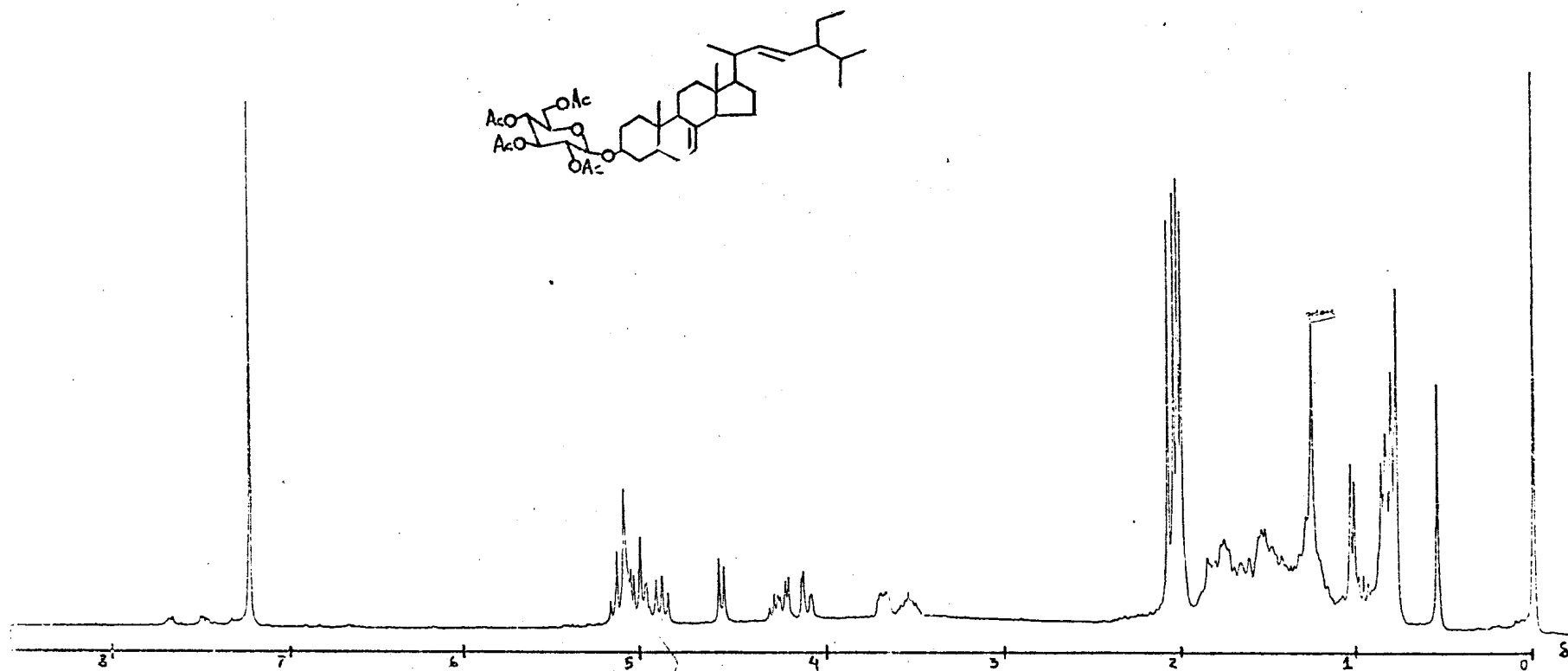


Fig. 2 - Espectro de r.m.n.¹H (270MHz) do derivado acetilado de Sa-3C em CDCl₃.

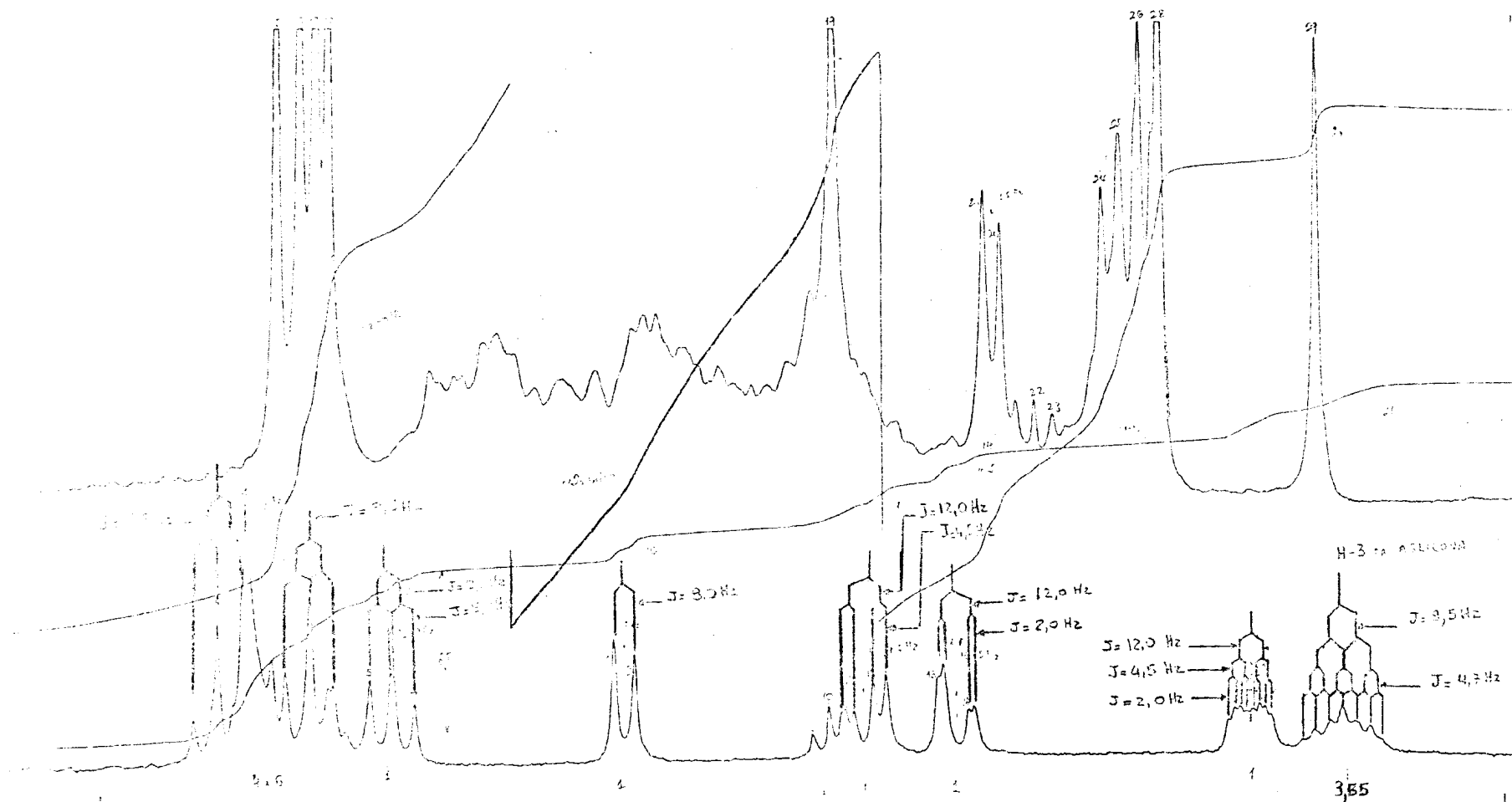


Fig. 3 - Espectro de r.m.n. ^1H (270MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl_3 , expandido.

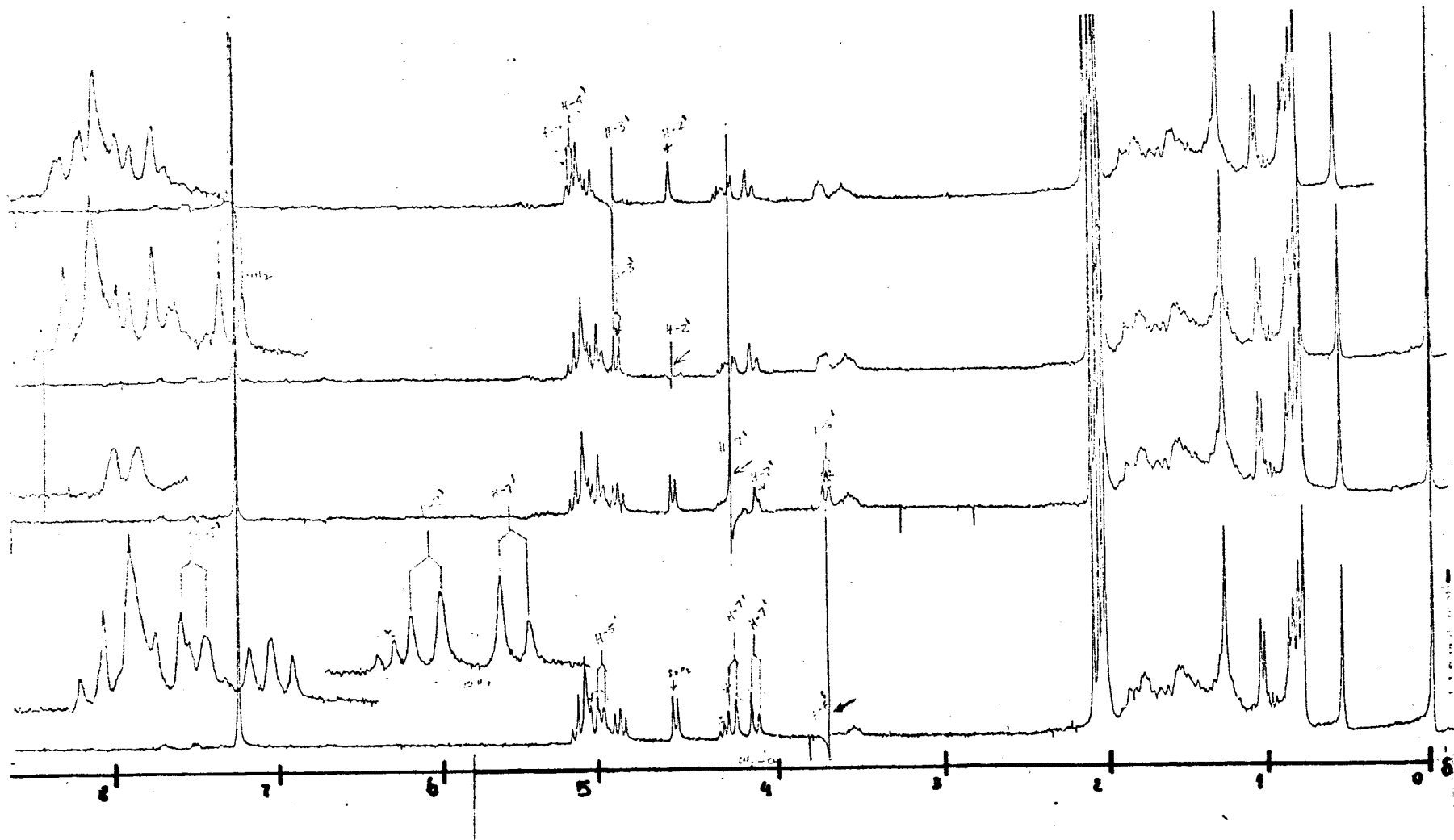


Fig. 4 - Espectro de r.m.n. ¹H (270MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl₃, com dupla irradiação

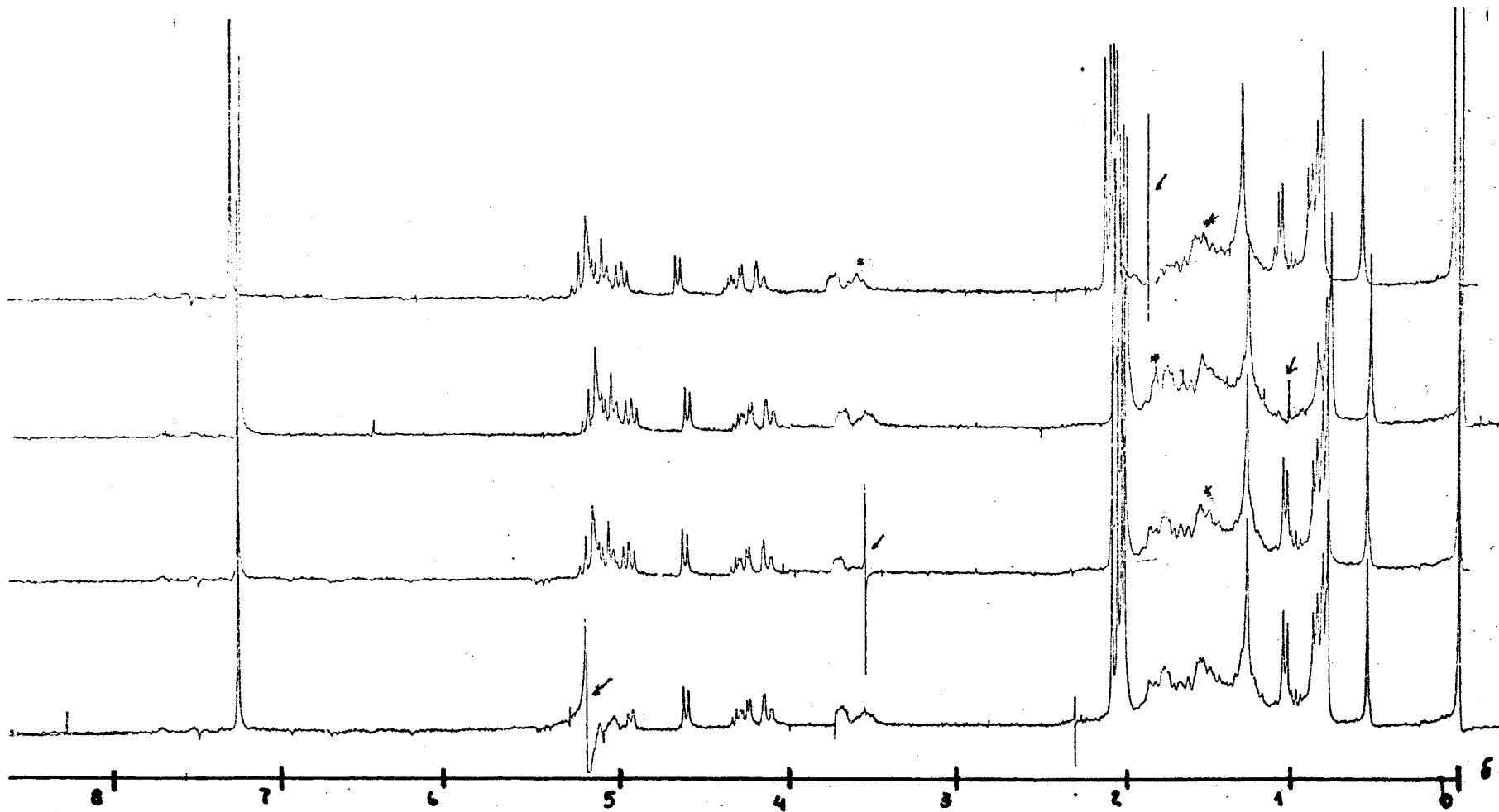


Fig. 5 - Espectro de r.m.n.¹H (270MHz) do derivado acetilado de Sa-3c, em CDCl₃, com dupla irradiação

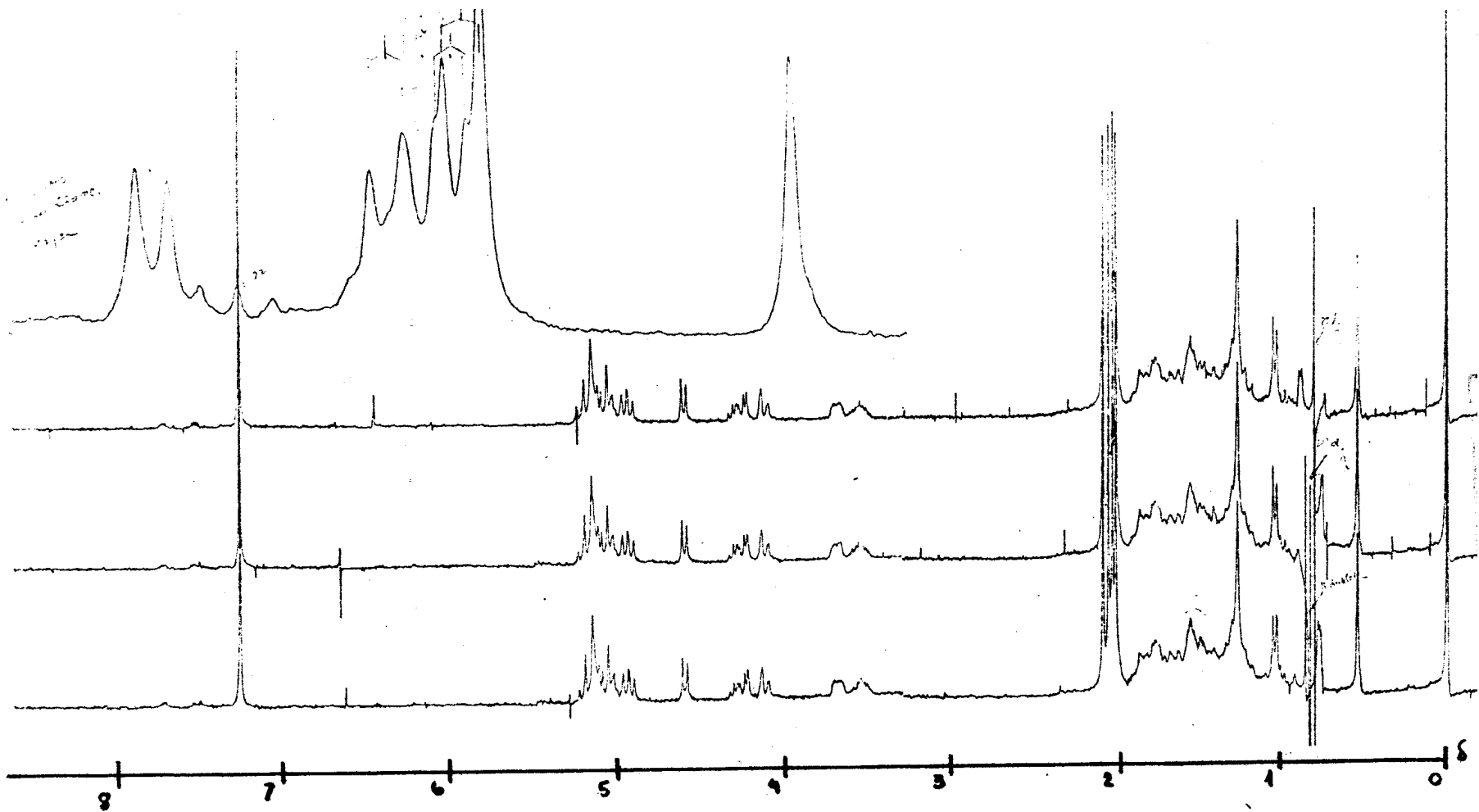


Fig. 6 - Espectro de r.m.n.¹H (270MHz) do derivado acetilado de Sa-3C, em CDCl₃, com dupla irradiação.

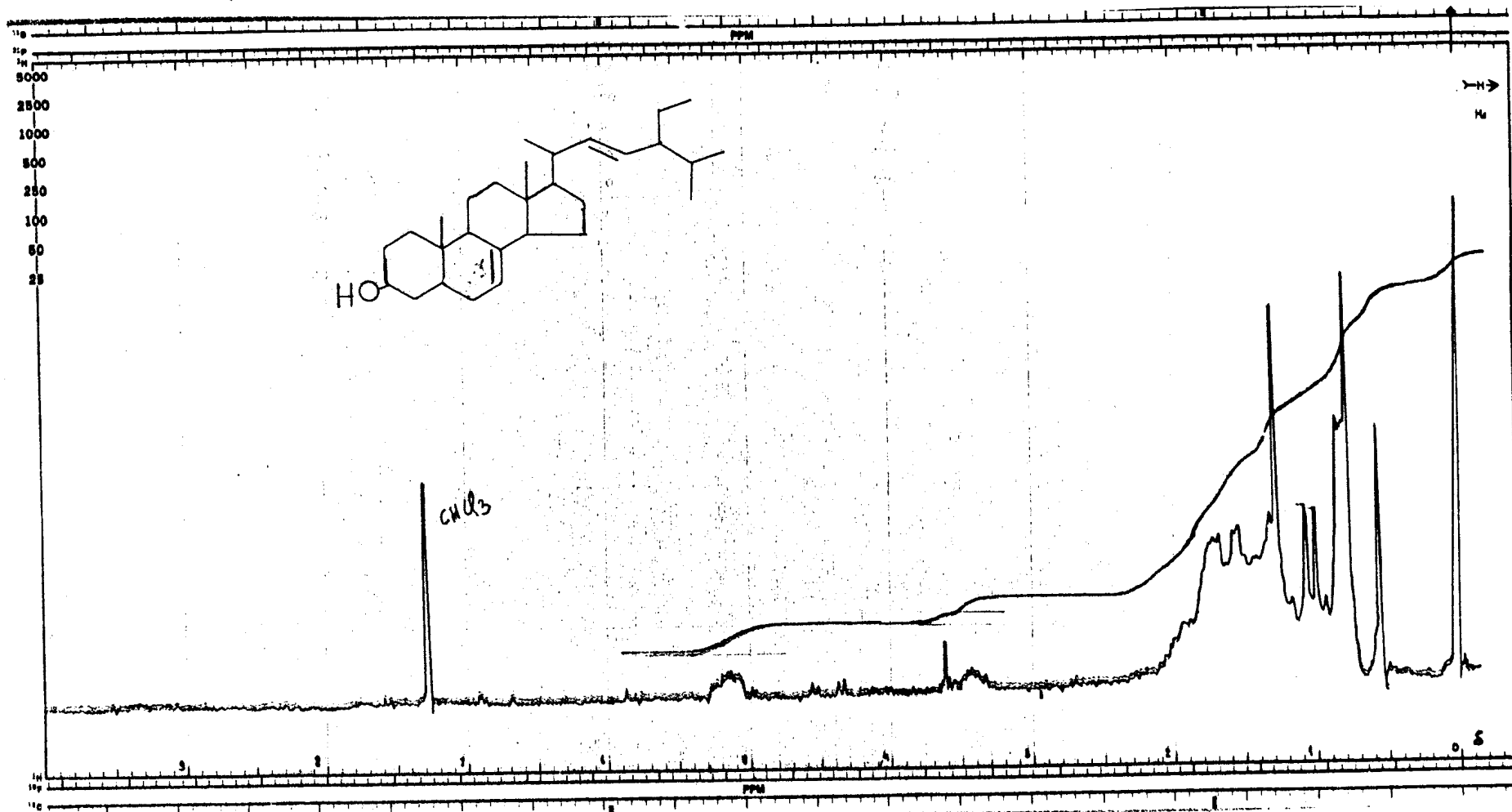


Fig. 7 - Espectro de r.m.n.¹H (100MHz) do derivado hidrolisado de Sa-3C em CDCl₃.

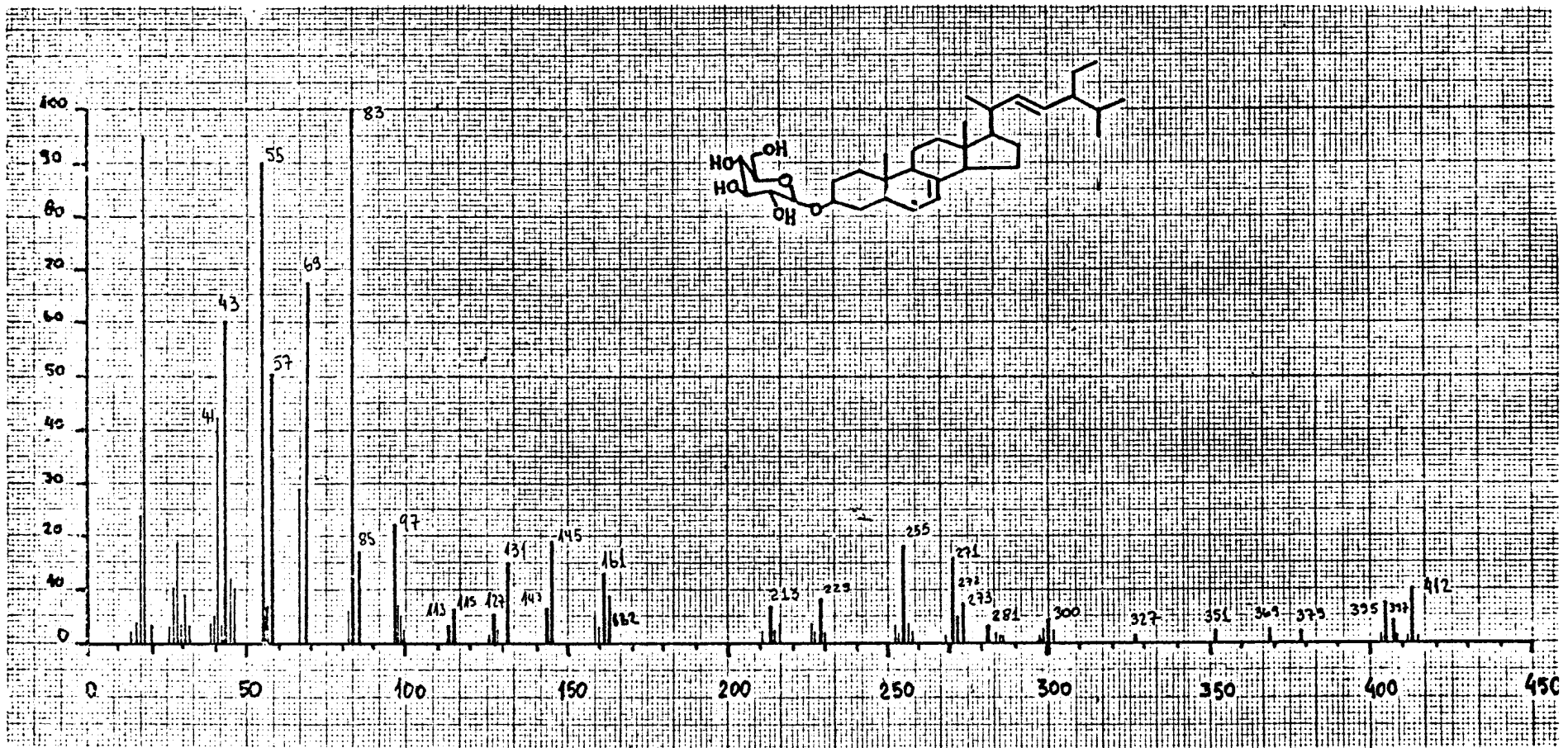


Fig. 8 - Espectro de massa de Sa-3C.

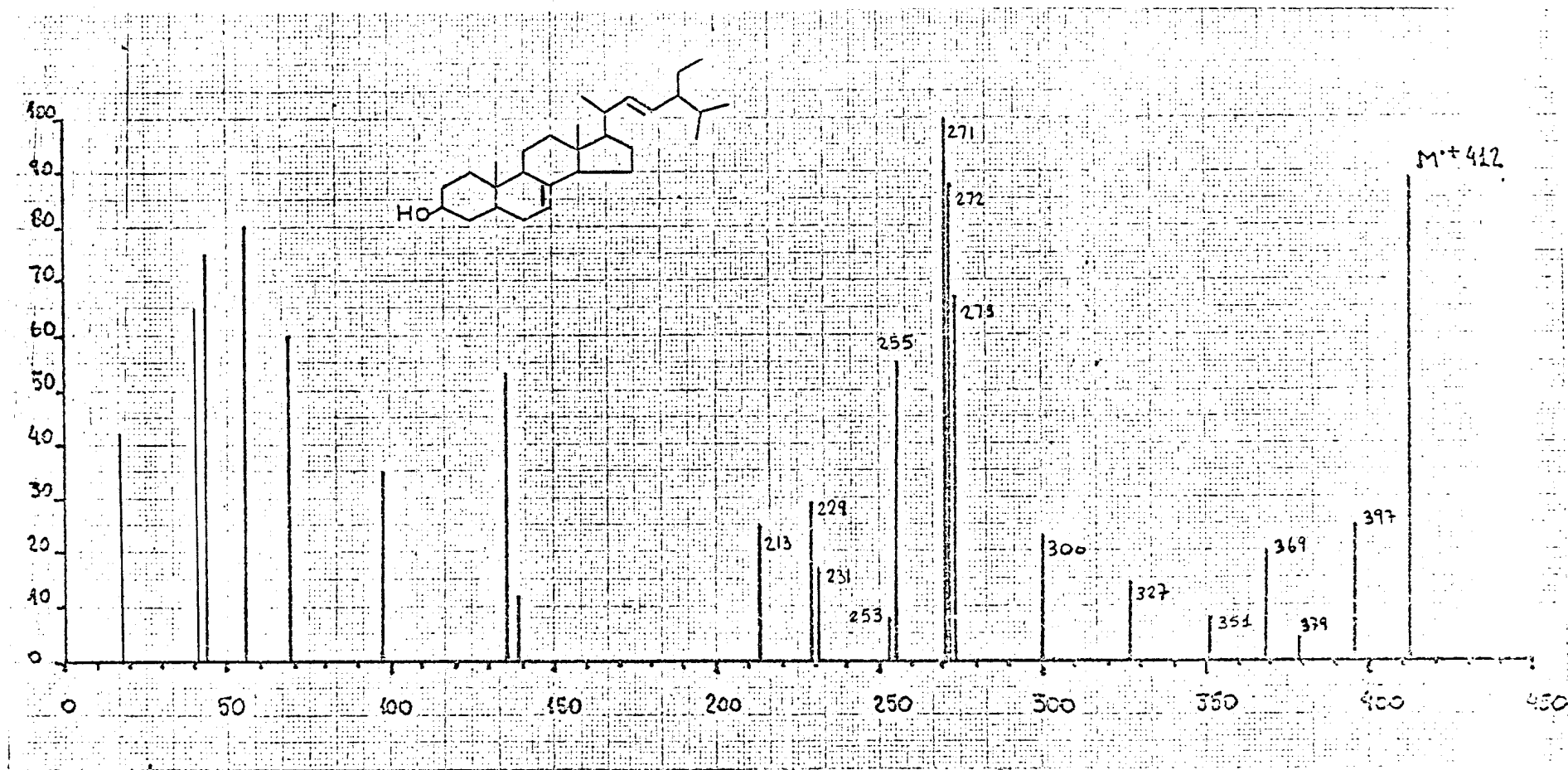


Fig. 9 - Espectro de massa do derivado hidrolisado de Sa-3C.

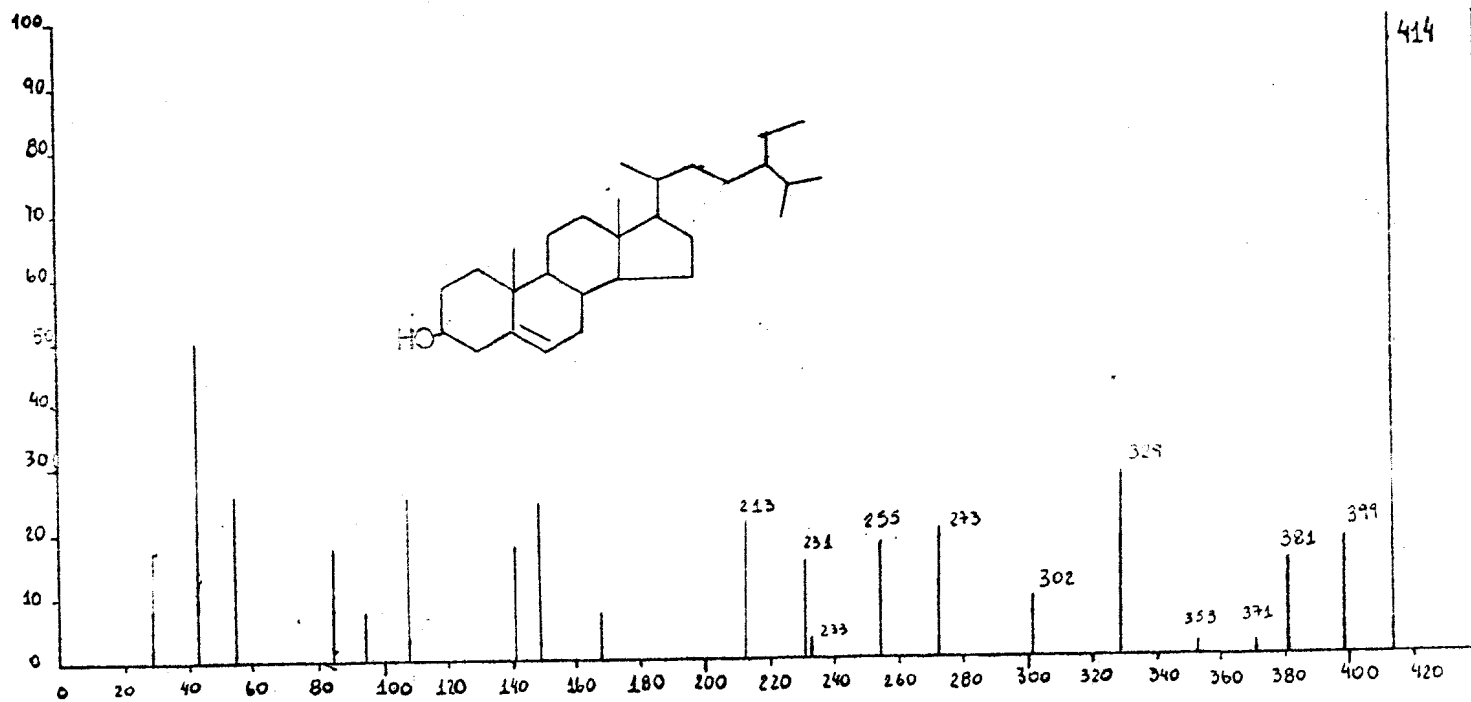
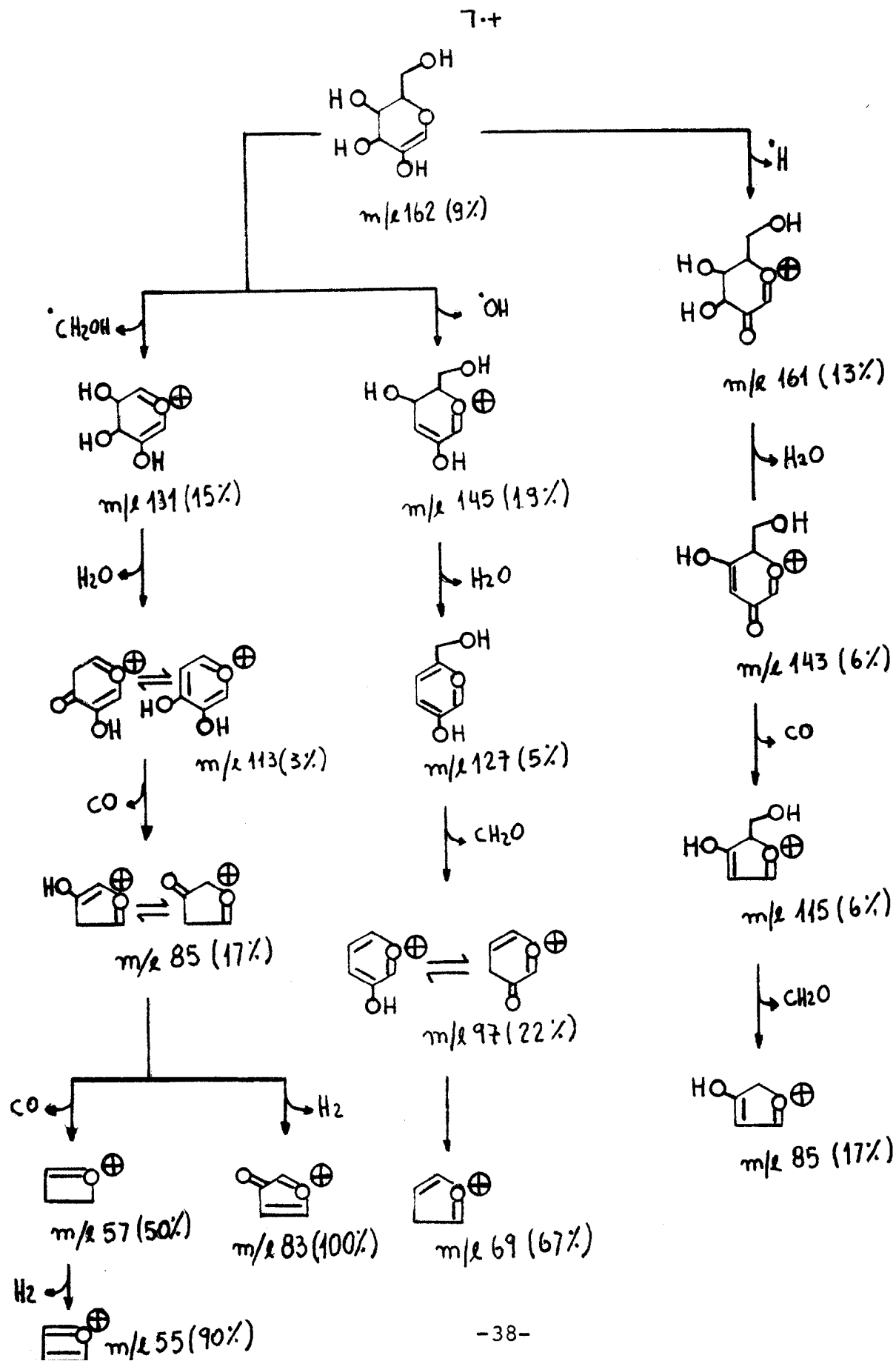


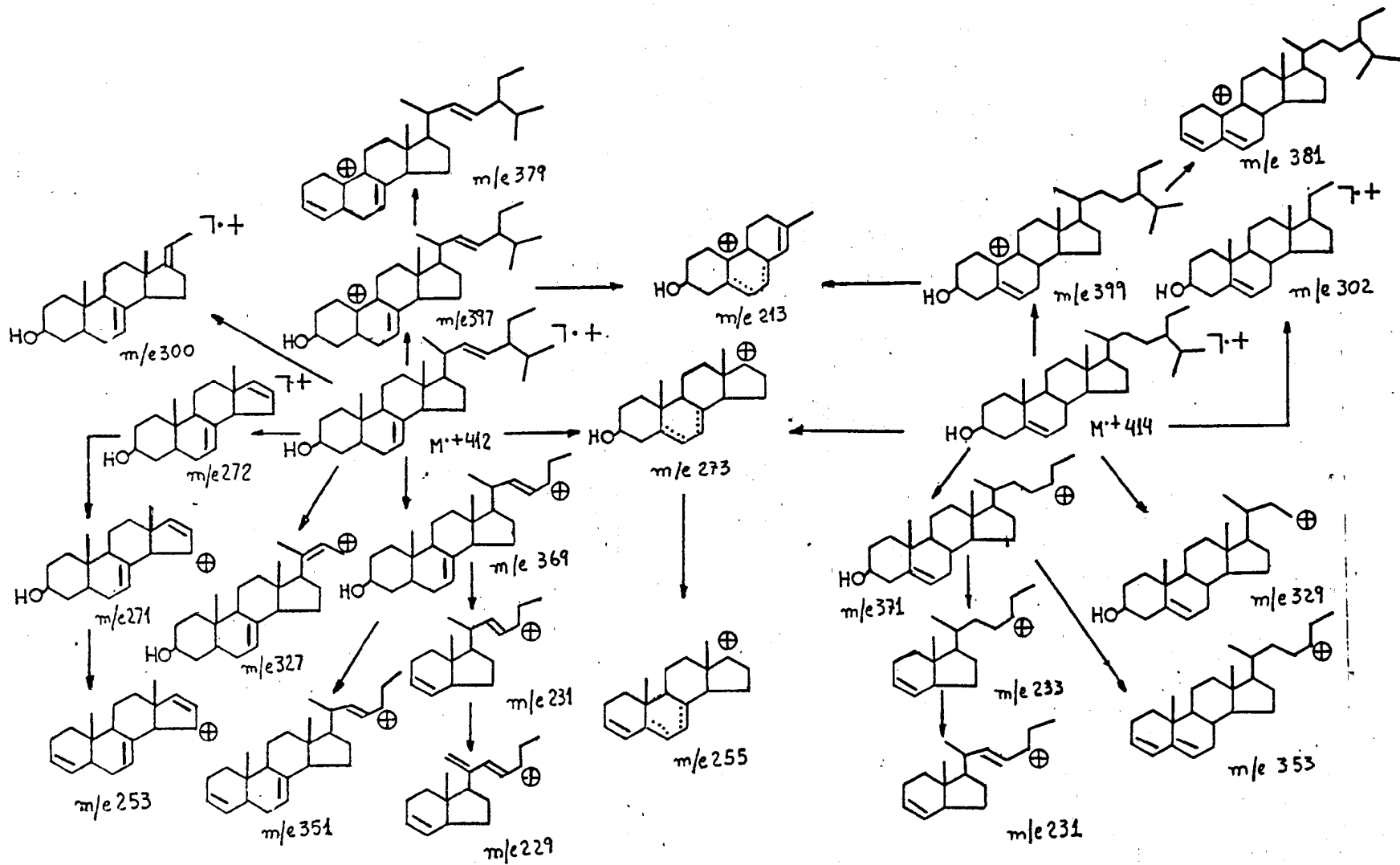
Fig. 10 - Espectro de massa de sitosterol.

Quadro 1 - Principais caminhos de fragmentação da unidade glicosídica de Sa-3C.



A		B		C		D		DIHIDRODINOSTEROL (A)	DINOSTEROL (B)	DINOSTERONA (C)	Sa-3CH ⁺ (D)
m/e	%	m/e	%	m/e	%	m/e	%				
428	—	426	—	426	—	412	89				
385	—	383	—	383	22	369	20				
367	—	—	—	—	—	351	8		—	—	
357	—	355	—	—	—	—	—		—	—	—
316	80	314	—	314	88	300	23				
287	100	285	—	285	100	271	100				
271	60	269	—	—	—	255	55			—	

Quadro 2 - Análise comparativa dos principais fragmentos de Sa-3CH⁺, Dihidrodinosterol, Dinosterol e Dinosterona no espectrometro de massa.



Quadro 3 - Análise comparativa dos espectros de massa de Sa-3CH⁺ e sitosterol.

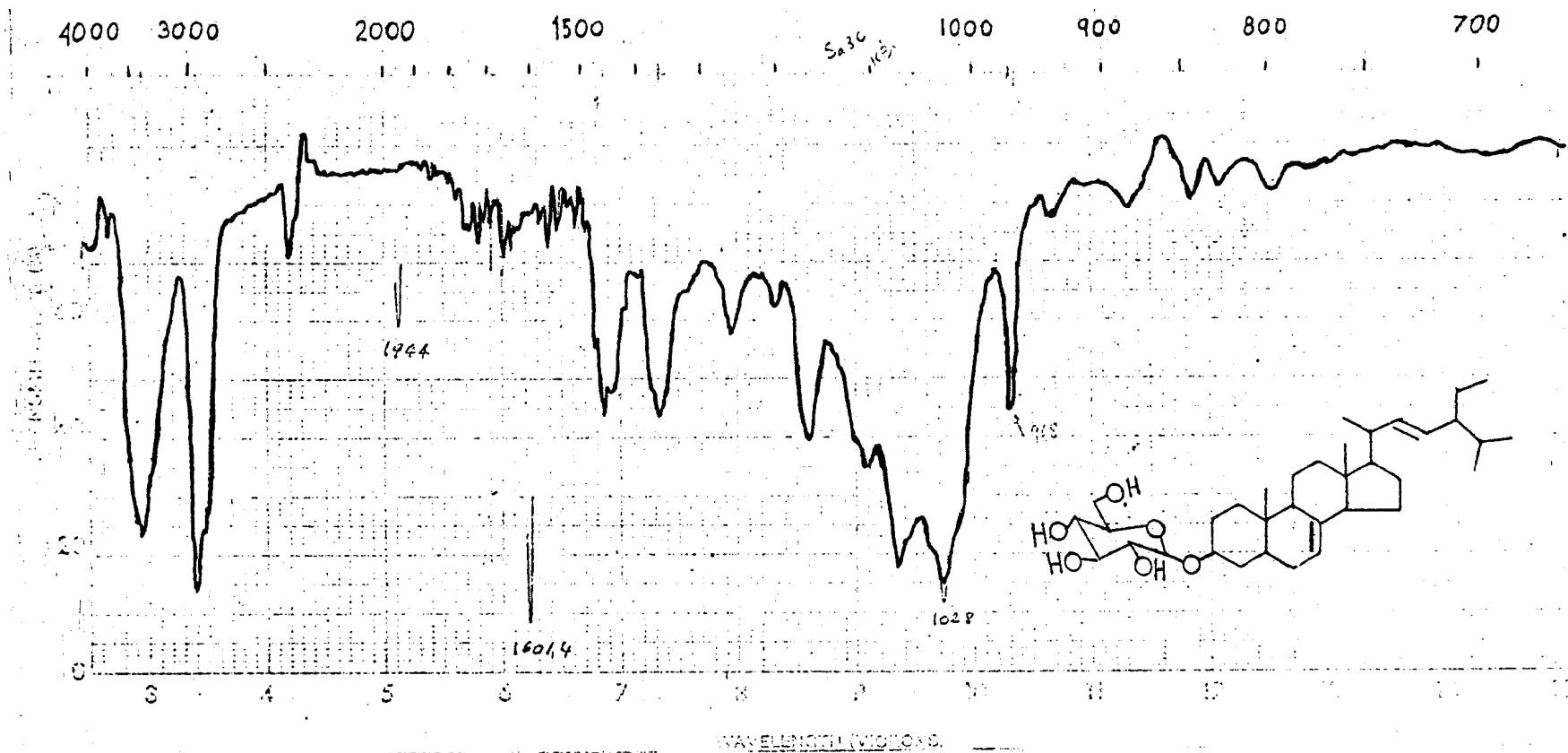


Fig. 11 - Espectro de infravermelho de Sa-3C. Fase KBr.

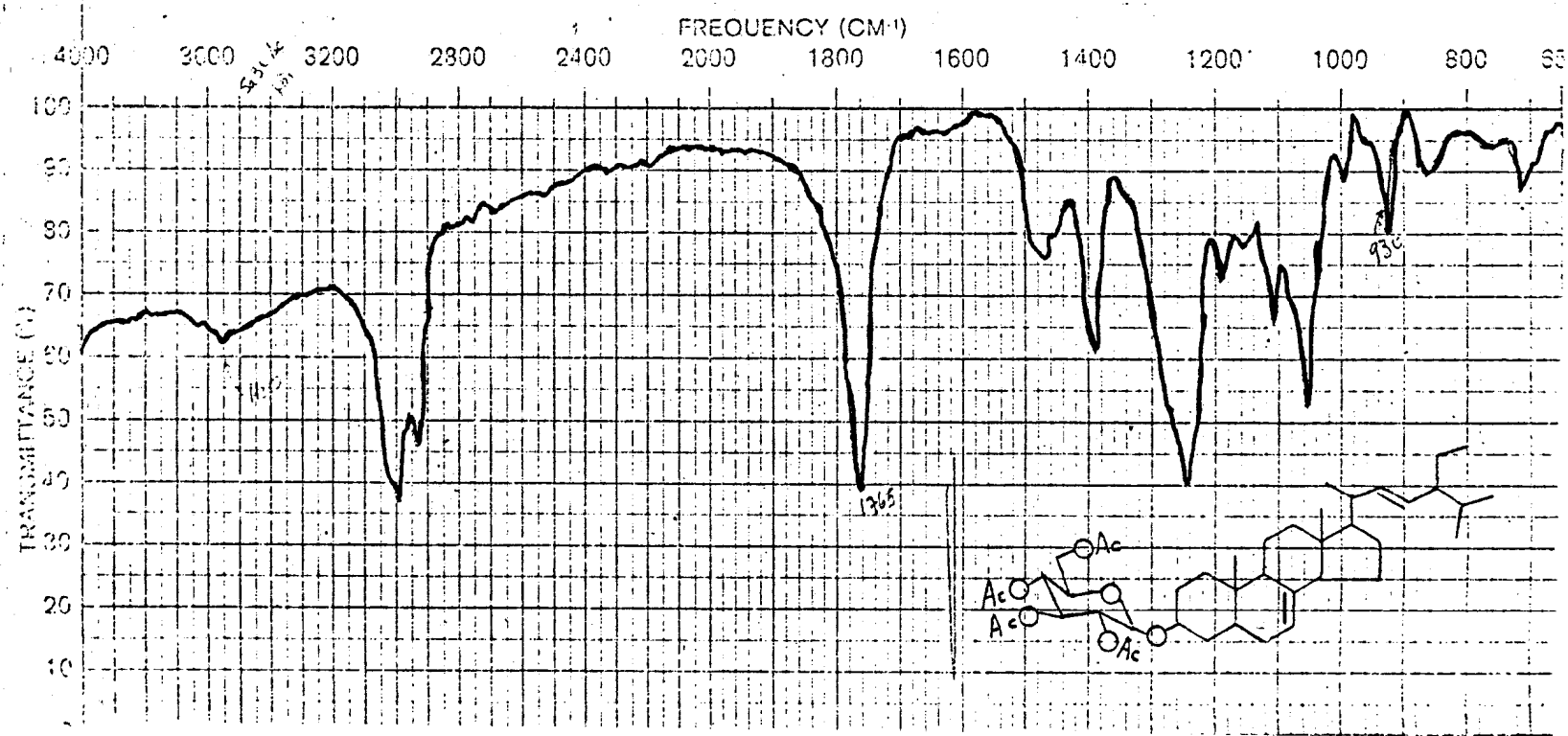


Fig. 12 - Espectro de infravermelho do derivado acetilado de Sa-3C. Fase KBr.

