

ESTUDO QUÍMICO DE
PLATONIA INSIGNIS,
TOVOMITA CHOISYANA
E
STREPTOMYCES CAPOANDS

TESE

apresentada à Escola de Pós-Graduação da
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
para o grau de Magister Scientiarum

SÔNIA JORGE GABRIEL

Novembro 1972

O trabalho apresentado nesta tese
foi realizado sob a orientação
dos Professores ALAIDE BRAGA DE
OLIVEIRA E OTTO RICHARD GOTTLIEB.

"Ainda que as montanhas se movam
e as colinas sejam removidas,
meu amor não se afastará de ti".

Isaias, cap. 54, vers. 10

À minha mãe e à memória
de meu pai.

AGRADECIMENTOS

A autora deixa expresso seus sinceros agradecimen
tos

ao Conselho Nacional de Pesquisas e à Universida
de Federal de Pernambuco por bolsas de pós-graduação concedi
das;

ao Prof. Dr. Fausto Aita Gai, Reitor da Universi
dade Federal Rural do Rio de Janeiro pelo incentivo que sem-
pre tem oferecido a este ramo de pesquisa;

ao Prof. Dr. Romeu Bôto da Universidade Federal
de Pernambuco pelo interesse e apôio durante sua formação
pós-graduada;

à colega e amiga Ceres Maria Andrade da Mata
Rezende, cujo apôio possibilitou a conclusão desta tese.

SUMÁRIO

PRÓLOGO	1
<u>CAPÍTULO I</u>	
Estudo químico da <u>Platonia insignis</u>	
1. Introdução	13
2. Determinação estrutural	14
3. Parte experimental	18
4. Espectros	21
5. Resumo	31
6. Bibliografia	32
<u>CAPÍTULO II</u>	
Estudo químico da <u>Tovomita choisyana</u>	
1. Introdução	34
2. Determinação estrutural	35
3. Sínteses de Piranoxantonas	44
4. Parte experimental	50
5. Espectros	60
6. Resumo	77
7. Bibliografia	78

CAPÍTULO III

Estudo químico de Streptomyces capreolus

1. Introdução	80
2. Identificação de Ciclacidina e Ciclamicina	83
3. Parte experimental	87
4. Espectros	90
5. Resumo	93
6. Bibliografia	94
NOTAS	95

PRÓLOGO

A ampla gama de metabólitos secundários, produzida por plantas e fungos, sempre foi e continua sendo assunto de grande interesse para o Químico Orgânico. Muitos deles se revelaram antibióticos e medicamentos de inestimável valor para a humanidade, e todos formam um rico manancial de moléculas para estudos estruturais e estereoquímicos. Mais recentemente, após um século de hipóteses sucessivas, foi a biossíntese de muitos destes metabólitos posta em bases experimentais. Já antes disto, no entanto, despertaram a atenção de cientistas interessados em estruturas moleculares. Comparação das estruturas tem mostrado certas regularidades, as quais sugerem uma origem comum para os produtos naturais. Assim, frequentemente, unidades estruturais podem ser postas em relação com um metabólito primário, e por intermédio desta técnica de análise estrutural comparativa, várias teorias tem sido formuladas acerca da origem de muitos metabólitos secundários.

Há mais de meio século, Collie (1) preparou ácido dehidroacético e mostrou, em laboratório, que é possível convertê-lo em compostos aromáticos. As reações efetuadas

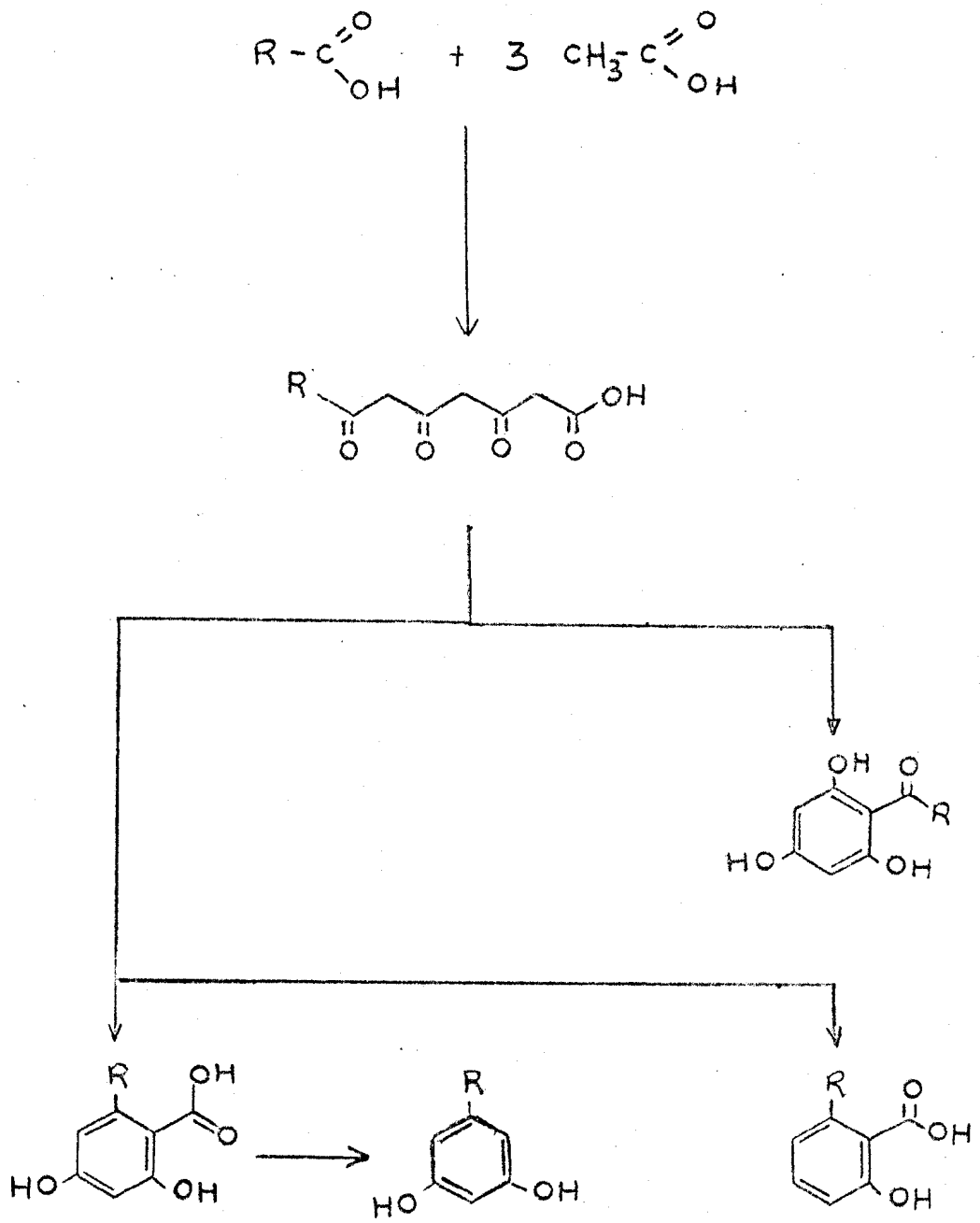
sugeriram a Collie, que compostos aromáticos possam ser formados, em plantas, pela condensação de unidades acetato. Em trabalho independente, Birch e Donovan (2), 50 anos mais tarde, exploraram esta hipótese e indicaram que muitos produtos naturais contendo os núcleos do orcinol e do floroglucinol poderiam ter se originado por este caminho (Figura 1). Reações como C-metilações e isoprenilações podem ocorrer adicionalmente, e, com estes postulados, é possível explicar a origem de uma pleiade de compostos naturais fenólicos. Esta hipótese foi comprovada, experimentalmente, por Lynen (3). Sa-be-se, assim, hoje, que os núcleos fenólicos da grande maioria dos metabólitos secundários de fungos são formados pelo encadeiamento de acetil-CoA (iniciador de cadeia) e de malonil-CoA, produto de carboxilação do ácido acético (continua-dor de cadeia), por modificações adequadas do processo de síntese dos ácidos graxos.

Análises estruturais de antraquinonas fenólicas naturais sugerem que elas podem ser formadas pela condensação de unidades acetato, ocorrendo, em adição a ciclização, reações de descarboxilação, redução e oxidação.

A antraquinona mais simples conhecida, formada por este caminho, é a endocrocina, encontrada em Helminthosporium graminium (4). Gatenbeck (5) estudou a biossíntese de antraquinonas de Penicillium islandicum e verificou que islandicina e emodina podem ser formadas pelo mesmo caminho (Figura 2).

Ollis e Sutherland (6) mostraram que antraciclino-nas se formam na célula de Streptomyces pelo encadeiamento

Figura 1



cabeça-cauda de unidades acetato.

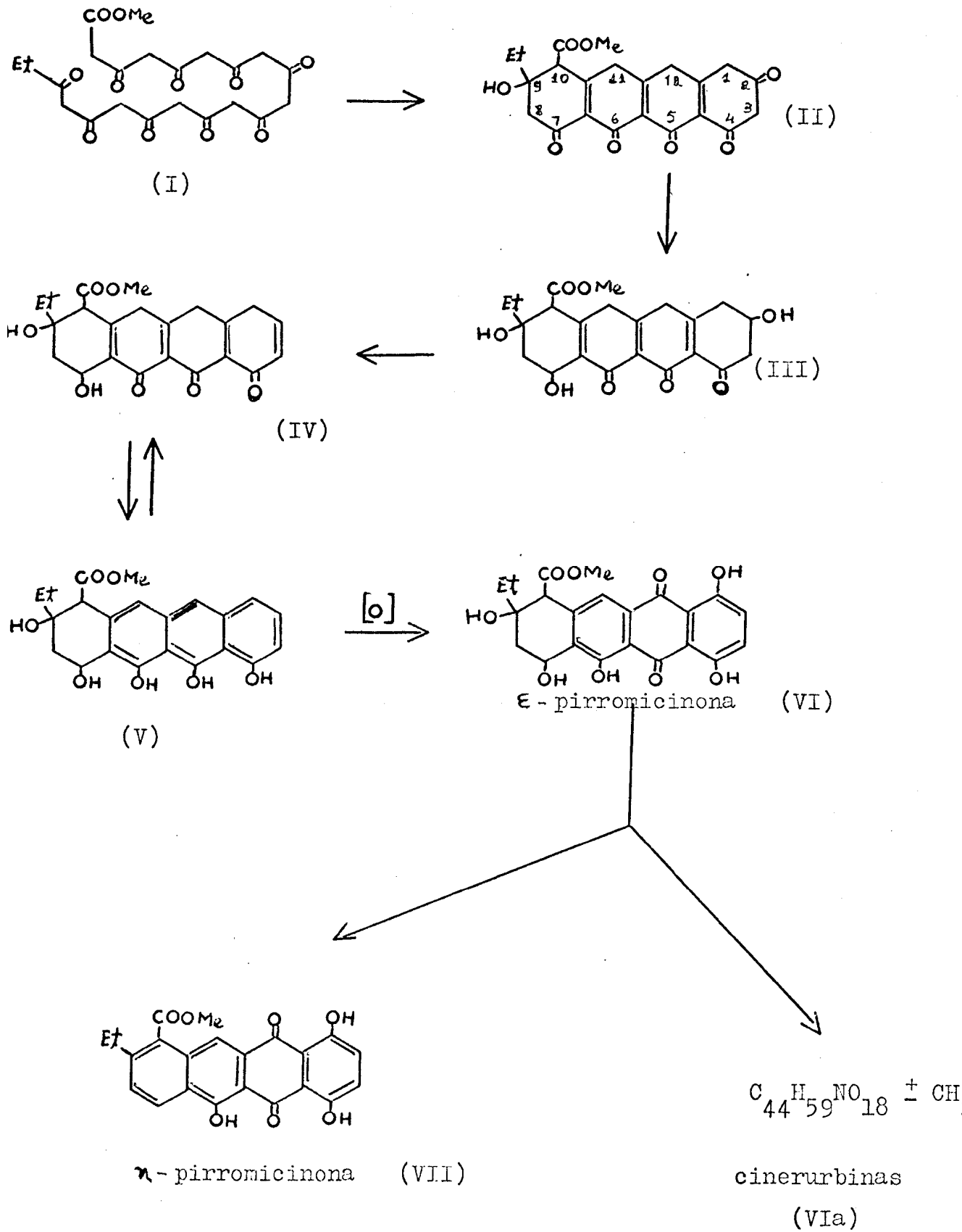
Assim podemos afirmar (9) que a biogênese das antraciclínicas η -pirromicinona, ξ -pirromicinona e cinerurbinas, isoladas no decurso do presente trabalho de Streptomyces capomus, envolve inicialmente o encadeamento cabeça-cauda de propionato (iniciador de cadeia) com 9 unidades acetato (continuador de cadeia), resultando uma policetona (I, Figura 3), que, por condensação das carbonilas com os grupos metilênicos reativos, formará um produto tetracíclico intermediário (II). Posteriores redução e desidratação de (II) darão lugar, respectivamente, a (III) e a (IV). Enolização de (IV) resultará em (V), que por oxidação fornecerá a ξ -pirromicinona (VI). A ξ -pirromicinona (VI), por um lado pode perder duas moléculas de água resultando a η -pirromicinona (VII), e por outro pode sofrer glicosilação fornecendo as cinerurbinas (VIIa).

Em contraste, a biossíntese de constituintes fenólicos de plantas superiores pode envolver, adicionalmente, o metabolismo do ácido chiquímico, levando aos amino-ácidos aromáticos fenilalanina e tirosina.

Os amino-ácidos sofrem dois tipos de reações: descarboxilação, acarretando a produção de alcalóides, e remoção de amônia, dando ácidos cinâmico ou p-cumárico. Estes ácidos (iniciadores de cadeia) encadeiam com unidades acetato (continuadores de cadeia) e levam, frequentemente, a compostos que contém dois núcleos aromáticos em sua estrutura.

O maior número de xantonas, isoladas de plantas

Figura 3



superiores, possui o padrão de oxigenação 1,3,6,7 (VIII), razão porque o caminho biossintético misto, envolvendo chiquimato e acetato, uma versão hipotética da qual consta a Figura 4, deve ser responsável por sua gênese.

A veracidade das linhas gerais desta teoria foi averiguada experimentalmente no caso dos rhizomas de Gentiana lutea (7) que contém gentiseína . Incubação da planta em solução aquosa contendo precursores radioativos mostraram que acetato marcado com ^{14}C é incorporado no anel A e fenilalanina marcada com ^{14}C é incorporada no anel B desta substância.

Em consequência deste trabalho, e de experiências de Atkinson, Gupta e Lewis (8), que conseguiram ciclizar benzofenonas enzimaticamente, temos uma idéia muito clara sobre os fenômenos que devem ocorrer durante a biogênese das xantonas isoladas, por ocasião do presente trabalho, de Platonia insignis e Tovomita choisyana: 1,7-dihidroxi-xantona, 1,6,7-trihidroxi-xantona, 7-O-glicosil-1,6-dihidroxi-xantona, 1-hidroxi-7-metoxi-xantona e tovoxantona.

Assim, a 1,6,7-trihidroxi-xantona (IX) deve resultar de 1,3,6,7-tetrahidroxi-xantona (VIII) por redução do grupo hidroxila na posição 3 (Figura 5). Também no laboratório redução seletiva desta posição é obtida com facilidade (10). A posição 6 é quimicamente equivalente à posição 3, razão porque é razoável postular como passo seguinte da nossa sequência outra redução, levando agora a 1,7-dihidroxi-xantona (X), que metilada, possivelmente por metionina, fornece a 1-hidroxi-7-metoxi-xantona (XI). Por outro lado a 1,6,7-

Figura 4

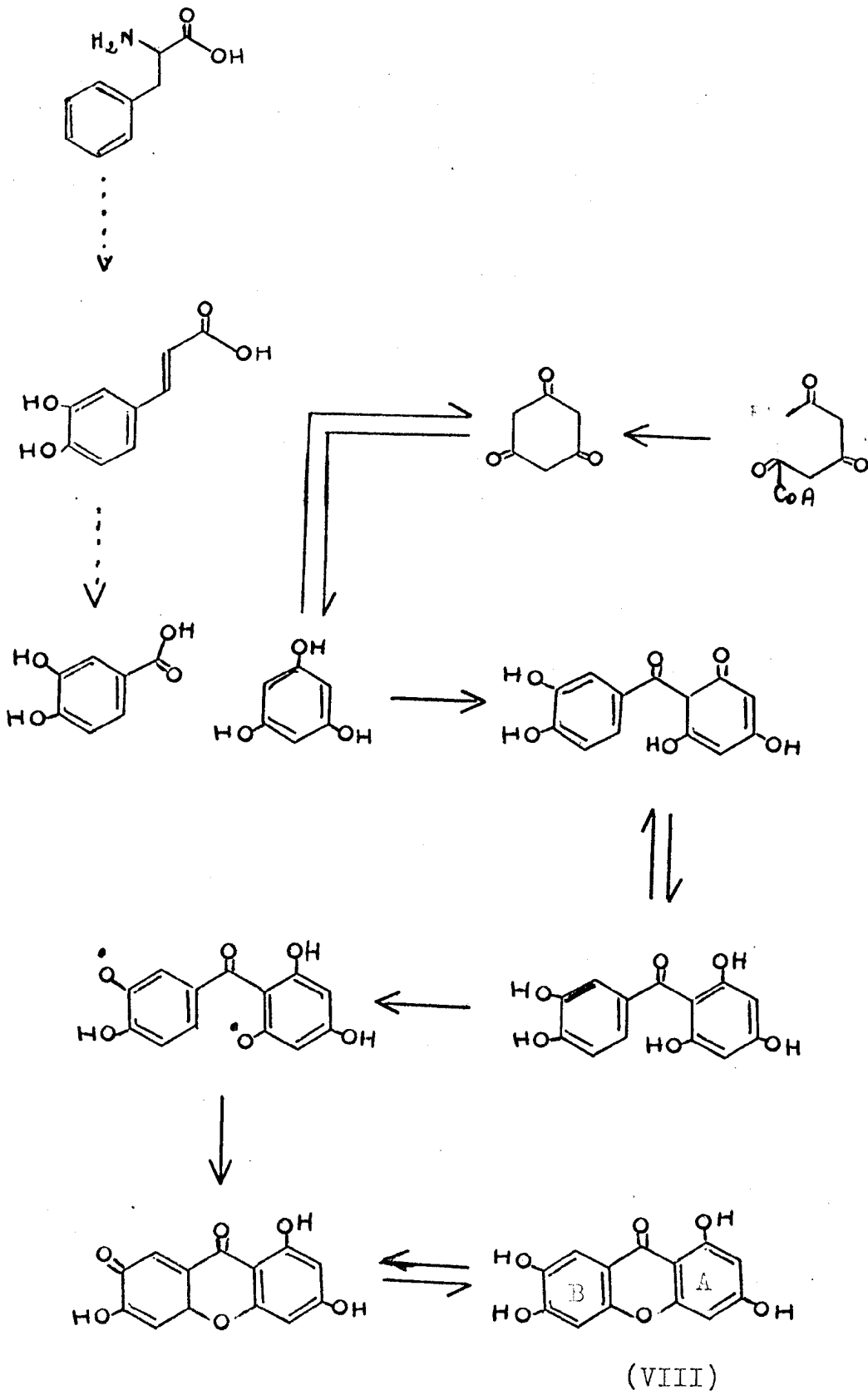
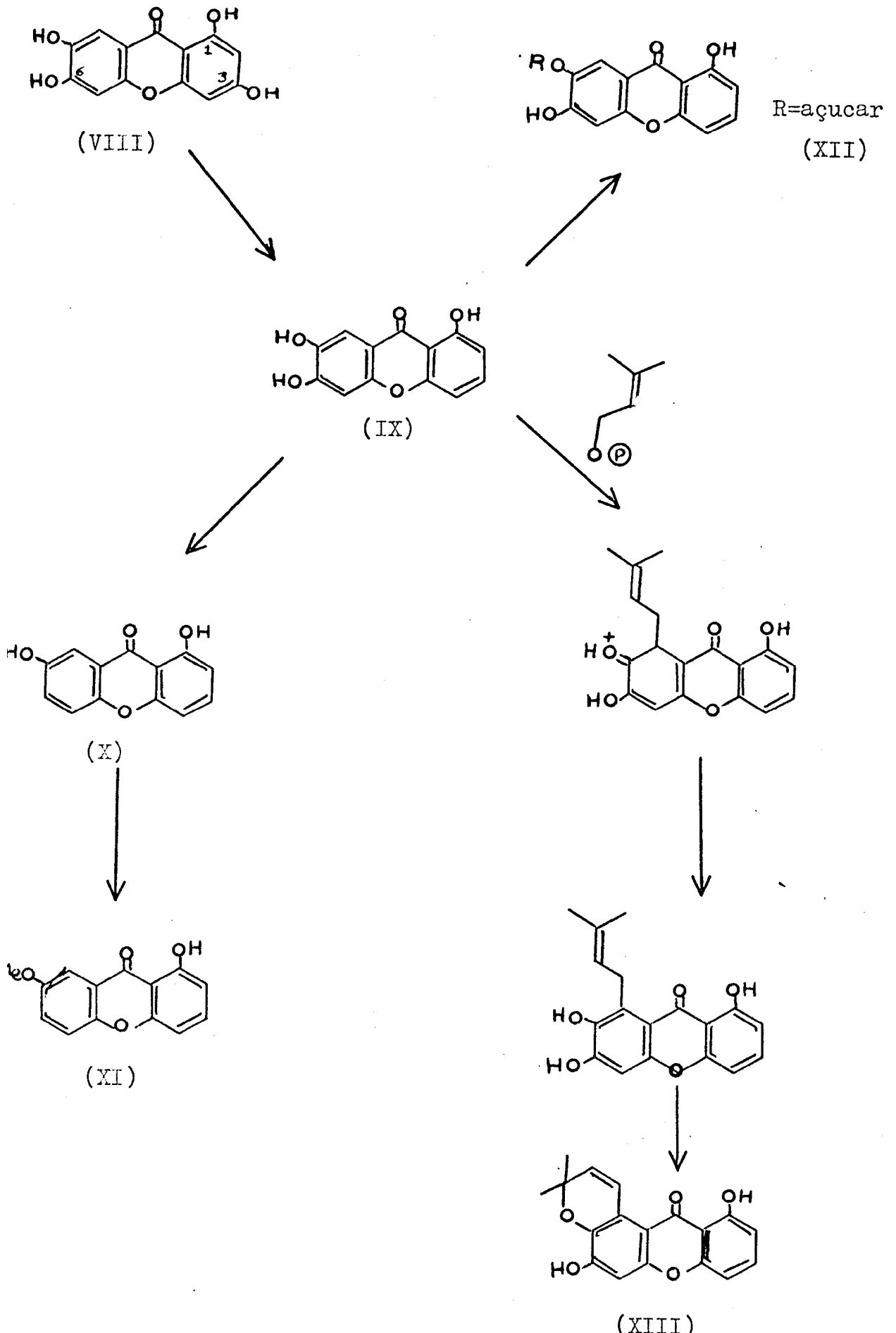


Figura 5



-trihidroxixantona (IX) sofre uma O-glicosilação fornecendo a 7-O-glicosil-1,6-dihidroxixantona (XII). Prenilação de 1,6,7-trihidroxixantona (IX) e posterior ciclização oxidativa daria finalmente a tovoxantona (XIII).

BIBLIOGRAFIA

- (1) J.W.Collie, J. Chem. Soc., 91, 1806 (1907).
- (2) A.J.Birch e F.W.Donovan, Aust. J. Chem., 6, 360 (1953).
- (3) F.Lynen, Fed. Proc., 20, 941 (1961).
- (4) A.J.Birch, A.J.Ryan e H.Smith, J. Chem. Soc., 4773 (1958).
- (5) S.Catenbeck, Acta Chem. Scand., 12, 1211 (1958).
- (6) W.D.Ollis, E.O.Sutherland, R.C.Codner, J.J.Gordon e G.A.Miller, Proc. Chem. Soc., 347 (1960).
- (7) H.G.Floss e A.Rettig, Z. Naturforsch., 19B, 1103 (1964).
- (8) J.E.Atkinson, P.C Gupta e J.R.Lewis, Chem. Comm., 1386 (1968).
- (9) H.Brockmann, in "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products", editado por L.Zechmeister, vol. XXI, p. 121, Springer Verlag, Wien (1963).
- (10) A.C.Jain, O.P.Mittal e T.R.Seshadri, J. Sci. Ind. Res. (India), 12B, 647 (1953).

CAPÍTULO I

Estudo químico da Platonia insignis

INTRODUÇÃO

Platonia insignis Mart., o bacuri do Pará, é, sem dúvida, a gutífera mais conhecida da Amazônia Brasileira.

A cor intensa, amarela, da madeira do tronco desta árvore é devida ao alto teor em euxantona, substância que foi isolada, no início do século, por Nierenstein na Inglaterra (1).

Os trabalhos do nosso grupo indicaram que nos troncos de gutíferas xantonas, usualmente, ocorrem acompanhadas por vários representantes desta classe de substâncias. Por esta razão, o nosso saudoso colega Mauri Teixeira de Melo havia retomado o estudo da planta. O extrato bruto da madeira do tronco da Platonia insignis, por ele obtido, foi agora minuciosamente analisado por mim. De fato, este extrato mostrou conter ao lado de euxantona (Pi-1s), duas substâncias adicionais que receberam as siglas Pi-2s e Pi-3s.

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES

1,7-Dihidroxixantona (Pi-1s)

O p.f. 239° dos cristais amarelos da Pi-1s sugeriu, imediatamente, tratar-se de xantona (X), substância que já havia sido isolada nesta planta (4). Comparação com uma amostra autêntica gentilmente cedida pelo Prof. Dr. A.Lins Mesquita da Universidade Federal de Minas Gerais, de fato, identificou Pi-1s com a 1,7-dihidroxixantona.

