

ESTUDO QUÍMICO DE PLANTAS AMAZÔNICAS

Eugenia biflora, Myrcia citrifolia,

Licaria puchury-major,

Licaria macrophylla e Licaria aurea

TESE

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

JOSÉ GUILHERME SOARES MAIA

junho de 1973

O trabalho descrito nesta tese foi realizado sob a orientação do Prof. Dr. Otto Richard Gottlieb.

A meus pais
com toda a gratidão

O autor deseja agradecer

Ao Dr. Paulo de Almeida Machado, Diretor Geral do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pelo apoio, estímulo e facilidades colocadas a sua disposição para a composição da presente tese.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia que possibilitou, através de concessões de bolsas de pesquisas, a sua formação pós-graduada e a realização da presente tese.

A todos os meus colegas de laboratório, tanto da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, muito especialmente a Miriam Leão da Silva, que contribuíram decisivamente na realização deste trabalho.

Ao Dr. William Rodrigues e Dra. Maglene Freitas da Silva, botânicos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pelas identificações das plantas estudadas.

Aos irmãos Luis e Dionisio Coelho, práticos de campo do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pela coleta das plantas

A toda a "família" do INPA que de uma maneira ou de outra, ajudaram na confecção desta tese.

ÍNDICE

Introdução.....	1
Estudo químico da <u>Eugenia biflora</u> e <u>Myrcia citrifolia</u>	4
A planta e seus constituintes.....	5
Identificações.....	6
Parte experimental.....	15
Estudo químico da <u>Licaria puchury-major</u>	22
A planta e seus constituintes.....	23
Identificações.....	26
Parte experimental.....	48
Estudo químico da <u>Licaria macrophylla</u>	55
A planta e seus constituintes.....	56
Identificações.....	58
Parte experimental.....	78
Estudo químico da <u>Licaria aurea</u>	85
A planta e seus constituintes.....	86
Identificações.....	88
Parte experimental.....	123
Conclusões e comentários biossintéticos.....	135
Resumo.....	142
Bibliografia.....	144

INTRODUÇÃO

Por padrões taxonômicos comuns, há provavelmente cerca de 10 milhões de espécies de organismos no mundo. Os que tem sido descritos nos últimos 210 anos representam apenas 10 a 15% deste total. Para mais de 99% das espécies descritas, se tem anotado alguns poucos fatos morfológicos e uma ou outra localidade onde êles ocorrem. A população humana do mundo, atualmente 3,7 bilhões, está crescendo a uma velocidade que, se mantida, poderá alcançar o dôbro dentro de 35 anos. Por enquanto está longe a certeza de que o mundo poderá suportar indefinidamente o presente nível populacional. A poluição em escala mundial está aumentando de uma maneira tão rápida que organismos já começaram a se extinguir em alta velocidade. Tomamos como exemplo o fato de que dezenas ou, provavelmente, centenas de milhares de espécies de moléculas sintéticas estão sendo jogadas ao mar continuamente, em quase todos os instantes, e seus efeitos são inteiramente desconhecidos.

Em vista do número de taxonomistas e da velocidade de extinção que poderá caracterizar o próximo século, é duvidoso que mais do que 5% dos organismos do mundo possam ser adicionados ao nosso inventário antes de que os 80% remanescentes comecem a se extinguir. Considera-se que até o fim do presente século, todas as áreas de floresta tropical úmida terão sido mexidas, e sabemos que a floresta tropical representa no mundo a área mais rica, e ao mesmo tempo a mais desconhecida em espécies de plantas e animais (1).

Dentro deste aspecto, ousemos afirmar que na bacia amazônica, que possui a maior floresta tropical úmida do mundo, somente uns 5% representam o número de espécies vegetais estudadas com relação a sua composição química. Existem ainda milhares de espécies das quais não se tem o menor conhecimento e duvidamos in

clusive que, outros 5% possam vir a serem estudadas até o fim do ano 2000.

Em conclusão, não resta dúvida que a época de atacar com vigor o estudo fitoquímico de plantas da Amazônia é atual, não obstante o número reduzido de pesquisadores disponíveis para este gigantesco trabalho. Amanhã poderá ser tarde demais.

A química de produtos naturais possui finalidades práticas, objetivando-se o estudo ou a descoberta de matérias-primas de importância medicinal, em perfumarias ou industrial. A presente tese contém dois ensaios químicos sobre plantas de propalada ação curativa utilizadas desde longa data na Amazônia, puchuri e pedra-hume-caá.

Mas a fitoquímica tem também objetivos mais fundamentais entre os quais o esclarecimento de biossíntese dos constituintes vegetais. A morfologia e fisiologia da planta, são largamente determinadas por fatores genéticos que presumivelmente atuam através de sistemas enzimáticos controlando a síntese química. Cada estágio do processo sintético requer um sistema enzimático que é geneticamente controlado e que pode ser modificado. Exame dos resultados de algumas mutações em termos de alteração das estruturas de constituintes secundários, poderia desta forma dar informações sobre as sequências evolutivas e servir como um grande auxílio a taxonomia. Investigações dos aspectos genéticos, no entanto, fogem ao domínio do químico, cuja contribuição a estudos de biossíntese se baseia em seu conhecimento sobre os mecanismos da química orgânica, e sobre a frequência e distribuição de determinados constituintes químicos no reino vegetal. Não se deve atribuir pequena importância, no entanto, a tais formulações hipotéticas de biossíntese por parte do químico. Em se tratando de constituintes de madeira dificilmente chegar-se-ia a resultados por experimentação direta. A presente tese inclui dados a respeito de uma nova classe de produtos naturais obtidos de dois louros do gênero Licaria, família laurácea. Considerações bios

sintéticas a respeito destes produtos inéditos, apesar de hipotéticas, são de considerável importância pois mostram que as propostas estruturais são razoáveis. Os compostos descobertos pertencem a classe das neolignanas. Dada a importância farmacológica das lignanas as quais são estruturalmente próximas, espera-se que sua utilidade biológica potencial seja posta a prova em breve.

ESTUDO QUÍMICO DA EUGENIA BIFLORA (L.) DC.

A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

A Eugenia biflora que estudamos é um arbusto de um a quatro metros de altura, coletado nas matas de Val de Cães na cidade de Belém do Pará, classificado pela Divisão de Botânica do Museu Paraense Emilio Goeldi, por comparação direta com exicata autêntica, número de herbário 28.260. A espécie pertence à família das mirtáceas, possui folhas coriáceas, curtamente pecioladas, lâmina elíptica, as vezes lanceolada, de 4 a 7 cm de comprimento, base arredondada ou obtusa, ápice acuminado, face superior lisa, levemente brilhosa, face inferior levemente tomentosa, nervura central supra impressa e infra-proeminente, nervuras laterais obscuras; inflorescência racemosa, terminal e sub-terminal, flores alvas; fruto esférico, cálice persistente, cerca de 5 mm de diâmetro, de cor púrpura, baga preta quando madura. A planta é de vegetação secundária, de beira de praia, solo arenoso, se espalha por lugares abertos no Pará, Oiapoque, Amazonas e Maranhão. Utilizada por decocção de suas folhas, para fins medicinais como ação hipoglicemiante, doenças do fígado, rins, etc.

Os extratos benzênico e etanólico de suas folhas foram obtidos. Submetemos estes extratos a processos cromatográficos de separação. Obtivemos duas substâncias que receberam siglas EB-1 e EB-2 e efetuamos o seu estudo químico.

IDENTIFICAÇÕES

EB-1

O espectro no infravermelho (IV) (Fig.1) mostrou absorção em 1647 cm^{-1} , atestando presença de carbonila. A frequência relativamente baixa justificou a possibilidade de pertencer a um esqueleto flavônico ($1641\text{-}1672\text{ cm}^{-1}$) (2) sustentando um grupo hidroxila quelatogênico na posição 5. As absorções em 1600 , 1504 e 833 cm^{-1} indicaram a natureza aromática da substância e evidencia haver um grupo fenila disubstituído em posições 1,4. As absorções em 1250 , 1135 e 1042 cm^{-1} sugerem a presença de grupos éter em EB-1.

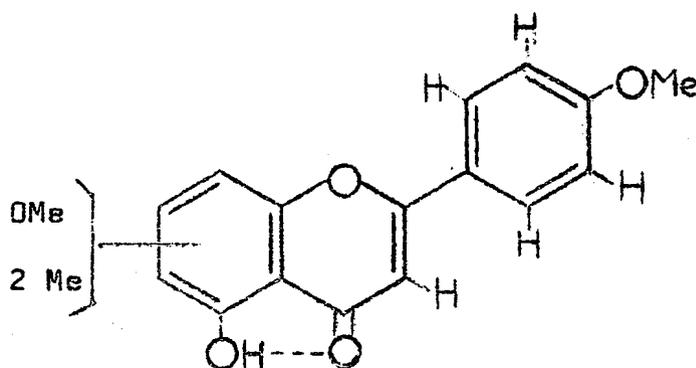
Espectrometria de massa (EM) (Fig.2) de alta resolução, estabeleceu um peso molecular de 326 unidades de massa, sugerindo $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5$ como fórmula molecular.

O espectro no ultravioleta (UV) (Fig.3) apresentou máximos de absorção em 283, 289 e 327 nm (ϵ resp. 34468, 22168 e 24124). Adição de solução alcalina não alterou o espectro.

O espectro de ressonância magnética protônica (RMP) (Fig.4) se apresentou compatível para o esqueleto básico das flavonas através do comparecimento de um sinal simples em $3,4\tau$ devido ao H em C-3 do anel heterocíclico, verificando-se um total de 9 posições possíveis de substituição em anel aromático. Duas bandas simples $7,8\tau$ e $7,6\tau$ representam dois grupos metila não equivalentes. Duas bandas simples em $6,2\tau$ e $6,1\tau$ representam dois grupos metoxila igualmente não equivalentes. Duas bandas duplas em $2,2\tau$ e $3,0\tau$ formando o característico sistema AA'BB' de flavonas com o anel B substituído em 4' por uma função oxigenada. A banda dupla em $2,2\tau$ pertence aos prótons $\text{H}_{2'}$ e $\text{H}_{6'}$, acoplados em orto ($J=9\text{Hz}$) com os prótons $\text{H}_{3'}$ e $\text{H}_{5'}$. Os prótons $\text{H}_{2'}$ e $\text{H}_{6'}$, absorvem em campo mais baixo, devido à sua conjuga-

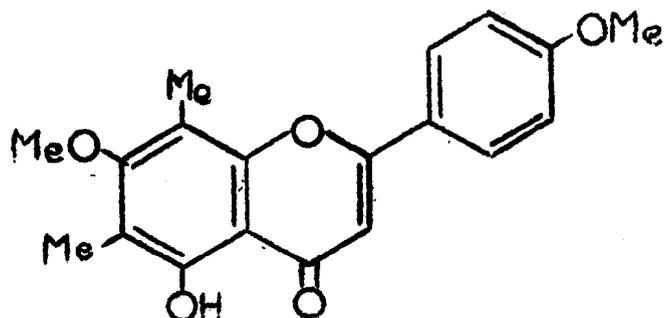
ção com o grupamento carbonílico, e o efeito anisotrópico deste grupo e da ligação dupla do anel heterocíclico. A banda dupla em $3,0\tau$ pertence aos protons H_3 , e H_5' , acoplados em orto ($J \sim 9\text{Hz}$) com os protons H_2 , e H_6 . Absorvem em campo mais alto devido ao efeito protetor de um oxigrupo em posição $4'$. Uma vez que a única hidroxila da molécula já foi localizada em C-5 por espectrometria no IV, deve existir uma metoxila em C- $4'$. De fato, a banda simples referente ao proton hidroxílico aparece em $0,3\tau$, confirmando a existência de um 5-hidroxi grupo.

Da posse destes dados de RMP e IV pudemos admitir a seguinte estrutura parcial para EB-1:



Restou somente localizar uma metoxila e as duas metilas. Estes grupos poderiam ser localizados através de trabalho químico e com o auxílio de espectrometria no UV. Se supossemos o grupo OMe localizado em posição 7, bastaria desmetilar a molécula de EB-1 e, em seguida, estudar o produto no UV com o uso de aditivos como o acetato de sódio que sabemos ionizar somente grupos OH em posição 7, com o deslocamento batocrômico de 5 a 20 nm da banda II do espectro. Entretanto não houve necessidade deste trabalho, pois consulta da literatura nos levou a uma publicação australiana sobre a composição de espécies de Eucalyptus, que contém eucaliptina (I) (5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona) (3) (4) cujos dados espectrais (IV e UV) e físicos, eram idênticos aos de EB-1.

Ensaio de cor realizados com a eucaliptina isolada de Eucalyptus globulus Labill, (3), foram repetidos com EB-1 e os resultados se mostraram idênticos.



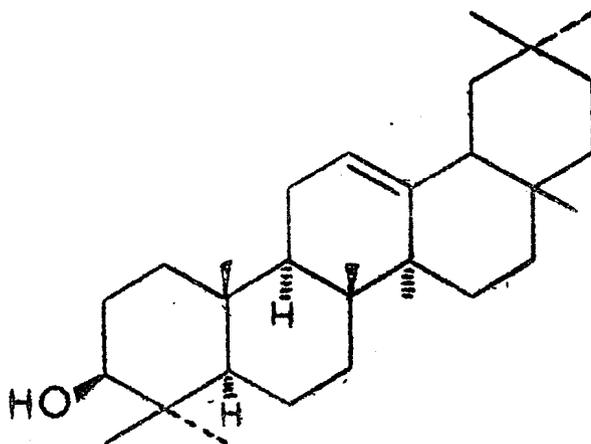
(I)

EB-1 ainda foi acetilado, o espectro de RMP de seu acetato (Fig.5) apresentou as seguintes absorções: Três bandas simples em 7,78 τ , 7,61 τ e 7,52 τ representando 3 grupos metila não equivalentes, sendo a que cai em campo mais baixo pertencente ao grupo acetila que substituiu o H hidroxílico. Duas bandas em 6,17 τ e 6,10 τ representando 2 grupos metoxila ligados a molécula novamente em posições não equivalentes. Uma banda simples em 3,36 τ representando o H do C-3 do esqueleto flavônico. Duas bandas duplas em 2,95 τ e 2,07 τ representando os pares de protons $H_{3,5}$ e $H_{2,6}$, simétricos, acoplados entre si em orto, com $J \sim 11\text{Hz}$.

O ponto de fusão do acetato de EB-1, 245-246^o C, serviu como valiosa informação para confirmar a estrutura da molécula ao se comparar com o ponto de fusão encontrado na literatura (4).

EB-2

As constantes físico-químicas indicaram tratar-se de β -amirina (II). Comparação direta com amostra autêntica confirmou esta suposição (5).



(II)

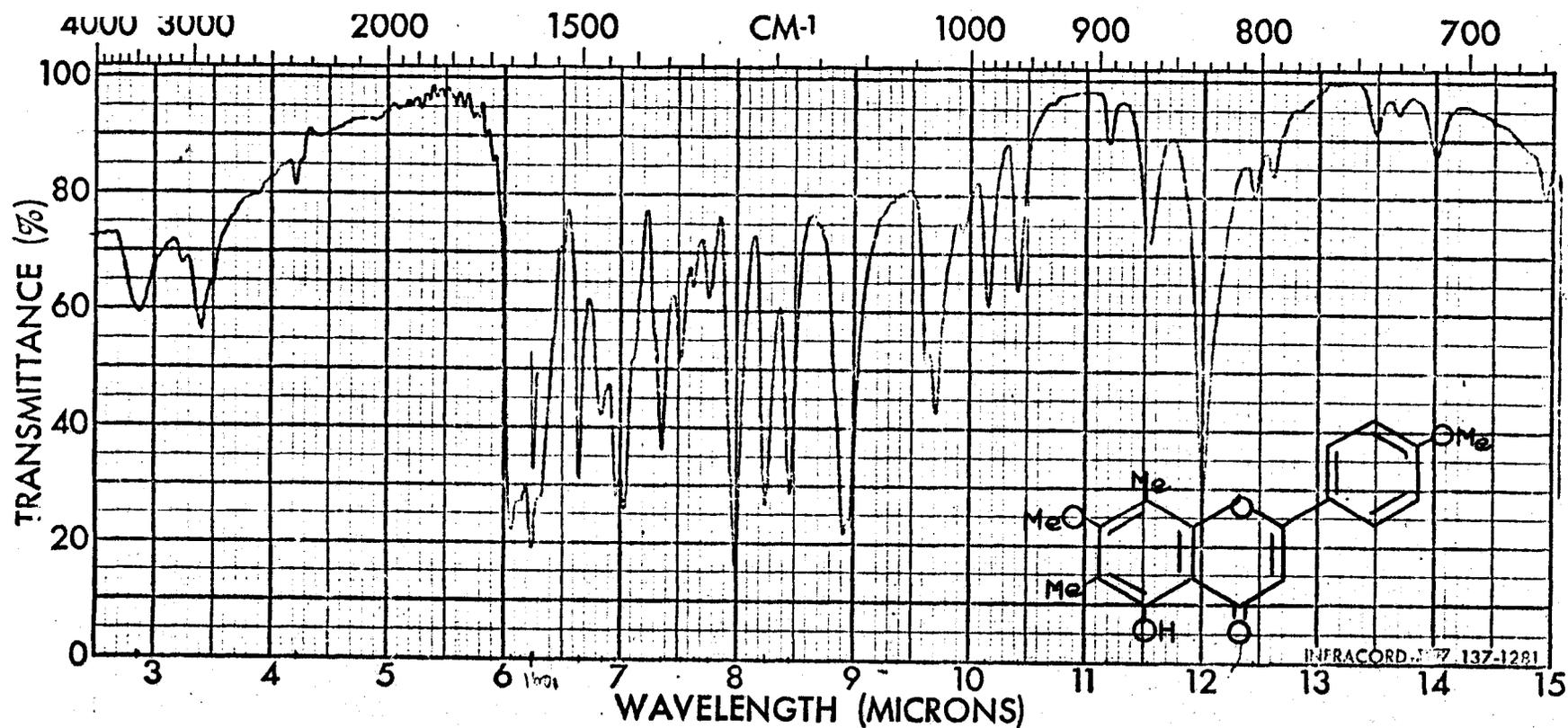


Fig.1

Espectro IV da Eucaliptina. (5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona) - EB-1

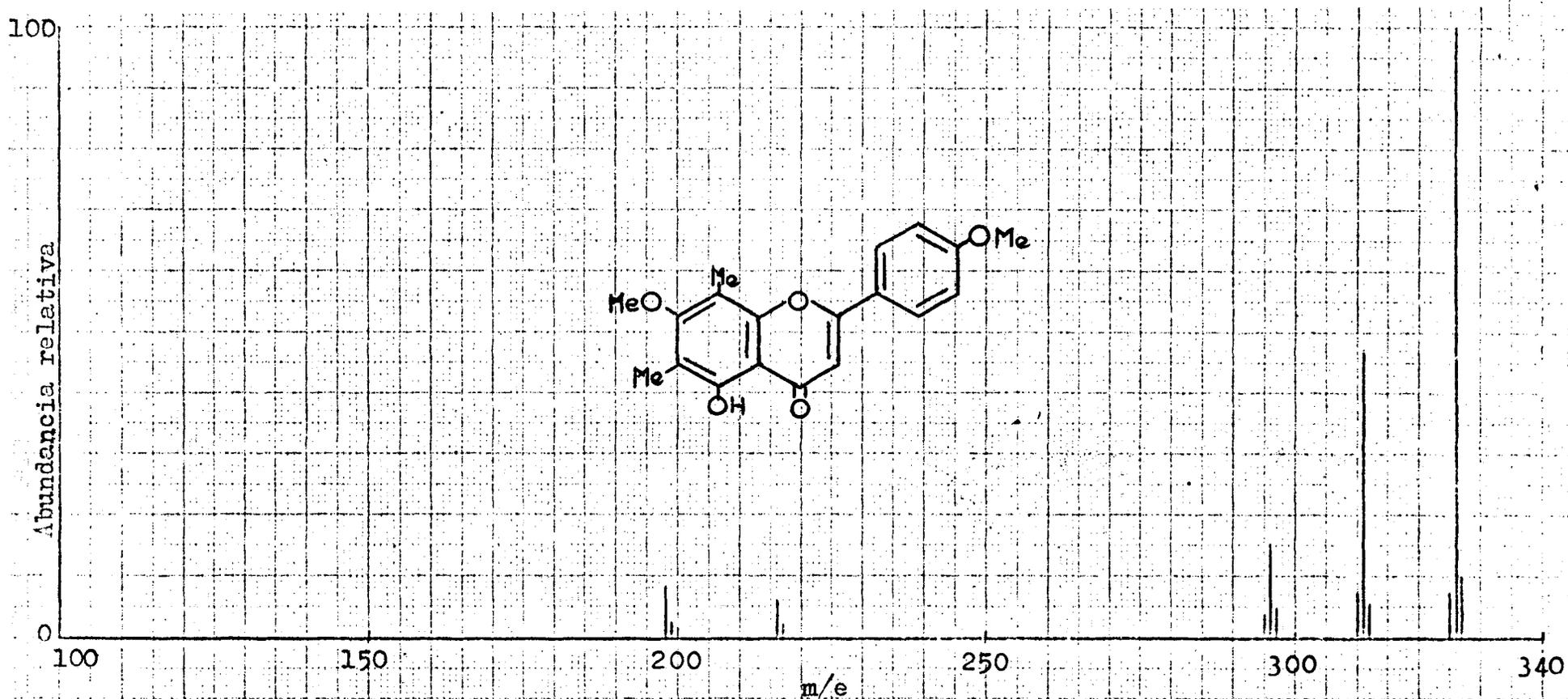


Fig. 2

Espectro de massa da eucaliptina (5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona) - EB-1

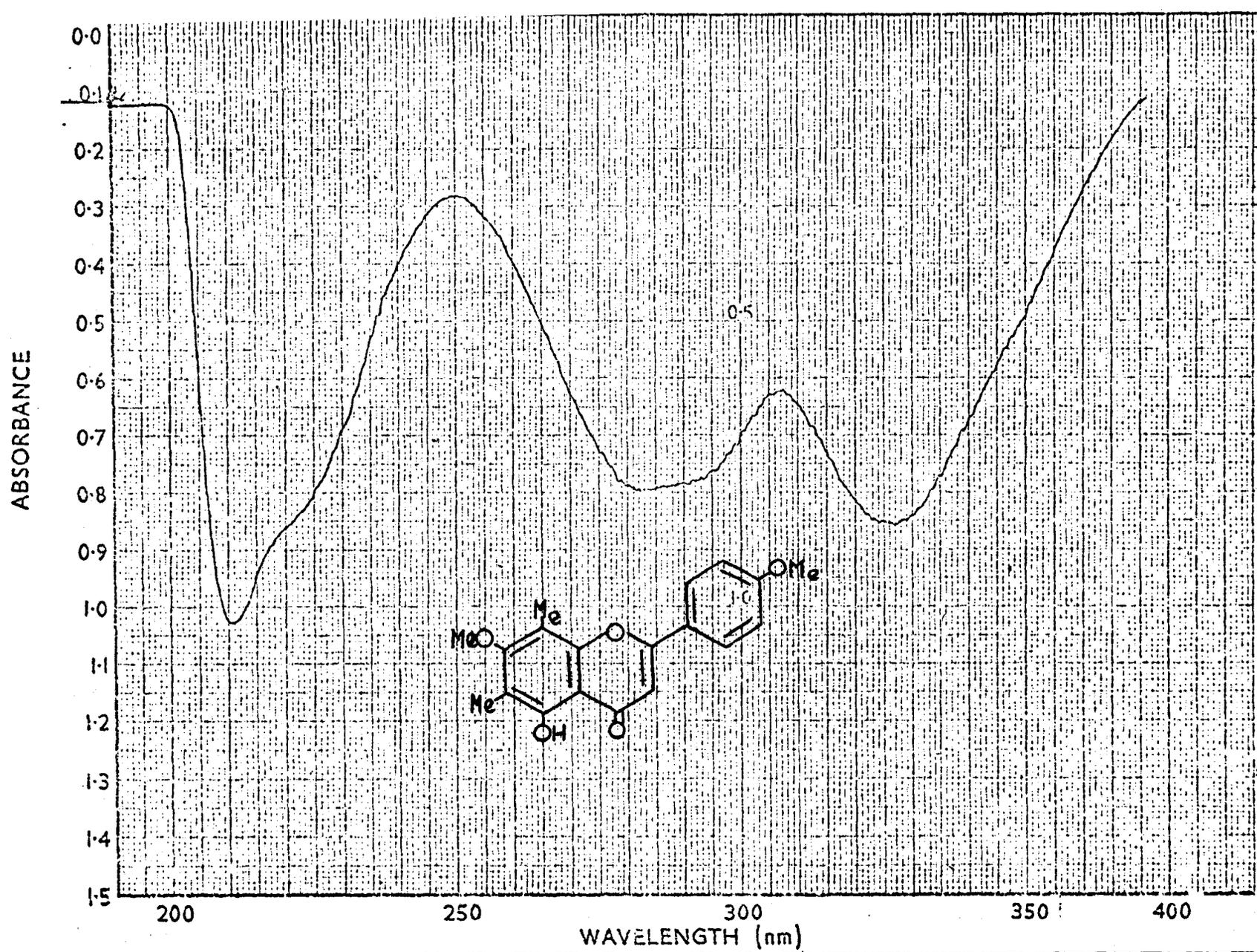


Fig.3

Espectro UV da eucaliptina (5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona) - EB-1

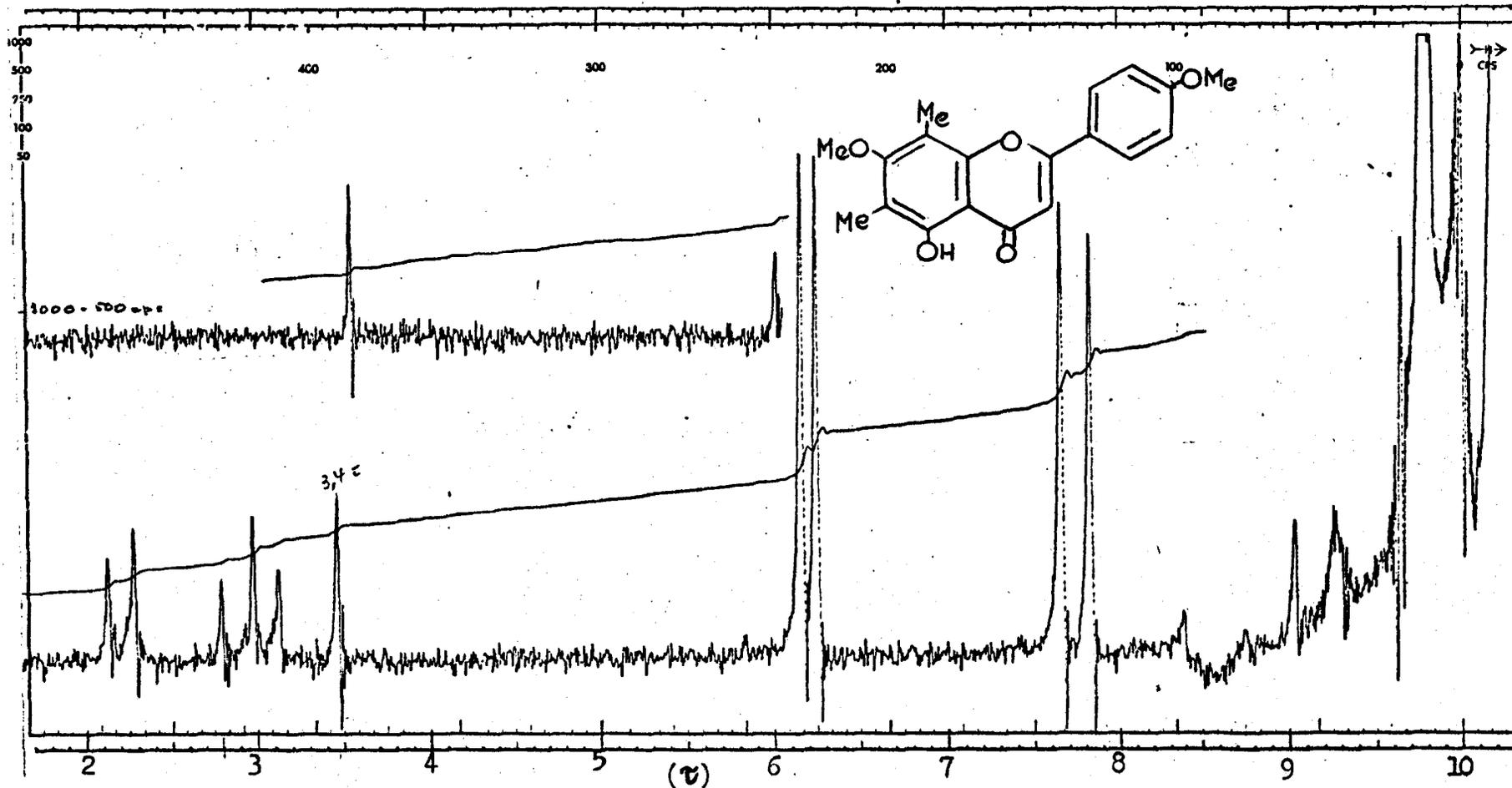


Fig.4
Espectro RMP da eucaliptina (5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona) - EB-1

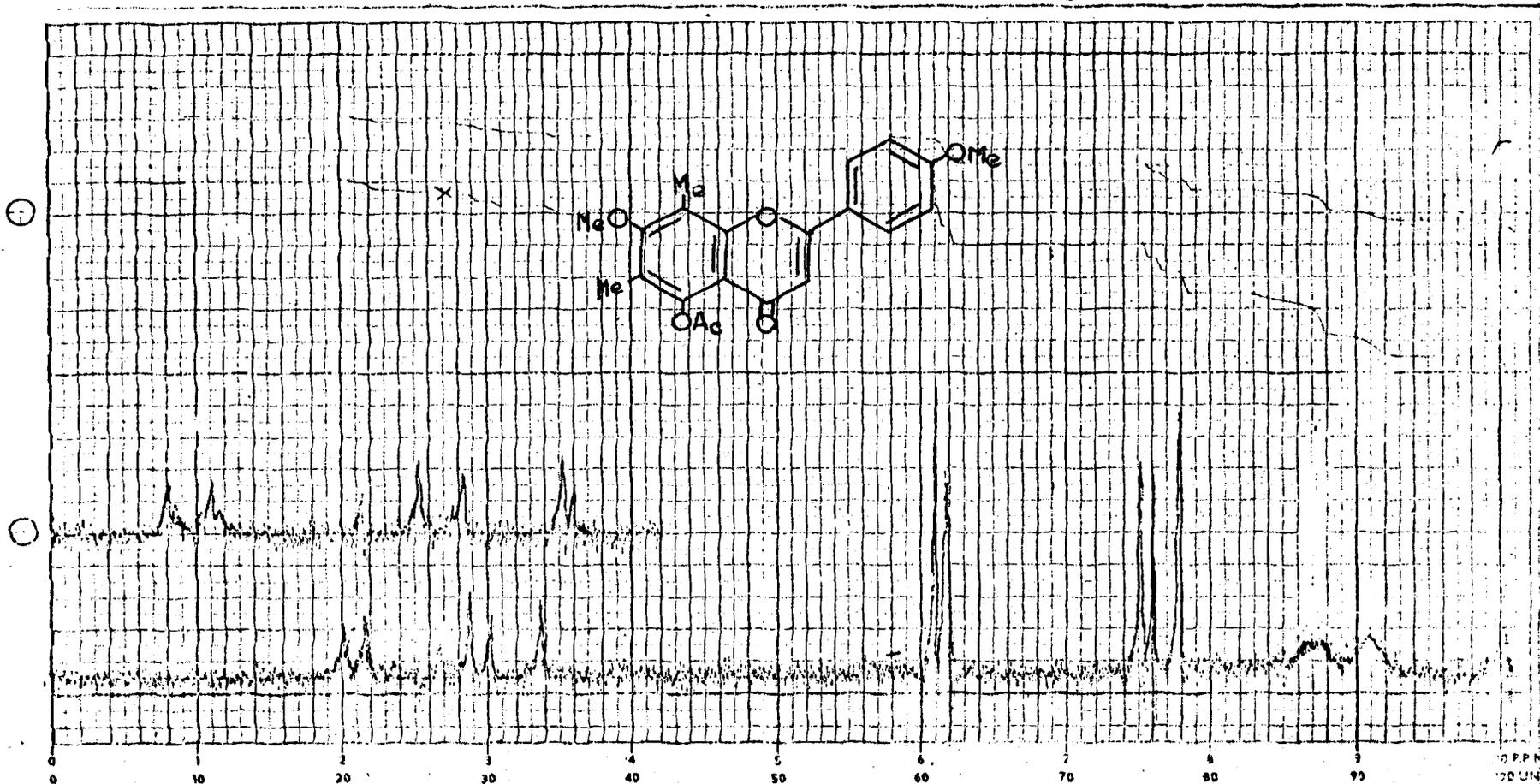


Fig.5

Espectro RMP do acetato da eucaliptina (5-Acetoxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona) -
EB-10Ac

PARTE EXPERIMENTAL

NOTAS-

1. Os critérios de pureza adotados foram: nitidez de ponto de fusão e obtenção de mancha única por cromatografia em camada fina variando os sistemas de desenvolvimento e reveladores.
2. Os pontos de fusão foram determinados num bloco de Kofler.
3. Nas separações por cromatografia em coluna utilizou-se sílica gel 0,05-0,20 mm Merck. Nas análises por cromatografia em camada delgada usou-se: quando analítica sílica gel G Merck e quando preparativa sílica gel H Merck. As revelações foram feitas com iôdo.
4. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro Perkin-Elmer, modelo 137 da Universidade de São Paulo e outro da mesma fábrica, modelo 257 da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
5. Os espectros na região do ultravioleta foram registrados em um aparelho Perkin-Elmer, modelo 402 da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
6. Os espectros de ressonância magnética protônica foram varridos em: aparelho Perkin-Elmer, modelo R 10 da Universidade de São Paulo; aparelho Varian, modelo HA-60/DA-60 por cortesia do Dr. W.D. Dodd da Universidade Federal de Minas Gerais; aparelho Varian, modelo T-60 da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e aparelho Varian, modelo 4R220, por gentileza do Prof. E. Wenkert da Universidade de Indiana.