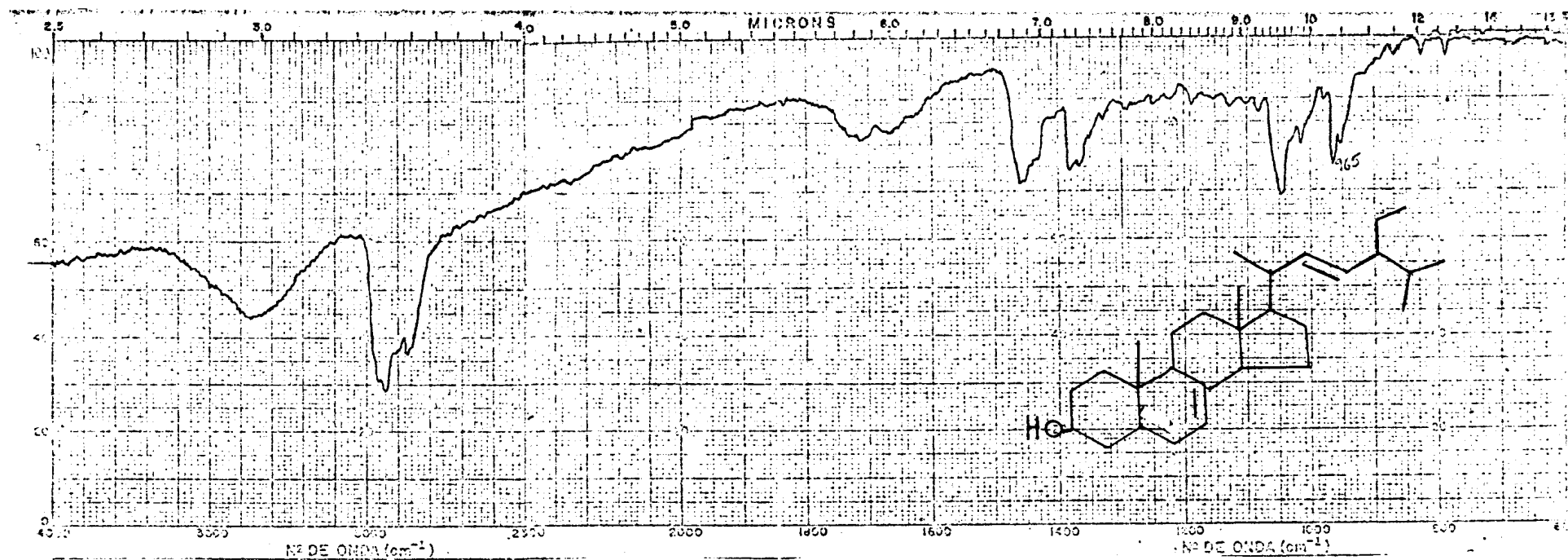
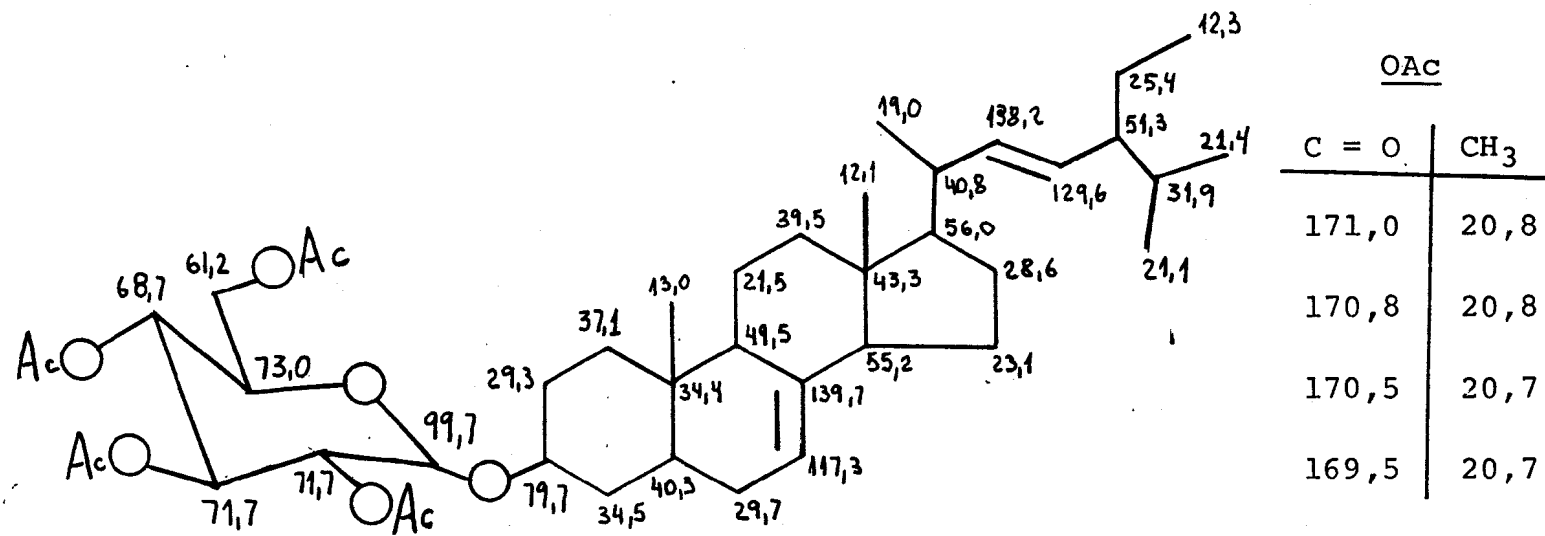


Fig. 13 - Espectro de infravermelho do derivado hidrolisado de Sa-3C. Fase KCl.



- Fig. 14 - Valores de absorção dos átomos de carbono em r.m.n. ^{13}C . de Sa-3CAc.

CAPÍTULO II

ESTUDO DE RMN13C DE XANTONAS

ESTUDO DE R.M.N.¹³C. DE XANTONAS

1. Xantona

O presente estudo, utilizando dados de r.m.n.¹³C. de xantonas descritos na literatura, tem por finalidade fornecer subsídios para trabalho de determinação estrutural destas substâncias.

As xantonas possuem o esqueleto básico (14). Os deslocamentos químicos dos sinais dos átomos de carbono foram atribuídos com base na comparação com os modelos difenil éter (15) [16] e benzofenona (16) [17], nos incrementos decorrentes do efeito doador de elétrons do átomo de oxigênio no sistema completo (14) [24] e na comparação dos espectros totalmente desacoplados e com acoplamento residual [24] (Tabela 2).

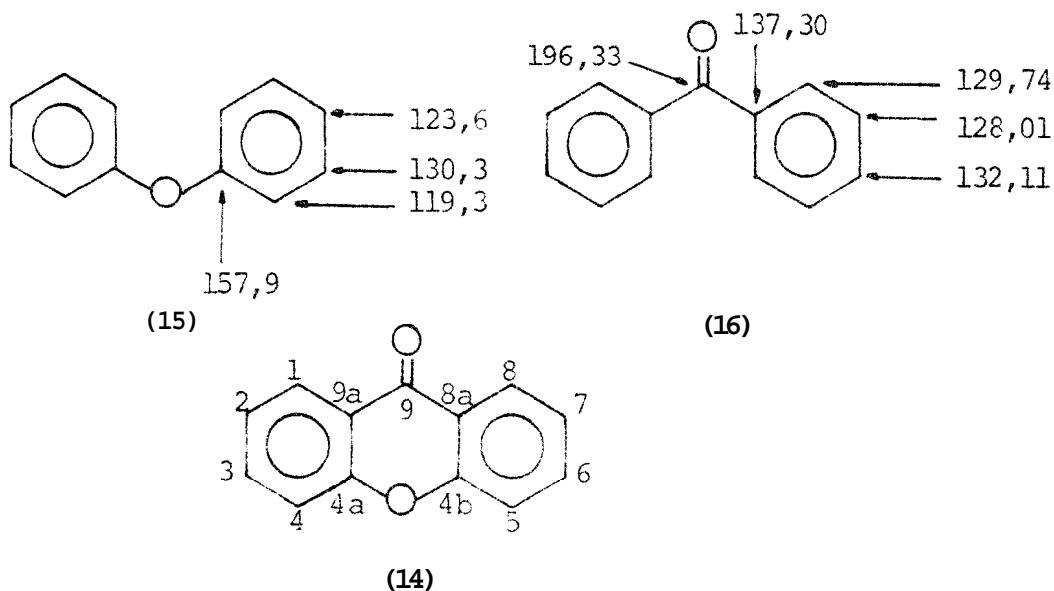


Tabela 2 - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono da xantona em r.m.n.¹³C. (ppm). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

C-1	C-2	C-3	C-4	C-4a	C-9a	C-9
126,6	123,8	134,5	117,8	156,0	121,8	176,9

C-5	C-6	C-7	C-8	C-8a	C-4b	Ref.
117,8	134,5	123,8	126,6	121,8	156,0	[20,24]

Na estrutura da xantona (14), os carbonos 8 a e 9 a estão 3 ppm mais protegidos do que o previsto por cálculo, o mesmo ocorrendo com os carbonos 4a e 4b que estão 6 ppm mais protegidos. O átomo de carbono carbonílico está mais protegido 20 ppm devido a deslocalização dos elétrons não compartilhados do oxigênio.

2. Efeito de substituintes oxigenados em xantonas

2.1. Xantonas mono-oxigenadas

O estudo comparativo de xantonas mono-oxigenadas mostra claramente que a presença destes substituintes em um dos anéis

não afeta os deslocamentos químicos dos sinais dos átomos de carbono do outro anel. Este resultado facilita bastante o trabalho de determinação estrutural de xantonas por ressonância magnética nuclear de carbono 13.

Xantonas poli-oxigenadas, sustentando funções oxigenadas nos dois anéis, podem ser analisadas por comparação com dois modelos contendo somente um dos anéis substituído.

Na determinação estrutural da 1,5-dihidroxi-6,7-dimetoxixantona, substância isolada de *Tovomita brasiliensis*, utilizou-se esta abordagem analítica.

2.1.1. - Xantonas mono-oxigenadas no carbono 1

Os átomos de carbono 2 e 4 sofrem proteção em torno de 13 a 15 ppm, que pode ser explicada pelo aumento de densidade eletrônica decorrente do efeito mesomérico doador de elétrons da função oxigenada do carbono 1 (Tabelas 3 e 4).

A proteção diamagnética em torno de 13 ppm do carbono 9a, observada quando o substituinte em C-1 é a hidroxila, e em torno de 9 ppm quando metoxila, revela a influência de ponte de hidrogênio intramolecular e de fatores estéricos, no deslocamento químico deste carbono. A influência estérica da metoxila com o grupo carbonila faz com que o grupo metila as-

suma conformação preferencial orientada para o átomo de carbono 2 (efeito γ). Em face disto, o efeito protetor do grupo metoxila sobre o carbono 2 pode ser diferente do exercido sobre o carbono 9a (Tabela 4).

2.1.2. - Xantonas mono-oxigenadas no carbono 2

Quando o substituinte está na posição C-2, os deslocamentos significativos, com respeito a xantona não substituída, ocorrem nos sinais dos carbonos 1,3 e 4a. A proteção do carbono 1 é em torno de 18 ppm quando a função oxigenada é uma hidroxila e em torno de 21 ppm quando é uma metoxila (Tabela 4). Torna-se necessário ressaltar que $(CD_3)_2SO$ foi utilizado como solvente para o registro do espectro de 2-dihidroxixantona.

O carbono 4a, para em relação ao grupo substituinte, sofre um efeito diamagnético em torno de 5 a 7 ppm (Tabela 4).

Tabela 3 - Incrementos nos deslocamentos químicos em r.m.n.¹³C de metoxixantonas (ppm)

Posição do Substituinte	Valores dos Incrementos					
	C-1 (C-8)	C-2 (C-7)	C-3 (C-6)	C-4 (C-5)	C-4a (C-4b)	C-8a (C-9a)
C-1 (C-8)	+ 33,7	- 18,1	- 0,9	- 8,3	+ 1,2	- 8,8
C-2 (C-7)	- 20,1	+ 32,1	-11,6	+ 0,4	- 6,5	+ 1,6
C-3 (C-6)	+ 1,5	- 11,0	+ 30,0	-18,0	+ 1,2	- 5,0
C-4 (C-5)	- 8,9	- 0,6	- 20,1	+30,1	-10,6	+ 2,3

2.1.3. 3-Monometoxixantona

A presença de uma metoxila no carbono 3 provoca deslocamento diamagnético nos sinais dos átomos de carbonos 2 (10 a 11 ppm), 4 (17 a 18 ppm) e 9a (5 a 7 ppm), como esperado. É lícito admitir que a existência de uma hidroxila nesta posição deve causar praticamente os mesmos efeitos (Tabela 4).

A Tabela 3 mostra os incrementos nos deslocamentos químicos de metoxixantonas.

2.1.4. 4-Hidroxixantona

A existência de uma hidroxila no carbono 4 origina modificações nos deslocamentos químicos, efeito de proteção, dos carbonos 1 (10 a 12 ppm), 3 (13 a 15 ppm) e 4a (5 a 6 ppm), o que se coaduna perfeitamente com o esperado, já que ocupam posições orto e para em relação a função oxigenada.

Substituintes	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8 _a	C-9 _a	C-4 _a	C-4 _b	Outros	Ref.
—	126,6	123,8	134,5	117,8	117,8	134,5	123,8	126,6	176,9	121,8	121,8	158,0	156,0		[20, 24]
1-Hidroxi	161,6	110,1	136,4	106,6	117,5	135,2	125,8	125,6	181,8	120,1	108,6	155,9	155,9		[24]
1-Metoxi	160,6	110,0	134,1	105,4	117,3	134,9	123,8	126,6	176,2	123,0	112,5	158,0	155,0	54,6 (OMe)	[24]
2-Hidroxi ^a	108,7	154,0	(124,5) ^b	119,4	118,1	135,1	(124,0) ^b	125,9	176,1	121,8	120,5	149,3	155,7		[23]
2-Metoxi	105,8	156,1	124,9	119,3	117,9	134,5	123,8	126,6	177,0	(121,2) ^b	(121,9) ^b	150,9	155,1	58,0 (OMe)	[20, 23]
3-Metoxi	128,1	113,0	164,9	100,1	117,5	134,0	123,7	126,5	176,0	121,8	115,7	157,9	156,0	55,6 (OMe)	[24]
4-Hidroxi ^a	115,5	124,5	120,5	146,8	118,8	135,1	124,0	125,9	176,3	(121,1) ^b	(121,7) ^b	145,4	155,7		[20, 23]

a - Em solução de (CD₃)₂SO.

b - Os valores entre parêntesis podem ser trocados.

Tabela 4 - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono de xantonas mono oxigenadas (ppm). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna, (r.m.n.¹³C. ; 25,2 MHz).

2. Xantonas dioxigenadas

Nas xantonas dioxigenadas (Tabela 5) existem duas possibilidades que merecem atenção: a) as duas funções oxigenadas estão no mesmo anel; b) uma função oxigenada em cada anel.

No primeiro caso, os deslocamentos químicos dos sinais dos carbonos do anel não substituído não devem apresentar modificações significativas em relação a xantona com anel sem substituição. A localização dos dois substituintes em um anel condiciona a 6 possibilidades estruturais: 1,2 -; 1,3 -; 1,4 -; 2,3 -; 2,4 - e 3,4 -dioxigenadas.

No caso dos substituintes estarem nas posições C-1 e C-3, os sinais dos átomos de carbono que as sustentam sofrem um deslocamento paramagnético da ordem de 20 a 35 ppm, pois as funções oxigenadas mantem relação meta entre si (Tabela 5). Situação análoga deve ser encontrada nas substâncias 2,4-dioxigenadas.

Quando as funções oxigenadas ocupam posições orto (1,2-, 2,3- e 3,4) ou para (1,4-) entre si, espera-se que os sinais dos átomos de carbono substituídos sintam um deslocamento paramagnético mais atenuado devido a conjugação. O efeito doador de elétrons do átomo de oxigênio por mesomeria causa uma maior densidade eletrônica nos carbonos substituídos.

Os deslocamentos químicos dos sinais dos carbonos 3 e 4 da 3,4-dihidroxi-xantona (Tabela 5) serviram de apoio para esta dedução.

Nas xantonas 1,3-dioxigenadas observa-se proteção de 24 a 26 ppm no carbono 2 (duas hidroxilas exercendo efeito orto) e de 22 a 24 ppm no carbono 4 (uma hidroxila exerce efeito orto e a outra para) quando os substituintes são hidroxilas, e 28 a 29 ppm no carbono 2 e, 25 a 26 no carbono 4 quando são metoxilas. O efeito de proteção sentido pelo carbono 9a é menor do que o do carbono 4, sendo 19,5 ppm na substância dihidroxilada e 14,8 ppm na dimetoxilada (Tabela 5).

Assim, fica evidenciado que os efeitos de duas funções oxigenadas no mesmo anel de uma xantona causam deslocamentos diamagnéticos nos sinais dos átomos de carbono orto e para em relação as funções oxigenadas, que podem ser considerados aditivos.

Quando as duas funções oxigenadas estão distribuídas nos dois anéis aromáticos, a atribuição dos deslocamentos químicos dos sinais dos carbonos de cada anel pode ser feita separadamente, através de comparação com valores calculados com base nos efeitos exercidos pelo grupo substituinte e com substância modelo.

O efeito de desproteção de um grupo acetoxi no carbono que o sustenta é em torno de 20 a 25 ppm, sendo menor do que o efeito de grupo metoxi ou hidroxil (30 a 35 ppm). Os sinais dos carbonos orto, sofrem deslocamento diamagnético de 5 a 8 ppm e os dos carbonos para, de 1 a 3 ppm. A deslocalização dos elétrons não compartilhados do oxigênio do grupo da acetoxila fica atenuada devido ao efeito retirador da carbonila, diminuindo o carácter de ligação dupla entre o carbono e o oxigênio.

Estes dados revelam que a análise comparativa dos espectros de r.m.n.¹³C, de derivado acetilado e de substância original permite estabelecer a vizinhança de grupo hidroxila. Por exemplo, o sinal do átomo de carbono 2 na 1,5-dihidroxi-xantona aparece em 110,0 ppm e na 1,5-diacetoxixantona em 118,6 ppm (Tabela 5).

Substituintes	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8 _a	C-9 _a	C-4 _a	C-4 _b	Cutros	Ref.
	126,6	123,8	134,5	117,8	117,8	134,5	123,8	126,6	176,9	121,8	121,8	156,0	156,0		
1,3-Dihidroxi ^a	163,1	98,3	166,0	94,3	117,5	135,3	124,1	125,2	179,7	119,9	102,3	157,4	155,3		[23]
1,3-Dietoxi	161,7	94,8	164,7	92,6	116,6	133,4	123,5	126,5	174,9	122,9	107,0	159,5	154,7	(OMe) 55,5 (OMe) 56,1	[20,24]
1,5-Dihidroxi ^a	161,0	110,0	137,4	107,4	146,5	121,1	124,5	114,7	182,1	121,0	108,2	155,7	145,3		[20,26]
1,5-Dietoxi	159,5	109,1	134,0	104,7	147,1	116,1	122,4	114,0	174,8	119,9	111,6	156,6	144,2	(OMe) 55,3 (OMe) 56,1	[24]
1,5-Dietoxi	150,0	118,6	134,6	116,1	138,8	127,7	123,4	123,9	175,0	121,5	114,5	156,5	150,0	(Me) 20,5 (Me) 21,1 (C = C) 168,2	[20]
1,6-Dihidroxi ^a	161,2	110,0	136,3	106,7	102,1	164,5	114,1	127,3	180,5	112,5	108,4	155,7	157,8		[20]
1,7-Dihidroxi ^a	160,9	109,5	137,0	107,0	119,2	125,5	154,0	107,8	181,4	120,4	107,8	155,7	149,2		[20,26]
1,7-Dihidroxi-7-metoxi	161,6	109,9	136,2	106,8	120,5	125,5	155,9	104,9	181,7	121,7	108,4	155,9	150,8	(OMe) 55,7	[20,23]
1,7-Dietoxi	160,4	109,8	134,3	106,1	118,5	123,7	155,7	104,9	176,0	122,7	111,8	157,8	149,5	(OMe) 55,7 (OMe) 58,3	[24]
1,7-Dietoxi ¹	149,3	(117,6) ^b	134,5	(115,7) ^b	(118,7) ^b	128,7	146,2	(117,9) ^b	174,1	121,8	- c	156,5	152,1	(Me) 20,5 (C = C) 168,5	[20]
3,4-Dihidroxi ^a	117,1	113,6	152,0	133,1	117,9	135,4	124,2	126,3	175,8	121,2	115,3	146,4	155,8		[20]
3,6-Dihidroxi ^a	128,1	114,1	163,7	102,6	102,6	163,7	114,1	128,1	174,6	114,5	114,5	158,0	158,0		[20]
3,6-Dietoxi	126,9	112,3	163,9	99,5	99,5	163,9	112,3	126,9	174,3	114,7	114,7	157,2	157,2	2 (OMe) 53,4	[20]

a - Em solução de (CD₃)₂SO.

b - Os valores entre parêntesis podem ser trocados.

c - O sinal não foi observado.

Tabela 5 - Deslocamentos químicos em r.m.n.¹³C. (25,2MHz) dos átomos de carbono de xantonas dioxigenadas (ppm). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

2.3. Xantonas trioxigenadas

Em xantonas trioxigenadas (Tabela 7) aparecem duas alternativas: a) as três funções oxigenadas estão localizadas no mesmo anel aromático; b) duas funções oxigenadas estão localizadas num anel e a outra no outro.

No primeiro caso, surgem 4 alternativas estruturais, pois a posição sem função oxigenada pode estar localizada em C-1, C-2, C-3 ou C-4. Na literatura só encontrou-se dados referente a 1,2,3-trihidroxixantona. O sinal do átomo de carbono 4 desta substância absorve em 94,2 ppm, praticamente o mesmo deslocamento químico do sinal do carbono 4 (94,3 ppm) da 1,3 -dihidroxixantona (Tabela 5).

As posições livres das outras alternativas estruturais devem revelar comportamento análogo, merecendo consideração os efeitos orto e/ou para dos grupos substituintes, uma vez que o efeito meta é praticamente desprezível.

O efeito de um substituinte (OH ou OMe) sobre carbono orto varia de 9,5 a 18,0 ppm, sobre carbono meta de 0,5 a 2,0 ppm e sobre carbono para de 6,5 a 11,5 ppm, em relação a xantona sem substituintes.

Os sinais dos átomos de carbono C-9a e C-4a deverão sofrer deslocamentos diamagnéticos que dependem, além do padrão

de substituição, sempre que esse envolver oxigênios em orto e/ou para (Tabela 6), de efeitos estéricos.

Tabela 6 - Posições relativas dos átomos de carbono 4a e 9a em relação a funções oxigenadas, de acordo com o padrão de substituição.

Carbono	Efeito	Padrão de Substituição
9a 4a	<u>Orto</u> e <u>Para</u> <u>Para</u>	1, 2, 3
9a 4a	<u>Orto</u> <u>Para</u> e <u>Orto</u>	1, 2, 4
9a 4a	<u>Orto</u> e <u>Para</u> <u>Orto</u>	1, 3, 4
9a 4a	<u>Para</u> <u>Orto</u> e <u>Para</u>	2, 3, 4

Quando as funções oxigenadas estão distribuídas nos dois anéis, a análise de espectros de r.m.n.¹³C pode ser feita por comparação com valores deduzidos com base nos efeitos dos grupos substituintes e com modelos (xantonas contendo um e dois substituintes num anel).

Substituintes	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8 _a	C-9 _a	C-4 _a	C-4 _b	Outros	Ref.
_____	126,6	123,8	134,5	117,8	117,8	134,5	123,8	126,6	176,9	121,8	121,8	156,0	156,0		[20,23]
1,2,3-Trihidroxi	(148,9)	128,9	155,8	94,2	117,9	135,4	124,2	125,4	180,5	119,3	102,8	(150,3)	155,8		[20,23]
1,3,6-Trihidroxi	163,1	98,1	165,1	94,1	102,9	164,1	113,9	127,1	179,2	112,6	102,9	157,1	157,1		[20,23]
1-Hidroxi-5,6-dimetoxi	161,8	110,5	136,2	106,9	136,2	158,1	108,7	121,6	181,4	115,3	108,5	156,1	150,5	(O ₁) 56,4 (O ₂) 61,4	[24]
1,3,5-Trimetoxi	161,8	95,3	164,7	92,8	147,8	114,4	123,1	117,6	175,0	123,9	107,2	159,5	145,1	(O ₁) 56,3 (O ₂) 55,7 (O ₃) 56,3	[24]
1,3,6-Trimetoxi	161,7	95,0	(164,3)	92,6	95,5	(164,0)	(112,C)	128,1	174,6	116,8	c	159,6	156,4	2 (O ₁) 55,6 (O ₂) 56,1	[20,23]
1,3,7-Trimetoxi	161,8	94,9	164,6	92,5	118,1	122,9	155,8	106,4	174,9	123,3	106,8	159,0	149,5	(O ₁) 56,1 (O ₂) 55,5 (O ₃) 55,6	[20,23] e [24]
1,3,8-Trimetoxi	161,4	94,8	163,9	91,8	108,8	133,1	105,6	160,2	174,9	113,5	108,2	152,2	156,6	(O ₁) 56,0 (O ₂) 55,3 (O ₃) 55,9	[24]

Tabela 7 - Deslocamentos químicos em r.m.n.¹³C. (25,2MHz) dos átomos de carbono de xantonas trioxigenadas (ppm). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

^c. O valor não foi observado.

2.4. Xantonas tetra e pentaoxigenadas

As xantonas tetraoxigenadas (Tabela 8) podem ser classificadas, segundo a distribuição das funções oxigenadas, em três categorias: a) todos os grupos substituintes estão localizados no mesmo anel; b) um anel sustenta três funções oxigenadas; c) cada um dos anéis sustenta duas funções oxigenadas.

Neste ponto, torna-se necessário comentar apenas o caso em que as funções oxigenadas estão todas no mesmo anel, já que as outras duas situações podem ser estudadas com base nos dados discutidos para funções mono, di e trioxigenadas (Tabelas 4, 5 e 7).

Os sinais referentes aos carbonos do anel aromático sem substituição devem ter deslocamentos químicos semelhantes àquelas da xantona sem substituinte. Os deslocamentos químicos dos sinais dos átomos de carbono do anel totalmente substituído devem ser governados pelos efeitos exercidos pelas funções oxigenadas, conforme já discutido, sendo necessário considerar também os efeitos estéricos.

A literatura não registra dados de xantonas com este padrão de substituição.

Nas xantonas pentaoxigenadas (Tabela 9) duas alternativas podem ser consideradas: a) um anel sustenta 4 substituin-

Substituintes	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8a	C-9a	C-4a	C-4b	Outros	Ref.
	126,6	123,8	134,5	117,8	117,8	134,5	123,8	126,6	176,9	121,8	121,8	156,0	156,0		[20,24]
2-Metoxi 1,3,5-Trihidroxí ^a	154,1	130,8	158,9	94,3	146,1	120,5	124,0	114,5	180,6	120,5	102,5	152,4	144,9	(OMe) 59,6	[20,26]
1,3,5,6-Tetrametoxi	161,8	95,2	164,6	92,9	135,7	156,5	108,2	122,0	174,7	117,9	106,7	159,7	149,1	2(OMe) 56,1 (OMe) 55,6 (OMe) 61,3	[24]
1,3,6,7-Tetrametoxi	161,8	94,9	164,9	92,5	98,8	154,3	146,4	105,8	174,4	115,9	106,9	159,6	150,7	3(OMe) 56,2 (OMe) 55,5	[24]
1,5-Diacetoxi 6,7-Dimetoxi	150,1	118,3	134,0	116,1	132,2	149,9	149,9	103,7	174,6	117,5	115,0	156,9	148,8	Pá. 172	

a - Em solução de $(CD_3)_2SO$.

Tabela 8 - Deslocamentos químicos em r.m.n.¹³C. (25,2MHz) dos átomos de carbono de xantonas tetraoxigenadas (ppm). $CDCl_3$ como solvente e TMS como referência interna.

Substituintes	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8 _a	C-9 _a	C-4 _a	C-4 _b	Outros	Ref.
—————	126,6	123,8	134,5	117,8	117,8	134,5	123,8	126,6	176,9	121,8	121,8	156,0	156,0		[20,24]
1,3,7-Trihidroxi 5,6-Dimetoxi ^a	162,5	97,9	165,2	93,8	(139,2) ^b	(141,4) ^b	(142,3) ^b	95,1	179,2	115,1	101,8	157,3	149,9	(Ox) 55,8 2 (Ox) 60,4	[20,23]
3,7-Dihidroxi 1,5,6-Trimetoxi	161,7	96,1	163,2	95,2	(138,8) ^b	(140,3) ^b	(141,0) ^b	95,6	173,2	118,0	105,3	159,1	149,6	(Ox) 55,8 2 (Ox) 60,4	[20,23]

a - Em solução de (CD₃)₂SO.

b - Os valores entre parêntesis podem ser trocados.

Tabela 9 - Deslocamentos químicos em r.m.n.¹³C. (25,2MHz) dos átomos de carbono de xantonas penta oxigenadas (ppm). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

tese o outro, um; b) um anel com 3 substituintes e outro com 2. As duas alternativas enquadram-se nos casos já estudados.

2.5. Xantonas preniladas

Os substituintes mais frequentemente encontrados em xantonas de ocorrência natural são, além das funções oxigenadas, grupo metila e unidade isoprênica.

Dos dados descritos na Tabela 10, pode-se verificar que a presença de um grupamento metila provoca um deslocamento diamagnético de 10 a 12 ppm no sinal do carbono que o sustenta, não ocasionando modificação significativa nos deslocamentos químicos dos sinais dos outros carbonos da xantona.

Jacareubina (17), 6-desoxijacareubina (18), calabaxantona (19), thwaitesixantona (20) e trapezifolixantona (21) são exemplos de xantonas com unidades isoprênicas (Quadro 6).

Se compararmos os valores das absorções dos carbonos 2 (98,3 ppm) e 3 (166,0 ppm) das xantonas 1,3-dihidroxiladas (Tabela 5) com os de jacareubina (17), onde o sinal do carbono 2 absorve em 103,8 ppm e C-3 em 156,7 ppm (Tabela 10), deduz-se que o efeito de desproteção causado por uma unidade isoprênica ciclizada no oxigênio é de 5 a 6 ppm no carbono que a sustenta (C-2) e de proteção em torno de 10 a 12 ppm no carbono

no que suporta o oxigênio (C-3).

Comparação de 2-metoxixantona com calabaxantona (19) revela que na primeira, o sinal de C-1 aparece em 108,7 ppm e o de C-2 em 154,0 ppm, enquanto que na segunda o sinal de C-8 aparece em 115,8 ppm e o de C-7 em 153,5 ppm. Portanto o sinal de C-8 sofre um deslocamento paramagnético de 7 ppm, como esperado. Os deslocamentos químicos dos sinais dos carbonos 2 da 2-metoxixantona e 7 da calabaxantona são praticamente idênticos.

Estes dados permitem concluir se a função oxigenada está envolvida num sistema cíclico com a unidade isoprênica. Quando tal fato ocorre, deve haver uma proteção de 10 a 12 ppm no carbono que sustenta a função oxigenada. Esta ciclização pode ser também reconhecida pelo deslocamento químico do carbono sp^3 oxigenado.

Os deslocamentos químicos dos sinais dos carbonos das unidades isoprênicas estão descritos nas fórmulas estruturais destas xantonas preniladas (Quadros 6 e 7).

Substituintes	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8 _a	C-9 _a	C-4 _a	C-4 _b	Outros	
—	126,6	123,8	134,5	117,8	117,6	134,5	123,8	126,6	176,9	121,8	121,8	156,0	156,0	—	[27]
1-Hidroxi-3-metil	161,1	110,7	148,3	107,0	117,5	134,7	123,4	125,3	181,0	120,0	106,7	155,5	155,5	(C-1) 22,1	[28]
1-Metoxi-3-metil	160,0	109,8	149,4	106,4	116,8	123,3	123,3	126,4	175,7	122,7	109,8	157,5	154,6	(C-1) 22,1 (C-2) 56,0	[29]
1,6-Dihidroxi-3-metil ^a	160,8	110,6	147,8	107,0	101,9	164,5	114,0	127,0	179,9	112,5	105,7	155,4	157,5	(C-1) 21,0	[30]
1,6-Dietoxi-3-metil	160,0	109,6	145,5	106,5	99,2	164,0	112,4	127,8	175,1	116,6	109,6	156,2	157,7	(C-1) 21,9 (C-2) 55,3 e 56,8	[31]
1,4,8-Trimetoxi-3-metil ^a	151,7	111,1	136,9	135,0	107,2	137,7	110,3	160,4	185,4	107,2	105,9	143,7	155,7	(C-1) 17,0	[32]
1,4,8-Trimetoxi-5-metil ^a	154,9	106,9	137,0	139,0	105,5	133,5	109,0	160,0	175,5	(113,4)	(112,6)	149,5	156,2	(C-1) 16,5 (C-2) 56,0 e 60,7	[32,33]
Jacarubina	(159,6)	103,8	(156,7)	94,7	132,6	152,1	113,2	116,0	180,0	113,0	102,3	(156,5)	146,1	Quadro b	[34,35]
6-Hidroxi-jacarubina	(160,1)	(103,9)	(156,7)	94,8	146,2	120,7	124,3	114,4	180,5	,20,7	(103,0) ^b	(156,0)	144,9	Quadro b	[35,36]
Galixarona	160,2	104,1	158,0	94,0	118,7	122,8	153,5	115,8	183,2	118,7	104,1	156,0	151,7	Quadro b	[20,27]
Elvaitasixantona	160,3	104,2	157,7	94,0	120,7	124,0	151,4	115,3	183,1	119,8	104,2	156,5	149,1	Quadro b	[20,28]
Propozifolixantona	158,2	104,7	153,6	107,0	144,5	119,7	123,9	115,7	180,9	120,9	103,4	156,0	144,5	Quadro b	[20,30]
Sturignatocistina	162,1	111,0	135,4	105,7	106,4	164,3	90,4	163,0	180,9	105,7	108,8	154,7	153,7	Quadro b	[31]
6-Hidroxi-sturignatocistina	162,1	111,0	135,3	105,6	105,3	165,9	89,7	163,2	181,0	105,6	108,8	154,7	154,3	Quadro b	[31]
6-Acetil-dihidroxi-sturignatocistina	150,1	118,6	133,1	115,0	104,8	165,0	89,7	163,1	173,8	107,7	115,9	155,7	153,6	Quadro b	[31]

Tabela 10 - Deslocamentos químicos em r.m.n.¹³C. (25,2MHz) dos átomos de carbono de xantonas preniladas (ppm). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

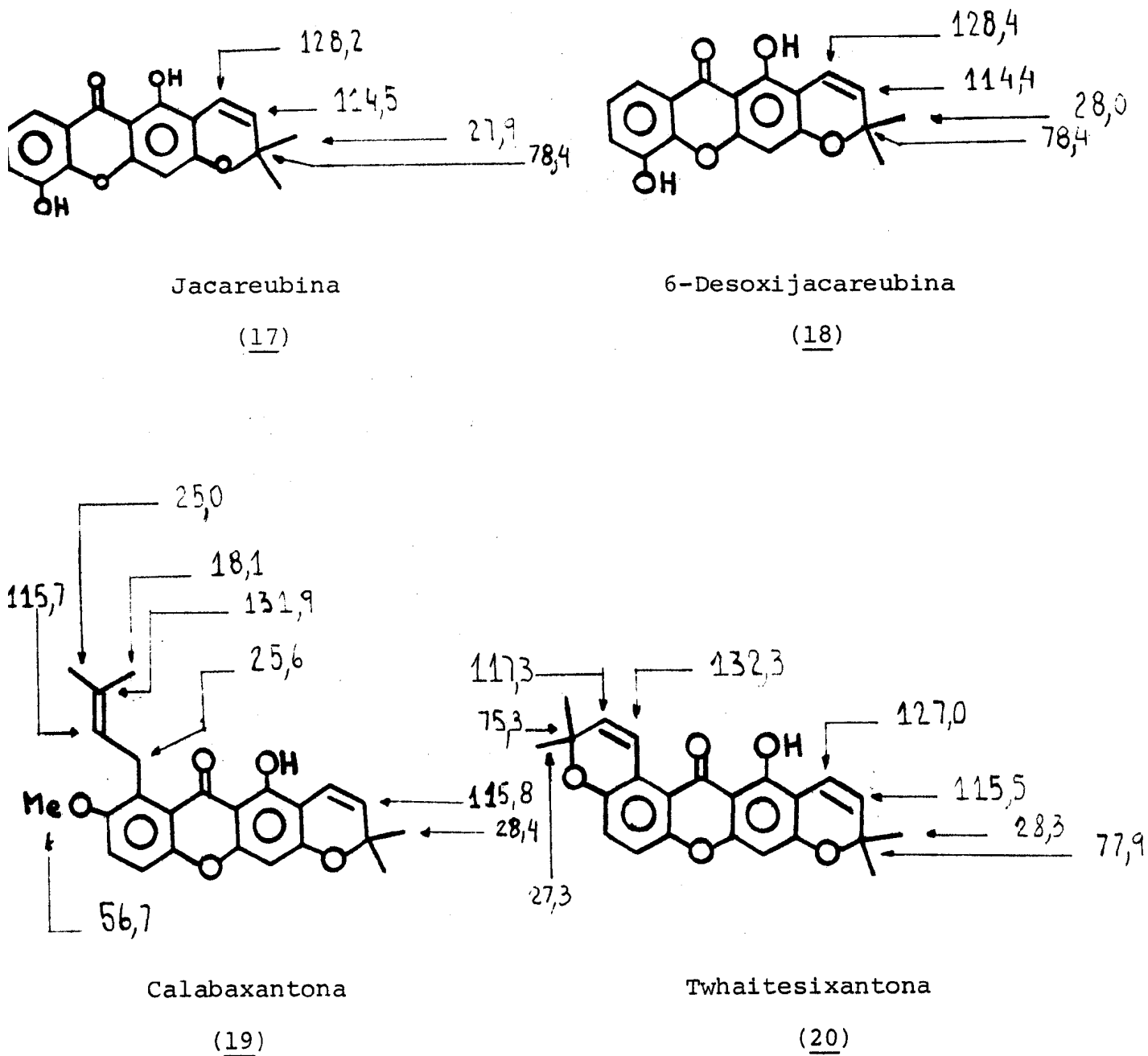
SUBSTITUÍNTES	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	C-8a	C-9a	C-4a	C-4b	OUTROS	REF.
Savoralina	151,7	111,1	136,9	135,0	107,4	137,7	110,3	160,4	185,2	107,2	105,9	143,9	155,7	(b) 17,0	[28]
Tajixantona	152,3	109,7	136,4	114,8	118,7	137,8	149,0	120,6	183,6	116,4	108,7	159,7	151,4	Quadro 7	[32]
Shamixantona	152,1	109,3	135,8	118,7	118,7	137,6	148,8	120,5	183,6	116,4	108,7	159,2	151,5	Quadro 7	[32]

DERIVADOS DE TAJIXANTONA

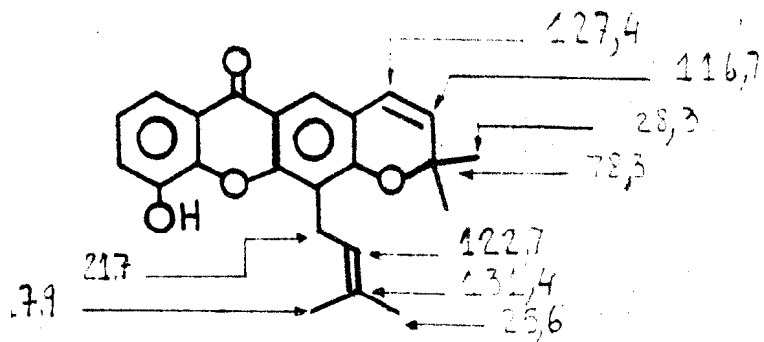
1	152,1	109,1	135,9	119,5	118,6	137,5	149,2	120,4	183,6	116,7	108,7	159,1	151,4	Quadro 7	[32]
2	157,9	104,3	133,5	121,2	118,3	135,7	148,4	120,6	179,2	119,0	112,2	153,9	149,9	Quadro 7	[32]
3	152,3	109,7	136,2	114,8	118,6	137,8	149,4	120,6	183,6	116,8	108,9	159,9	151,4	Quadro 7	[32]
4	158,6	104,7	134,3	117,9	118,3	135,9	148,6	120,8	179,0	119,1	112,3	154,1	149,9	Quadro 7	[32]
5	156,0	101,9	139,0	116,1	118,8	138,6	149,3	120,6	183,0	116,7	109,3	156,0	151,4	Quadro 7	[32]
6	152,4	109,5	137,7	115,9	118,7	137,9	149,0	120,4	183,5	116,3	108,7	159,5	151,3	Quadro 7	[32]
7	152,3	109,9	136,5	114,9	121,2	135,9	150,4	117,6	183,0	113,4	108,9	159,9	151,1	Quadro 7	[32]
8	158,6	104,7	134,3	117,9	120,8	134,1	149,8	117,9	177,3	115,8	112,4	154,1	150,3	Quadro 7	[32]
9	152,3	109,3	137,7	116,8	119,2	137,7	153,0	104,0	181,0	118,2	108,1	159,7	150,5	Quadro 7	[32]

(... Continuação da Tabela 10).

Quadro 6 - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono dos substituintes de jacareubina, 6-desoxijacareubina, calabaxantona, twhaitesixantona, trapezifolixantona, sterigmatocistina, dihidrosterigmatocistina e O-A-dihidrosterigmatocistina. (ppm).

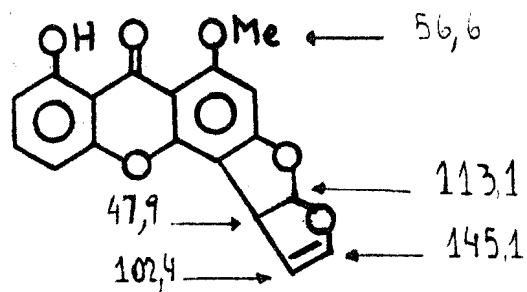


(... Continuação do Quadro 6).



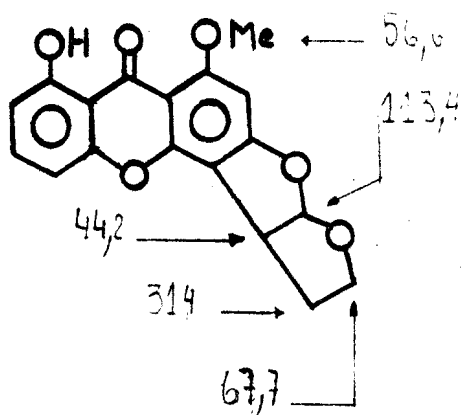
Trapezifolixantona

(21)



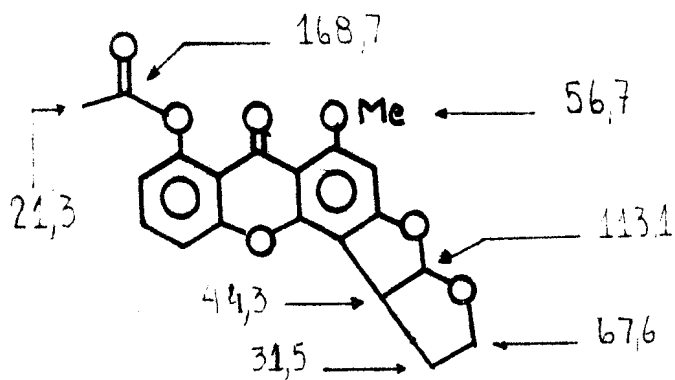
Sterigmatocistina

(22)



Dihidrosterigmatocistina

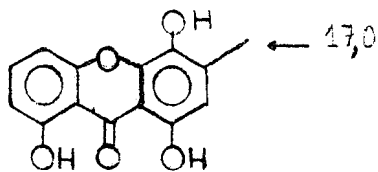
(23)



O-A-Dihidrosterigmatocistina

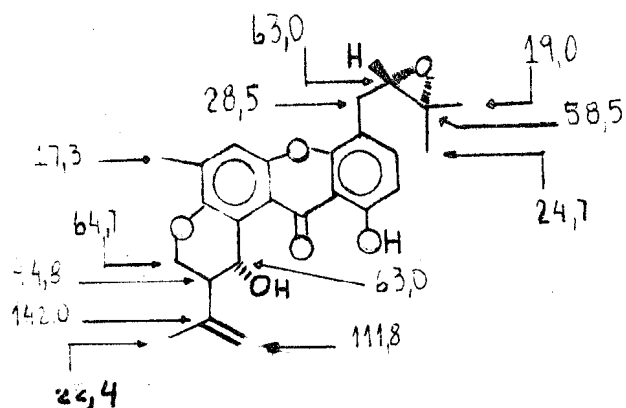
(24)

Quadro 7 - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono dos substituítos de ravenelina, tajixantona, shamixantona e derivados (ppm).