1,6,7-Trihidroxixantona (Pi-2s)

Espectrometria de massa (Figura 6) e análise funcional sugeriram para Pi-2s a fórmula $C_{13}H_5O_2(OH)_3$. Espectrometria no ultravioleta (Figuras 8, 9 e 10) mostrou o caráter xantônico da substância, confirmando, ainda, a sua natureza fenólica (NaOH deslocou os máximos de absorção). Além disso, quando a solução alcalina foi neutralizada com HCl, a curva espectral resultante não foi superponível àquela em meio neutro, sugerindo a presença de um sistema orto- ou para-hidroxilado (2). A existência de um sistema orto-dihidroxixantônico foi confirmada (H_3BO_3 , em meio alcalino, deslocou os máximos). Cloreto de alumínio também causou deslo-

camento batocromico dos máximos de absorção, sugerindo a existência de uma hidroxila em orto à carbonila. O espectro de ressonância magnética protônica (Figura 11) indicou, através de duas bandas simples (τ 2.41 e 3.03), a existência de dois prótons aromáticos, ambos vicinais a substituintes em orto e meta (3). Este dado, tomado em conjunto com os anteriores, permitiu formular Pi-2s apenas como 1,6,7-trihidroxi xantona (IX). Comparação com uma amostra autêntica, gentilmente cedida pelo Prof. Dr. F. Scheinmann, University of Salford, Inglaterra, confirmou a identificação.

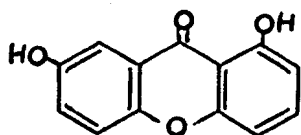
7-O-Glicosil-1,6-dihidroxi xantona (Pi-3s)

A Pi-3s apresentou-se como cristais amarelos, solúveis em água, que aquecidos até 300° se decompueram, sem fundir.

Espectrometria no ultravioleta (Figuras 12, 13 e 14) revelou a semelhança da substância com a Pi-2s. Assim, foi possível verificar a existência de um sistema orto-hidro xicarbonílico (2) ($AlCl_3$ deslocou os máximos de absorção e adição adicional de HCl não regenerou a curva espectral obtida em meio isento de aditivo). Em oposição, no entanto, a presença de um sistema orto-dihidroxi não pôde ser constatada (H_3BO_3 não deslocou os máximos de absorção). O conjunto desses dados nos sugeriu a possibilidade de estarmos em presença de um O-glicosil-derivado da Pi-2s (XII). De fato, hidrólise em meio ácido da Pi-3s, cindiu-a em 1,6,7-trihidroxi xantona (IX) e um açúcar, cuja estrutura não foi possível de

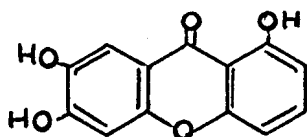
terminar por causa da pequena quantidade de material.

A localização do açúcar na Pi-3s resultou de duas observações. Uma, a ausência de um sistema orto-dihidroxi, já foi referida. Outra se refere à existência de uma hidroxila relativamente ácida na substância (NaOAc produz deslocamento batocrômico dos máximos). A hidroxila em C-6, assim, estando livre, é a hidroxila em C-7 que se encontra substituída pelo açúcar.



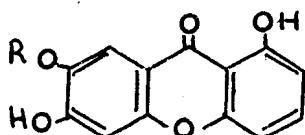
Euxantona (Pi-1s)

(X)



1,6,7-trihydroxixantona (Pi-2s)

(IX)



7-O-glicosil-1,6-dihydroxixantona (Pi-3s)

(XII)

PARTE EXPERIMENTAL

Isolamento dos constituintes da Platonia insignis

A madeira (4.0 kg) do tronco da Platonia insignis foi moída e extraída com benzeno. O extrato benzênico, concentrado a vácuo, apresentou aspecto resinoso. Este material resinoso (10 g) foi fracionado por meio de uma coluna filtraute de sílica gel (300 g), utilizando clorofórmio como eluente. Durante a eluição, com este solvente, isolamos apenas um material cristalino (5 g) de cor amarela, que foi denominado Pi-1s. Em seguida, lavamos a coluna com metanol. A solução foi evaporada a vácuo. O resíduo (2 g) mostrou aspecto resinoso e foi extraído a quente, com clorofórmio. A parte solúvel, após evaporação do solvente, rendeu cristais amarelos (200 g), que foram denominados Pi-2s. A parte insolúvel em clorofórmio foi dissolvida em éter e extraída com uma solução aquosa, concentrada, de borax. Após a separação e neutralização (HCl) da camada aquosa, esta foi extraída com éter. A camada etérea, seca com Na_2SO_4 , foi evaporada, e forneceu cristais amarelos (130 mg). Estes cristais mostraram solubilidade em água e receberam a sigla Pi-3s.

1,7-Dihidroxixantona (Pi-1s)

Cristais amarelos, p.f. 236-238° (metanol).

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3310, 2910, 1635, 1605, 1580, 1480, 1360, 1320, 1295, 1240, 1205, 1165, 1155, 1110, 1075, 1065, 995, 835, 815, 775, 765, 725, 700, 640.

1,6,7-Trihidroxixantona (Pi-2s)

Cristais amarelos, p.f. 278-280° dec. (metanol).

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3370, 2900, 1640, 1630, 1600, 1510, 1480, 1380, 1290, 1240, 1220, 1119, 1160, 1045, 840, 810, 760, 710.

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 203, 229, 242, 253 inf., 272 inf., 295, 380

(ϵ 20000, 33680, 28060, 23180, 10250, 7080, 20500);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 242, 282, 315 inf. (ϵ 27570, 7320, 5610);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm): 205, 220, 251, 270 inf., 295, 318

inf., 375 (ϵ 20500, 2440, 28790, 12440, 7810, 10980, 11960);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 207, 230, 257, 281, 337 (ϵ 20250, 31970,

24160, 14400, 13180); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}}$ (nm): 231, 242, 268 inf.

295 inf., 383 (ϵ 35870, 30750, 11710, 6350, 25620);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3}$ (nm): 227, 253, 298, 325, 380 (ϵ 26600,

31230, 10980, 12200, 16350). RMP ($\text{CD}_3\text{-CO-CD}_3$, ϵ): 2.40 (t,

J 8.0 Hz, H-3), 2.42 (s, H-8), 3.03 (s, H-5), 3.09 (d,

J 8.0 Hz, H-4), 3.17 (d, J 8.0 Hz, H-2). EM: M 244 (100%),
m/e (%) 228 (5), 216 (48), 198 (5), 187 (48), 170 (9), 160
(17), 147 (13), 122 (24), 114 (32), 108 (64), 69 (40), 63
(61), 51 (60), 39 (44).

7-O-Glicosil-1,6-dihidroxi-xantona (Pi-3s)

Cristais amarelos, a 300° decompõe sem fundir.

$\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3260, 2930, 2860, 1710, 1640, 1500, 1510, 1460,
1370, 1290, 1240, 1170, 1120, 1080, 1055, 1025, 970, 840,

815. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 230, 260, 300 (A 0.99, 0.46, 0.63);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 227, 242, 268 inf., 334 (A 0.7, 0.63,

0.26, 0.75); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}}$ (nm): 240, 340 (A 0.77, 0.69);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc} + \text{H}_2\text{SO}_4}$ (nm): 240, 262, 300 (A 0.71, 0.42,

0.56); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 230, 271, 294 inf., 318 (A 1.02,

0.38, 0.41, 0.57); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3 + \text{HCl}}$ (nm): 230, 267, 285,

318 (A 1.02, 0.34, 0.4, 0.63). EM: m/e (%) 447 (100), 438

(3), 429 (1), 420 (1), 412 (1), 370 (1), 352 (3), 341 (1),

323 (1), 278 (3), 260 (5), 231 (4), 223.5 (1), 168 (12), 141

(15), 115 (10), 94 (10), 77 (18).

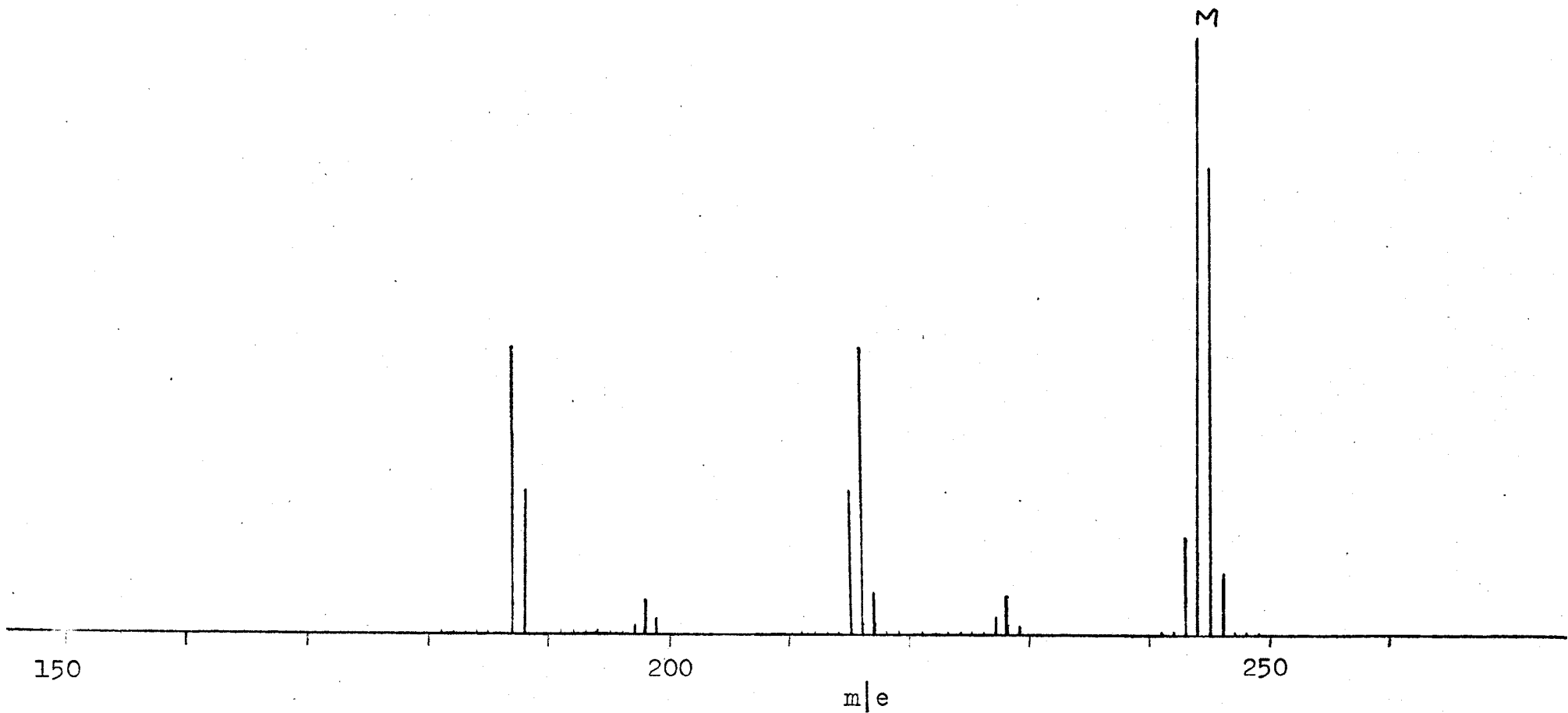


Figura 6

Espectro de massa da 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s)

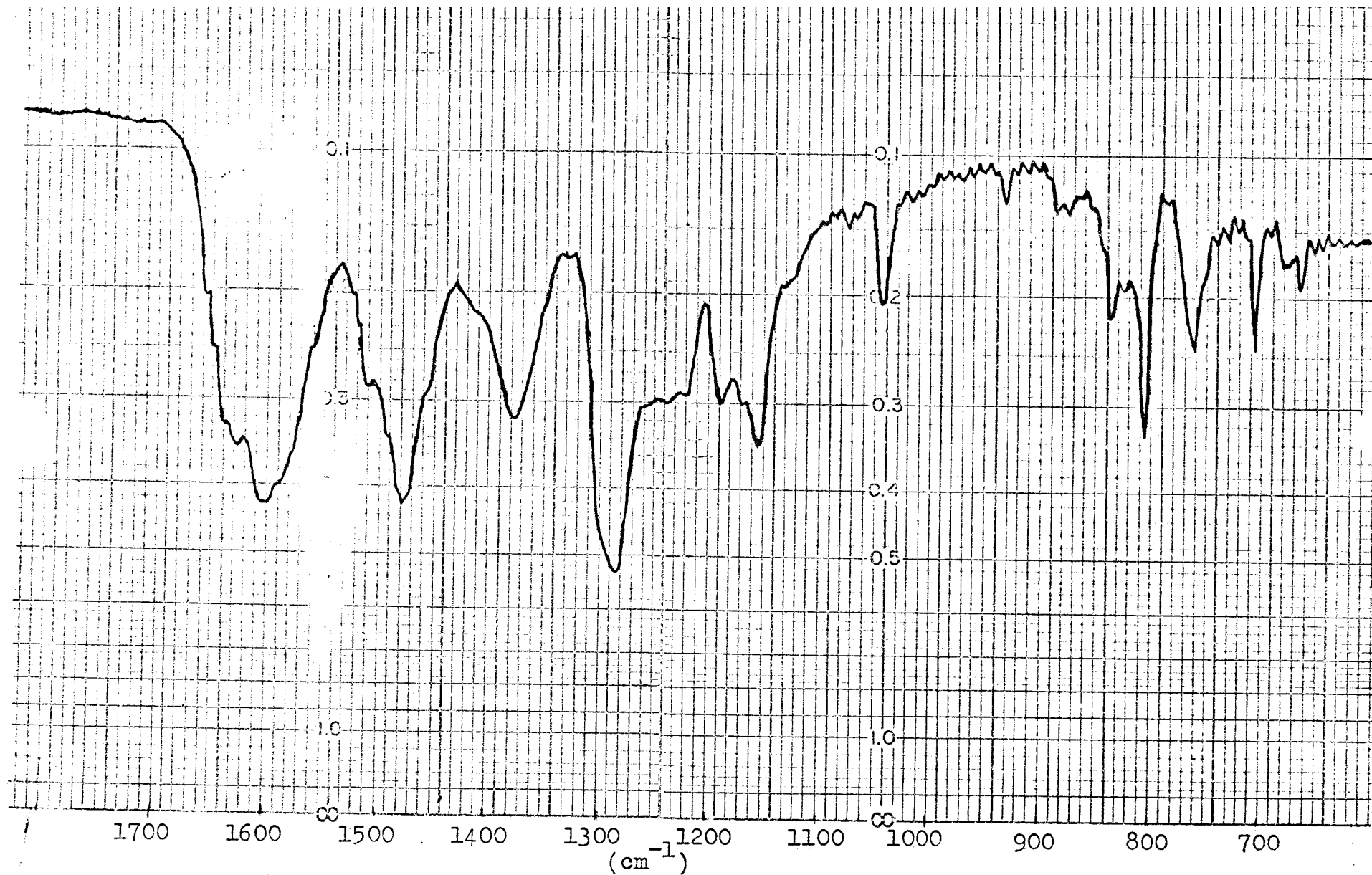


Figura 7

Espectro IV da 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s)

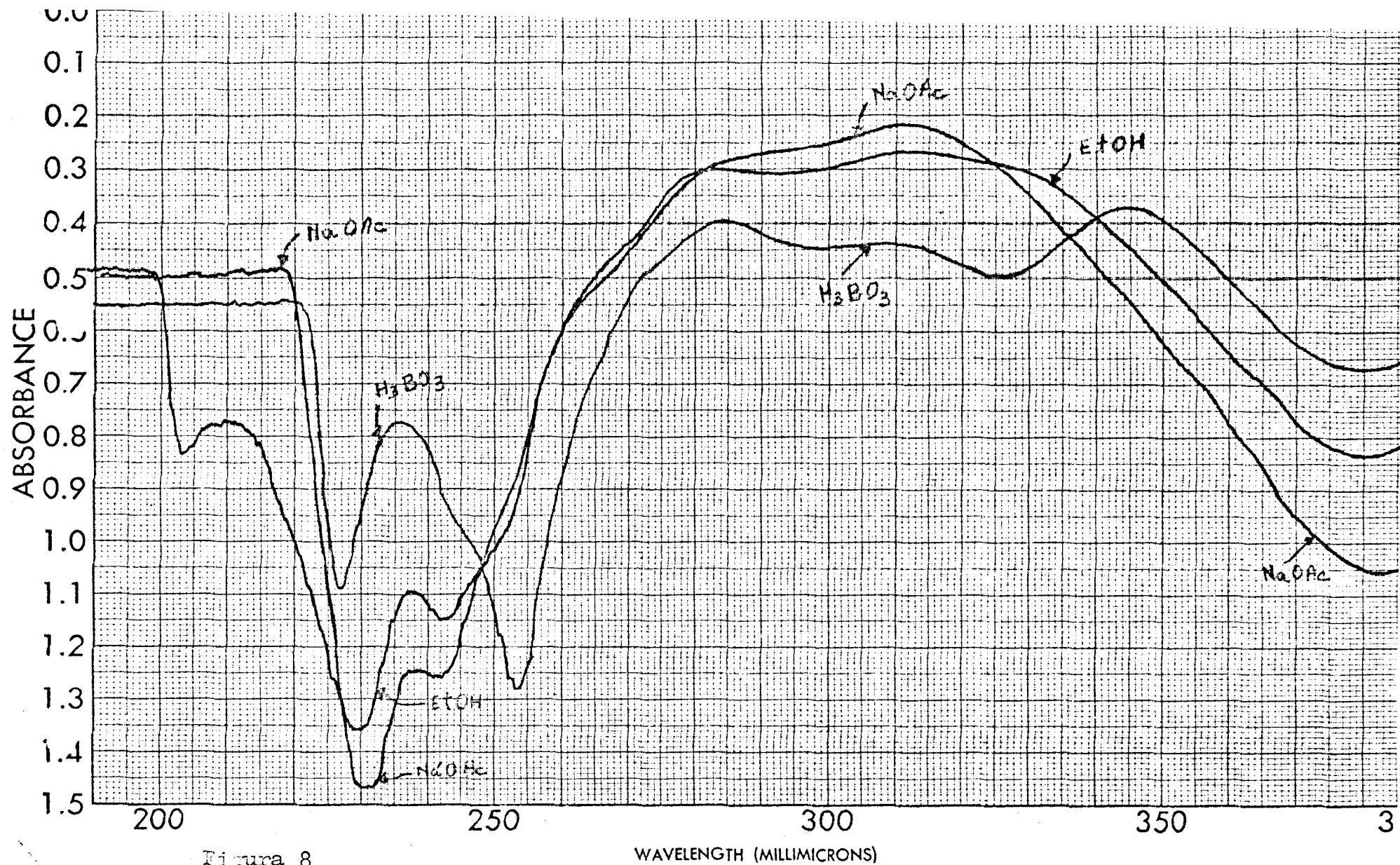


Figura 8

Espectro UV da 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s)

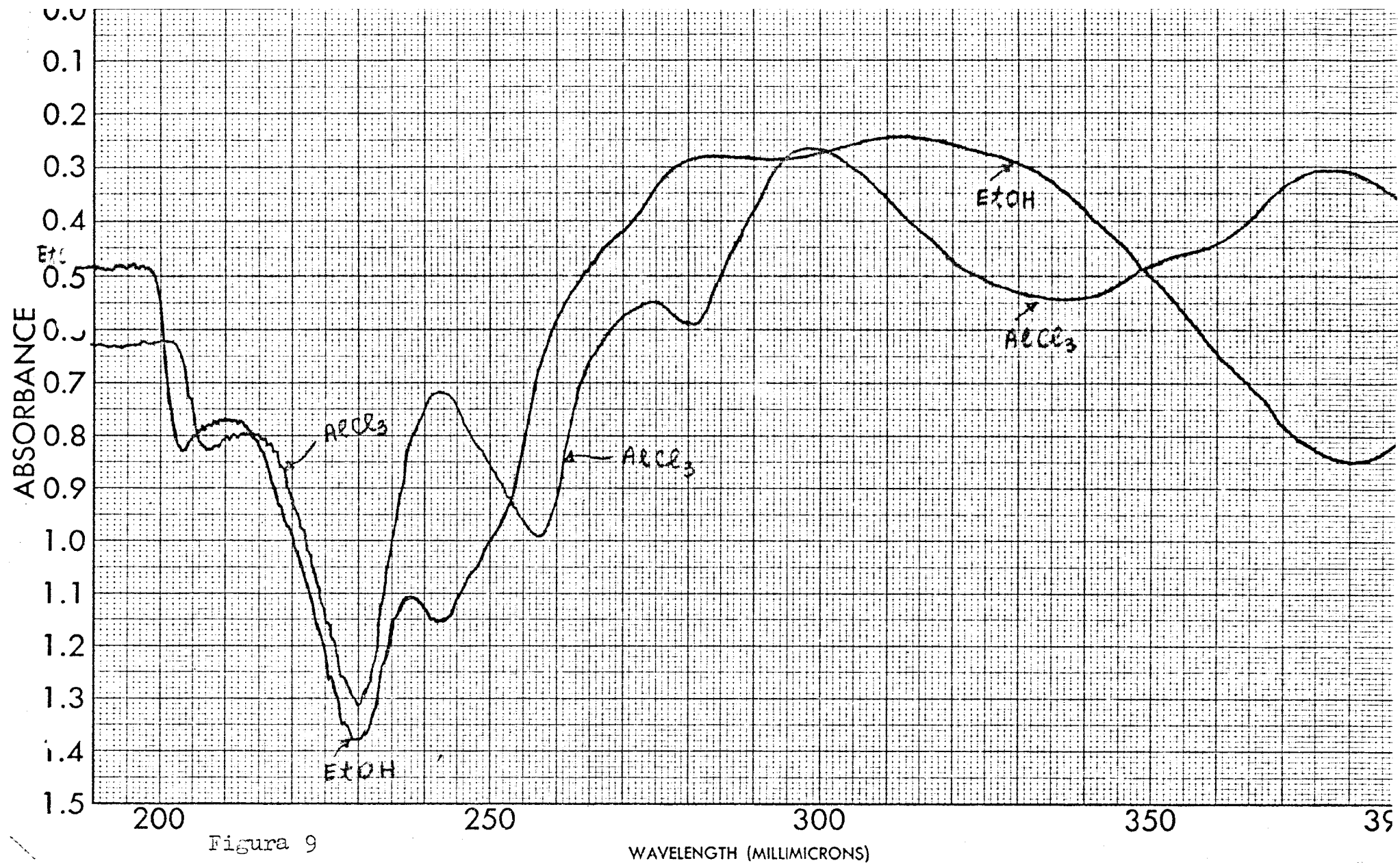


Figura 9

Espectro UV da 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s)

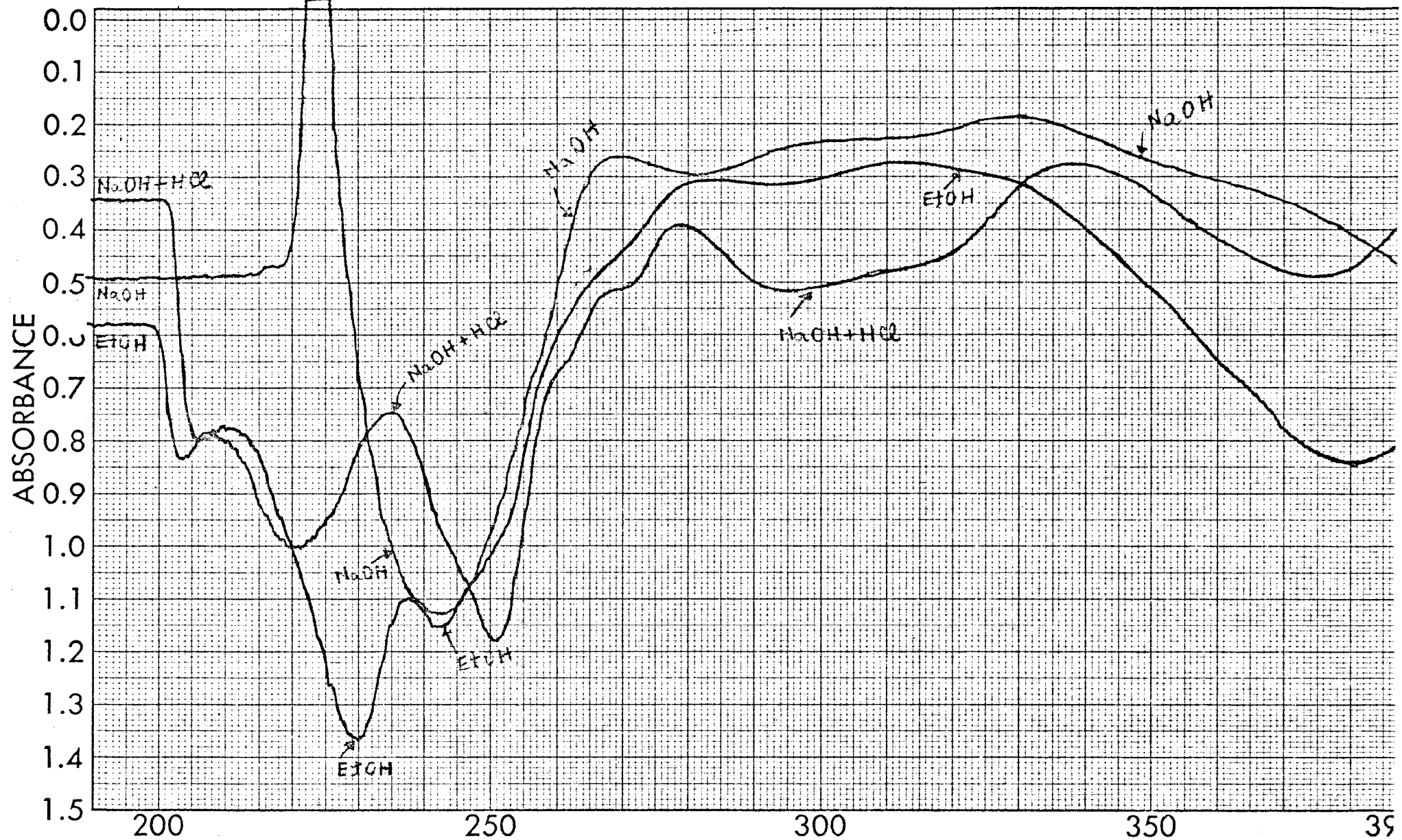


Figura 10

Espectro UV da 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s)