Como referência interna foi utilizado tetrametilsilano. Os deslocamentos químicos foram anotados em unidades (ppm). Constantes de acoplamento dadas em Hertz. Banda simples...s; banda dupla...d; banda triplíce...t e banda múltipla...m.

7. Os espectros de massa foram obtidos num espectrômetro modelo MS-9 da Associated Electrical Industries, por gentileza do Prof. W.D. Ollis da Universidade de Sheffield e num espectrômetro modelo CH-7 da Varian Associates, por cortesia do Prof. E. Wenkert da Universidade de Indiana.
8. Os cromatogramas gás-líquido foram registrados num aparelho modelo CG-17 da Instrumentos Científicos CG Ltda., por gentileza do Prof. Mauro Taveira Magalhães do Centro de Tecnologia Agrícola Alimentar do Ministério da Agricultura e num aparelho modelo 705, da Varian Associates, por cortesia do Prof. Jamil Corrêa Mourão da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
9. As identificações por comparação direta implicaram no uso de uma ou mais das seguintes técnicas: ponto de fusão mixto, cromatografia em camada delgada, espectrometria no infravermelho.

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DA EUGENIA BIFLORA

DIAGRAMA I

Após a coleta do material, as folhas foram separadas dos galhos finos e ramos menores e secados em estufa natural, a uma temperatura de 45° C.

Feito a secagem, as folhas foram moídas e extraídas exaustivamente com benzeno a frio, e posteriormente com etanol, também a frio.

As soluções resultantes foram concentradas em evaporador rotativo sob vácuo, a uma temperatura de 40° C. Obtivemos 140 g de extrato benzênico e 230 g de extrato etanólico, para uma quantidade inicial de 5 kg de folhas moídas.

Procedemos em seguida a uma extração com refluxo do extrato benzênico, usando como solvente fração leve de petróleo (30-75° C). Obtivemos 65 g deste extrato.

Efetuamos uma separação cromatográfica de 25 g do extrato feito com fração leve de petróleo, em coluna de vidro de 120 x 5 cm, com capacidade para 500 g de sílica gel, usando como eluente inicial o solvente utilizado para a extração. Desta camos o seguinte desenvolvimento:

Eluentes	frações
Fração leve de petróleo	1-16
Fração leve de petróleo + benzeno (9:1)	17-18
Fração leve de petróleo + benzeno (8:2)	19-25
Fração leve de petróleo + benzeno (7:3)	26-36
Fração leve de petróleo + benzeno (1:1)	37-50
Benzeno	51-58
Benzeno + clorofórmio (9:1)	59-70

Benzeno + clorofórmio (7:3)	71-102
Benzeno + clorofórmio (1:1)	103-120
Clorofórmio	121-147
Clorofórmio + metanol (9,5:0,5)	148-172

As frações foram submetidas a estudo comparativo por cromatografia em camada delgada de sílica, o que permitiu reuni-las em 18 grupos, dos quais se isolou duas substâncias.

Frações 70-78. Por recristalização em n-hexano, forneceram uma substância cristalina de cor amarela, em forma de agulhas (155 mg), com ponto de fusão 190-200° C. Recebeu a sigla EB-1.

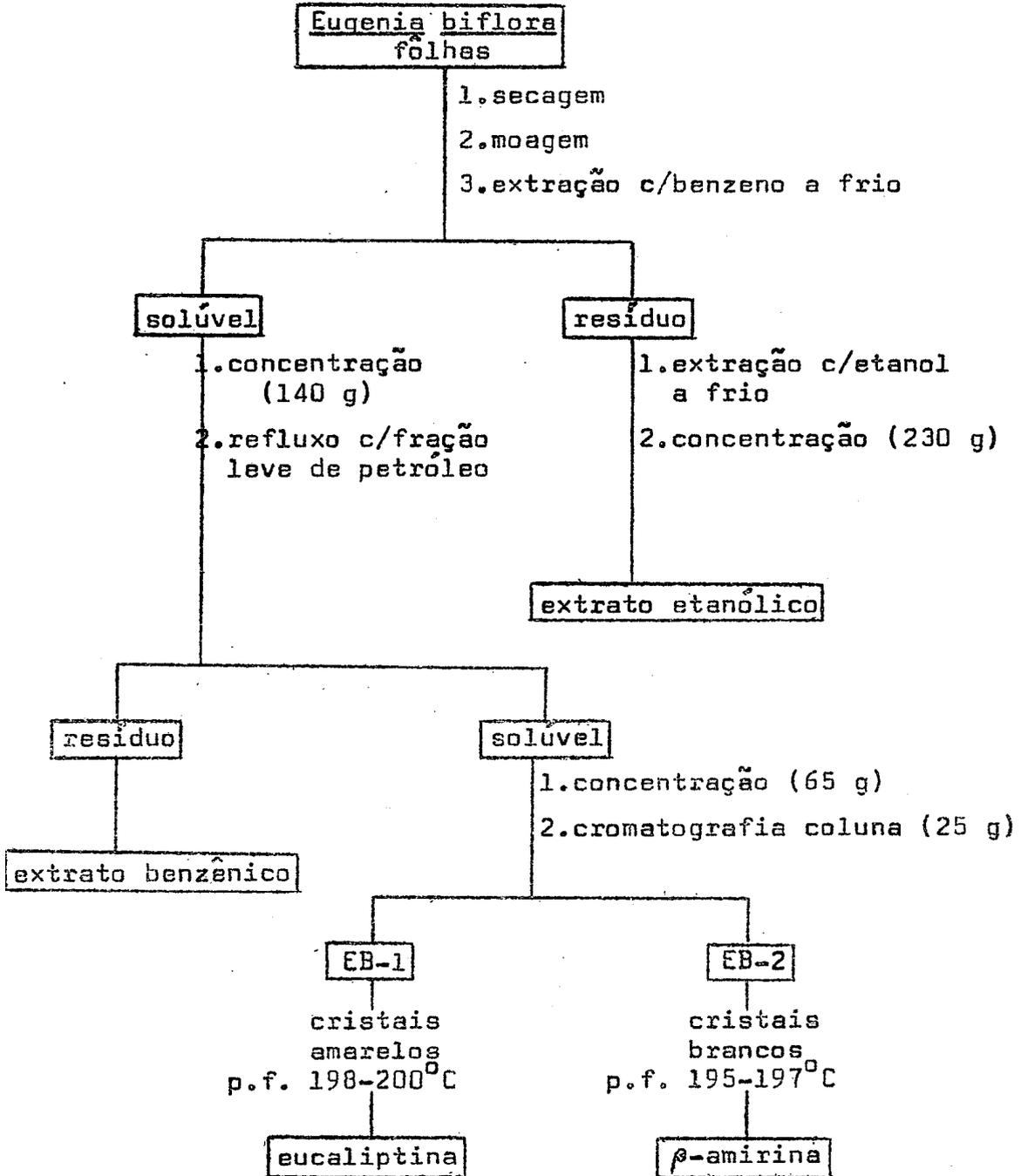
Frações 51-57. Ao serem lavadas com metanol sucessivas vezes e, posteriormente recristalizadas em etanol, ofereceram cristais incolores, finamente divididos (118 mg), com ponto de fusão 195-197° C. Recebeu a sigla EB-2.

Os demais grupos de frações do extrato de fração leve de petróleo não conduziram a nenhuma substância pura. Foram desprezados em virtude da excessiva quantidade de clorofila que os contaminou.

Os extratos benzênico e etanólico das folhas de Eugenia biflora, foram trabalhados nas mesmas condições. Não se conseguiu isolar nenhuma substância pura.

O esquema descrito no estudo da espécie Eugenia biflora (L.) DC., em sua totalidade, foi desenvolvido para o trabalho realizado com a espécie Myrcia citrifolia (Aubl.) Urb., também da família das mirtáceas, conhecida vulgarmente como pedra-hume-caá, coletada às margens da estrada Manaus-Itacoatiara, km 27, em terreno arenoso, aberto, classificada na Divisão de Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, por comparação direta com exicata autêntica, número de herbário 15.795. Os resultados do estudo de sua constituição química foram idênticos ao da espécie Eugenia biflora (L.) DC.

DIAGRAMA I



Eucaliptina

5-Hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona

EB-1

Cristais amarelos em forma de agulhas, ponto de fusão 198-200° C (rec. em n-hexano) [lit. (3) 198-200° C]. $\text{IVV}_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) 1647, 1623, 1600, 1504, 1462, 1435, 1422, 1357, 1289, 1250, 1212, 1182, 1121, 1103, 1038, 1031, 985, 959, 893, 867, 833, 803, 787, 741, 714. RMP (CDCl_3, τ) 7,8 (s, 3H), 7,6 (s, 3H), 6,2 (s, 3H), 6,1 (s, 3H), 3,4 (s, 1H), 3,0 (d, $J=9,0$ Hz, 2H), 2,2 (d, $J=9,0$ Hz, 2H) e 0,3 (s, 1H). $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm) 283, 289 e 327 (ϵ respec. 38468, 22168 e 24124). EM M^+ 326 (100) m/e 311 (46), 296 (15), 216 (6) e 198 (8).

Acetilação da eucaliptina

EB-1 (30 mg) foi tratada com uma mistura de anidrido acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi aquecida à temperatura de 100° C durante 8 horas. A seguir, juntou-se gelo picado e separou-se o acetato precipitado. Este foi então lavado com HCl 10% até a eliminação da piridina e, posteriormente, com água até pH neutro. Obteve-se 42 mg de EB-1-OAc, cristais amarelos claros, com ponto de fusão 245-246° C (rec. em etanol) [lit. (4) 245-246° C]. RMP (CDCl_3, τ) 7,78 (s, 3H), 7,61 (s, 3H), 7,52 (s, 3H), 6,17 (s, 3H), 6,10 (s, 3H), 3,36 (s, 1H), 2,95 (d, $J=11,0$ Hz, 2H) e 2,07 (d, $J=11,0$ Hz, 2H).

Ensaio de cor da eucaliptina

Adição de uma gota de ácido sulfúrico concentrado em uma solução de eucaliptina, EB-1, em clorofórmio + anidrido acético deu uma solução amarela com forte fluorescência azul esverdeada. Diluição desta solução com clorofórmio deu uma intensa fluorescência azul.

β -amirina

EB-2

Cristais incolores, finamente divididos, com ponto de fusão 195-197° C (lavado com metanol, rec. em etanol) [lit. (5) 195-197° C]. IVV_{max}^{KBr} (cm⁻¹) 3367, 2976, 1464, 1389, 1364, 1307, 1261, 1250, 1195, 1136, 1101, 1042, 1003, 957 e 820.

ESTUDO QUÍMICO DA LICARIA PUCHURY-MAJOR (MART.) KOSTERM.

A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

O exemplar de Licaria puchury-major [Acrodiclidium puchury-major (Mart.) Mez = Nectandra puchury-major Mart.] (6) (Fig.6) que estudamos é uma árvore de 15 m de comprimento, com 30 cm de diâmetro, cultivada no km 14 da Rodovia Manaus-Itacoca tiara, classificada e catalogada pela Divisão de Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, sob o número de herbário 15.042. A espécie pertence a família das lauráceas, possui ramos glabros, odor e sabor aromático; fôlhas esparsas, coriáceas, de base aguda, brilhantes, as vezes subverticiladas rígidas congestas, com 3 - 6 polegadas de comprimento e $1\frac{1}{2}$ polegadas de largura, pecioladas, pecíolo com 1 - 2 cm de comprimento, delicadas, peninérvias, nervuras laterais de 8 - 10 de cada lado, semierectas, mais ou menos salientes nas duas páginas, pedúnculos axilares e subterminais com 1 - 2 polegadas de comprimento; cúpula grande, hemisférica rugosa, margem gorda truncada com sulco circular pouco duplicado, com 1 polegada de altura e $1\frac{1}{2}$ polegadas de diâmetro; fruto baga oval de 2 polegadas de comprimento e 1 polegada de largura. A planta vegeta na região amazônica, nas matas de Tabatinga, e se estende até próximo ao Brasil Central. As sementes são usadas pela população local como carminativas e estomáquicas (7). Nossa observação própria indica que outras partes da árvore, tais como casca e madeira também são utilizadas para o mesmo fim.

O estudo químico desta planta limitava-se até agora, à composição do óleo volátil extraído dos cotiledones (favas),

das folhas e galhos finos. Iniciou com Robes em 1799 (8), Bonastre em 1853 (9) e Müller (10). Em 1920 a firma francesa Roure-Bertrand (11) descreveu algumas propriedades do óleo e indicou a presença provável de safrol, eucaliptol e isoeugenol nas favas do puchuri. Em 1956, Gottlieb (12) confirmou a presença de safrol, eucaliptol e eugenol em lugar de isoeugenol, além de ácido láurico. Em 1967, Mors e col. (13) estudaram o óleo volátil das folhas e galhos finos da planta e indicaram a presença de seis componentes para a sua composição química: safrol, eucaliptol, α -terpineol, eugenol e duas substâncias não identificadas.

Os extratos benzênico e etanólico de sua madeira foram obtidos. Submetemos estes extratos a processos cromatográficos de separação. Obtivemos seis substâncias que receberam siglas LPM-1, LPM-2, LPM-3, LPM-4, LPM-5 e LPM-6, e efetuamos o seu estudo químico.

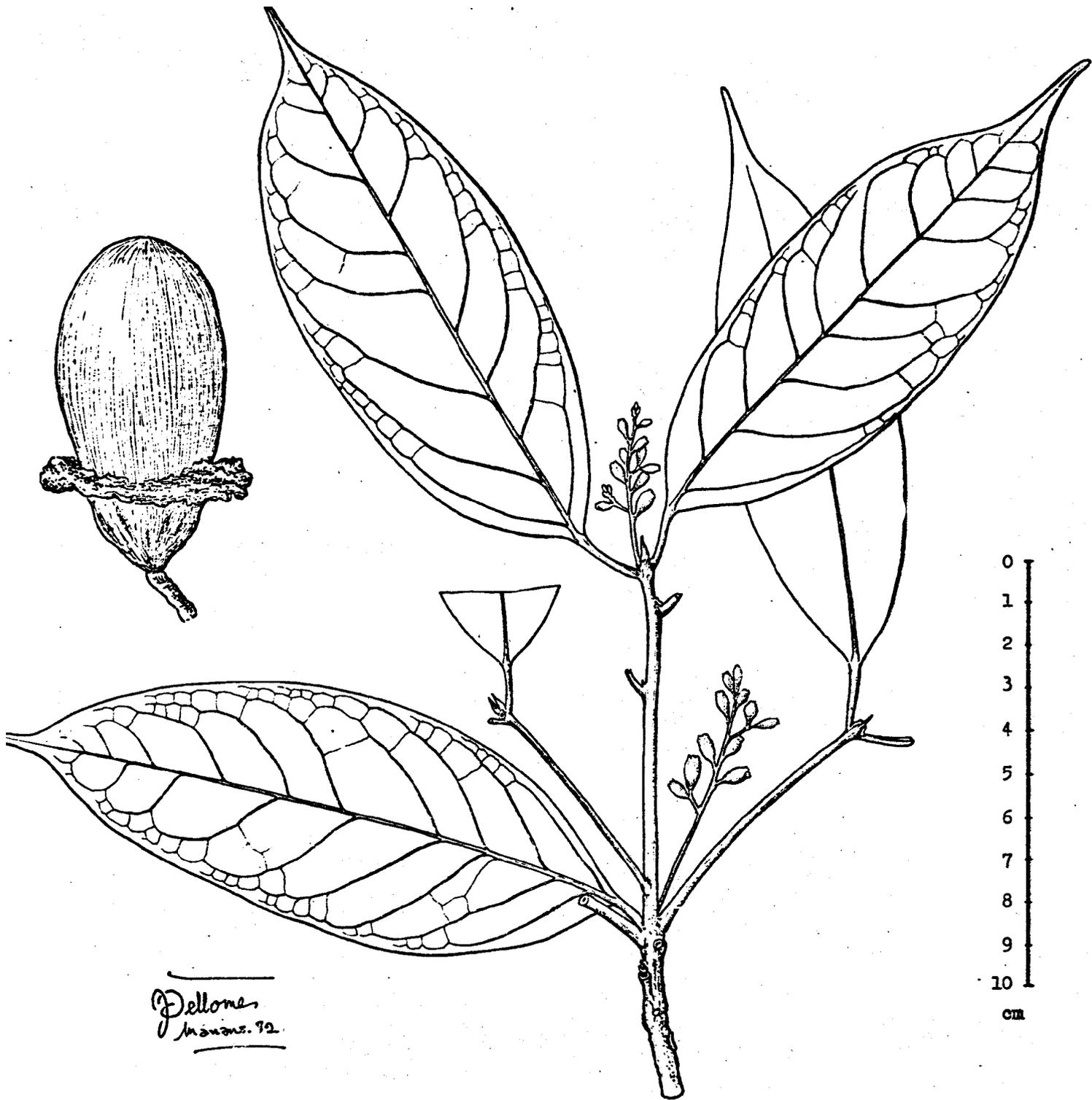


Fig. 6
Licaria puchury-major (Mart.) Kosterm.

IDENTIFICAÇÕES

LPM-1

O espectro no infravermelho (Fig.7) mostrou absorções em 2720 e 1665 cm^{-1} , evidenciando carbonila de aldeído conjugado a dupla ligação. As absorções em 1600 e 1505 cm^{-1} indicaram a natureza aromática da substância. As absorções em 1490, 1260, 1100 e 1045 cm^{-1} atestaram a presença de um grupo metilenodioxí. Finalmente a absorção forte em torno de 983 cm^{-1} se deve, possivelmente, a uma dupla ligação em trans.

O espectro no ultravioleta (Fig.8) apresentou máximos de absorção em 210,5, 249,5, 300,5 e 342,5 nm (ϵ resp. 9500, 9800, 9000 e 15950), compatível com a estrutura de um derivado do aldeído cinâmico, cuja absorção mais intensa fica em 322 nm. Ao somar os incrementos 25 e 7 nm, correspondentes às substituições no anel aromático por grupos O-alkila em posições meta e para (14), obtivemos um máximo de absorção teórico de 354 nm, bem próximo do observado no caso da LPM-1.

O conjunto dos dados oferecidos pelos espectros no IV e no UV, leva à estrutura do aldeído 3,4-Metilenodioxícinâmico, isolado previamente do canforeiro, Cinnamomum camphora Sieb. (15), espécie arbórea da China e do Japão, e do Sassafras albidum (Nutt.) Nees (16), espécie vegetal da Costa Atlântica da América do Norte.

O espectro de ressonância magnética protônica (Fig.9) forneceu dados que corroboram as informações dos espectros no IV e no UV, ostentando bandas correspondentes a cinco prótons aromáticos e olefínicos, dois prótons de grupo metilenodioxí e um próton de grupo aldeídico em campo baixo. Estas bandas são caracterizadas pelos deslocamentos químicos e constantes de acoplamento registrados na Tabela 1.

Os cálculos teóricos dos deslocamentos químicos dos protons aromáticos e olefínicos foram interpretados com base em dados tabelados da literatura (17).

As bandas com deslocamentos químicos em 3,66 τ e 2,72 τ e com as constantes de acoplamento de J=16 e 4 Hz, são típicos do sistema olefínico (H_d e H_e) associado a um aldeído cinâmico (III). O proton H_d absorve em campo mais baixo que H_e em virtude de sua maior proximidade ao anel aromático e de sua posição ser mesomericamente conjugada com a carbonila.

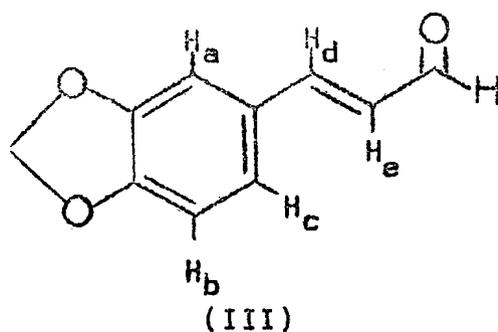
	Deslocamento químico (τ)		Nº de H	Desdobramento	J (Hz)
	obs.	calc.			
	4,00		2	s	
H _e	3,66	3,32	1	dd	16 e 4
H _b	3,20	3,28	1	d	8
H _a	3,00	3,18	1	d	2
H _c	2,95	3,13	1	dd	8 e 2
H _d	2,72	2,40	1	d	16
	0,35		1	d	4

TABELA 1

A banda dupla centrada em 3,00 τ refere-se ao proton H_a, acoplado ao proton H_c, com J=2 Hz. Em 3,20 τ formando um dublete, se observa a banda do proton H_b, acoplado ao proton H_c, com J=8 Hz. A dupla banda dupla que se verifica centrada em 2,95 τ se deve ao proton H_c, acoplado ao proton H_b em posição orto, com J=8 Hz e ao proton H_a em meta, com J=2 Hz. A absorção dupla em 0,35 τ corresponde ao proton do grupo aldeídico, acoplado ao proton H_e olefínico, com J=4 Hz. A banda simples em

4,00 τ característica de grupo metilenodioxi, se situa dentro da faixa de protons desta natureza.

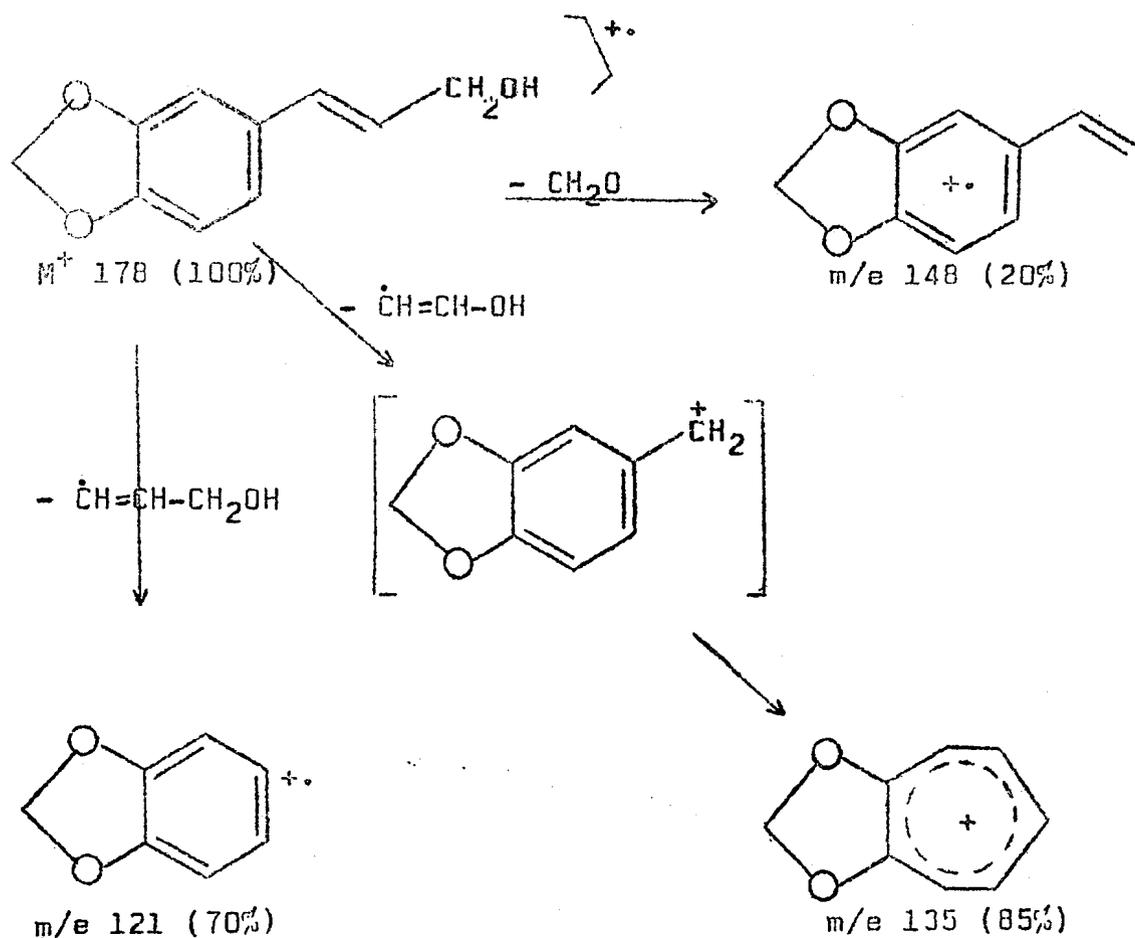
Comparação direta de LPM-1 com amostra autêntica de aldeído 3,4-Metilenodioxicinâmico, confirmou a identificação.



LPM-2

O espectro no infravermelho (Fig.10) evidenciou a ausência de carbonila, e apresentou absorções em 3310 e 1190 cm^{-1} indicando a presença de hidroxila. Absorções em 1500 e 1445 cm^{-1} sugeriram uma estrutura aromática para LPM-2. As absorções em 1490, 1255, 1105 e 1040 cm^{-1} caracterizaram a presença de um grupo metilenodioxi, e a absorção em 980 cm^{-1} indicou uma ligação dupla em trans.

O espectro de massa (Fig.11) forneceu dados compatíveis com a estrutura de um álcool cinâmico. O caminho de fragmentação (Quadro 1) postulado para explicar os dados espectrais, foi formulado com base em álcool 3,4-Metilenodioxicinâmico, para o qual a literatura não indica isolamento prêvio no campo de produtos naturais.



QUADRO 1

O espectro no ultravioleta (Fig.12) de LPM-2, mostrou absorção máxima em 213,5, 265,5 e 306,5 nm (ϵ resp. 18950, 10770 e 5600).