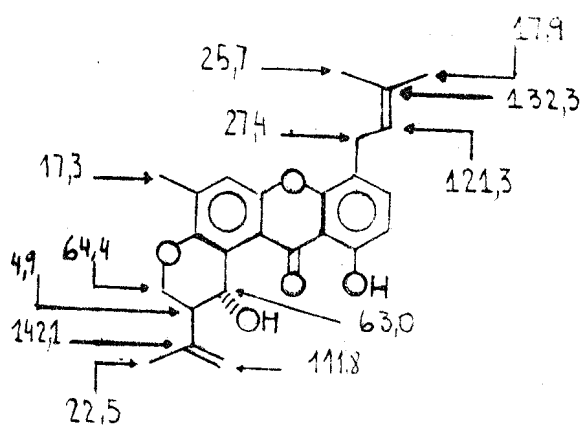
Ravenelina

(25)



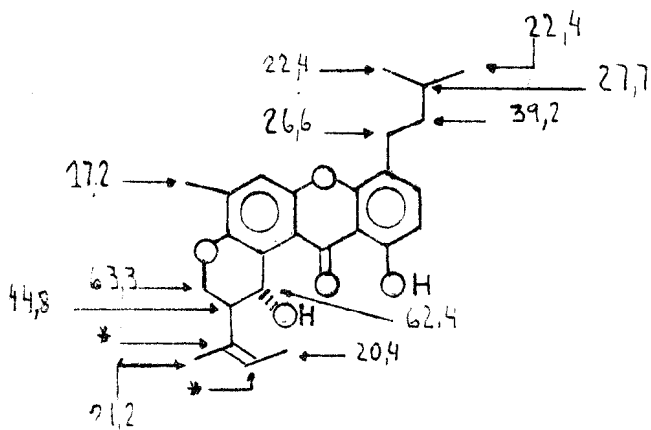
Tajixantona

(26)



Shamixantona

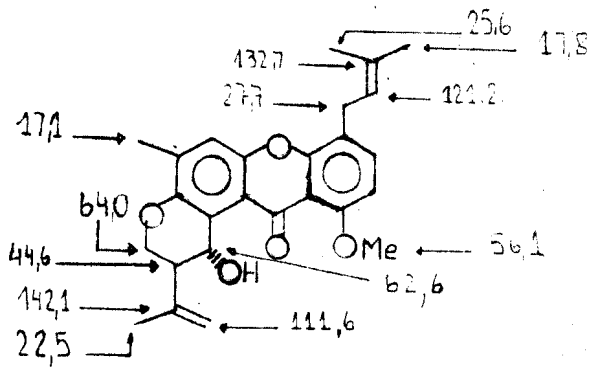
(27)



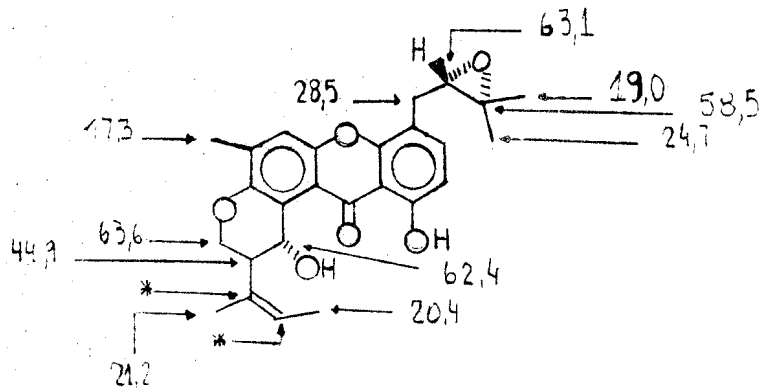
Derivado 1

(28)

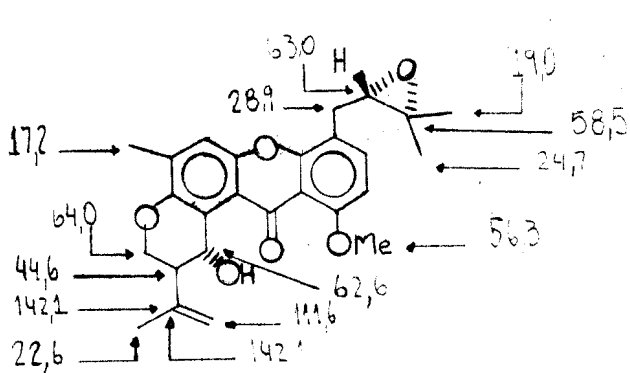
(... Continuação do Quadro 7).



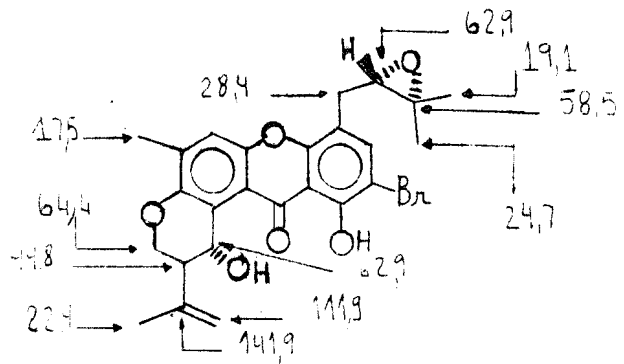
Derivado 2
(29)



Derivado 3
(30)

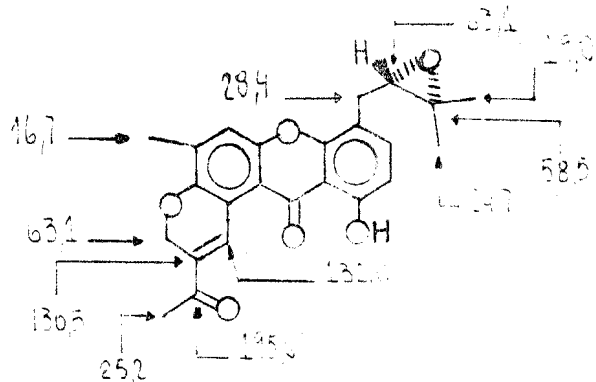


Derivado 4
(31)



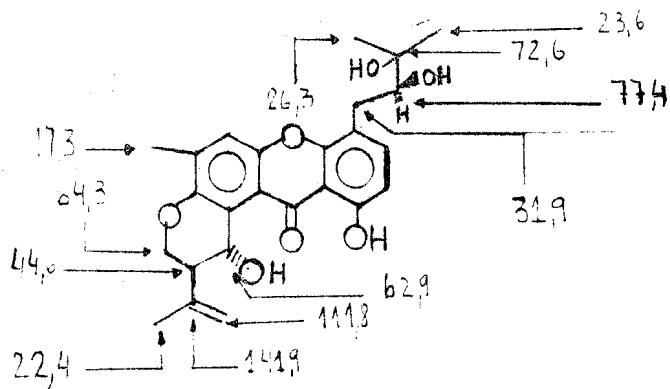
Derivado 5
(32)

(... Continuação do Quadro 7).



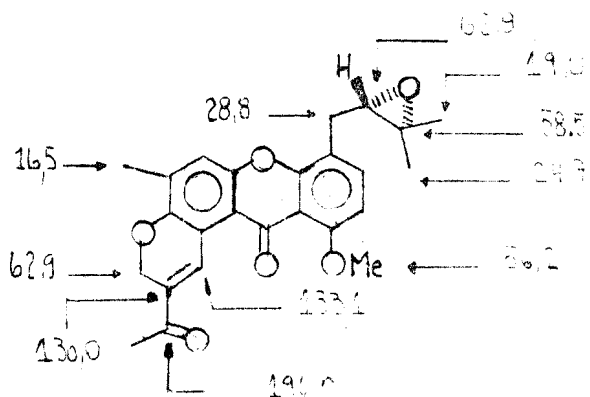
Derivado 6

(33)



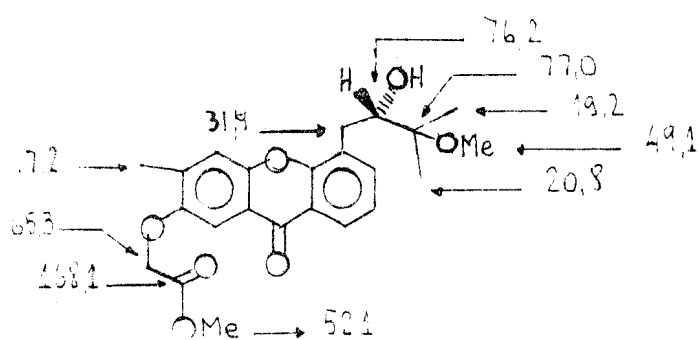
Derivado 7

(34)



Derivado 8

(35)



Derivado 9

(36)

CAPÍTULO III

ESTUDO QUÍMICO DE TOVOMITA BRASILIENSIS

ESTUDO QUÍMICO DE TOVOMITA BRASILIENSIS

1. A planta e seus constituintes

As Gutíferas são reconhecidamente ricas em xantonas. O estudo de *Tovomita choisyana* [13 e 14], por exemplo, levou ao isolamento de 5 substâncias, das quais duas são xantonas. *Carai-pa densiflora* contém xantonas tetraoxigenadas [11].

O estudo químico do extrato benzênico de *Tovomita brasiliensis*, uma espécie arbórea que ocorre no estuário do rio Amazonas, conduziu ao isolamento de sete substâncias, sendo uma xantona (Tb-3), duas dihidroisocumarinas (Tb-1 e Tb-6), uma isocumarina (Tb-5), ácido betulínico (Tb-4), sitosterol (Tb-2) e uma outra cuja estrutura ainda não está definida neste trabalho.

A presença das dihidroisocumarinas e da isocumarina, mostra que esta planta deve ter sido infestada por fungos [12].

Xantonas são encontradas em plantas superiores num número limitado de famílias [5 e 6], e em microorganismos [11]. Nos últimos anos elas têm sido bastante estudadas, e o interesse nas mesmas vem aumentando devido às suas atividades farmacológicas [7 e 8] e microbiológicas [9 e 10].

2. Determinação estrutural dos constituintes de *Tovomita brasiliensis*.

2.1. 1,5-Dihidroxi- 6,7-dimetoxixantona (Tb-3)

2.1. 1. Espectrometria na região do infravermelho

Espectrometria no infravermelho (Fig.15) revelou bandas de absorção típicas de substância aromática (1610 , 1580 cm^{-1}) sustentando carbonila conjugada (1645 cm^{-1}) e a presença de hidroxilas (3350 cm^{-1}).

A banda de absorção em 1645 cm^{-1} sugeriu a presença de carbonila conjugada e em ponte de hidrogênio.

O espectro do derivado acetilado (Fig.16) confirmou a presença de hidroxilas pelo desaparecimento da banda larga em 3350 cm^{-1} e o aparecimento de uma banda em 1760 cm^{-1} , atribuída ao estiramento do grupo C = O de acetoxila. O deslocamento da banda da carbonila conjugada, de 1645 cm^{-1} para 1705 cm^{-1} , confirmou a existência de hidroxila quelatogênica na substância original.

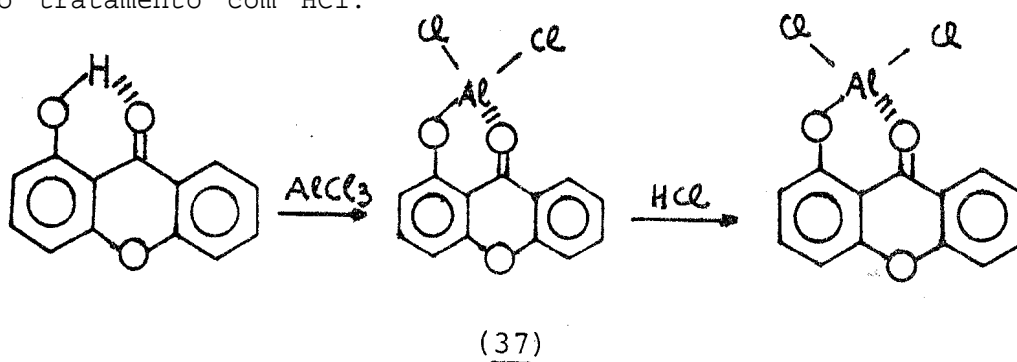
Uma banda em 860 cm^{-1} e outra em 805 cm^{-1} , permitiram sugerir a presença de anéis aromáticos sustentando próton isolado e dois ou três adjacentes.

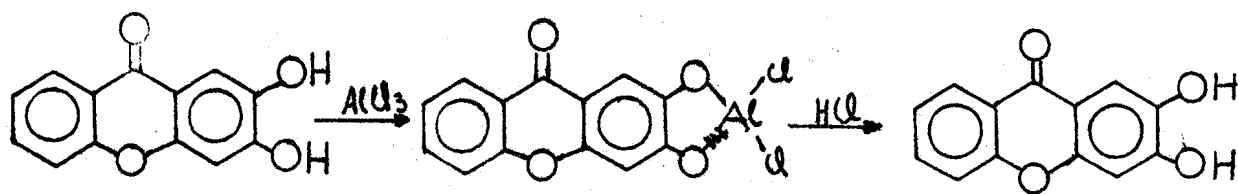
2.1.2. Espectrometria na região do ultravioleta

Espectrometria na região do ultravioleta revelou máximos de absorção compatíveis com a natureza xantônica da substância (Fig. 17) [45].

A presença de hidroxila fenólica foi confirmada no espectro no ultravioleta, através do deslocamento batocrômico, após adição de hidróxido de sódio a solução neutra. Sendo esta uma base forte, é capaz de ionizar hidroxila em qualquer posição do sistema aromático. A regeneração da curvas após neutralização da solução alcalina com ácido clorídrico sugeriu a ausência de sistema orto e/ou para dihidroxilado (Fig.17) [45, 46].

A existência de sistema quelatogênico (OH em C-1 ou C-8) foi evidenciada, através da modificação do espectro de ultravioleta, após adição de $AlCl_3$ à solução neutra (Fig. 18). O complexo formado (37) resiste à adição controlada de ácido clorídrico. Em sistema orto dihidroxilado o complexo formado (38) não resiste ao tratamento com HCl.





(38)

O espectro no ultravioleta após adição de acetato de sódio sugeriu tratar-se de uma xantona com padrão de oxigenação 1,5-dihidroxilado, pois a forma da curva revelou-se semelhante a do espectro em meio neutro, ocorrendo apenas pequena alteração na absorção em 315 nm. A presença de hidroxila na posição 3 e/ou 6 deveria causar um deslocamento mais acentuado na curva do que o observado [45].

A inalteração da curva, após adição de acetato de sódio mais ácido bórico, Confirmou a inexistência de sistema orto dihidroxilado (Fig.19).

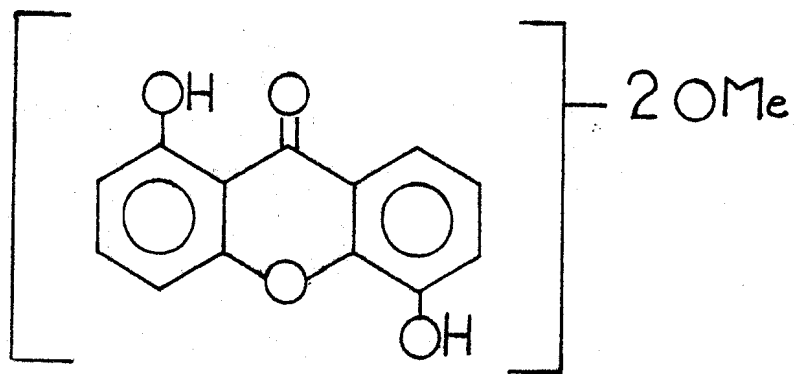
2.1.3. Espectrometria de massa

O espectro de massa da Tb-3 (Fig.20, Quadro 8) forneceu,

através do pico correspondente ao íon molecular, o peso de 288 u.m.a., coerente com a fórmula molecular $C_{15}H_{12}O_6$.

O derivado acetilado apresentou, no espectro de massa, o pico do íon molecular em 372 u.m.a., indicando a ocorrência de duas perdas consecutivas de 42 u.m.a., correspondentes à eliminação de duas moléculas de $CH_2 = C = O$. Cada grupo acetoxila fornece uma molécula de ceteno, através de reação envolvendo rearranjo de hidrogênio, aparecendo o pico base em m/e 288 (Fig.21, Quadro 9) correspondente ao peso molecular da substância original. Fragmentos em m/e 259 e m/e 258 sugeriram a presença de grupo metoxila.

Os dados discutidos até agora permitiram sugerir a estrutura parcial (39).



(39)

2.1.4. Ressonância magnética nuclear protônica

O espectro de r.m.n.¹H. da Tb-3 (Fig.22) foi registrado em CDCl₃ + (CD₃)₂SO devido a pouca solubilidade em CDCl₃.

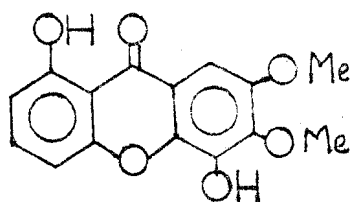
A presença dos sinais em 4,01 e 4,05δ confirmou a presença de duas metoxilas, sugeridas pelo espectro de massa.

Dois duplos dubletos, em 6,76δ (J = 8,0 e 1,8 Hz) e em 7,02δ (J = 8,0 e 1,8 Hz), e um triplete em 7,56δ (J = 8,0 Hz) indicaram que um dos anéis aromáticos sustenta somente uma função oxigenada. Um singlete em 7,53δ indicou a presença de um próton isolado no outro anel.

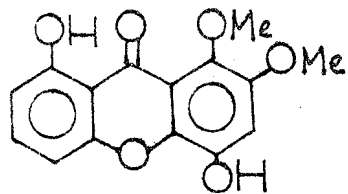
Um sinal em 12,70 δ, que desapareceu após adição de D₂O (Fig.23), confirmou a presença de hidroxila quelatogênica.

A presença de dois grupos hidroxila foi confirmada pela análise comparativa dos espectros da substância original e do derivado acetilado. Este revelou a presença de dois grupos acetoxila, representados por um sinal simples em 2,50δ (Fig.24).

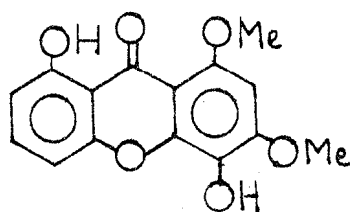
De posse destes dados, foi possível postular 6 alternativas estruturais para Tb-3, (40), (41), (42), (43), (44), (45).



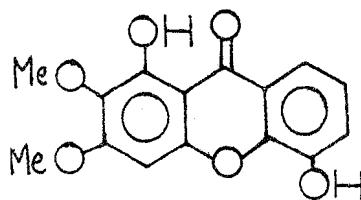
(40)



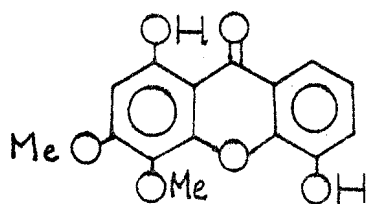
(41)



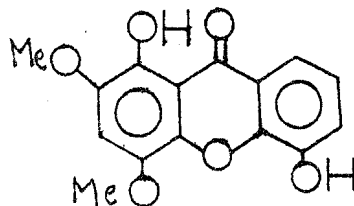
(42)



(43)



(44)



(45)

As alternativas estruturais (41) a (45) foram afastadas com base na comparação dos valores dos deslocamentos químicos calculados (Tabela 11) para o próton isolado [19] (7,30 δ) nas 6 estruturas. O valor calculado para o próton isolado da estrutura (40) (7,30 δ) é o que mais se aproxima do observado (7,53 δ).

Tabela 11 - Deslocamentos químicos calculados para o próton isolado das estruturas (40) a (45), CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

Estrutura	H	Valor Básico (δ)	Incrementos			Deslocamento Químico (δ)
			ORTO	META	PARA	
(40)	8	8,35	- 0,45	- 0,20	- 0,40	7,30
(41)	6	7,70	-2x0,45	- 0,20	-	6,60
(42)	7	7,35	-2x0,45	- 0,20	-	6,25
(43)	4	7,50	- 0,45	- 0,20	- 0,40	6,45
(44)	2	7,35	-2x0,45	- 0,20	-	6,25
(45)	3	7,70	-2x0,45	- 0,20	-	6,60

O espectro do derivado acetilado (Fig. 23), mostrou deslocamentos paramagnéticos nos sinais dos prótons H-2 e H-4 (dois duplos dubletos em 7,30 e 7,38 δ), confirmando que estas posições são conjugadas com a hidroxila em C-1.

O deslocamento paramagnético observado no próton H-8 foi de 0,3 ppm.

Dessa forma, ficou estabelecida a estrutura correta para a Tb-3 como 1,5-dihidroxi- 6,7-dimetoxixantona.

Espectrometria de r.m.n.¹³C, permitiu confirmar tal dedução.

2.1.5. Aplicação do estudo de r.m.n.¹³C, de xantonas na elucidação estrutural de 1,5-dihidroxi- 6,7-dimetoxixantona (Tb-3).

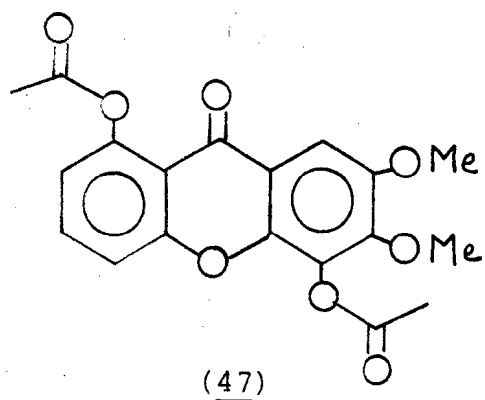
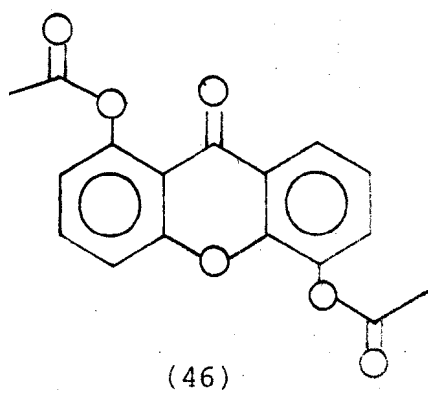
Comparação dos espectros de r.m.n.¹³C, totalmente desacoplado (Fig.25) e com acoplamento residual (Fig.26) do derivado acetilado da Tb-3, permitiram assinalar os sinais correspondentes a carbonos não protonados, monoprotonados e triprotonados.

Para estabelecer a correlação dos deslocamentos químicos com os carbonos correspondentes utilizou-se, além da feição do sinal, os efeitos de grupos substituintes e comparação com substâncias modelo.

2.1.5.1. Deslocamentos químicos dos átomos de carbono do anel monosubstituído (1-acetoxi).

Já ciente de que os deslocamentos químicos dos átomos de carbono de um anel não são afetados significativamente pela presença de substituintes no outro anel, o que para o caso em foco é confirmado pelos dados da Tabela 13, tornou-se possível com-

parar os valores das absorções dos átomos de carbono 1, 2, 3, 4, 4a, 9a e 9 (anel monosubstituído) da Tb-3Ac (47) com os deslocamentos químicos dos carbonos do anel que sustenta um grupo acetoxi (carbono 1) da 1,5-diacetoxixantona (46) (Tabela 5).



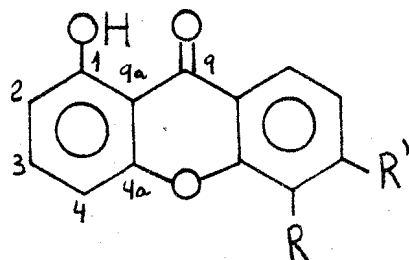
Os valores encontrados são muito próximos, confirmando definitivamente o padrão de oxigenação de um dos anéis da Tb-3Ac (Tabela 12) como 1-acetoxi e, conseqüentemente, a substância original como 1-hidroxi.

Tabela 12 - Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos carbonos 1, 2, 3, 4, 4a, 9 e 9a da 1,5-diacetoxi- 6,7-dimetoxixantona (47) e de 1,5-diacetoxixantona. CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

<u>(47)</u>			<u>(46)</u>		
C	c	Feição	C	c	Feição
1	150,1	s	1	150,1	s
2	118,3	d	2	118,6	d
3	134,0	d	3	134,6	d
4	116,1	d	4	116,1	d
4a	156,9	s	4a	156,5	s
9	174,6	s	9	175,0	s
9a	115,0	s	9a	114,5	s

Tabela 13 - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono do núcleo aromático monosubstituído. CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

	R	R'	C-1	C-2	C-3	C-4	C-4a	C-9	C-9a	Ref.
(48)	OH	H	161,0	110,0	137,4	107,4	155,7	182,1	108,2	[20,26]
(49)	OCH ₃	OCH ₃	161,8	110,5	136,2	106,9	156,1	181,4	108,5	[20]
(50)	H	H	161,6	110,1	136,4	106,6	155,9	181,8	108,6	[20]



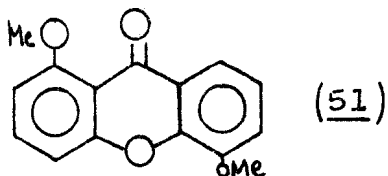
(48) R = OH R' = H

(49) R = OCH₃ R' = OCH₃

(50) R = H R' = H

O átomo de carbono 1 da Tb-3Ac não pode sustentar grupo metoxila, pois neste caso os sinais duplos correspondentes aos átomos de carbono 2, 3 e 4 e simples dos carbonos 1, 4a, 9 e 9a apareceriam em campos diferentes. Os valores do modelo (51) descritos na Tabela 14 atestam esta dedução.

Tabela 14 - Deslocamentos químicos (ppm) dos carbonos 2, 3, 4 (dupletos) e 1, 4a, 9 e 9a (singletos) da 1,5-dimetoxixantona (51). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

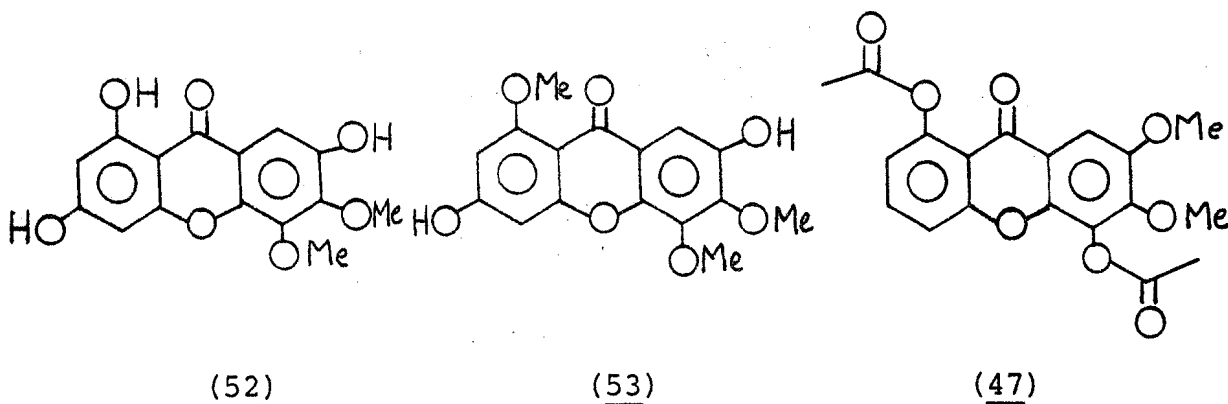


C	C-2	C-3	C-4	C-1	C-4a	C-9	C-9a	Ref.
c	109,1	134,1	104,7	159,5	156,6	174,8	111,6	[20]
Feição	d	d	d	s	s	s	s	

2.1.5.2. - Deslocamentos químicos dos átomos de carbono do anel trissubstituído (5-acetoxi- 6,7-dimetoxi).

A absorção de um carbono de grupo metoxila em 56,2 ppm (quarteto) indica que este grupo ocupa posição estericamente não impedida. Conseqüentemente, a possibilidade da presença de grupo OH em C-7 fica definitivamente afastada. Neste caso, teríamos dois quartetos em torno de 60 ppm, enquanto que o espectro da substância em análise apresenta apenas uma metoxila estericamente impedida (61,2 ppm).

Para comparação dos deslocamentos químicos dos carbonos 4b, 5, 6, 7, 8 e 8a da Tb-3Ac (47) foram usados os valores de absorção dos carbonos correspondentes das xantonas modelo (52) e (53) (Tabela 15).



A comparação dos valores da Tabela 15 revela que:

- a - Os átomos de carbono 8 a da Tb-3Ac (47) e do modelo (53) absorvem praticamente na mesma posição;
- b - Os sinais correspondentes dos átomos de carbono 6 e 8 da Tb-3Ac (47) estão deslocados para menor campo (deslocamento paramagnético) com relação aos sinais análogos de (52) e (53).
- c - O sinal correspondente ao átomo de carbono 5 de (47) aparece em campo mais alto (deslocamento diamagnético) do que de (52) e (53).

Tabela 15 - Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos carbonos 4b, 5, 6, 7, 8 e 8a da Tb-3Ac (47) com dos carbonos dos modelos (52) e (53). CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

	C-5	C-6	C-7	C-8	C-8a	C-4b	Ref.
(52)	139,2	141,4	142,8	95,1	115,1	149,9	[20,23]
(53)	(138,8) ^a	(140,3) ^a	(141,0) ^a	95,6	118,0	149,6	[20,23]
(47)	132,2	149,9	149,9	103,7	117,5	148,8	

a - Os valores entre parêntesis podem ser trocados.

Estes resultados estão em acordo com a previsão. Os dados referentes aos modelos (54) e (55) (Tabela 16) confirmam esta dedução.

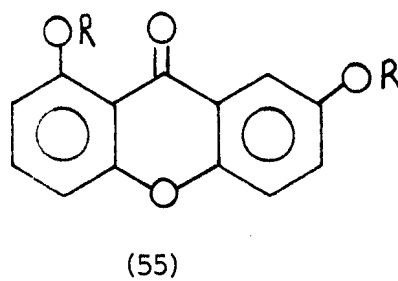
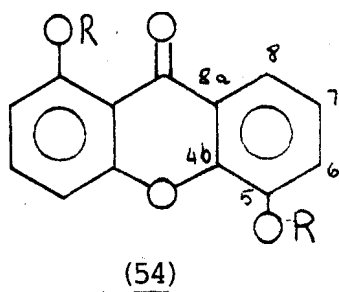


Tabela 16 - Deslocamentos químicos (ppm) das substâncias modelo (54) e (55). CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

		C-5	C-6	C-7	C-8	C-8a	C-4b	Ref.
(54)	R = H	146,5	121,1	124,5	114,7	121,0	145,3	[20,26]
	R = Ac	138,8	127,7	123,4	123,9	121,5	150,0	[20]
	$\Delta\delta_c$	-7,7	+6,6	-1,1	+9,2	+0,5	+4,7	
(55)	R = H	119,2	125,5	154,0	107,8	120,4	149,2	[20,26]
	R = Ac	(118,7) ^a	128,7	146,2	(117,8) ^a	121,8	152,1	[20]
	$\Delta\delta_c$	-0,5	+3,2	-7,8	+10,1	+1,4	+2,9	

a - Os valores entre parêntesis podem ser trocados.

Os valores de deslocamento químico referentes ao carbono 7 (Tabela 15) não se coadunam com a previsão e, por isto, julgamos que as atribuições referentes aos modelos (52) e (53) merecem correção.

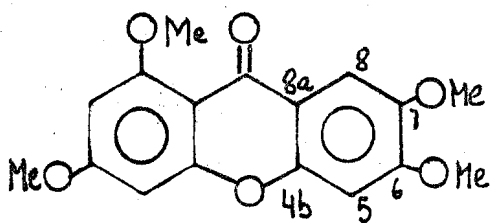
De fato, se trocarmos as atribuições para os sinais C-7 e C-4b indicadas na literatura para esses modelos ficam compreensíveis todos os dados espectrais obtidos para xantona (47).

Os valores de C-7 (meta a C-5 que sustenta seja metoxila, seja acetoxila) são praticamente iguais nas três substâncias, enquanto que os valores de C-4b (orto a C-5) são deslocados para magneticamente ao se substituir metoxila de (52) e (53) por acetoxila de (47). Os dados que aparecem na Tabela 17, referentes aos modelos (56) e (57), estão em acordo com esta dedução, pois indicam a pequena modificação espectral decorrente de alteração de substituição em posição meta.

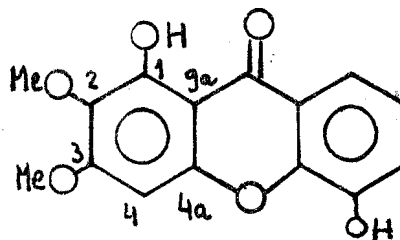
Da mesma forma, comparando os valores de C-7 e C-8a em (56) e (47), que diferem pela ausência e presença de substituinte em C-5, nota-se diferença espectral reduzida (Tabela 18). Os valores de 154,3 e 150,7 ppm na substância (56) são deslocados para 158,9 e 152,4, respectivamente, com a introdução de hidroxila em C-1 no modelo (57).

Tabela 17 - Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos átomos de carbono dos modelos (56) e (57).

(56)		(57)	
C-5	98,8	C-4	94,3
C-6	154,3	C-3	158,9
C-7	146,4	C-2	130,8
C-8	105,8	C-1	154,1
C-8a	115,9	C-9a	102,5
C-4b	150,7	C-4a	152,4



(56)



(57)

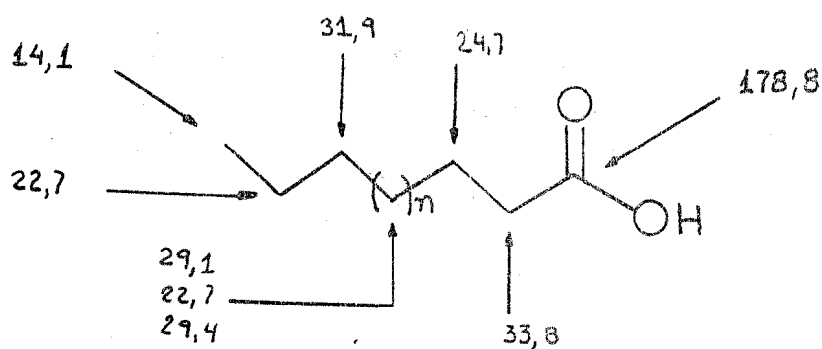
Tabela 18 - Comparação dos deslocamentos químicos (ppm) dos átomos de carbono 4b, 5, 6, 7, 8 e 8a da Tb-3Ac (47) com os correspondentes do modelo (56).

(47)		(56)	
C-5	132,2	C-5	98,8
C-6	149,9	C-6	154,3
C-7	149,9	C-7	146,4
C-8	103,7	C-8	105,8
C-8a	117,5	C-8a	115,9
C-4b	148,8	C-4b	150,7

Assim, a estrutura do derivado diacetilado de Tb-3 fica estabelecida como 1,5-diacetoxi- 6,7-dimetoxixantona (47)e, conseqüentemente, a Tb-3 fica definida como 1,5-dihidroxi- 6,7-dimetoxixantona (40).

Esta substância possui padrão de oxigenação raramente encontrado na natureza e é inédita no gênero Tovomita, tendo sido isolada apenas no gênero Caraipa (espécies densiflora, grandifolia e psidifolia) [21, 44].

As absorções em 178,8; 33,8; 31,9; 29,7; 29,4; 29,1; 24,7; 22,7 e 14,1 ppm correspondem a carbonos de ácido carboxílico presente como impureza (58) no espectro da Tb-3Ac (Fig.25).



(58)

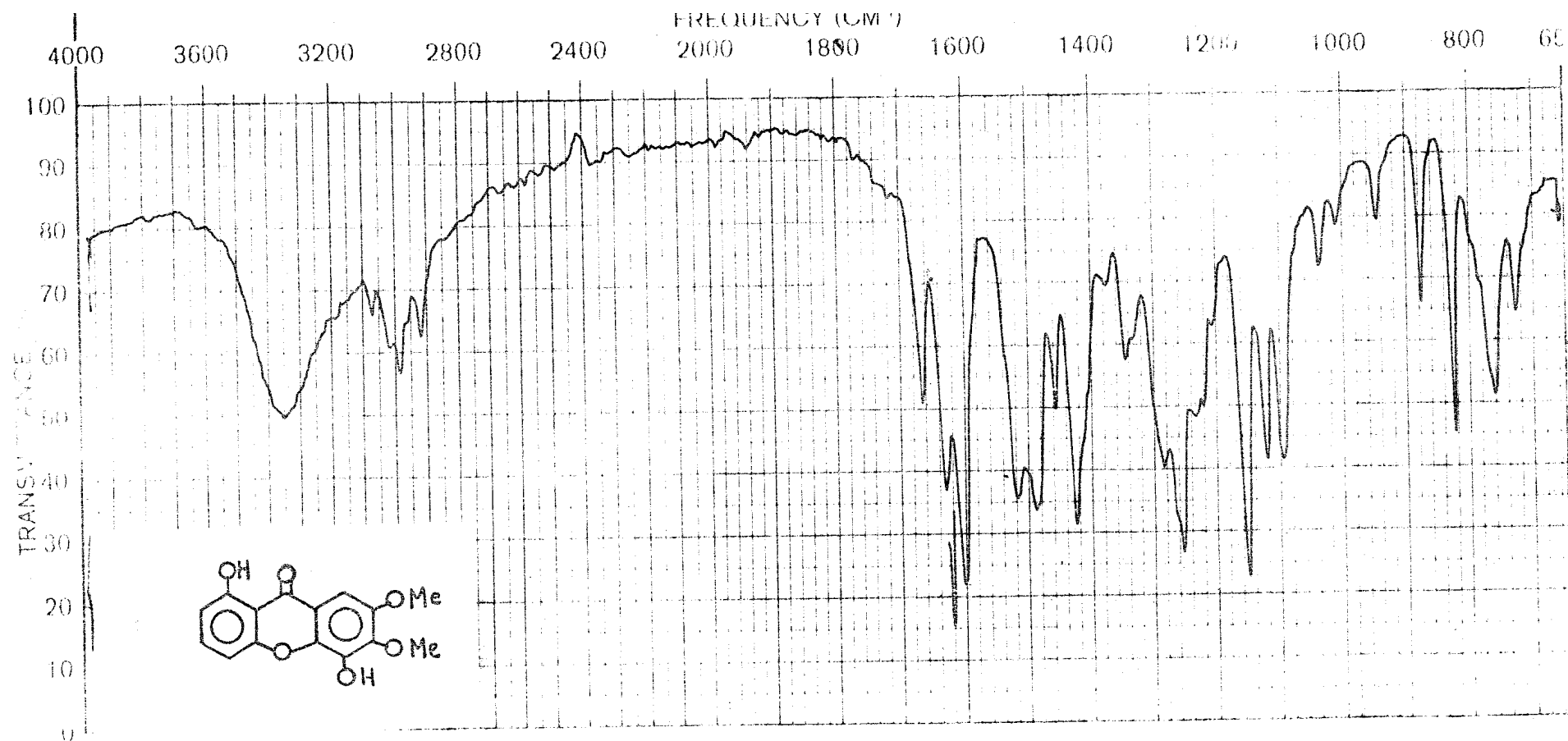


Figura 15 - Espectro no infravermelho de Tb-3. Fase KBr.

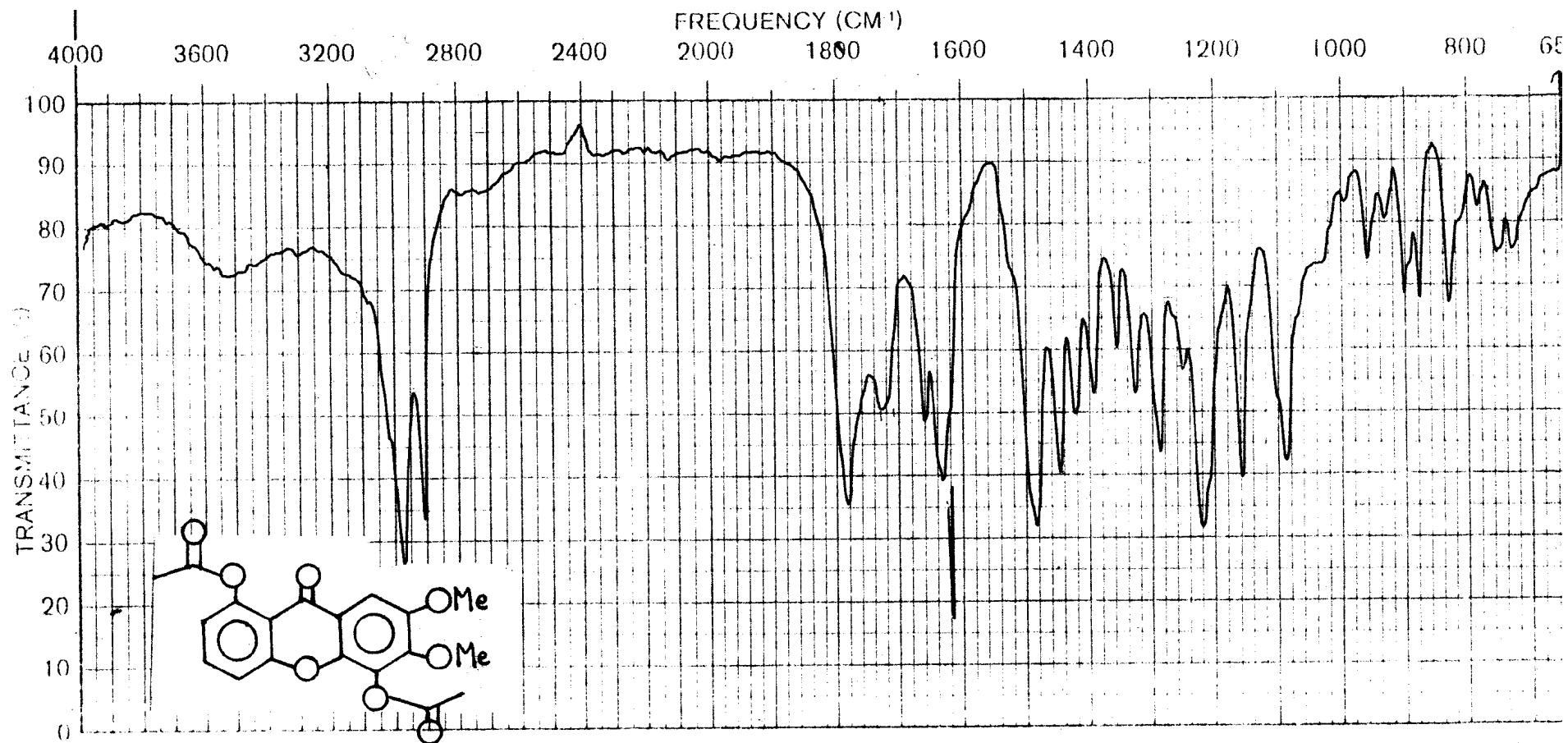


Figura 16 - Espectro no infravermelho do derivado acetilado de Tb-3. Fase KBr.

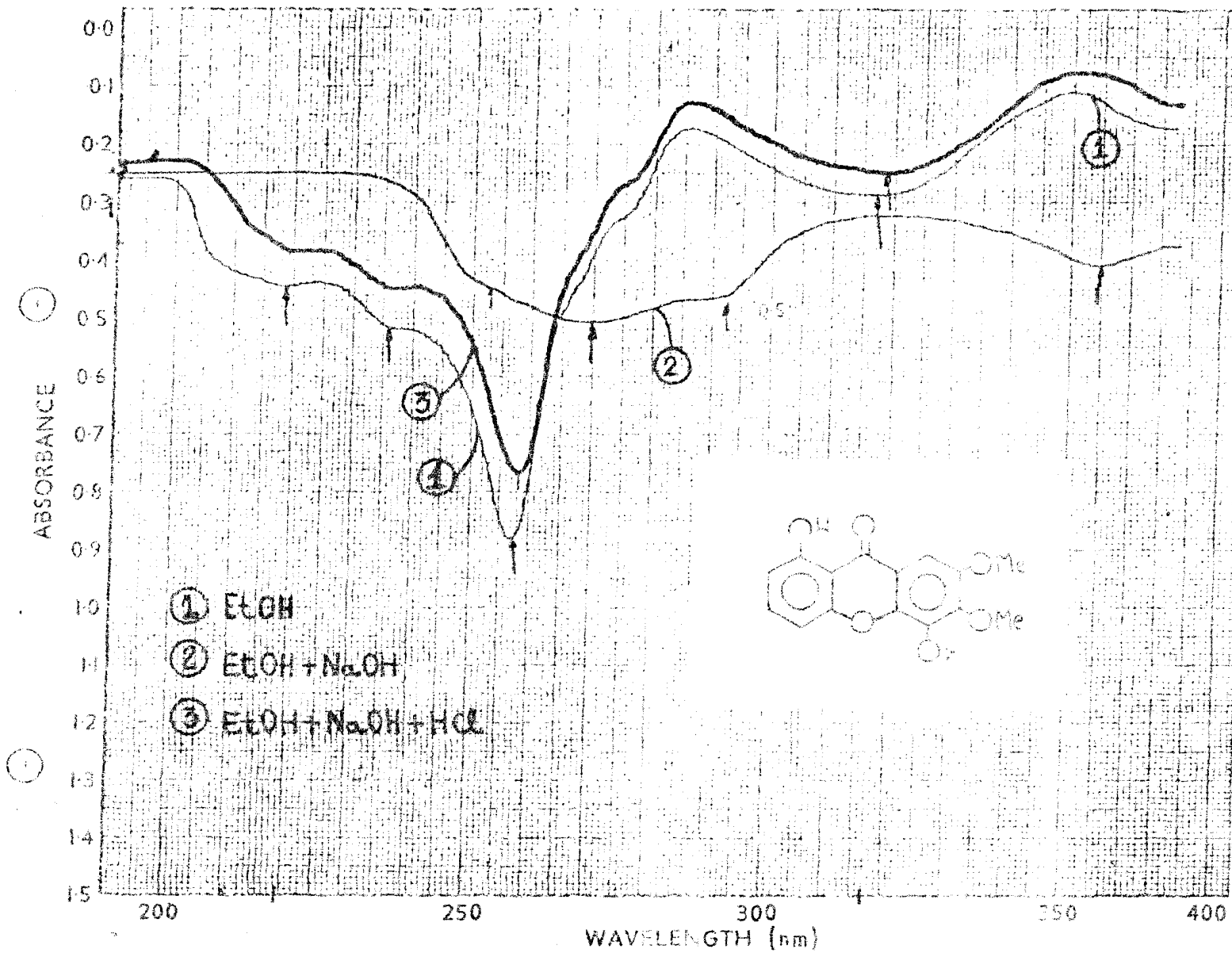


Figura 17 - Espectro no ultravioleta de Th-3.