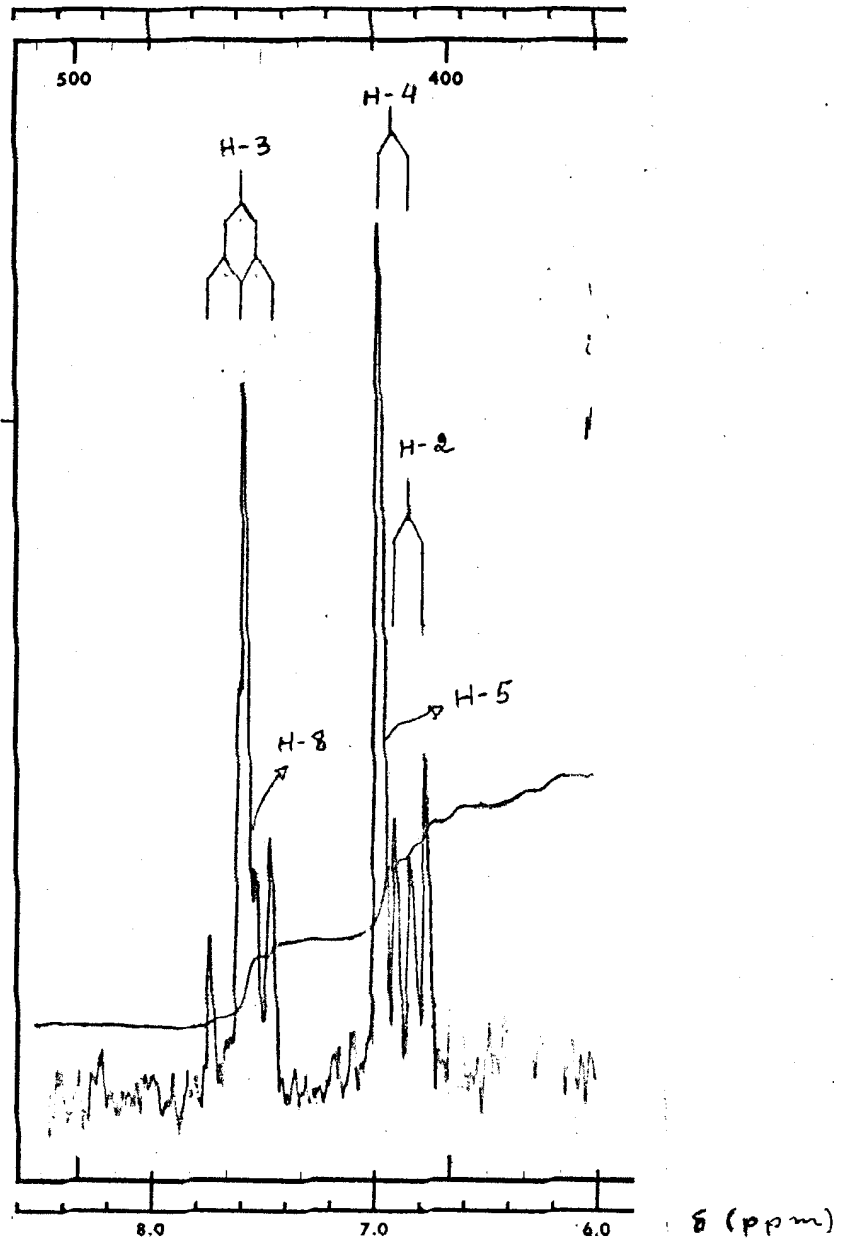


Figura 11

Espectro de RMP de 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s)

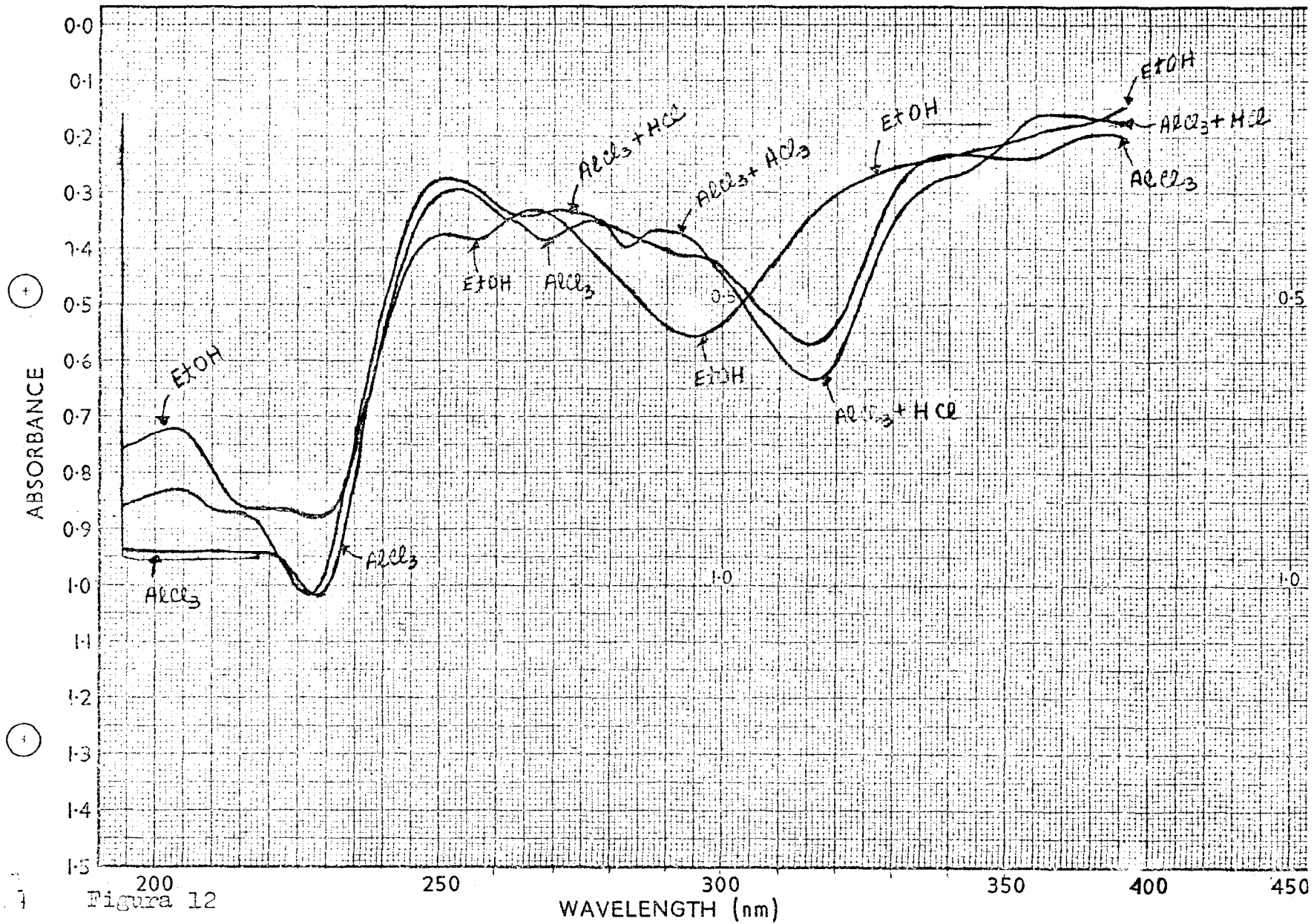


Figura 12

Espectro UV da 7-O-glicosil-1,6-dihidroxixantona (Pi-3s)

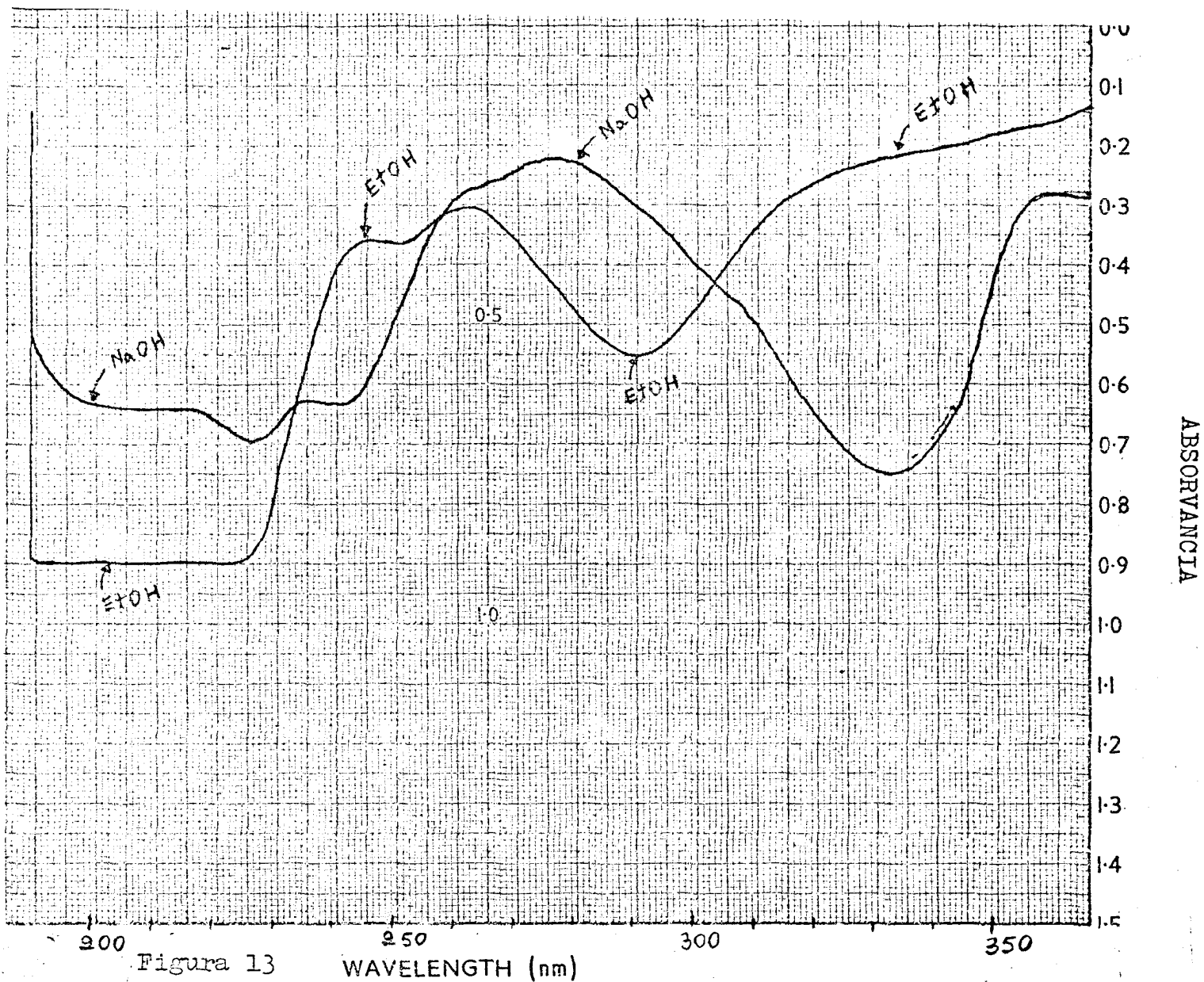


Figura 13

Espectro UV da 7-O-glicosil-1,6-dihidroxixantona
(Pi-3s)

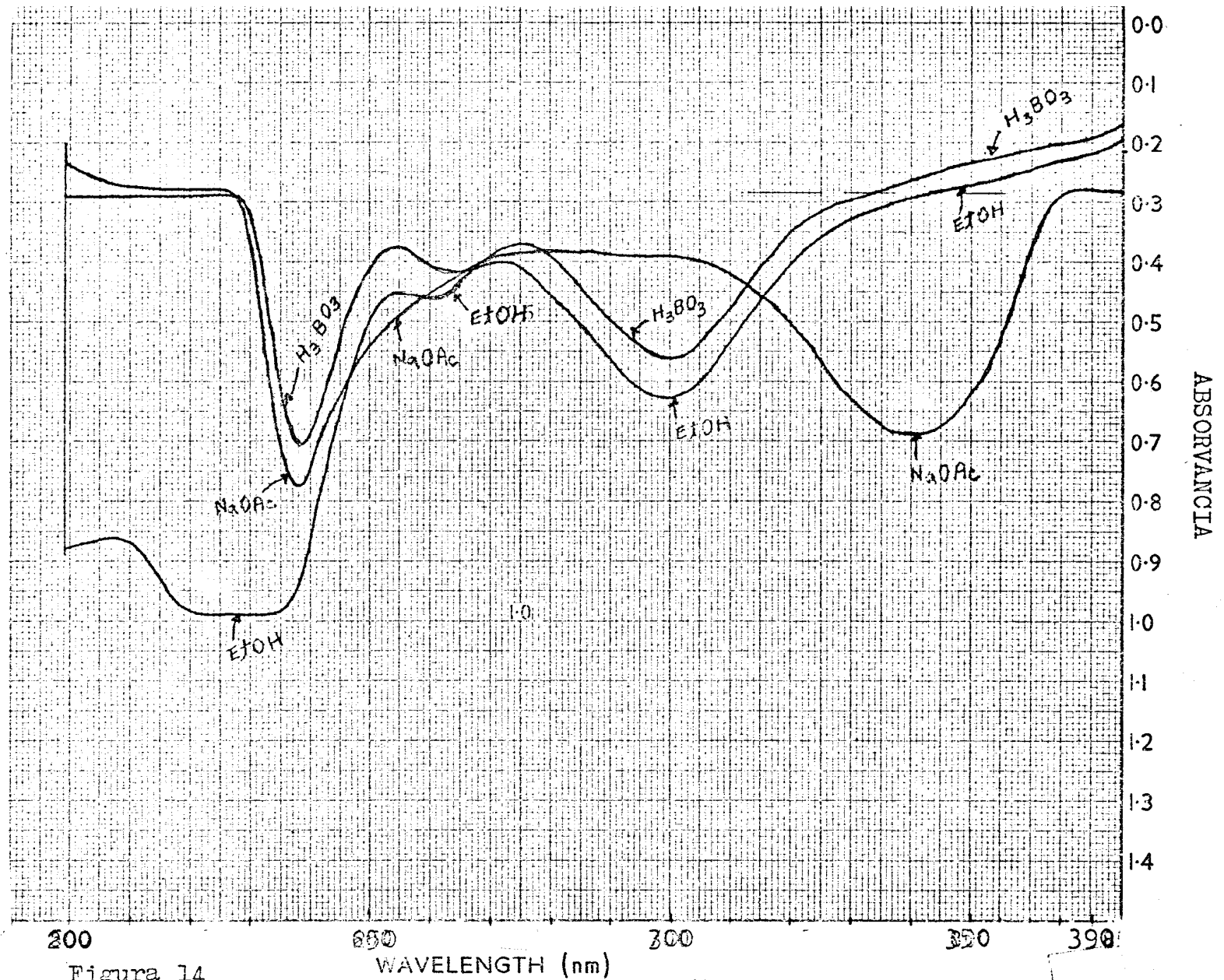


Figura 14

Espectro UV da 7-O-glicosil-1,6-dihydroxixantona (Pi-3s)

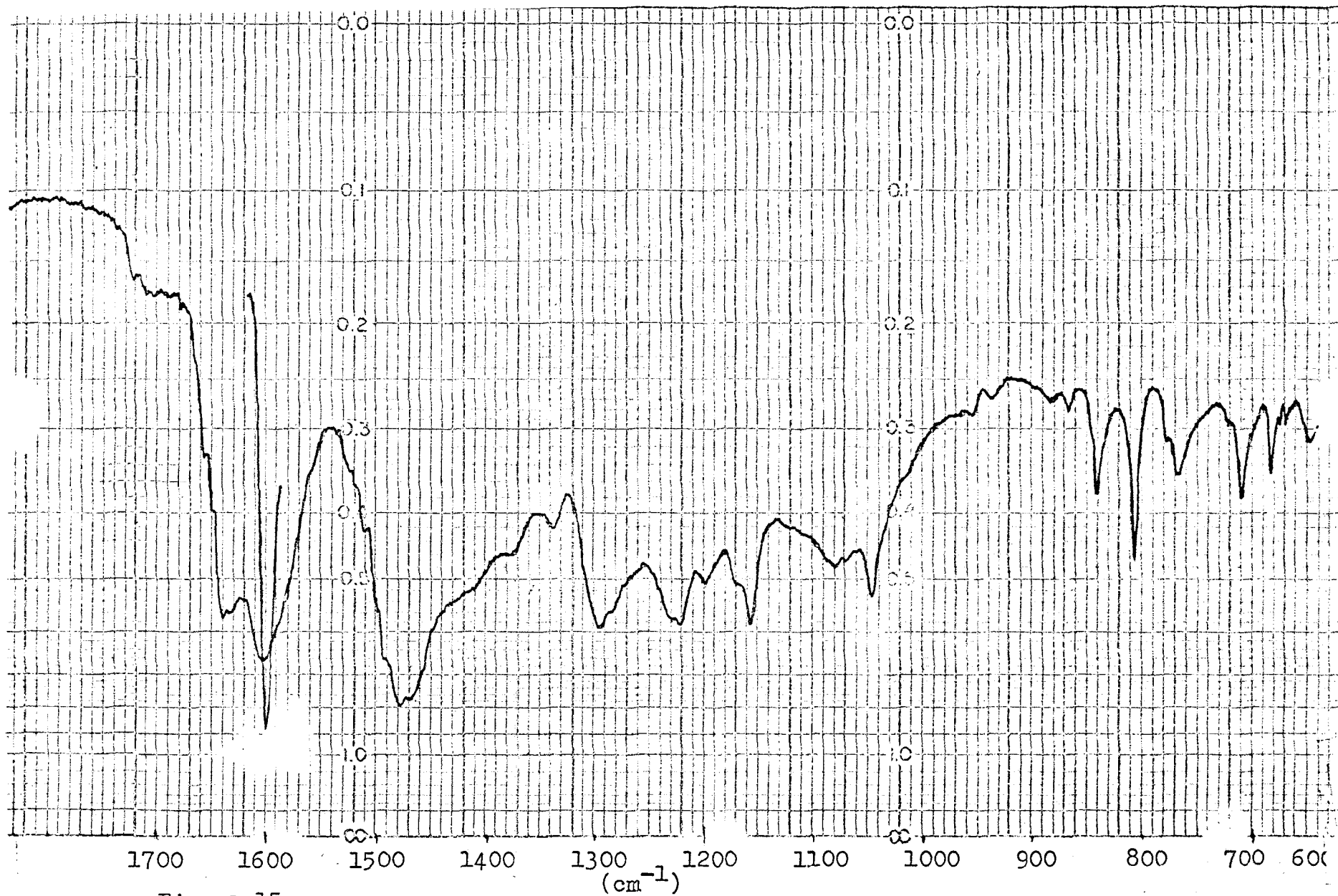


Figura 15

Espectro IV da 7-O-glicosil-1,6-dihidroxi-xantona (Pi-3s)

RESUMO

A madeira do tronco da Platonia insignis, o bacu-
ri do Pará, contém, além da euxantona (X), substância já iso-
lada, anteriormente desta planta (4), a 1,6,7-trihidroxixan-
tona (IX) e uma 7-O-glicosil-1,6-dihidroxixantona (XII).

BIBLIOGRAFIA

- (1) M.Nicronstein, Chem. Ber., 46, 649 (1918).
- (2) A.A.Lins Mesquita, D. de Barros Correa, O.R.Gottlieb e M.Taveira Magalhães, Anal. Chim. Acta, 42, 311 (1968).
- (3) D.Barracclough, O.R.Gottlieb, H.D.Lockeley, F.Scheinmann e M.Taveira Magalhães, J. Chem. Soc. B, 603 (1970).
- (4) D.B.Spoelstra e M.J.van Royen, Rec. Trav. Chim., 48, 370 (1929).

CAPÍTULO II

Estudo químico da Tovomita choisyana

INTRODUÇÃO

Tovomita choisyana Pl. e Tr. é uma espécie arbórea, da família Gutíferae que ocorre próximo a Belém, Estado do Pará, no estuário do rio Amazonas. O seu estudo é importante do ponto de vista quimiotaxonômico pois, embora a família Gutíferae já seja bastante estudada, não há nada registrado na literatura acêrca do gênero Tovomita.

Do extrato benzênico da madeira do tronco desta árvore isolamos cinco substâncias que receberam as siglas Tc_1 , Tc_2 , Tc_3 , Tc_4 , Tc_5 . Os detalhes sobre o isolamento dessas substâncias estão na parte experimental.

DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES

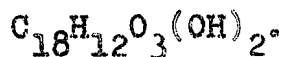
1-Hidroxi-7-metoxixantona (Tc_1)

Espectrometria no infravermelho (Figura 16) e no ultravioleta (Figuras 17, 18 e 19) revelaram o caráter aromático da substância, sugerindo tratar-se de uma xantona ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ 232, 261, 290, 380 nm). Deslocamento dos máximos de absorção no ultravioleta, após adição de $AlCl_3$, mostrou tratar-se de uma xantona hidroxilada na posição orto à carbonila (1, 2). Espectrometria de massa (Figura 20) acusou pico molecular em 242 unidades de massa, e pico devido a perda de metila, dados que se coadunam com a estrutura de uma hidroximetoxixantona.

Comparação direta de Tc_1 com a 1-hidroxi-7-metoxixantona (XI), gentilmente cedida pelo colega Tanus Jorge Nagem da Universidade Federal de Minas Gerais, que envolveu p.f. misto e espectrometria no infravermelho, mostrou a identidade dessas substâncias.

Tovoxantona (Tc_2)

Análise elementar, espectrometria de massa (Figura 21) e análise funcional revelaram para Tc_2 a fórmula



O espectro no ultravioleta mostrou com clareza o caráter xantônico da substância. Além disto indicou a presença de hidroxila em orto (AlCl_3 causou deslocamento nos máximos) e em para à carbonila (NaOAc e NaOH causaram idênticos e pronunciados deslocamentos batocrômicos dos máximos) (1, 2).

A quebração da carbonila foi confirmada pelos espectros no infravermelho (Figura 22) ($\nu_{\text{max}}^{\text{C=O}}$ 1640 cm^{-1}) e de ressonância magnética protônica (τ -3.1, s, uma OH). As hidroxilas não podem estar situadas num mesmo anel, desde que a região aromática do espectro de ressonância magnética protônica contém sinais típicos de três prótons vicinais numa xantona oxigenada em C-1 (3). A hidroxila em para deve, assim, estar localizada em C-6 do anel B, que também sustenta um anel 2,2-dimetilcromênico. Este foi caracterizado por ressonância magnética protônica (Figura 23) através de duas bandas duplas (τ 2.05 e 4.22, J 10.0 Hz), representando um sistema AB de prótons olefínicos, e uma banda simples em 8.51 τ representando os prótons de duas metilas. Tal feição estrutural usualmente dá lugar a bandas em torno de τ 3.3, 4.4 e 8.5 (4). No caso presente, a forte desproteção do próton A demonstra sua vicinidade com a carbonila. Em confirmação, também os prótons benzílicos do diidro-derivado (IV) obtido por hidrogenação catalítica (Pd/C, EtOH) de C_6 , são fortemente desprotegidos. O espectro correspondente, inclui duas bandas triplíceas metilênicas em τ 6.52 e 8.14. Em derivados 2,2-dimetilcromênicos estes sinais, usualmente, aparecem em torno de τ 7.3 e 8.2 (4).

Estes dados podem ser inscritos em um esqueleto xantônico de uma só maneira (XIII), ficando a Tc_2 revelada como a 1,6-dihidroxi-6°,6°-dimetilpirano-(2°,3°:7,8)-xantona, a qual foi denominada tovoxantona.

Evidências em apoio a esta proposta foram aduzidas ainda por espectrometria de ressonância magnética protônica, observando-se perfeita concordância entre as frequências de ressonância dos prótons aromáticos esperados e calculados (3) (TABELA), e por espectrometria de massa. Afiançados pela bibliografia (5) podemos propor, para a tovoxantona, a sequência de fragmentação das páginas 42 e 43; assinando-se o ion molecular em m/e 310, o pico base M-15 correspondendo a um ion pirílio estável; um ion de carga dupla em m/e 147.5 e um pico meta-estável em 280.6 ($295^2/310$) em apoio a esta fragmentação primária. Subsequentes perdas de monóxido de carbono e acetileno dando ions em m/e 267 e 241 foram confirmados pelo aparecimento de picos meta-estáveis respectivamente em m/e 241.7 ($267^2/295$) e 217.5 ($241^2/267$).

Confirmação para esta proposta foi obtida por meio da síntese do éter monometílico da tovoxantona (XVI), descrita mais adiante.

Sitosterol e stigmasterol (Tc_3)

Espectrometria no infravermelho e p.f. 145-148° sugeriram tratar-se de uma mistura de sitosterol e stigmasterol, que ocorre na maioria das plantas. Comparação direta

com amostras autênticas das duas substâncias confirmou a identificação de Tc₃.

Ácido betulínico (Tc₄)

O espectro no infravermelho (Figura 27) indicou tratar-se de substância alifática carbonílica, com grupamento vinila terminal. Espectrometria de massa (Figura 28) mostrou ao lado do pico molecular (M 456, 100%), que se coaduna com a fórmula molecular C₃₀H₄₈O₃, picos devidos a perda de metilas (m/e 438, 66%; m/e 423, 58%). Imaginamos, por isto, tratar-se de um triterpeno do tipo lupeol, possivelmente, ácido betulínico.