O exame do espectro de ressonância magnética protônica (Fig.13) confirmou a dedução acima. Os deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos sinais protônicos se encontram na Tabela 2.

Os cálculos teóricos de deslocamento químico de prótons aromáticos e olefínicos foram baseados em fórmulas constantes da literatura (17).

	Deslocamento químico (τ)		Nº de H	desdobramento	J (Hz)
	obs.	calc.			
	8,32		1	s	
	5,80		2	d	5
	4,12		2	s	
H _e	3,90	3,68	1	dt	16 e 5
H _d	3,52	3,39	1	d	16
H _b	3,37	3,28	1	d	8
H _a	3,30	3,18	1	d	2
H _c	3,21	3,13	1	dd	8 e 2

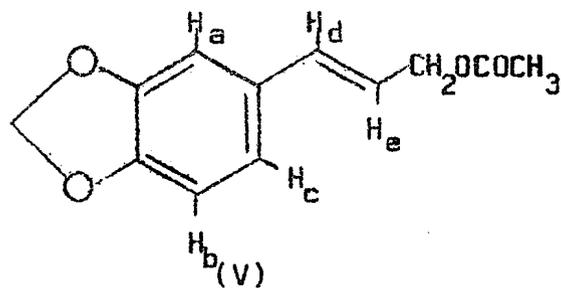
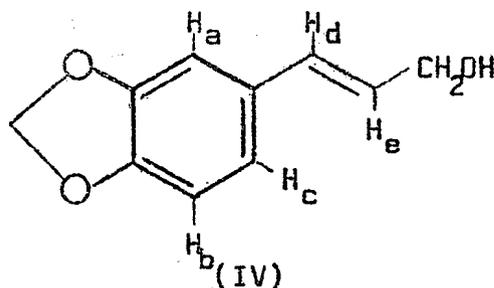
TABELA 2

As bandas com deslocamentos químicos em 3,52 τ e 3,90 τ (H_d e H_e respectivamente) e constantes de acoplamento de J=16 e 5 Hz, são típicos de grupo olefínico associado a um sistema cíclico. O proton H_d absorve em campo mais baixo que H_e em virtude de sua maior proximidade do anel aromático.

A banda simples em 8,32 τ refere-se ao proton hidroxílico do grupo álcool primário. O dublete em 5,80 τ se deve aos protons metilênicos da função alcoólica, acoplados ao proton H_e olefínico, com J=5 Hz. Uma banda simples em 4,12 τ evidencia a presença do grupo metilenodioxo pela absorção dos protons metilênicos. Uma dupla banda tríplice superposta centrada em 3,90 τ pertence ao proton olefínico H_e, acoplado de um lado aos protons metilênicos do grupo alcoólico, com J=5 Hz, e por outro lado ao proton olefínico H_d, com J=16 Hz. A banda dupla em 3,52 τ representa o outro proton olefínico H_d, acoplado ao proton H_e, com J=16 Hz. Um dublete em 3,37 τ indica a posição do proton H_b, acoplado com o proton H_c em orto, com J=8 Hz. Uma banda dupla refe

rente ao proton H_a , acoplada ao proton H_c em posição meta, com $J=2$ Hz. Finalmente uma dupla banda dupla em $3,21\tau$ pertencente ao proton H_c , acoplado com o proton H_b , em orto e com o proton H_a em meta, com $J=8$ e 2 Hz. (IV).

Afim de corroborar a hipótese estrutural lançada para LPM-2, se procedeu em seguida a acetilação da substância. O espectro de RMP (Fig.14) do derivado acetilado, realmente confirmou esta suposição, através dos seguintes dados: Banda simples em $7,85\tau$ referente a 3 protons metílicos do grupo acetoxi originado pela substituição do proton hidroxílico. Banda dupla em $5,30\tau$ pertencente aos protons metilênicos do grupo metileno acetoxi, acoplados ao proton H_e olefínico, com $J=6$ Hz. Banda simples em $4,05\tau$ dos protons metilênicos do grupo metilenodioxí. Dupla banda tríplice centrada em $3,87\tau$ indicando a absorção do proton H_e , acoplado com os protons metilênicos do grupo metilenoacetoxi e com o proton olefínico H_d , com $J=6$ e 16 Hz. Banda dupla em $3,40\tau$ referente ao proton H_d , acoplado com H_e , $J=16$ Hz. Dublete em $3,27\tau$ causado pelo proton H_b , acoplado ao proton H_c em posição orto, com $J=8$ Hz. Banda dupla em $3,21\tau$ que se deve ao proton H_a , acoplado ao proton H_c em posição meta, com $J=2$ Hz. Dupla banda dupla em $3,13\tau$ proveniente da absorção do proton H_c , acoplado com o proton H_b em orto e com o proton H_a em posição meta, com $J=8$ e 2 Hz (V).



A identificação da LPM-2, foi confirmada por comparação direta com amostra sintética do álcool 3,4-Metilenodioxici-namílico preparada pela colega Cacilda Junko Aiba da Universidade de São Paulo, por bromação alílica do isosafrol e hidrólise do produto bruto da reação.

LPM-3

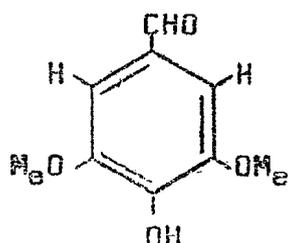
O espectro no infravermelho (Fig.15) mostrou absorções em 3280 e 1200 cm^{-1} , proveniente de hidroxila fenólica. Absorções em 2840 e 1667 cm^{-1} evidenciaram a presença de carbonila de grupo aldeídico aromático. Absorções em 1605, 1510, 1453, 833 e 730 cm^{-1} indicaram a natureza aromática da substância, sugerindo padrões de substituição 1,3 e 1,4 no anel. Absorções em 1330, 1253, 1047 cm^{-1} caracterizaram a presença de grupo metoxila.

O espectro de Ressonância magnética protônica (Fig.16) mostrou absorção intensa em 6,10 τ , a linha de integração desta banda, apresentando o valor 6 em relação aos outros picos, inferiu-se a presença de 2 grupos metoxila na substância. Uma banda simples na região aromática do espectro, em 2,90 τ , representando 2 protons equivalentes. Uma banda larga centrada em 3,83 τ característica de grupo hidroxila. Por último, uma banda simples em 0,61 τ , representado pelo valor 1 da linha de integração do espectro, pertencente ao proton aldeídico aromático.

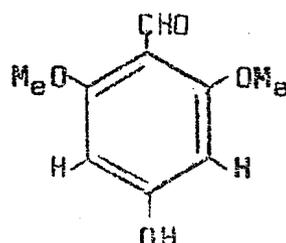
Dentro dos dados oferecidos pelos espectros de IV e RMP, propuzemos, a priori, as estruturas do 4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeido (VI) ou do 4-Hidroxi-2,6-dimetoxibenzaldeido (VII), para LPM-3.

O cálculo teórico para as absorções dos protons aromáticos existentes nas alternativas propostas, baseado na tabela para deslocamento químico de protons aromáticos (17), nos levou à escolha da estrutura do 4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeido (VI),

por apresentar valores mais próximos dos deslocamentos químicos dos prótons aromáticos existentes no espectro de LPM-3.



(VI)



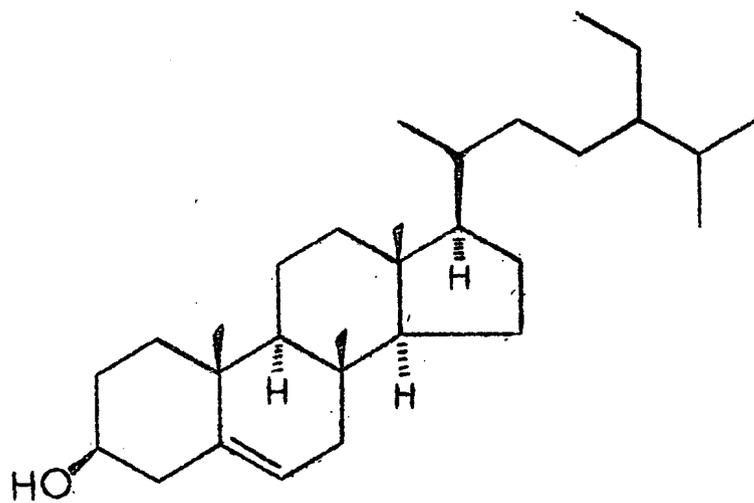
(VII)

As absorções máximas 232 e 310 nm (ϵ resp. 12920 e 10375), apresentadas pelo espectro no ultravioleta (Fig.17), confirmaram a estrutura do aldeído siríngico (4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído) para LPM-3, através da comparação com os dados da literatura (18) (19) que são idênticos. O deslocamento dos máximos de absorção para 254 e 370 nm (ϵ resp. 8735 e 21475) em meio alcalino (OHNa) era compatível com a presença da hidroxila fenólica (Fig.18).

Comparação direta com amostra autêntica do aldeído siríngico confirmou a identificação.

LPM-4

As constantes físico-químicas indicaram tratar-se de sitosterol (VIII). Comparação direta com amostra autêntica confirmou esta suposição.

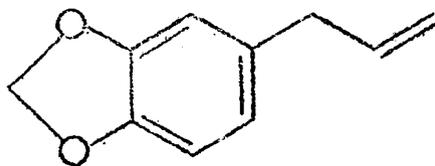


(VIII)

LPM-5

Análise desta substância, feita por cromatografia gás líquido (coluna de Apiezon M, temperatura de 214^o C) por medida de seu tempo de retenção, sugeriu tratar-se de safrol (IX).

Superposição de seu espectro no infravermelho com o espectro de uma amostra autêntica confirmou esta suposição.

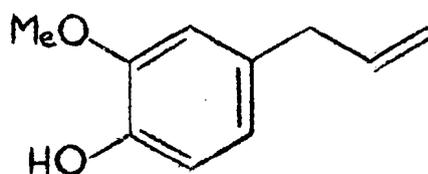


(IX)

LPM-6

Análise desta substância, feita por cromatografia gás líquido (coluna de Apiezon M, temperatura de 227^o C) por medida de seu tempo de retenção, sugeriu ser eugenol (X).

Superposição de seu espectro no infravermelho com o espectro de uma amostra autêntica confirmou esta suposição.



(X)