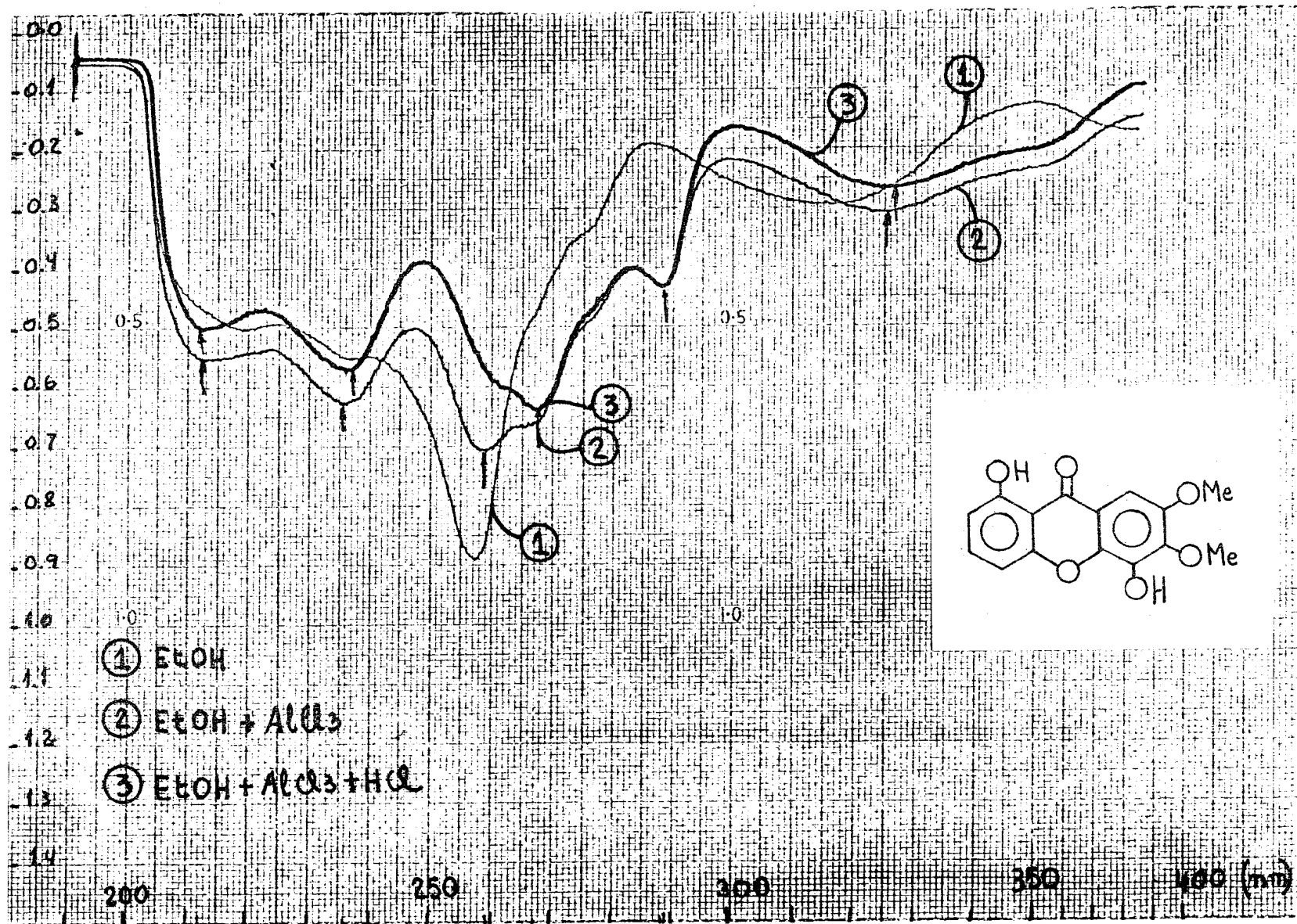
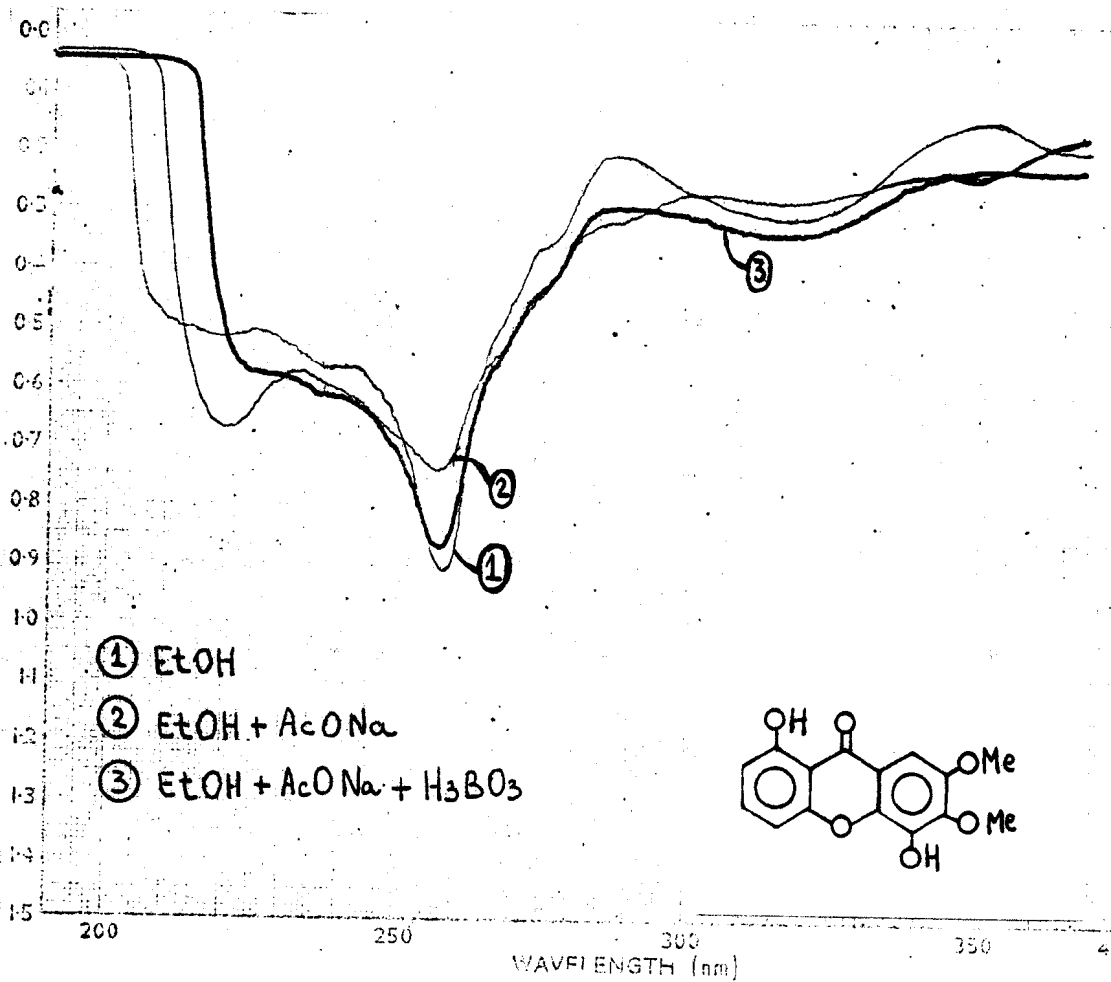


Figura 18 - Espectro no ultravioleta de Tb-3.

Figura 19 - Espectro no ultravioleta de Tb-3.



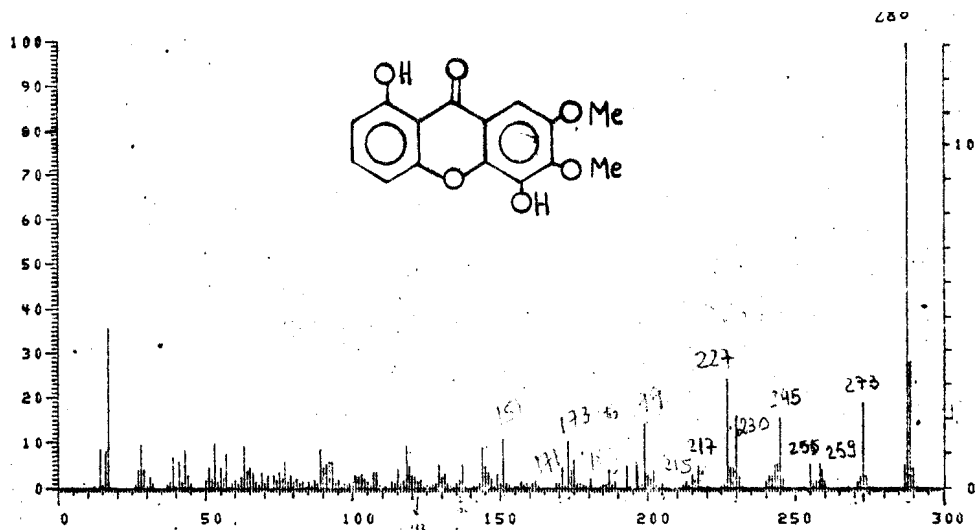
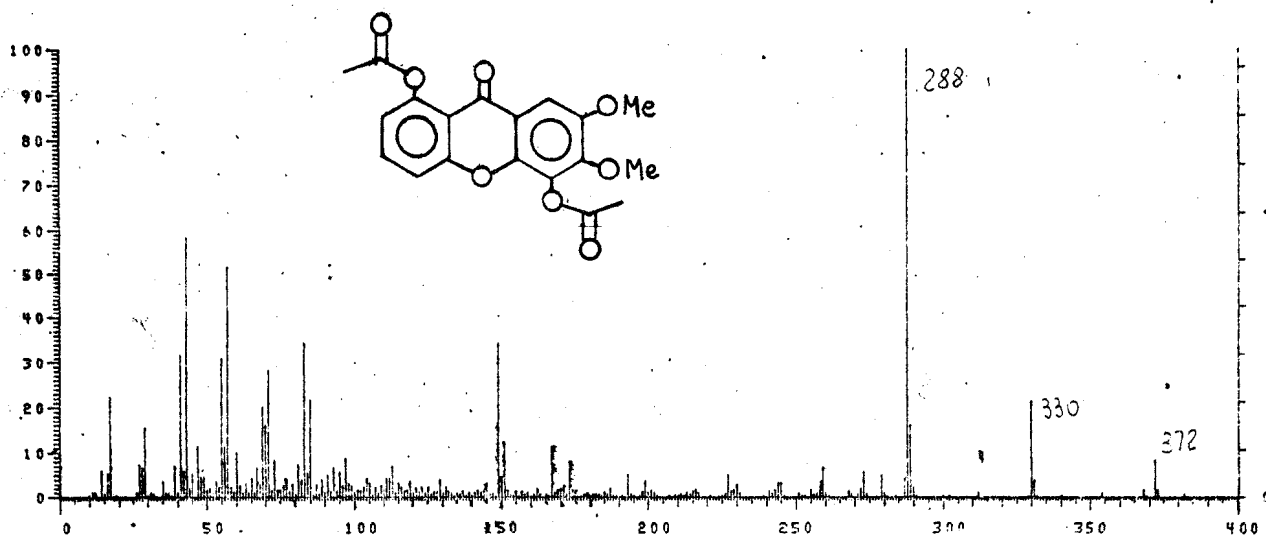
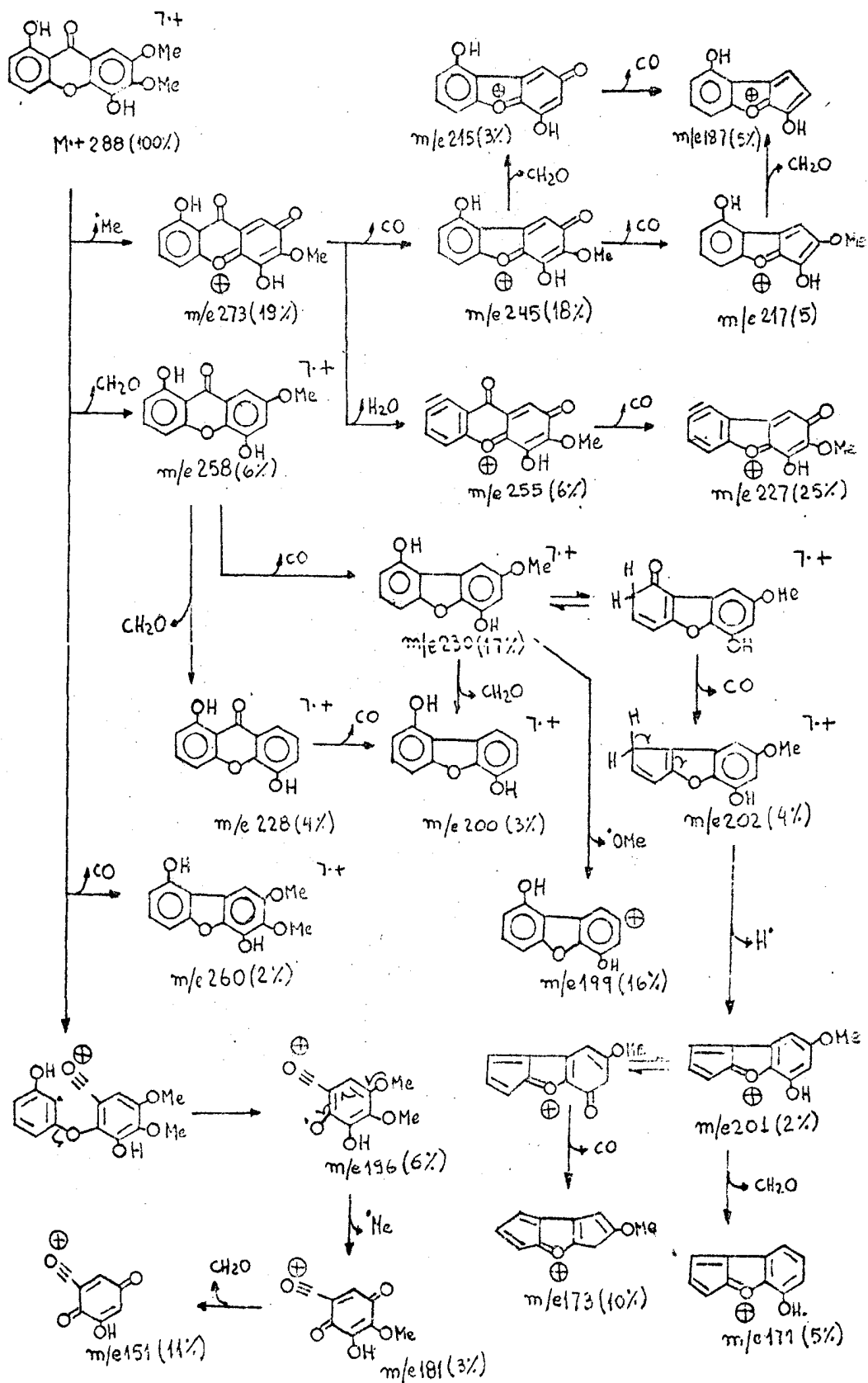


Figura 20 - Espectro de massa de Tb-3.

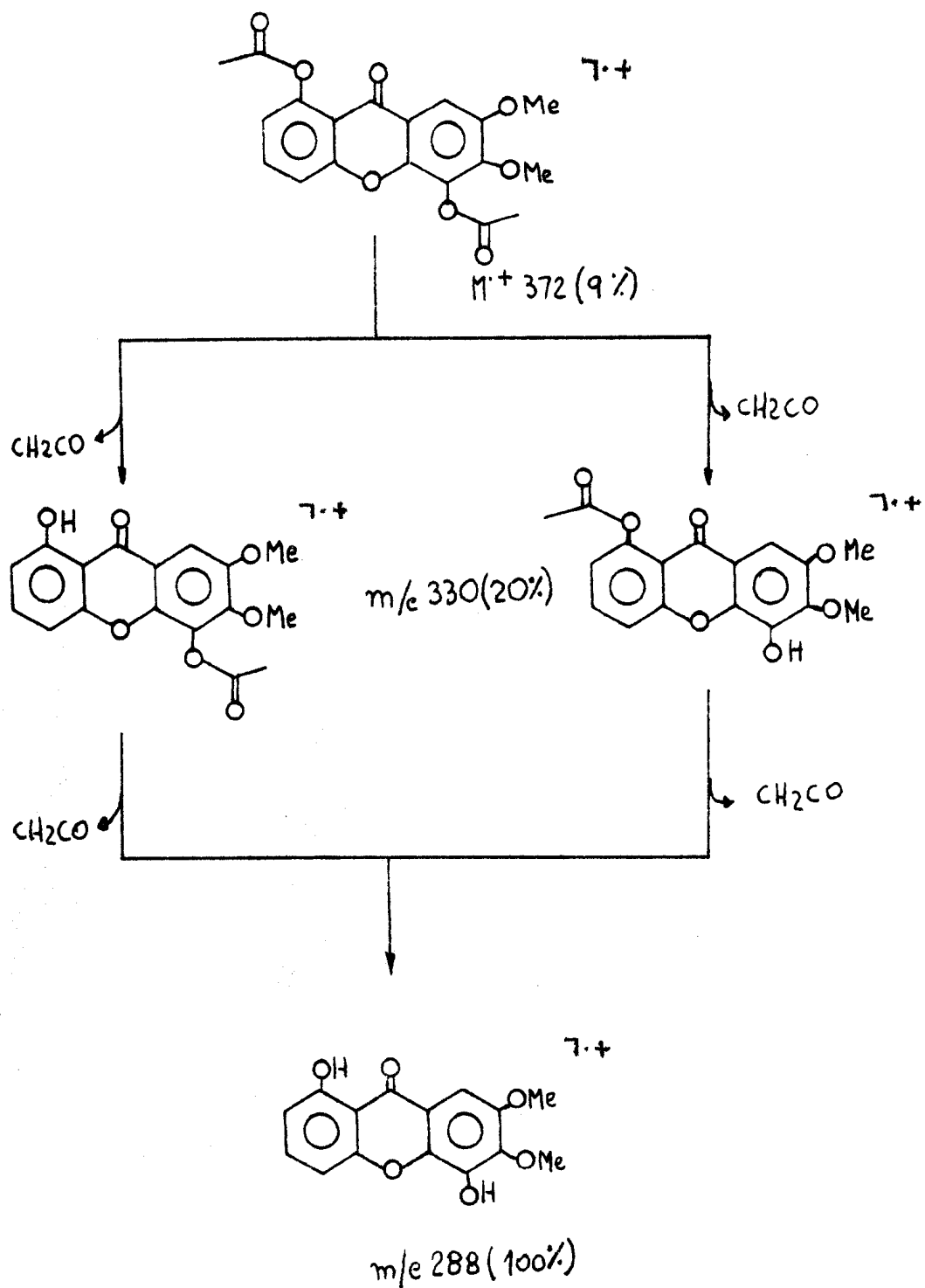
Figura 21 - Espectro de massa do derivado acetilado de Tb-3.



Quadro 8 - Interpretação do espectro de massa de 1,5-dihidroxi-
-6,7-dimetoxixantona (Tb-3).



Quadro 9 - Principais caminhos de fragmentação no espectro de massa de 1,5-diacetoxi- 6,7-dimetoxixantona (Tb-3Ac).



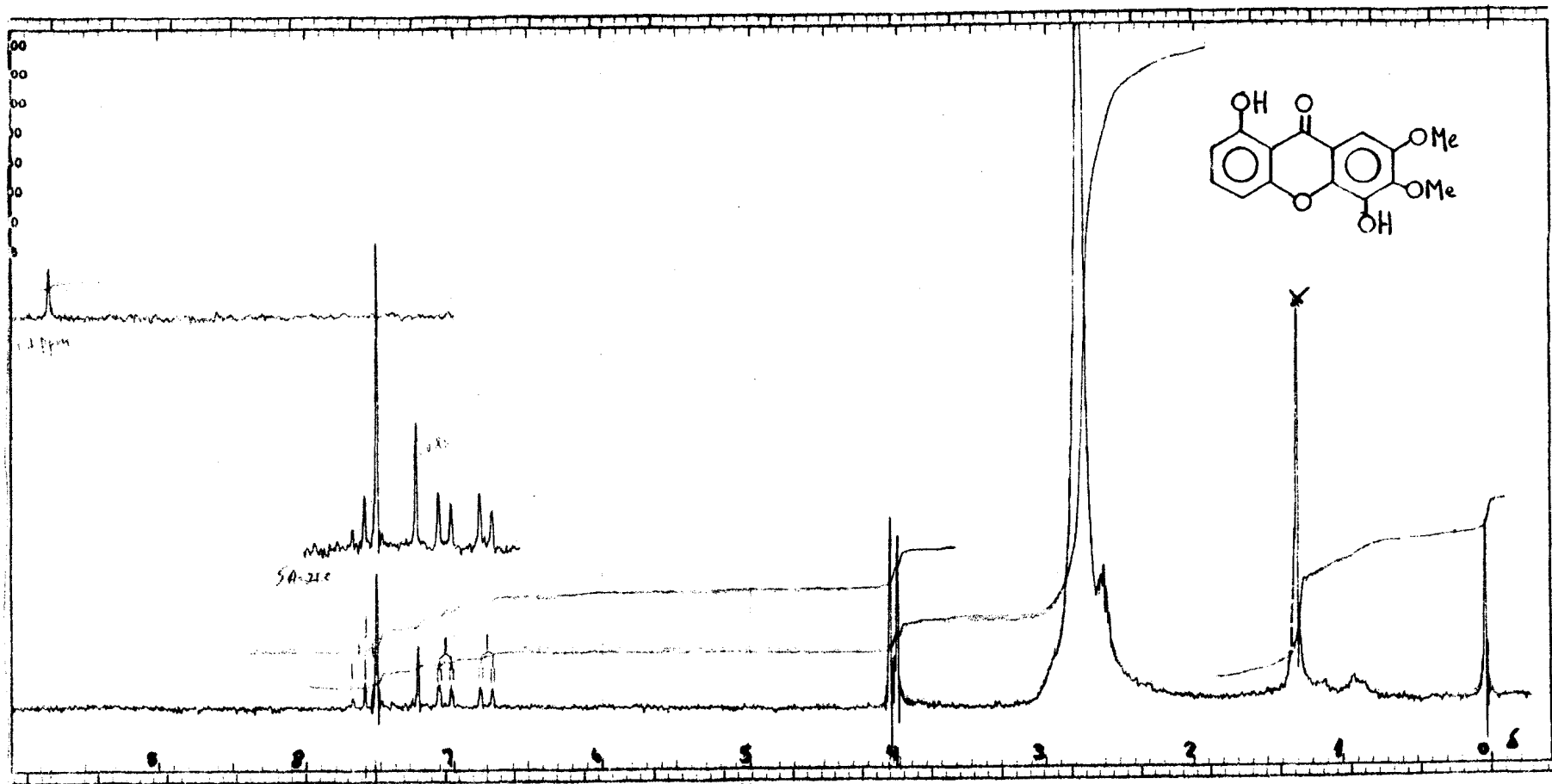


Figura 22 - Espectro de r.m.n.¹H. (100MHz) de Tb-3. CDCl₃ + (CD₃)₂SO como solventes e TMS como referência interna.

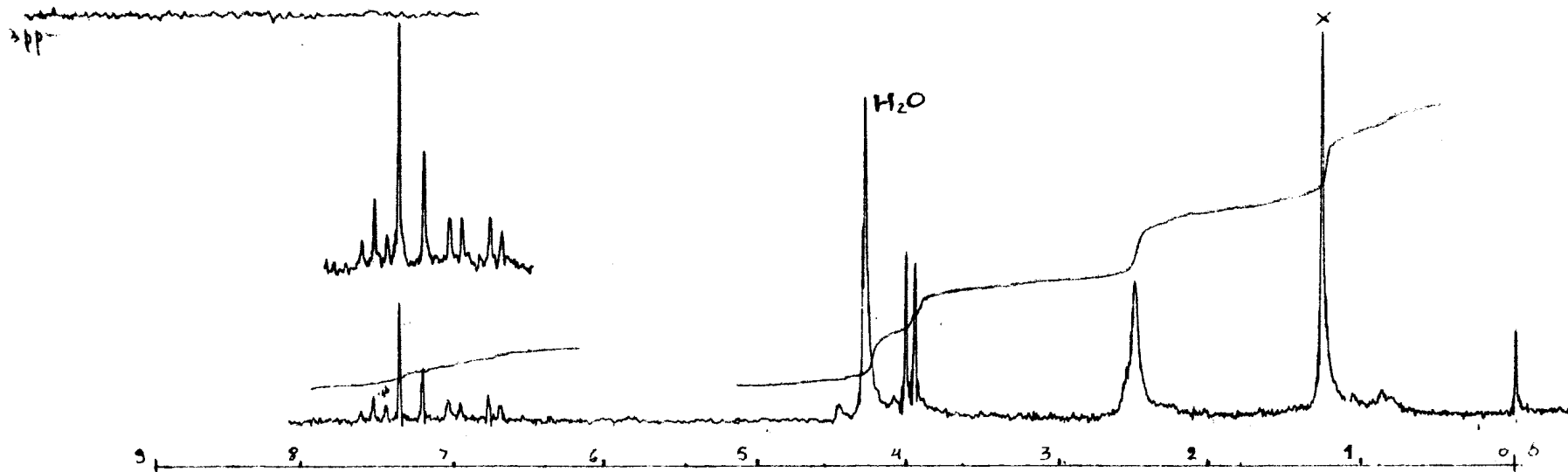
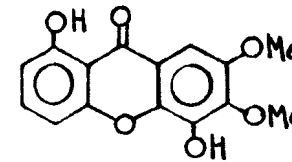


Figura 23 - Espectro de r.m.n.¹H. (100MHz) com adição de D₂O de Tb-3. CDCl₃ + (CD₃)₂SO como solventes e TMS como referência interna.

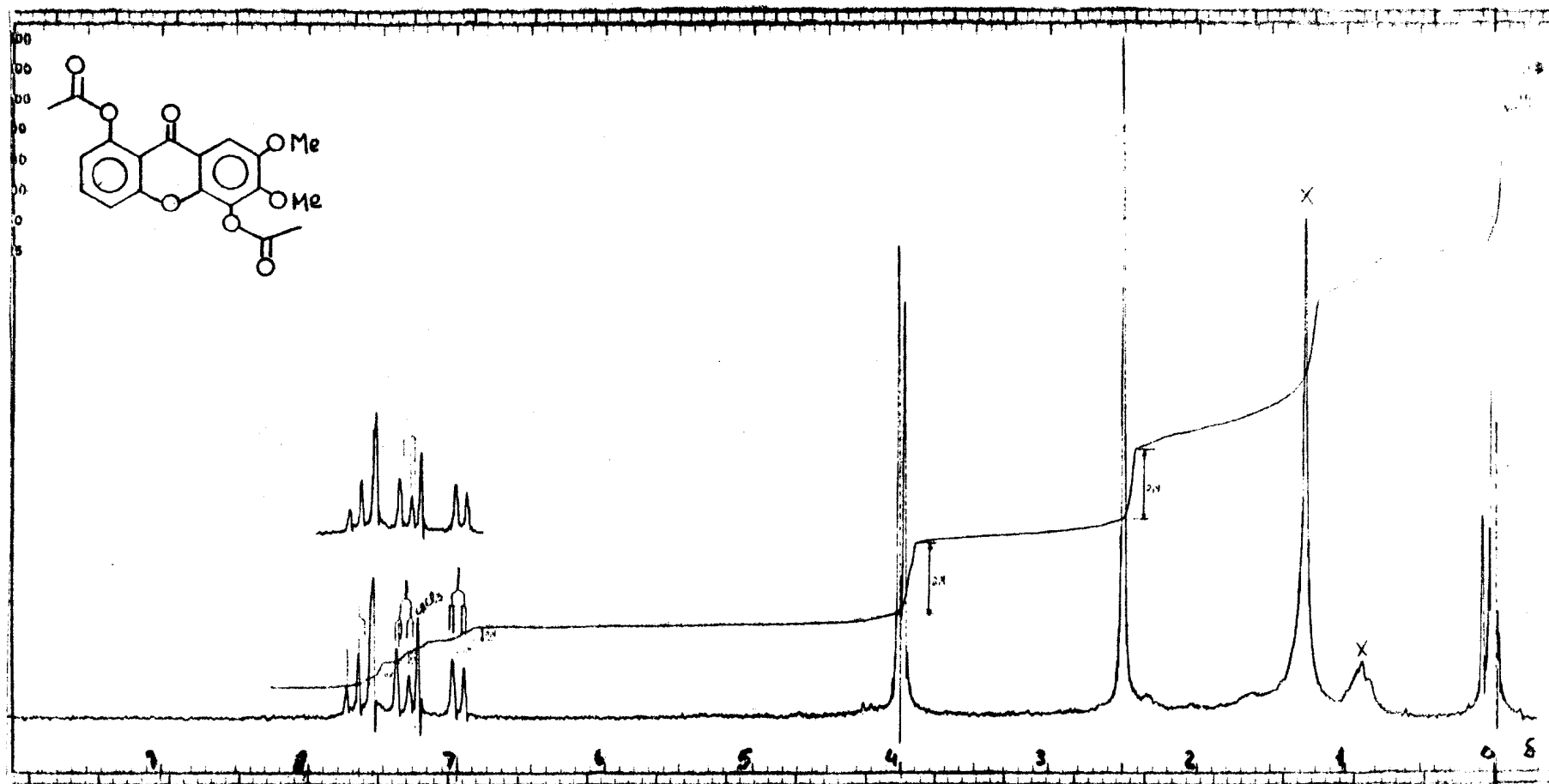


Figura 24 - Espectro de r.m.n. ^1H . (100MHz) do derivado acetilado de Tb-3. CDCl_3 como sol_uvente e TMS como referência interna.

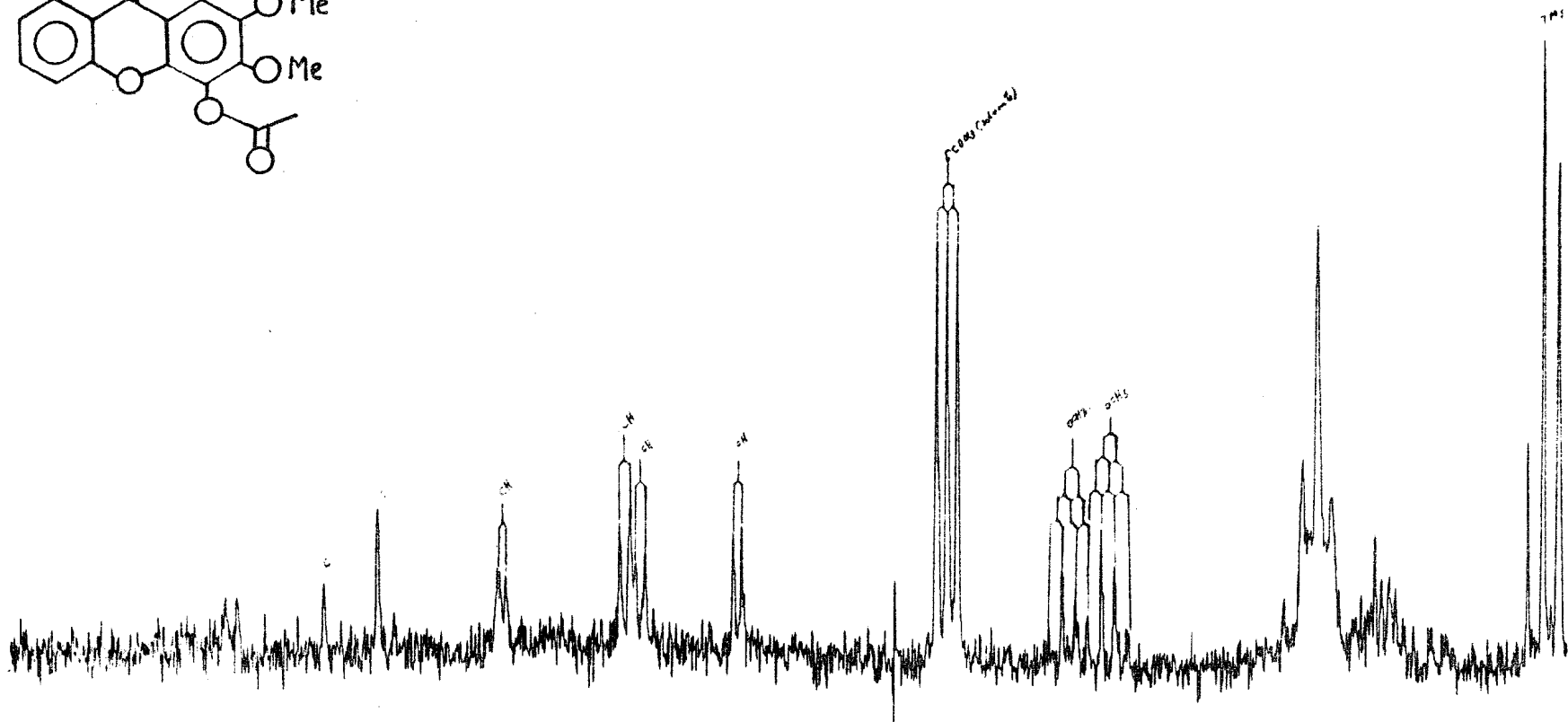
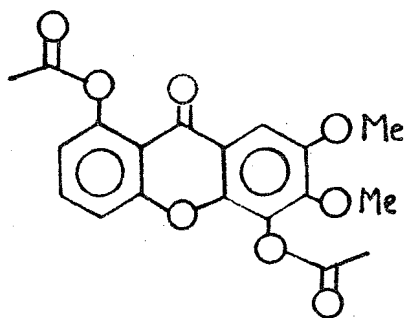


Figura 26 - Espectro de r.m.n. ^{13}C . (25,2MHz) com acoplamento residual do derivado acetilado de Tb-3. CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

2.2 - 8-Hidroxi- 5-metoxi-3-metil- 3,4-dihidroisocumarina
(Tb-1).

Espectrometria na região do infravermelho revelou bandas em 1518 e 1590 cm^{-1} , sugerindo a natureza aromática da substância. Uma banda em 800 cm^{-1} sugeriu a presença de dois prótons adjacentes no anel aromático. Uma banda forte em 1660 cm^{-1} sugeriu a presença de carbonila conjugada (Fig.27).

O espectro na região do ultravioleta sugeriu a presença de hidroxila fenólica, pelo deslocamento batocrômico da curva após adição de hidróxido de sódio (Fig.28).

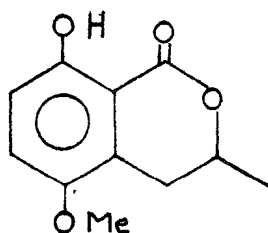
Modificação do espectro no ultravioleta (deslocamento batocrômico) após adição de cloreto de alumínio, sugeriu a presença de hidroxila quelatogênica, já que adição de ácido clorídrico não regenerou a curva original (Fig.29).

O espectro de massa desta substância (Fig.30) apresentou o pico correspondente ao íon molecular em m/e 208, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (Quadro 10).

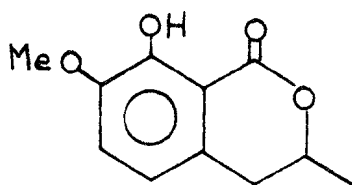
O espectro de r.m.n. ^1H . (Fig.31) registrado a 60MHz, revelou que esta substância estava contaminada com a Tb-6 e foi praticamente impossível obter quantidade pura, suficiente para o registro de outro espectro de r.m.n. ^1H ., devido a disponibilidade de material.

O espectro de r.m.n.¹H., registrado em aparelho que trabalha a 100MHz (Fig.32) revelou também a presença de impurezas. Estes espectros revelaram a presença de dois dubletos na região de prótons aromáticos (7,10 e 6,88 δ), com constantes de acoplamento de 9,0Hz, sugerindo a existência de dois prótons mantendo entre si relação orto. O sinal simples em 10,52 δ foi atribuído a próton hidroxílico quelatogênico, e o singlete em 3,82 δ , referente a três prótons, a um grupo metoxila.

O multipletto entre 4,50 e 4,92 δ , dois duplos dubletos em 3,18 δ ($J = 16,0$ e $4,0$ Hz) e em 2,65 δ ($J = 16,0$ e $12,5$ Hz), e um dubleto em 1,52 δ ($J = 8,5$ Hz), permitiram postular esqueleto dihidroisocumarínico, surgindo duas propostas estruturais para a Tb-1, (59), (60).



(59)



(60)

A alternativa estrutural (60) foi afastada com base no teste de Gibbs negativo.

Assim, a metoxila deve ocupar a posição 5 e não 7.

Com base nestes dados foi proposta a estrutura 8-hidroxi-5-metoxi -3-metil -3,4-dihidroisocumarina (59) para a Tb-1, substância já descrita na literatura [12].

O Quadro 10 descreve os principais caminhos de fragmentação desta substância no espectrometro de massa.

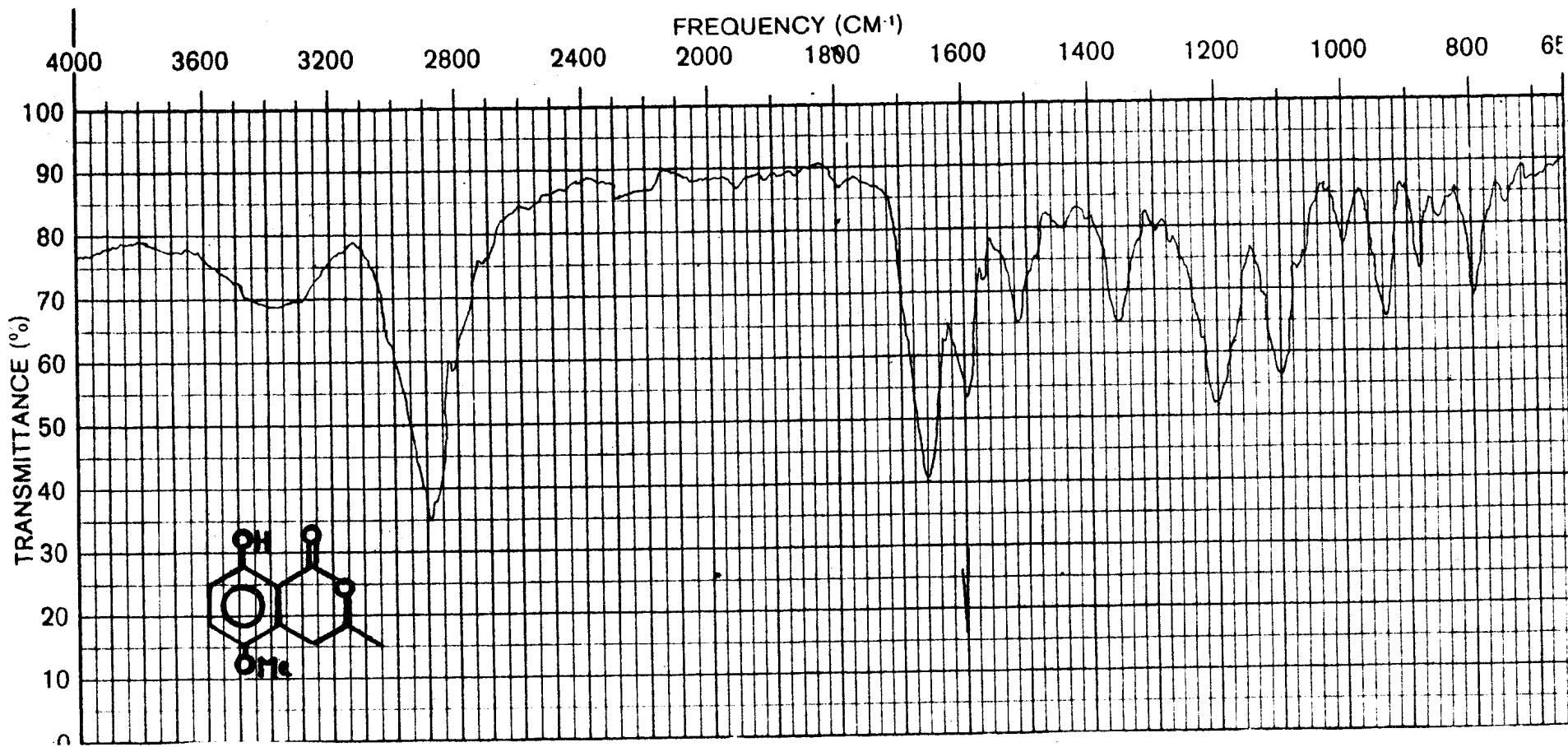


Figura 27 - Espectro no infravermelho de Tb-1. Fase KBr.

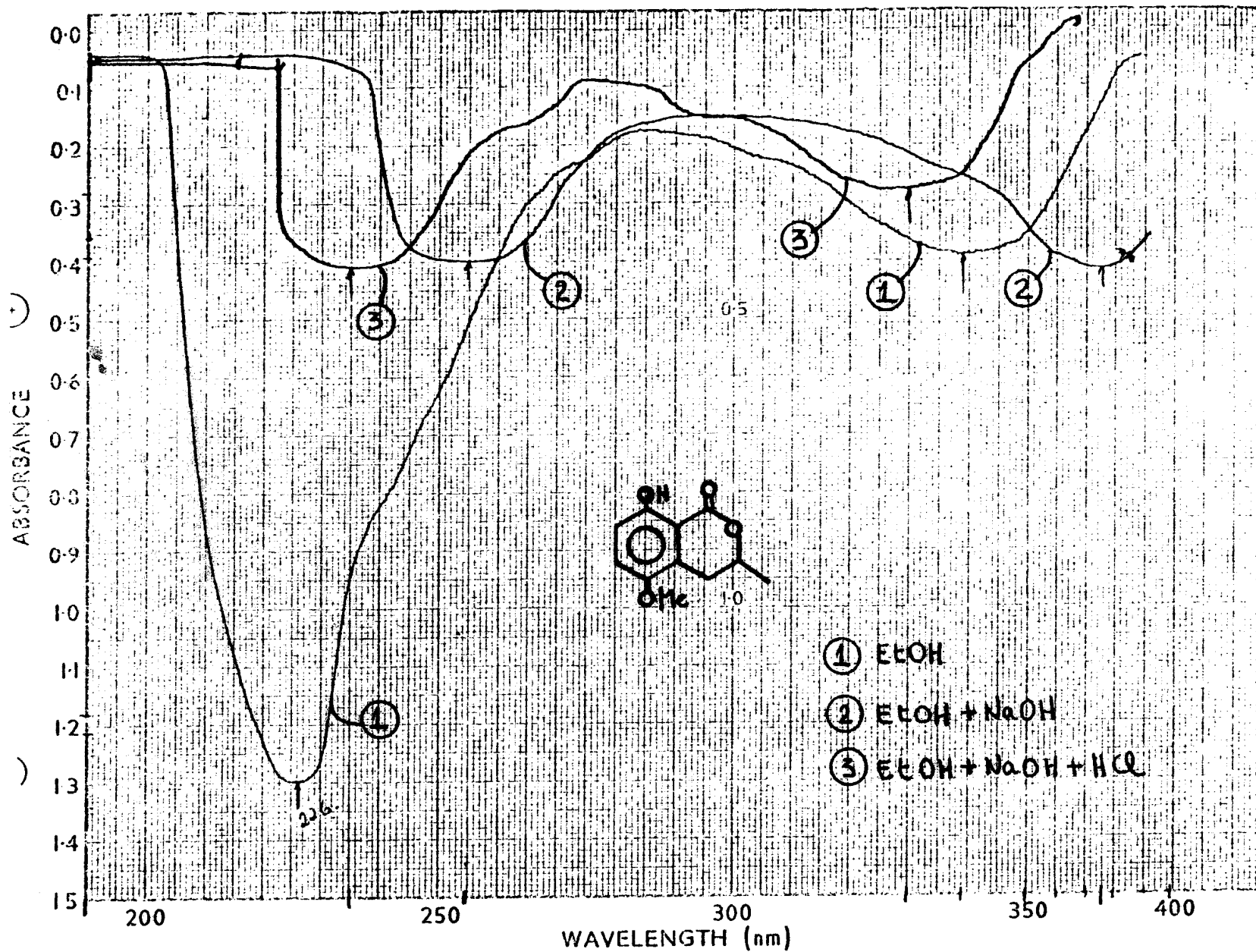


Figura 28 - Espectro no ultravioleta de Tb-1.

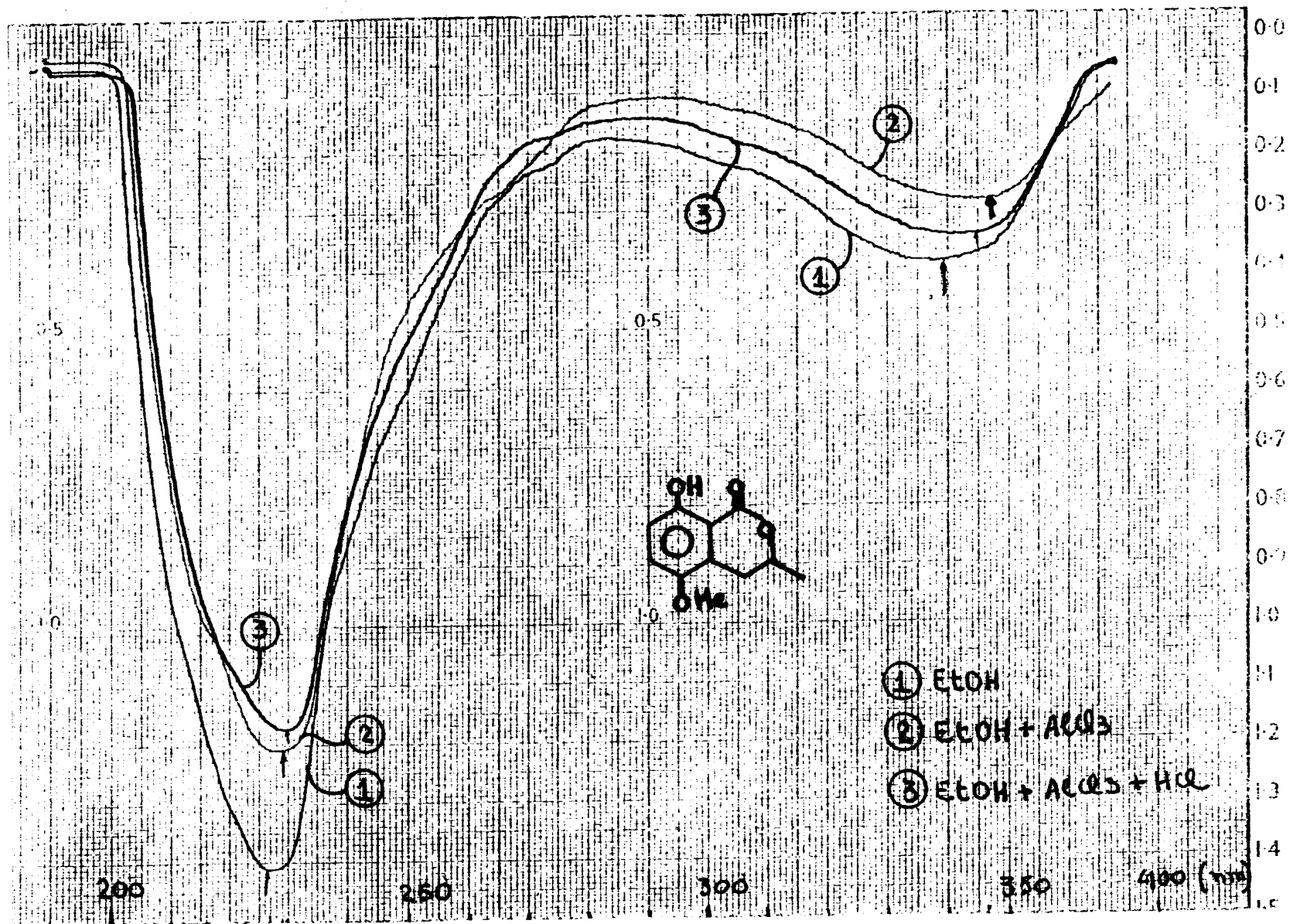


Figura 29 - Espectro no ultravioleta de Tb-1.