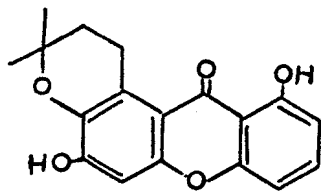
De fato, comparação direta com uma amostra autêntica identificou Tc₄ com ácido betulínico (XIV).

Mesmo que ácido betulínico e outros derivados do lupeol tenham sido localizados nas tribus Caraipeae e Clusieae (a qual pertence o gênero Tovomita) não cabe a este dado maior significado químico-sistemático, pois como se sabe ácido betulínico é largamente difundido no reino vegetal.

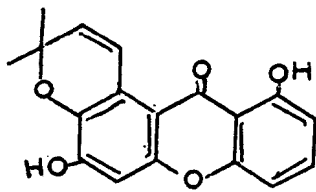
TABELA

Deslocamento Químico (τ) das Bandas
Referentes aos Prótons Aromáticos da Tovoaxantona

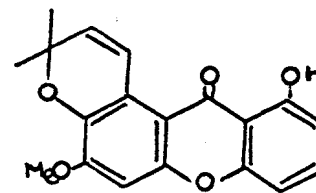
	H-5	H-4	H-3	H-2
Observado	3.20	3.23	2.55	3.33
Calculado (3)	3.24	3.04	2.44	3.20



Dihidrotovoxantona
(XV)

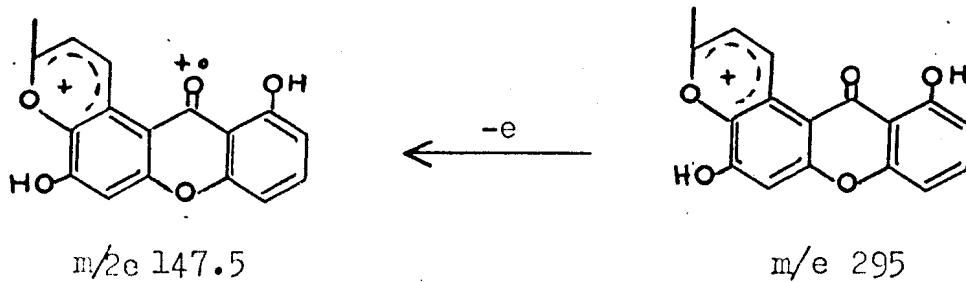
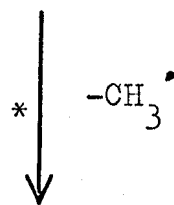
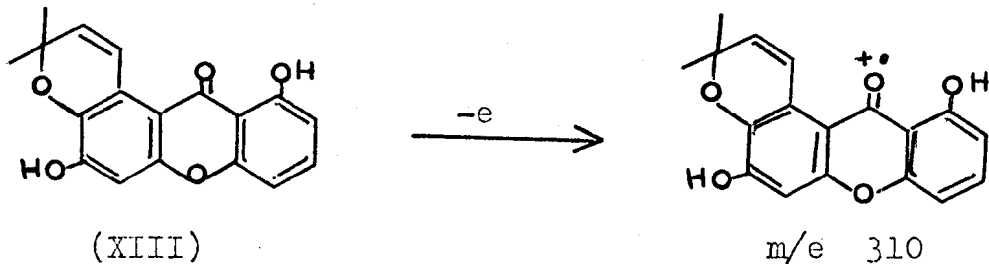
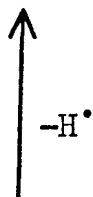
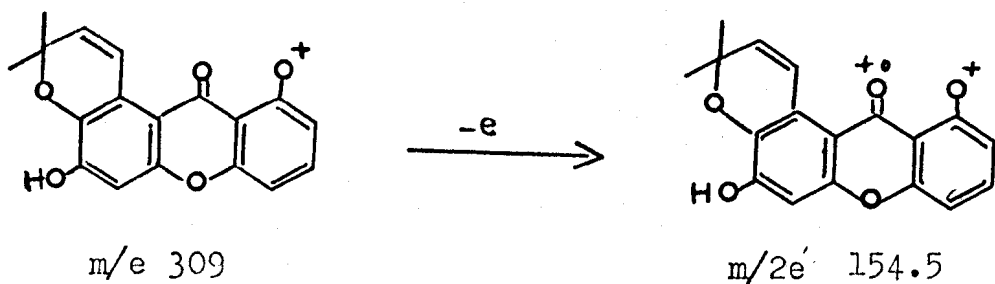


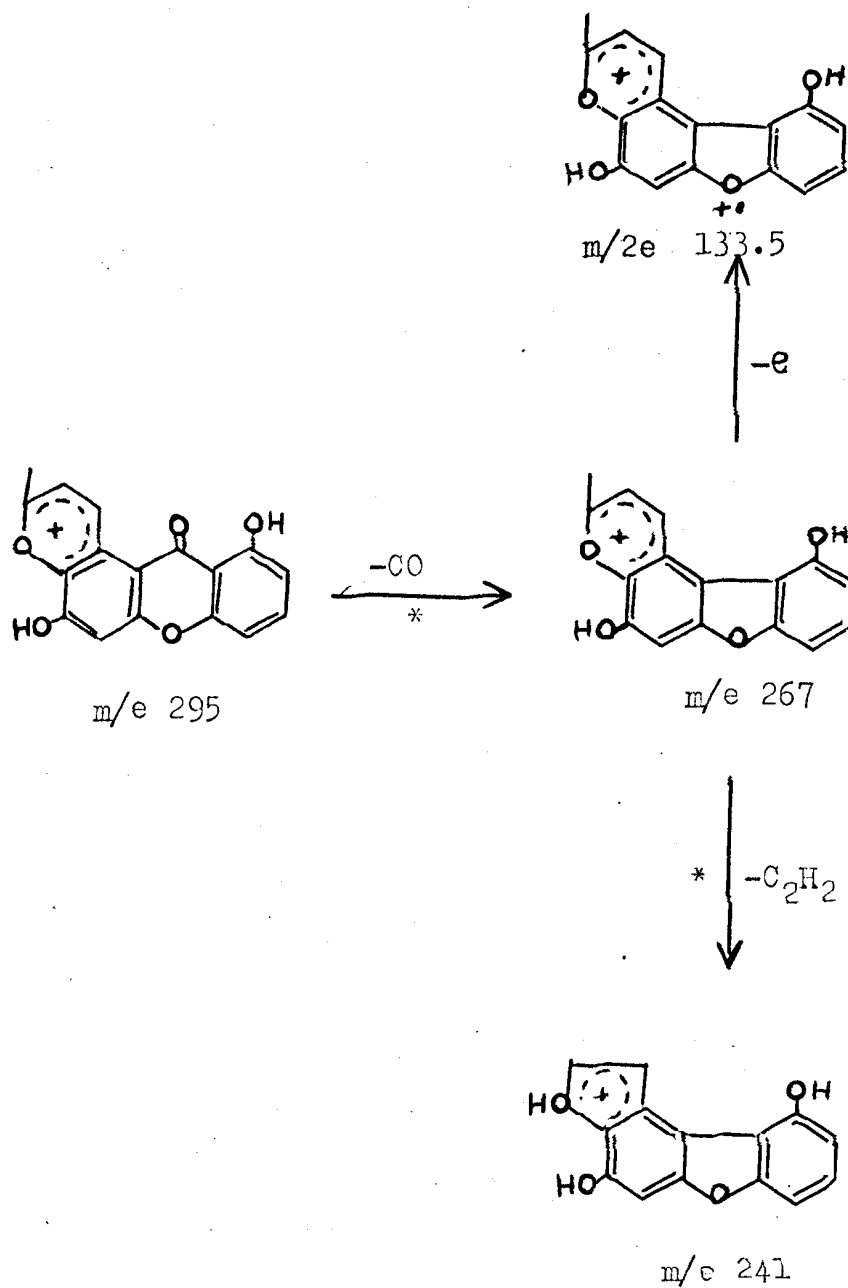
Tovoxantona (Tc_2)
(XIII)



éter monometílico da
tovoxantona
(XVI)

Sequência de fragmentação para a tovoxantona





SÍNTESES DE PIRANOXANTONAS

Anéis 2,2-dimetilcromênicos podem ser preparados facilmente, mesmo que em baixo rendimento, pela interação direta de um fenol com 2-metil-3-buten-2-ol (XXIII) em presença de cloreto de zinco, conforme Cardillo e colaboradores (6).

Um projeto de síntese para a tovoxantona (XIII), utilizando este processo, deveria envolver uma hidroxila em C-7 e o carbono em orto à carbonila do núcleo xantônico que, como sabemos, é muito pouco reativo.

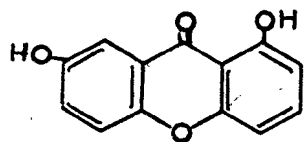
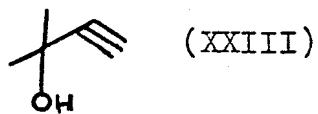
Havia necessidade, portanto, de testar esta reação, e para tanto utilizamos, inicialmente, como substrato modelo, a 1,7-dihidroxixantona (euxantona) (X). Espectrometria no ultravioleta (Figura 29) do produto obtido, apresentou, em presença de $AlCl_3$, deslocamento batocrômico em relação ao espectro em meio neutro. Isto indicou a existência de uma hidroxila quelatogênica. A formação do anel 2,2-dimetilcromênico foi caracterizada por ressonância magnética prótonica (Figura 30), através de duas bandas duplas (τ 1.95 e 4.23, J 10.0 Hz) representando o sistema AB de prótons olefínicos, e uma banda simples em τ 8.52 representando os seis

prótons das duas metilas. Aqui, como na tovoxantona natural, verificamos a desproteção anormal desses prótons olefínicos. Este fato nos sugeriu que o anel cromênico deveria ter ciclizado na posição desejada, envolvendo a hidroxila em C-7 e o carbono na posição peri. De fato, ressonância magnética protônica mostrou perfeita concordância entre as frequências calculadas e esperadas (3) para os prótons aromáticos da 1-hidroxi-6',5'-dimetilpirano-(2',3':7,8)-xantona (XVII).

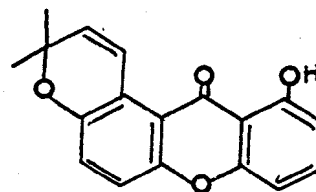
O sucesso desta reação nos sugeriu que utilizando, análogamente, a 1,7-dihidroxi-6-metoxixantona (XVIII) obteríamos um derivado idêntico ao éter monometílico (XVI), preparado da tovoxantona (XIII) por tratamento com diazometano.

A 1,7-dihidroxi-6-metoxixantona (7) necessária a esta síntese foi preparada da seguinte maneira: 1,2,4-trimetoxibenzeno (XIX) e ácido 2,6-dimetoxibenzóico (XX) submetidos a uma reação do tipo Friedel-Crafts levaram à 2-hidroxi-2',4,5,6'-tetrametoxibenzofenona (XXI), que ciclizou, em meio alcalino, dando a 1,6,7-trimetoxixantona (XXII) que foi identificada por comparação com uma amostra autêntica, gentilmente cedida pelo Dr. F.Scheinmann, University of Salford, Inglaterra. Desmetilação desta substância levou à 1,6,7-trihidroxixantona (IX). Metilação com diazometano é uma reação seletiva no campo das xantonas hidroxiladas, e, no nosso caso, levou à 1,7-dihidroxi-6-metoxixantona (XVIII) desejada, que foi identificada por comparação com uma amostra autêntica, gentilmente cedida por Dr. F.Scheinmann e Dr. A.J.Quillinan, University of Salford, Inglaterra. Em segui-

Síntese de 1-hidroxi-6',6'-dimetilpirano-(2',3' : 7,8)-xantona (XVII)

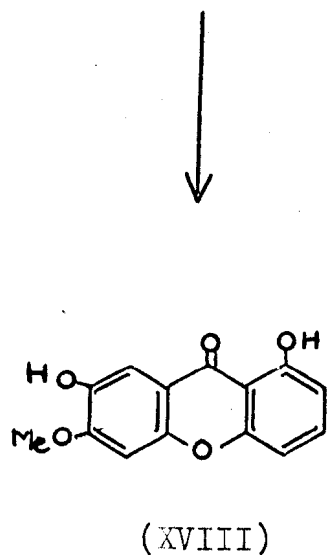
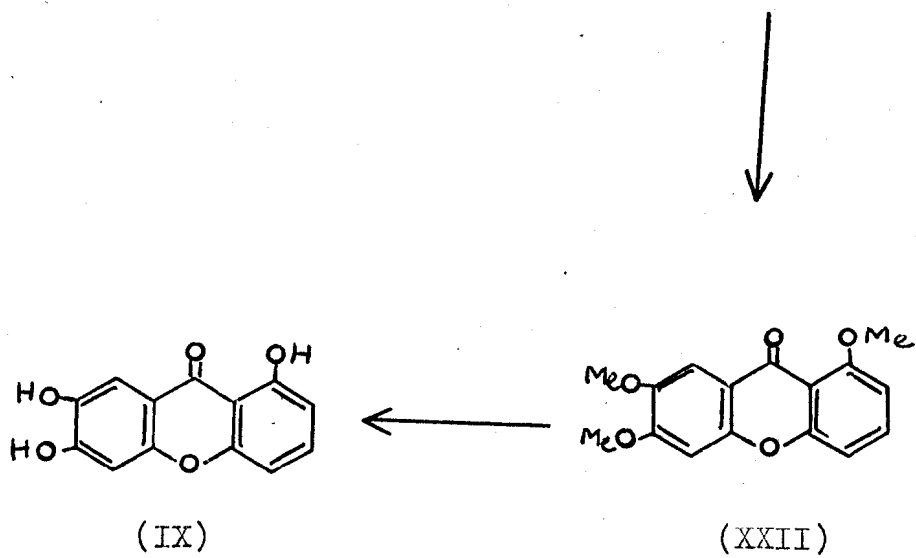
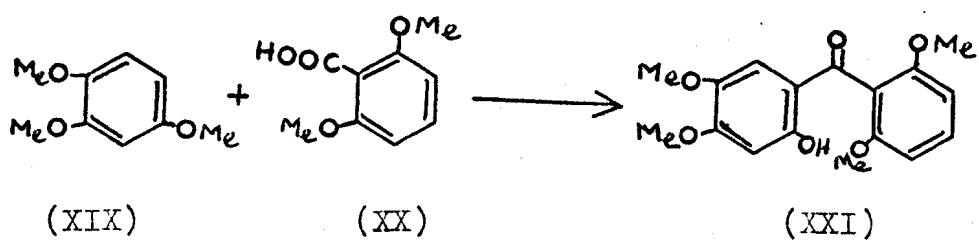


(X)



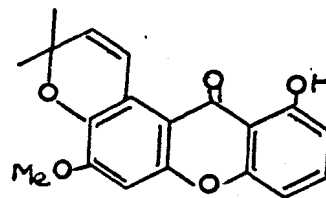
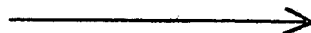
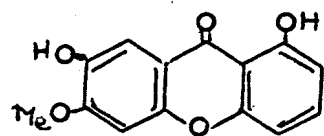
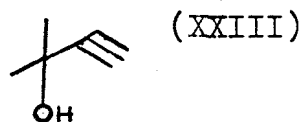
(XVII)

Síntese de 1,7-dihidroxi-6-metoxixantona (XVIII)



da, tratamos a 1,7-dihidroxi-6-metoxixantona com 2-metil-3-butin-2-ol (XXIII) nas mesmas condições da reação modelo apresentada para a euxantona. Obtivemos a 1-hidroxi-6-metoxi-6,6'-dimetilpirano-(2°,3°:7,8)-xantona (XVI), que se mostrou idêntica com o éter monometílico da tovoxantona, constituindo esta sequência reacional uma prova inequívoca da proposta estrutural lançada para a tovoxantona.

Síntese da 1-hidroxi-6-metoxi-6',6'-dimetilpirano-(2',3' : 7,8)-xantona (XVI)



PARTE EXPERIMENTAL

Isolamento dos constituintes da Tovomita choisyana

A madeira (5,5 kg) do tronco da Tovomita choisyana foi moída e extraída com benzeno. O extrato benzênico, concentrado por evaporação a vácuo, apresentou aspecto resinoso. Este material resinoso foi extraído novamente com benzeno, obtendo-se uma parte solúvel (Ts) e outra muito pouco solúvel (Ti).

Ts (16 g) foi fracionado por cromatografia, usando-se uma coluna contendo 500 g de sílica gel. Esta coluna, montada com benzeno, foi sucessivamente eluída com benzeno, clorofórmio e metanol, usando-se para isto o método de gradiente de eluição. Dessa maneira recolheram-se 150 frações de 250 ml cada.

Após evaporação do solvente de cada fração, em evaporador rotativo, determinou-se a quantidade de material da mesma. Estas frações foram reunidas de acordo com as suas análises por cromatografia em camada delgada de sílica. De acordo com o resultado obtido (Cromatograma) as frações foram reunidas em grupos, dos quais foram isolados cinco substâncias.

Grupo A - eluído da coluna com benzeno, apresentou-se como um material cristalino de cor amarela. Este,

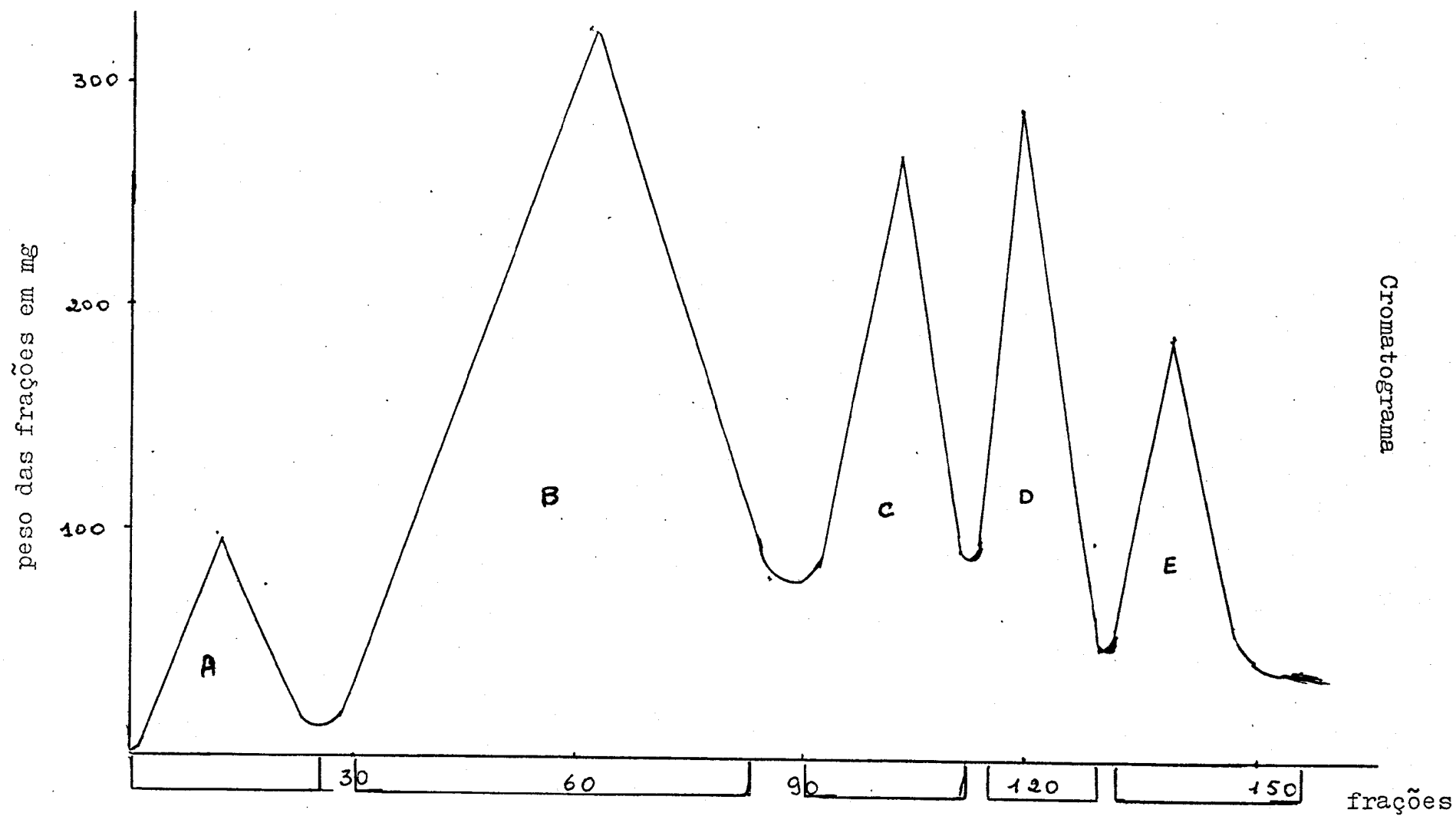
por meio de cromatografia preparativa em camada espessa, usando sílica F₂₅₄-sílica G(2:1) como adsorvente e benzeno-éter de petróleo (1:1) como eluente, forneceu cristais amarelos (70 mg) que sublimam a 123°, com p.f. 130-132°, os quais receberam a sigla Tc₁.

Grupo B - eluido da coluna com benzeno. Filtrado através de sílica e recristalizado em acetona forneceu cristais amarelos (1 g), que sublimam a 205°, com p.f. 219°; a substância foi chamada Tc₂.

Grupo C - eluido da coluna com benzeno-clorofórmio (1:1). Foi purificado por meio de recristalizações sucessivas em acetona, apresentando cristais incolores, em forma de agulhas finas brilhosas (200 mg), com p.f. 145-148°; receberam a sigla Tc₃.

Grupo D - foi eluido da coluna com clorofórmio-metanol (99:1). Recristalizações em clorofórmio e metanol forneceu cristais incolores (200 mg), com p.f. 284-285° dec. que foram denominados Tc₄.

Grupo E - eluido da coluna com clorofórmio-metanol (99:1). Apresentou-se como um material resinoso de cor escura; foi filtrado através de sílica. Cromatografia preparativa em camada espessa (sílica F₂₅₄-sílica G, 2:1; benzeno-acetona, 8:2) forneceu um material cristalino (40 mg) de cor amarela, com p.f. 253-254°, que recebeu a sigla Tc₅. Devido a complexidade dos espectros obtidos não foi possível chegar a uma conclusão a respeito da estrutura desta substância.



1-Hidroxi-7-metoxixantona (Tc₁)

Cristais amarelos, em forma de placas, que sublimam a 121-125°, p.f. 130-132° (benzeno) lit. (8) p.f. 130-131°. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$: 3400, 3010, 2960, 2910, 1640, 1610, 1580, 1495, 1470, 1430, 1385, 1285, 1235, 1160, 1150, 1110, 1050, 1030, 830, 825, 810, 775, 765, 720, 630. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} (\text{nm})$: 204, 232, 261, 290 (ϵ 14520, 16940, 19600, 4120); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}} (\text{nm})$: 225, 235, 270, 325 (ϵ 21540, 20570, 11860, 2420); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}} (\text{nm})$: 220, 231, 261, 290 (ϵ 21780, 20810, 21300, 5330); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3} (\text{nm})$: 205, 233, 264, 277, 307 (ϵ 14520, 18880, 13560, 14040, 3880). EM: M 242 (95%), m/e (%) 227 (32), 212 (12), 199 (10), 171 (20), 149 (100).

Tovoxantona (Tc₂)

Cristais amarelos em forma de agulhas grossas, p.f. 219° (acetona). Achado: C, 67.55; H, 4.33. C₁₈H₁₄O₄ requer: C, 67.49; H, 4.28°. $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$: 3330, 1640, 1605, 1572, 1453, 1298, 1235, 1154. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} (\text{nm})$: 242, 265, 319 (ϵ 45500, 36750, 28500); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}} (\text{nm})$: 248, 330 inf. (ϵ 45250, 17050); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}} (\text{nm})$: 245, 327 inf. (ϵ 46500,

14250); $\lambda_{\max}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 243, 267, 334 (ϵ 46500, 31300, 27150). RMP (CDCl_3 , τ): -3.1 (s, OH), 2.05 (d, J 10.0 Hz, H-4'), 2.55 (t, J 8.0 Hz, H-3), 3.20 (s, H-5), 3.23 (dd, J 1.5 e 8.0 Hz, H-4), 3.33 (dd, J 1.5 e 8.0 Hz, H-2), 4.22 (d, J 10.0 Hz, H-5'), 8.51 (s, dois CH_3). EM: M 310 (39%) m/e (%) 311 (7), 309 (7), 296 (20), 295 (100), 282 (17), 269 (6), 267 (1), 266 (2), 241 (1), 147.5 (16), 154.5 (1), 133.5 (2). $m^{\#}$ 280.6 ($295^2/310$), 241.7 ($267^2/295$), 217.5 ($241^2/267$).

Dihidrotovoxantona (XV)

Foi obtido da tovoxantona (H_2 , Pd/C, EtOH) como agulhas amarelas, p.f. 170-172° (EtOH). ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 1645, 1605, 1575, 1480, 1455, 1295, 1235, 1155, 1055, 907, 833, 770, 709. $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 244, 316, 386; $\lambda_{\max}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ e $\lambda_{\max}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}}$ (nm): 246, 368, 386. RMP (CDCl_3 , τ): 6.52 (t, J ca. 7.0 Hz, dois H-4'), 8.14 (t, J ca. 7.0 Hz, dois H-5'), 8.63 (s, dois CH_3).