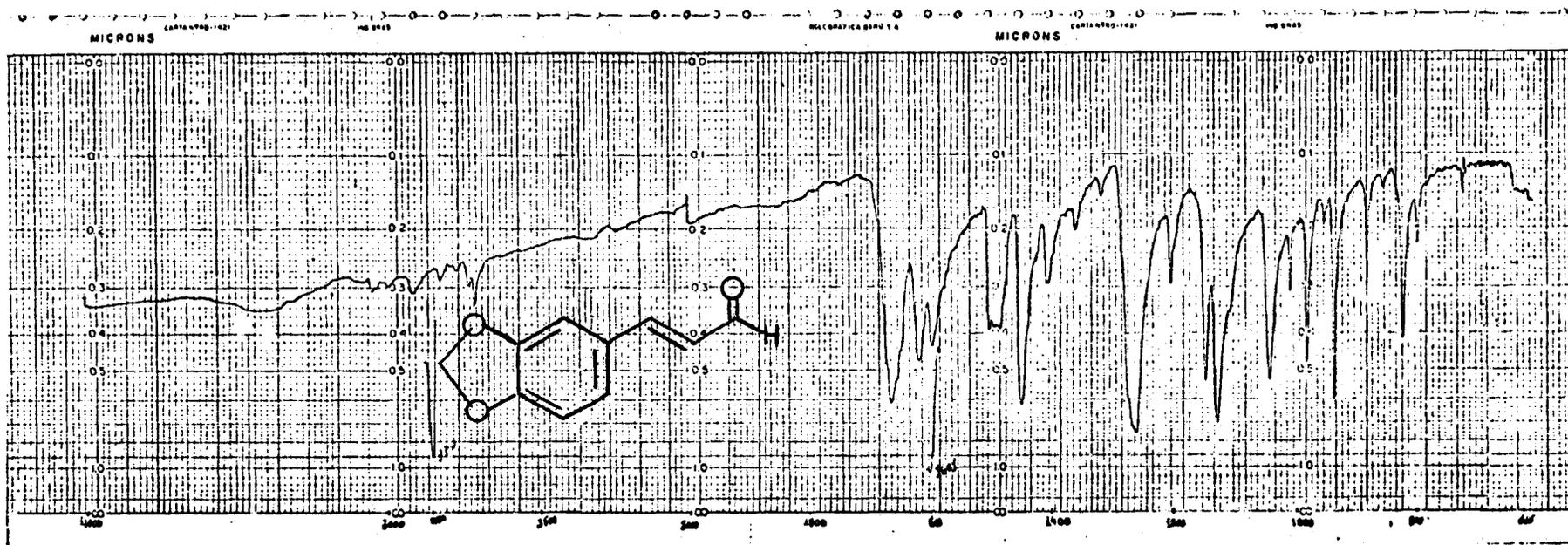


Fig.7

Espectro no IV do Aldeído 3,4-Metilenodioxicinâmico - LPM-1

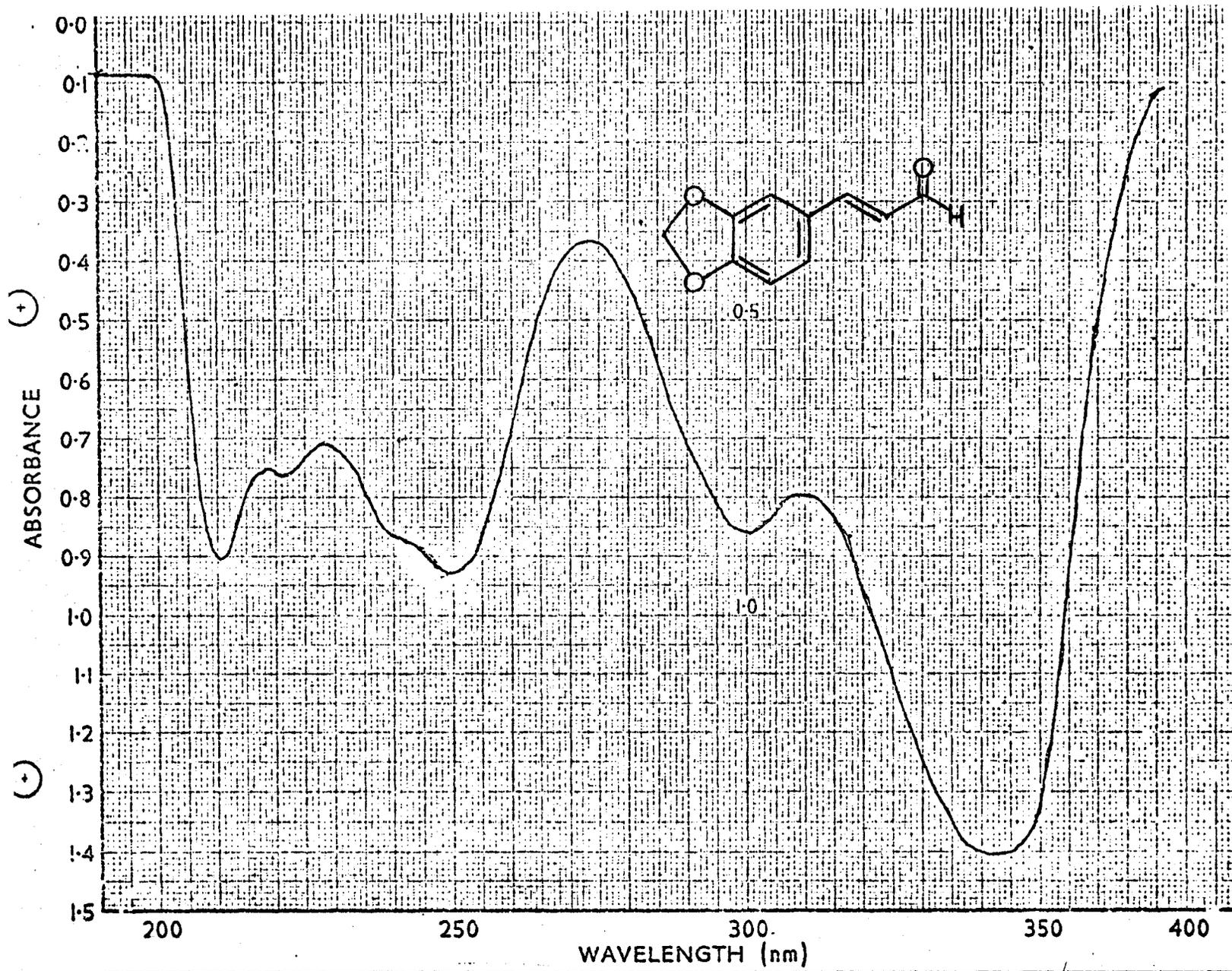


Fig.8

Espectro no UV do Aldeído 3,4-Metilenodioxicinâmico - LPM-1

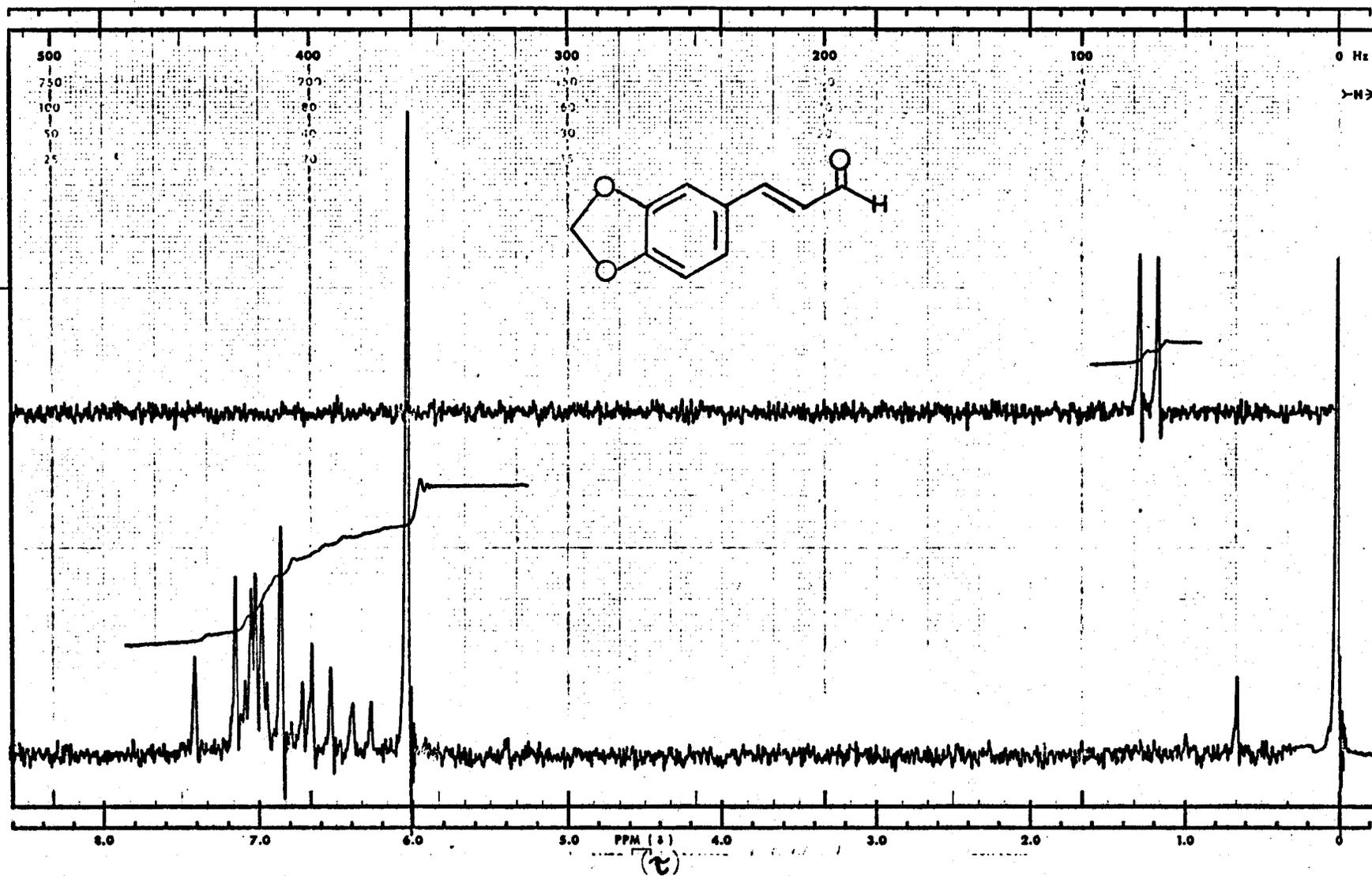


Fig.9

Espectro RMP do Aldeído 3,4-Metilenodioxicinâmico - LPM-1

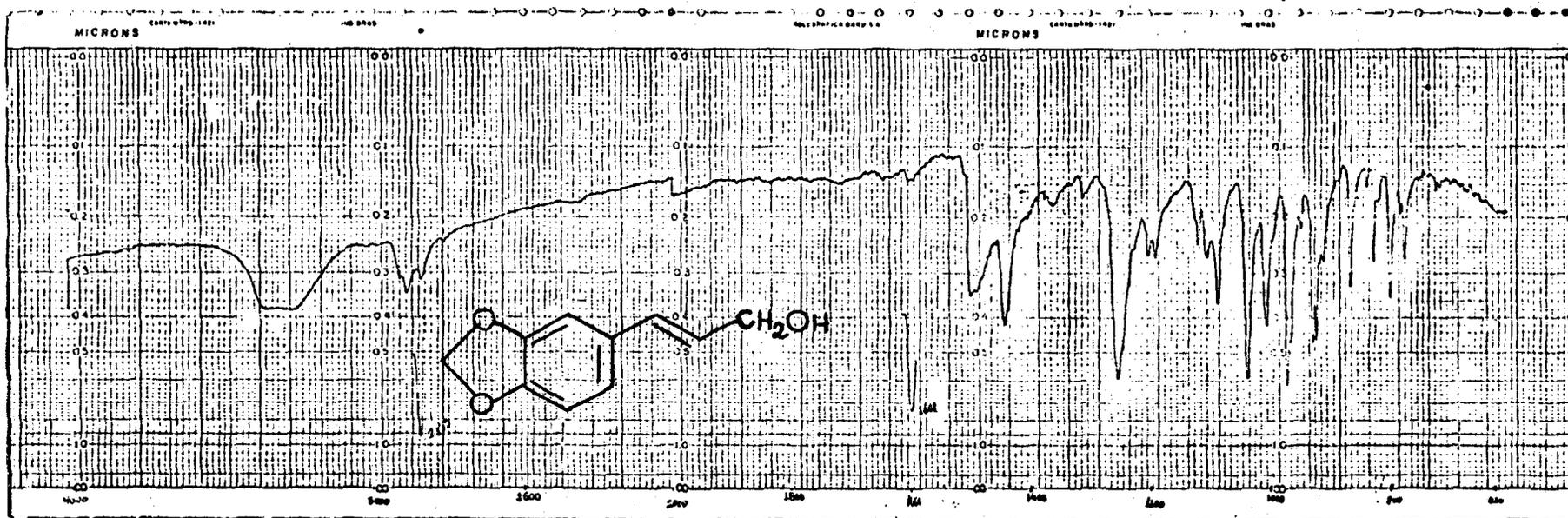


Fig.10

Espectro IV do Alcool 3,4-Metilenodioxicinamílico - LPM-2

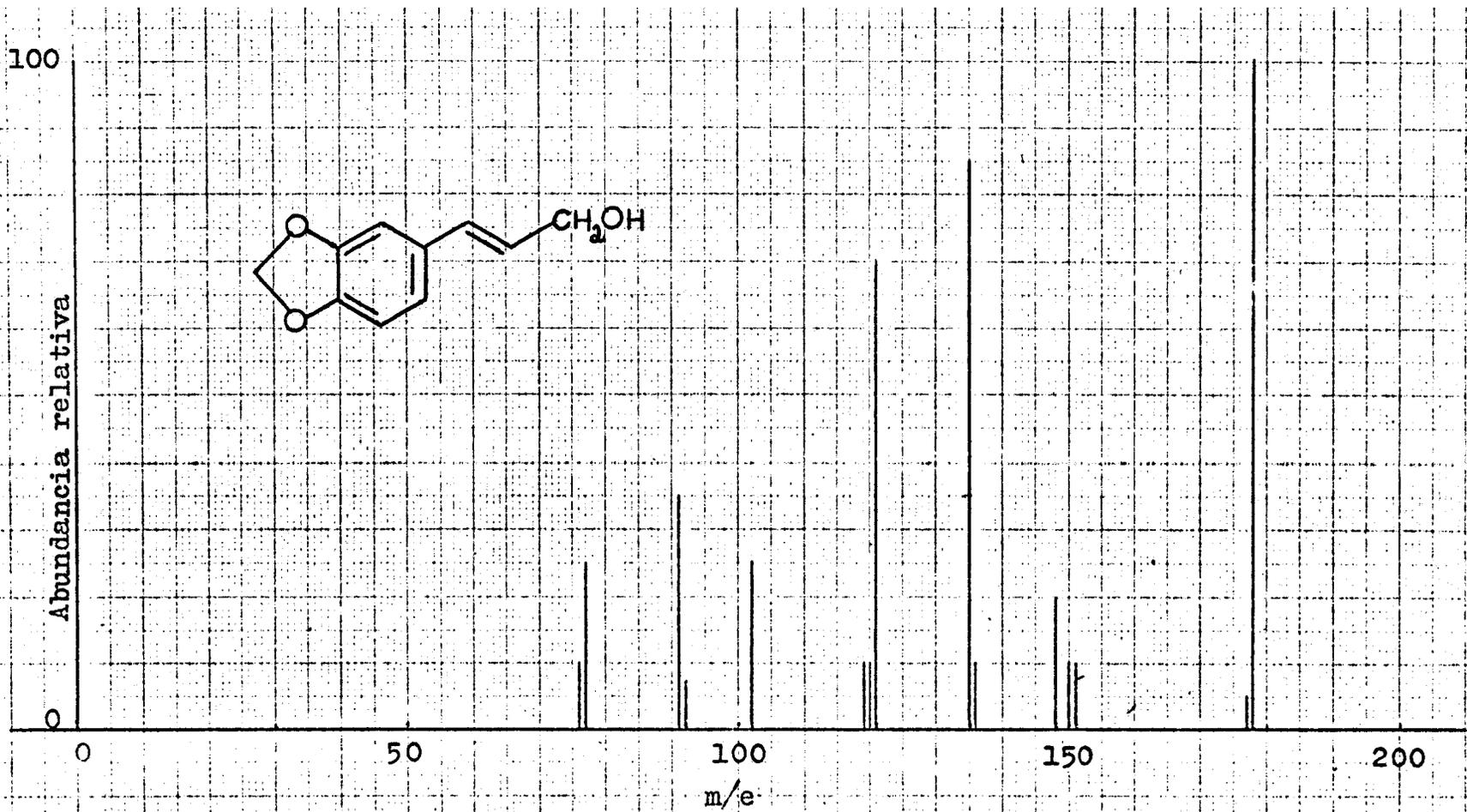


Fig.11
Espectro de massa do Alcool 3,4-Metilenodioxicinâmico - LPM-2

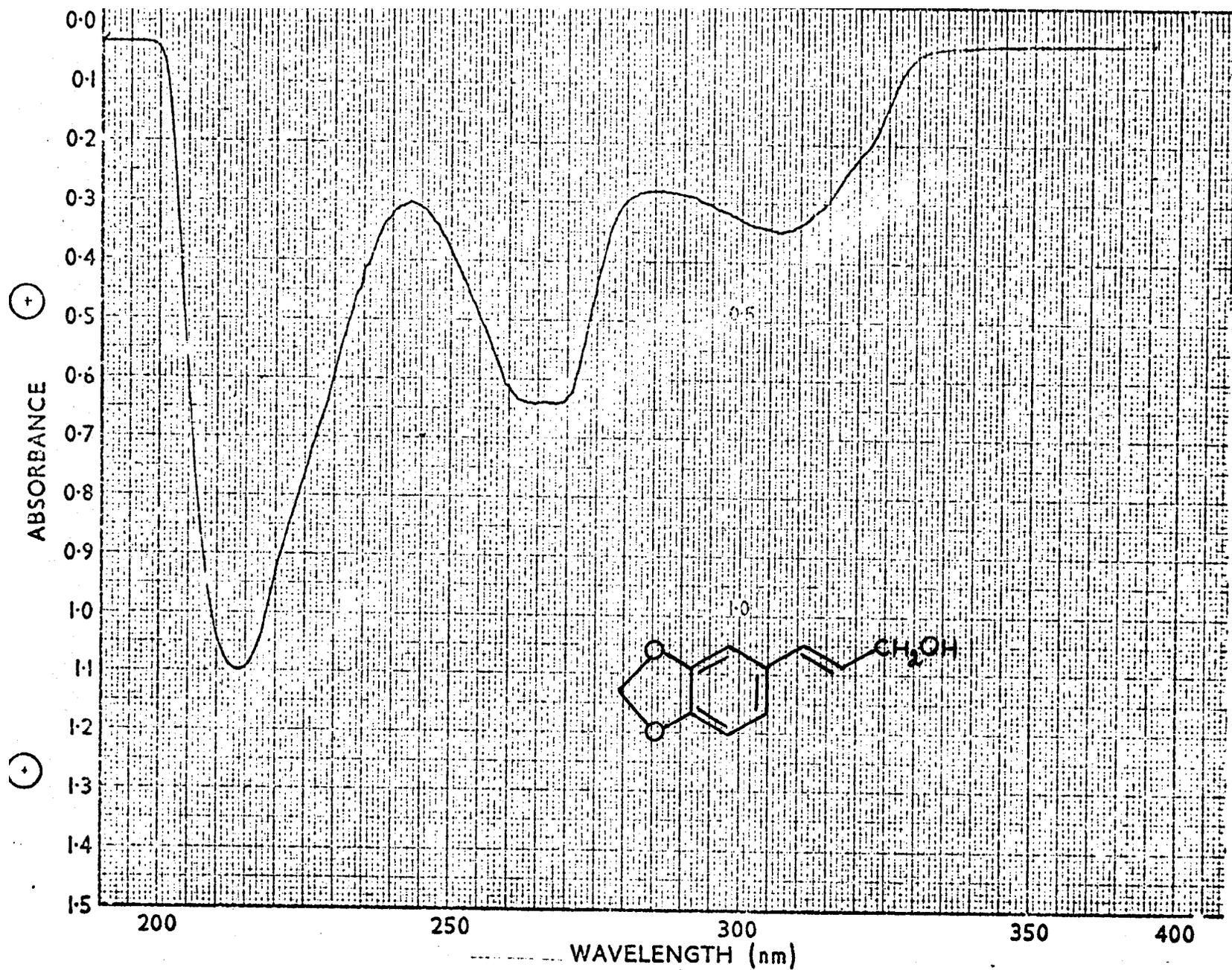


Fig.12
Espectro UV do Alcool 3,4-Metilenodioxicinâmico - LPM-2

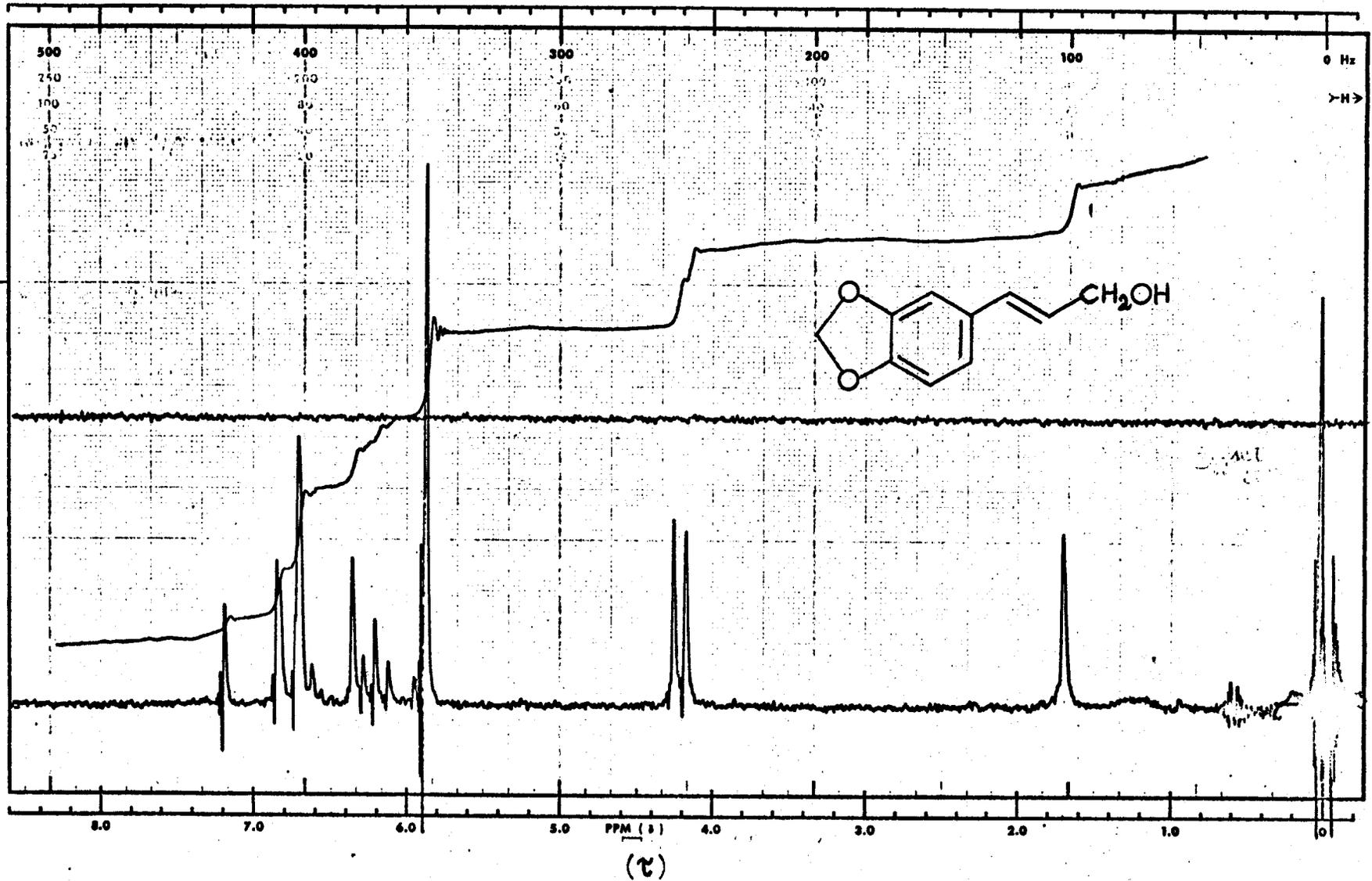


Fig.13

Espectro RMP do Alcool 3,4-Metilenodioxicinâmílico - LPM-2

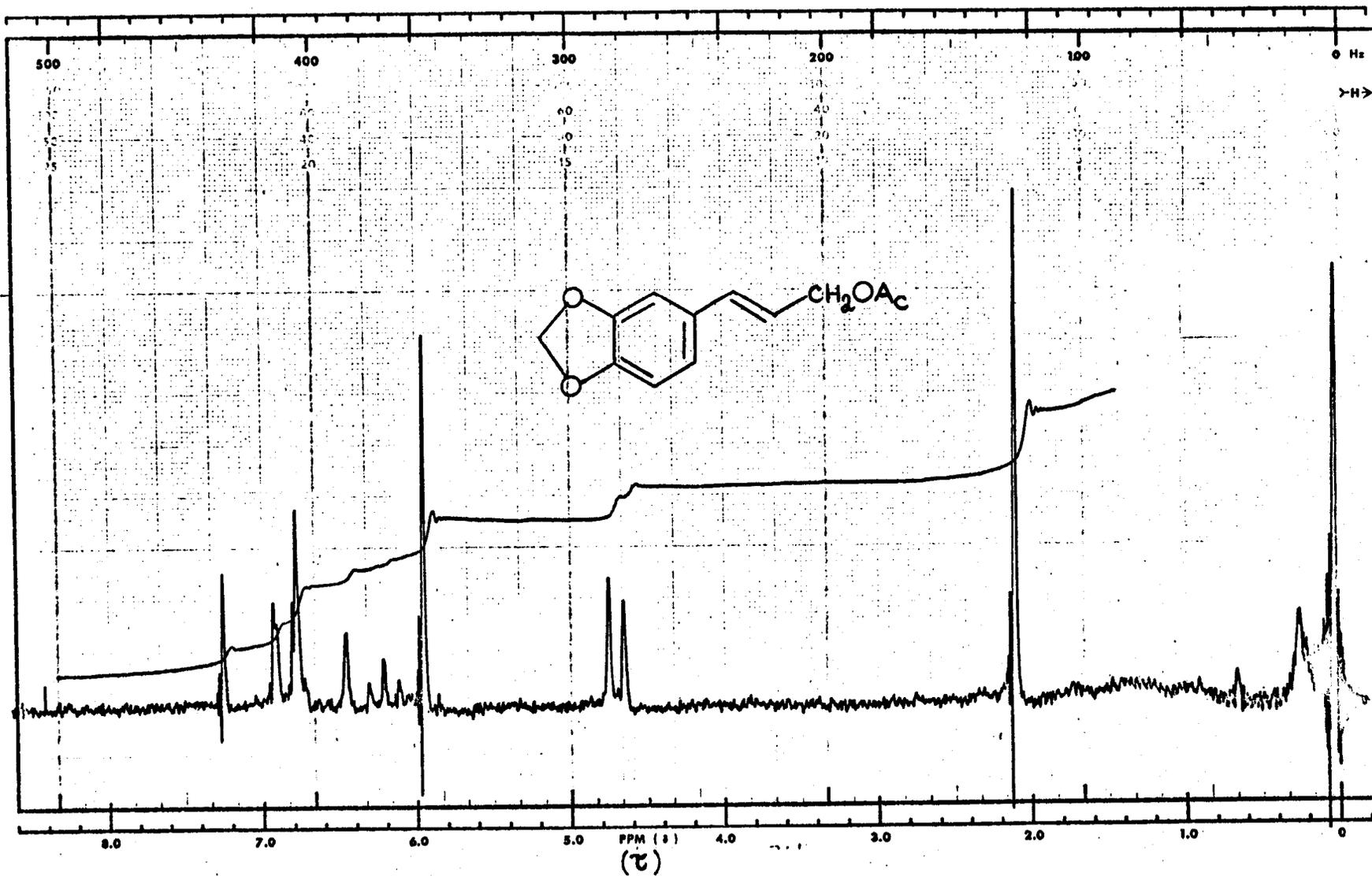


Fig.14

Espectro RMP do Acetato de 3,4-Metilenodioxicinamila - LPM-2OAc

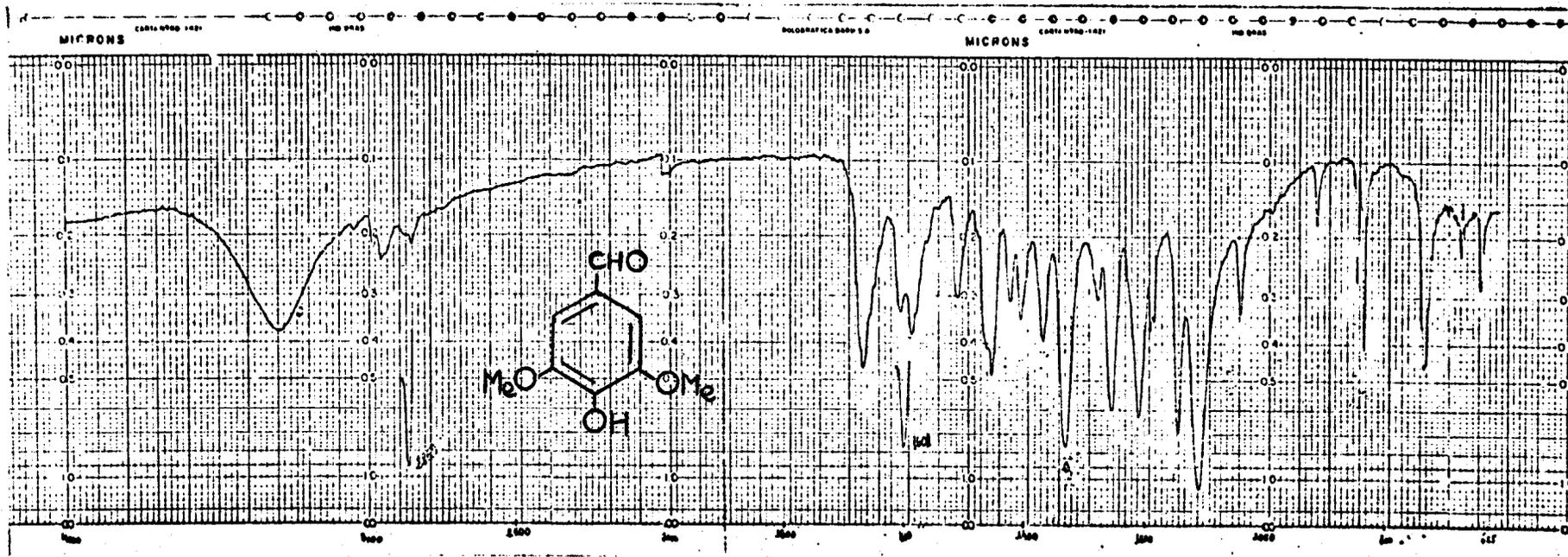


Fig.15

Espectro IV do Aldeído siríngico (4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído) - LPM-3

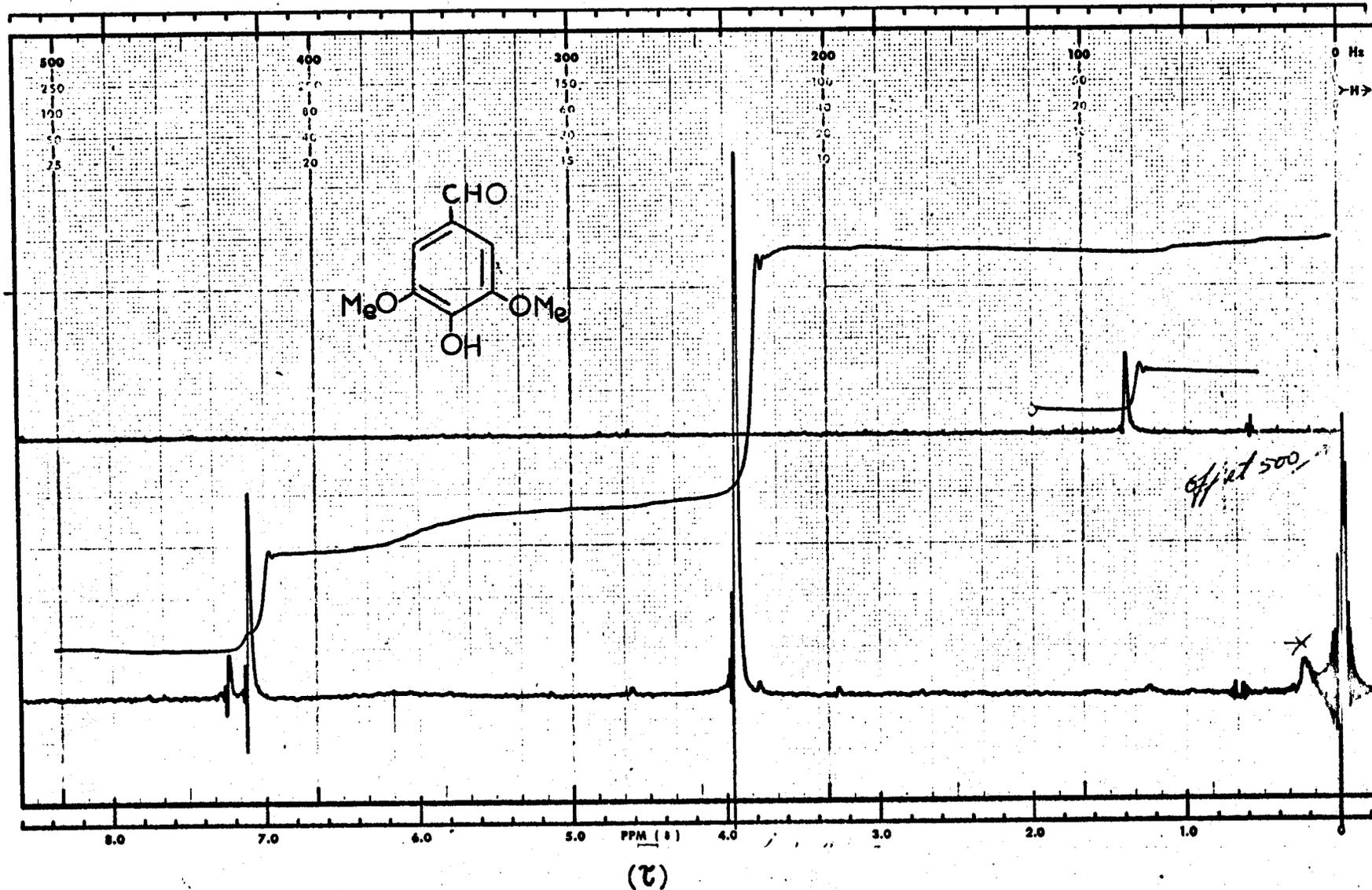


Fig.16

Espectro RMP do Aldeído siríngico (4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído) - LPM-3

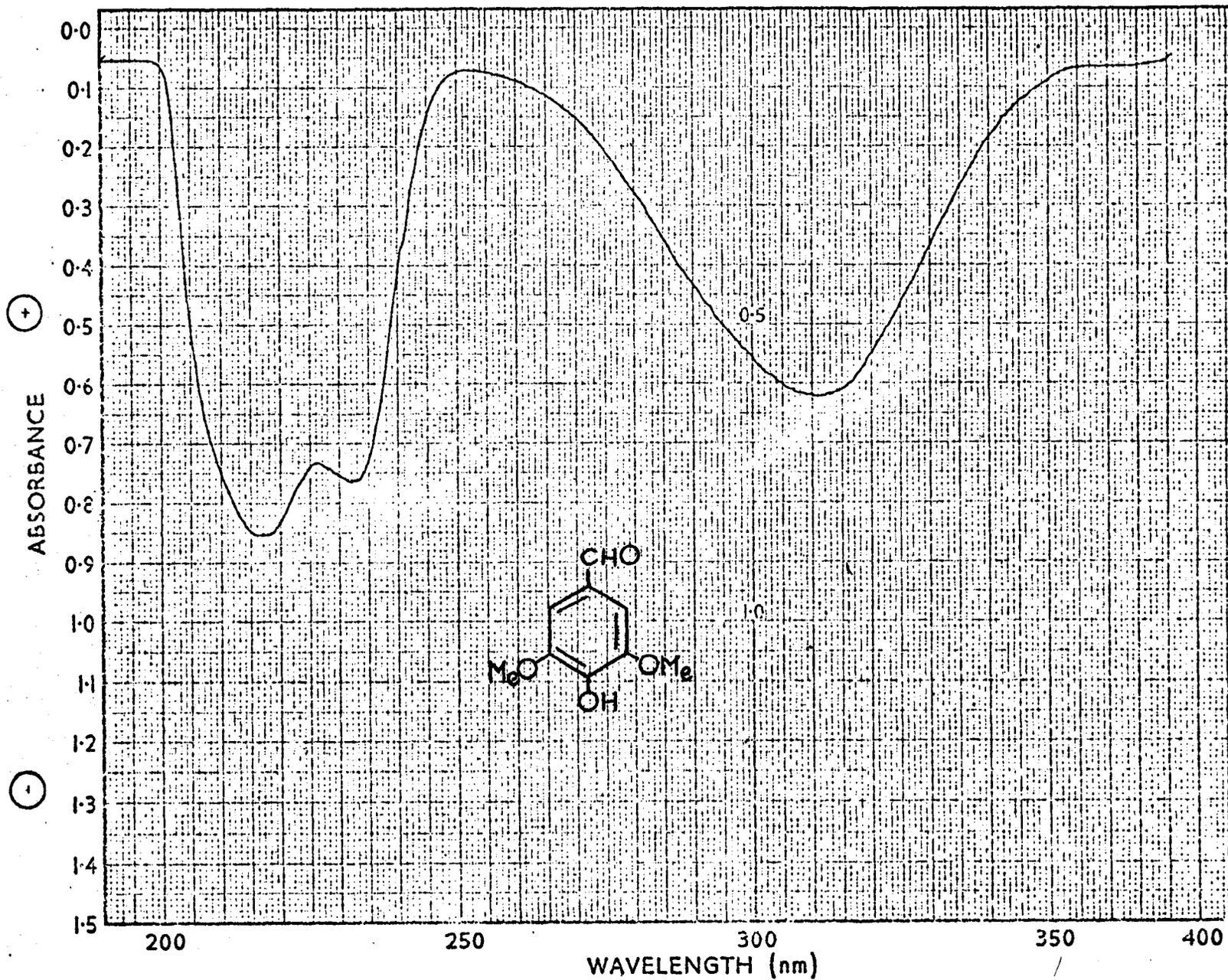


Fig.17

Espectro UV do Aldeído siríngico (4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído) - LPM-3

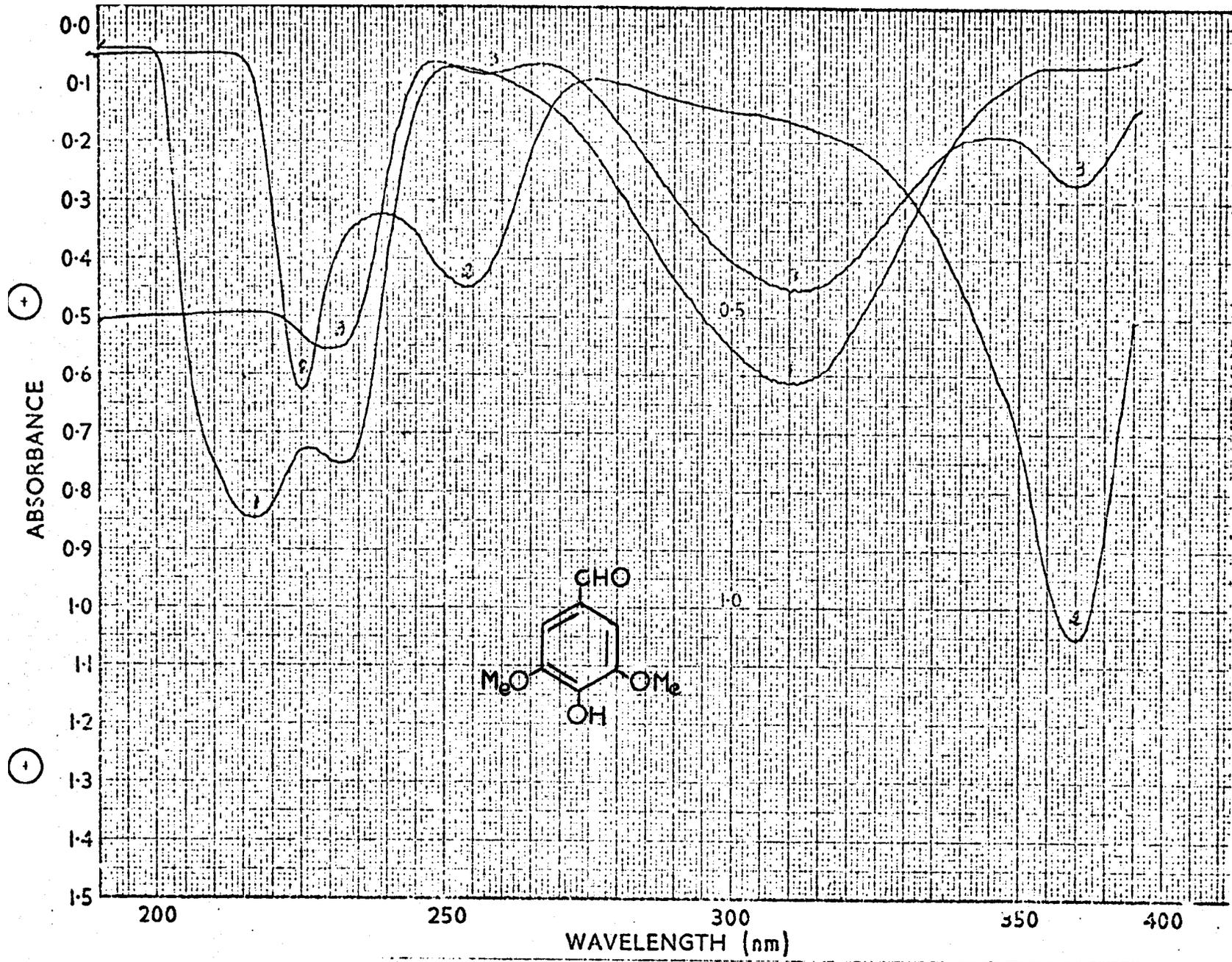


Fig.18

Espectro UV do Aldeído siríngico (4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído) - LPM-3 em meio alcalino

PARTE EXPERIMENTAL

Notas: ver página 15

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DA LICARIA PUCHURY-MAJOR

DIAGRAMA II

Após a coleta do material, as folhas foram separadas dos galhos grossos e ramos menores e estes secados em estufa natural, a uma temperatura de 45° C.

Feito a secagem e eliminada a casca, a madeira foi moída e extraída exhaustivamente com benzeno a frio, e posteriormente com etanol, também a frio.

As soluções resultantes foram concentradas em evaporador rotativo sob vácuo, a uma temperatura de 40° C. Obtivemos 220 g de extrato benzênico e 370 g de extrato etanólico, para uma quantidade inicial de 7,5 kg de madeira moída.

Procedemos a uma separação cromatográfica de 40 g do extrato benzênico, em coluna de vidro de 120 x 5 cm, com capacidade para 500 g de sílica gel, usando como eluente inicial fração leve de petróleo (30-75° C). Destacamos o seguinte desenvolvimento:

Eluentes	frações
Fração leve de petróleo	1-10
Fração leve de petróleo + benzeno (9:1)	11-20
Fração leve de petróleo + benzeno (7:3)	21-30
Fração leve de petróleo + benzeno (1:1)	31-40
Benzeno	41-55
Benzeno + acetato de etila (9:1)	56-65

Benzeno + acetato de etila (7:3)	66-79
Benzeno + acetato de etila (1:1)	80-86
Acetato de etila	87-98

As frações foram submetidas a estudo comparativo por cromatografia em camada delgada de sílica, o que permitiu reuní-las em 10 grupos, dos quais foram isoladas seis substâncias.

Frações 49-55. Ao se tentar recristalização em n-hexano, ofereceram cristais amarelos em forma de agulha (377 mg), com ponto de fusão 82-84^o C, sendo que esta substância recebeu a sigla LPM-1.

Frações 62-63. Por recristalização em n-hexano, forneceu uma substância cristalina amarelo claro, em forma de agulha pequena (107 mg), com ponto de fusão 75-77^o C. Recebeu a sigla LPM-2.

Frações 64-84. Com peso de 4,3 g foram novamente reinidas e cromatografadas em coluna de vidro de 70 x 3 cm, empacotada com 30 g de sílica gel, usando como eluente inicial benzeno. O desenvolvimento foi o seguinte:

Eluentes	frações
Benzeno	1-15
Benzeno + acetato de etila (9:1)	16-26
Benzeno + acetato de etila (7:3)	27-35
Benzeno + acetato de etila (1:1)	36-43
Acetato de etila	44-48

Conseguimos isolar desta segunda coluna cromatográfica, das frações 17-23, após sucessivas recristalizações em benzeno, uma substância de cor amarelo escuro, com ponto de fusão 108-110^o C, 120 mg aproximadamente. Recebeu a sigla LPM-3.

Frações 15-16. Ao serem lavadas sucessivamente com metanol, ofereceram cristais incolores, finamente divididos, com

ponto de fusão 134-136^o C, 187 mg de peso. Recebeu a sigla LPM-4.

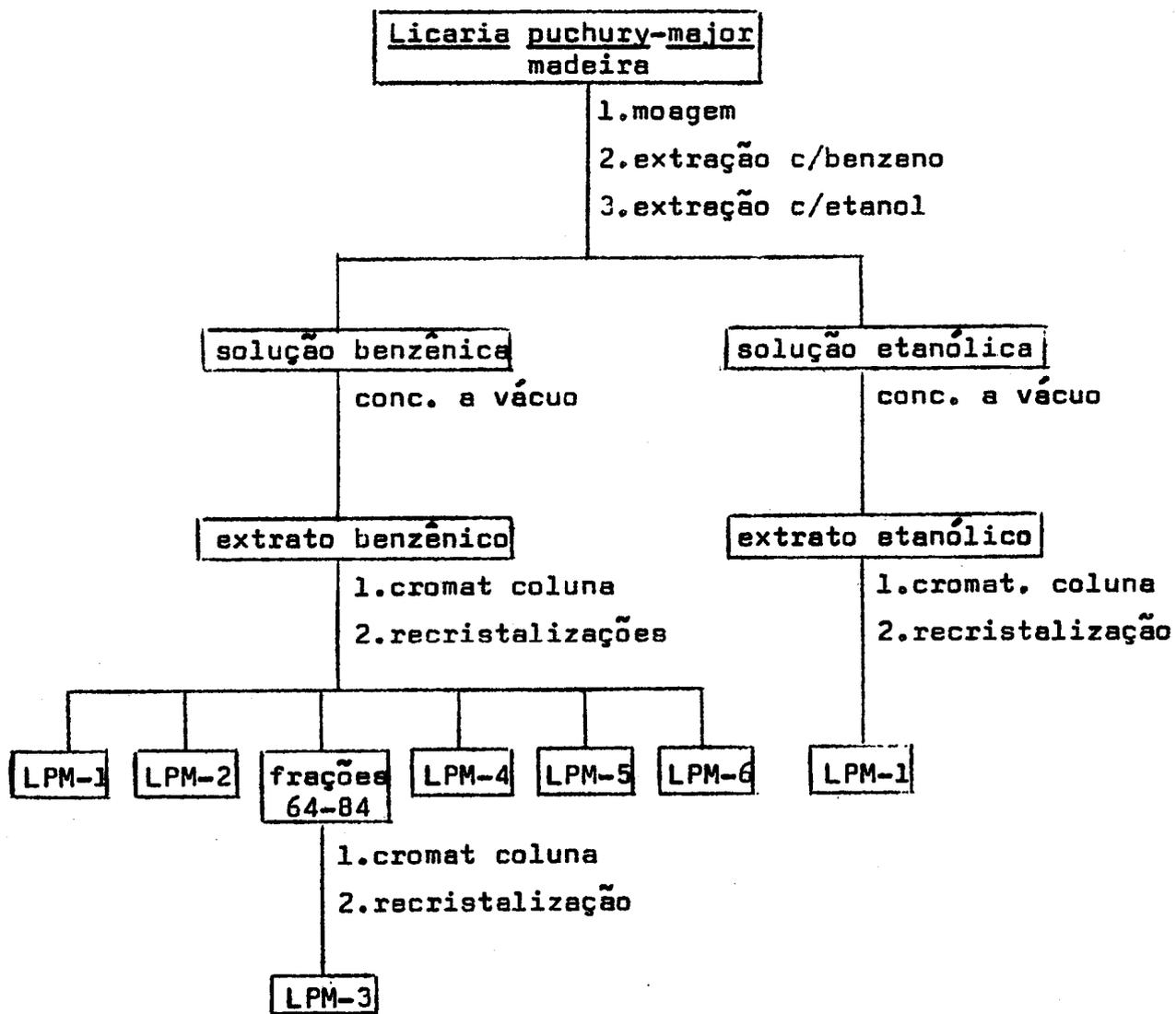
Frações 4-14. Se apresentou, indefinidamente, no estado líquido, com cor ligeiramente amarelada, acentuado odor, pouco viscosa, um ponto em placa delgada de sílica, evidenciando sua pureza e com um volume aproximado de 12 ml. Recebeu a sigla LPM-5.