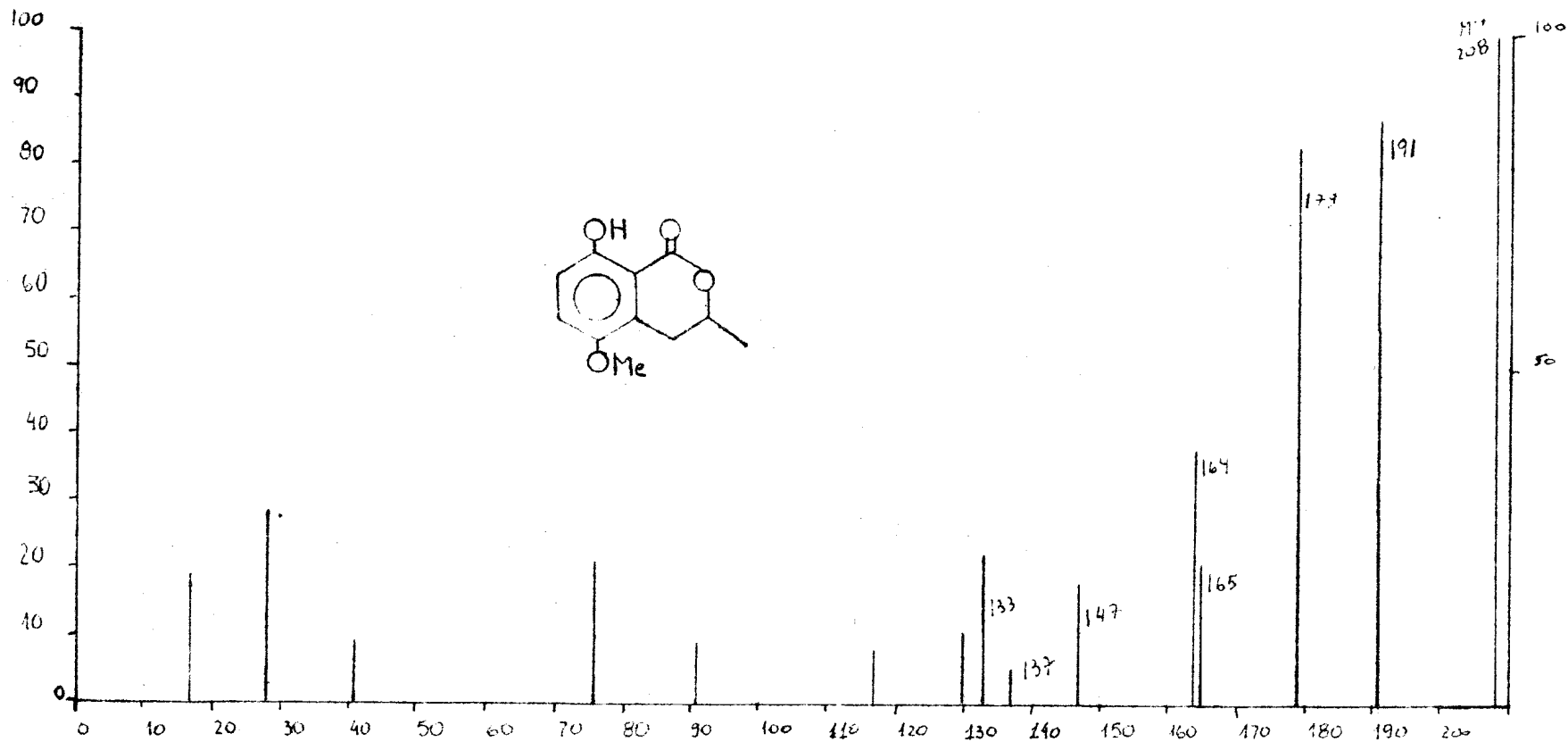
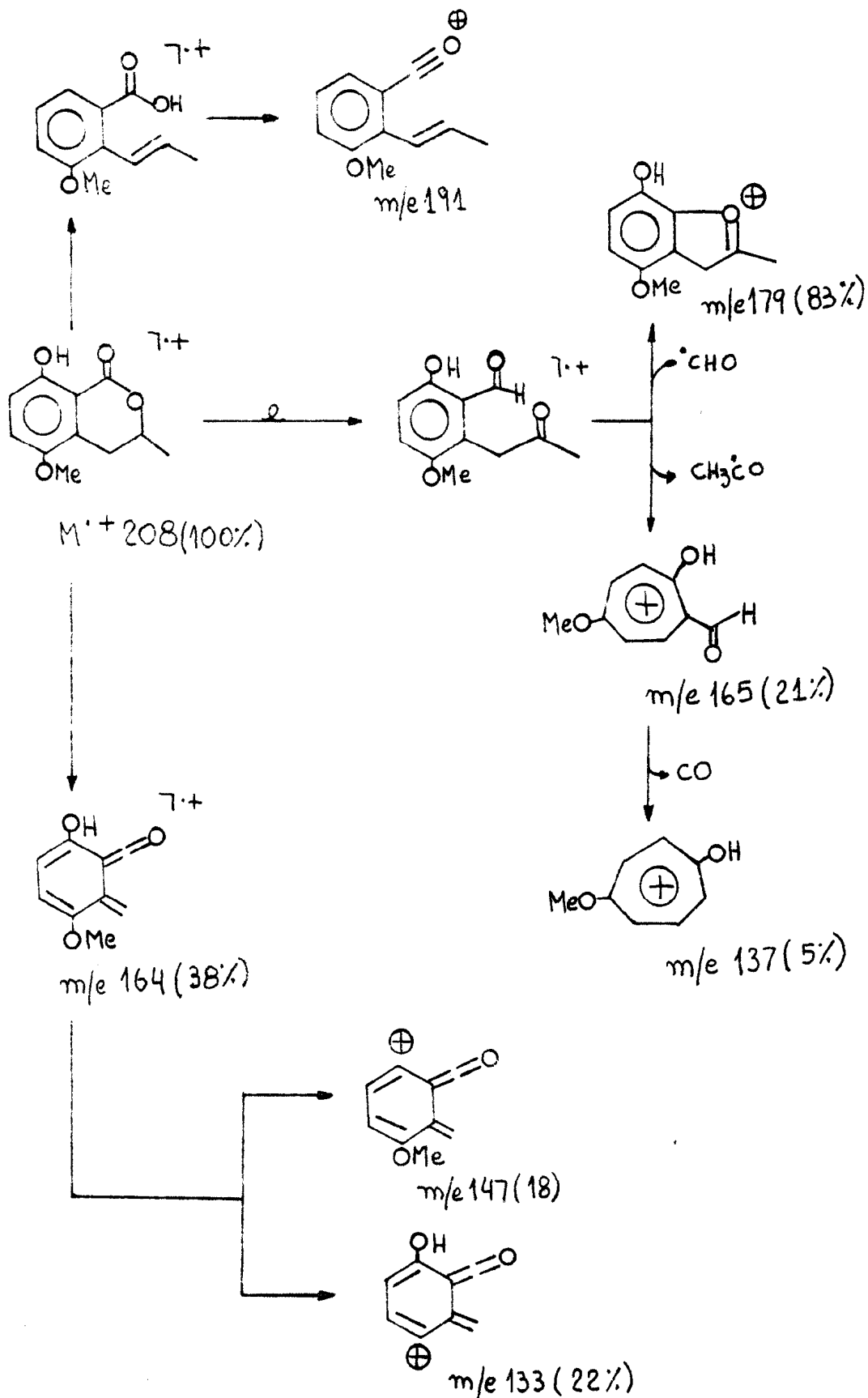


Figura 30 - Espectro de massa de Tb-1.

Quadro 10 - Interpretação do espectro de massa de 8-hidroxi- 5-metoxi- 3-metil- 3,4-dihidroisocumarina (Tb-1).



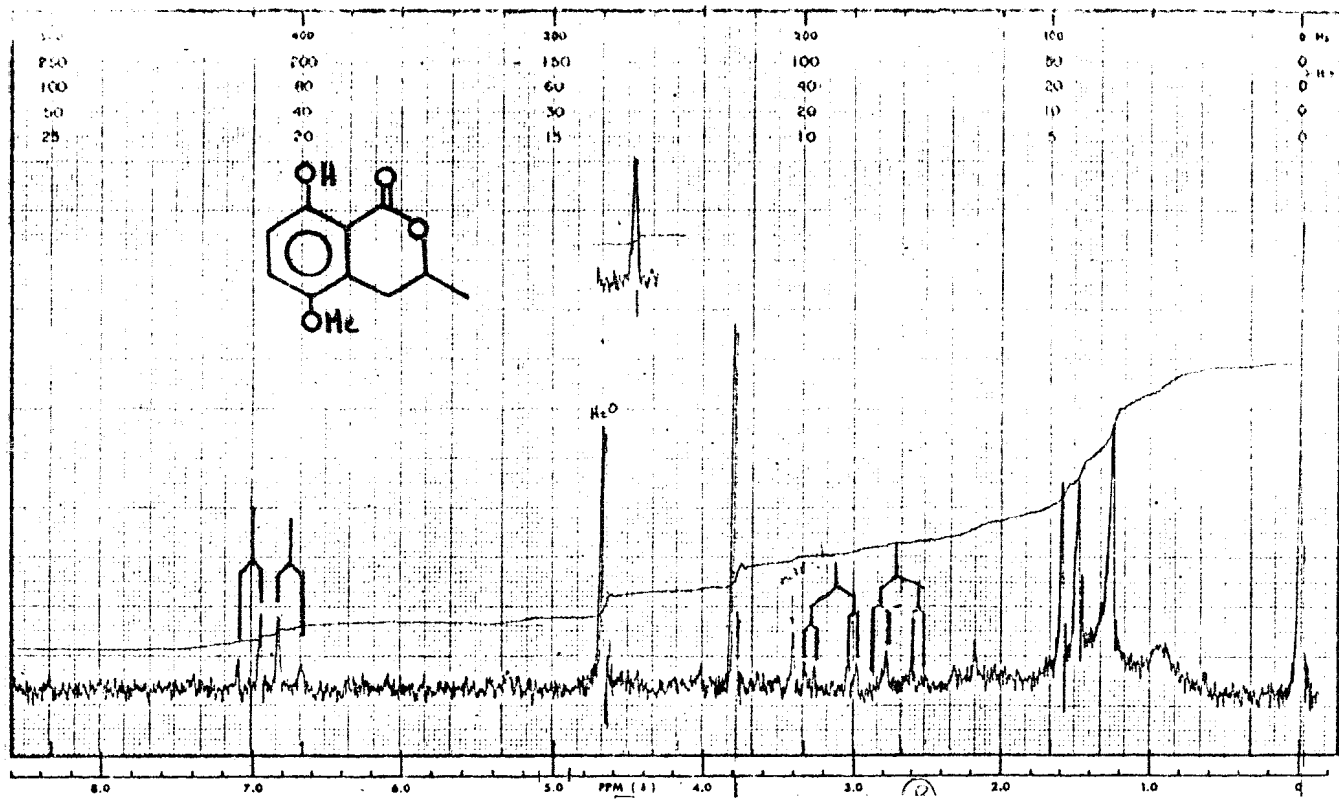


Figura 31 - Espectro de r.m.n.¹H. (60MHz) de Tb-1. CCl₄ como solvente e TMS como referência interna.

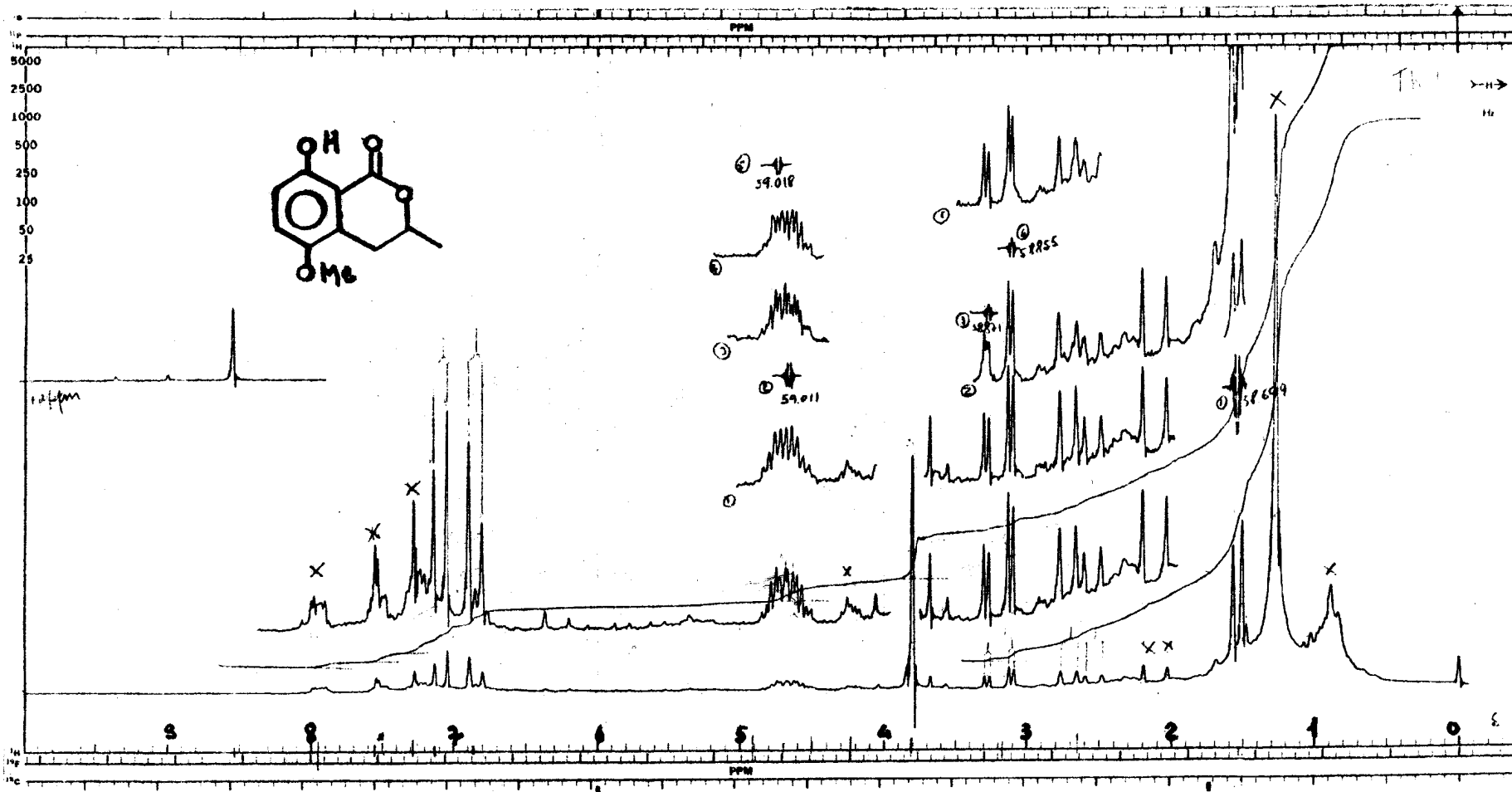


Figura 32 - Espectro de r.m.n.¹H. (100MHz) de Tb-1. CDCl₃ como solvente e TMS como referên-
cia interna.

2.3 - 7-Cloro- 8-hidroxi- 6-metoxi- 3-metilisocumarina (Tb-5).

O espectro na região do infravermelho da Tb-5 (Fig. 33) apresentou bandas de absorção em 1605, 1570 e 1470 cm^{-1} , que caracterizou a sua natureza aromática. A banda em 1630 cm^{-1} foi atribuída a dupla ligação. As bandas entre 1390 e 1000 cm^{-1} caracterizaram a presença de grupo aril éter. Uma banda em 1700 cm^{-1} sugeriu a presença de carbonila. A posição de absorção desta revelou-se compatível com carbonila de anel lactônico de isocumarinas, envolvida em sistema com grupo hidroxila [33, 34].

Espectrometria na região do ultravioleta confirmou a natureza aromática da substância e sugeriu a presença de hidroxila fenólica, através da modificação do espectro, após adição de hidróxido de sódio (Fig.34). Regeneração da curva após adição de ácido clorídrico à solução alcalina sugeriu a ausência de sistema orto e/ou para dihidroxilado.

Deslocamento batocrômico dos máximos de absorção do espectro no ultravioleta após adição de cloreto de alumínio sugeriu a existência de hidroxila quelatogênica (Fig.35).

O espectro de massa desta substância (Fig.36) revelou picos em m/e 240 e m/e 242, correspondentes aos íons M^+ e M^{+2} ,

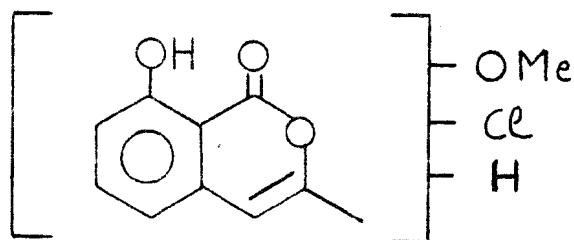
mantendo entre si uma relação de 3:1. Esta mesma relação de abundância relativa é verificada também nos picos em m/e 225 e m/e 227. Estes dados permitiram deduzir que a Tb-5 possui um átomo de cloro na sua estrutura. Esta dedução é confirmada pela presença do pico em m/e 205 (61%), oriundo da expulsão do átomo de cloro (Quadro 11).

O espectro de r.m.n.¹H. (Fig.37) revelou sinais simples em 2,29; 3,95; 6,51; 6,61 e 11,22 δ, que foram atribuídos a grupo metila alílico, grupo metoxila, próton aromático, próton olefínico e hidroxila, respectivamente.

A presença do singlete em 11,22 δ confirmou a natureza quelatogênica da hidroxila. Este sinal desapareceu com adição de D₂O (Fig.38).

Irradiação na frequência de absorção do sinal do grupo metila (2,29 δ) causou modificação do sinal em 6,61 δ, mostrando que ambos interagem entre si (Fig.38).

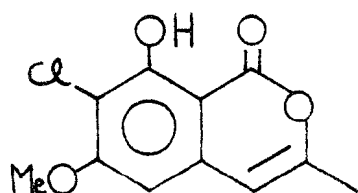
Estes dados permitiram propor para esta substância um esqueleto isocumarínico com hidroxila em C-8 (61).



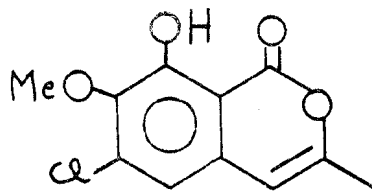
(61)

O teste de Gibbs [41] com esta substância apresentou resultado positivo, indicando que a posição para em relação a hidroxila não sustenta grupo substituinte (Cl ou OMe).

Neste ponto, foi possível formular duas alternativas estruturais (62) e (63) para a Tb-5.



(62)



(63)

O átomo de cloro na estrutura (63) deve exercer um pequeno efeito de desproteção no próton H-5 (0,10 ppm), enquanto a metoxila na estrutura (62) deve protegê-lo (0,45 ppm).

Os valores calculados para o H-5 das duas alternativas estruturais permitem postular a estrutura (62) para a Tb-5.

$$(62) \text{ H-5} = 7,27 - 0,40 - 0,45 + 0,25 + 0,10 = 6,77\delta$$

$$(63) \text{ H-5} = 7,27 - 0,10 + 0,10 - 0,40 + 0,25 + 0,10 = 7,22\delta$$

Esta substância ficou, assim, definida como 7-cloro-8-hidroxi-6-metoxi-3-metilisocumarina. Trata-se de uma substância já isolada de *Swartzia laevicarpa* [35].

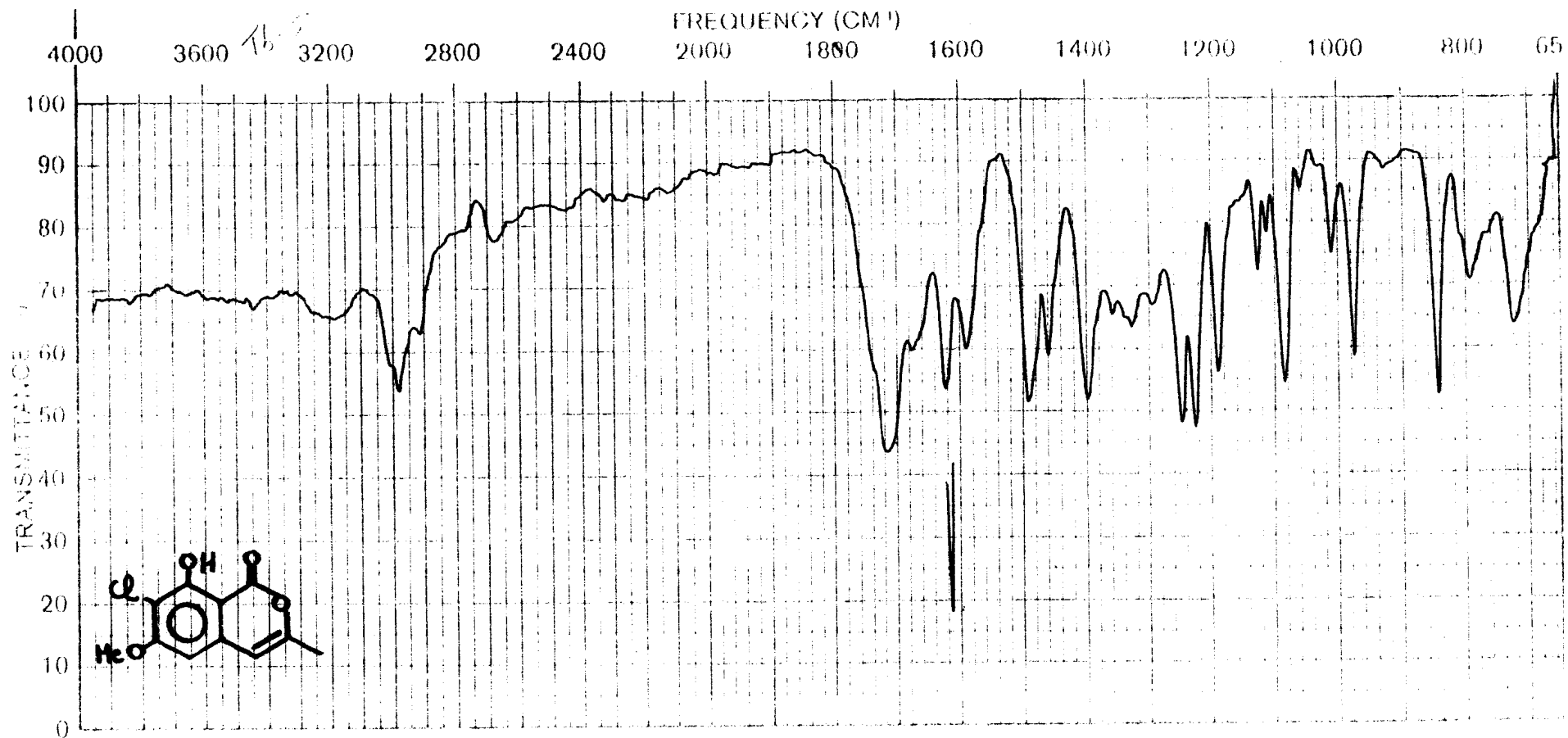


Figura 33 - Espectro no infravermelho do Tb-5. Fase KBr.

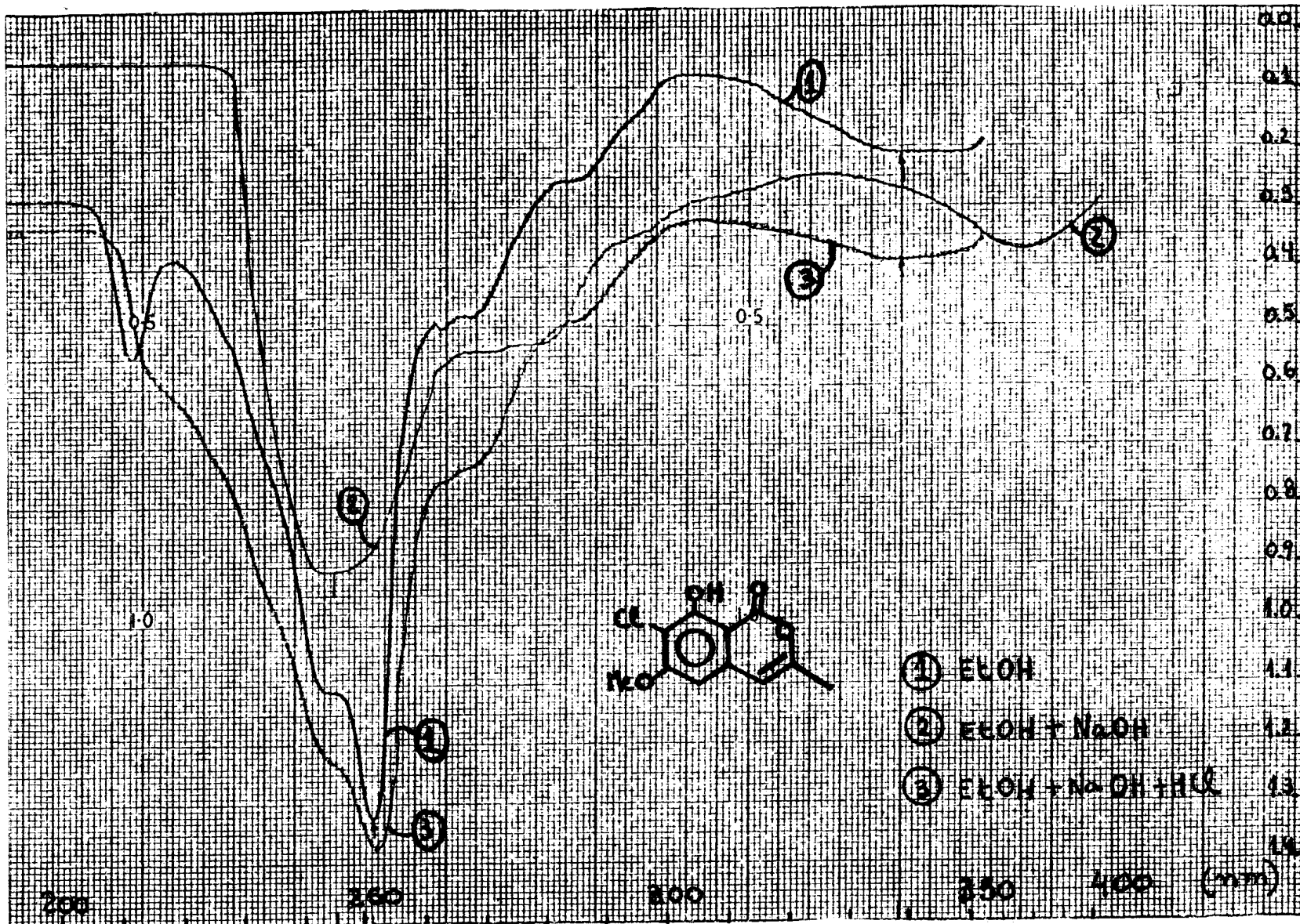


Figura 34 - Espectro no ultravioleta de Tb-5.

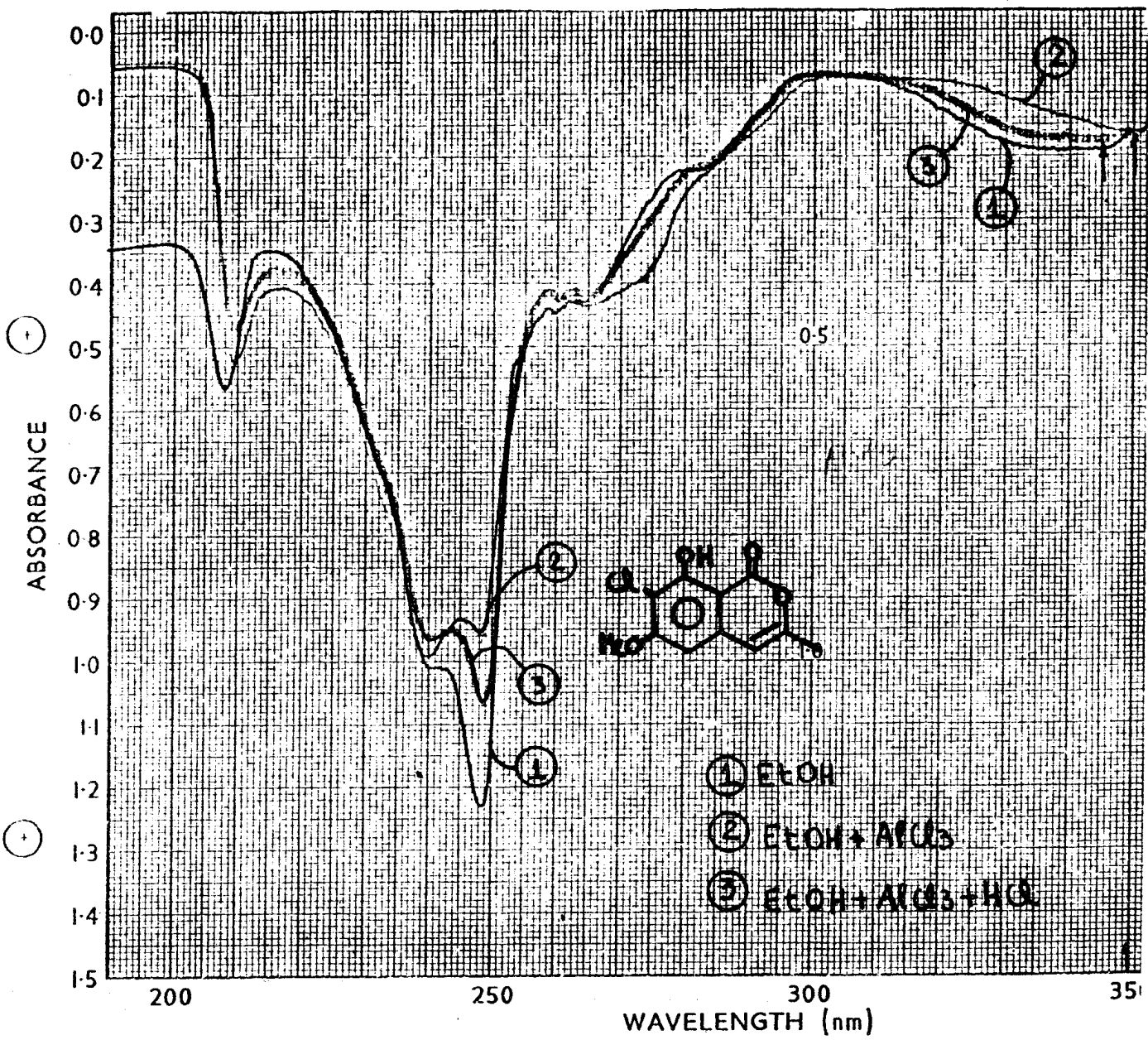
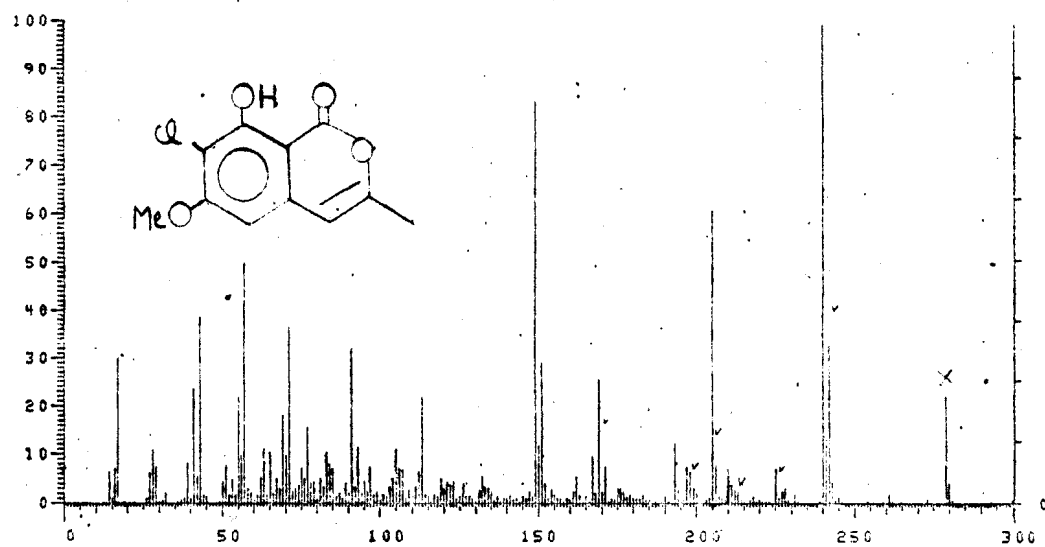
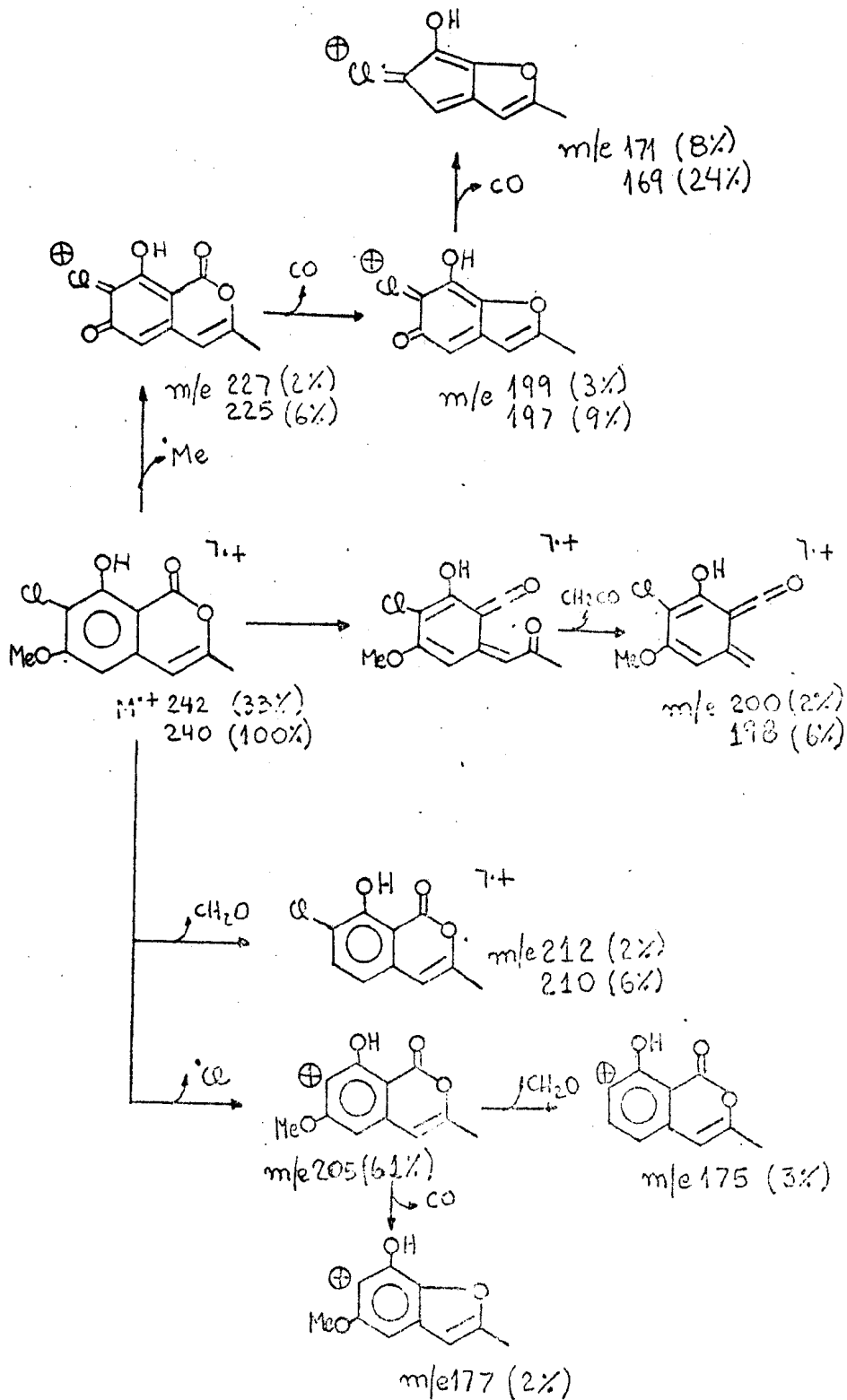


Figura 35 - Espectro no ultravioleta de Tb-5.

Figura 36 - Espectro de massa de Tb-5.



Quadro 11 - Interpretação do espectro de massa de 7-cloro- 8-hidroxi-
xi- 6-metoxi- 3-metilisocumarina (Tb-5).



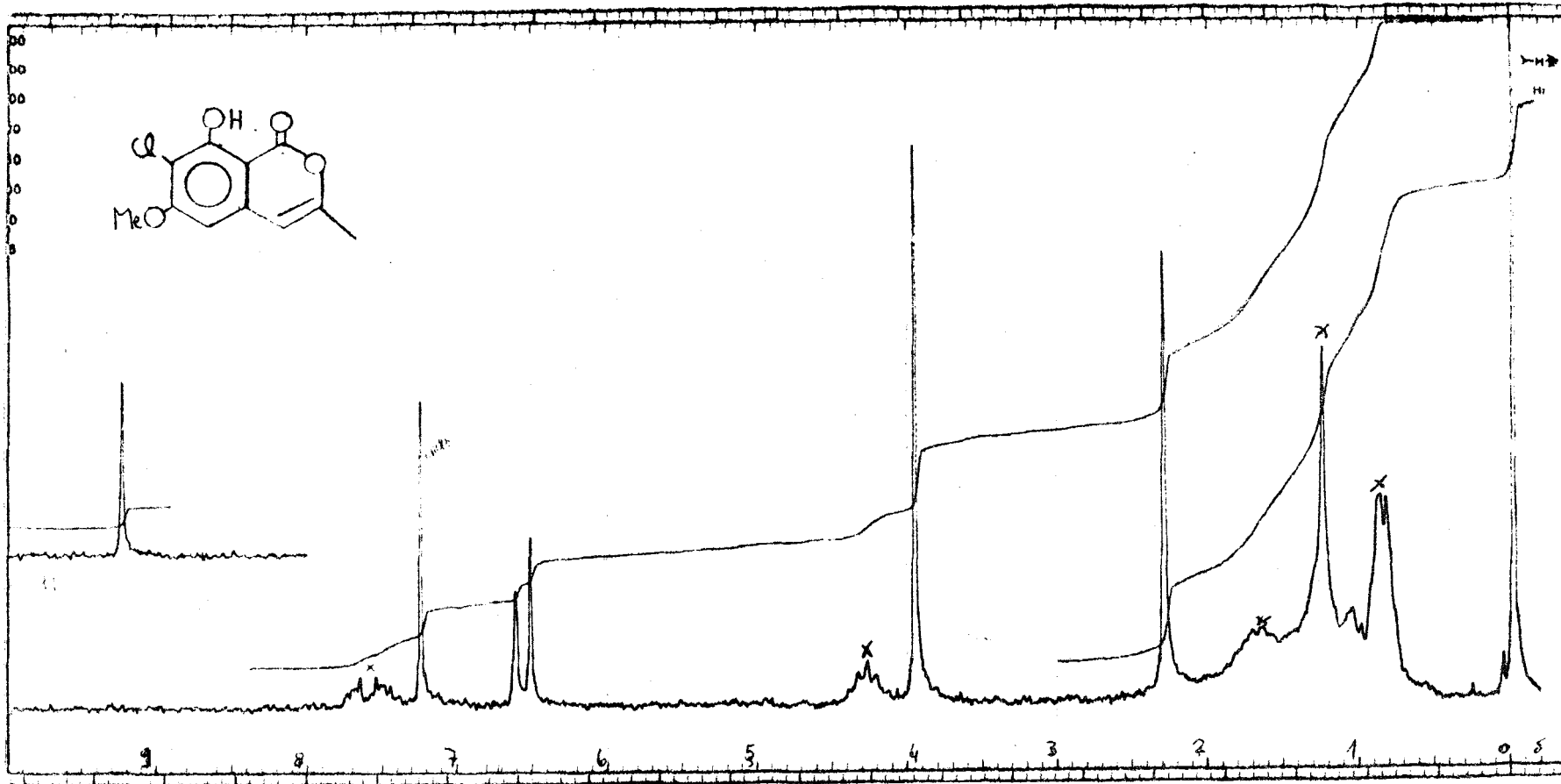


Figura 37 - Espectro de r.m.n. ^1H . (100MHz) de Tb-5. CDCl_3 como solvente e TMS como referên \tilde{c} ia interna.

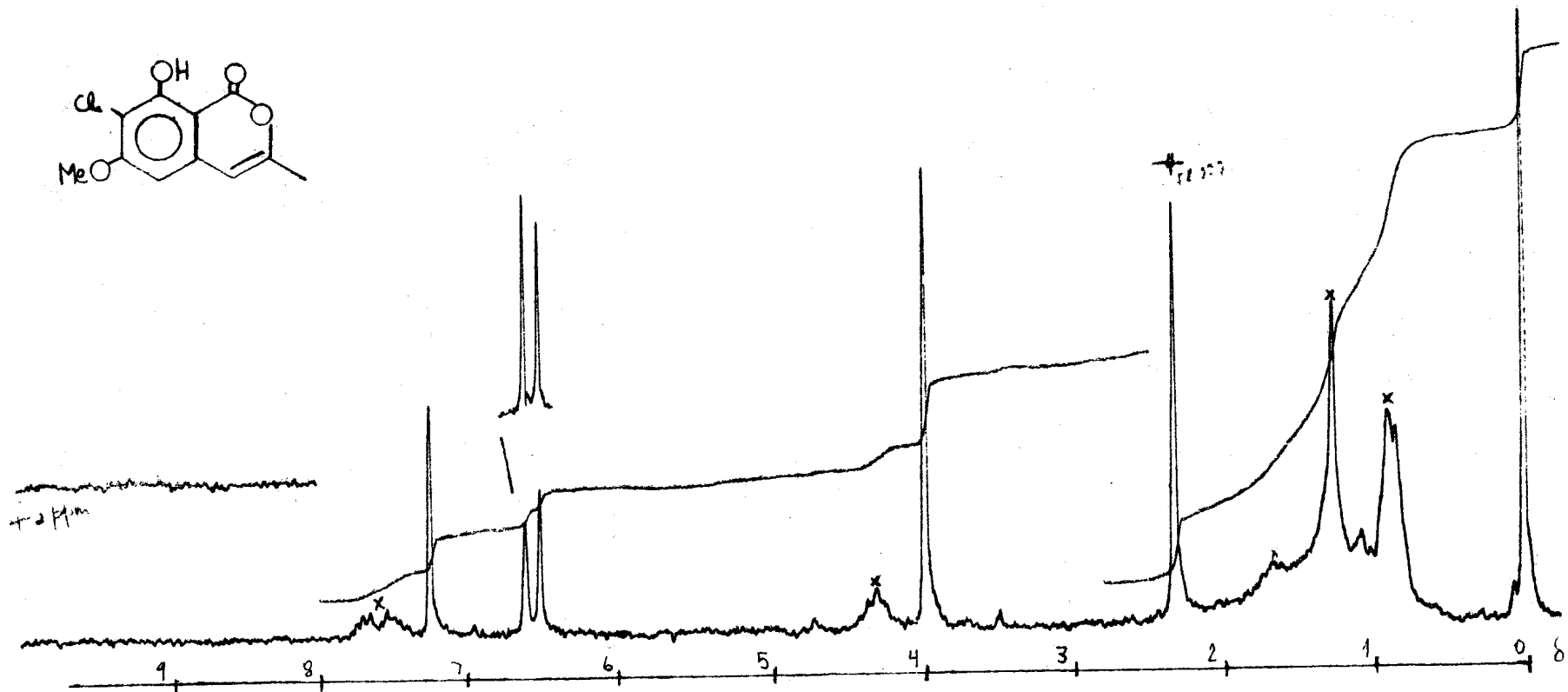


Figura 38 - Espectro de r.m.n. ^1H . (100MHz) com adição de D_2O de Tb-5. CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

2.4 - 8-Hidroxi- 3,5-dimetil- 3,4-dihidroisocumarina (Tb-6).

Espectrometria na região do infravermelho (Fig.39) revelou a natureza aromática da substância, através do reconhecimento das bandas entre 1600 e 1470 cm^{-1} . A banda em 1660 cm^{-1} sugeriu a presença de carbonila conjugada com sistema aromático, e a banda em 840 cm^{-1} está em acordo com a presença de dois prótons aromáticos adjacentes.

Espectrometria na região do ultravioleta, além de confirmar a natureza aromática da substância, sugeriu a presença de hidroxila fenólica, já que ocorreu deslocamento batocrômico na curva após adição de hidróxido de sódio à solução neutra. A regeneração desta curva, após neutralização da solução alcalina com ácido clorídrico, revelou a ausência de sistema orto e/ou para dihidroxilado (Fig.40).

A presença de hidroxila em ponto de hidrogênio intramolecular foi sugerida pelo deslocamento batocrômico verificado na curva do espectro no ultravioleta após adição de cloreto de alumínio (Fig.41).

O íon molecular no espectro de massa (Fig.42) registrado em m/e 192, está em coerência com a fórmula molecular $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$. Os principais caminhos de fragmentação desta substância, no espectrometro de massa, estão representados no Quadro 12.

O espectro de r.m.n.¹H desta substância (Fig.43) revelou a presença de dubletos em 6,87 e 7,30 δ , com constantes de acoplamento de 8,5Hz, cada um representando um próton aromático, mantendo entre si relação orto (sistema AB).

O singlete em 10,98 δ foi atribuído a um próton hidroxílico em ponte de hidrogênio intramolecular. Este sinal desapareceu após adição de D₂O (Fig.44).

O multiplete entre 4,50 e 4,87 δ foi atribuído a um próton oximetínico. Os duplos dubletos em 2,94 δ (J = 16,5 e 4,0 Hz) e em 2,75 δ (J = 16,5 e 10 Hz) sugeriram acoplamentos geminado (J = 16,5 Hz), axial-equatorial (J = 4,0 Hz) e axial-axial (J = 10 Hz).

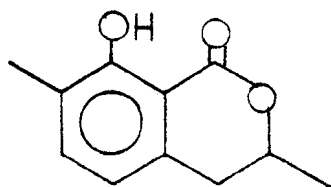
O dubleto em 1,57 δ foi atribuído a grupo metila ligado a carbono mono-protonado.

Irradiação na frequência deste próton representado por um multiplete, mostrou a transformação do dubleto em 1,57 δ para um singlete, confirmando a interação entre eles.

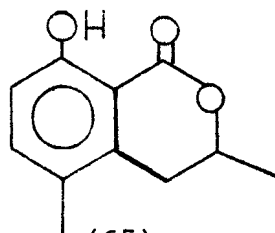
Estes dados permitiram classificar a Tb-6 como 3,4-dihidro isocumarina. A presença do pico em m/e 148 (40%) confirmou esta dedução (Quadro 12), e localizou um grupo metila no anel aromático.

O singlete em 2,22 δ foi atribuído a este grupo metila.

Estas evidências espectrais tornaram possível formular duas alternativas estruturais para a Tb-6, (64) e (65).



(64)



(65)

Teste de Gibbs negativo permitiu eliminar a alternativa estrutural (64).

Comparação direta da Tb-6 (65) com amostra autêntica, gentilmente cedida pelo Professor Miguel Pedro Lorena de Moraes (Universidade Federal do Mato Grosso), envolvendo cromatografia em camada delgada de sílica, ponto de fusão, ponto de fusão misto e dados espectrais de r.m.n.¹H (Tabela 19) confirmou a identidade das duas substâncias.

Tabela 19 - Comparação dos espectros de r.m.n.¹H. (δ) da Tb-6 (I) e de amostra autêntica de 8-hidroxi-3,5-dimetil-3,4-dihidroisocumarina (II), em CDCl₃ e TMS como referência interna.

	H-3	H4-eq	J(Hz)	H-4ax	J(Hz)	H-6	J(Hz)	H-7	J(Hz)
I	4,87-4,50	2,94	16,5 e 4,0	2,72	16,5 e 10,0	7,30	8,5	6,87	8,5
II	4,86-4,50	2,93	17,0 e 11,0	2,72	17,0 e 11,0	7,26	8,5	6,85	8,5
Feição	m	dd	-	dd	-	d	-	d	-

Assim, esta substância ficou definida como 8-hidroxi-3,5-dimetil-3,4-dihidroisocumarina.

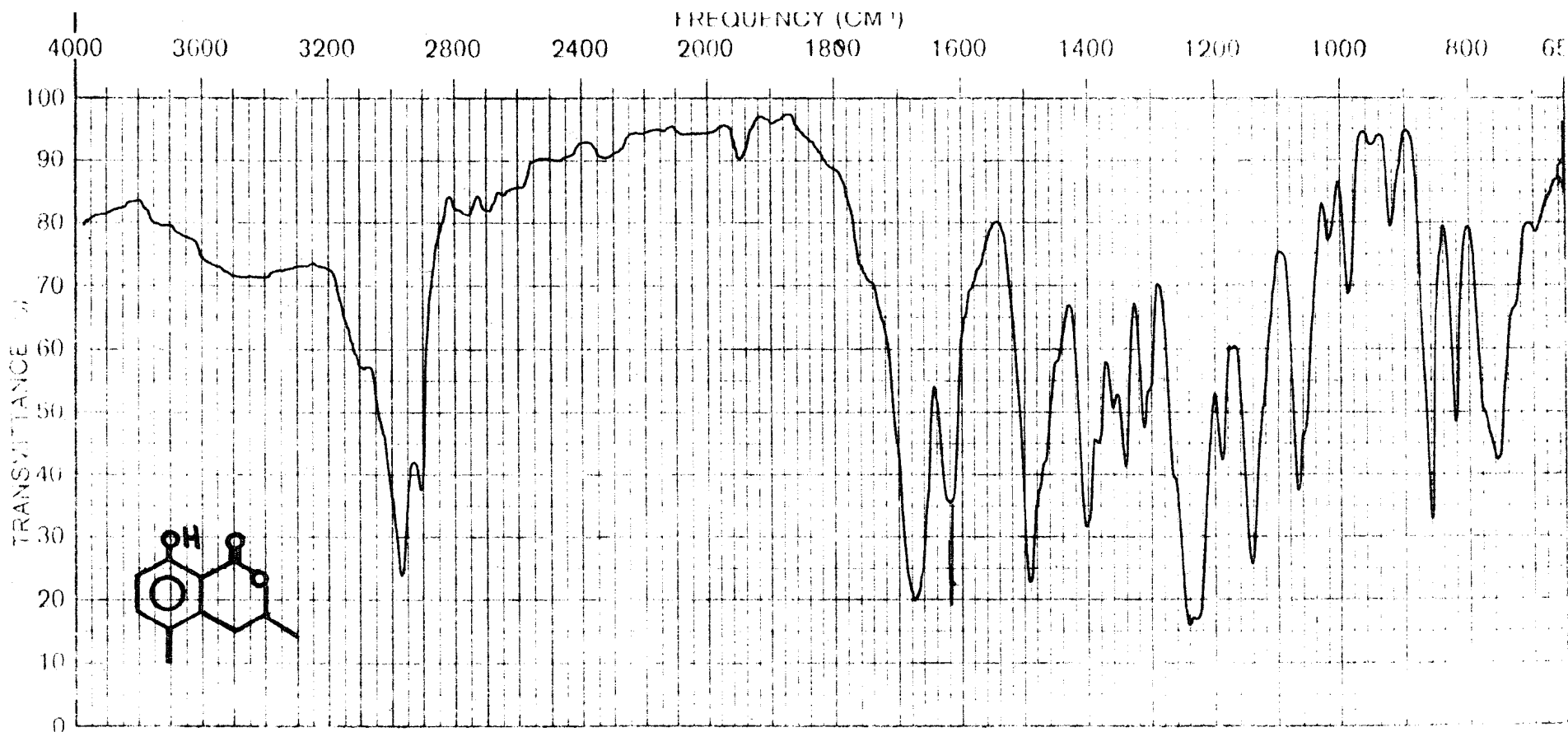


Figura 39 - Espectro no infravermelho de Tb-6. Fase KBr.