Éter monometílico da tovoxantona (XVI)

Foi obtido por tratamento da tovoxantona com CH_2N_2 em éter; e por síntese conforme Cardillo (6). 1,7-Dihidroxi-6-metoxixantona (7) (600 mg), 2-metil-3-butin-2-ol (4.8 ml) e ZnCl_2 anidro (750 mg) foram aquecidos sob refluxo (3 horas). A mistura reacional foi esfriada à temperatura ambiente e extraída repetidamente com CHCl_3 . A solução clorofórmica foi concentrada a um pequeno volume. O precipitado foi lavado com HCl N, secado e cromatografado em sílica. Benzeno eluiu o produto desejado (30 mg). Este produto sintético e o éter monometílico da tovoxantona, mostraram serem idênticos por comparação direta, que envolveu p.f. misto e espectrometria no infravermelho. Agulhas amarelas, p.f. 186-188°. $\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 1642, 1605, 1573, 1449, 1280, 1241, 827, 770.

Ácido betulínico (Tc_4)

Cristais incolores, p.f. 284-286° dec. (clorofórmio-metanol). $\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3450, 2930, 2850, 1680, 1640, 1450, 1390, 1380, 1230, 1030, 880. EM: M 456 (100%), m/e (%) 438 (67), 423 (58).

1-Hidroxi-6',6'-dimetilpirano-(2',3':7,8)-xantona (XVII)

Preparada por síntese da 1,7-dihidroxixantona (X) nas condições descritas acima para XVI. Rendimento 7% (recuperação da euxantona ca. 80%). M: achada 294;

$C_{18}H_{14}O_4$ requer 294. Agulhas amarelas que sublimam a 108° , p.f. $142-144^\circ$ (acetona). γ_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 1646, 1611, 1580, 1470, 1330, 1280, 1240, 1120, 1068, 1045, 915, 820, 758.

λ_{\max}^{EtOH} (nm): 239, 269, 305 (ϵ 39800, 53650, 14450);

$\lambda_{\max}^{EtOH + AlCl_3}$ (nm): 242, 272, 325 (ϵ 26750, 41400, 13500).

RMP (CCl_4 , τ): 1.95 (d, J 10.0 Hz, H-4'), 2.48 (t, J 8.0 Hz, H-3), 2.76 (s, H-5, H-6), 3.15 (dd, J 1.0 e 8.0 Hz, H-4), 3.21 (dd, J 1.0 e 8.0 Hz, H-2), 4.23 (d, J 10.0 Hz, H-5'), 8.52 (s, dois CH_3).

2-Hidroxi-2',4,5,6'-tetrametoxibenzofenona (XXI)

Ácido 2,6-dimetoxibenzóico (XX) (5.46 g), 1,2,4-trimetoxibenzeno (XIX) (9.2 g), $ZnCl_2$ (20 g) e $POCl_3$ (65 ml) foram aquecidos a $75-80^\circ$, durante duas horas. O produto da reação foi vertido em água gelada (1 litro) e agitado durante quinze horas. A solução foi extraída com éter. A solução etérea foi secada com Na_2SO_4 . Evaporação do solvente forneceu um material oleoso, de cor escura, que foi fracionado por meio de uma coluna filtrante de sílica gel, utilizando benzeno-acetato de etila (17:3) como eluente. Dessa ma-

neira obtivemos cristais amarelos (5.7 g), com p.f. 129-130° (metanol) lit. (7) p.f. 129-130°. $\gamma_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 1636, 1612, 1602, 1260, 1115. $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ (nm): 246, 283, 350 (ϵ 15100, 14400, 9700). EM: M obtido e esperado 318.

1,6,7-Trimetoxixantona (XXII)

XXI (3.4 g) em piridina (40 ml) junto com água (30 ml) e hidróxido de tetrametilamônio (6 ml; 25% p/vol.) foram aquecidos, sob refluxo, durante quinze horas. A solução resfriada, foi diluída com água (300 ml) e acidificada com HCl. A mistura foi extraída com diclorometano (2 x 150 ml), e o extrato, lavado com água (2 x 150 ml), seco (MgSO_4) e evaporado, forneceu um resíduo granular, branco que cristalizado em clorofórmio-ciclohexano e metanol rendeu agulhas incolores (2.8 g) com p.f. 201-202°. $\gamma_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 1650, 1628, 1609, 1510, 1280, 1095, 1019, 821, 811. $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm): 251, 267 inf., 283, 305 inf., 353 inf., 358 (ϵ 36600, 12700, 12500, 4600, 11900, 12500). RMP (CDCl_3, τ): 2.31 (s, H-8), 2.40 (t, J 8.0 Hz, H-3), 2.95 (d, J 8.0 Hz, H-4), 3.14 (s, H-5), 3.20 (d, J 8.0 Hz, H-2), 5.99 e 6.03 (s, s, três OCH_3). EM: M obtido e esperado 286.

1,6,7-Trihidroxixantona (IX)

XXII (2.5 g) em ácido acético glacial (500 ml) contendo HBr (45% p/vol.) foram aquecidos, sob refluxo, durante vinte horas. Remoção do solvente deixou um resíduo, que foi decomposto com água (200 ml). O sólido resultante foi recristalizado em metanol e rendeu cristais amarelos (1.7 g), com p.f. 283-286° dec. . Comparação direta com uma amostra de 1,6,7-trihidroxixantona (Pi-2s), natural, isolada da Platonia insignis confirmou a identidade deste produto.

1,7-Dihidroxí-6-metoxixantona (XVIII)

Através de uma solução de 1,6,7-trihidroxixantona (IX) (0.1 g) em éter (50 ml) borbulhou-se diazometano. Após a remoção do solvente e recristalização em metanol obtivemos cristais amarelos (0.1 g), com p.f. 269-270° dec. .

$\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3440, 1650, 1630, 1608, 1575, 1277, 1158, 700.

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 220, 251, 260 inf., 269, 290, 311 inf., 360

(ϵ 17200, 27000, 15300, 12800, 10350, 6300, 9400);

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 218, 259, 290 inf., 390 (ϵ 32400, 26500,

10300, 8500); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}}$ (nm): 218, 250, 267 inf., 290,

370 (ϵ 21500, 24900, 12800, 9300, 10100). RMP ($\text{CD}_3\text{-SO-CD}_3 +$

$\text{CD}_3\text{-CO-CD}_3$, τ): -2.80 (s, OH), 2.50 (t, J 9.0 Hz, H-3), 2.61

(s, H-8), 3.04 (s, H-5), 3.16 (d, J 9.0 Hz, H-4), 3.39 (d,

J 9.0 Hz, H-2), 6.10 (s, uma OCH_3). EM: M obtido e esperado

258.

Tc₅

Cristais amarelos, p.f. 253-255° (acetona).

$\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3450, 1650, 1620, 1605, 1580, 1500, 1470, 1445, 1380, 1355, 1330, 1290, 1275, 1240, 1225, 1190, 1175, 1150, 1080, 1045, 1000, 915, 830, 840, 805, 800, 775, 690.

$\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 240, 270 (ϵ 31990, 28380); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 260, 283 (ϵ 37670, 35700); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm): 240, 271 (ϵ 31990, 28640); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc}}$ (nm): 240, 270 (ϵ 29670, 28380); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3}$ (nm): 240, 270 (ϵ 31990, 28380); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3}$ (nm): 240, 255 inf., 286, 317 (ϵ 35700, 21410, 23220, 12640). EM: M 258 (94%); m/e (%) 243 (63), 229 (17), 215 (100).

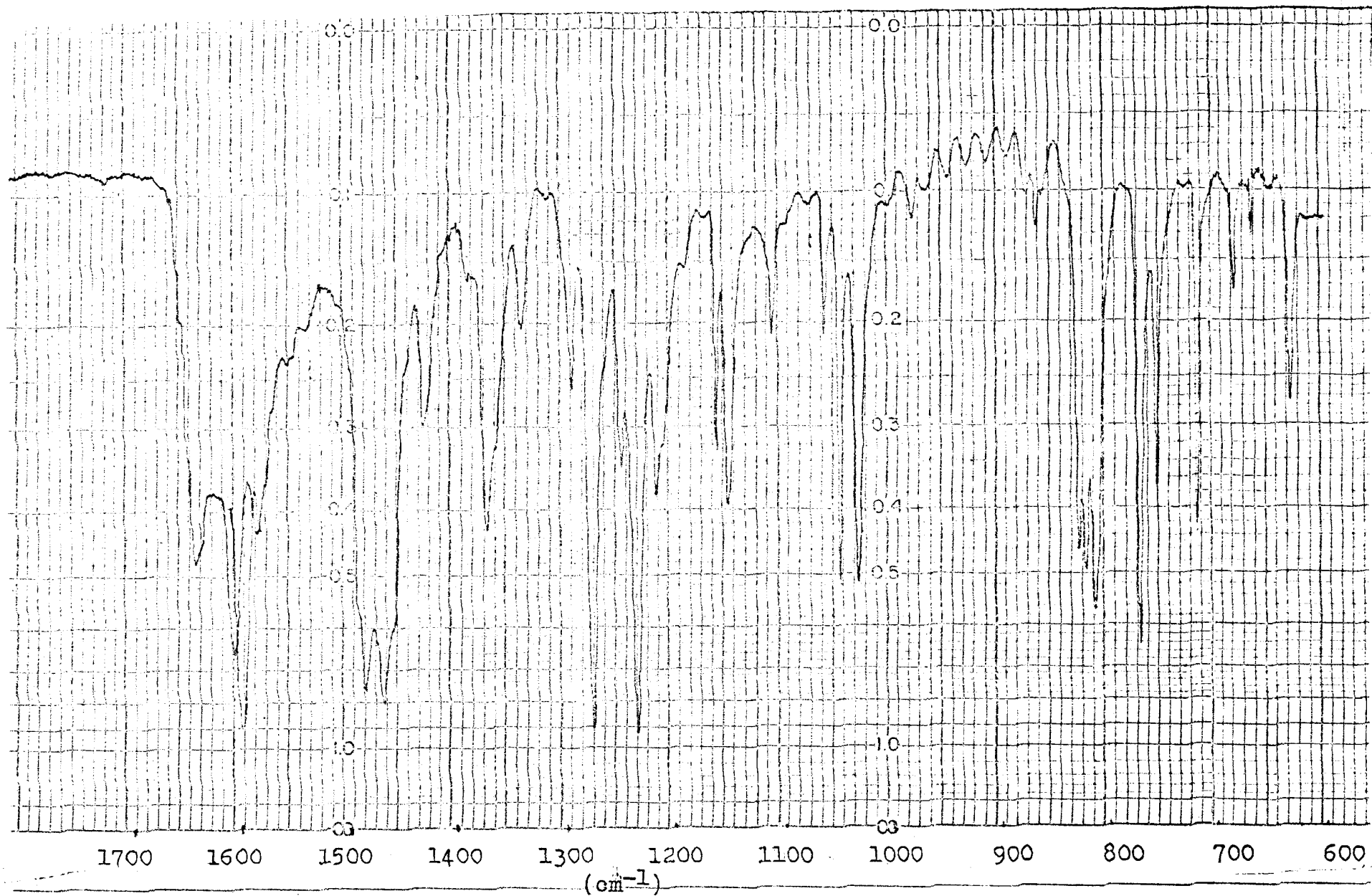


Figura 16

Espectro IV da 1-hidroxi-7-metoxixantona (Tc₁)

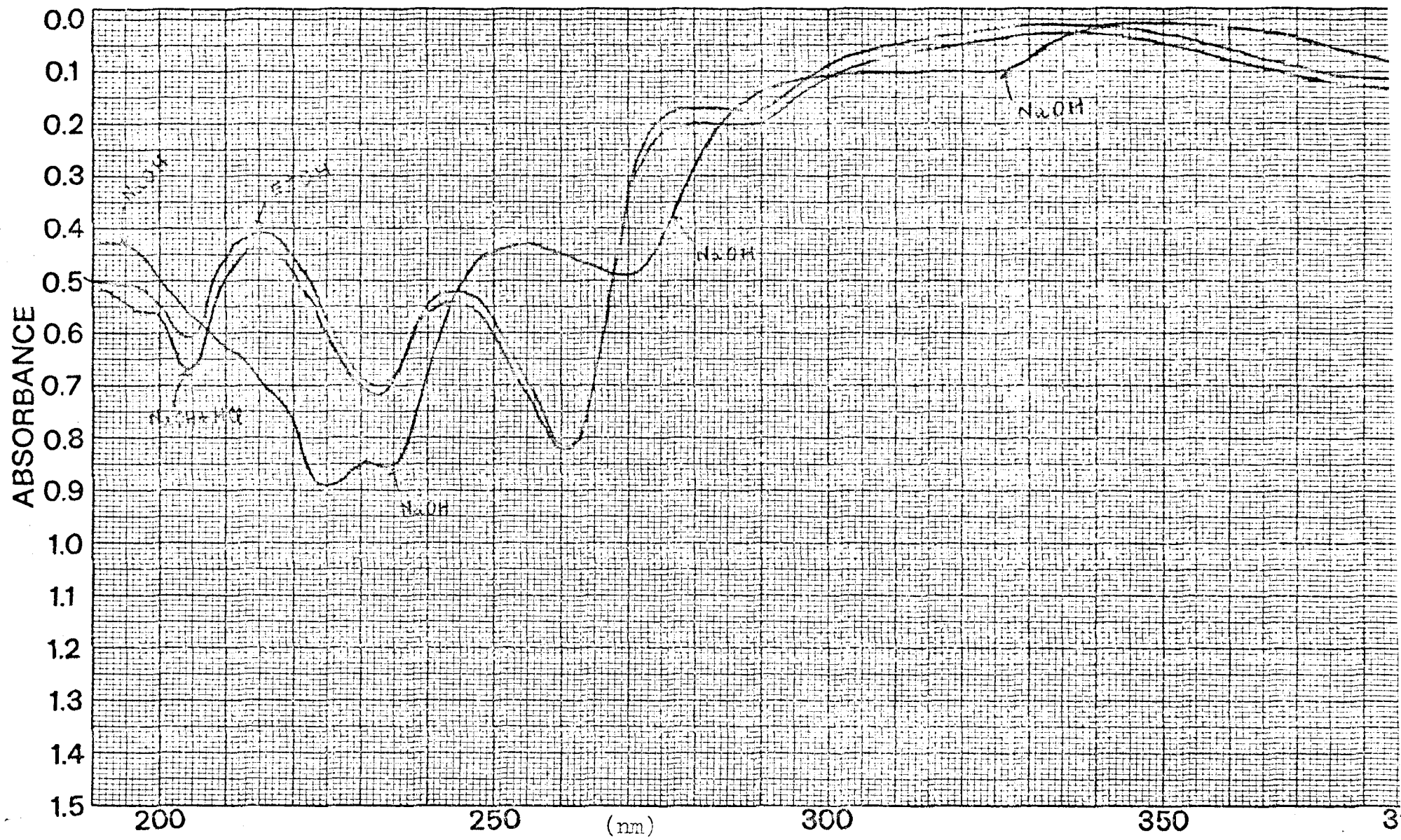


Figura 17

Espectro UV da 1-hidroxi-7-metoxixantona (Tc₁)

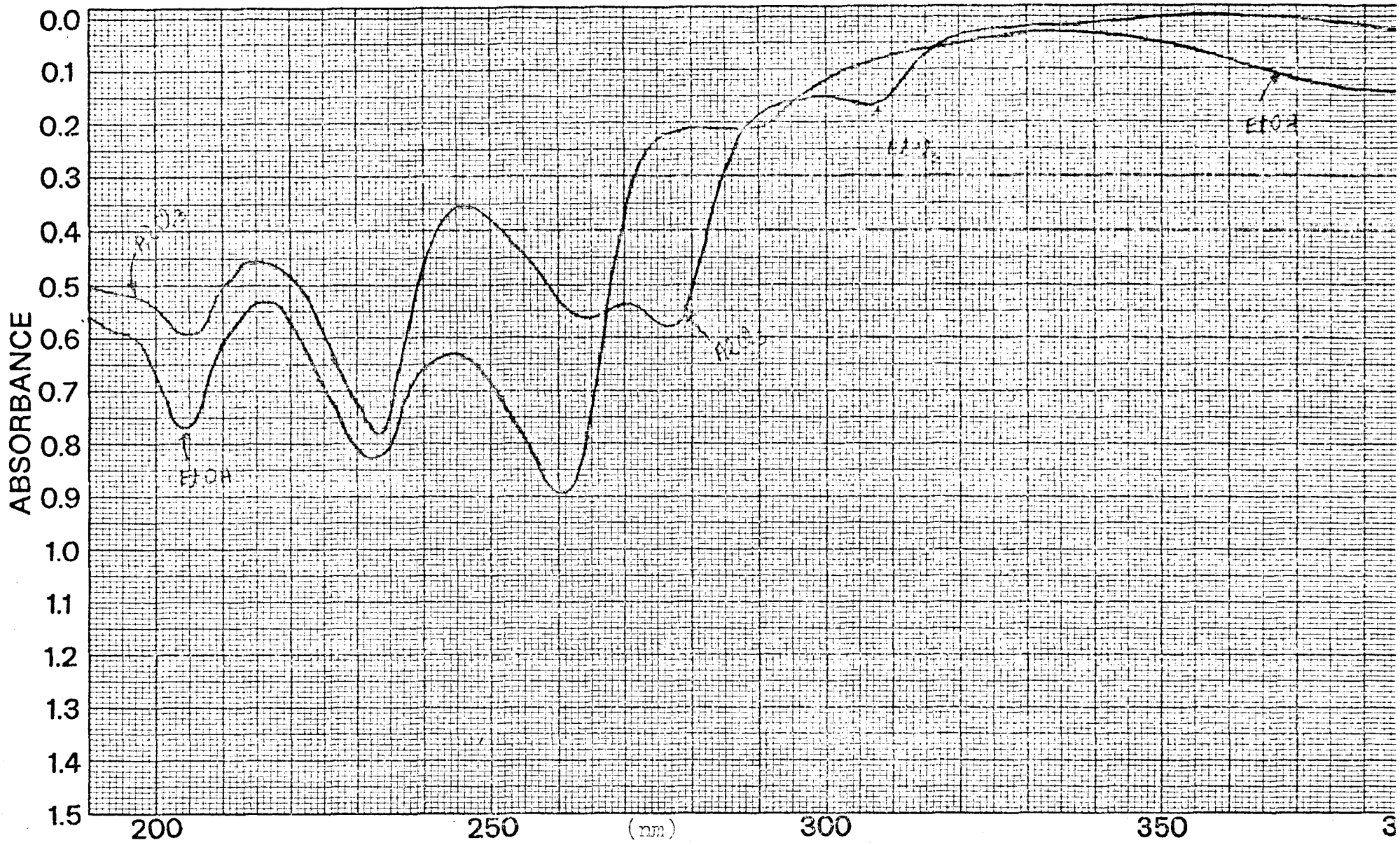


Figura 18

Espectro UV da 1-hidroxi-7-metoxixantona (Tc₁)

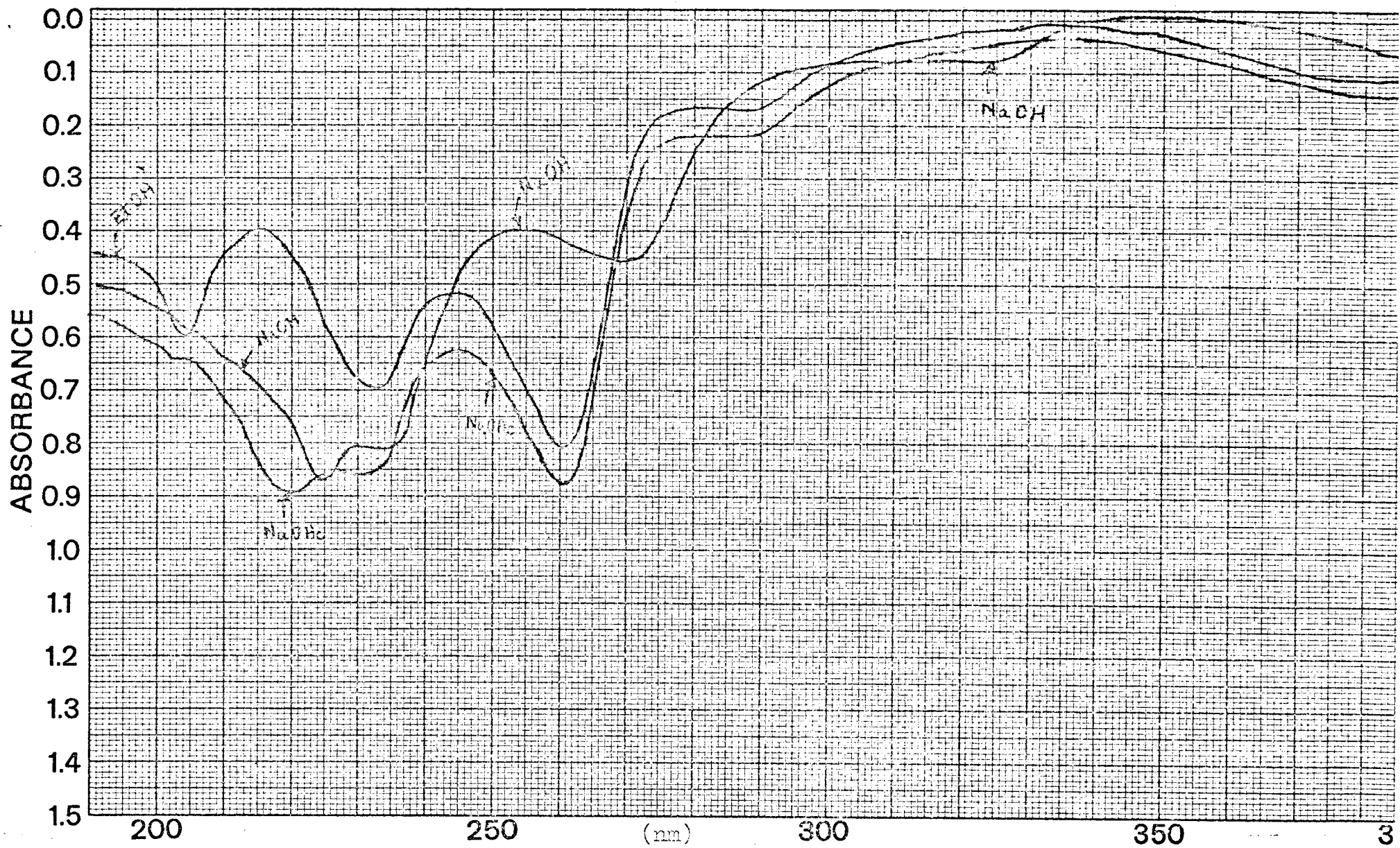


Figura 19

Espectro UV da 1-hidroxi-7-metoxixantona (Tc₁)

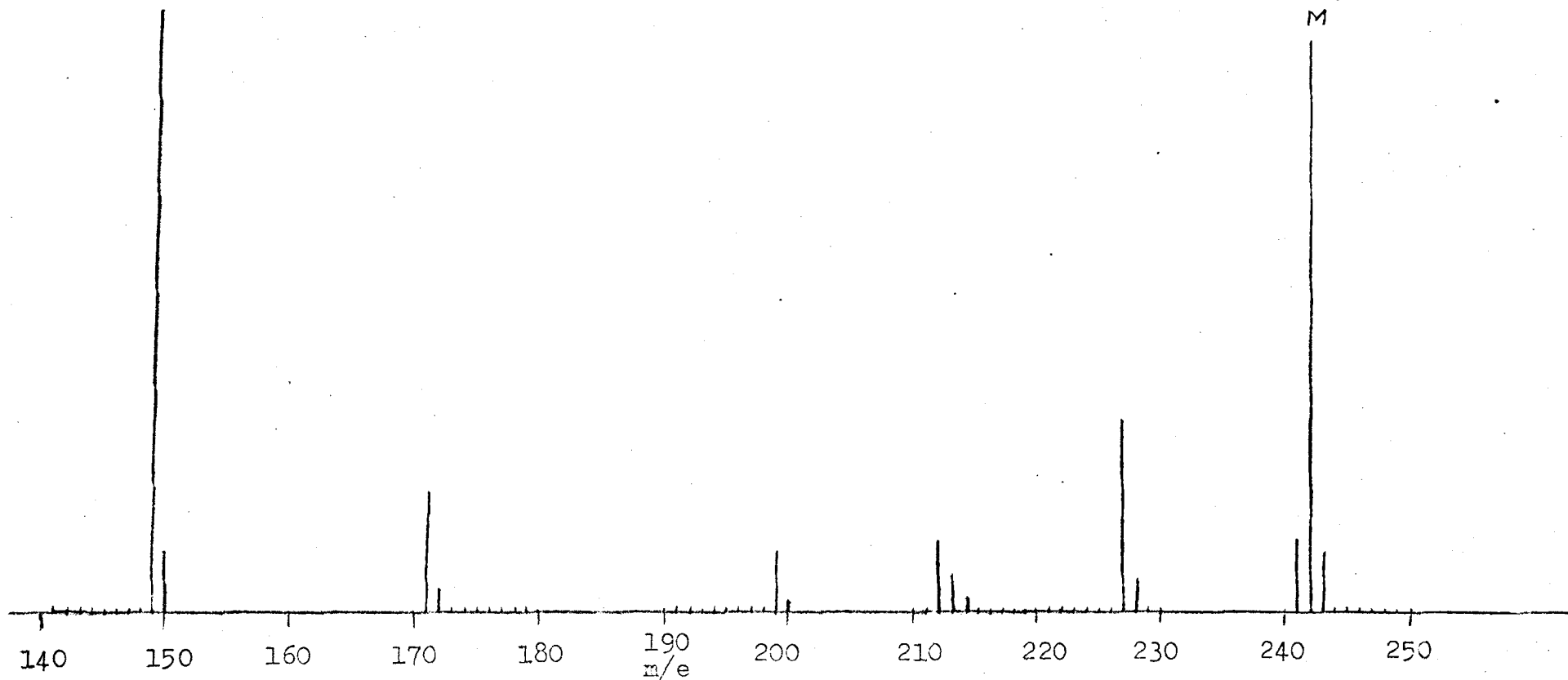


Figura 20

Espectro de massa da l-hidroxi-7-metoxixantona (Tc_1)