Frações 17-39. Se apresentou, indefinidamente, no estado líquido, com cor ligeiramente amarelada, acentuado odor, pouco viscosa, um ponto em placa delgada de sílica, evidenciando sua pureza, com polaridade maior do que a LPM-5 e com um volume aproximado de 8 ml. Recebeu a sigla LPM-6.

Os demais grupos de frações do extrato benzênico não conduziram a nenhuma substância pura.

O extrato etanólico da madeira, foi trabalhado nas mesmas condições do extrato benzênico. Conseguiu-se isolar apenas alguns miligramas de LPM-1.

DIAGRAMA II



Aldeído 3,4-Metilenodioxicinâmico

LPM-1

Cristais amarelos em forma de agulhas, ponto de fusão 82-84° C (rec. em n-hexano) [lit. (16) 84-85° C]. $IV \nu_{\max}^{KCl}$ (cm⁻¹) 2720, 1665, 1620, 1600, 1505, 1490, 1450, 1410, 1360, 1260, 1205, 1150, 1130, 1045, 1010, 983, 940, 885, 825, 800. RMP (CCl₄, τ) 4,00 (s, 2H), 3,66 (dd, J=16 e 4 Hz, 1H), 3,20 (d, J=8 Hz, 1H), 3,00 (d, J=2 Hz, 1H), 2,95 (dd, J=8 e 2 Hz, 1H), 2,72 (d, J=16 Hz, 1H), 0,35 (d, J=4 Hz, 1H). $UV \lambda_{\max}^{EtOH}$ (nm) 210,5, 249,5, 300,5, 342,5 (ϵ resp. 9500, 9800, 9000 e 15950).

Alcool 3,4-Metilenodioxicinâmílico

LPM-2

Cristais levemente amarelados em forma de agulhas, ponto de fusão 75-77° C (rec. em n-hexano) [lit. (20) p.f. que nos não pudemos confirmar, 123° C]. $IV \nu_{\max}^{KCl}$ (cm⁻¹) 3310, 1500, 1490, 1445, 1360, 1255, 1200, 1190, 1120, 1105, 1090, 1040, 1005, 980, 950, 927, 920, 867, 830, 800 e 775. RMP (CDCl₃, τ) 8,32 (s, 1H), 5,80 (d, J=5 Hz, 2H), 3,90 (dt, J=16 e 5 Hz, 1H), 3,52 (d, J=16 Hz, 1H), 3,37 (d, J=8 Hz, 1H), 3,30 (d, J=2 Hz, 1H), 3,21 (dd, J=8 e 2 Hz, 1H). $UV \lambda_{\max}^{EtOH}$ (nm) 213,5, 265,5 e 306,5 (ϵ resp. 18957, 10770 e 5600). EM M⁺ 178 (100%) m/e (%) 148 (20), 135 (85), 121 (70), 102 (25), 91 (35) e 77 (25).

Acetilação do álcool 3,4-Metilenodioxicinâmílico - LPM-2

LPM-2, 20 mg, foi tratada com uma mistura de anidrido acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi deixada em repouso por 48 horas, à temperatura ambiente. A seguir, juntou-se gêlo picado e separou-se o acetato precipitado. Este foi então la-

vado com HCl 10% até a eliminação da piridina e, posteriormente, com água até pH neutro. Obteve-se 28 mg de LPM-2-OAc, um óleo viscoso. RMP (CDCl_3, τ) 7,85 (s, 3H), 5,30 (d, $J=16$ Hz, 1H), 4,05 (s, 2H), 3,87 (dt, $J=16$ e 6 Hz, 1H), 3,40 (d, $J=16$ Hz, 1H), 3,27 (d, $J=8$ Hz, 1H), 3,21 (d, $J=2$ Hz, 1H) e 3,13 (dd, $J=8$ e 2 Hz, 1H).

4-Hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído

LPM-3

Cristais amarelos escuros em forma de agulhas, ponto de fusão $108-110^\circ \text{C}$ (rec. em benzeno) [lit. (18) $108-110^\circ \text{C}$]. $\text{IV} \nu_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) 3280, 2840, 1667, 1605, 1585, 1510, 1453, 1423, 1405, 1367, 1330, 1275, 1253, 1207, 1140, 1110, 1047, 912, 845, 833, 730 e 636. RMP (CDCl_3, τ) 6,10 (s, 6H), 3,83 (s, 1H), 2,90 (s, 2H) e 0,61 (s, 1H). $\text{UV} \lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm) 232 e 310 (ϵ resp. 12920, 10375). $\text{UV} \lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH+NaOH}}$ (nm) 254 e 370 (ϵ resp. 8735 e 21475).

Sitosterol

LPM-4

Cristais incolores, ponto de fusão $134-136^\circ \text{C}$ (lavado com metanol e rec. em etanol) [lit. (21) $137-139^\circ \text{C}$]. $\text{IV} \nu_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) inter al. 3350, 2850, 1620, 1440, 1360, 1060 e 1035.

3,4-Metilenodioxialilbenzeno

LPM-5

Óleo ligeiramente amarelado, acentuado odor, pouco viscoso. $\text{IV} \nu_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}) 2780, 1637, 1607, 1490, 1480, 1440, 1357, 1285, 1245, 1185, 1123, 1100, 1040, 995, 925, 860, 840, 770, 730, 720.

4-hidroxi-3-metoxialilbenzeno

LPM-6

Óleo ligeiramente amarelado, acentuado odor, pouco viscoso. $IV \nu_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}) 3480, 1637, 1600, 1512, 1505, 1467, 1455, 1433, 1365, 1270, 1235, 1210, 1185, 1150, 1120, 1075, 1035, 995, 950, 912, 850, 817, 795, 745 e 710.

ESTUDO QUÍMICO DA LICARIA MACROPHYLLA (A.C.SMITH) KOSTERM.

A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

A Licarie macrophylla (A.C.Smith) Kostarm. (= Acrodiclidium macrophyllum A.C.Smith) (22) (Fig.19) que estudamos é uma árvore de 15 metros de altura, coletada na Reserva Florestal Ducke do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, km 27 da estrada Manaus-Itacoatiara, registrada na Divisão de Botânica deste Instituto, sob número de herbário 15.536. A espécie pertence a família das lauráceas, possui ramos cinéreos, glabros; pecíolo fortemente canaliculado, 20-30 cm de comprimento, erectos, essencialmente glabros; folhas com lâmina oblogo-oval, 25-33 cm de comprimento, 11-13 cm de largura, base cuneiforme, ápice acuminado, estreitamente cartilaginosa nas margens, coriáceas, esparsas, ligeiramente pilosas, nervuras centrais proeminentes em ambas as faces, nervuras laterais 8 de cada lado; inflorescência racemosa-paniculada, 20-40 flôres, pilosas, flôres hermafroditas pediceladas, glabras, cerca de 3 mm de comprimento. A planta vegeta na Amazônia, desde o Perú até o estado do Pará.

Os extratos benzênico e etanólico de sua madeira foram obtidos. Submetemos estes extratos a processos cromatográficos de separação. Obtivemos quatro substâncias que receberam siglas LM-1, LM-2, LM-3 e LM-4 e efetuamos o seu estudo químico.

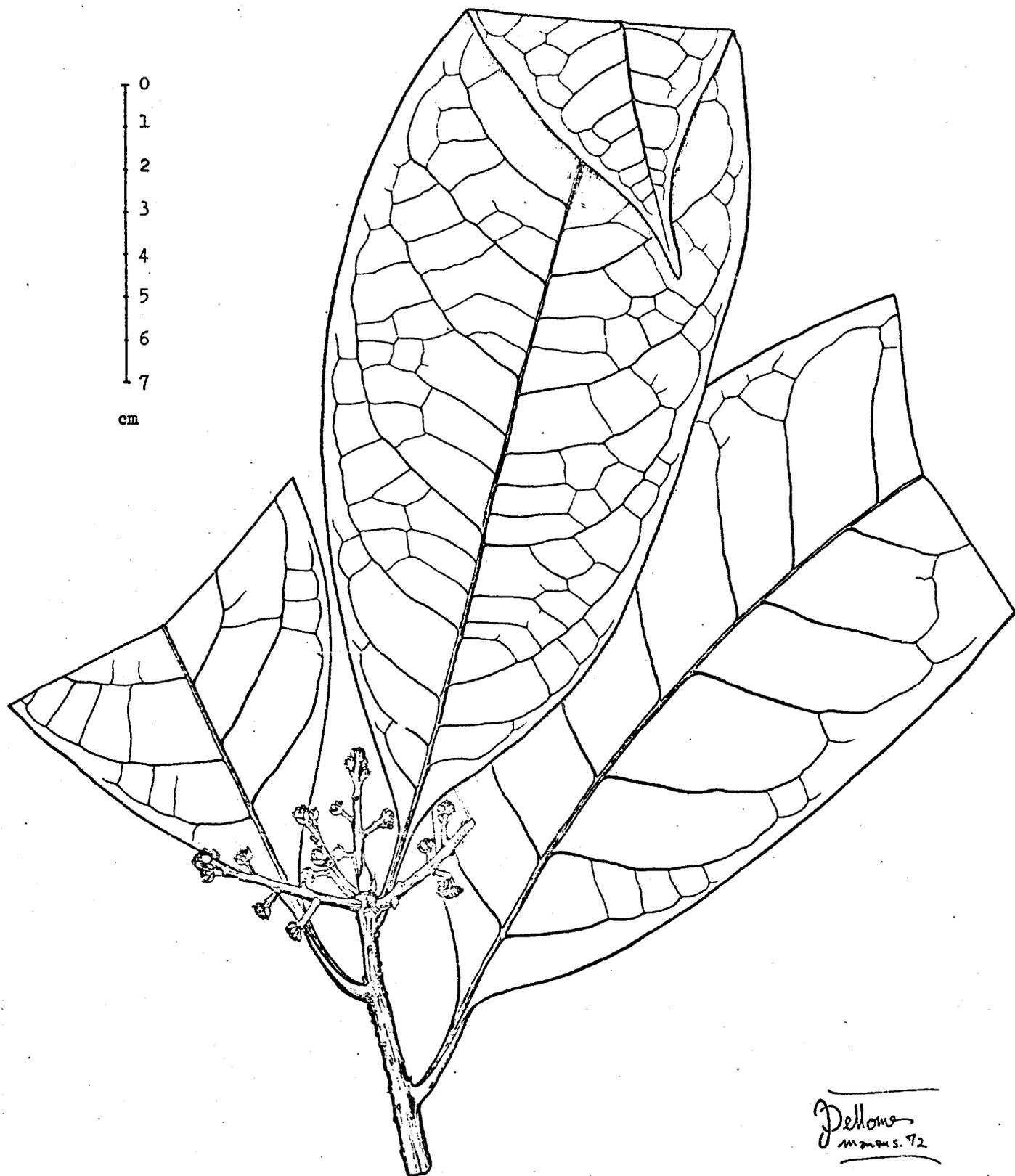


Fig. 19

Licaria macrophylla (A.C. Smith) Kosterm.

IDENTIFICAÇÕES

LM-1

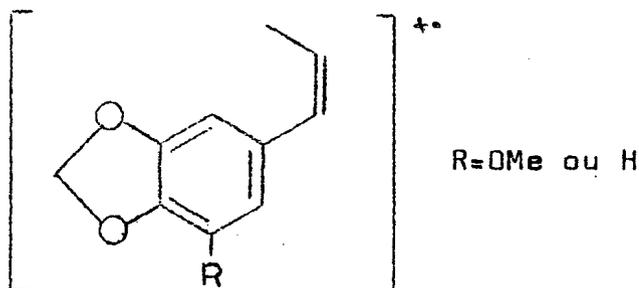
LM-1 revelou-se inédita e recebeu a designação de macrofilina.

Espectrometria de massa indicou o peso molecular de 402 u.m.a., que se coaduna com a fórmula $C_{22}H_{26}O_7$.

O espectro de ressonância magnética protônica (Fig.21) demonstrou a existência de um grupo metilenodioxí e de 3 grupos metoxí na macrofilina, e de um grupo acetoxi em seu acetato (Fig. 32). Por esta razão foi possível expandir a fórmula para $C_{18}H_{14}O_7.OH.(OMe)_3.O_2CH_2$. Trata-se, portanto, de um bis-urilpropanoide e, muito provavelmente, de uma neolignana. Este fato transparece ao comparar a fórmula citada com a fórmula $C_{18}H_{16}O_7.OH.OMe.O_2CH_2$, que pertence à guianina (XI), uma neolignana isolada de outra laurácea da Amazônia, Aniba guianensis Aubl. (23).

A semelhança entre as duas substâncias se estende aos espectros no UV e IV (Figs.20 e 22) (Tabela 3). Estes indicam, nos dois casos, a existência de um sistema aromático, de hidroxila e de carbonila α,β não saturada. Se, por isto, atribuirmos a ambas as substâncias esqueletos idênticos, basta cogitar das posições nas quais as duas metoxilas adicionais que a macrofilina possui, substituem dois hidrogênios da guianina. Um destes hidrogênios é aromático, pois no espectro de RMP da tetrahidromacrofilina (Fig.30) aparecem sinais devidos a apenas dois hidrogênios na região entre 3,0 τ e 4,0 τ . Os protons aromaticos correspondentes guardam entre si uma relação meta (3,50 τ , d. J=1,5 Hz e 3,30 τ , d. J=1,5 Hz). O deslocamento químico destes sinais, torna improvável que os protons se localizem orto, orto a duas funções oxigenadas, fato este que identifica o grupo com 3-metoxi-4,5-metilenodioxifenila.

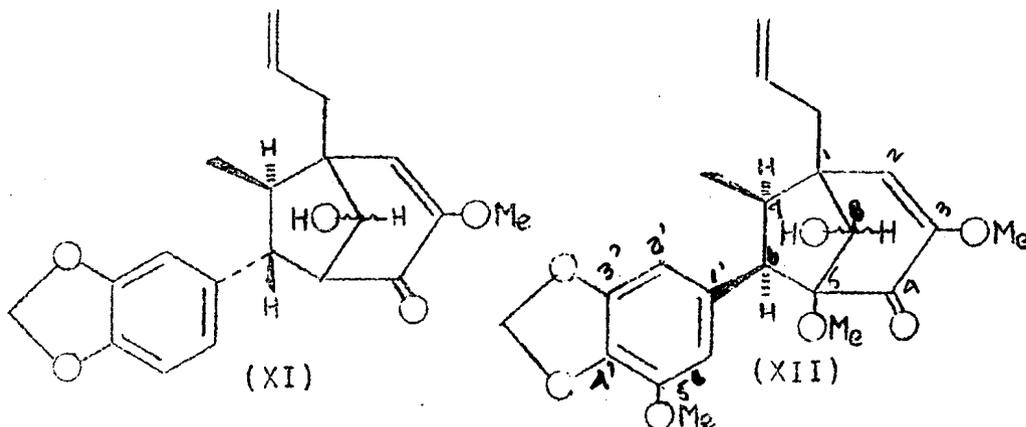
Que o anel aromático se encontra substituído por um grupo metoxi e outro metilenodioxi, fica confirmado pelo espectro de massa (Fig.23). Este contém como único pico comparável em intensidade ao pico molecular, o pico em 192 u.m.a., que deve corresponder ao fragmento de estrutura



em que R=OMe. O espectro de massa da guianina é análogo. Também nêle aparece ao lado do pico molecular apenas um único outro pico intenso em 162 u. m.a., que deve corresponder a um fragmento de estrutura idêntica em que R=H.

No intuito de estabelecer a estrutura da parte alifática da molécula da macrofilina, recorreu-se à comparação do seu espectro de RMP com o espectro da guianina (Tabela 3). Não há dúvida que a LM-1 possui um grupo metila ligado a carbono sp^3 terciário. A banda correspondente a este grupo metila aparece desdobrada em dois picos ($J=6,8\text{Hz}$). O próton do carbono terciário deveria dar pelo menos uma banda quadrupla ($J=6,8\text{ Hz}$), a única banda que se aproxima a um sinal deste tipo ocorre em $7,12\tau$. Sua multiplicidade sendo maior, no entanto, estabelece a presença de pelo menos mais um próton no carbono benzílico vizinho. A esse pode corresponder apenas o sinal em $7,61\tau$ ($J=8,7\text{ Hz}$), que é duplo, e não tríplice como no caso da guianina, razão por que deve ser ladeado de um carbono quaternário. A metoxila adicional que se deseja colocar, e que de fato é alifática ($6,68\tau$),

poderia estar localizada neste centro. O proton carbinólico dá lugar a uma banda simples em 5,80 τ , que de acordo com a natureza secundária do álcool, se desloca para campo mais baixo por 1,2 ppm ao acetilar a substância. Sinais referentes a grupo aliila também se destacam com clareza no espectro. Em campo bem baixo (3,15 τ) aparece uma banda simples que não consta do espectro da LM-1 hidrogenada, razão porque a atribuímos ao proton olefínico em β do sistema cetônico α, β não saturado, cuja posição α sustenta uma metoxila.



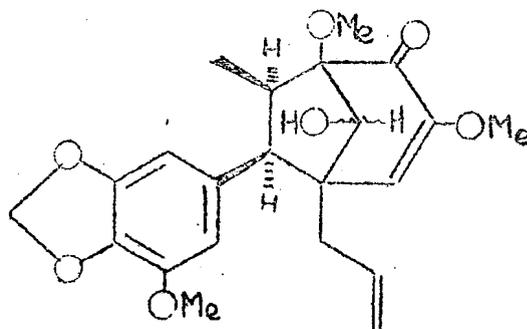
		XI	XII
UV	EtOH max, nm (ϵ)	235 (8600)	215 (53065)
		265 (10300)	235 (20500) 270 (6000)
IV	KCl max, cm^{-1}	3460	3420
		1681 1626	1685 1627
		929	928
RMP (τ)	ArH-2	3,49 (s)	3,30 (d, J=1,5 Hz)
	ArH-5	3,34 (d, J=8,0 Hz)	-
	ArH-6	3,47 (d, J=8,0 Hz)	3,50 (d, J=1,5 Hz)
	H-2	3,90 (s)	3,15 (s)

O_2CH_2	4,18 (s)	4,10 (s)
$CH=CH_2$	4,05-4,25 (m)	4,05-4,45 (m)
$CH=CH_2$	4,68-4,87 (m)	4,70-5,10 (m)
H-8	6,02 (s)	5,80 (s)
$ArOCH_3$	-	6,15 (s)
$CH=COCH_3$	6,38 (s)	6,06 (s)
$C.OCH_3$	-	6,68 (s)
H-6	6,45 (t, J=7,0 Hz)	7,61 (d, J=8,7 Hz)
H-5	6,81 (d, J=7,0 Hz)	-
$CH-CH=CH_2$	7,36 (dd, J=7,0 e 14,0 Hz)	6,94 (d, J=7,0 Hz)
$CH-CH=CH_2$	7,60 (dd, J=7,0 e 14,0 Hz)	-
OH	7,59 (s)	7,00
H-7	7,78 (quint. J=7,0 Hz)	7,12 (m)
$C-CH_3$	8,77 (d, J=7,0 Hz)	9,08 (d, J=6,8 Hz)

Tabela 3

As diferenças de posição de várias bandas, entre os espectros da guianina e da macrofilina, devem correr por conta da configuração diferente do grupo arila. O aparecimento do sinal metílico na macrofilina em campo mais alto faz supor que, opostamente a que se dá no caso da guianina, o grupo metila se encontra sobre a região de proteção do anel aromático. A orientação do grupo arila, deve ainda ser responsável pela relativa proteção do hidrogênio benzílico e pela relativa desproteção dos hidrogênios assinalados dos grupos $CHCH_3$ e $CH=C.OMe.CO$.

Em consequência do raciocínio desenvolvido, propõe-se para a macrofilina a constituição 1-allyl-8-hidroxi-3,5-dimetoxi-7-metil-4-oxo-6-(3',4'-metilenodioxi-5'-metoxifenil)-biciclo [3, 2, 1]oct-2-eno, cuja configuração relativa fica indicada em XII. Claro está que a argumentação desenvolvida não permite eliminar a alternativa XIII. Outras duas alternativas nas quais as funções oxigenadas da parte alifática não seriam vicinais, desconsideramos por razões biogênicas. Este tópico é abordado na parte re-



(XIII)

LM-2 e LM-4

Determinaram-se, por espectrometria de massa (Figs.26 e 29) e ressonância magnética protônica (Figs.25 e 28), as fórmulas moleculares $C_{15}H_{30}O$ e $C_{15}H_{26}O$, respectivamente, para as substâncias LM-2 e LM-4. Os espectros no IV (Figs.24 e 27) mostraram ausência de absorções na região das carbonilas, ostentando fortes bandas na região das absorções hidroxílicas. Trata-se assim, de dois alcoois sesquiterpênicos cujo estudo será realizado no futuro.

LM-3

As constantes físico-químicas indicaram tratar-se de sitosterol. Comparação direta com amostra autêntica confirmou a suposição.

Do estudo químico iniciado com os óleos voláteis da casca e madeira da Licaria macrophylla (A.C. Smith) Kosterman, obtivemos, até o presente, os resultados constantes do Quadro 2. O isolamento e as determinações estruturais dos componentes do óleo foram feitos por cromatografia de gás, analítica e preparativa e o uso de métodos espectrométricos como ressonância magnética prótonica e infravermelho.

	%	separação	identificação
Borneol	3	CGL	IV
Nerolidol	5		CGL
Elemol	25	CGL	RMP, IV
Alcool terciário sesquiterpênico	40	CGL	RMP, IV

Quadro 2

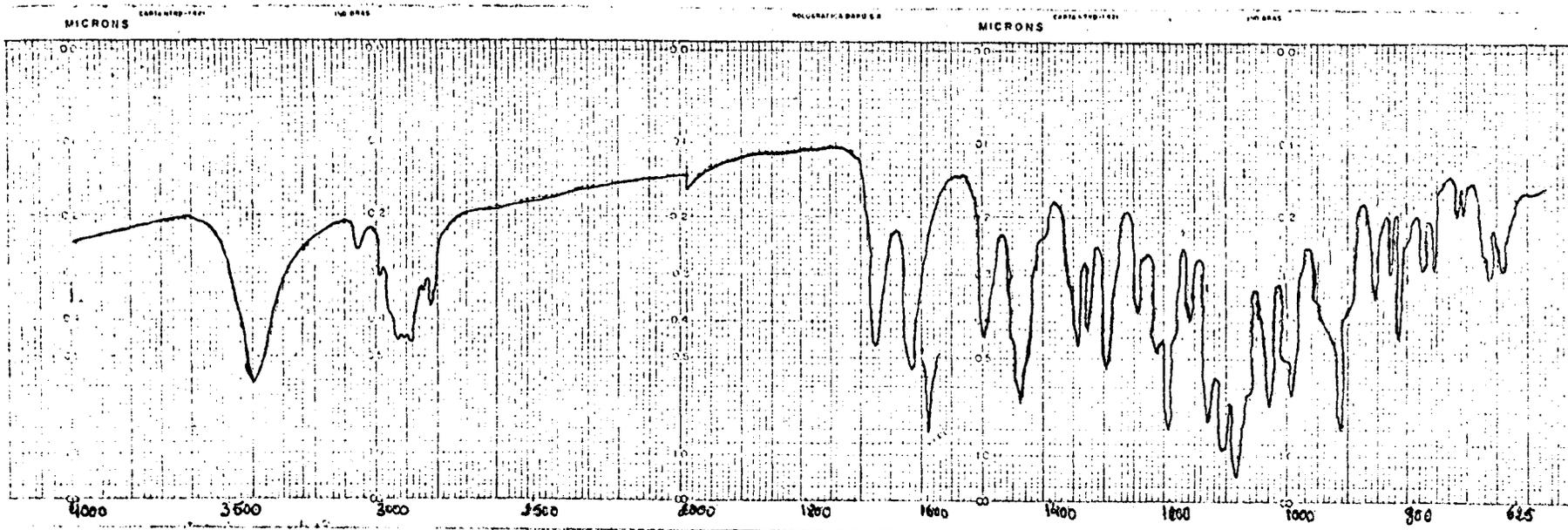


Fig.20
Espectro IV de LM-1

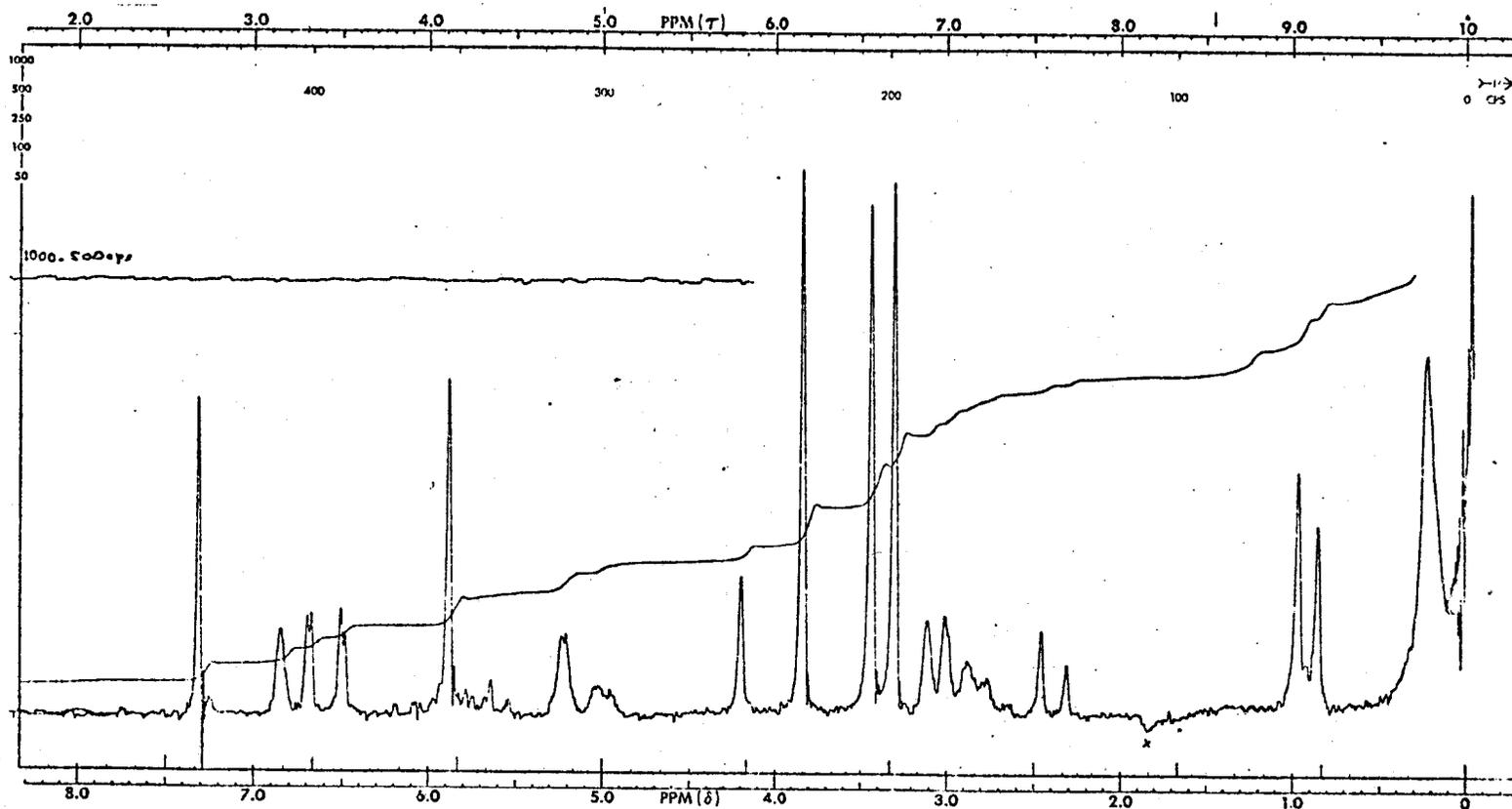
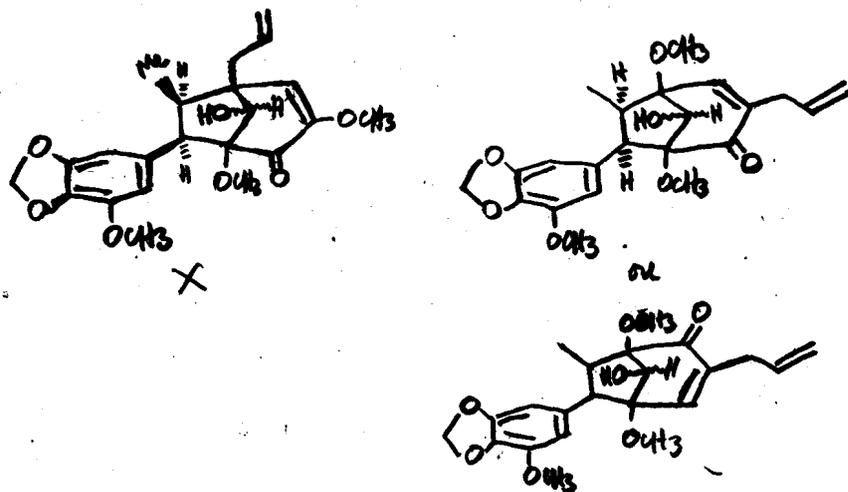