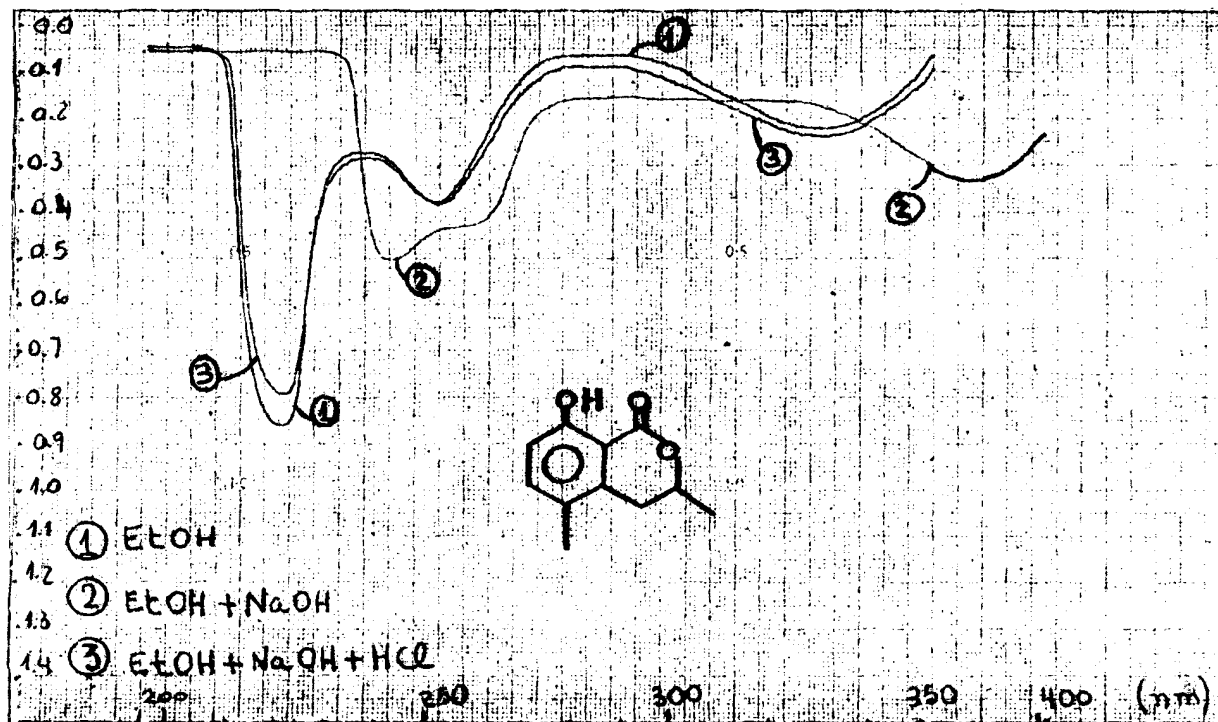


Figura 40 - Espectro no ultravioleta de Tb-6.

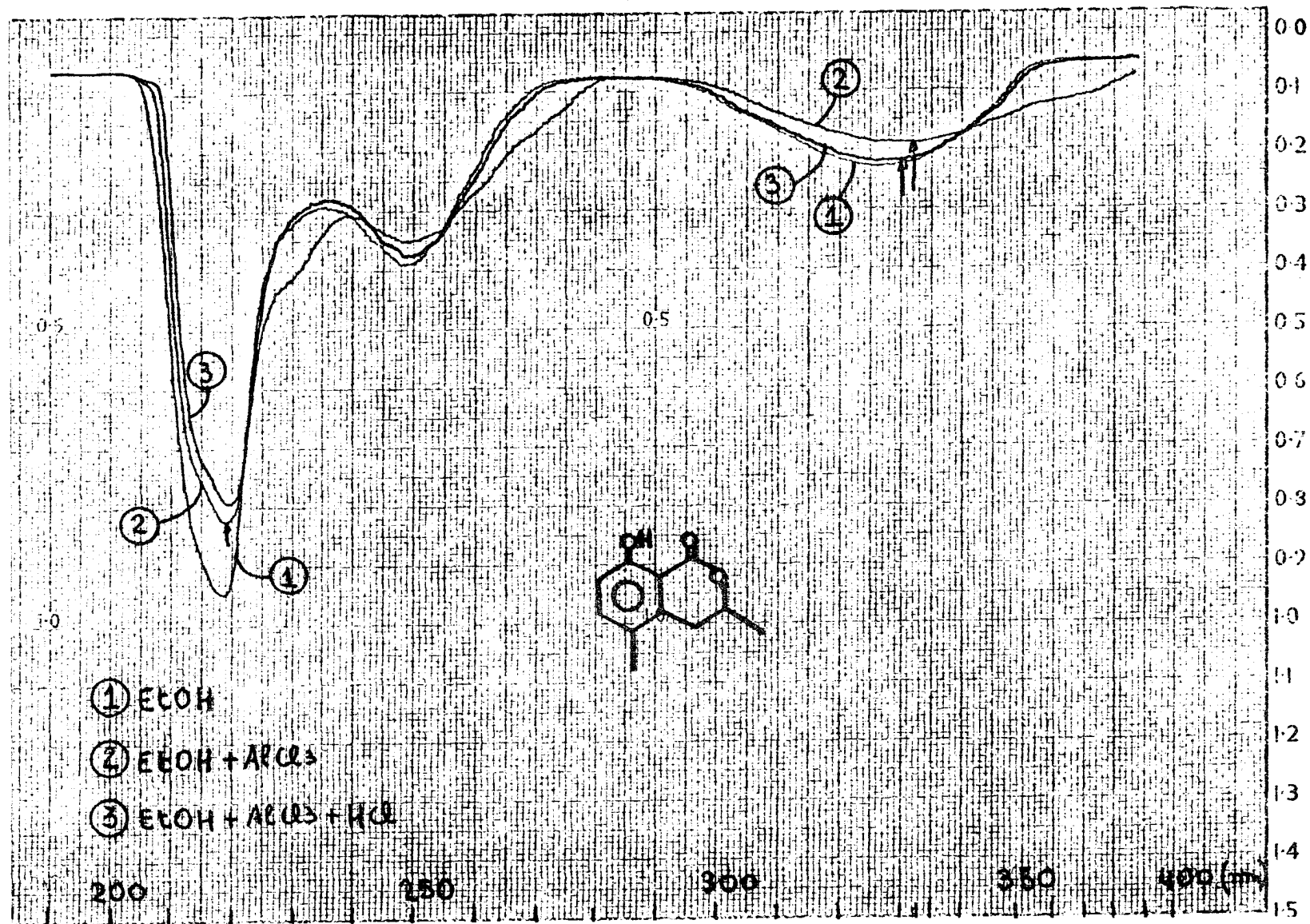


Figura 41 - Espectro no ultravioleta de Tb-6.

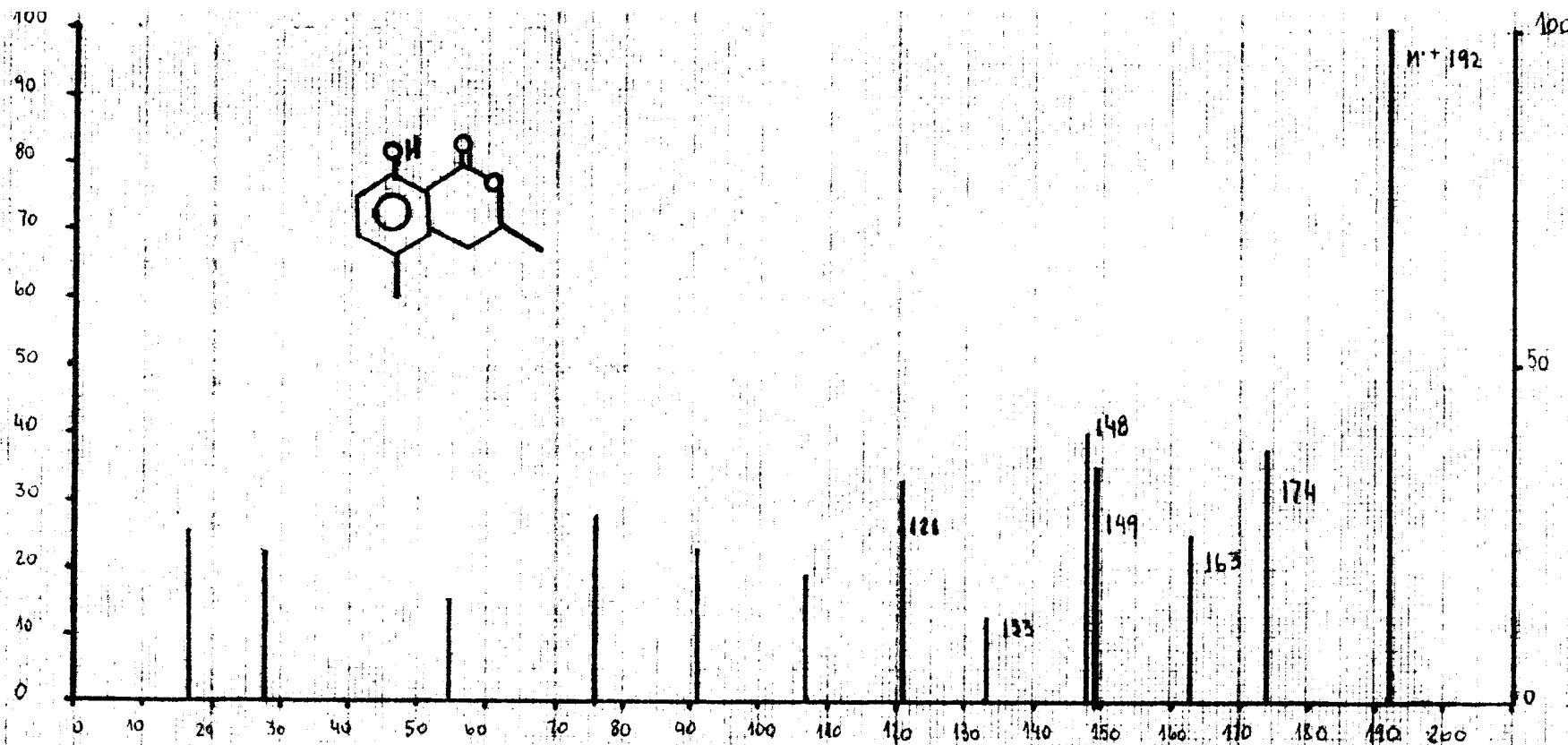
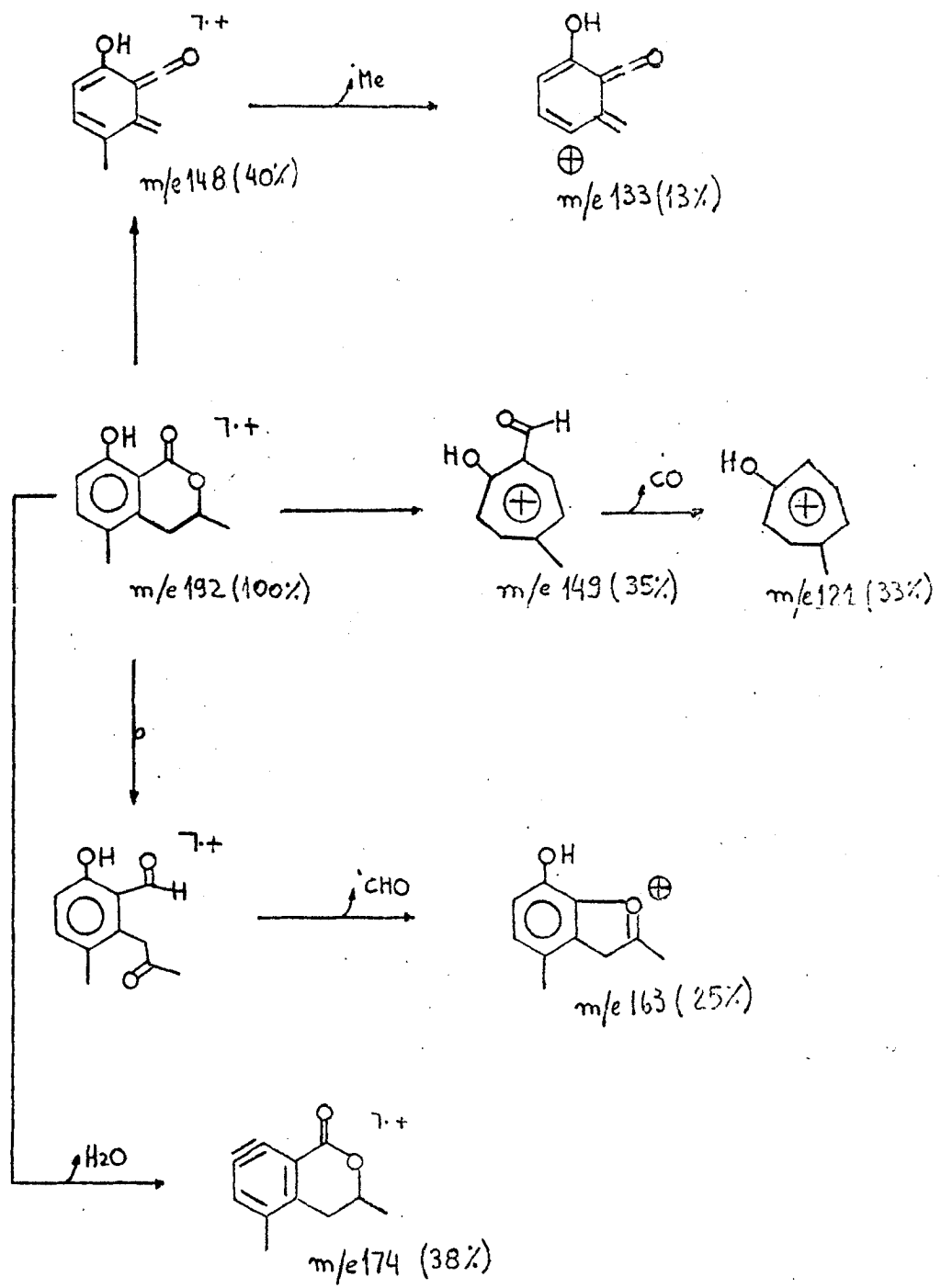


Figura 42 - Espectro de massa de Tb-6.

Quadro 12 - Interpretação do espectro de massa de 8-hidroxi- 3,5-di
metil- 3,4-dihidroisocumarina (Tb-6).



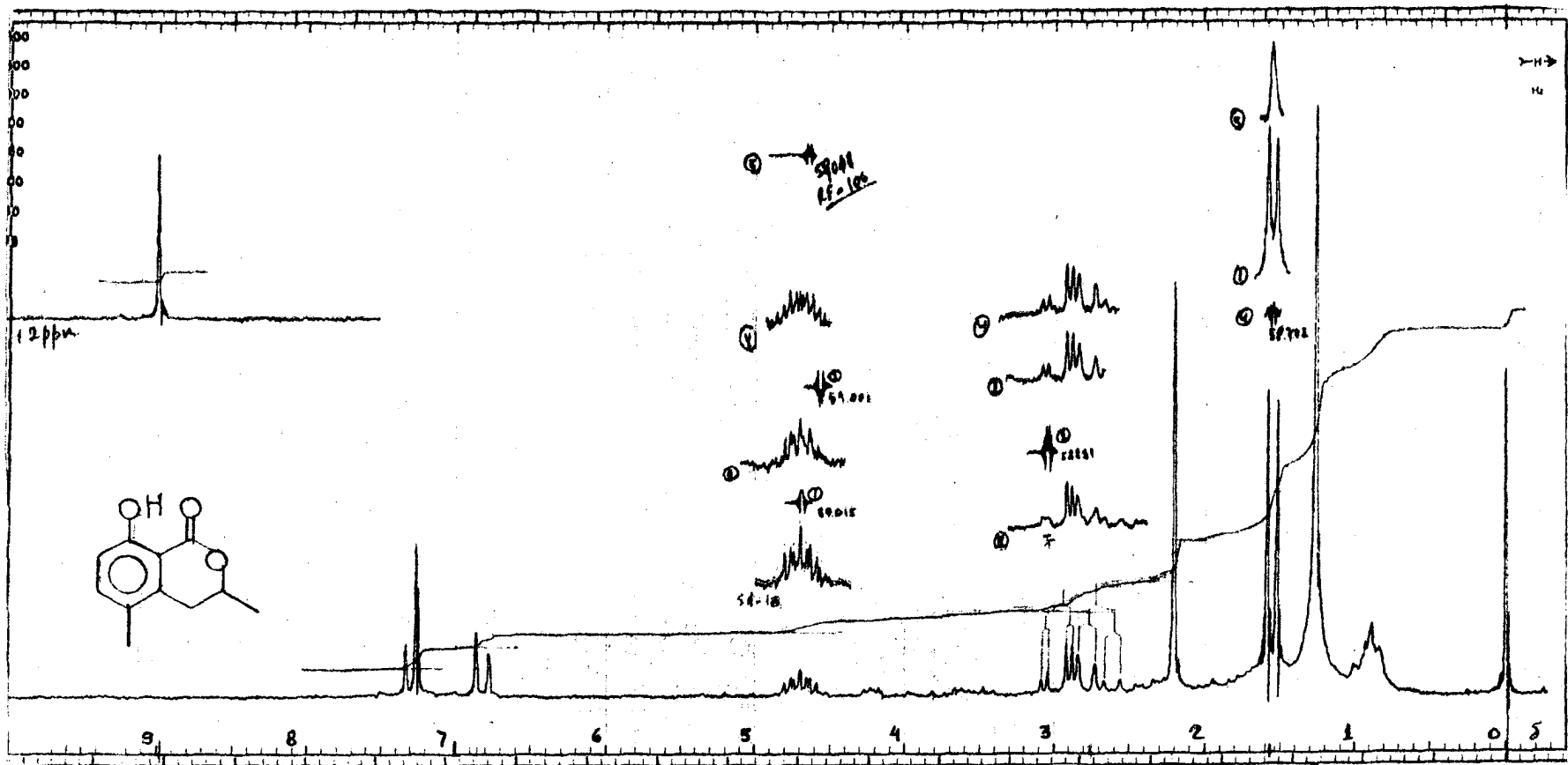


Figura 43 - Espectro de r.m.n.¹H. (100MHz) de Tb-6. CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

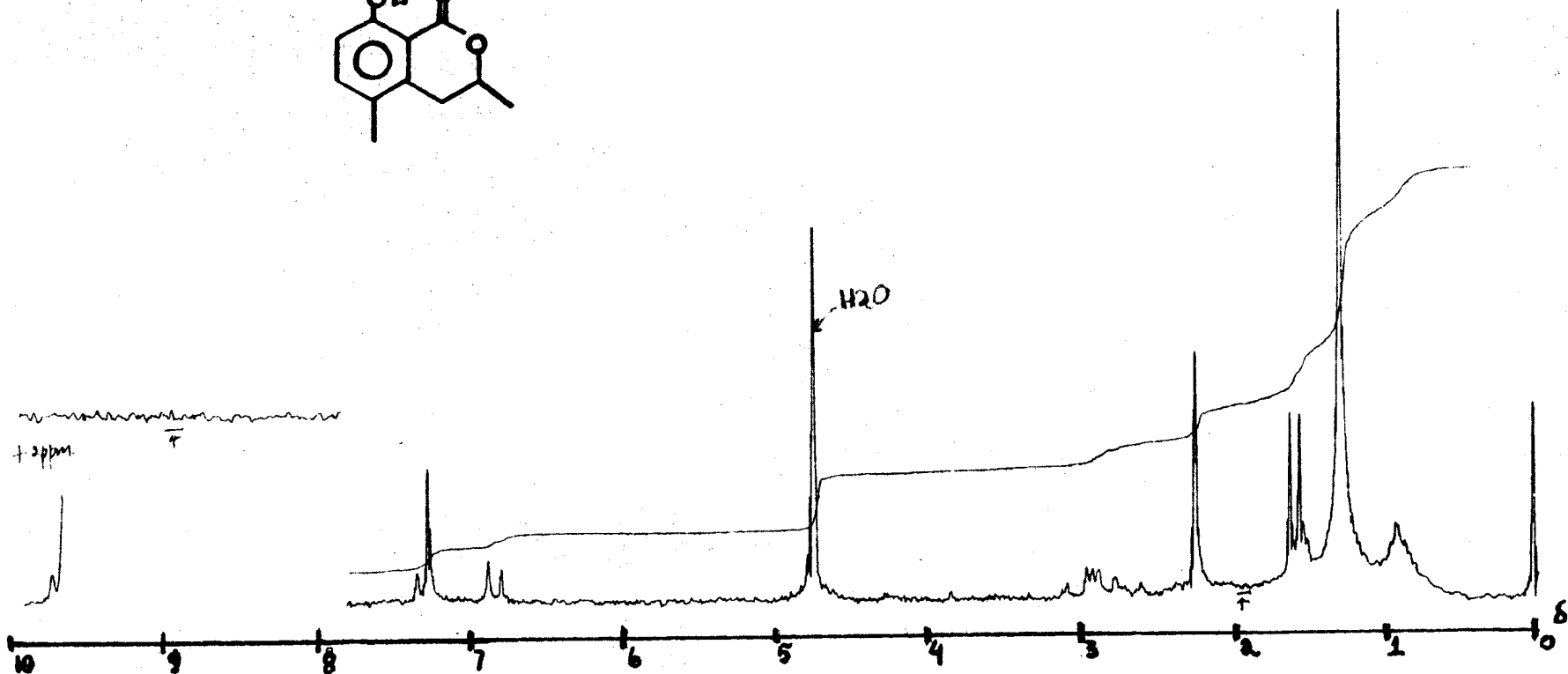
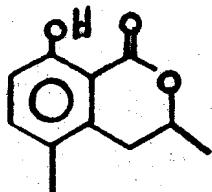


Figura 44 - Espectro de r.m.n.¹H. (100MHz) com adição de D₂O de Tb-6. CDCl₃ como solven
te e TMS como referência interna.

2.5. - Ácido betulínico (Tb-4).

Espectrometria na região do infravermelho (Fig.45) sugeriu a presença de grupo hidroxila através da banda de absorção em 3400 cm^{-1} , de dupla ligação pelas bandas em 1653 cm^{-1} ($\nu\text{ C=C}$) e em 881 cm^{-1} (dobramento do plano de $=\text{CH}_2$), e de grupo carboxílico (bandas em 1680 e $2440 - 2740\text{ cm}^{-1}$). As bandas fortes em 2924 e 1440 cm^{-1} revelaram tratar-se de uma substância de natureza alifática.

O espectro de r.m.n. ^1H (Fig. 46) registrado em $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ sugeriu tratar-se de um triterpeno, contendo 6 grupos metila. O singlete em $1,95\ \delta$ indicou a existência de metila ligado a dupla ligação, e os singletos (largos) em $4,90$ e $5,10\ \delta$ confirmaram a presença de $=\text{CH}_2$, caracterizando o grupo $\text{CH}_2 = \begin{array}{c} \text{C} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array} - \text{R}$. O multiplete em $3,60\ \delta$ foi atribuído a próton carbinólico axial em C-3. O sinal simples em campo baixo ($11,08\ \delta$) confirmou a presença de grupo carboxílico.

Estes dados permitiram classificar a substância como pertencente ao grupo do lupeol, tendo um dos grupos metila convertido em grupo carboxila.

O espectro de massa (Fig. 47) confirmou esta dedução, já que o pico molecular em $m/e\ 456$ se coaduna com a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$.

A presença dos picos em m/e 248, 220 e 175, e em m/e 208, 207 e 189 (Quadro 13) sugeriu que o grupo COOH corresponde ao carbono 27 ou 28. A estrutura com o carbono 28 sendo carboxílico é conhecida como ácido betulínico, substância largamente difundida no gênero *Tovomita* [13].

Os espectros de r.m.n.¹H. (Figs. 48 e 49) do derivado metilado, obtido por tratamento com diazometano, revelou presença de um singlete em 3,72 δ que foi atribuído a grupamento carbometoxi, confirmando definitivamente a presença de grupo carboxila na substância original.

Além disso, o espectro de massa desse mesmo derivado (Fig. 50) revelou o pico molecular em m/e 470, o que corresponde a 14 u.m.a, a mais que a substância original (Quadro 14).

A existência de grupo hidroxila foi comprovada através de acetilação do derivado metilado (Tb-4AcMe). O espectro de r.m.n.¹H. (Fig. 51) deste derivado mostrou a presença de um singlete em 2,05 δ , correspondente ao grupo acetoxila.

Comparação dos espectros de r.m.n.¹H, do derivado metilado registrados em CDCl₃ (Fig. 48) e em C₅D₅N (Fig. 49) [38] confirmou a presença de duas metilas no carbono 4. Os deslocamentos paramagnéticos de 0,25 e 0,31 ppm (Tabela 20), devido

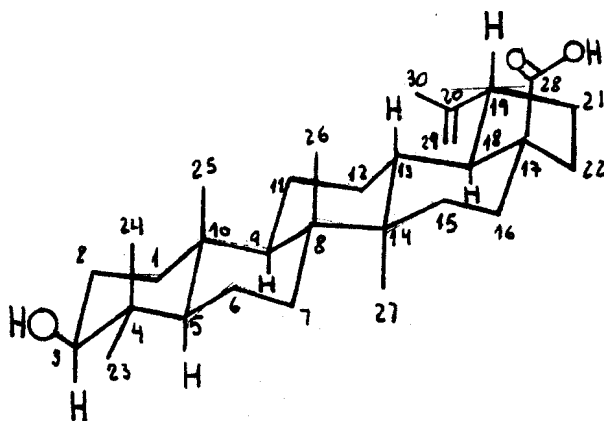
ao efeito anisotrópico exercido pela deuteropiridina, demonstram que somente estes grupos metila foram afetados significativamente.

Tabela 20 - Comparação dos deslocamentos químicos dos grupos metila do derivado metilado do ácido betunílico em CDCl_3 e $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, TMS com referência interna.

$\delta_c \text{ CDCl}_3$	$\delta_c \text{ C}_5\text{D}_5\text{N}$	$\Delta \delta_c$
0,75	1,00	-0,25
0,81	0,85	-0,04
0,90	1,21	-0,31
0,94	1,00	-0,06
0,94	1,00	-0,06
1,70	1,76	-0,06

Os espectros no infravermelho do derivado metilado (Fig. 52) e do derivado acetilado (Fig. 53) estão em acordo com as deduções lançadas.

Os espectros de r.m.n.¹³C, totalmente desacoplado (Fig. 54 e 55) e com acoplamento residual (Fig. 56 e 57) do derivado metilado permitiram definir finalmente a estrutura da Tb-4 como ácido betulínico [37], pois os valores dos deslocamentos químicos e as feições dos sinais, estão em total acordo com os dados da literatura [39] (Tabela 21).



(66)

Ácido betulínico

Tabela 21 - Comparação dos espectros de r.m.n.¹³C. (ppm) do derivado metilado da Tb-4 (II) e amostra autêntica de betulinato de metila (I). CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

C	(I)	(II)	Feição
1	38,7	38,85	t
2	27,3	27,48	t
3	78,6	78,81	d
4	38,7	38,85	s
5	55,2	55,44	d
6	18,2	18,40	t
7	34,2	34,41	t
8	40,5	40,73	s
9	50,4	50,61	d
10	37,0	37,25	s
11	20,8	20,98	t
12	25,4	25,59	t
13	38,1	38,29	d
14	42,2	42,41	s
15	29,6	29,76	t
16	32,0	32,21	t

C	(I)	(II)	Feição
17	56,4	56,54	s
18	49,3	49,51	d
19	46,8	46,98	d
20	150,1	150,54	s
21	30,5	30,66	t
22	36,8	36,99	t
23	27,9	28,08	q
24	15,3	15,49	q
25	16,0	16,20	q
26	15,9	16,02	q
27	14,6	14,78	q
28	176,2	176,47	s
29	109,3	109,54	t
30	19,3	19,48	q
OCH ₃	51,1	51,26	q

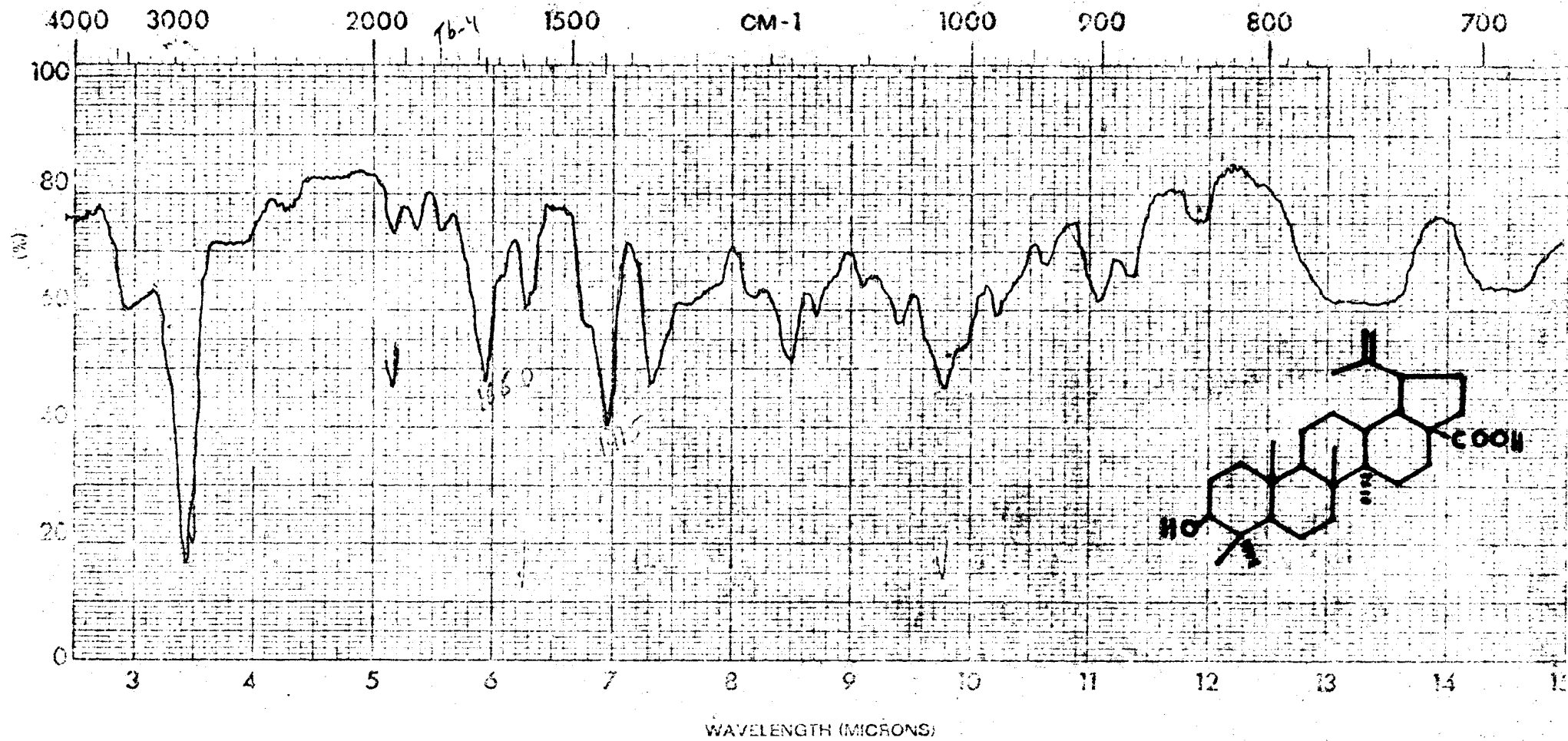


Figura 45 - Espectro no infravermelho de Tb-4. Fase KBr.

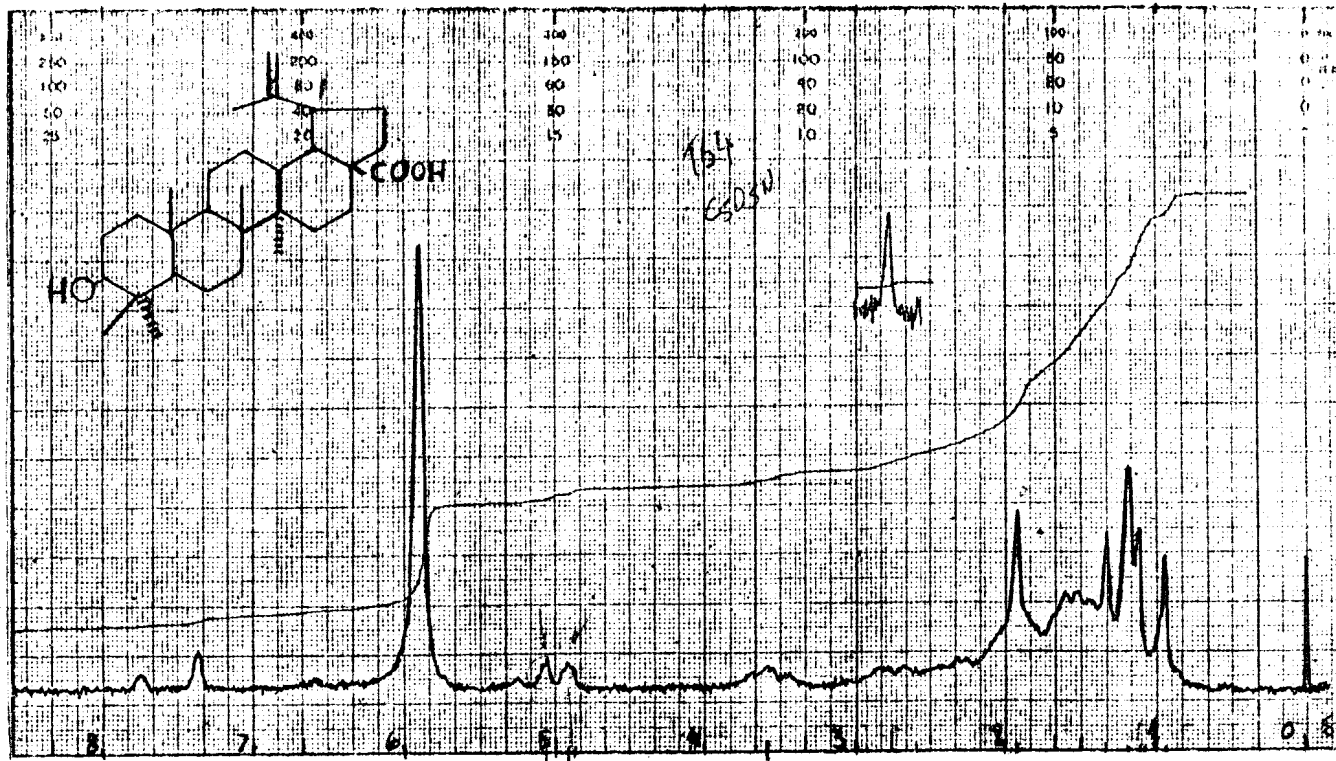


Figura 46 - Espectro de r.m.n.¹H. (60MHz) de Tb-4. C₅D₅N como solvente e TMS como referência interna.

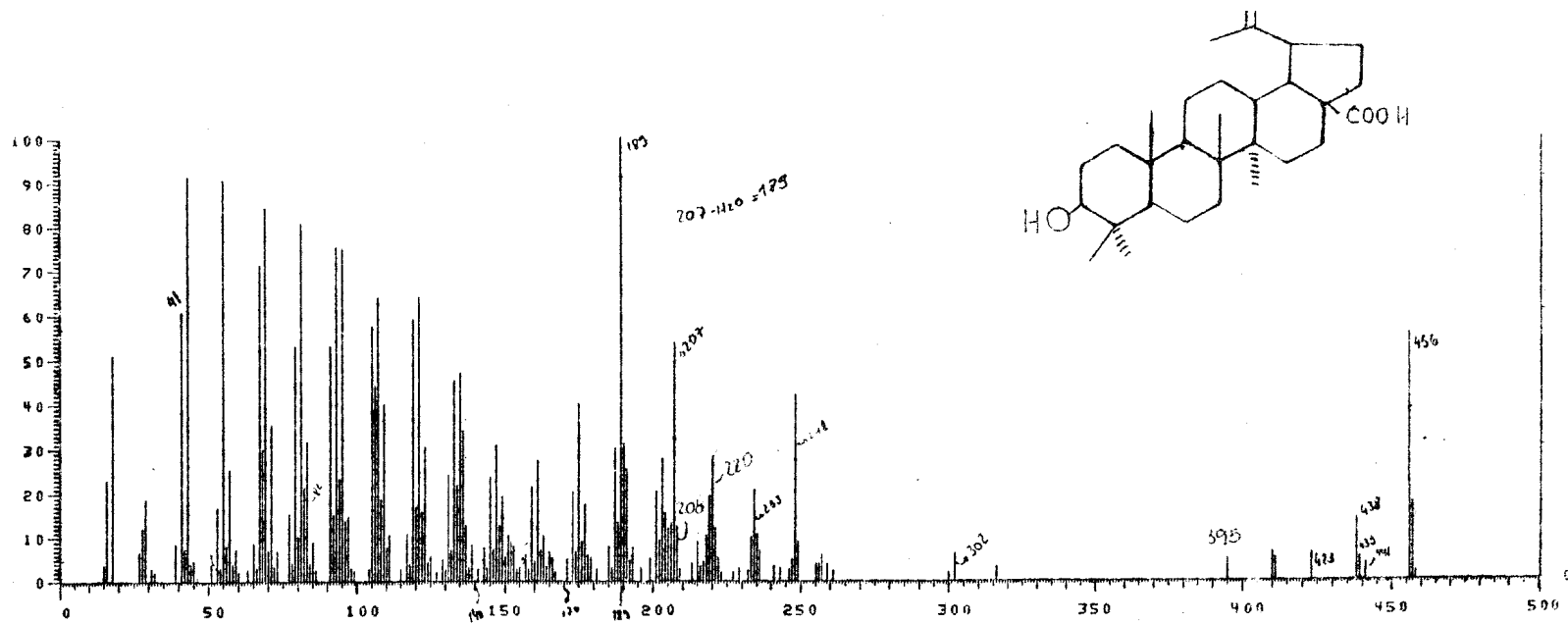
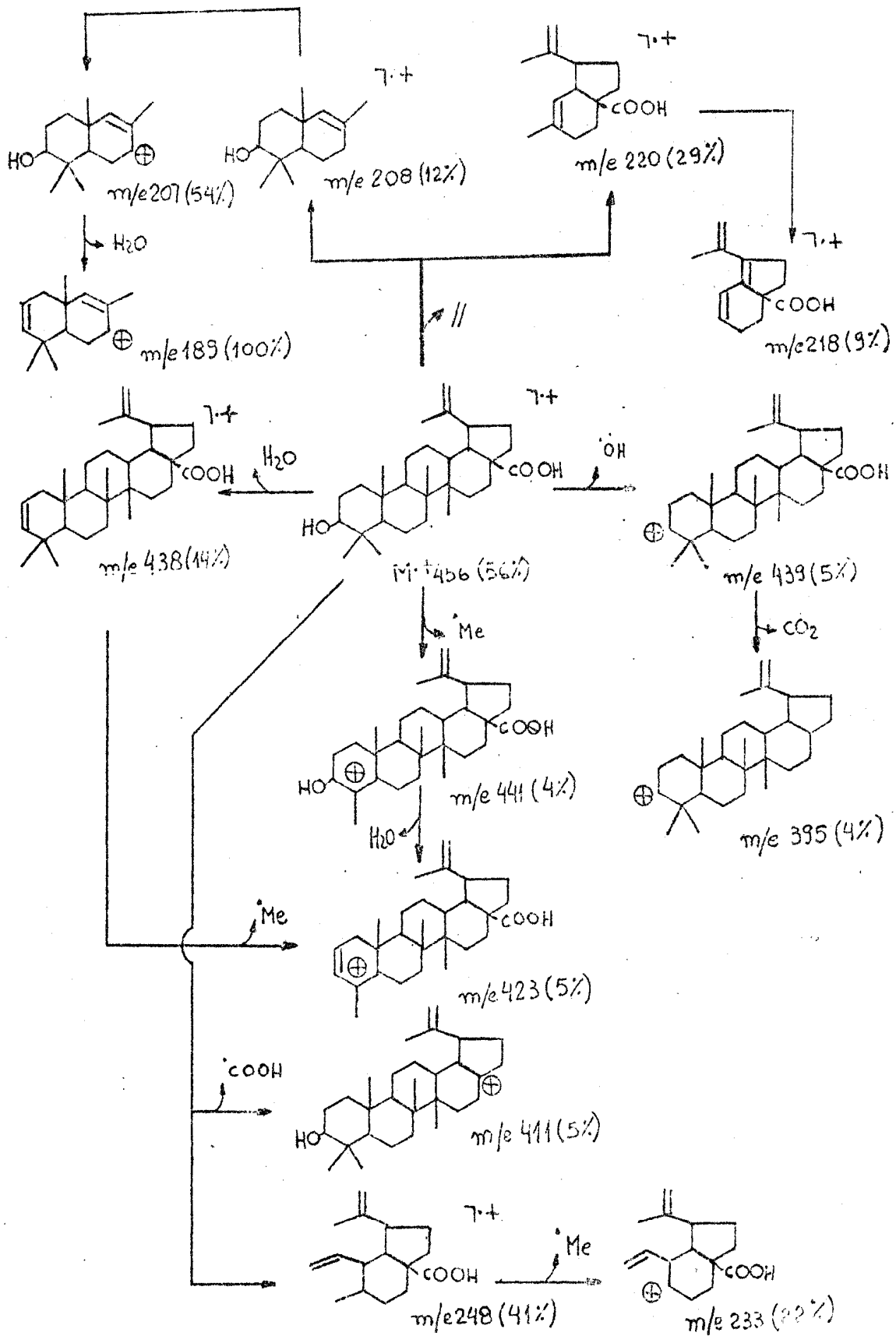


Figura 47 - Espectro de massa de Tb-4.

Quadro 13 - Interpretação do espectro de massa do ácido betulínico (Tb-4).



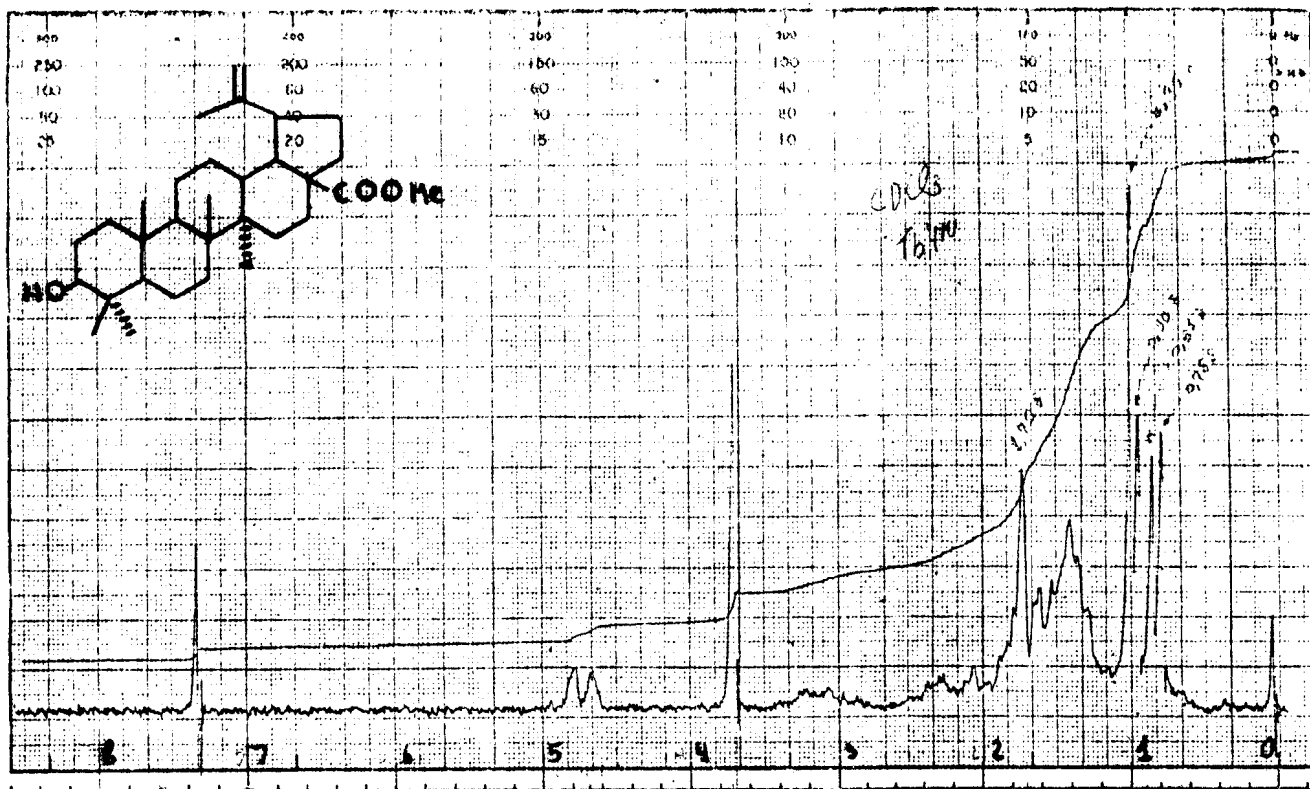
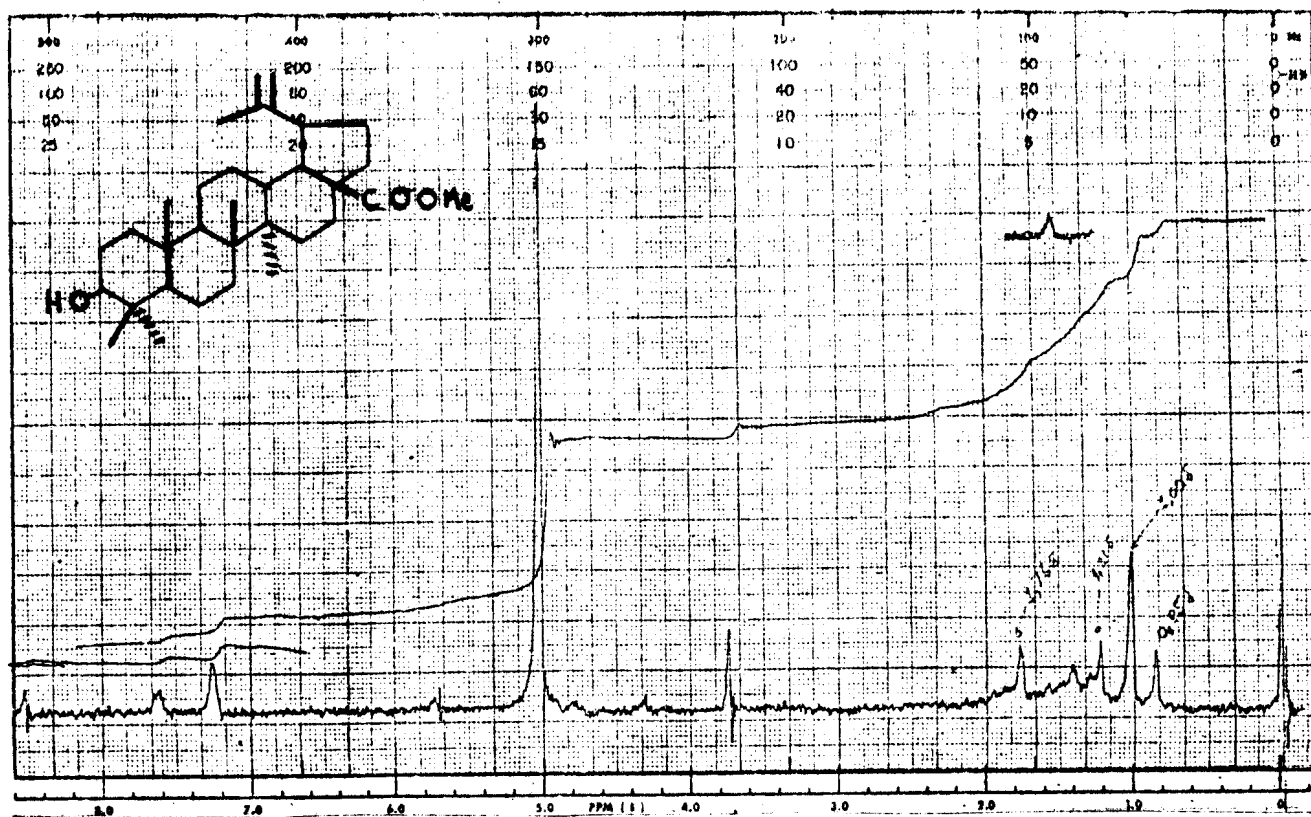


Figura 48 - Espectro de r.m.n.¹H. (60MHz) do derivado metilado de Tb-4. CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna.