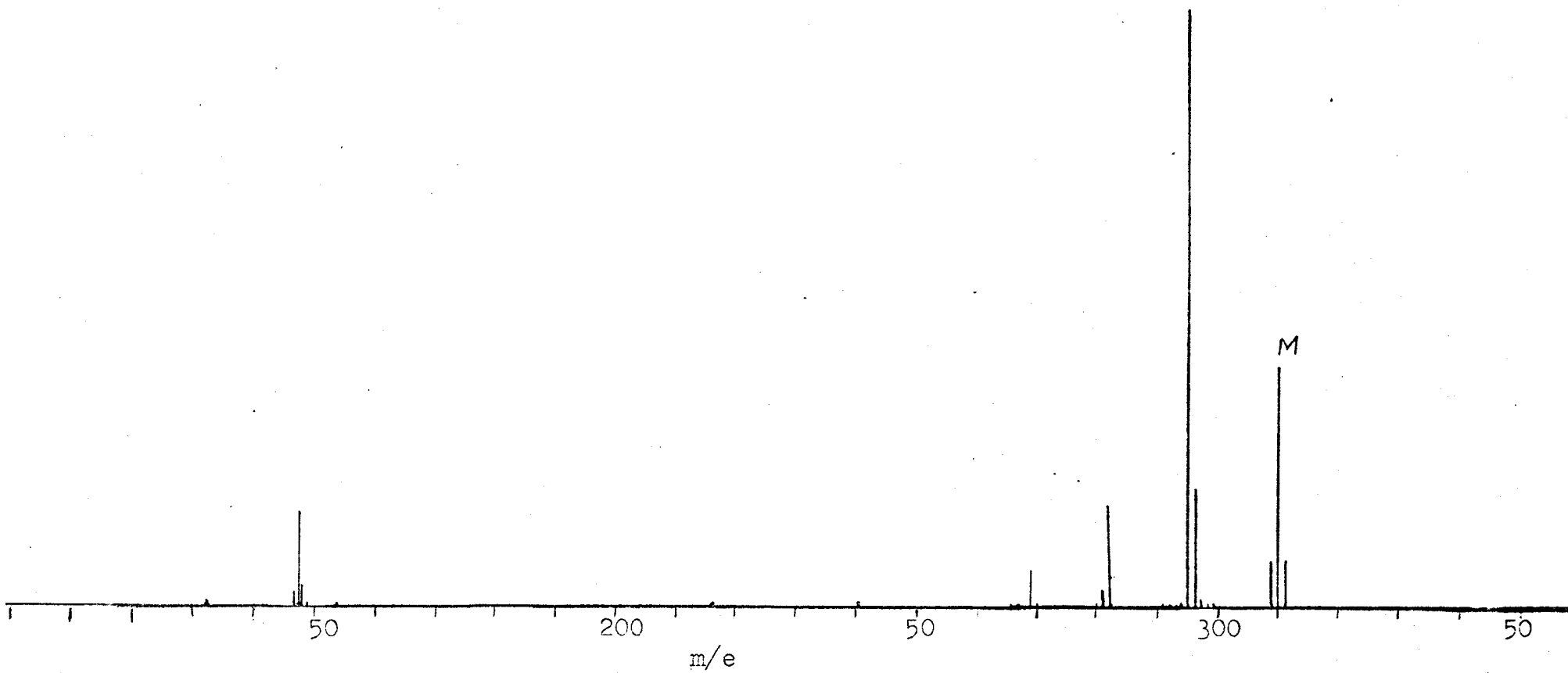


Figura 21

Espectro de massa da tovoxantona (Tc_2)

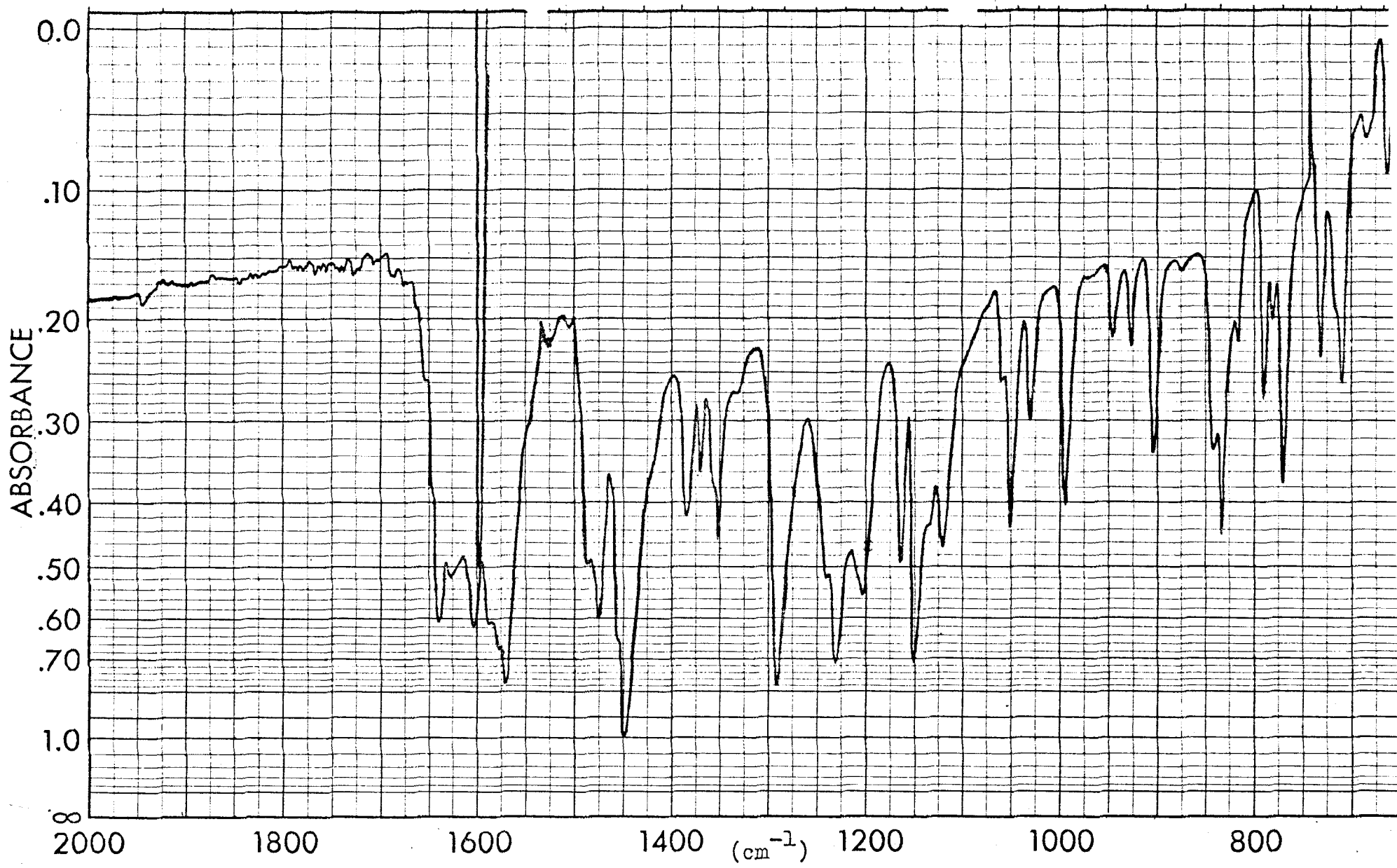


Figura 22

Espectro IV da tovoxantona (Tc_2)

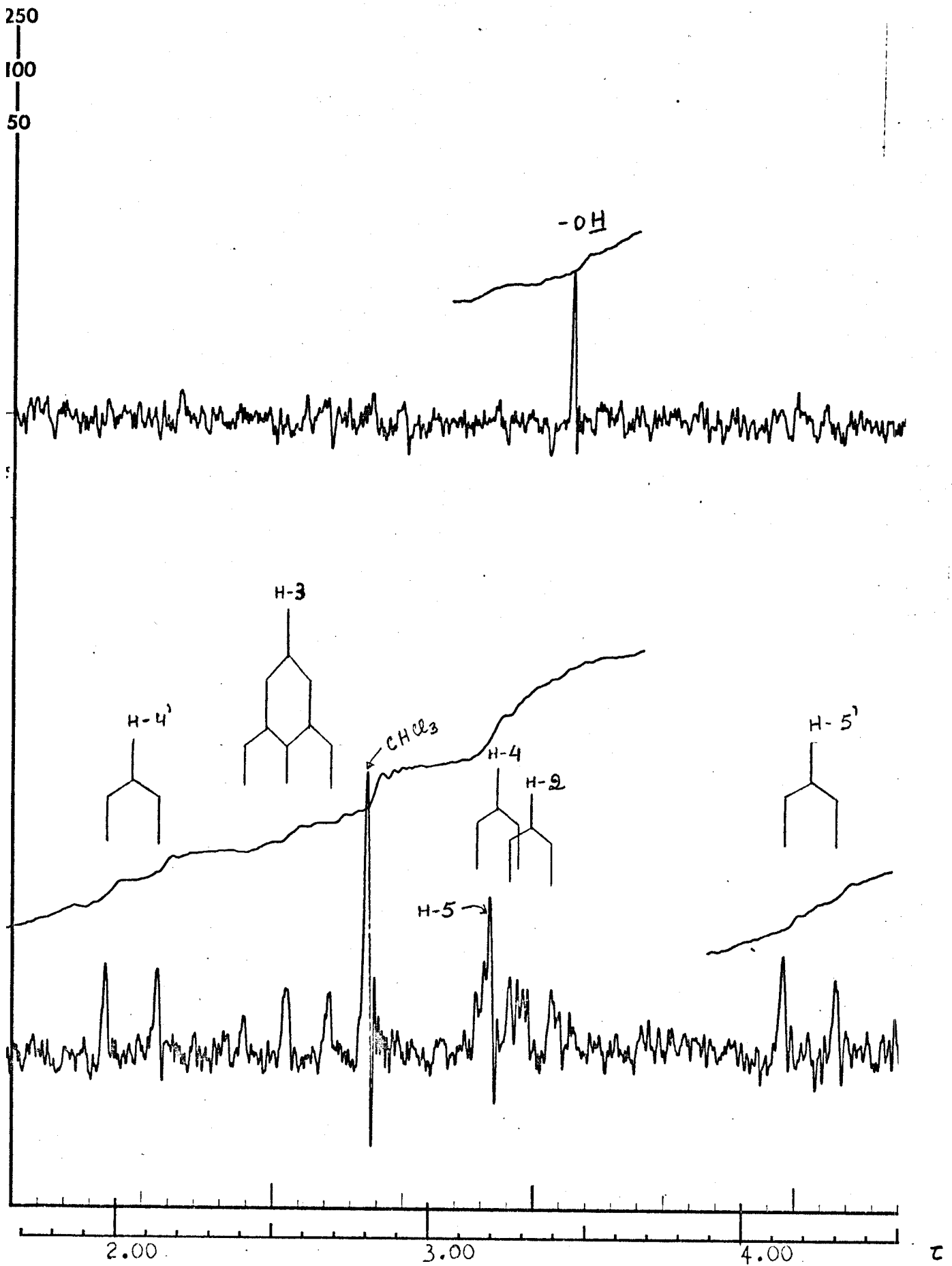


Figura 23

Espectro de RMP da toxantona (Tc_2)

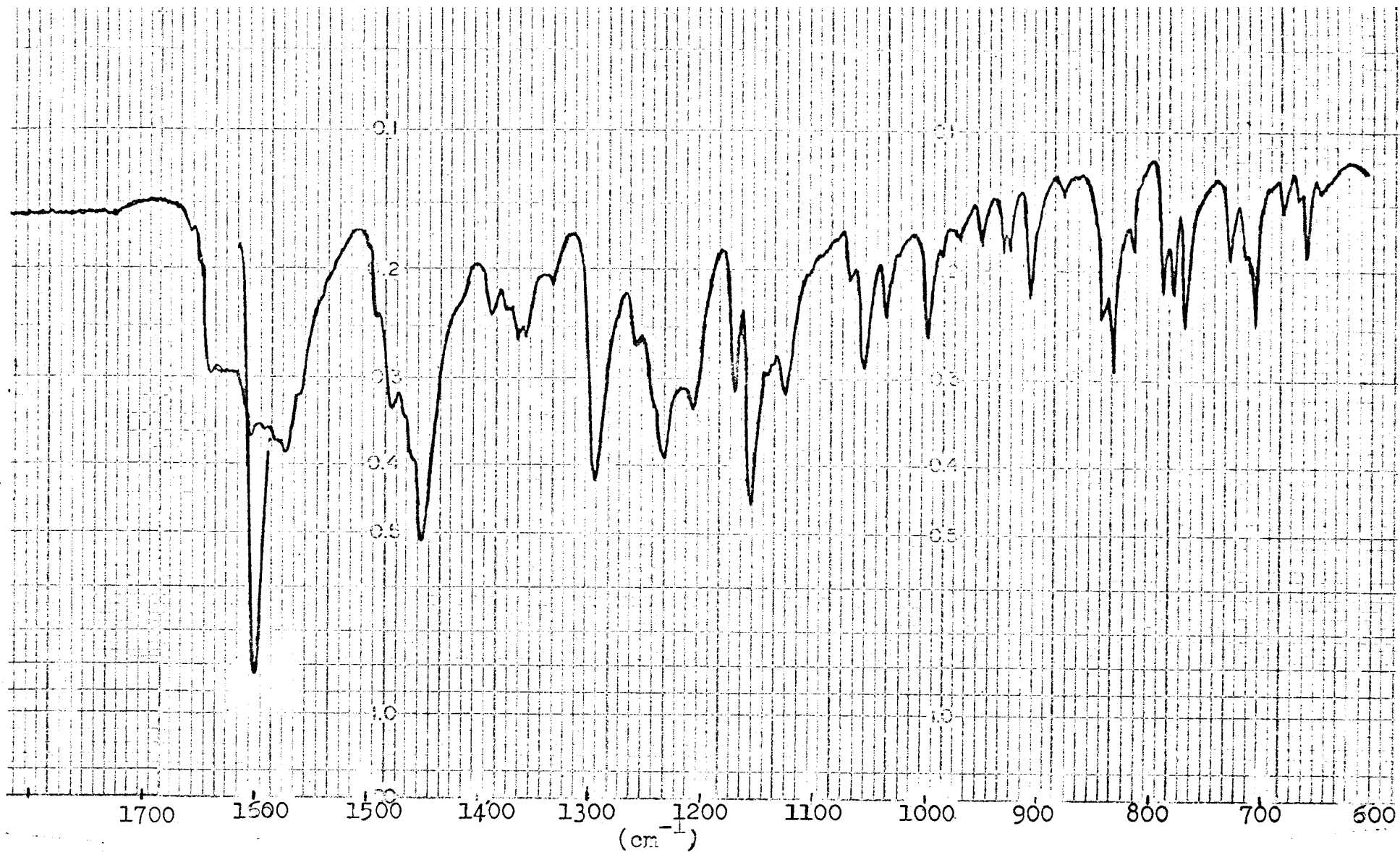


Figura 24

Espectro IV da dihidrotovoxantona (XV)

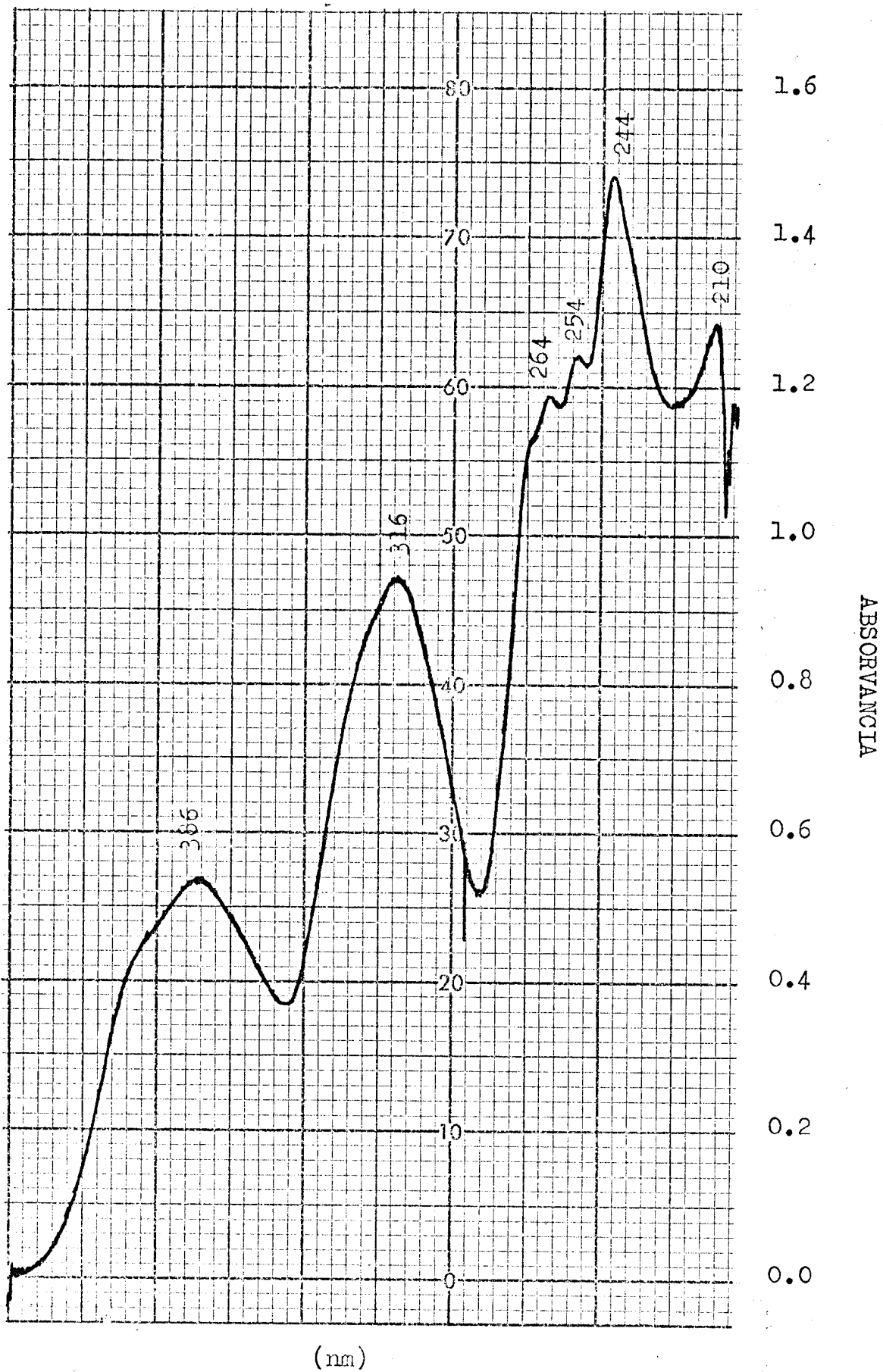


Figura 25

Espectro UV da dihidrotovoxantona (XV)

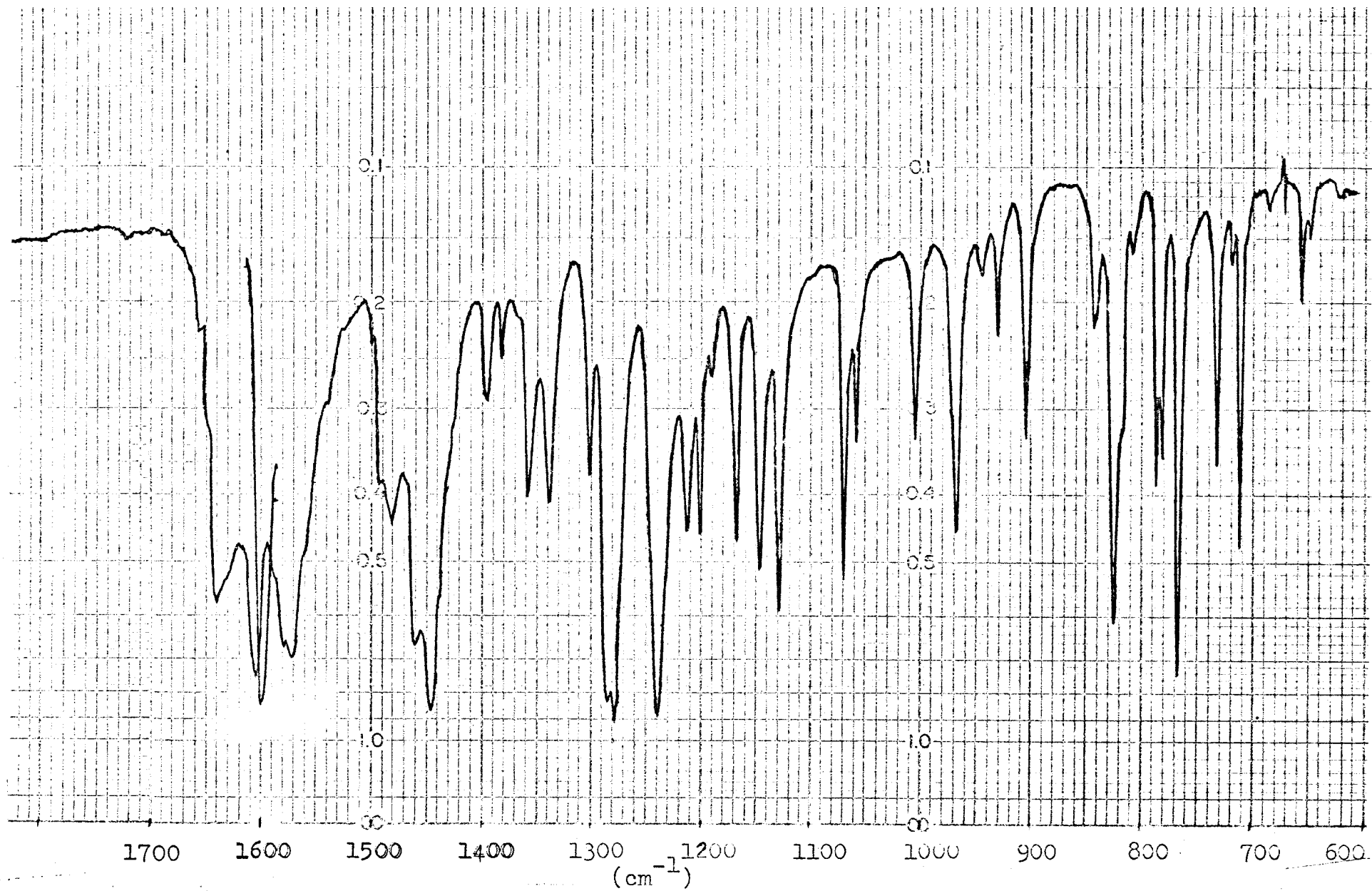


Figura 26

Espectro IV do éter monometílico da tovoxantona (XVI)

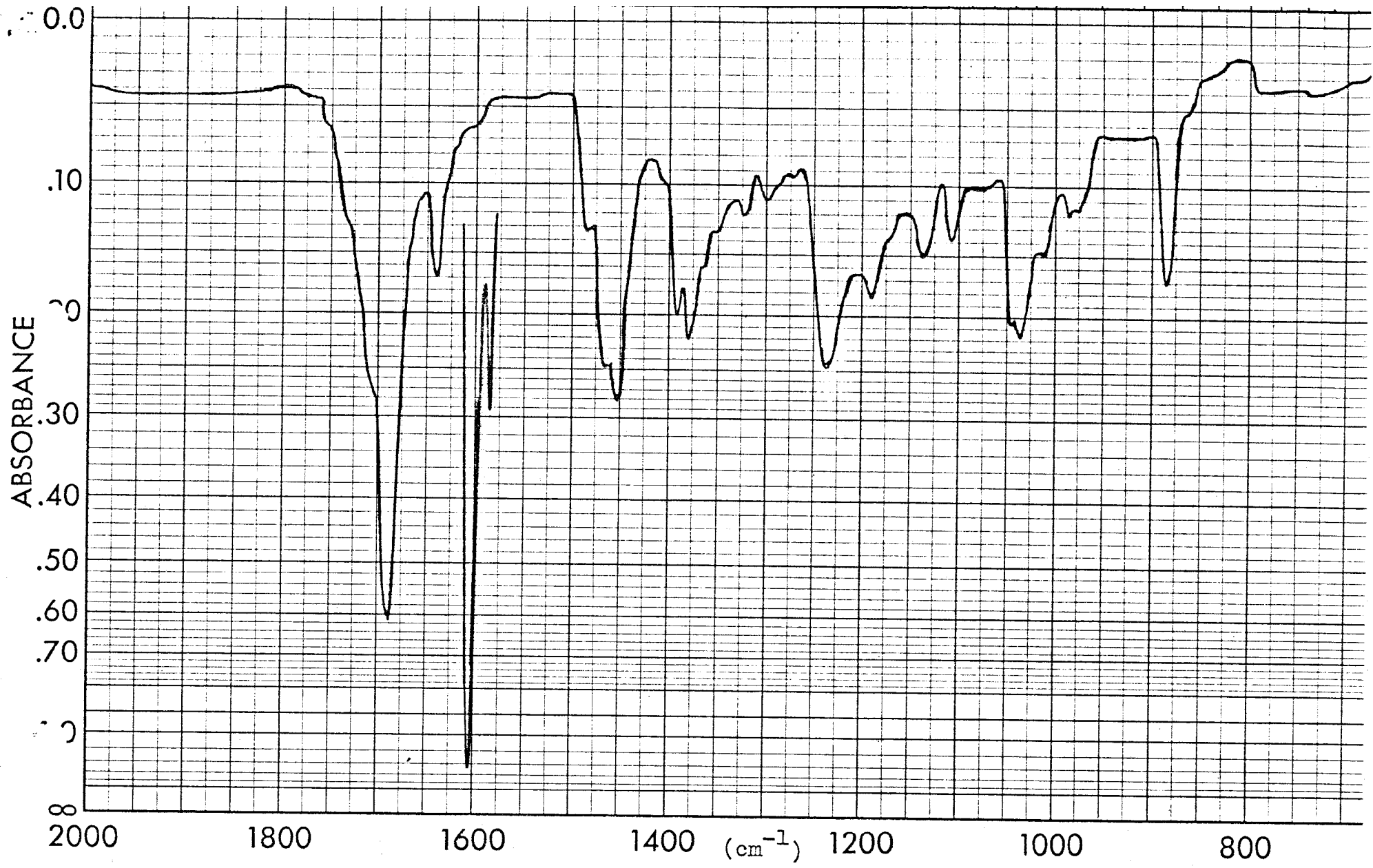


Figura 27

Espectro IV do ácido betulínico (Tc₄)