Fig.21
Espectro RMP de LM-1



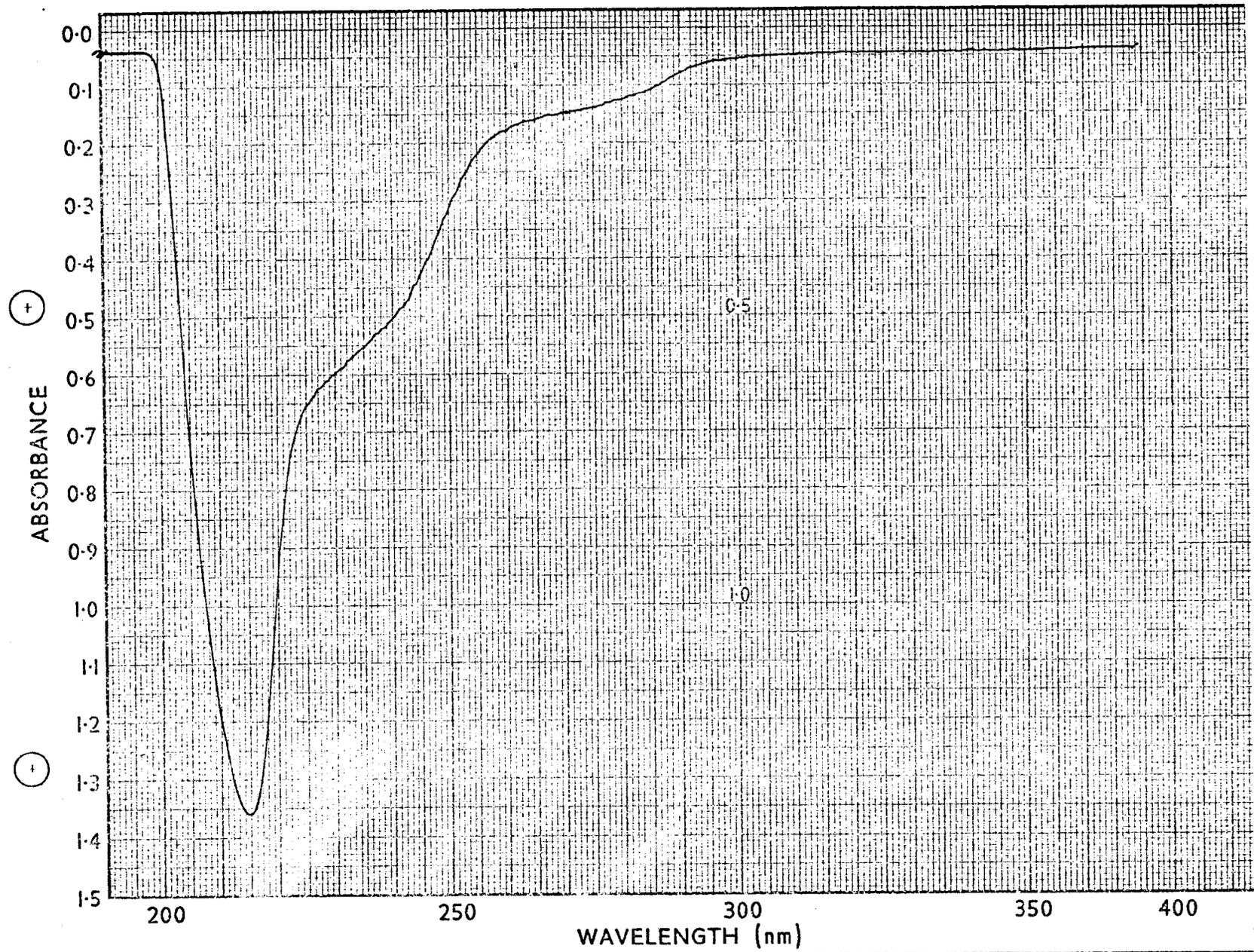


Fig.22
Espectro no UV de LM-1

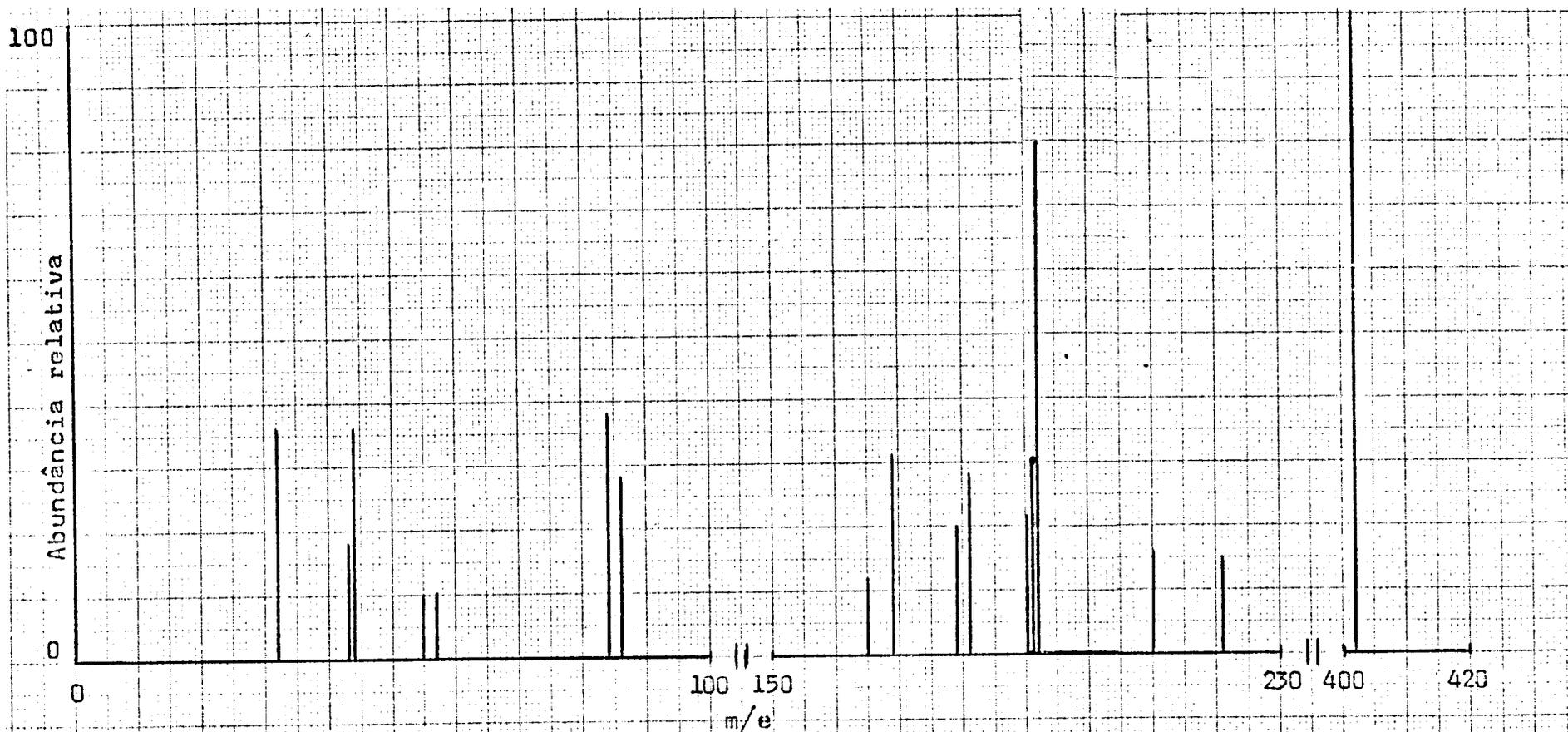


Fig.23
Espectro da massa de LM-1

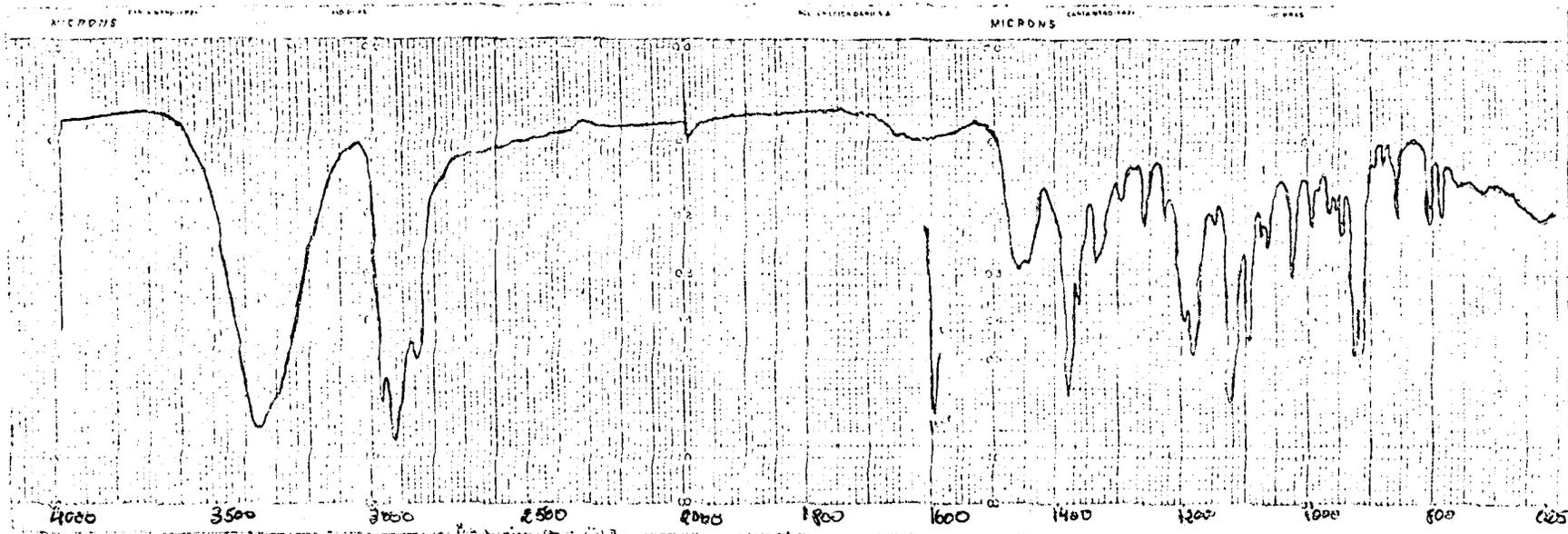


Fig.24
Espectro no IV de LM-2

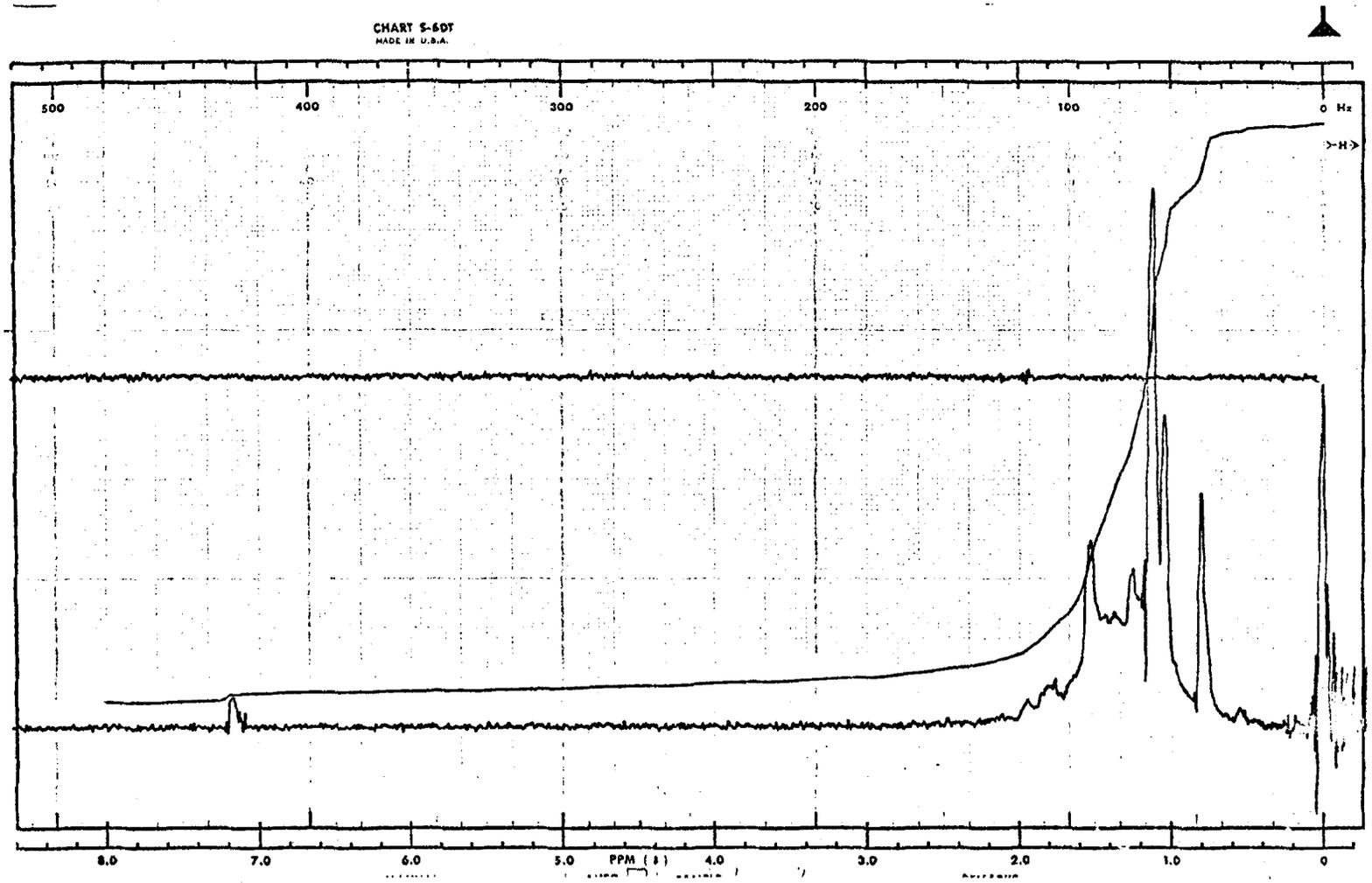


Fig.25
Espectro RMP de LM-2

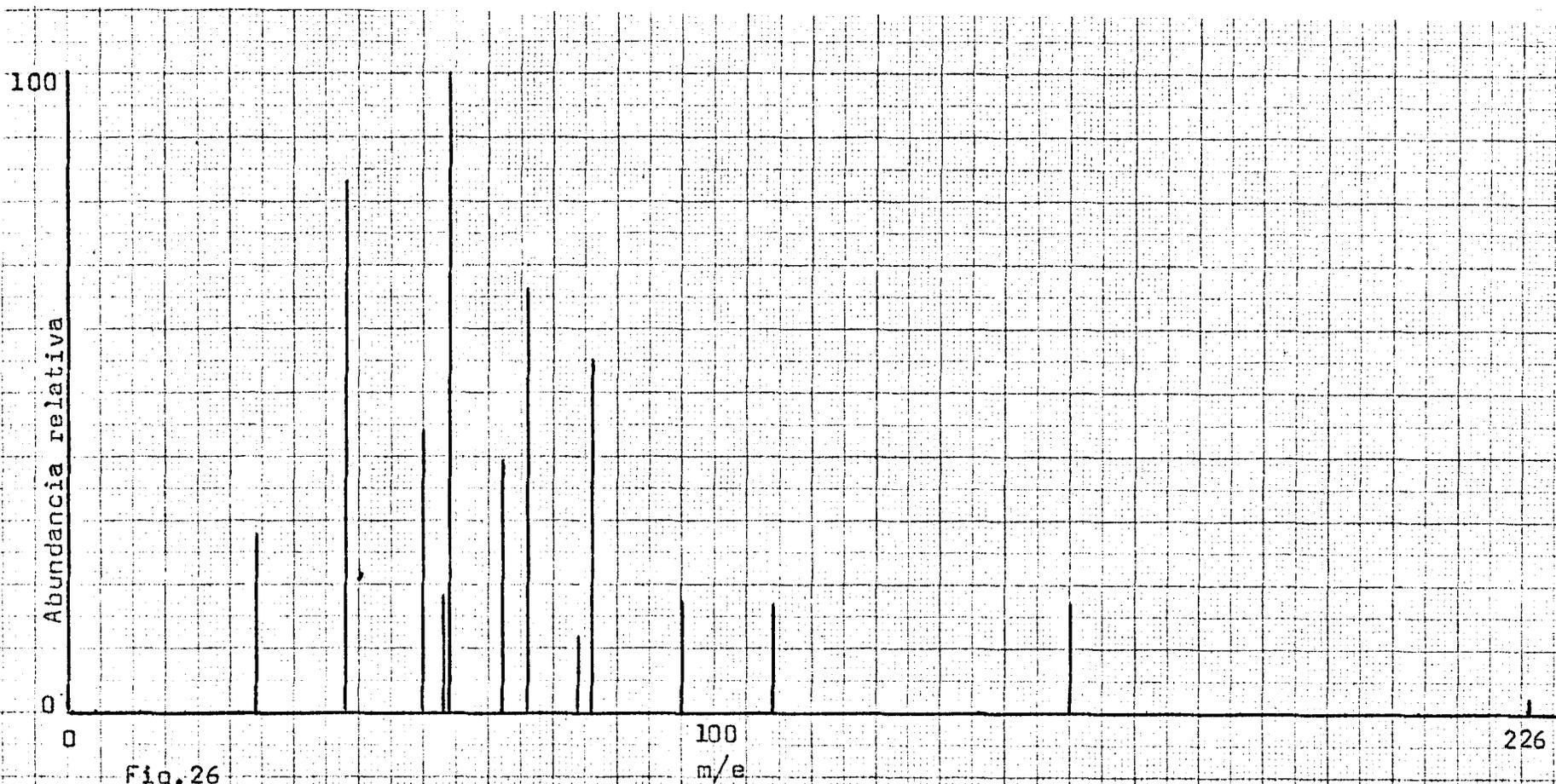


Fig.26
Espectro de massa de LM-2

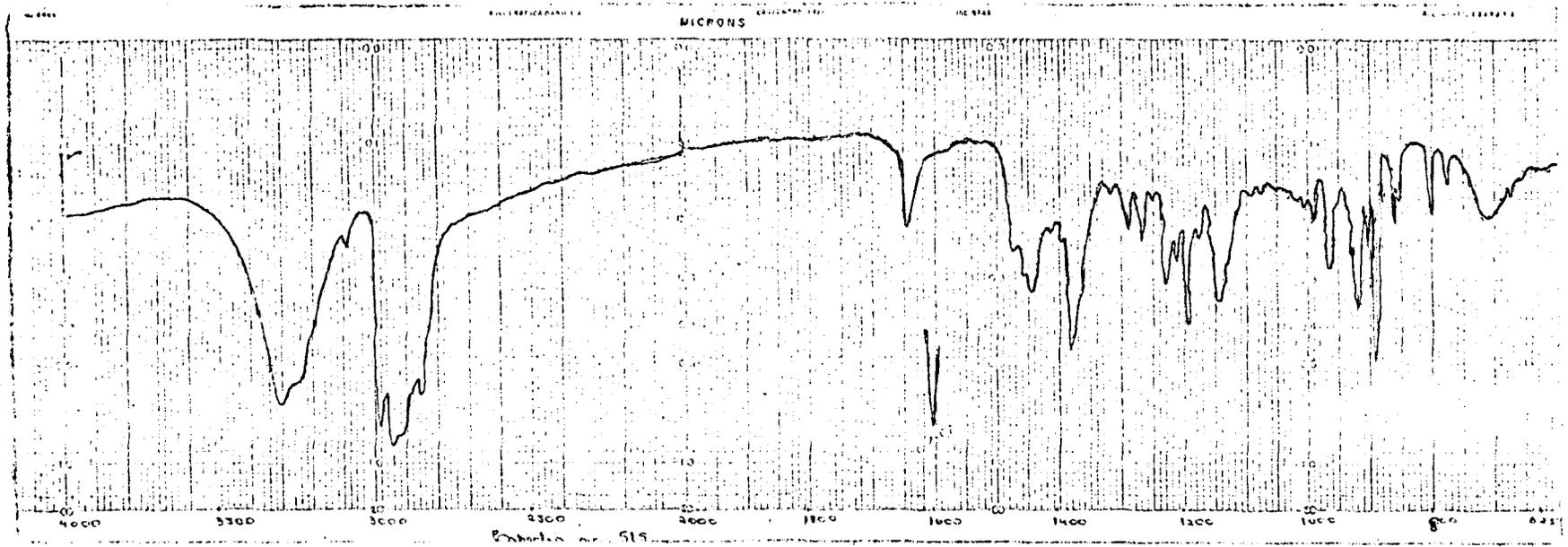


Fig.27
Espectro no IV de LM-4

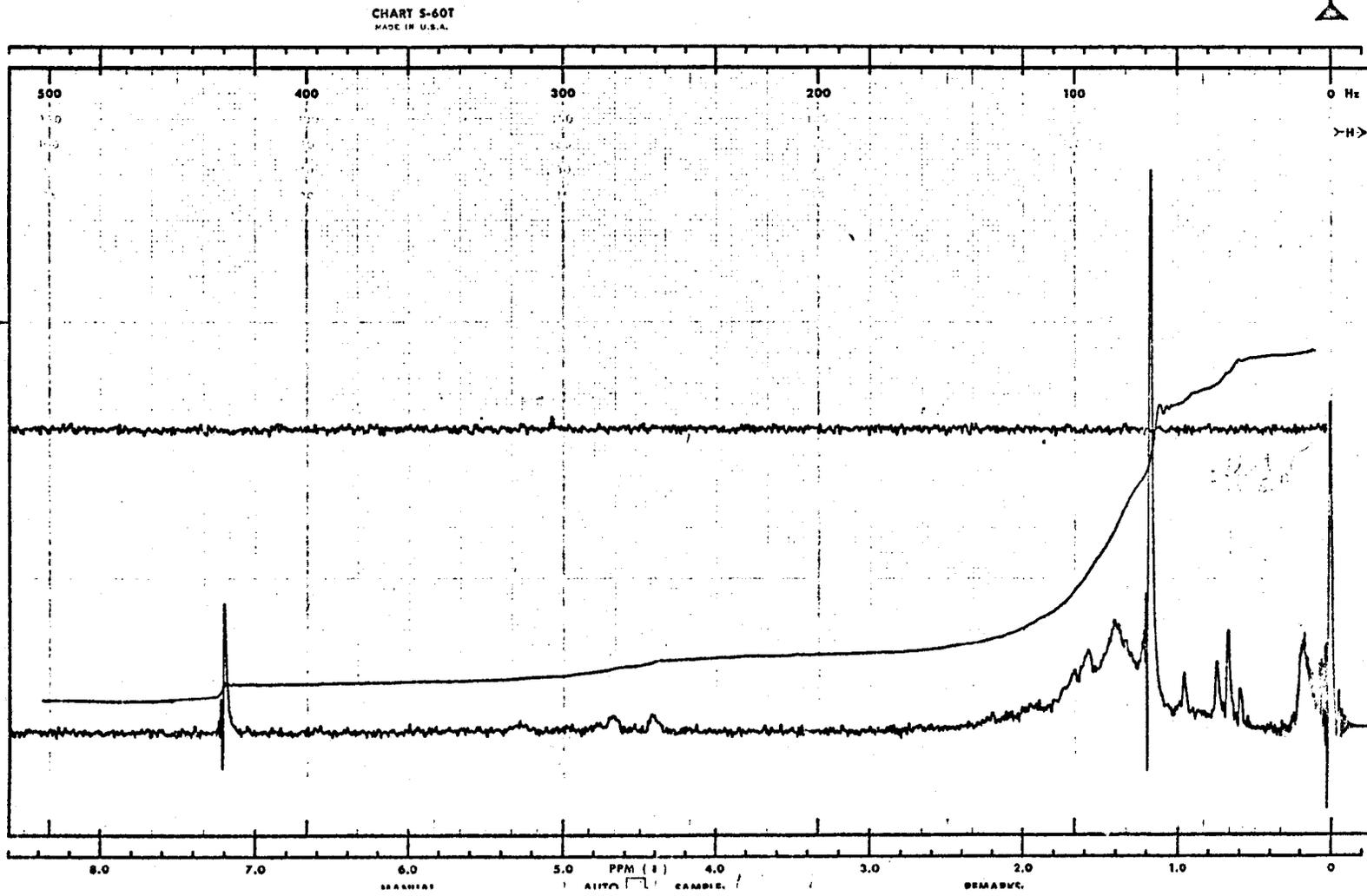
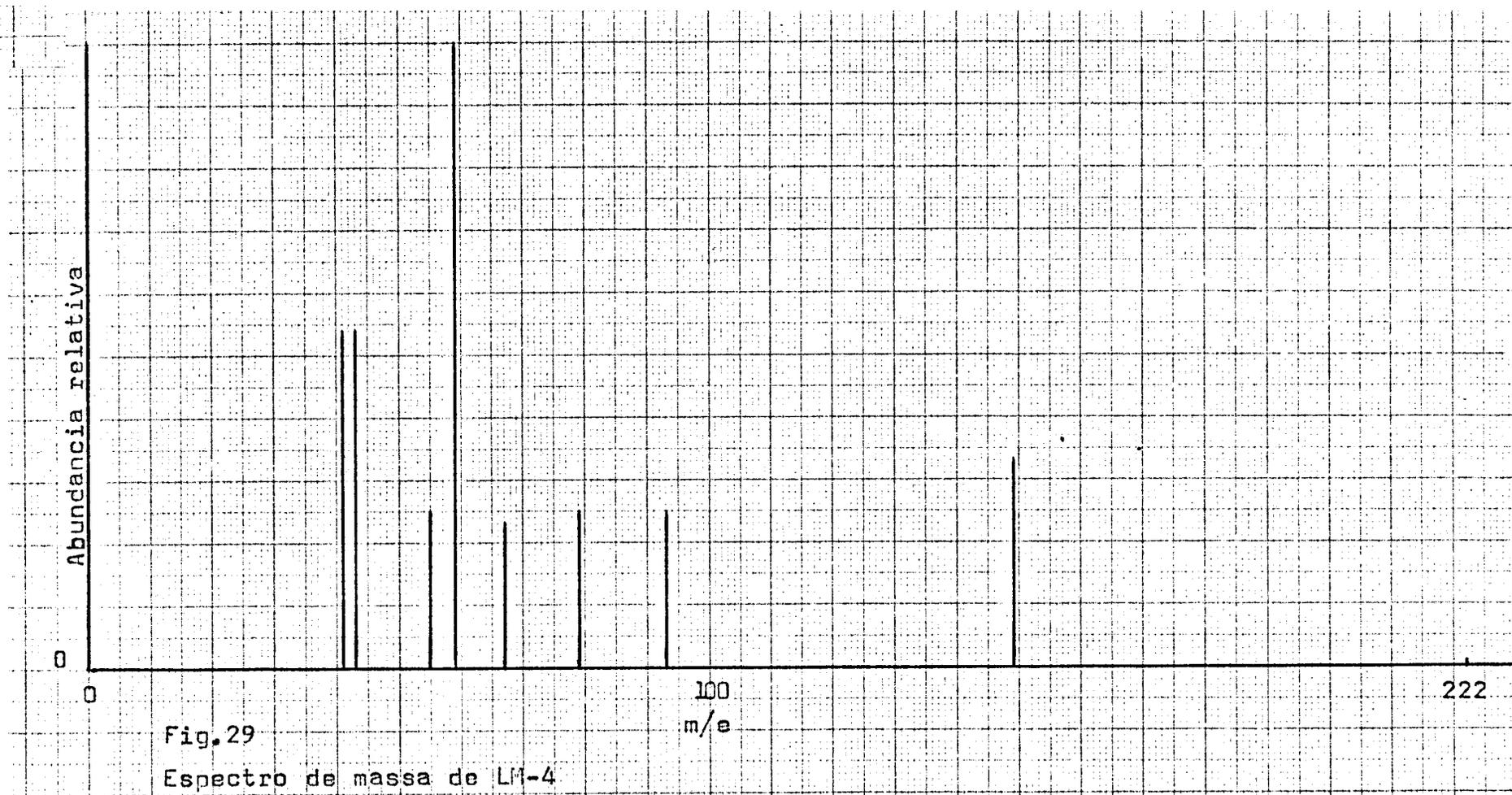