Figura 49 - Espectro de r.m.n.¹H. (60MHz) do derivado metilado de Tb-4. C₅D₅N como solvente e TMS como referência interna.



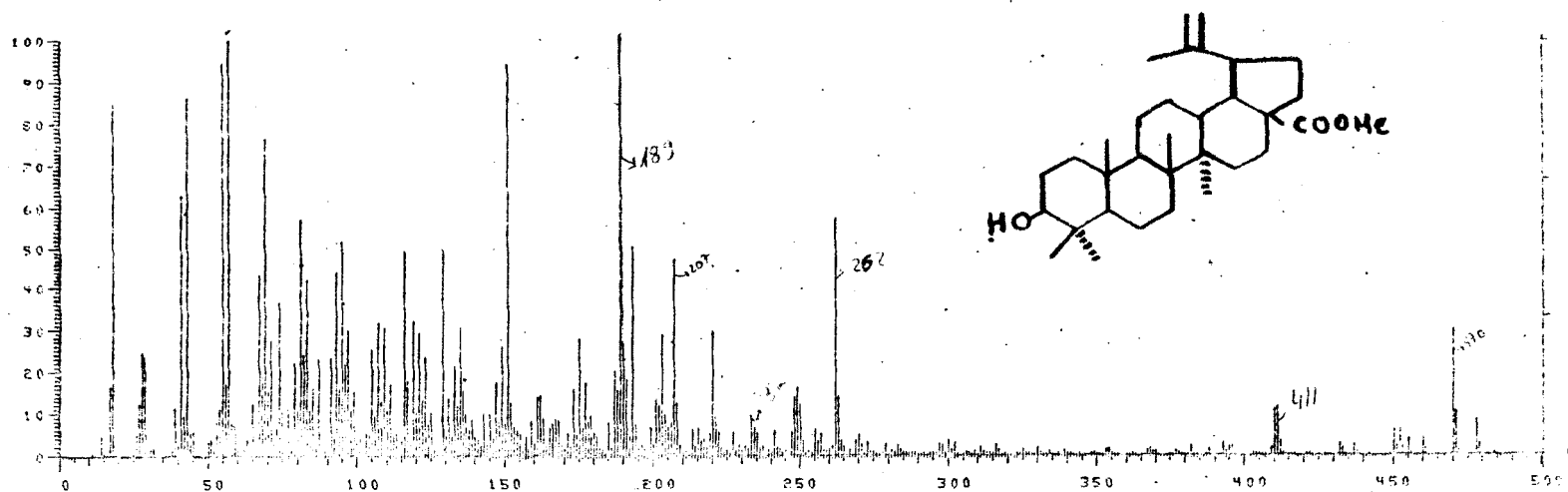
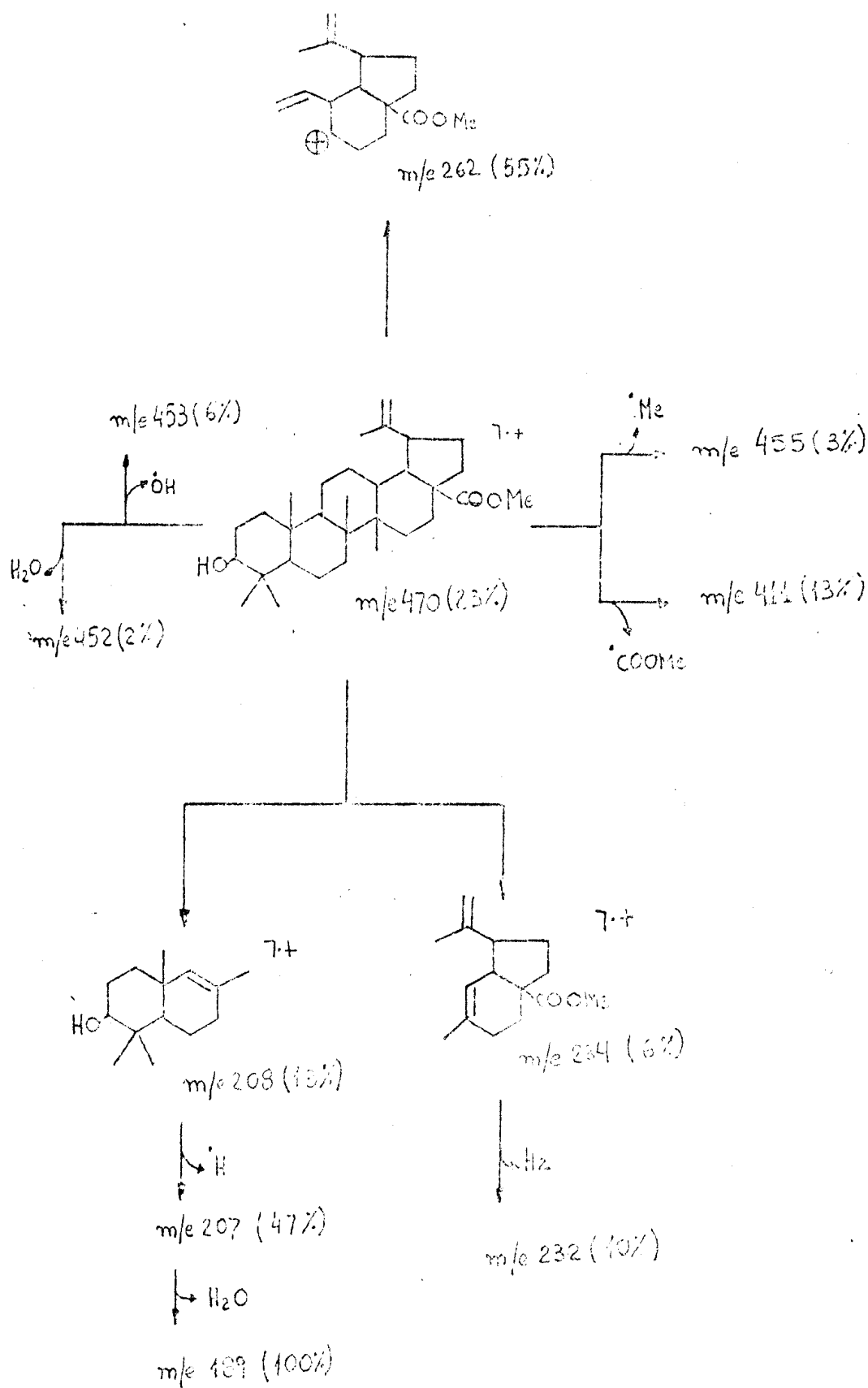


Figura 50 - Espectro de massa do derivado metilado de Tb-4.

Quadro 14 - Interpretação do espectro de massa do derivado metilado do ácido betulínico (Tb-4Me).



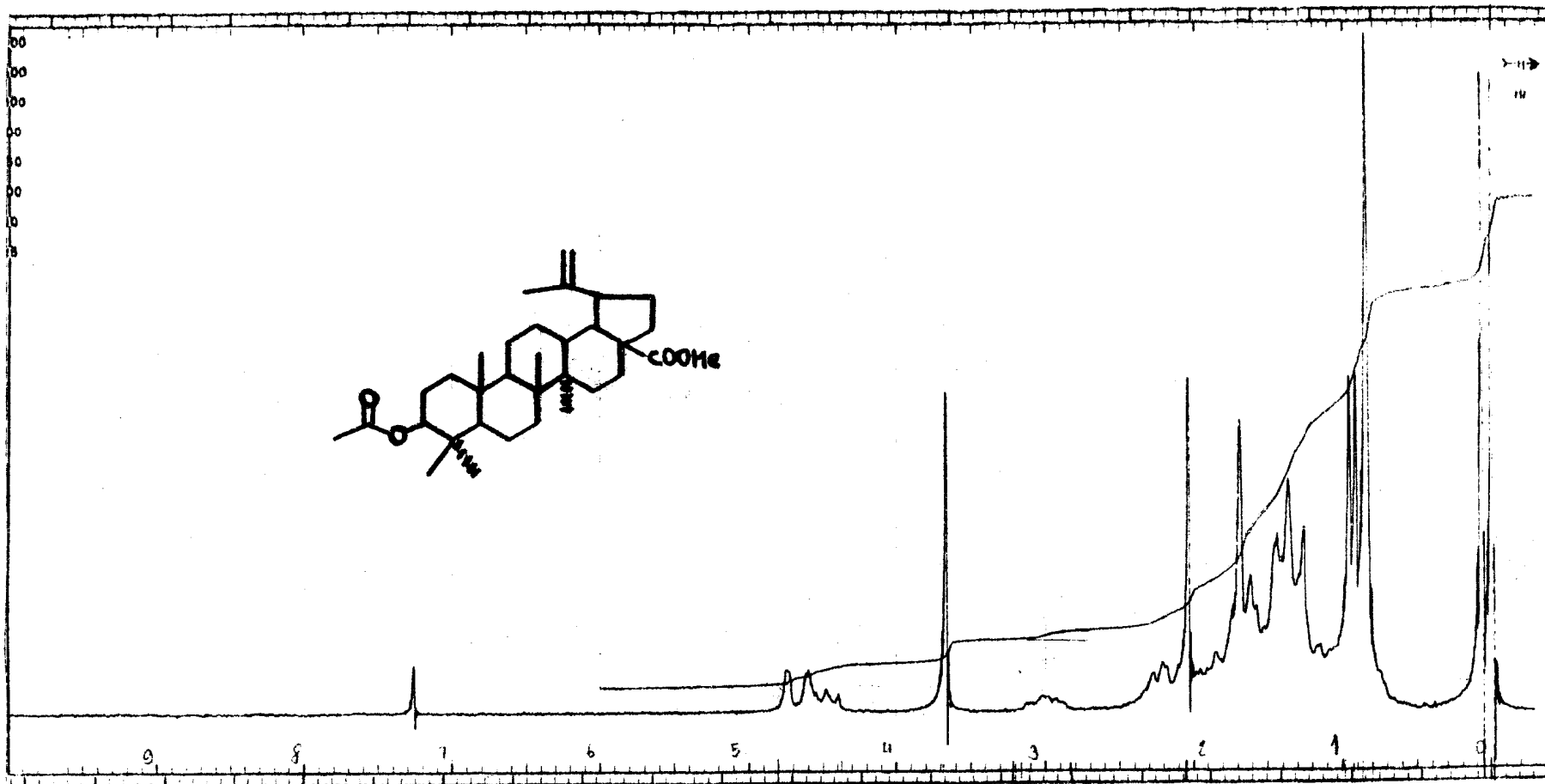


Figura 51 - Espectro de r.m.n. ^1H . (100MHz) do derivado acetilado do metilado de Tb-4.
CDCl $_3$ como solvente e TMS como referência interna.

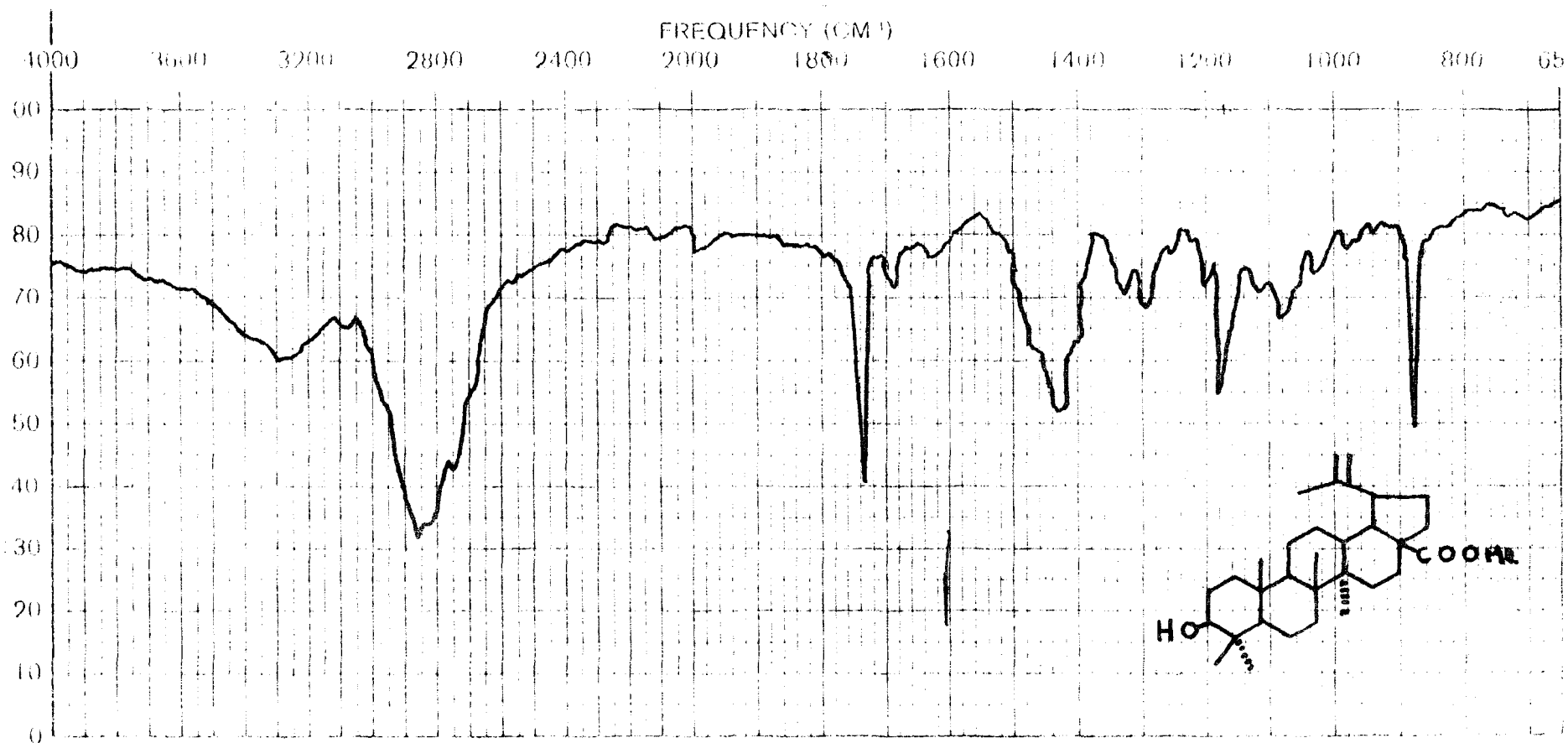


Figura 52 - Espectro no infravermelho do derivado metilado de Tb-4. Fase KBr.

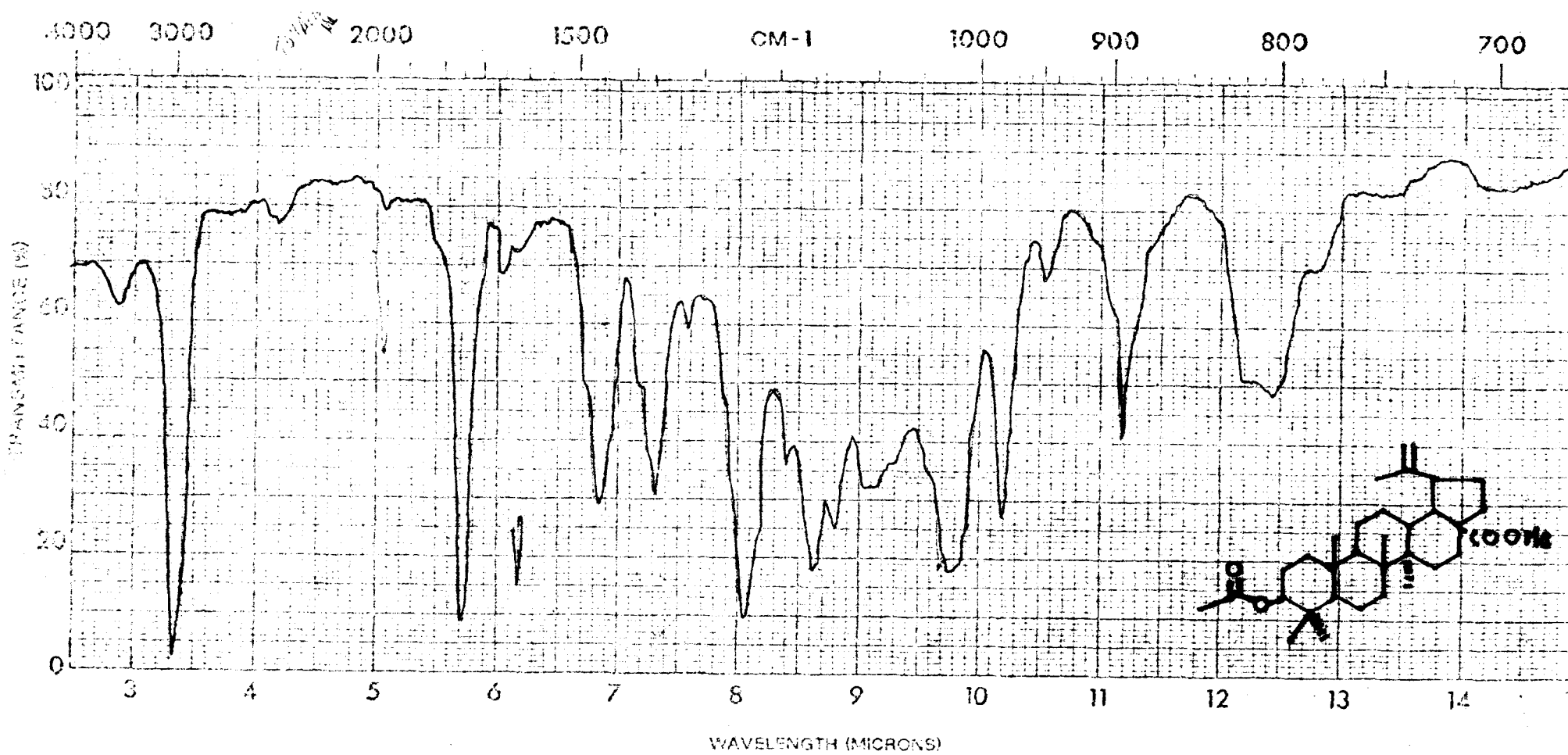


Figura 53 - Espectro no infravermelho do derivado acetilado do metilado de Tb-4.
 Fase KBr.

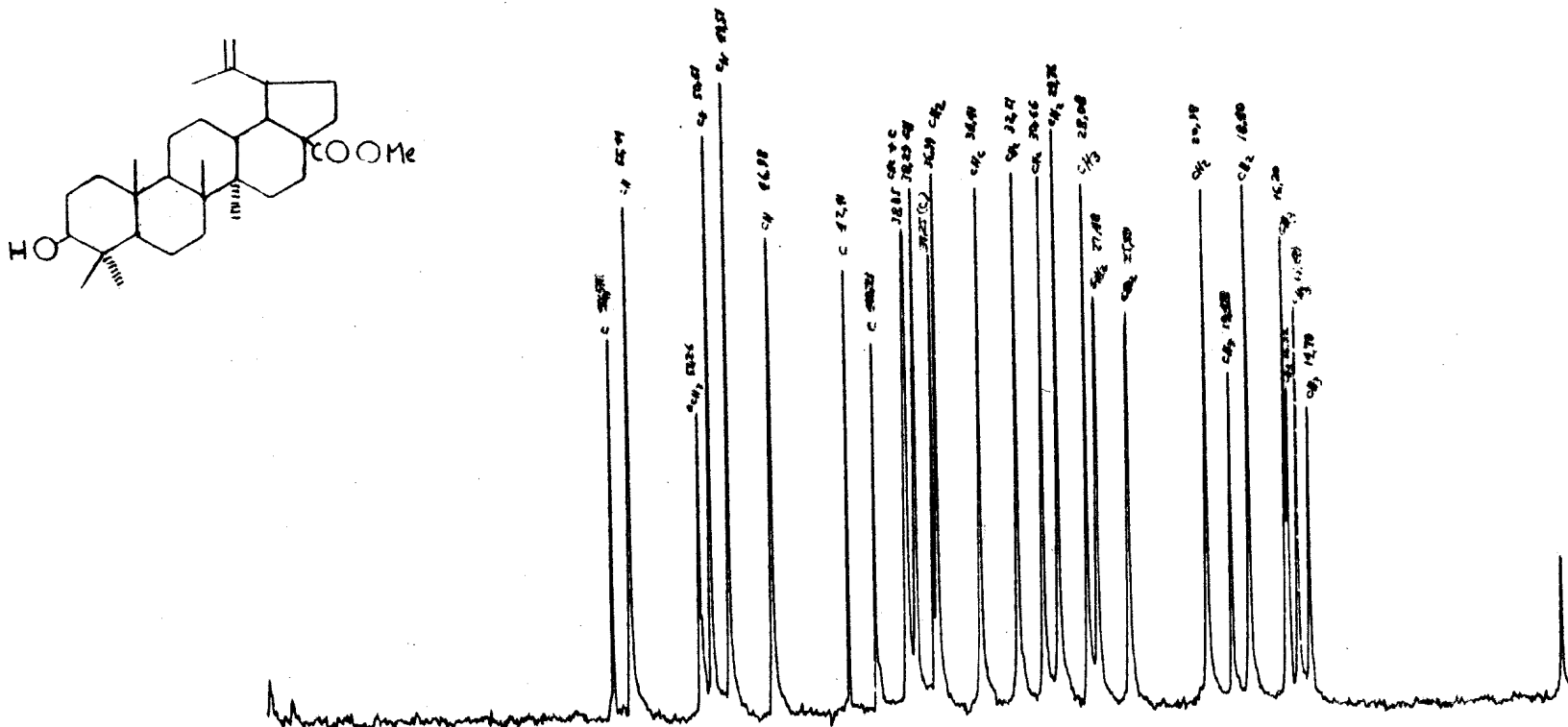


Figura 55 - Espectro de r.m.n.¹³C. (25,2MHz) do derivado metilado de Tb-4 totalmente desacoplado, expandido. CDCl₃ como solvente e TMS como referência inter

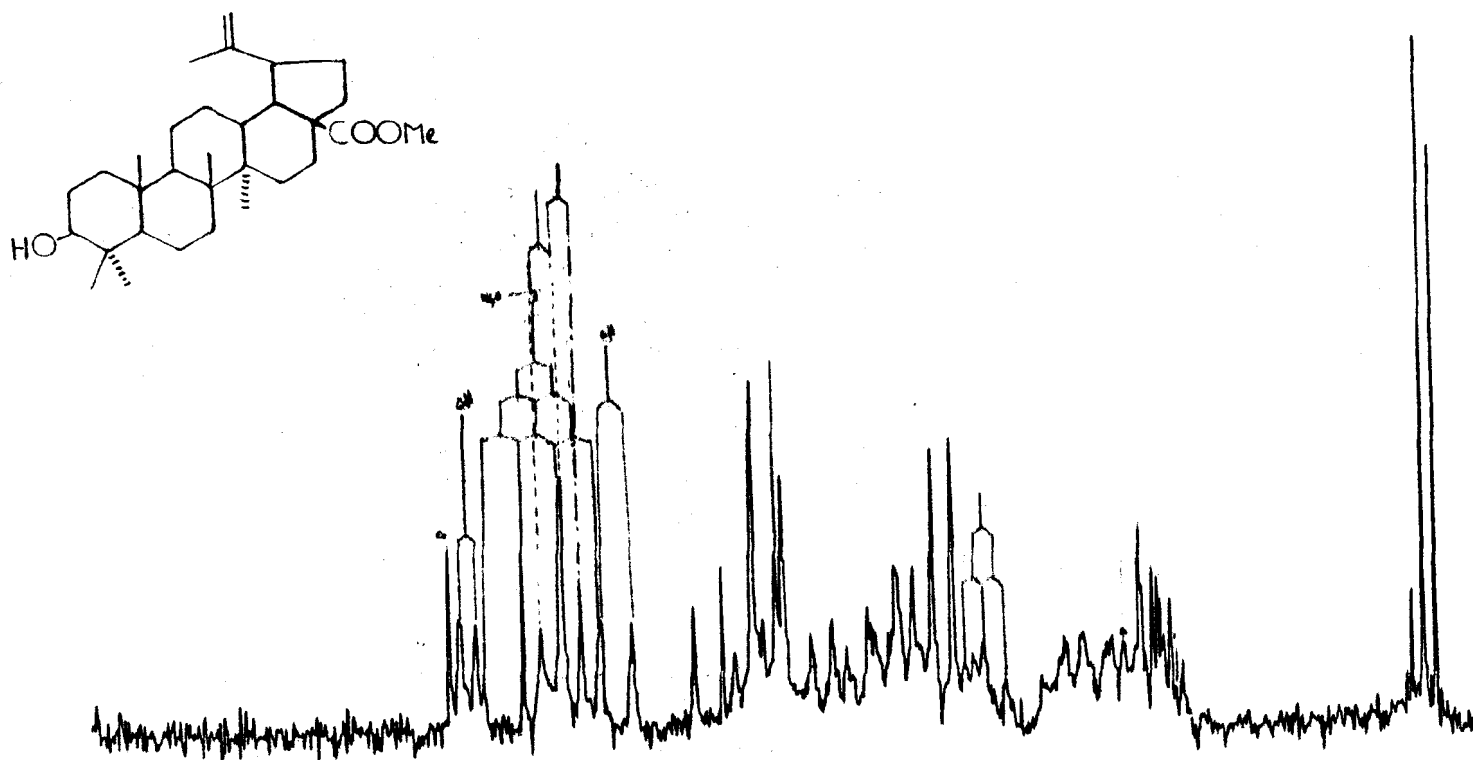
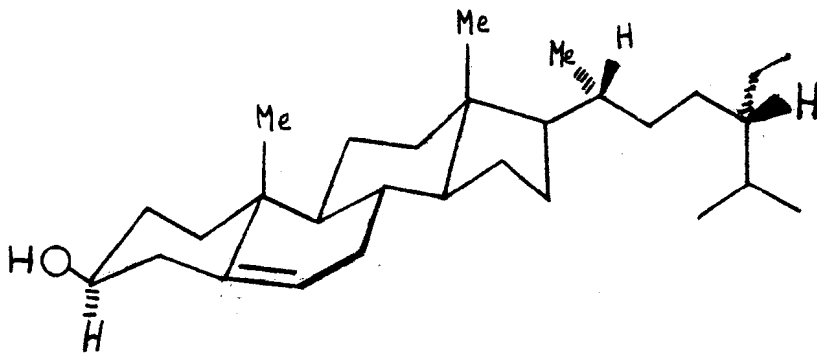


Figura 57 - Espectro de r.m.n. ^{13}C . (25,2MHz) do derivado metilado de Tb-4 com acoplamento residual, expandido. CDCl_3 como solvente e TMS como referência interna.

2.6 - Sitosterol (Tb-2).

Esta substância teve sua estrutura deduzida como sitosterol (67) por comparação com amostra autêntica, envolvendo cromatografia em camada delgada de sílica em três sistemas de solventes diferentes (benzeno, clorofórmio e clorofórmio : metanol 99 :1), ponto de fusão e ponto de fusão mixto.



(67)

3. Parte experimental.

3.1.- Material e Métodos

3.1.1.- Separação por cromatografia em coluna foram efetuadas utilizando-se Sílica Merck Kiesegel (0,05- 0,20mm) como adsorvente.

3.1.2.- Para cromatografia em camada delgada utilizou-se Sílica Merck Kiesegel H e Kiesegel G (Tipo 60), suspensas em água destilada e distribuídas em camadas de 0,50mm sobre placas de vidro.

3.1.3.- As revelações foram efetuadas com irradiação ultravioleta, 254 e 366nm de comprimento de onda e em cubas com vapores de iodo.

3.1.4 - Os critérios de pureza adotados foram: nitidez do ponto de fusão e obtenção de mancha única na cromatografia em camada delgada, variando-se os sistemas de solventes.

3.1.5.- Identificação por comparação direta com amostra autêntica envolveu ponto de fusão, cromatografia em camada delgada

de sílica em vários sistemas de solventes e espectros na região do infravermelho.

3.1.6.- Os solventes foram destilados sob pressão reduzida, usando-se evaporadores rotativos tipo BÜCHI.

3.1.7.- Os pontos de fusão não foram corrigidos e foram determinados em aparelho tipo Kofler.

3.1.8.- Os espectros na região do ultravioleta foram obtidos em espectrômetro Perkin - Elmer, modelo 402, existente na U.F.R.R.J.

3.1.9.- Os espectros na região do infravermelho foram registrados em espectrofotômetros infravermelho Perkin - Elmer, modelo 257, existente na U.F.R.R.J., modelo 700 existente no Instituto de Química da U.F.R.J. e modelo 137 existente no Departamento de Química Inorgânica da U.F.Ce.

3.1.10.- Os espectros de massa foram registrados em espectrometro da Varian, modelo CH-5, existente no N.P.P.N., U.F.R.J., por cortesia do Prof. Paul M. Baker.

3.1.11.- Os espectros de r.m.n.¹H, a 60MHz foram registrados em espectrômetro da Varian, modelo T-60, existente na U.F.R.R.J. Os espectros a 100MHz foram registrados em espectrômetro da Varian, modelo XL-100, existente no N.P.P.N., U.F.R.J., por cortesia do Prof. Paul M. Baker. Os espectros a 270MHz foram registrados em espectrômetro Brücker existente no Weizmann Institute of Science, Rehovot (Israel), por cortesia do Dr. Hugo E. Gottlieb. Foram utilizados como solventes: CCl₄, CDCl₃, C₅D₅N e (CD₃)₂SO. Os deslocamentos químicos foram anotados em unidade δ (ppm), e TMS foi usado como referência interna. As constantes de acoplamento (J) foram dadas em Hz.

3.1.12.- Os espectros de r.m.n.¹³C, foram obtidos em espectrômetros da Varian, modelo XL-100 ou CFT-20, existentes no N.P.P.N., U.F.R.J., por cortesia do Prof. Paul M. Baker. Foi utilizado CDCl₃ como solvente e os deslocamentos químicos foram anotados em unidades δ (ppm), e utilizado TMS como referência interna.

3.1.13.- Os testes de Gibbs, para verificação da ausência de substituintes em posição par a a uma hidroxila fenólica, foram realizados pelo processo de cromatografia em camada delgada de sílica, onde utilizou-se como revelador o reagente Gibbs [40], preparado com 2,6-diclorobenzoquinona, piridina e solução tampão de borato (pH = 9,2)[41].

3.2.- Processamento da planta e isolamento de seus constituintes.

A coleta do material foi efetuada pelo Dr. João Murça Pires, Belém, Pará, e a preparação do extrato para estudo foi feita pelo Dr. Mauro Taveira Magalhães, Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EM, RAPA), Rio de Janeiro.

A madeira moída (6,2kg) de *Tovomita brasiliensis* foi extraída com benzeno. Após destilação do solvente, obteve-se 43g do material.

Parte do extrato benzênico (23g) foi adsorvido em sílica gel e colocado em coluna cromatográfica contendo 700g de sílica gel, utilizando-se como solvente clorofórmio e mistura de clorofórmio e metanol em polaridades sucessivamente crescentes (Quadro 15).

Foram coletadas 248 frações de 250ml cada uma. Cromatografia em camada delgada de sílica permitiu reuni-las em vários grupos (Quadro 16), que foram posteriormente recromatografados em coluna ou apenas recristalizados.

Quadro 15 - Cromatografia em coluna de sílica gel do extrato benzênico de Tovomita brasiliensis.

Solvente	Frações
Clorofórmio	1 - 44
Clorofórmio + metanol (99:1)	45 - 81
Clorofórmio + metanol (95:5)	82 - 115
Clorofórmio + metanol (9 : 1)	116 - 154
Clorofórmio + metanol (8 : 2)	155 - 196
Clorofórmio + metanol (1 : 1)	197 - 201
Metanol	202 - 248

Quadro 16 - Frações cromatográficas reunidas e substâncias isoladas do extrato benzênico de Tovomita brasiliensis.

Frações reunidas	Substâncias isoladas
A- 1 - 23	Tb-1 e Tb-6
B- 24 - 45	Tb-6 e Tb-5
C- 46 - 48	Tb-5
D- 49 - 84	Tb-2
E- 85 - 120	Tb-2 e Tb-3
F- 120 - 131	Tb-3
G- 132 - 140	Tb-3 e Tb-4
H- 141 - 184	Tb-4
I- 185 - 188	Tb-2
J- 189 - 248	Tb-7

Elaboração das frações.

Fração A.

Após destilação do solvente, esta fração foi recromatografada em coluna de sílica, usando-se benzeno como solvente. Foram recolhidas 43 frações de 10ml cada, que foram reunidas após análise por cromatografia em camada delgada de sílica. Após sucessivas recristalizações em metanol da fração reunida de 1 a 20, obteve-se 15mg de uma substância cristalina branca, p.f. 128-130°C, que foi denominada Tb-6.

Redução do volume do solvente da água-mãe forneceu, após repouso, nova fração cristalina (10mg), que foi denominada Tb-1, p.f. 123-127°C.

Fração B.

Esta fração foi submetida a cromatografia em coluna de sílica, usando-se benzeno como eluente. Recolheu-se 33 frações de 10ml cada uma. Recristalização fracionada em metanol da fração reunida de 1-22 forneceu 10mg da Tb-6 e 22mg de uma outra substância que foi denominada Tb-5, p.f. 160-162°C.

Fração C.

Esta fração revelou-se constituída apenas da Tb-5, cristais brancos, p.f 160-162°C.

Fração D.

Esta fração, após ter sido recristalizada em metanol, forneceu 400mg de cristais brancos de uma substância que foi denominada Tb-2, p.f. 133-135°C.

Fração E.

Recristalização em metanol, forneceu mais 60mg de Tb-2. Destilação da água-mãe e recristalização em acetona forneceu 80mg de uma substância que foi denominada Tb-3, p.f 238-240°C.

Fração F.

Recristalização em acetona forneceu mais 170mg de Tb-3.

Fração G.

Esta fração foi recromatografada em coluna de sílica,

usando-se como eluente uma mistura de clorofórmio e metanol(95:5). Recolheu-se 85 frações de 10ml cada. As 30 primeiras frações foram reunidas e recristalizadas em acetona. Obteve-se mais 20mg de Tb-3. As 55 restantes também foram reunidas e recristalizadas em metanol, de onde obteve-se 120mg de cristais brancos, p.f 316-318°C, que recebeu a denominação de Tb-4.

Fração H.

Esta fração, após recristalização em metanol, forneceu mais 970mg de Tb-4.

Fração I.

Esta fração foi recromatografada em coluna de sílica, utilizando-se como eluente uma mistura de clorofórmio e metanol (9 : 1). Recolheu-se 35 frações de 10ml cada uma. Recristalização da fração reunida de 1 a 25, em acetona, forneceu 28mg de uma substância que recebeu a denominação de Tb-7. Esta substância foi submetida a reação de acetilação, fornecendo 25mg seu derivado que recebeu a denominação de Tb-7Ac (Figs.58 e 59).

Fração J.

Esta fração, de cor escura e consistência viscosa, foi abandonada. Trata-se de material muito polar e complexo, revelado por cromatografia em camada delgada de sílica.

3.3.- Reações

3.3.1.- Acetilação

As reações de acetilação foram feitas utilizando-se 1ml de anidrido acético e 1ml de piridina para cada 30mg de material. A mistura reacional foi mantida em repouso durante 24 horas. A seguir, adicionou-se água destilada e extraiu-se com clorofórmio. A solução clorofórmica foi extraída com ácido clorídrico 10% até desaparecimento do cheiro de piridina, lavada com água destilada, seca com sulfato de sódio anidro e destilada em evaporador rotatório sob vácuo.

3.3.2. - Metilação

As reações de metilação foram feitas utilizando-se como reagente diazometano. Este reagente foi preparado em funil

de Separação contendo solução aquosa de hidróxido de sódio 1 :1 (fase inferior) e éter etílico (fase superior), adicionando-se N-nitroso metiluréia em pequenas quantidades. A solução etérea, amarela, foi adicionada à substância a ser metilada e deixada em repouso durante 24 horas. Terminado este período, o solvente foi destilado e o produto recristalizado.

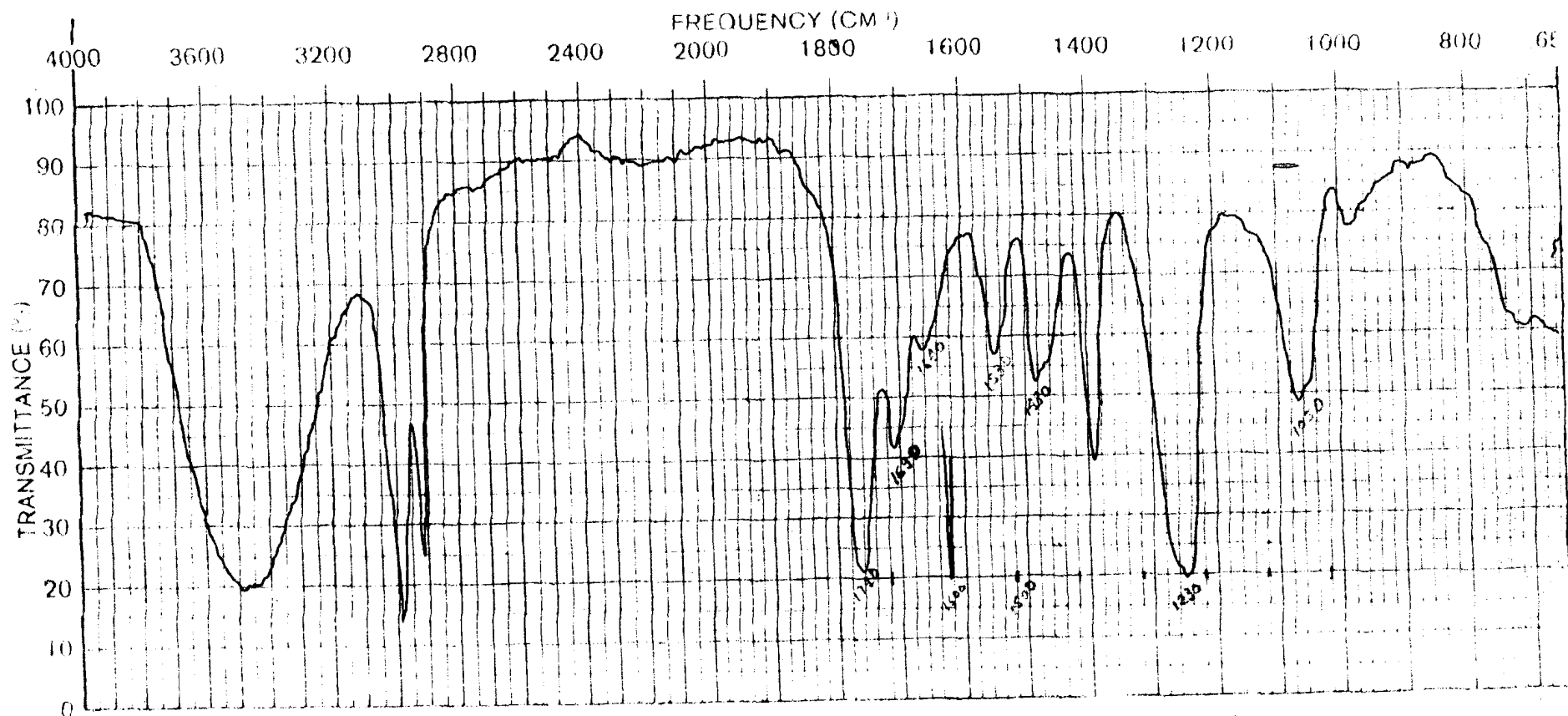


Figura 58 - Espectro no infravermelho do derivado acetilado de Tb-7. Filme.

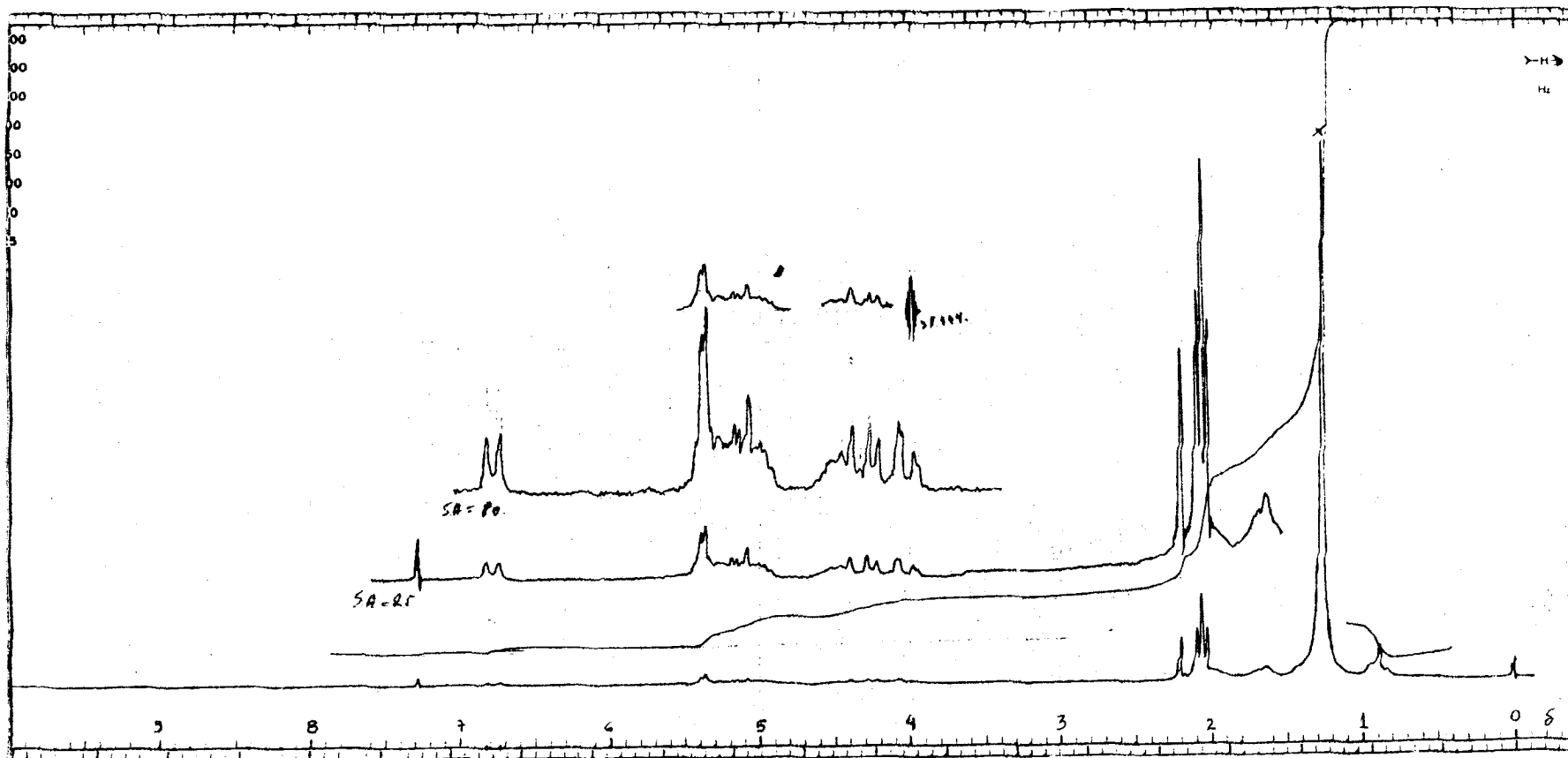


Figura 59 - Espectro de r.m.n.¹H. (100MHz) do derivado acetilado de Tb-7. CDCl₃ como sol-
vente e TMS como referência interna.

4. Dados físicos e espectroscópicos.

4.1.- 8-Hidroxi- 5-metoxi- 3-metil- 3,4-dihidroisocumarina
(Tb-1).

Cristais brancos, p.f. 123-127°C (MeOH).

Teste de Gibbs: negativo

i.v. $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3600 a 3150, 2900, 1660, 1590, 1580,
800.

u.v. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ (nm) : 225, 340 ($\epsilon = 13520, 4056$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 255, 375 ($\epsilon : 3952, 4368$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm): 235, 330 ($\epsilon = 4264, 2912$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 230, 350 ($\epsilon = 12584, 3016$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3 + \text{HCl}}$ (nm) : 230, 350 ($\epsilon = 12168, 3640$).

e.m. : m/e (%): 208 (100), 191 (87), 179 (83), 165 (21), 164 (38),
147 (18), 137 (5), 133 (22), 130 (10), 117 (8),

r.m.n.¹H. (100MHz, CDCl₃, δ): 1,52 (d, J = 8,5Hz, CH₃);
2,65 (dd, J = 16,0 e 12,5Hz, H_{ax}-4); 3,18 (dd,
J = 16,0 e 4,0Hz, H_{eq}-4); 3,82 (s, OMe); 4,50-4,92
(m, H-3); 6,88 (d, J = 9,0Hz, H-7); 7,10 (d, J =
= 9,0Hz, H-6); 10,52 (s, OH).

4.2.- 7-Cloro- 8-hidroxi- 6-metoxi- 3-metilisocumarina (Tb-5).

Cristais brancos p.f. 160-162°C (MeOH).

Teste de Gibbs: positivo

i.v. $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3300-3100, 2950, 1695, 1650, 1610,
1570, 1470, 1430, 1380, 1230, 1210,
1170, 960, 830.

u.v. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO}}$ (nm): 245, 340 (ε= 31680, 5040).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{NaOH}}$ (nm): 245, 365 (ε= 21840, 8880).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm) : 245, 340 (ε = 33120, 9360).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 250, 350 (ε= 23040, 3840).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AlCl}_3 + \text{HCl}}$ (nm) : 250, 345 (= 25440, 4080).

e.m.: m/e (%): 242 e 240 (33 e 100), 227 e 225 (2 e 6),
212 e 210 (2 e 6), 205 (61), 200 e 198
(2 e 6), 199 e 197 (3 e 9), 177 (2), 175
(3), 171 e 169 (8 e 24).

r.m.n.¹H. (100MHz, CDCl₃, δ) : 2,29 (s, CH₃); 3,95 (s, OCH₃);
6,51 (s, H-5); 6,61 (s, H-4); 11,22 (s, OH).

4.3.- 8-Hidroxi-3,5-dimetil- 3,4-dihidroisocumarina (Tb-6).

Cristais brancos, p.f. 128-130°C (MeOH).

Teste de Gibbs: negativo

i.v. $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3600-3200, 2940, 2880, 1655, 1600 -
-1580, 1470, 840.

u.v. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO}}$ (nm) : 220, 330 (ε = 16512, 4224).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{NaOH}}$ (nm): 245, 380 (ε= 9600, 6912).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm) : 220, 330 (ε= 15168, 4608).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 220, 335 ($\epsilon = 15744, 3648$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AlCl}_3 + \text{HCl}}$ (nm), 220, 330 ($\epsilon = 15168, 4224$).

e.m.: m/e (%): 192 (100), 174 (38), 163 (25) 149 (35),
148 (40), 133 (13), 121 (33), 107 (19).

r.m.n.¹H. (100MHz, CDCl₃ δ): 1,57 (d, J = 6,0Hz, CH₃);
2,22 (s, CH₃); 2,75 (dd, J = 16,5 e 10,0Hz,
H_{ax}-4); 2,94 (dd, J = 16,5 e 4,0Hz, H_{eq}-4);
4,50-4,87 (m, H-3); 6,87 (d, J = 8,5Hz,
H-7); 7,30 (d, J = 8,5Hz, H-6); 10,98 (s,
OH).