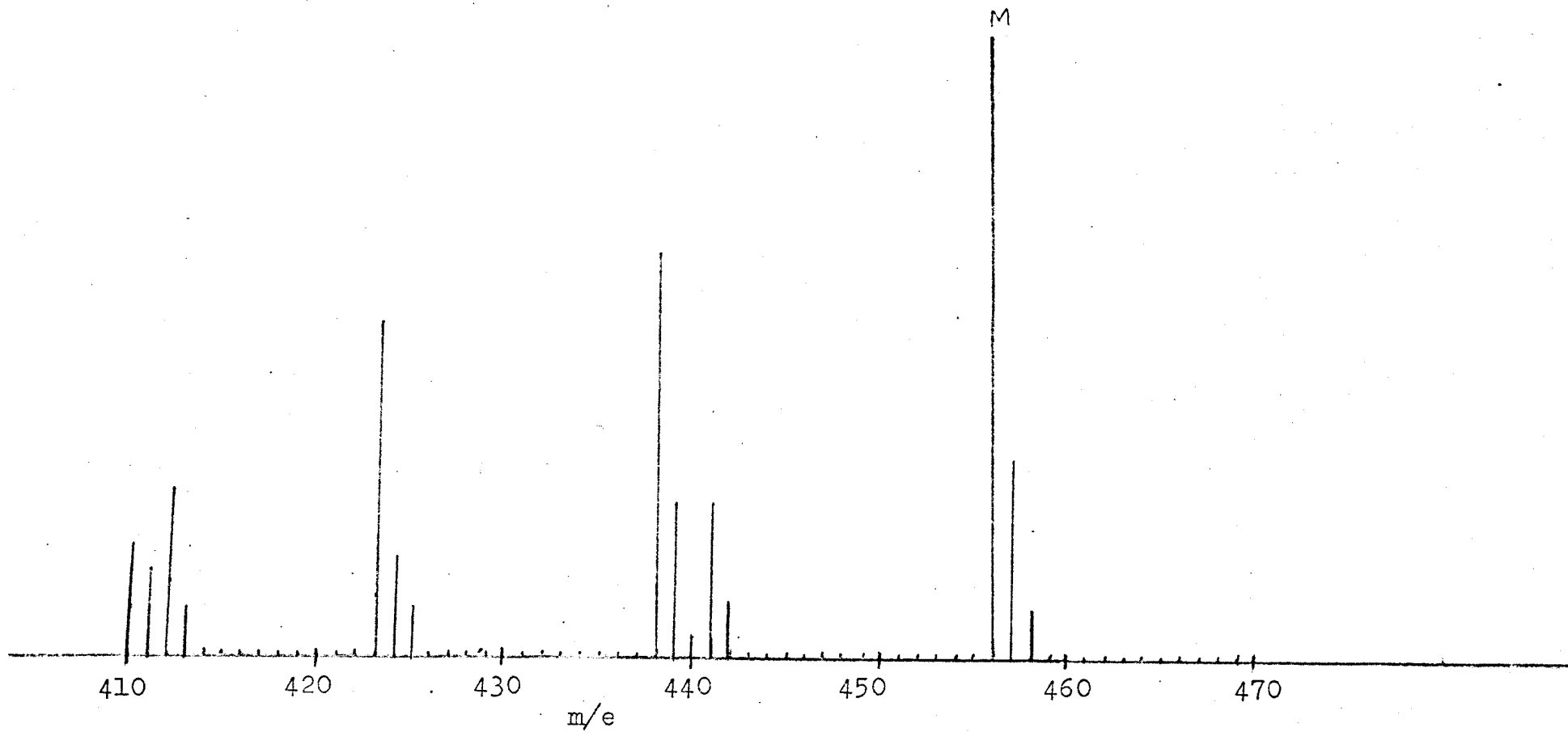


Figura 28

Espectro de massa do ácido betulino (Tc_4)

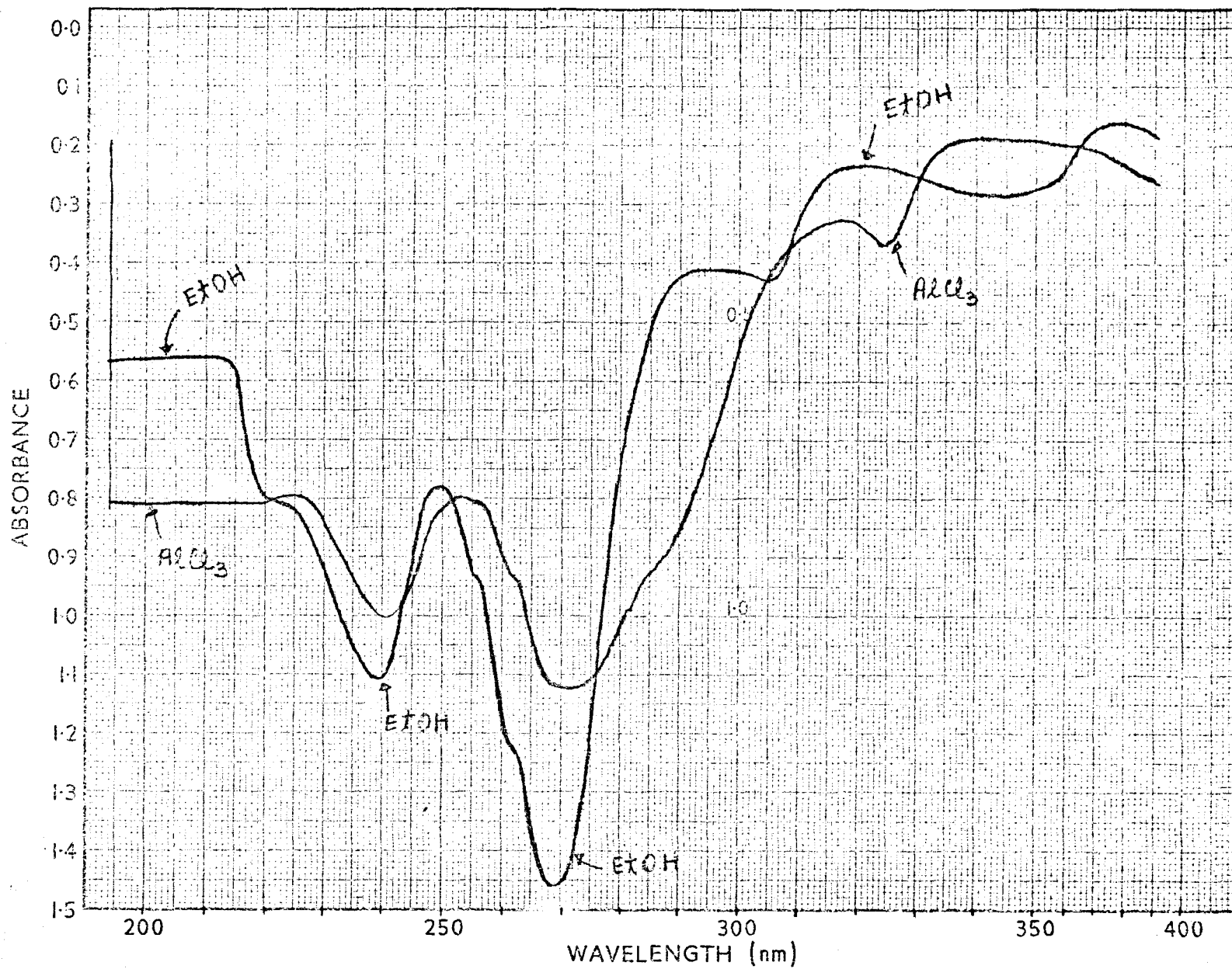


Figura 29

Espectro UV de 1-hidroxi-6',6'-dimetilpirano-(2',3' : 7,8)-xantona (XVII)

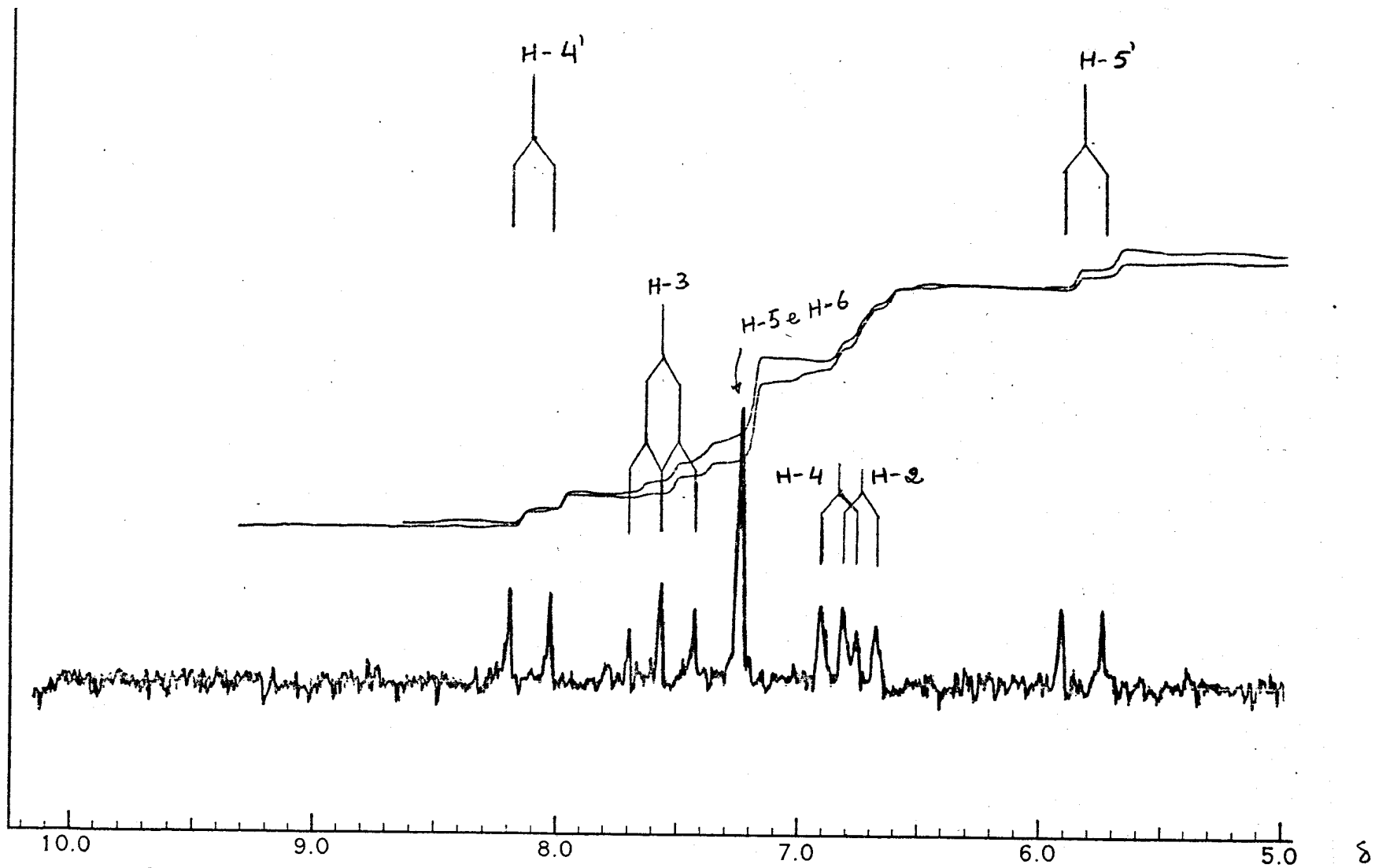


Figura 30

Espectro de RMP de 1-hidroxi-6',6'-dimetilpirano-(2',3' : 7,8)-xantona (XVII)

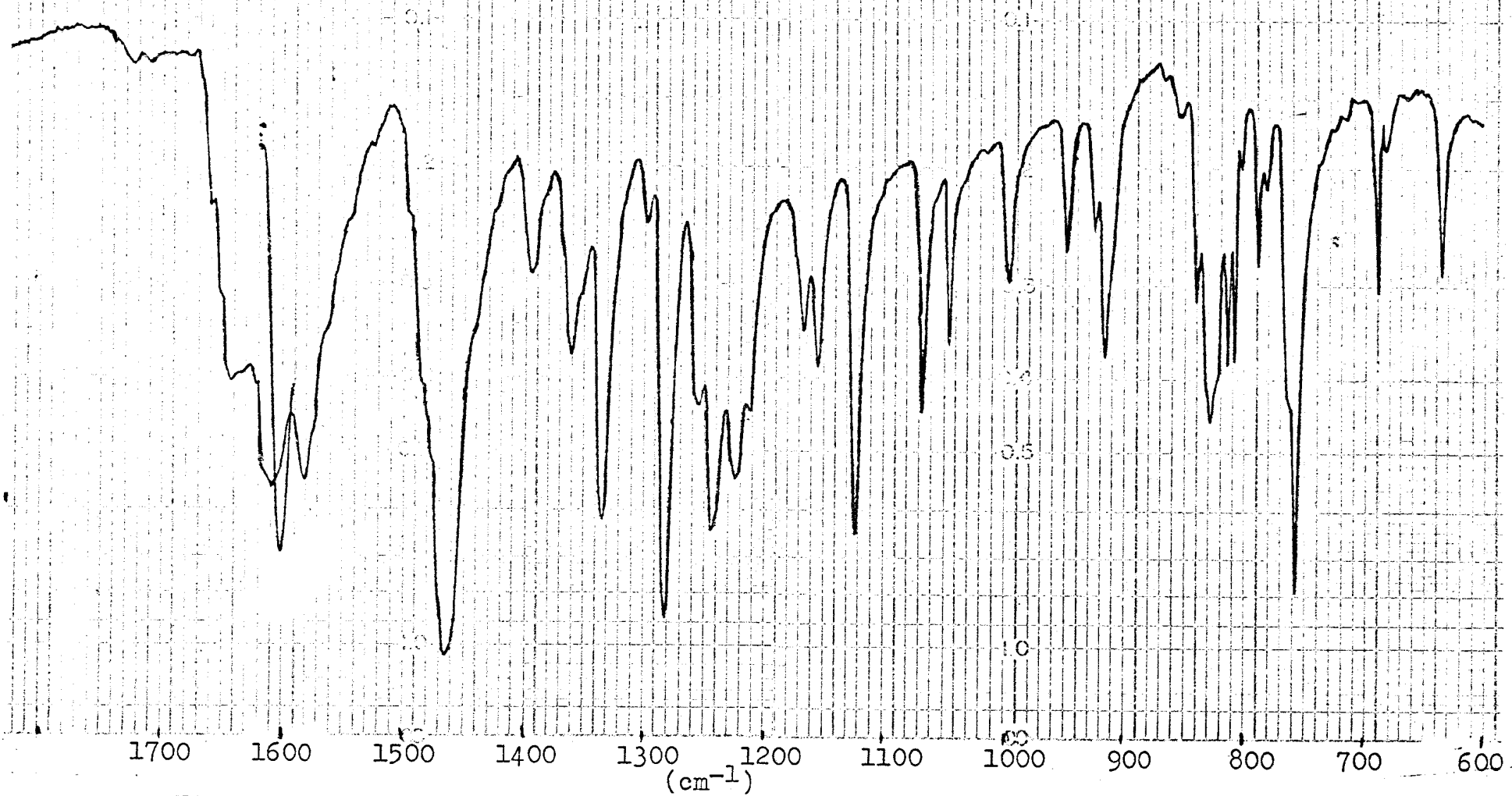


Figura 31

Espectro IV de 1-hidroxi-6',6'-dimetilpirano-(2',3' : 7,8)-xantona (XVII)

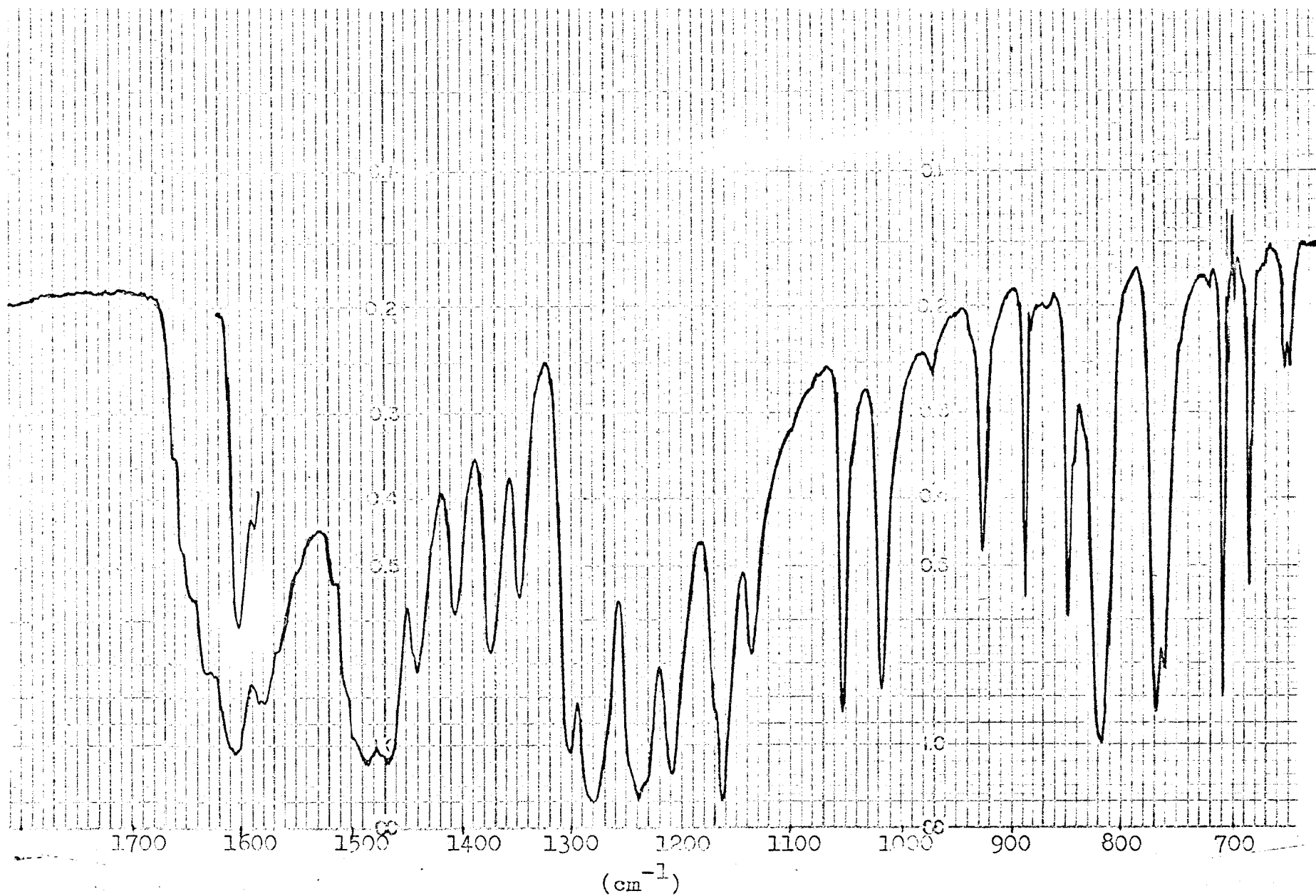


Figura 32

Espectro IV da 1,7-dihidroxi-6-metoxixantona (XVIII)

RESUMO

A madeira do tronco da Tovomita choisyana contém sitosterol, stigmasterol, ácido betulínico (XIV), 1-hidroxi-7-metoxixantona (XI) e um novo composto denominado tovoxantona, que foi revelado como a 1,6-dihidroxi-6^o,6^o-dimetilpirano(2^o,3^o:7,8)-xantona (XIII). Afim de comprovar a estrutura proposta, empreendemos inicialmente a síntese da 1-hidroxi-6^o,6^o-dimetilpirano-(2^o,3^o:7,8)-xantona (XVII) como substância modelo, e a seguir a síntese do éter monometílico da tovoxantona, a 1-hidroxi-6-metoxi-6^o,6^o-dimetilpirano-(2^o,3^o:7,8)-xantona (XVI).

BIBLIOGRAFIA

- (1) A.A.Lins Mesquita, D. de Barros Correa, O.R.Gottlieb e M.Taveira Magalhães, Anal. Chim. Acta, 42, 311 (1968).
- (2) D. de Barros Correa, L.G.Fonseca e Silva, O.R.Gottlieb e S.Janot Gonçalves, Phytochem., 9, 447 (1970).
- (3) D.Barraclogh, O.R.Gottlieb, H.D.Lockeley, F.Scheinmann e M.Taveira Magalhães, J. Chem. Soc. B, 603 (1970).
- (4) L.M.Jackman, in 'Progress in the Chemistry of Organic Natural Products', editado por L. Zechmeister, vol. XXIII, p. 354, Springer Verlag, Wien (1965).
- (5) J.R.Lewis e J.B.Reary, J. Chem. Soc. C, 1662 (1970).
- (6) G.Cardillo, R.Cricchio, e L.Merlini, Tetrahedron, 24, 4825 (1968).
- (7) A.J.Quillinan, Ph.D. Thesis, University of Salford (1971).
- (8) O.R.Gottlieb e G.M.Stefani, Phytochem., 9, 453 (1970).

CAPÍTULO III

Estudo químico de Streptomyces capocamus

INTRODUÇÃO

Desde 1946 (1) vários antibióticos tem sido isolados de metabólitos de actinomyceetos, quase sempre de elevada toxicidade e apresentando com frequência, apreciável ação anticâncer em tumores experimentais. Assim, por exemplo, no Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, foram isolados, em culturas submersas de uma cêpa de Streptomyces capoamus Queiroz, Albert e Lima (2), captada de uma amostra de terra procedente da Ilha de Ascensão, duas entidades distintas, coradas, que foram denominadas ciclacidina e ciclamicina. Enquanto ambos estes produtos mostraram possuir ação antimicrobiana, destacou-se a ciclamicina, ainda, por possuir propriedades antitumorais (3).

Na produção do antibiótico foi empregado um meio a base de farinha de soja e glicose, conforme se depreende de publicação original (3). Após 5-6 dias de fermentação, a coloração máxima foi atingida, sendo o antibiótico encontrado, principalmente, no micélio. O isolamento dos componentes ativos foi feito de acordo com o esquema da página 82. A ciclacidina apresentou-se sob forma de longas agulhas vermelho alaranjadas. A ciclamicina (fração a) apresentou-se como um precipitado amorfo de coloração vermelho-tijolo, ofe

recendo um maior rendimento e apresentando melhor ação antimicrobiana. A ciclamicina (fração b) apresentou-se como um pó amorfo, de cor vermelho-tijolo, com propriedades, inclusive espectrais, semelhantes à fração anterior.

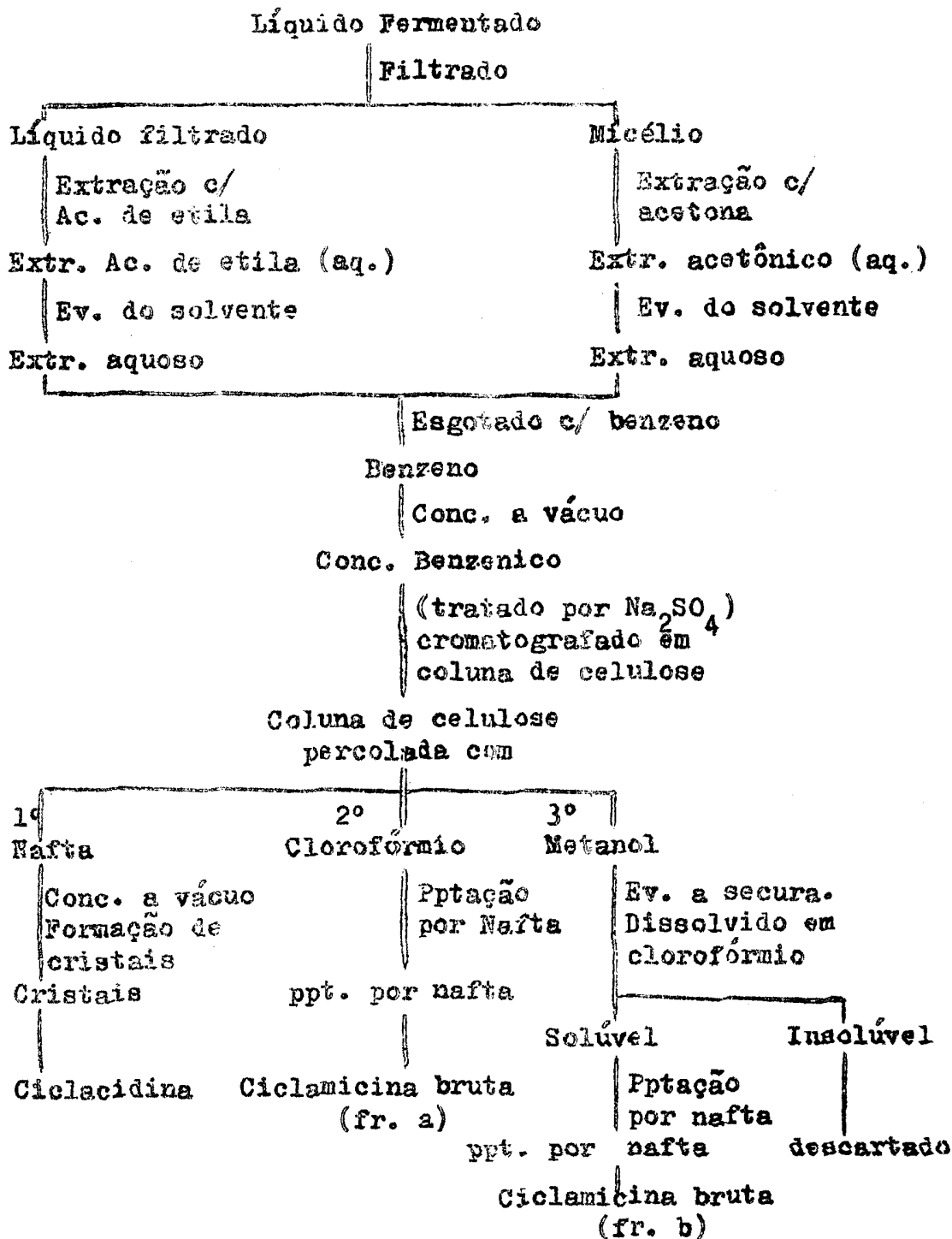
A fração correspondente a ciclacidina apresentou atividade antibiótica menor do que a ciclamicina contra o Bacillus subtilis. Todas elas apresentaram ação inibitória contra os germes Gram-positivos, sendo que a ciclamicina (fração a) ofereceu resultados significativos para os ácidos-resistentes (Mycobacterium) e para Brucella, enquanto a ciclamicina (fração b), com baixa atividade para aqueles, apresentou, todavia, uma discreta inibição das espécies de Brucella.