Fig.28
Espectro RMP de LM-4



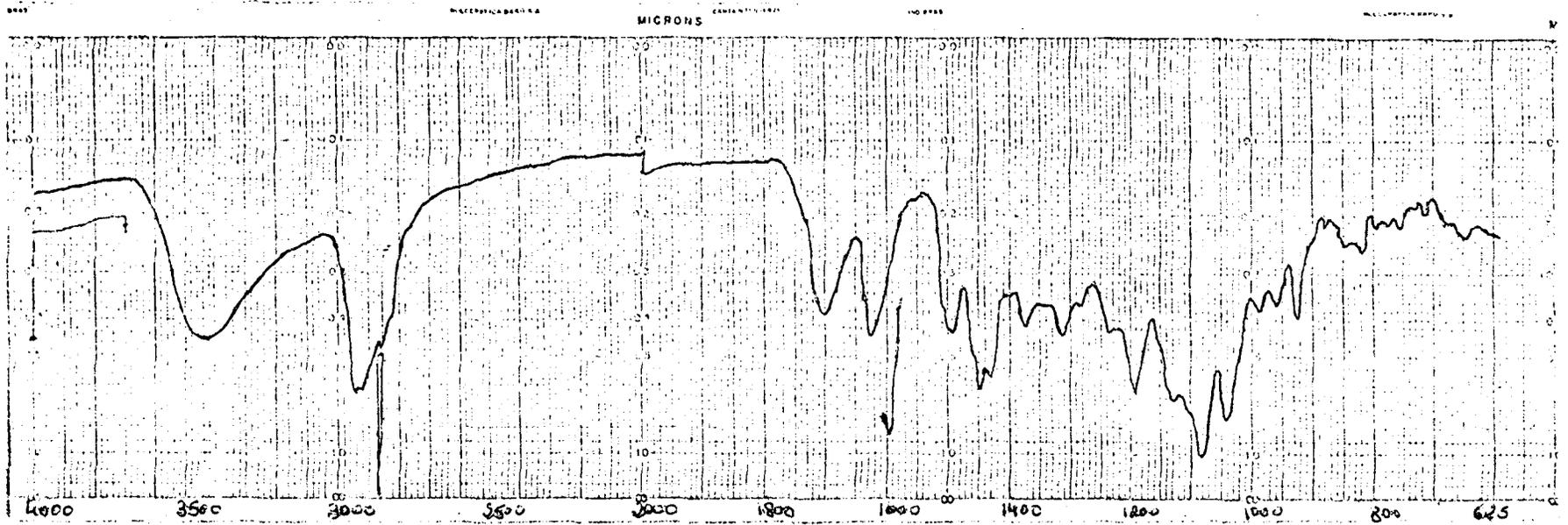


Fig.30
Espectro no IV de LM-1-H₂

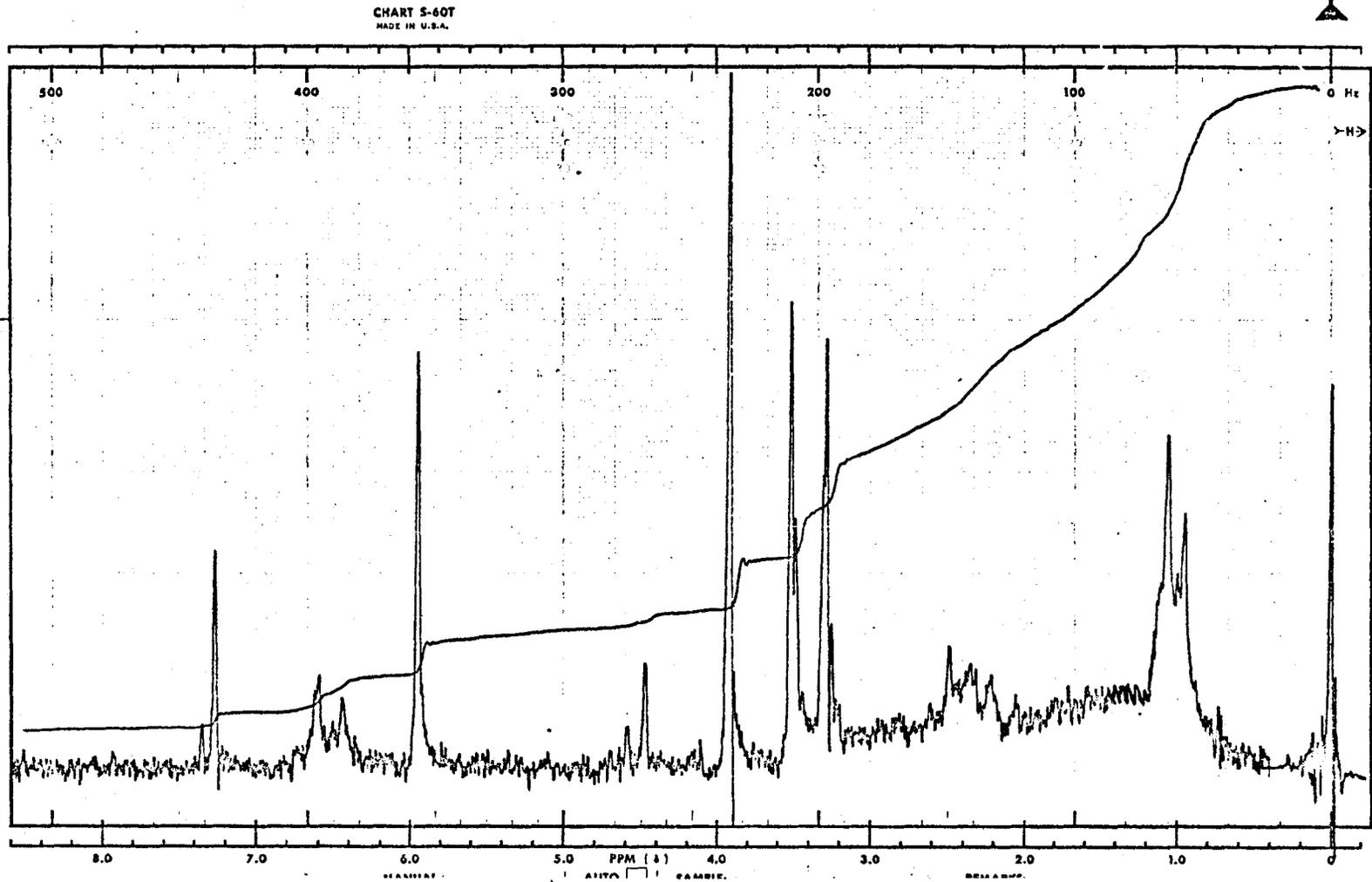


Fig.31
Espectro RMP de LM-1-H₂

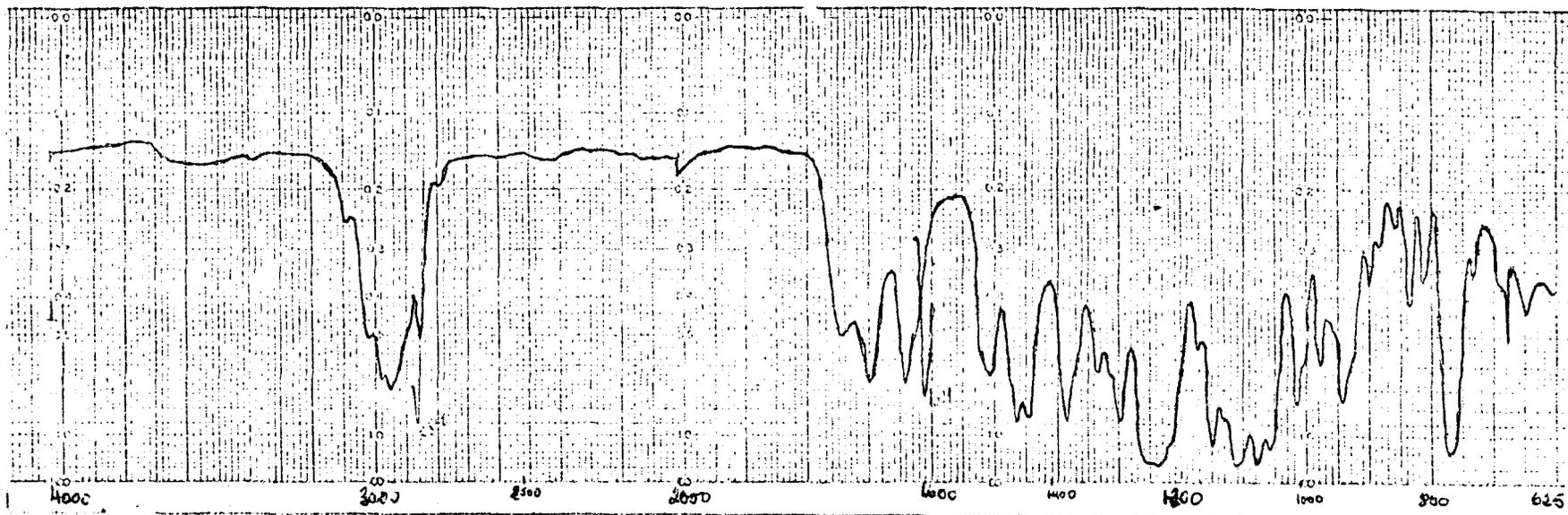


Fig.32
Espectro no IV de LM-1-OAc

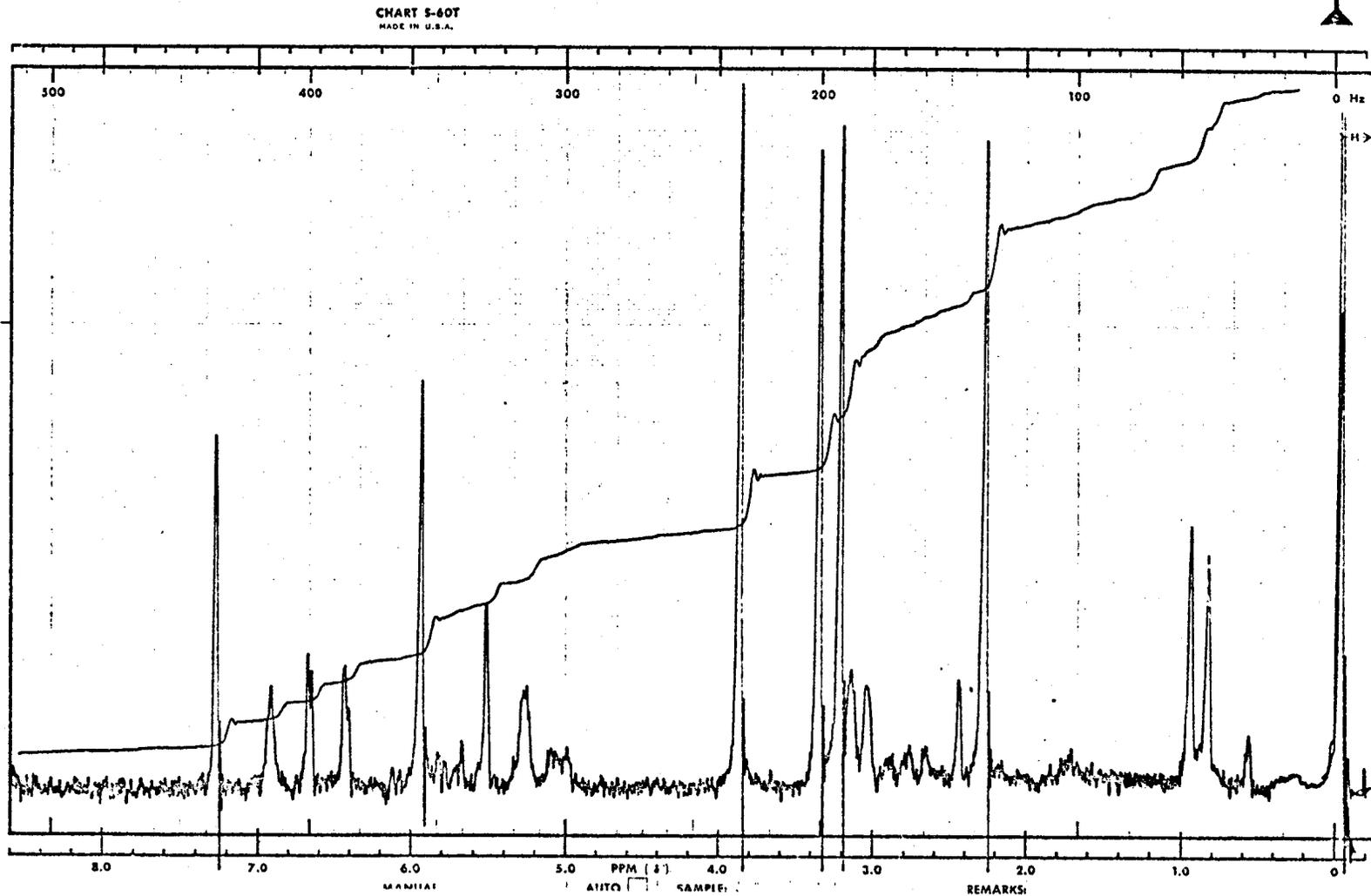


Fig.33
Espectro RMP de LM-1-OAc

PARTE EXPERIMENTAL

Notas: ver página 15

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DA LICARIA MACROPHYLLA

DIAGRAMA III

Após a coleta do material, as folhas foram separadas dos galhos grossos e finos e estes secados em estufa natural, a uma temperatura de 45^o C.

Feito a secagem e eliminada a casca, a madeira foi moída e extraída exaustivamente com benzeno a frio e, posteriormente com etanol, também a frio.

As soluções resultantes foram concentradas em evaporador rotativo sob vácuo, a uma temperatura de 40^o C. Obtivemos 200 g de extrato benzênico e 300 g de extrato etanólico, para uma quantidade inicial de 6 kg de madeira moída.

O extrato benzênico após vários dias em repouso se mostrou parcialmente cristalizado, o que nos levou a efetuar, uma filtração dos cristais em funil de buchner. Obtivemos 1,8 g de uma substância cristalina incolor, recristalizada em fração leve de petróleo + metanol (algumas gotas), com ponto de fusão 175-178^o C, que recebeu a sigla LM-1. O extrato benzênico resultante desta filtração, após mais uma semana em repouso e evaporação natural do solvente, tornou a depositar outra quantidade de LM-1, o que nos conduziu a proceder como anteriormente, com a obtenção de mais 1,5 g do material.

Procedemos a uma separação cromatográfica de 22 g do extrato benzênico, em coluna de vidro de 120 x 5 cm, com capa-

cidade para 500 g de sílica gel, usando como eluente inicial benzeno. Destacamos o seguinte desenvolvimento:

Eluentes	frações
Benzeno	1-24
Benzeno + clorofórmio (7:3)	25-30
Benzeno + clorofórmio (1:1)	31-40
Benzeno + clorofórmio (3:7)	41-60
Clorofórmio	61-80
Clorofórmio + metanol (9,5:0,5)	81-90
Clorofórmio + metanol (9:1)	91-96

As frações foram submetidas a estudo comparativo por cromatografia em camada delgada de sílica, o que permitiu reuni-las em 8 grupos, dos quais se isolou 4 substâncias.

As frações 11-16 ofereceram cristais incolores (112 mg), impurificados por um óleo, que após serem lavados com metanol e recristalizados em etanol, deram uma substância com o ponto de fusão entre 134-136° C. Recebeu a sigla LM-3.

As frações 36-45 ofereceram cristais incolores, bastante puros, recristalizados em fração leve de petróleo + metanol, com ponto de fusão 175-178° C. Comprovou-se posteriormente tratar-se de LM-1 (800 mg), isolado previamente do extrato benzênico bruto.

As frações 57-64 ofereceram cristais incolores, ligeiramente impurificados por um óleo, recristalizados em benzeno + metanol (algumas gotas), 57 mg de peso, ponto de fusão 132-134° C. Receberam a sigla LM-2.

As frações 6-8 ofereceram uma substância incolor com aparência de cêra, elevada pureza, cerca de 4 g de peso, ponto de fusão baixo, 68-72°. Recebeu a sigla LM-4.

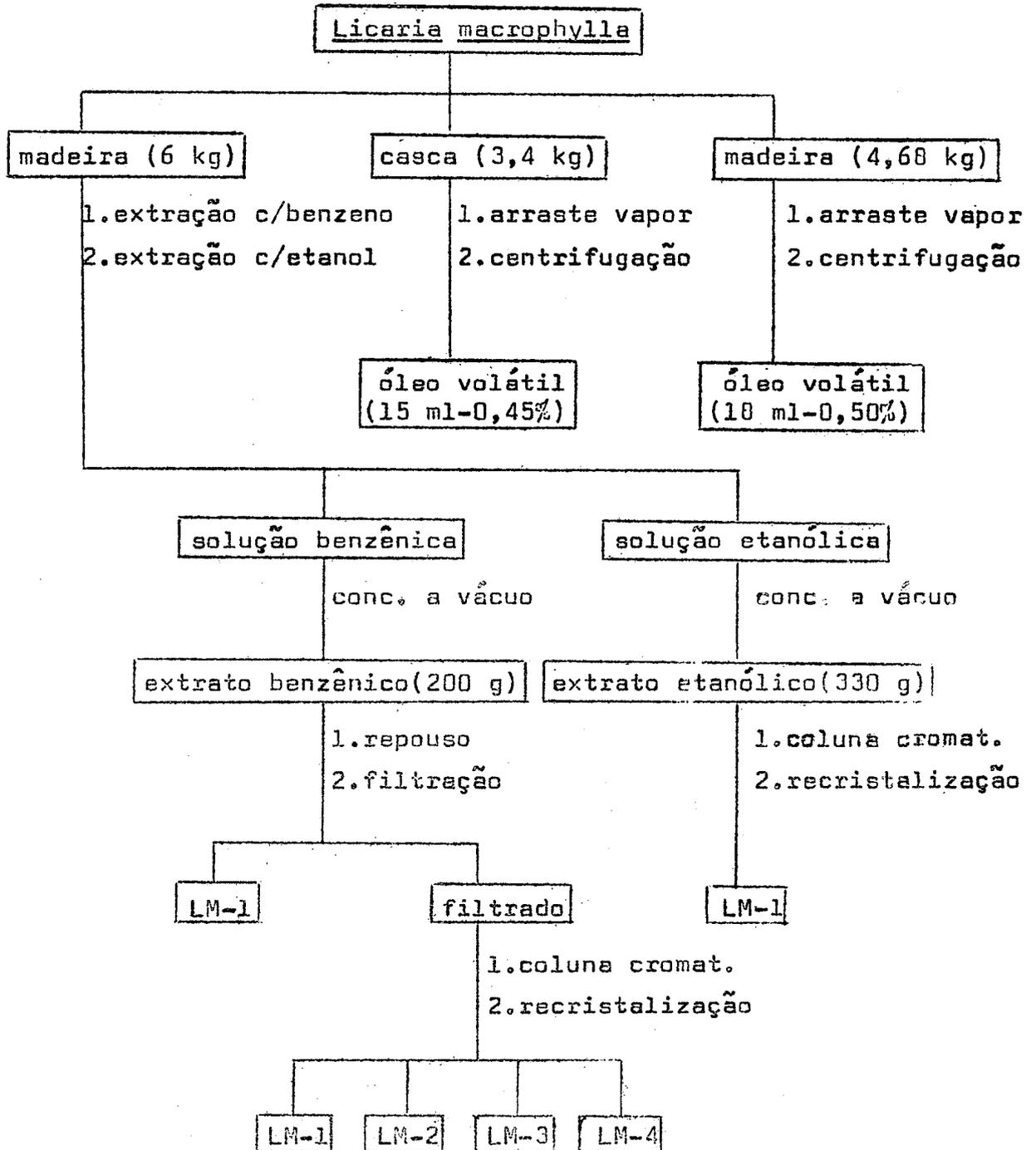
Os demais grupos de frações do extrato benzênico não conduziram a nenhuma substância pura.

O extrato etanólico da madeira foi trabalhado nas mesmas condições do extrato benzênico, exceto quando substituímos o clorofórmio e o metanol por acetato de etila na separação cromatográfica. A eluição foi feita inicialmente com benzeno e em seguida aumentando a polaridade do solvente, gradativamente, com acetato de etila (nas proporções 9:1, 8:2, 7:3, 1:1, 3:7, 2:8, e finalmente, acetato de etila puro). Conseguiu-se isolar 2,5 g de LM-1.

A Licaria macrophylla, por apresentar acentuado odor, foi submetida a arraste com vapor para obtenção de seu óleo volátil. Utilizamos inicialmente 3400 g de casca seca moída, colocado dentro de 2 balões para 12 litros, contendo cada um cerca de 7 litros de água destilada, ligados a coletores do tipo clewenger modificados. O aquecimento foi dado com o auxílio de mantas aquecedoras adequadas para as capacidades dos balões. O óleo obtido foi recolhido numa proveta, com a menor quantidade possível de água, centrifugado durante 20 minutos em presença de sulfato de sódio anidro e separado através de uma pipeta capilar. Apresentou cor amarelada, menos denso que a água, rendimento de 15 ml (0,45%), $n_D^{20} 1,4975$.

Posteriormente obtivemos o óleo volátil da madeira da Licaria macrophylla, utilizando 3 balões para 12 litros com 1560 g de material cada um. O trabalho de separação acima descrito foi repetido e conseguimos obter a soma de 18 ml (0,5%) de um óleo amarelado, menos denso que a água, $n_D^{20} 1,5055$.

DIAGRAMA III



LM-1

Cristais levemente amarelados, finamente divididos, ponto de fusão 175-178° [rec. em fração leve de petróleo + metanol (algumas gotas)]. $\nu_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) 3420, 2910, 2840, 1685, 1627, 1507, 1450, 1352, 1335, 1305, 1255, 1205, 1168, 1140, 1120, 1095, 1005, 970, 928, 875, 828, 792, 780, 678 e 658. RMP (CDCl_3, τ) 9,08 (d, J=6,8 Hz, 3H), 7,61 (d, J=8,7 Hz, 1H), 7,0 (s, 1H), 7,12 (m, 1H), 6,94 (d, J=7,0 Hz, 2H), 6,68 (s, 3H), 6,15 (s, 3H), 6,06 (s, 3H), 5,80 (s, 1H), 4,70 - 5,10 (m, 2H), 4,05 - 4,45 (m, 1H), 4,10 (s, 2H), 3,50 (d, J=1,5 Hz, 1H), 3,30 (d, J=1,5 Hz, 1H) e 3,15 (s, 1H). $\text{UV } \lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm) 215, 235 e 270 (ϵ resp. 53065, 20500 e 6000). EM M^+ 402 (100%) m/e (%) 221 (15), 210 (16), 195 (20), 192 (80), 191 (31), 190 (22), 181 (28), 179 (20), 169 (31), 165 (12), 86 (28), 84 (36), 57 (10), 55 (10), 44 (36) 43 (18).

LM-2

Cristais incolores, finamente divididos, ponto de fusão 132-134° C [rec. em benzeno + metanol (algumas gotas)]. $\nu_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) 3370, 2970, 2930, 2860, 1465, 1450, 1385, 1370, 1340, 1325, 1300, 1265, 1230, 1200, 1150, 1125, 1100, 1080, 1070, 1030, 1000, 970, 960, 950, 930, 920, 900, 885, 860, 810 e 790. RMP (CDCl_3, τ) 9,20 (s, 3H), 8,95 (s, 3H), 8,88 (s, 9H), 8,48 (s, 3H). EM m/e (%) 226 (2), 155 (17), 109 (17), 95 (17), 81 (55), 71 (66), 67 (39), 59 (100), 55 (44), 43 (83).

LM-3

Cristais incolores, finamente divididos, ponto de fusão 134-136° C (rec em etanol) lit. (21) 137-139° C. $\nu_{\text{max}}^{\text{KCl}}$

(cm^{-1}) 3410, 2970, 2950, 2880, 2865, 1476, 1460, 1380, 1370, 1070, 1060, 1030, 965, 845 e 810.

LM-4

Cristais incolores, ponto de fusão $68-72^{\circ}$ C. $\text{IVV}_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) 3300, 2970, 2940, 2910, 2840, 1640, 1470, 1455, 1440, 1410, 1375, 1285, 1265, 1245, 1225, 1210, 1190, 1170, 1145, 1135, 990, 960, 925, 915, 900, 890, 855, 850, 800, 770 e 710. RMP (CDCl_3, τ) 9,32 (t, $J=4,0$ Hz, 3H), 8,82 (s, $\sim 8\text{H}$) e 8,48 (m, $\sim 15\text{H}$). EM $M^{+} 222$ (0,5%) m/e (%) 149 (33), 93 (25), 79 (25), 67 (23), 59 (100), 55 (25), 43 (54) e 41 (54).

Hidrogenação de LM-1

LM-1 (100 mg), etanol (15 ml) e catalizador Pd/C 15% (15 mg) foram submetidos a atmosfera de hidrogênio com agitação e a temperatura ambiente por 8 horas. A mistura da reação foi filtrada para eliminar o excesso de catalizador e evaporada sob vácuo. Obtivemos uma nova substância, oleosa, denominada LM-1- H_2 .

LM-1- H_2 , substância oleosa. $\text{IVV}_{\text{max}}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}) 3440, 2950, 2930, 2870, 1705, 1630, 1505, 1495, 1453, 1380, 1320, 1285, 1240, 1200, 1130, 1110, 1090, 1045, 990, 965, 930, 915, 805, 860, 820, 800, 780 e 760. RMP (CDCl_3, τ) 9,00 (d,t, superpostas, 6H), 6,80 e 8,60 (15H), 6,72 (s, 3H), 6,50 (s, 3H), 6,08 (s, 3H), 5,53 (s, 1H), 4,07 (s, 2H), 3,55 (d, $J=1,5$ Hz, 1H) e 3,40 (d, $J=1,5$ Hz, 1H).

Acetilação de LM-1

LM-1 (70 mg) foi tratada com uma mistura de anidrido acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi deixada em repouso por 48 horas, à temperatura ambiente. A seguir, juntou-se gelo picado e separou-se o acetato precipitado. Este foi então lavado

com HCl 10% até a eliminação da piridina e, posteriormente com água até pH neutro. Obteve-se 86 mg de uma substância oleosa, intensamente amarela, denominada LM-1-OAc.

LM-1-OAc, substância oleosa. $IVV_{\max}^{\text{filme}}$ (cm^{-1}) 3000, 2960, 2930, 2840, 1735, 1690, 1630, 1515, 1500, 1455, 1435, 1375, 1325, 1290, 1235, 1205, 1160, 1140, 1120, 1100, 1065, 1045, 1005, 970, 950, 935, 890, 870, 850, 825, 805, 760, 725 e 670. RMP (CDCl_3, τ) 9,15 (d, $J=7,0$ Hz, 3H), 7,73 (s, 3H), 7,63 (d, $J=9,0$ Hz, 1H), 7,22 (s,m, superpostas, 2H), 6,90 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 6,80 (s, 3H), 6,65 (s, 3H), 6,13 (s, 3H), 4,85 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 4,06 (s, 2H), 3,57 (d, $J=1,5$ Hz, 1H), 3,32 (d, $J=1,5$ Hz, 1H) e e,10 (s, 1H).

Tentativa de pirólise de LM-1

LM-1 (100 mg) e N,N-dietilanilina (0,5 ml) foram submetidos a atmosfera de nitrogênio (para evitar oxidação) com agitação e a temperatura de ebulição por 4 horas. A mistura da reação foi tratada com HCl 2N para eliminar a N,N-dietilanilina e, posteriormente com água até pH neutro. Recuperou-se LM-1 inalterada.

ESTUDO QUÍMICO DA LICARIA AUREA (HUBER) KOSTERM.

A PLANTA E SEUS CONSTITUINTES

A Licaria aurea (Huber) Kosterm. (= Acrodiclidium aureum Huber) (24) (Fig.34) que estudamos é uma árvore pequena, coletada na Reserva Florestal Ducke do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, km 27 da estrada Manaus-Itacoatiara, registrada na Divisão de Botânica deste Instituto, sob número de herbário 21.389. A espécie pertence a família das lauráceas, possui ramos rufo-tomentosos enquanto jovens, depois escuros e glabros ou ligeiramente pruinoso-tomentosos; casca um pouco aromática; fôlhas opostas ou subopostas, pecioladas (pecíolo de 1,0 cm profundamente canaliculado), oblongas, até 12,0 cm de comprimento e 4,0 cm de largura, caudato-acuminadas, contraídas em pecíolo na base, coriáceas, glabras e imerso-reticuladas na página superior, douradas e brilhantes ou cúpreo-sedosas e saliente-reticuladas na página inferior; flôres curto-pediceladas (pedicelos cúpreo-sedosos), de tubo tomentoso, dispostas em panículas axilares. Espécie ornamental cuja espessa folhagem, especialmente quando sêca e graças ao seu brilho metálico, fortemente acentuado, é muito procurada para ornamentar o interior das habitações. Vegeta na Amazônia e é conhecida vulgarmente como "fôlha dourada" e "louro fígado de galinha".

Os extratos benzênico e etanólico de sua madeira foram obtidos. Submetemos estes extratos a processos cromatográficos de separação. Obtivemos duas substâncias que receberam as siglas LA-1 e LA-2 e efetuamos o seu estudo químico.

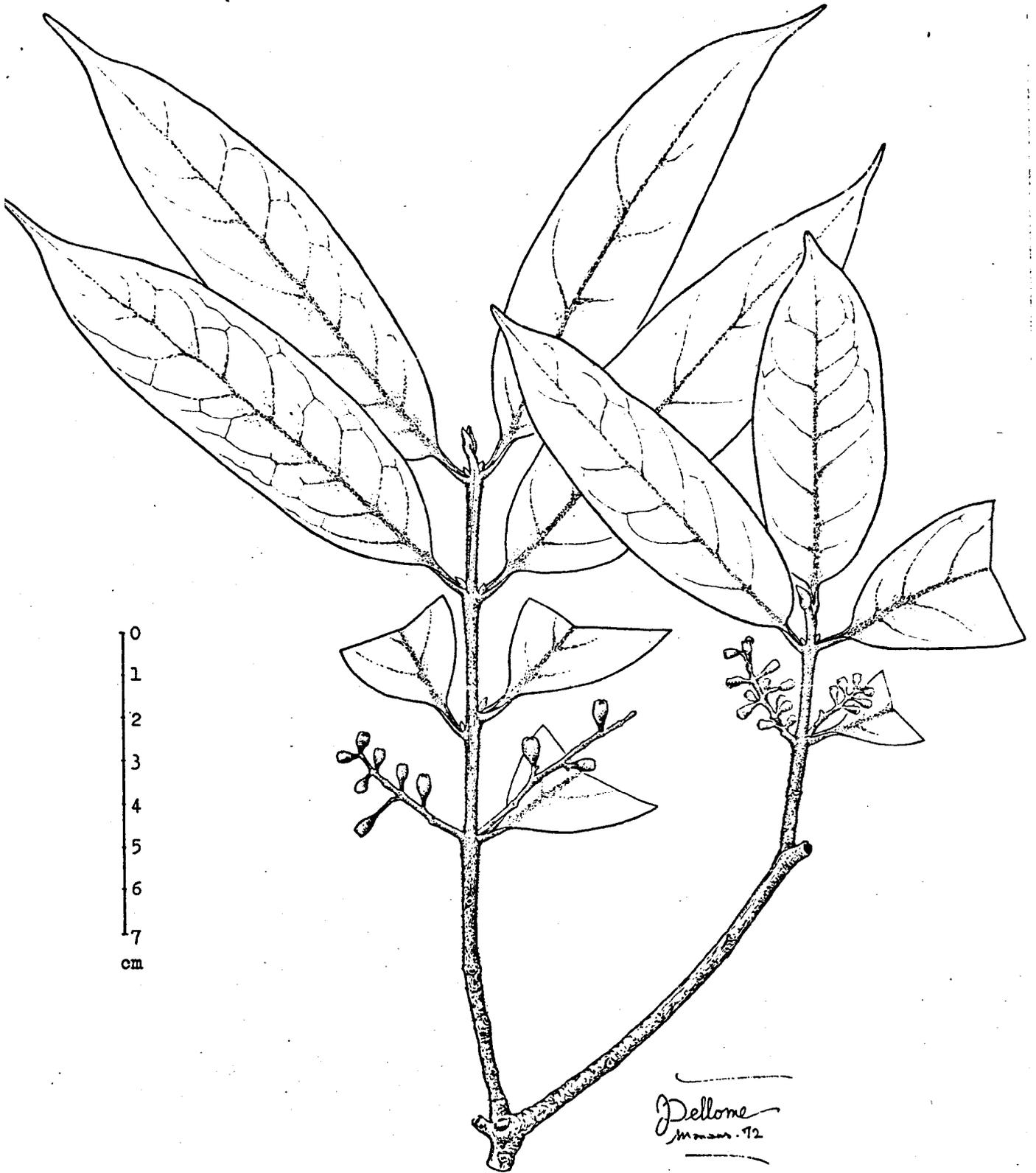


Fig.34
Licaria aurea (Huber) Kosterm.