4.4.- 2,5-Dihidroxi- 6,7-dimetoxixantona (Tb-3).

Cristais amarelados, p.f. 238-240°C. (acetona).

i.v. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Kbr}}$ (cm⁻¹): 3350, 2960, 1645, 1610, 1580, 1500,
1470, 1440, 1405, 1235, 1150, 1100, 1080,
860, 805.

u.v. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO}}$ (nm): 220, 235, 255, 320 ($\epsilon = 12960, 14976,$
25344, 8352).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{NaOH}}$ (nm) : 250, 270, 295, 360 ($\epsilon = 12960,$
14688, 13248, 11808).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm): 220, 235, 255, 320
($\epsilon = 11232, 12960, 21888, 7200$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 235, 260, 290, 325 ($\epsilon = 18144,$
20448, 12384, 8928).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AlCl}_3 + \text{HCl}}$ (nm): 235, 270, 290, 325
($\epsilon = 16416, 18432, 12384, 8064$).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AcONa}}$ (nm): 220, 255, 315, 350 ($\epsilon = 19296,$
21312, 9216, 8352).

$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtHO} + \text{AcONa} + \text{H}_3\text{BO}_3}$ (nm): 225, 235, 255, 320
($\epsilon = 13100, 17568, 25056, 10080$).

e.m.: m/e (%): 288 (100), 273 (19), 260 (2), 258 (6) ,
255 (6), 245 (18), 230 (17), 228 (4) ,
227 (25), 217 (5), 215 (3), 202 (4),
201 (2), 200 (3), 199 (16), 196 (5), 187
(5), 181 (2), 173 (10).

r.m.n.¹H. (100MHz, CDCl₃ e (CD₃)₂SO , δ) : 4,01 (s, OCH₃) ;
4,05 (s, OCH₃) ; 6,76 (dd, J =8,0 e 1,8Hz ,
H-4); 7,02 (dd, J = 8,0 e 1,8Hz, H-2) ;
7,53 (s, H-8); 7,56 (t, J = 8,0Hz, H-3);
12,70 (s, OH).

4.5.- 1,5-Diacetoxi- 6,7-dimetoxixantona (Tb-3Ac).

Cristais amarelos, p.f. 170-172°C. (acetona).

i.v. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 2945, 2880, 1760, 1795, 1640, 1610,
1465, 1425, 1400, 1375, 1335, 1405, 1265,
1200, 1140, 1070, 880, 860, 805.

e.m.: m/e (%): 372 (9); 330 (20), 288 (100); 273 (5);
259 (7).

r.m.n.¹H. (100MHz, CDCl₃, δ): 2,50 (s, OCOCH₃, 6H); 3,99 (s, OCH₃); 4,01 (s, OCH₃); 7,00 (dd, J = 8,0 e 1,8Hz, H-4); 7,38 (dd, J = 8,0 e 1,8Hz, H-2); 7,56 (s, H-8); 7,66 (t, J = 8,0Hz, H-3).

r.m.n.¹³C. (25,2MHz, CDCl₃, δ): C-1 (150,1, s); C-2 (118,3, δ); C-3 (134,0, d); C-4 (116,1,d); C-4a (156,9, s); C-4b (148,8, s); C-5 (132,2, s); C-6 (149,9, s); C-7 (149,9, s); C-8 (103,7,d); C-8a (117,5, s); C-9 (174,6, s); C9a (115,0, s); OMe (C-6; 61,2, q); OMe (C-7; 56,2, q); OCOCH₃ (C-1; 168,0, s); OCOCH₃ (C-5; 169,5, s); OCOCH₃ (C-1; 20,3, q); OCOCH₃ (C-5, 21,2, q).

4.6.- Ácido betulínico (Tb-4).

Cristais brancos, p.f. 316-318°C (MeOH).

i.v. $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3400, 2950, 1660, 1435, 1360, 1180, 1045, 905.

e.m.: m/e (%): 456 (56), 441 (4), 439 (5), 438 (14), 423
(5), 411 (5), 4110 (4), 395 (4) 302 (5),
248 (41), 233 (22), 220 (29) 218 (9),
208 (12), 207 (54), 189 (100).

r.m.n.¹H. (60M/4z, C₅D₅N, δ) : 0,94 (s, CH₃); 1,10 (s, CH₃);
1,20 (CH₃, 6H); 1,35 (s, CH₃), 1,95 (s, CH₃);
0,80 - 2,20 (m); 2,6 - 2,9 (m); 3,4 - 3,8 (M),
4,90 (s. largo); 5,10 (s. largo).

4.7.- Derivado metilado do ácido betulínico (Tb-4Me)

Cristais brancos, p.f. 223-224°C (MeOH).

i.v. $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3330, 3870, 1730, 1430, 1180, 890.

e.m.: m/e (%): 470 (23), 455 (3), 453 (6), 452
(2), 411 (13), 262 (55), 234 (5), 232 (10),
208 (13), 207 (47), 189 (100).

r.m.n.¹H. (60MHz, CDCl₃, δ): 0,75 (s, 3H); 0,81 (s, 3H);
0,90 (s, 3H); 0,94 (s, 6H); 1,70 (s, 3H);
0,70 - 2,00 (m); 2,8 - 3,3 (m); 3,70 (s, 3H);
4,70 (s. largo); 4,85 (s. largo).

r.m.n.¹³C.: Ver Tabela 21.

4.8.- Derivado acetilado do éster metílico do ácido betulínico (Tb-4 AcMe).

Cristais brancos, p.f. 197-200°C, (MeOH).

i.v. $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3030, 1750, 1460, 1380, 1245, 1160,
1030, 890.

r.m.n.¹H. (100MHz, CDCl₃, δ): 0,87 (s, 9H); 0,93 (s, 3H);
0,99 (s, 9H); 1,70 (s, 3H); 0,70- 2,30 (m); 2,05
(s, 3H); 3,79 (s, 3H); 2,84- 3,06 (m, 1H); 4,38-
- 4,70 (m).

CAPÍTULO IV

BIOSÍNTESIS DE XANTONAS

Biossíntese de xantonas.

As xantonas, até hoje isoladas de plantas superiores, foram encontradas principalmente nas famílias Gentianaceae, Guttiferae, Polygalaceae e Moraceae, porém somente nas duas primeiras o número de espécies estudadas é significativo.

A biossíntese de xantonas em plantas superiores segue a via do acetato. Este fato foi comprovado através da incorporação de precursores marcados com ^{14}C . No anel A são incorporados 3 unidades acetato e no anel B fenilalanina [21].

A diferença de origem biogenética condiciona a posições de oxigenação diferentes nos dois anéis aromáticos e, por este mesmo motivo, a determinação da origem desses anéis pode ser feita com certa segurança pela inspeção da estrutura.

O anel derivado de acetato apresenta frequentemente o padrão floroglucinol (1,3-oxigenado). As xantonas com monooxigenação neste anel possuem esta função no carbono 1, ocorrendo, conseqüentemente, a redução no carbono 3. Xantonas naturais sem oxigenação no carbono 1 e com oxigenação no carbono 3 não são conhecidas. Este fato revela uma ordem na seqüência de redução, que leva às xantonas sem oxigenação nos carbonos 1 e 3 do anel derivado do acetato (Quadro 17), [21].

O anel derivado de acetato com padrão de oxigenação superior a 1,3- surge, provavelmente, por oxidações adicionais do precursor tipo floroglucinol, fornecendo xantonas 1,2,3-, 1,3,4-trioxigenadas e 1,2,3,4-tetraoxigenadas, sendo 1,2,3- e 1,3,4-, precursores de 1,2,3,4- (Quadro 17).

As xantonas 1,2-dioxigenadas podem ser formadas através de duas vias biogênicas (Quadro 17): a) Oxidação de xantonas monooxigenadas em C-1; b) Redução de xantonas 1,2,3-trioxigenadas. Trabalho recente [21] afasta esta última alternativa biossintética. As razões que conduziram a esta decisão envolvem frequência de distribuição dos derivados correspondentes na natureza. Existindo um número bem maior de xantonas oxigenadas apenas em 1- do que em 1,2,3-, é mais razoável supor que as 1-hidroxixantonas e não as 1,2,3-trihidroxixantonas sejam precursores de 1,2-dihidroxixantonas.

Este trabalho excluiu as xantonas 1-monooxigenadas e 1,3,4-trioxigenadas como possíveis precursores para 1,4-dioxigenadas (Quadro 17), com base na correlação entre ocorrência de xantonas e padrões de oxigenação dos anéis derivados de acetato e de chiquimato, demonstrando a grande importância dos estudos quimiotaxonômicos que vêm sendo desenvolvidos por Gottlieb e seus colaboradores, iniciados em 1972 com a utilização de xantonas e pironas como marcadores quimiosistemáticos [47].

Sugeriu-se que o padrão 1,4- (equivalente a 5,8-) seria característico de anéis derivados de chiquimato originalmente oxigenados em 4 (ou seja 5).

Sabe-se, atualmente, que benzofenonas são intermediários que conduzem, por processos oxidativos, a xantonas. Carpenter, Locksley e Scheinmann propuseram que o mecanismo de ciclização por acoplamento oxidativo direto forneceria a explicação para a grande variedade dos padrões de oxigenação das xantonas, devido a duplicidade de rotas ciclizantes (Quadro 20), conduzindo a 5,6- (68) ou 6,7-dihidroxixantonas (69). Para justificar a ausência de oxigenação em C-6 (Quadro 18), estes autores postularam a existência do tipo estrutural (700). Marx Young [21] questionou a necessidade deste precursor e postulou desoxigenação da posição para em um ponto indeterminado do caminho biogenético de formação de xantonas, considerando xantonas 5,6- e 6,7-dioxigenadas no anel B, oriundo da via chiquimato, como precursores dos diversos padrões de oxigenação 5- ou 7- (Quadro 20).

A ocorrência de substâncias como morelina (71), isomorelina (72), ácido morélico (73), ácido isomorélico (74), desoximorelina (75), dihidroisomorelina (76) e ácido gambógico (77) [21], sugere a intervenção de fenol na forma cetônica em reações biológicas. Por isto, pode-se postular inclusive, redução do grupo

carbonila na forma ceto para grupo OH, podendo ocorrer, a seguir, a desoxigenação por meio de uma transformação dienol-benzênica (Quadros 19,20).

Mesmo que se possa postular a idesoxigenação a nível de xantonas, o precursor benzofenona pode sofrer reação análoga e, posteriormente, originar o esqueleto xantônico. O número de benzofenonas naturais de plantas superiores é relativamente pequeno e, por isto, pode-se admitir que as reações de oxigenação e desoxigenação ao nível de xantonas são mais frequentes.

Com base nestas considerações biogenéticas, pode-se sugerir que a 1,5-dihidroxi-6,7-dimetoxixantona isolada de *Tovomita brasiliensis* (Tb-3) deve ter seguido a rota evolutiva de padrão de oxigenação descrito no Quadro 21.

O padrão de oxigenação 5-hidroxi-6,7-dimetoxi da rota chiquimato em xantonas é raramente encontrado em plantas superiores e foi, até hoje, observado apenas para o gênero *Caraipa* [21, 24].

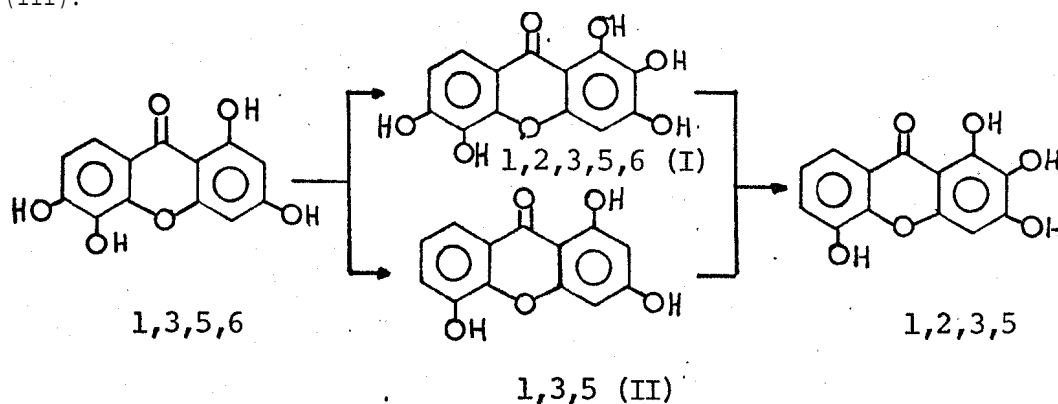
O gênero *Tovomita* evoluiu principalmente pelo caminho biossintético que conduza xantonas preniladas.

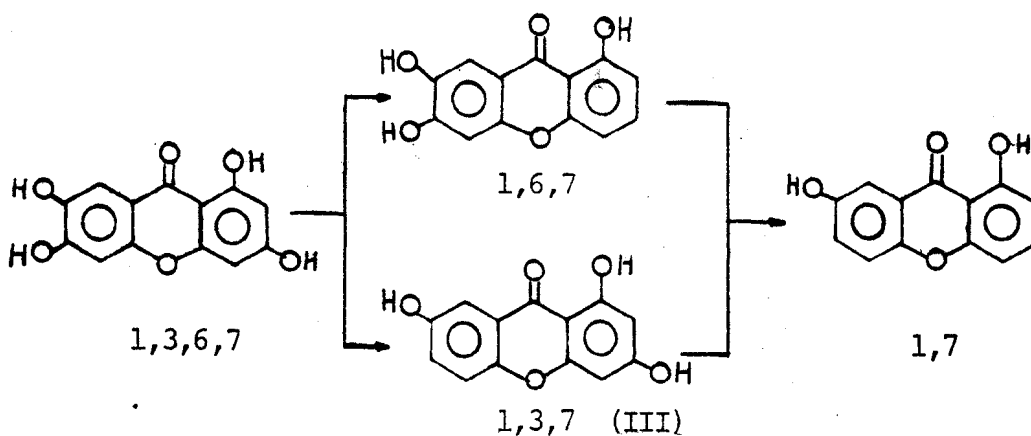
Segundo Marx Young [21], a presença de xantonas 1,3,5,6- ou 1,3,6,7-tetraoxigenadas caracteriza espécies primitivas. A diferenciação evolutiva pode ocorrer por prenilação ou por modificação do padrão de oxigenação. Estas duas características

evolutivas aparecem no gênero *Tovomita* (Tabela 22), caracterizando como um gênero avançado da família Guttiferae.

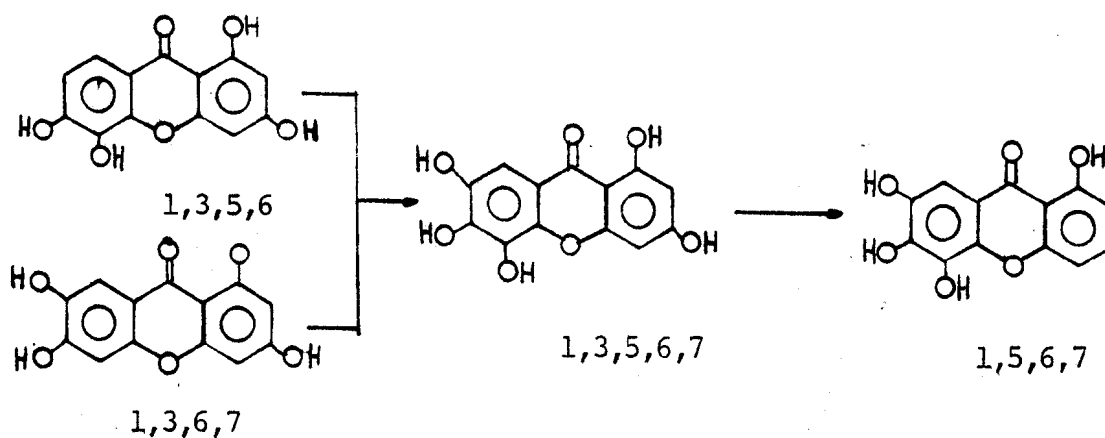
As xantonas nº 1 e 2, não preniladas (Tabela 22) envolvem oxigenação do anel A e desoxigenação do anel B de um precursor 1,3,5,6-tetraoxigenado. É possível formular a biossíntese de xantonas 1,2,3,-tetraoxigenadas de duas maneiras; (I) e (II). A alternativa mais razoável no entanto, é aquela que envolve uma substância 1,3,5-trioxigenada como intermediário (II), já que derivados desse tipo xantônico são muito mais numerosos na natureza do que derivados do tipo 1,2,3,5,6-pentaoxigenados (I).

A substância nº3 (Tabela 22) pode originar-se através de duas reações de redução, uma em cada anel, tendo como precursor xantona 1,3,6,7-tetraoxigenada. Aqui o intermediário mais difundido é, portanto, aquele que possui padrão de oxigenação 1,3,7-, (III).



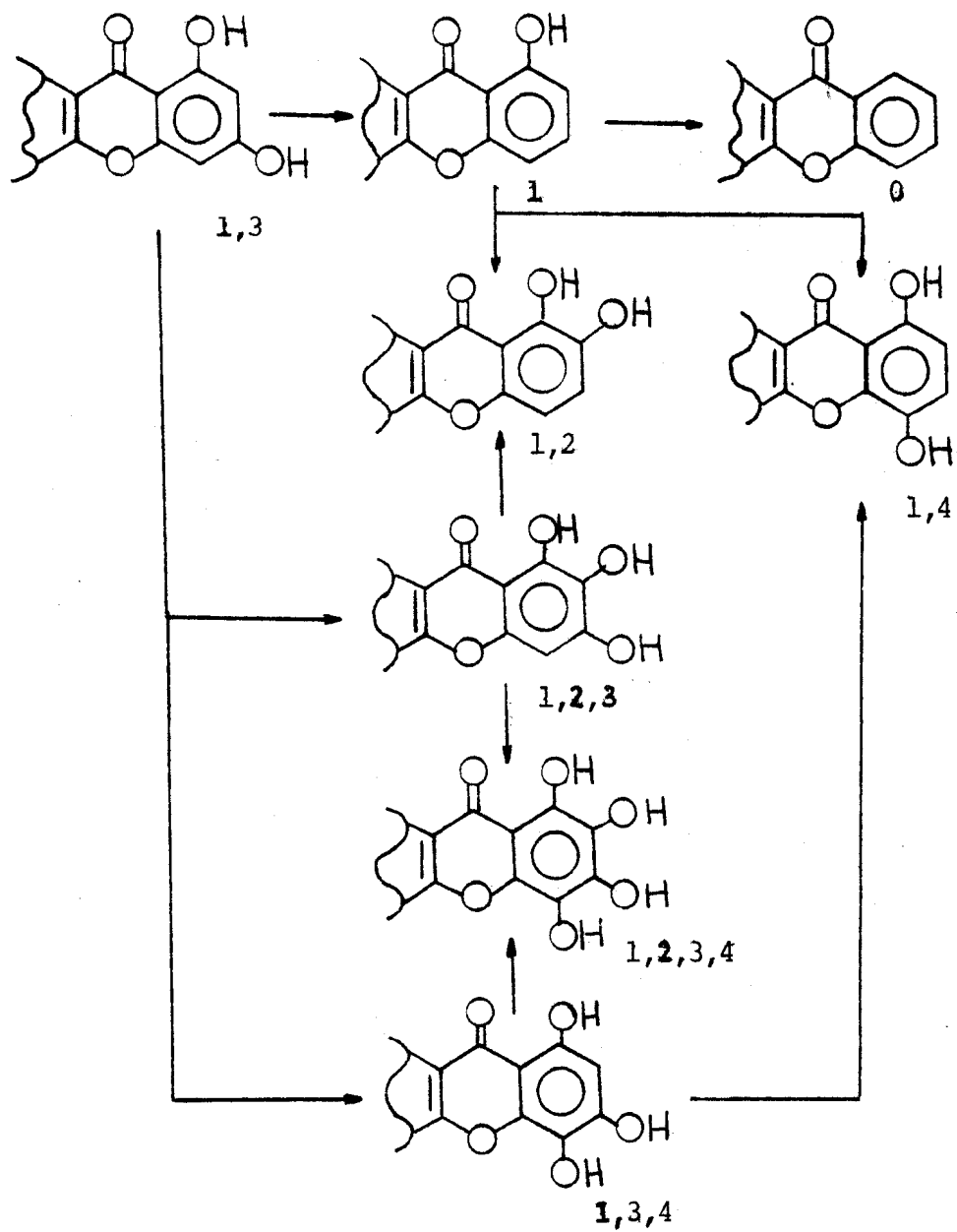


As prováveis rotas biossintéticas da xantona isolada de *Tovomita brasiliensis* são diferentes dos tipos discutidos acima, já que envolve desoxigenação do anel A e oxigenação do anel B como via evolutiva (Tabela 22).



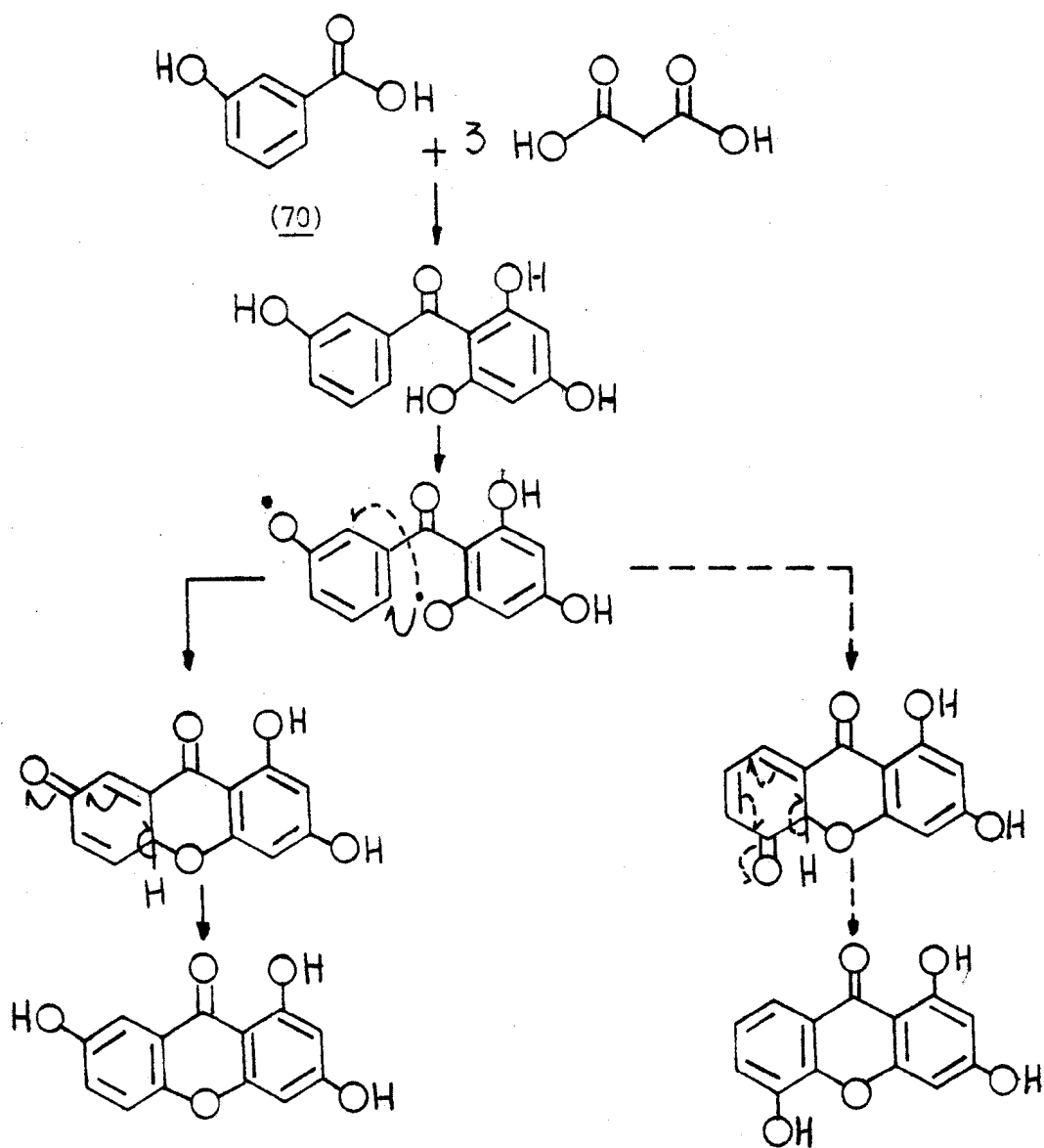
Três das xantonas preniladas do gênero *Tovomita* possuem o mesmo padrão de oxigenação, enquanto que Tovoxantona (Tabela 22) reflete evolução por prenilação no anel B e redução da oxigenação em C-3.

Quadro 17 - Oxigenação e desoxigenação evolutiva do anel derivado de acetato (A) em xantonas^a.

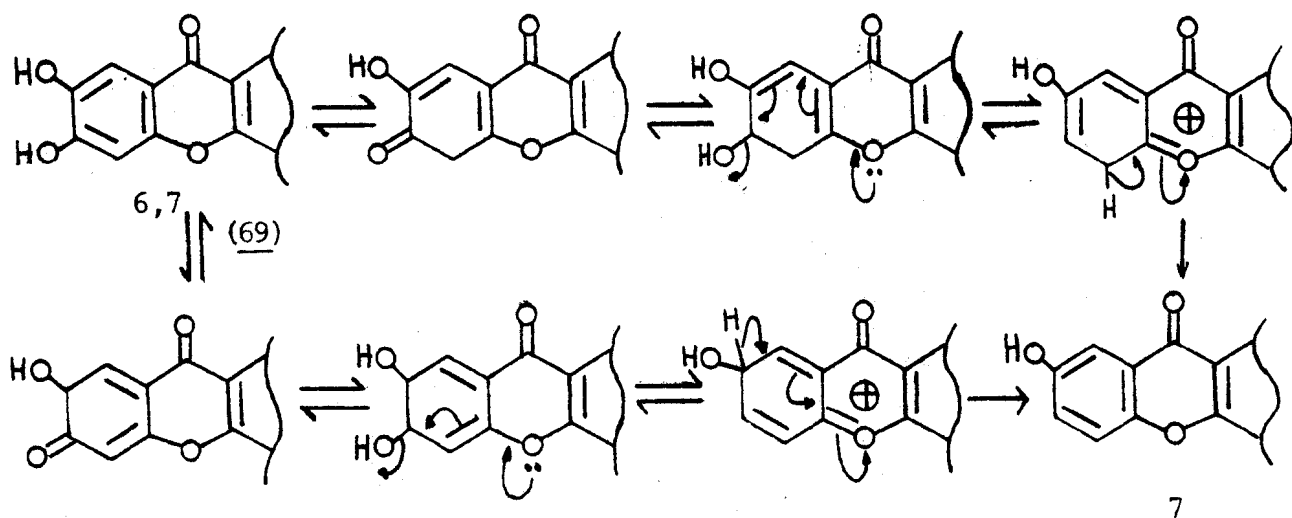
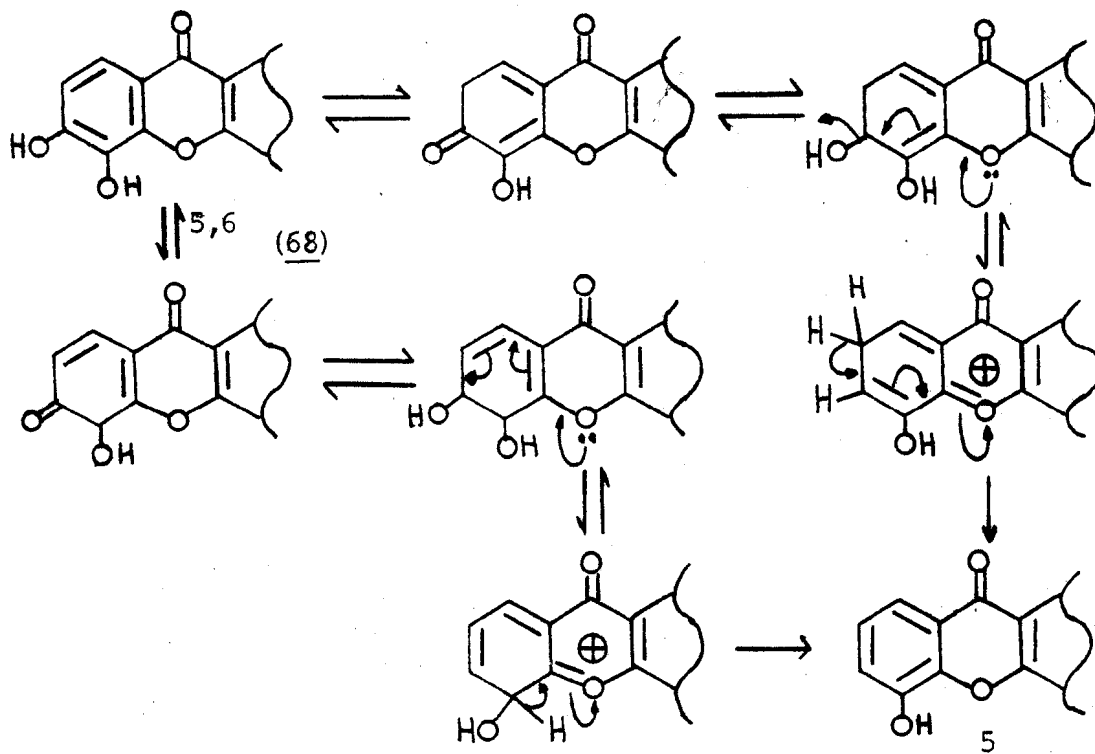


^a Ignorou-se reações de alquilação.

Quadro 18 - Formação de xantonas via benzofenonas.

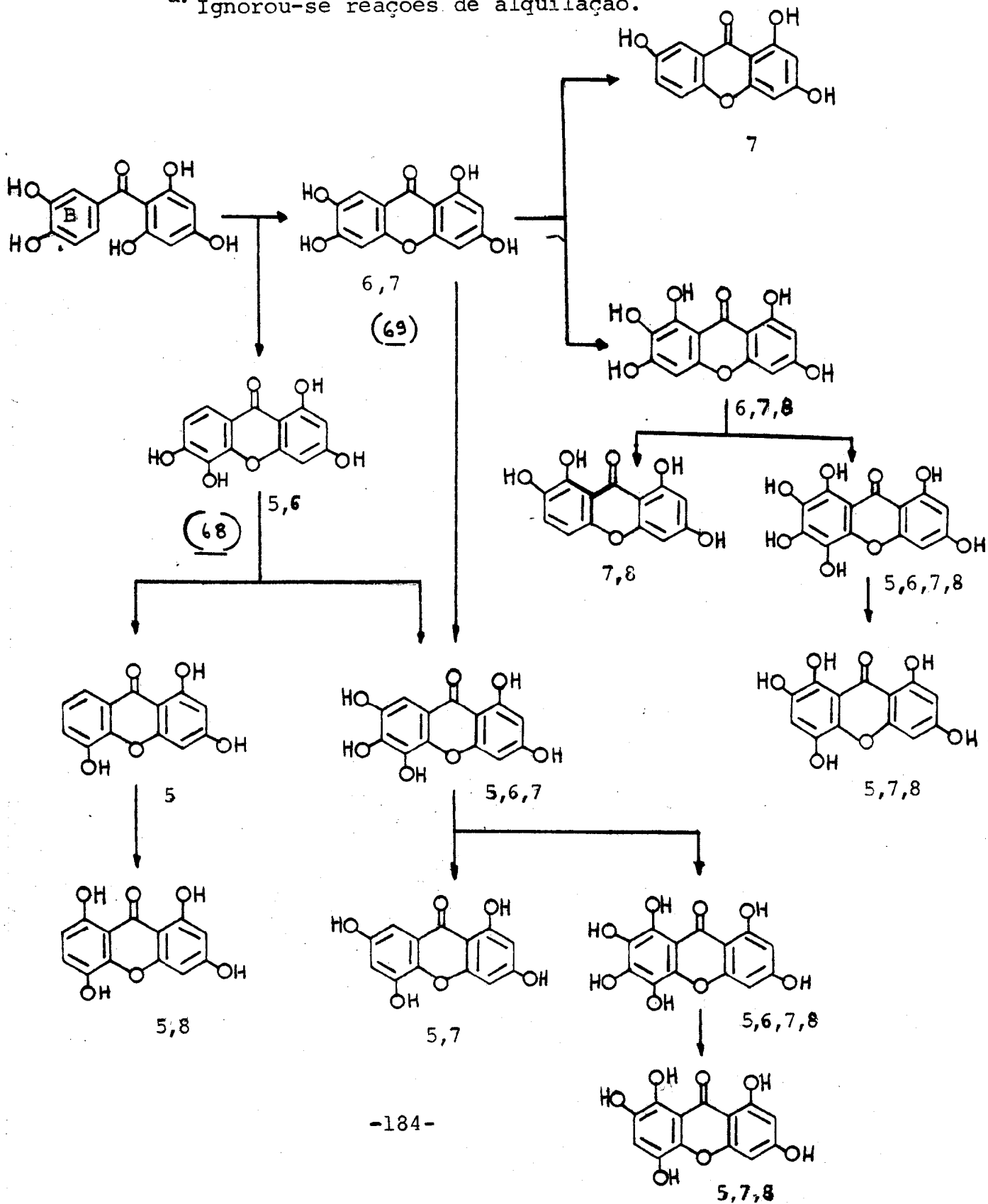


Quadro 19 - Hipótese biogenética para desoxigenação (redução) de substâncias fenólicas, exemplificada pelas conversões de xantonas 5,6- e 6,7-dioxigenadas em 5- e 7-mono - oxigenadas, respectivamente, do anel B derivado de chiquimato.



Quadro 20 - Oxigenação e desoxigenação evolutivas do anel derivado de chiquimato (CB) em xantonas^a.

^a. Ignorou-se reações de alquilação.



Quadro 21 - Provável caminho biossintético de 1,5-dihidroxi-6,7-dimetoxixantona.

Anel A



Anel B

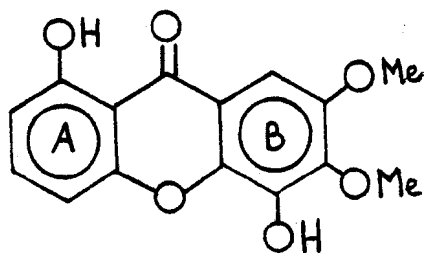
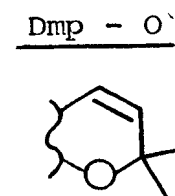
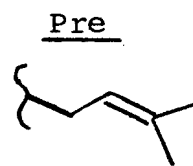
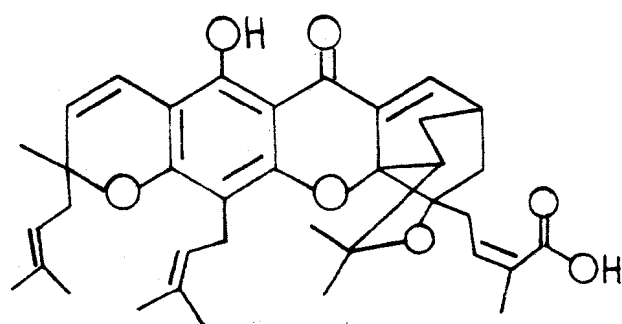
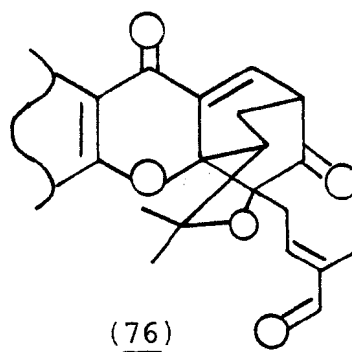
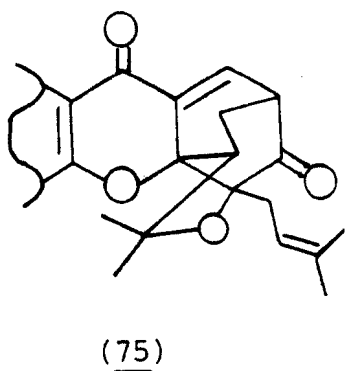
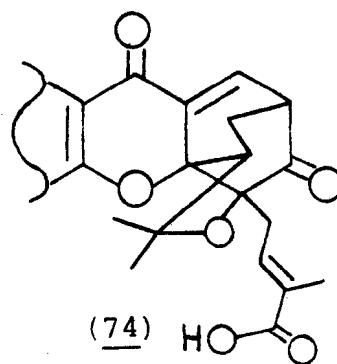
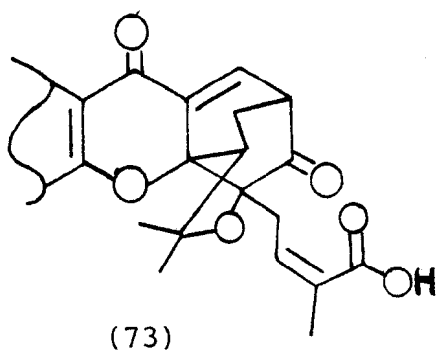
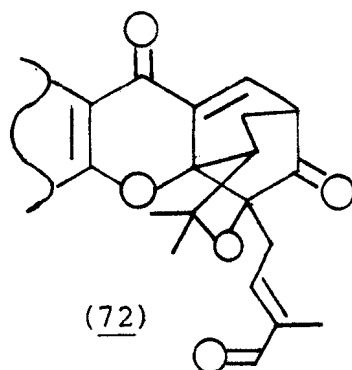
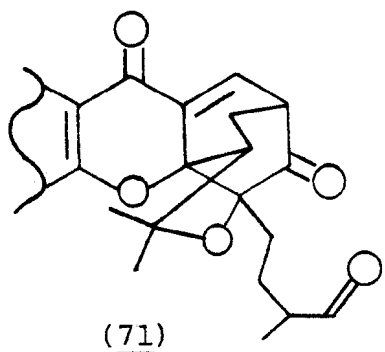


Tabela 22 - Xantonas do gênero Tovomita. Constituição e ocorrência.

Nº	Substituintes do esqueleto ^a								Nome trivial	Família	Espécie
	1	2	3	4	5	6	7	8			
1	OH	OMe	OH		OH				Tovopyrifolina C	Gutt	<u>T. pyrifolium</u>
2	OH		OMe	OMe	OH				Tovopyrifolina B	Gutt	<u>T. pyrifolium</u>
3	OH						OMe				<u>T. choisyana</u>
4	OH	Pre	OH		Pre	OH	O — Dmp		Tovophyllina A	Gutt	<u>T. macrophylla</u> <u>T. pyrofolium</u>
5	OH	Dmp — O			Pre	OH	OMe		Tovopyrifolina A	Gutt	<u>T. pyrifolium</u>
6	OH	Dmp — O			Pre	OH	Dmp — O		Tovophyllina B	Gutt	<u>T. macrophylla</u> <u>T. pyrifolium</u>
7	OH					OH	O — Dmp		Tovoxantona		<u>T. choisyana</u>
8	OH				OH	OMe	OMe				<u>T. brasiliensis</u>

a. Glossario das siglas dos substituintes.





CAPÍTULO V

- RESUMO
- ABSTRACT
- BIBLIOGRAFIA

1. Resumo

Do extrato etanólico do tronco da madeira da Sapotácea nº 250 (INPA) foram isoladas três substâncias, sendo 2 esteróides: sitosterol e 3-O- β -glucosilespinasterol. A estrutura da outra substância não foi determinada devido a pequena quantidade isolada.

Elaboração do extrato benzênico de *Tovomita brasiliensis*, Guttífera, forneceu 7 substâncias. Duas dihidroisocumarinas: 8-hidroxi-3,5-dimetil-3,4-dihidroisocumarina (Tb-6) e 8-hidroxi-5-metoxi-3-metil-3,4-dihidroisocumarina (Tb-1); uma isocumarina: 7-cloro-8-hidroxi-6-metoxi-3-metilisocumarina; uma xantona: 1,5-dihidroxi-6,7-dimetoxixantona (Tb-3); um triterpeno: ácido betulínico (Tb-4); um esterol: sitosterol (Tb-2) e um glicosídeo cuja estrutura não foi definida.

Uma revisão sobre r.m.n.¹³C, serviu de apoio para o estabelecimento da estrutura da xantona.

Métodos cromatográficos foram utilizados no trabalho de isolamento das substâncias. As estruturas foram elucidadas com base na interpretação de dados espectrais das substâncias e de seus derivados, obtidos por acetilação, metilação e hidrólise.

Um estudo biossintese de xantonas serviu para sugerir um caminho biossintético para a xantona isolada de *Tovomita brasiliensis*.

2. Abstract

Three compounds were isolated from the ethanolic extract of the trunk wood of Sapotacea n° 250 -(INPA). Two Steroids: sitosterol and 3-O- β -glycosilspinasterol. The structure of the other compound was not determined because of the small amount - isolated.

The benzenic extract of *Tovomita brasiliensis*, Guttiferae, gave seven compounds. Two dihydroisocumarins: 8-hydroxy-3,5-dimethyl-3,4-dihydroisocumarin (Tb-6) and 8-hydroxy-5-metoxy-3-metil-3,4-dihydroisocumarin (Tb-1); one isocumarin: 7-cloro-8-hidroxy-6-metoxy-3-metilisocumarin (Tb-5); one xanthone: 1,5-dihydroxy-6,7-dimetoxixanthone (Tb-3); one triterpene: betulinic acid (Tb-4); one steroid: sitosterol (Tb-2) and one glycoside. The structures of their glycoside was not elucidated.

A review of the ^{13}C NMR was described and used for the structural determination of 1,5-dihydroxy-6,7-dimetoxixanthone.

The extracts were fractionated by chromtography.

The structures were elucidated on the basis of spectral data and chemical transformations.

A biosynthetic study of xanthenes was useful in onder to suggest a biosynthetic path for the isolated xanthone from *Tovomita brasiliensis*.

3. Bibliografia

- [1] Allinger, N. L., Cava, M. P., Jongh, D. C. de, Johnson, C. R., Bebel, N. A., Stevens, C.L., (1978). Química Organica . Ed. Guanabara Dois.
- [2] Swain, T., trecho da conferência "The Role of Chemistry in Plant Systematics, proferida pelo Prof. V. H. Heywood, durante o Simpósio Internacional da IUPAC, sobre Química em Evolução e Sistemática. Strasbourg (1972). Publicada em Chemistry in Evolution and Systematics. Butterworth & Co., London, 1973.
- [3] Branco, S. M., (1972). Ao Livro Técnico S.A.
- [4] Blunt, W., Stothers, B., (1977), Org. Magn. Resson. 9, 439.
- [5] Carpenter, I., Locksley, H.D., Scheinmann, F., (1969). Phytochemistry 8, 2013.
- [6] Hostettmann, K., Wagner, H., (1977). Phytochemistry 16, 321.
- [7] Bhattacharya, S.K., Ghosal, S., Chaudhuri, R.K., Sanyal, A. K., (1972). J. Pharm. Sci., 57, 1039.
- [8] Ghosal, S., Sharma, P.V., Chaudhuri, R.K., Bhattacharya, S. K., (1975). J. Pharm. Sci., 60, 80.
- [9] Ghosal, S., Chaudhuri, R.K., (1975). J. Pharm. Sci., 60, 888.
- [10] Ghosal, S., Biswas, K., Chaudhuri, R.K., (1978). J. Pharm. Sci., 63,
- [11] Lima, R.A. de, Gottlieb, O.R., Mesquita, A.A.L., (1970). An. Acad. bras. Cien., 42, 133.

- [12] Alvarenga, M.A., Braz Filho, R., Gottlieb, O.R., (1978). Phytochemistry 17, 511.
- [13] Gabriel, S.J., (1972). Tese apresentada à Escola de Pós-Graduação da UFRRJ, para obtenção do grau de M.Sc..
- [14] Gabriel, S.J., Gottlieb, O.R., (1970). An. Acad. bras.Cien., 42, 115 (Supl.).
- [15] Withers, N.W., (1978). Phytochemistry 17, 1987.
- [16] Maciel, G.E., Nattersdad, J.J., (1965). J. Chem. Phys., 42, 2427.
- [17] Nelson, G.L., Levy, G.C., Carcioli, J.D., (1972). J. Amer. Chem. Soc., 94, 3089.
- [18] Stothers, J.B., (1972). ¹³C.N.M.R. Spectroscopy. Academy Press, New York.
- [19] Gottlieb, O.R., (1968). Introdução à Espectroscopia de Resonância Magnética Nuclear Protônica.
- [20] Westerman, P.W., Gunasekera, S.P., Sultanbawa, M.U.S., Kazlanskas, R., (1977). Org. Magn. Reson., vol. 9, 11, 631.
- [21] Marx, M.C., (1979). Métodos Quimiotaxonômicos e sua aplicação em Sistemática Vegetal. Tese apresentada à Escola de Pós-Graduação da USP, para obtenção do grau de D.Sc..
- [22] Birch, A.J., Simpson, T.J., Westerman, P.W., (1975). Tetrahedron Lett., 47, 4173.
- [23] Gunasekera, S.P., Ramachandran, S., Selliah, S., Sultanbawa, M.U.S., (1975). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 2447.

- [24] Chaudhuri, R.K., Zymalkowski, F., Frahm, A.W., (1978). Tetrahedron Lett., 34, 1837.
- [25] Chaudhuri, R.K., Zymalkowski, F., Frahm, A.W., (1978). Tetrahedron Lett., 34, 1837.
- [26] Somanathan, R., Sultanbawa, M.U.S., (1972). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1935.
- [27] Agasimundin, Y.S., Rajagopal, S., (1971). J. Org. Chem., 36, 845.
- [28] Birch, A.J., Baldas, J., Hlubucek, J.R., Simpson, T.J., Westerman, P.W., (1976). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 898.
- [29] Dahanayake, M., Kitagawa, I., Somanathan, R., Sultanbawa, M. U.S., (1974). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 2510.
- [30] Somanathan, R., Sultanbawa, M.U.S., (1974). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 2515.
- [31] Pachler, K.G.R., Steyn, P.S., Vleggaar, R., Wessels, P.L., (1976). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 11, 1182.
- [32] Holker, J.S.E., Lapper, R.D., Simpson, T.J., (1974). J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 18, 2135.
- [33] Aldridge, D.C., Grose, J.F., Turner, W.B., (1966). J. Chem. Soc. (c), 126.
- [34] Eaton, M.A.W., Hytchinson, D.W., (1971). Tetrahedron Lett., 18, 1337.
- [35] Moraes, M.P.L. de (1979). Tese apresentada à Escola de Pós-Graduação da UFRRJ, para obtenção do grau de M.Sc..

- [36] Araújo, H.C., Mahajan, J.R., Gottlieb, O.R., Magalhães, M.T., (1966). An. Ac. bras. Cien., 38, 429.
- [37] (1966). Acta Chem. Scand., 20, 1720.
- [38] Demarco, P.V., Farkas, E., Doddrell, D., Mylary, B. L., Wenkert, E., (1969). J. Am. Chem. Soc., 90:20, 5480.
- [39] Wenkert, E., Baddeleg, G.V., Burfitt, I.R., Moreno, L. N., (1978). Org. Mag. Res., 11, 337.
- [40] Gibbs, H.D., (1927). Phenol Test III. J. of Biol. Chem., 72, 649.
- [41] Madruga, M.I.L., (1976). Tese apresentada à Escola de Pós-Graduação da UFMG, para obtenção do grau de D.Sc..
- [42] Karplus, M., (1963). J. Am. Chem. Soc., 85, 2870.
- [43] (1955). J. Am. Chem. Soc., 5442.
- [44] Lima, R.A., Gottlieb, O.R., (1972). Phytochemistry 11, 2307.
- [45] Mesquita, A.A.L., Corrêa, D.B., Gottlieb, O.R., Magalhães, M.T., (1968). Anal. Chim. Acta, 42, 311.
- [46] Mesquita, A.A.L., Corrêa, D.B., Gottlieb, O.R., Magalhães, M.T., (1968). An. Acad. bras. Cien., 40, 167.
- [47] Rezende, C.M.A., (1972). Tese apresentada à Escola de Pós-Graduação da USP, para obtenção do grau de M.Sc..