Nos testes de toxidez a ciclacidina apresentou uma ação menor do que a ciclamicina (frações a e b).

Nas provas de ação antitumoral a ciclamicina apresentou uma ação inibitória sobre Sarcoma 180 (S-180-S) em camundongos, enquanto, a ciclacidina se mostrou inativa contra o S-180-S.

Agradecemos ao Professor O. Gonçalves de Lima, Diretor do Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, as amostras desses antibióticos.

Esquema de Extração e Isolamento dos
Antibióticos partindo do Líquido Fermentado (3)



IDENTIFICAÇÃO DE CICLACIDINA E CICLAMICINA

Ciclacidinas:

η -pirromicinona (Sc_1)

Ciclacidina foi purificada por passagem através de uma coluna filtrante de sílica, fornecendo Sc_1 , cristais vermelhos com fluorescência alaranjada, que, após purificação por meio de recristalização em metanol e benzeno, deram p.f. 237-238° dec. . O espectro no infravermelho (Figura 33) indicou tratar-se de substância aromática, pois apresenta bandas em 1605, 1580, 1505 cm^{-1} (vibrações no plano do esqueleto C=C) e uma banda (fraca em 2900 cm^{-1} (estiramento C-H aromático). Ainda apresentou uma banda intensa em 1720 cm^{-1} e uma banda mais fraca em 1650 cm^{-1} (estiramento C=O). O espectro no ultravioleta sugeriu tratar-se de uma antraquinona (λ_{max}^{EtOH} 250, 273, 310 inf. nm). O deslocamento dos máximos de absorção, em meio alcalino, revelou a presença de hidroxila fenólica. Solubilidade, em solução aquosa de KOH, confirmou a existência de hidroxila fenólica, e insolubilidade, em solução aquosa de Na_2CO_3 , mostrou a ausência de hidroxila em posição para a carbonila. O pico molecular figurou no espectro de massa a M 392. Consultando a literatura (3,4,5,6) verificamos que as propriedades p.f., espec-

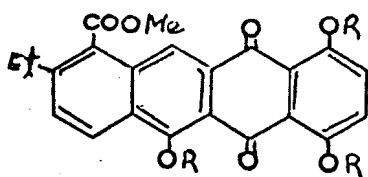
tro no ultravioleta e no infravermelho, peso molecular obtidas para Sc₁ se coadunam com os dados publicados para a η -pirromicinona (VII), substância anteriormente isolada de culturas de Streptomyces DOA 1205, Streptomyces niveoruber e Streptomyces galileus (4, 7, 8). As propriedades de um acetato, cristais amarelos, p.f. 206-208° dec., recristalizado em metanol, e espectro no infravermelho (Figura 33), obtido por tratamento de Sc₁ com anidrido acético e piridina sob refluxo, também se apresentaram idênticas aos dados da literatura (4,5,6) do acetato da η -pirromicinona (VIIa). Finalmente, comparação direta de Sc₁ com uma amostra autêntica de η -pirromicinona, gentilmente cedida pelos Prof. Dr. H. Brockmann e Dr. J. Niemeyer, Universität Göttingen, Alemanha Ocidental, que envolveu p.f. misto, co-cromatografia em camada delgada sobre sílica gel, variando as fases móveis, e espectrometria no infravermelho, confirmou a hipótese. Ficou assim, a Sc₁ identificada com a η -pirromicinona.

Ciclamicina:

η -pirromicinona (Sc₁), ξ -pirromicinona (Sc₂)
e cinerurbinas (Sc₃)

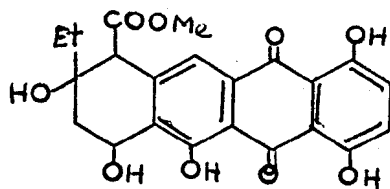
Ciclamicina foi cromatografada em coluna de sílica. O produto eluído em primeiro lugar, foi identificado com a η -pirromicinona (Sc₁). Toda a eluição da coluna foi acompanhada por espectrometria no ultravioleta, notando-se que a partir de certa fração a Sc₁ (λ_{max} 250 nm) vinha acom

panhada de Sc_2 (λ_{max} 239 nm). As frações subsequentes que continham Sc_2 pura, permitiram a identificação da substância com a ξ -pirromicinona (VI) (4,5,6), substância que co-ocorre com a η -pirromicinona nos Streptomyces acima indicados. Por fim forneceu a coluna o produto Sc_3 , identificado como sendo constituído por um ou mais heterosídeos, cujas propriedades, inclusive espectrais no infravermelho e no ultravioleta, os caracterizam como cinerurbinas (VIa), um grupo de glicosídeos nitrogenados da ξ -pirromicinona (VI), que também ocorre nas espécies de Streptomyces citados (4,7,8).



R = H ... *n*-pirromicinona (VII)

R = COCH₃ ... triacetato da *n*-pirromicinona (VIIa)



ϵ -pirromicinona (VI)

$C_{44}H_{59}NO_{18} \pm CH_2$
cinerurbinas (VIa)

PARTE EXPERIMENTAL

Isolamento dos constituintes da ciclacidina e da ciclamicina

Ciclacidina:

A ciclacidina (200 mg), material cristalino, vermelho-alaranjado, foi purificado por meio de uma coluna filtrante de sílica gel, utilizando benzeno como eluente. Forneceu cristais vermelhos (130 mg), com fluorescência alaranjada, que foram recristalizados em metanol e receberam a sigla Sc₁.

Ciclamicina:

Cromatografia em camada delgada revelou a identidade das frações a e b da ciclamicina, motivo pelo qual foram reunidas.

A ciclamicina, material amorfo (300 mg) de coloração vermelho tijolo, foi fracionado por cromatografia em sílica gel, utilizando benzeno e clorofórmio como eluentes. Dessa maneira, foram recolhidas 130 frações de 10 ml cada. Durante a eluição com benzeno isolamos um material cristali-

no, vermelho, que se mostrou idêntico a Sc₁ por cromatografia em camada delgada. Em seguida, durante a eluição com clorofórmio, isolamos dois materiais diferentes, que receberam as siglas Sc₂ e Sc₃.

α -Pirromicinona (Sc₁)

Cristais vermelhos, fluorescência alaranjada, p.f. 237-238° dec. (benzeno-metanol) lit. (4) 237-238° dec..
 $\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 2900, 1720, 1650, 1605, 1580, 1505, 1450, 1280, 1225, 1140, 818, 775, 735, 715. $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 250, 274, 310 inf., 490, 514 (ϵ 14900, 10450, 3900, 5800, 6100);
 $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 265, 345, 400, 550 (ϵ 18400, 1350, 1550, 6250); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$ (nm): 250, 274, 490, 514 (ϵ 18050, 12000, 6450, 6100). EM: M 392.

Tri-O-acetil- α -pirromicinona (VIIa)

Uma solução de Sc₁ (20 mg) em piridina foi adicionada de anidrido acético recém destilado (4 ml), e mantida sob refluxo durante três horas. Em seguida a solução foi vertida sobre gelo moído. O precipitado foi lavado com HCl (1:3) e, a seguir, com água rendendo um produto que, após re cristalização em metanol, deu cristais amarelos (13 mg); p.f. 206-208° dec. lit. (4) 206-208° dec. . $\gamma_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹):

2900, 1750, 1720, 1650, 1610, 1580, 1490, 1450, 1405, 1360,
1310, 1250, 1200, 1180, 1110, 1020, 940, 910, 830.

ε -Pirromicinona (Sc₂)

$\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ (nm): 239, 264, 485, 497, 517, 530.

Cinerubinas (Sc₃)

ν_{\max}^{KBr} (cm⁻¹): 3350, 2890, 2320, 1710, 1590,
1440, 1360, 1280, 1210, 1150, 1110, 1000, 790. $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ (nm):
241, 264, 302.

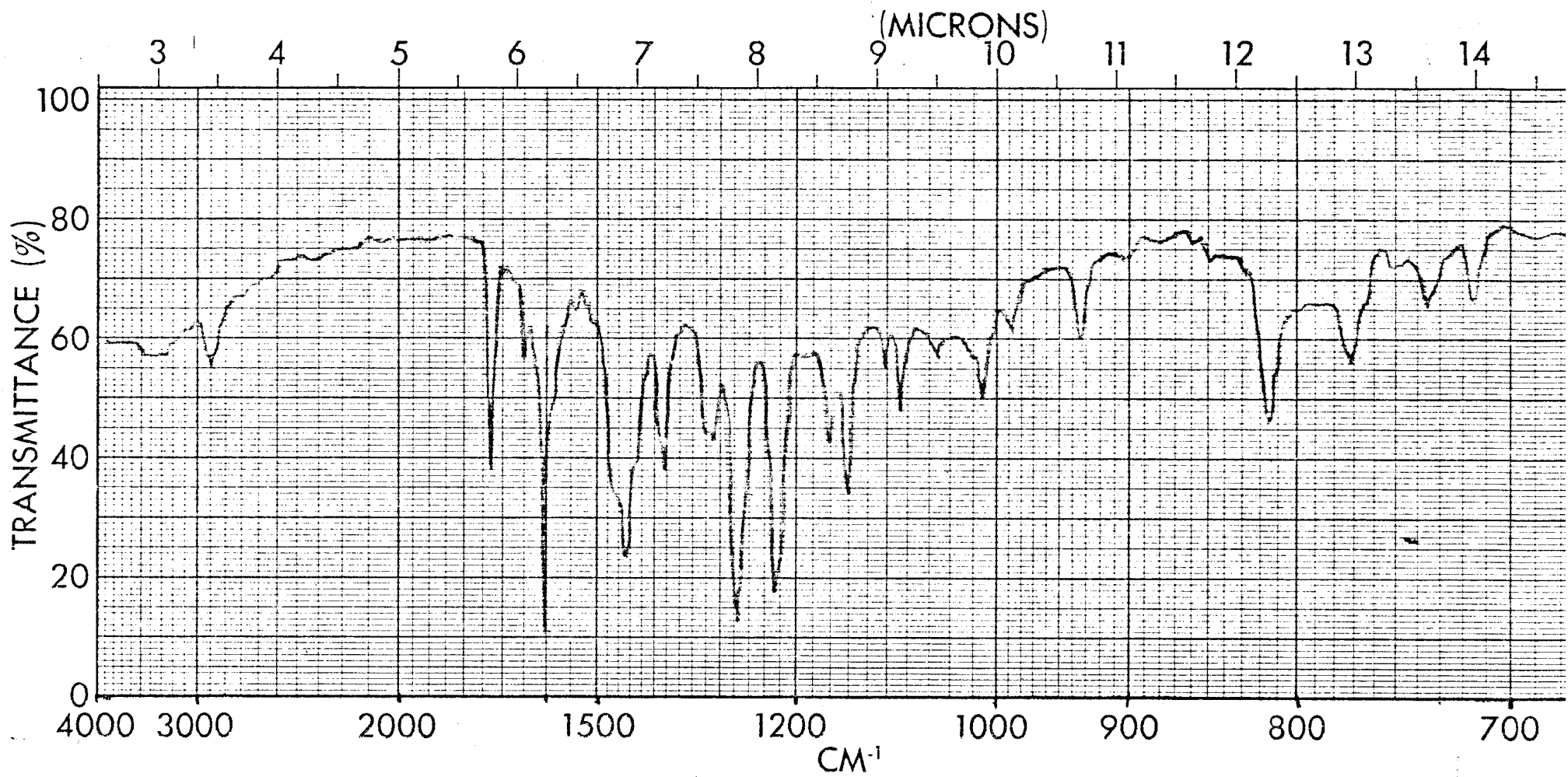


Figura 33

Espectro IV de α -pirromicinona (Sc₁)

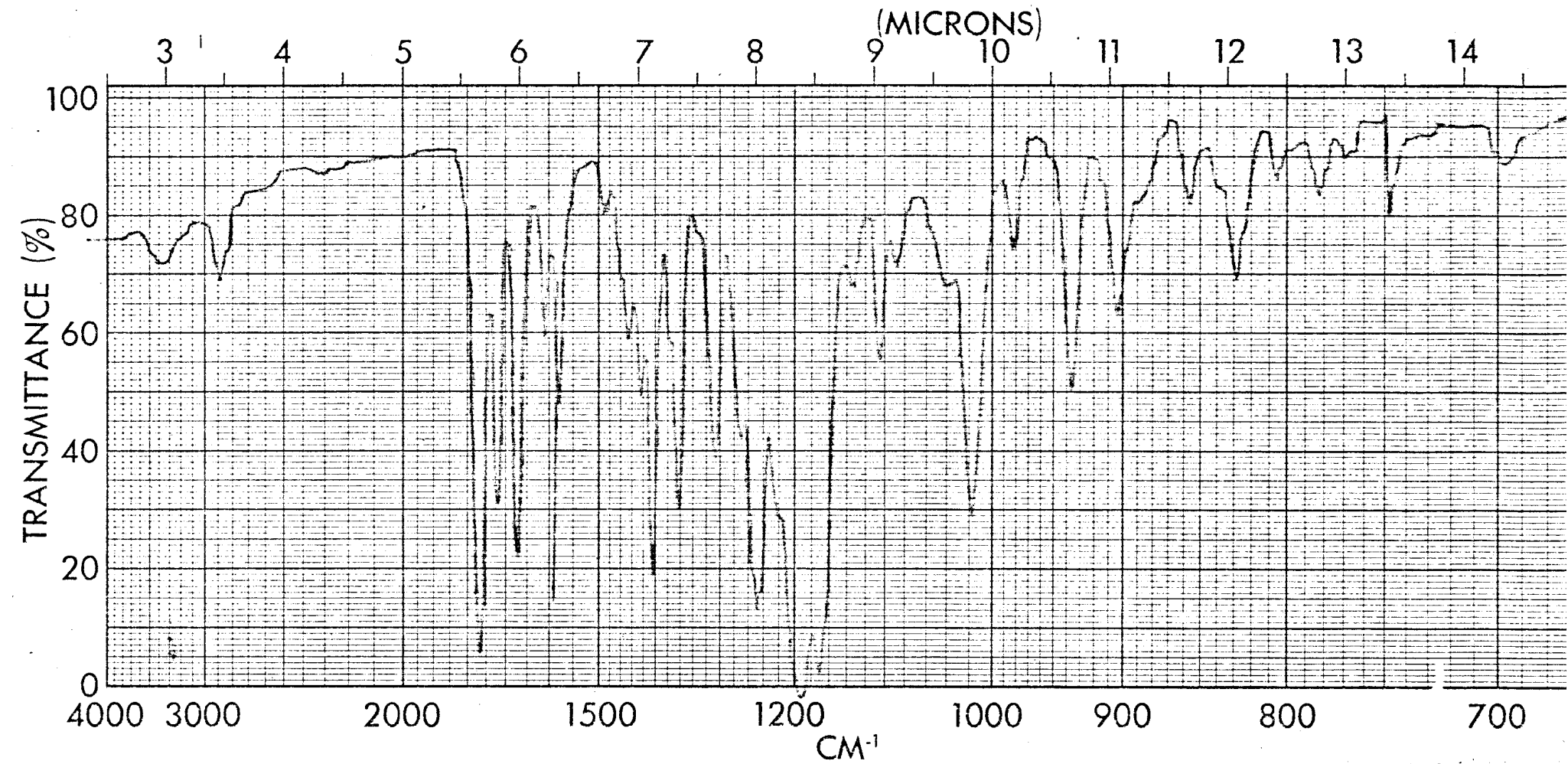


Figura 34

Espectro IV do triacetato da η -pirromicinona (VIIa)

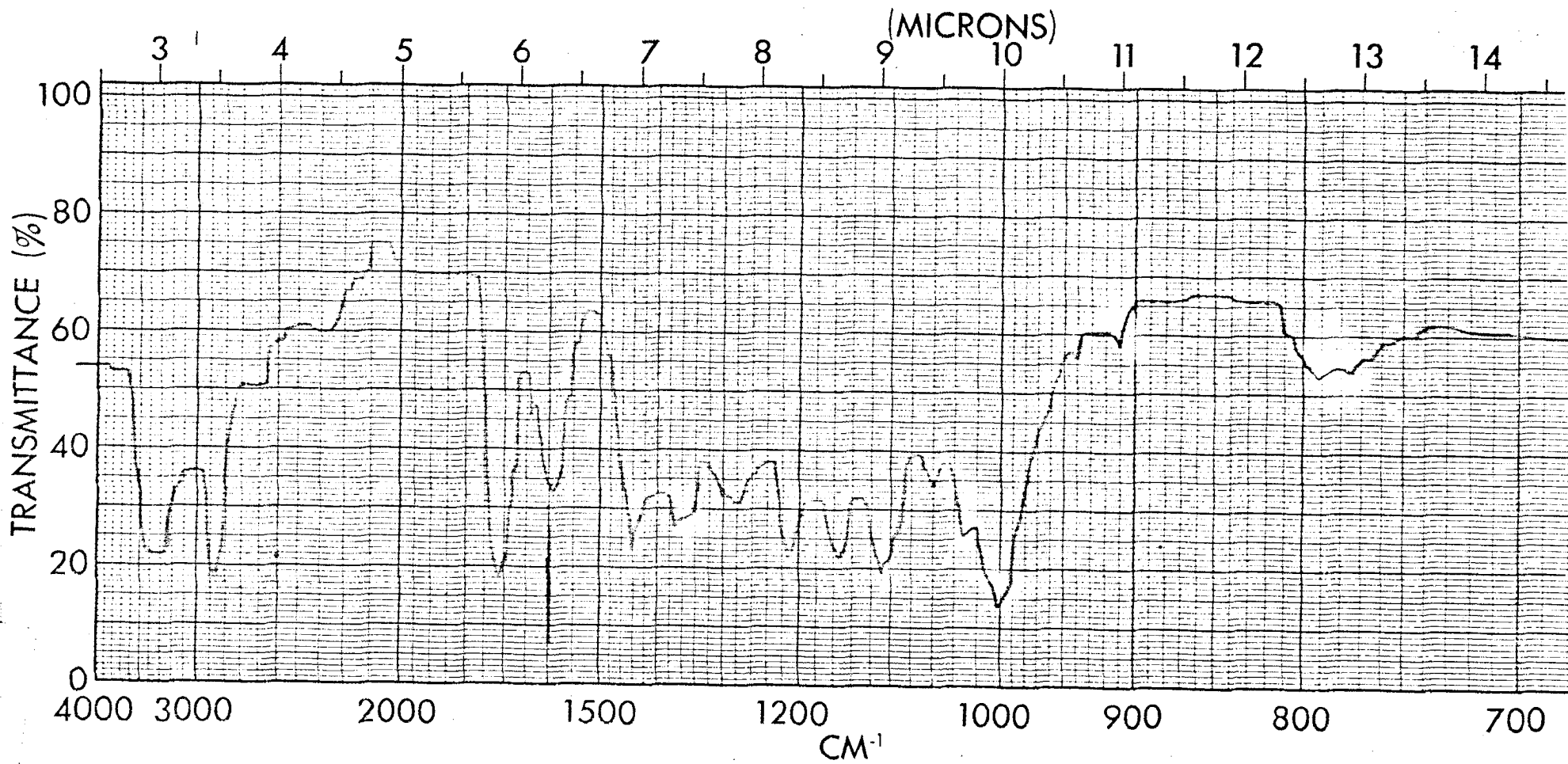


Figura 35

Espectro IV de cinerubinas (Sc_3)

RESUMO

A ciclamicina, produto de atividade antitumoral e antibiótica elaborada pelo Streptomyces capoanus Queiroz, Albert e Lima, contém α - e ξ -pirromicinona (VII e VI), assim como cinerurbinas (VIa). A ciclacidina, outro metabólito do mesmo actinomiceto, foi identificada como a α -pirromicinona (VII).

BIBLIOGRAFIA

- (1) F.G.Gause, Journal of Bacteriology, 51, 649 (1946).
- (2) V.G.L. Queiroz, Albert e O. Gonçalves de Lima, An. Acad. Brasil. Ciênc., 36, 317 (1964).
- (3) F.D.A. Lyra, O. Gonçalves de Lima, J.S. Coelho, M.C. Fernandes de Albuquerque, An. Acad. Brasil. Ciênc., 36, 323 (1964).
- (4) L. Ettliger, E. Gümman, R. Hütter, W. Keller-Schlierlein, F. Krodolfer, L. Neipp, V. Prelog, P. Reusser, H. Zähler, Chem. Ber., 92, 1867 (1959).
- (5) H. Brockmann e W. Lenk, Chem. Ber., 92, 1880 (1959).
- (6) H. Brockmann, H. Brockmann Jr., J.J. Gordon, W. Keller-Schlierlein, W. Lenk, W.D. Ollis, V. Prelog e I.O. Sutherland, Tetrahedron Letters, nº 8, 25 (1960).
- (7) H. Brockmann e W. Lenk, Chem. Ber., 92, 1904 (1959).
- (8) H. Brockmann, in Progress in the Chemistry of Organic Natural Products (editado por L. Zechmeister), vol. XXI, p. 121, Springer Verlag, Wien (1963).

NOTAS

1. Separações por cromatografia em coluna foram efetuadas utilizando sílica gel 0.05-0.20 mm da "Merck". Para cromatografia em camada delgada utilizou-se sílica G da "Merck". Para cromatografia em camada espessa utilizou-se sílica G e sílica P F₂₅₄ da "Merck" na proporção 2:1.
2. Determinações de pontos de fusão foram feitas em microscópio de aquecimento, seg. Kofler.
3. Nitidez de ponto de fusão e obtenção da mancha única por cromatografia em camada delgada, variando-se os sistemas de desenvolvimento e reveladores, foram os critérios de pureza adotados.
4. Comparações diretas entre substâncias envolveram determinação de ponto de fusão misto, espectro no infravermelho e cromatografia em camada delgada variando-se os sistemas de desenvolvimento.
5. Os espectros no infravermelho foram registrados no espectrometro Perkin-Elmer, modelo 137, existente na Universidade de São Paulo, no espectrometro Perkin-Elmer, modelo 257, existente na Universidade Federal Rural do Rio de

Janeiro, no espectrometro Perkin-Elmer, modelo 137B, existente na Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizados comprimidos contendo 1.0 mg de amostra por 100 mg de KBr.

6. Os espectros no ultravioleta foram registrados no espectrometro Perkin-Elmer, modelo 272, existente na Universidade Federal de Minas Gerais, no espectrometro Perkin-Elmer, modelo 402, existente na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e no espectrometro Beckman, modelo DU, existente na Universidade Federal de Pernambuco. Sempre que possível utilizou-se soluções a 1 mg%. Os espectros foram registrados em meio neutro (EtOH ou CHCl_3) e com ação de aditivos (NaOH, HCl, AcONa, H_3BO_3 , AlCl_3). A mesma quantidade de aditivo foi colocada nas duas células (célula referência e célula amostra).
7. Os espectros de ressonância magnética nuclear foram varridos no espectrometro Perkin-Elmer, modelo R10, existente na Universidade de São Paulo, no espectrometro da Varian, modelo T-60, existente no Instituto Nacional de Tecnologia, Ministério da Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, por cortesia do Dr. L.D. Antonaccio e do Dr. P. Baker e no espectrometro da Varian, modelo T-60 da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Como solventes foram utilizados sempre que possível CDCl_3 e CCl_4 , apenas nos casos em que a amostra se mostrou insolúvel nestes solventes lançou-se mão de outros solventes ($\text{CD}_3\text{-CO-CD}_3$, $\text{CD}_3\text{-SO-CD}_3$). Tetrametilsilano foi usado como referência interna. Os deslocamentos químicos foram anotados em unidades τ (ppm). Constantes de acoplamento (J) foram dadas

em Hz. Banda simples ... s, banda dupla ... d, banda tríplice ... t.

8. Os espectros de massa foram obtidos no espectrômetro modelo MS9 da Associated Electrical Industries pelo Dr. C.P. Falshaw, por gentileza do Prof. W.D.Ollis, University of Sheffield, Inglaterra, e no espectrometro Perkin-Elmer, existente no Instituto Nacional de Tecnologia, Ministério da Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, por cortesia do Dr. L.D.Antonaccio e do Dr. P.Baker.