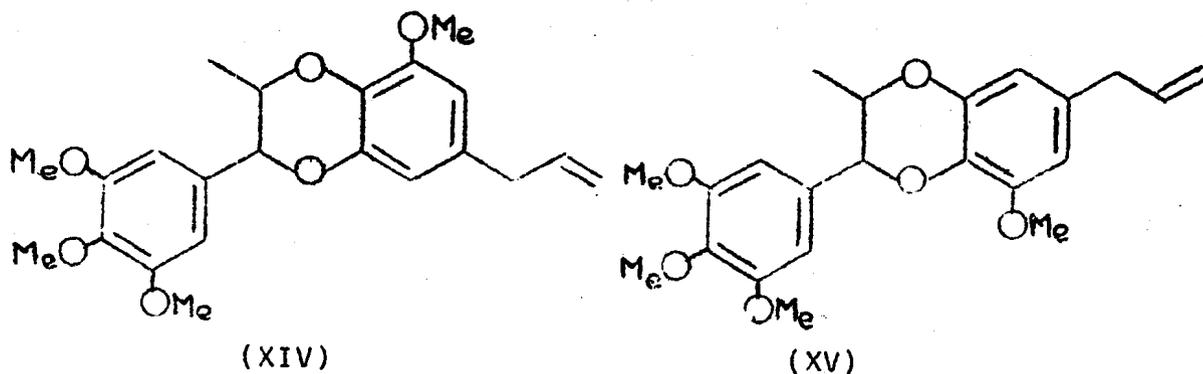
IDENTIFICAÇÕES

LA-2

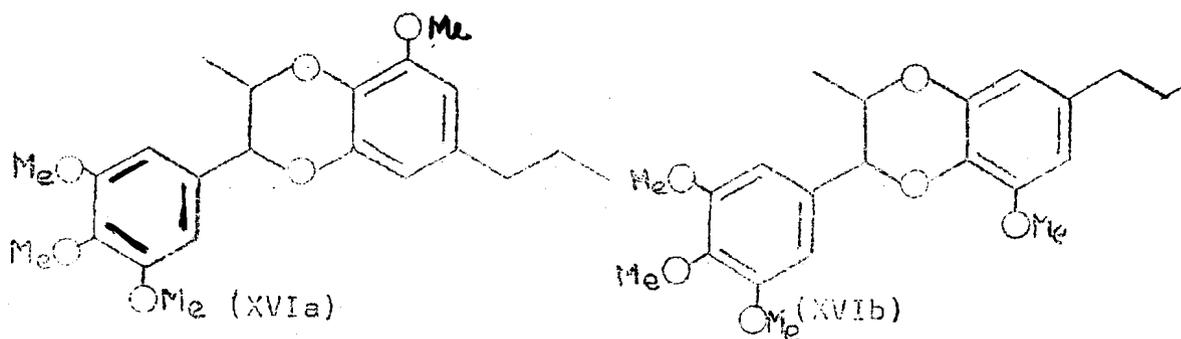
O espectro de massa (Fig. 42) indicou para LA-2 o peso molecular de 386 u.m.a. Esse dado, em conjunto com a contagem de hidrogênios efetuada no espectro de RMP, levou a fórmula molecular $C_{22}H_{26}O_6$.

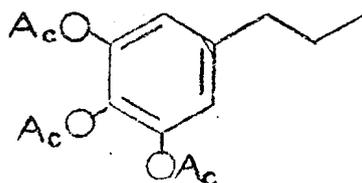
O espectro de RMP (Fig.40) revela a presença de 4 grupos metoxila o que permite expandir a fórmula para $C_{18}H_{14}O_2(OMe)_4$. Um esqueleto em C_{18} para um produto natural sugere uma estrutura bis-arilpropanoídica e, de fato, o espectro de RMP inclui claros indícios da existência de 2 cadeias em C_3 . A primeira ocorre sob forma de um grupo C-alila (6,73 τ , d, J=6,0 Hz, $Ar\text{CH}_2$; 4,10 τ , m, CHCH_2 e 4,94 τ , m, CHCH_2). A segunda ocorre sob forma de um grupo $Ar\text{-CHOR-CHOR-CH}_3$. Por certo, o sinal referente a protons metílicos em 8,77 τ aparece como banda dupla (J=6,0 Hz), assim como o sinal referente ao proton benzílico (5,46 τ , d, J=8,0 Hz). O proton intermediário dá lugar a uma banda com multiplicidade maior (5,95 τ , m). O deslocamento químico das duas bandas citadas por último revela que os protons correspondentes devem ser carbinólicos. Além dos sinais mencionados até o presente, aparece no espectro apenas adicionalmente uma banda simples em 3,40 τ referente a dois protons, e duas bandas duplas em 3,61 τ e 3,53 τ (J=2,0 Hz) referentes a um proton cada. Os deslocamentos químicos indicam a natureza aromática dos quatro protons correspondentes, razão porque os dois anéis em C_6 precisam ser aromáticos. Ainda mais, a feição e deslocamento químico destes sinais exigem que, em um dos anéis, dois protons existam em situação simétrica, não incluídos entre 2 funções oxigenadas em orto, enquanto que no outro anel os dois protons mantem uma relação meta, novamente não podendo serem incluídos entre 2 fun -

ções oxigenadas em orto. Existem apenas duas formulações que se coadunam com estes dados (XIV)(XV).



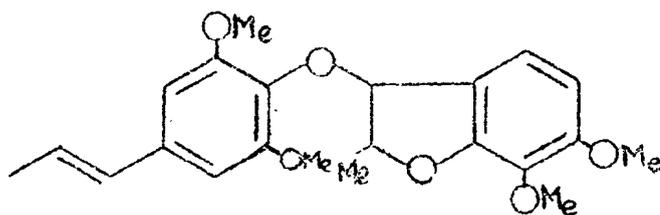
Estas alternativas foram propostas por Hobbs e King (25) como estruturas mais plausíveis para eusiderina que isolaram da laurácea Eusideroxylon zwageri T. et B. da Indonésia. Os dados físicos (ponto de fusão e espectro no ultravioleta) (Fig.41) da LA-2 corresponde aos dados publicados para eusiderina. Correspondência de dados notamos ainda para dihidro-LA-2 e dihidroeusiderina (XVIa) ou sua alternativa (XVIb), assim como para o 3,4,5-triacetoxi-n-propilbenzeno (XVII), obtido tanto da dihidro-LA-2 como da dihidroeusiderina, por tratamentos sucessivos com HI 68% / AcOH e Ac₂O / piridina. Os espectros de RMP tanto da dihidro-LA-2 como do triacetato mencionado, correspondem perfeitamente à expectativa (Figs.61 e 63), com base nas estruturas acima indicadas para a eusiderina.





(XVII)

Apesar de tratar-se no caso da LA-2 de uma substância conhecida, constituem nossos dados uma contribuição útil. Hobbs e King trabalharam, em 1960, sem o auxílio da ressonância magnética protônica e não conseguiram, desta forma, eliminar do quadro das hipóteses outras estruturas plausíveis, tais como XVIII. Nossos dados instrumentais, evidentemente, eliminam totalmente alternativas outras que não aquelas representadas em XIV e XV. Uma decisão entre elas, no entanto, não sabemos oferecer por ora.

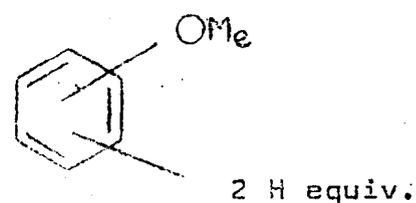
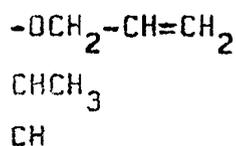
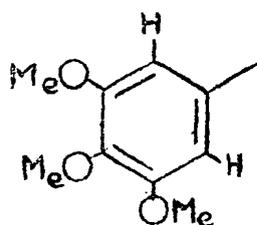


(XVIII)

LA-1

Não resta dúvida que LA-1, em oposição a LA-2, é substância inédita. Isto fica documentado imediatamente ao examinar o espectro de RMP (Fig.36) que revela a presença não de um grupo C-alila como na LA-2, mas de um grupo O-alila (5,62 τ , d, J=6,0 Hz, OCH₂; 4,80 τ , m, CH CH₂ e 4,07 τ , m, CH CH₂). Ora, tanto que saibamos, desconhecem-se até hoje quaisquer substâncias naturais que contêm grupos desta natureza. O resto do espectro de RMP é aparentemente simples. Comparece nêle um sinal referente a um grupo C-metila (8,77 τ , d, J=6,0 Hz). O desdobramento dêste sinal indica a presença de um grupo CHCH₃ na molécula. O proton, que ocasiona o desdobramento do sinal metílico, tem a sua banda representativa situada em 7,23 τ . A banda, claramente, tem que ser múltipla. A sua multiplicidade exata, no entanto, não pode ser deduzida do espectro. Já que o sinal se acha superposto por uma outra banda também referente a um proton. A posição dos sinais correspondentes a estes dois protons faz crer que sejam benzílicos. O espectro contém ainda sinais que evidenciam a presença de quatro grupos metoxila (6,30 τ , s, 3,71 τ , s). A simetria dos protons aromáticos e o deslocamento químico da banda em 3,71 τ identifica na substância o grupo 3,4,5-trimetoxifenila.

Neste ponto haviam ficado estabelecido, portanto, as unidades funcionais representadas no Quadro 3, cuja massa atômica, em conjunto, perfaz 370.



Quadro 3

O peso molecular da LA-1, deduzido por espectrometria de massa (Fig.38), é de 402 u.m.a. Faltam, portanto, localizar dois átomos de oxigênio na molécula. A substância não é acetilável. Os oxigênios, desta maneira, não fazem parte de hidroxilas fenólicas ou alcoólicas primárias e secundárias. Hidroxilas alcoólicas terciárias também não podem estar presentes, pois o espectro no IV (Fig.35) não inclui absorções na região das hidroxilas. Nenhum destes oxigênios faz parte de um sistema carbonílico: não sobra carbono para tanto, nem mostra o espectro no IV, absorção carbonílica. Poderia assim se pensar que os oxigênios fazem parte de um sistema benzodioxânico como na LA-2. Isto também não pode ser o caso por duas razões: 1. os oxigênios deveriam estar, neste caso, forçosamente ligados aos grupos CHCH_3 e CH representados no Quadro 3. Isto não pode corresponder à realidade, pois os protons terciários destes carbonos não são carbonílicos. 2. além disto deveria neste caso o tratamento sucessivo da dihidro-LA-1 com HI 68% / AcOH e Ac_2O / piridina, levar a um n-propilbenzeno o que não ocorreu. Obteve-se em vez o pentaacetato de uma molécula que mantém intacto o grupo CHCH_3 (Fig. 57 e 59).

A incompatibilidade, assim configuradas entre o espectro de RMP nos faz, para o momento, abandonar a idéia de chegar a uma proposição estrutural completa. Opinamos que um novo espectro de massa e um espectro de RMP a 220 MHz devam ser obtidos para permitir uma reformulação de idéias.

Três experiências bem sucedidas confirmaram as indicações estruturais constantes do Quadro 3. A primeira se referiu a uma pirólise que produziu a substituição do grupo O-alila por uma hidroxila (espectro de RMP, Fig.53). A natureza fenólica do derivado, que manteve intactas todas as outras características estruturais de LA-1, foi comprovada mediante preparação de um monoacetato (espectro de RMP, Fig.55). A segunda experiência consistiu no tratamento da LA-1 com $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{AcOH}$. O reagente também pro

duziu a substituição do grupo O-alila por uma hidroxila, porém neste caso se verificou o rearranjo do grupo alila para uma das posições de um anel aromático. Este fato foi averiguado através do espectro de RMP do derivado (Fig.46) que ostenta sinais referentes a apenas 3 protons aromáticos e a um grupo alila. Também este derivado forma um monoacetato (Fig.48). Finalmente uma hidrogenação catalítica transformou o grupo O-alila em O-n-propila, o que pode ser constatado pelo espectro de RMP (Fig. 44) que contém sinais referentes aos grupos $O\text{CH}_2\text{CH}_2$ (6,07 τ , t, J=7,0 Hz), $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (8,20 τ , m) e CH_2CH_3 (9,00 τ , t, J=7,0 Hz).

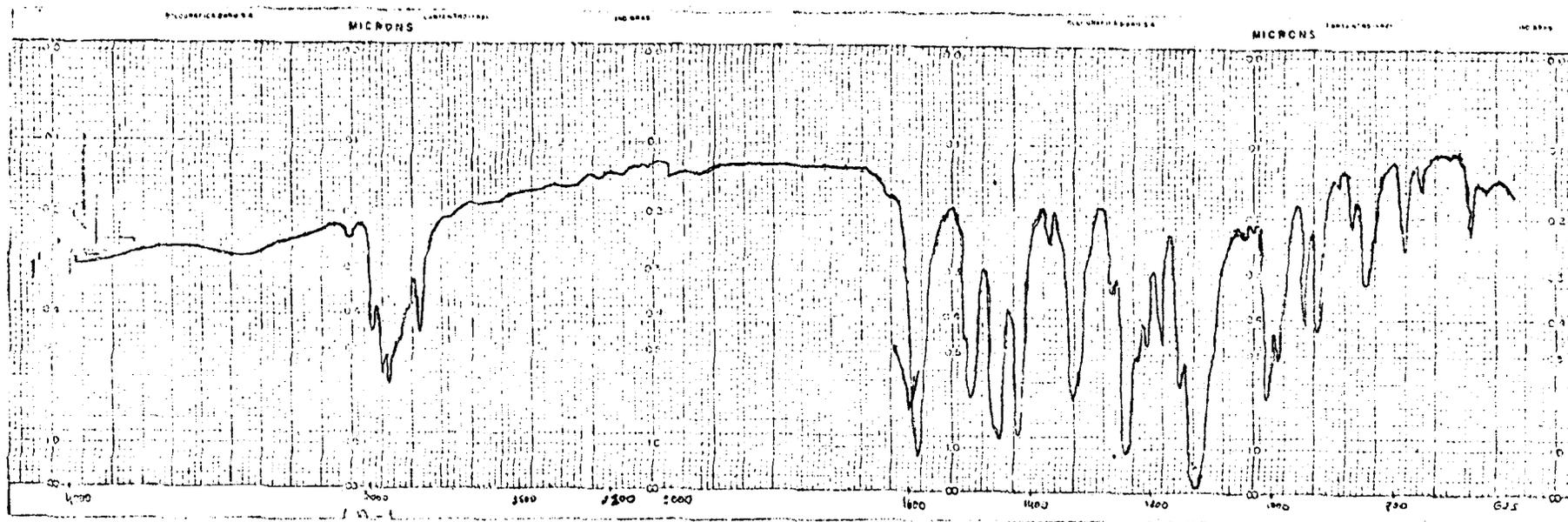


Fig.35
Espectro no IV de LA-1

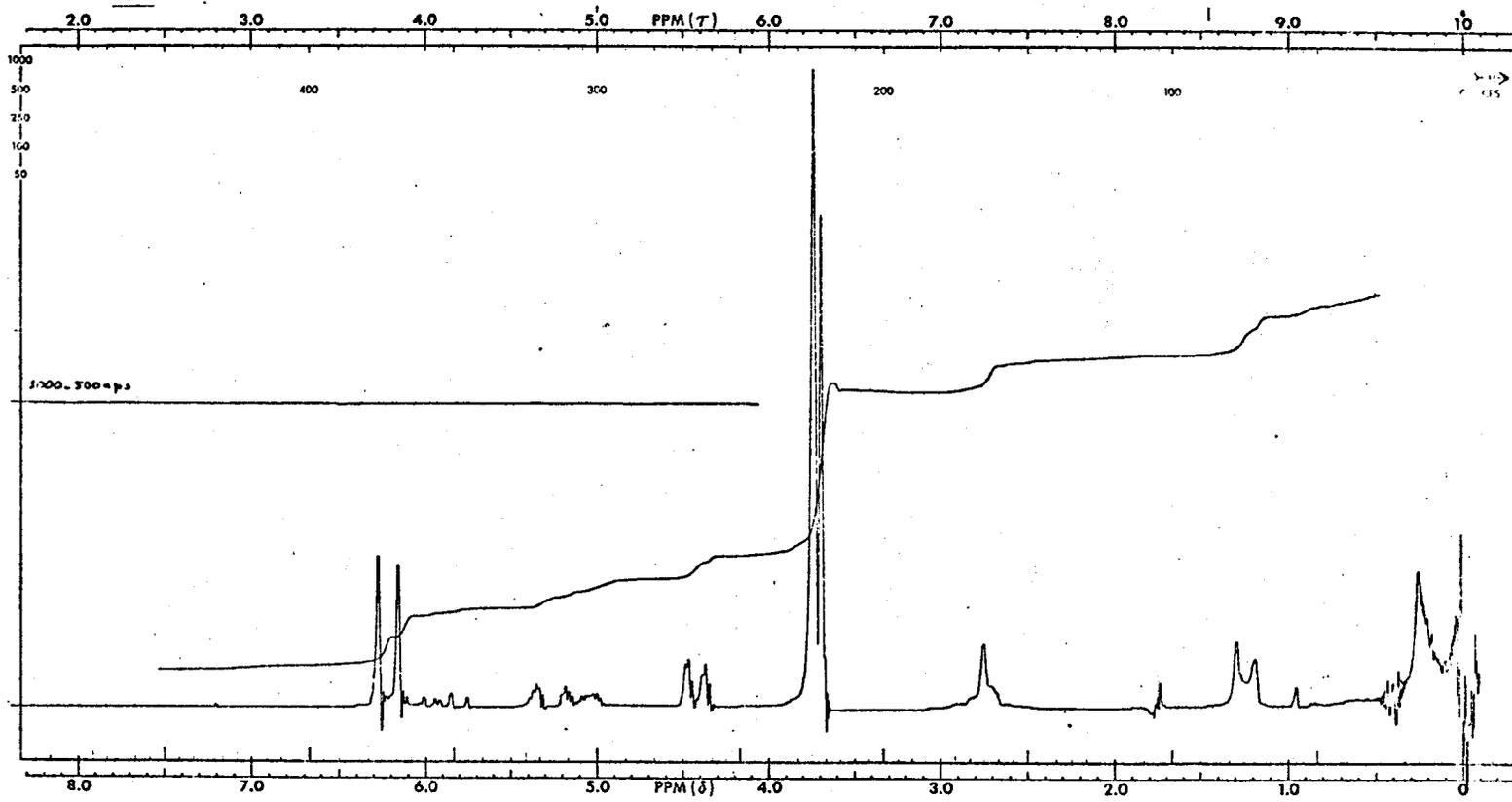


Fig.36
Espectro RMP de LA-1

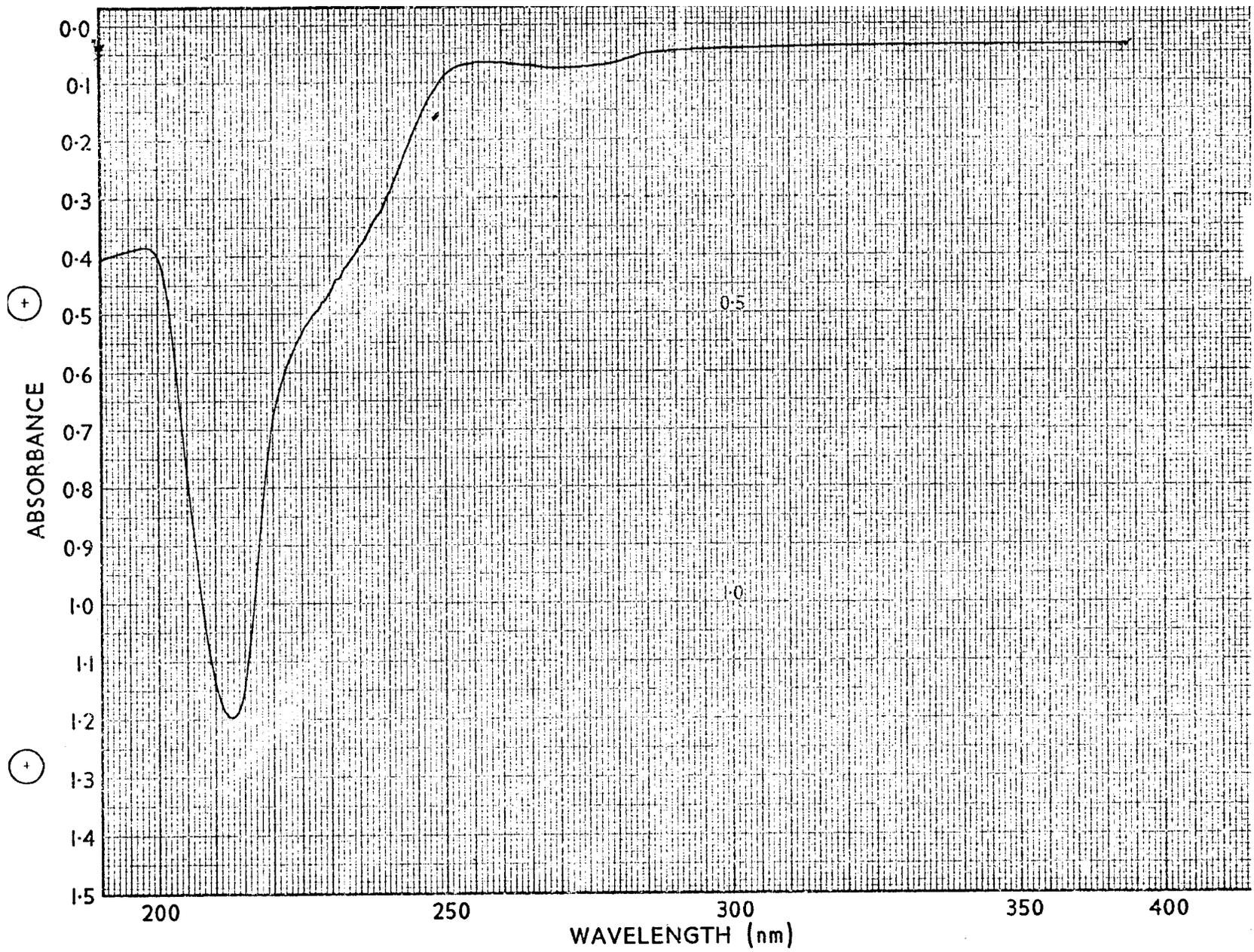


Fig.37

Espectro no UV de LA-1

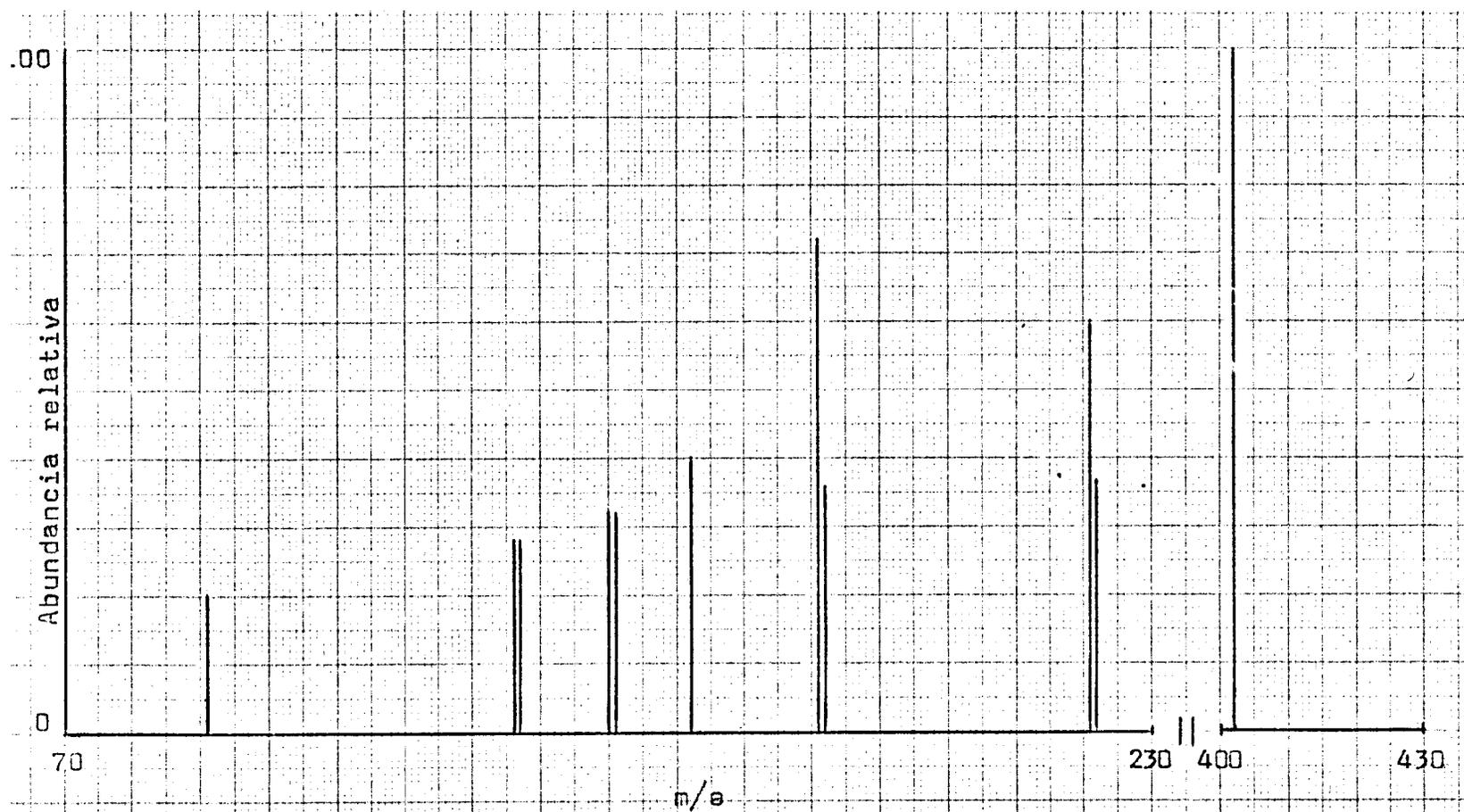


Fig. 38
Espectro de massa de LA-1

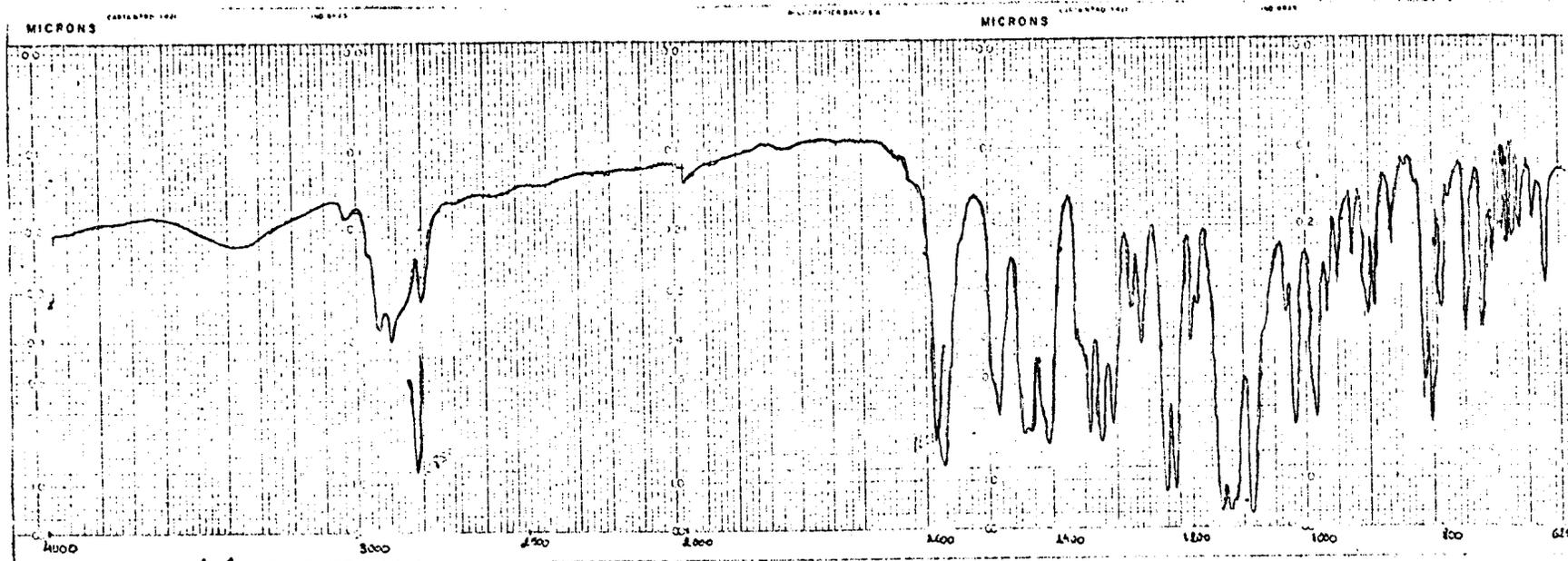


Fig.39
Espectro no IV de LA-2

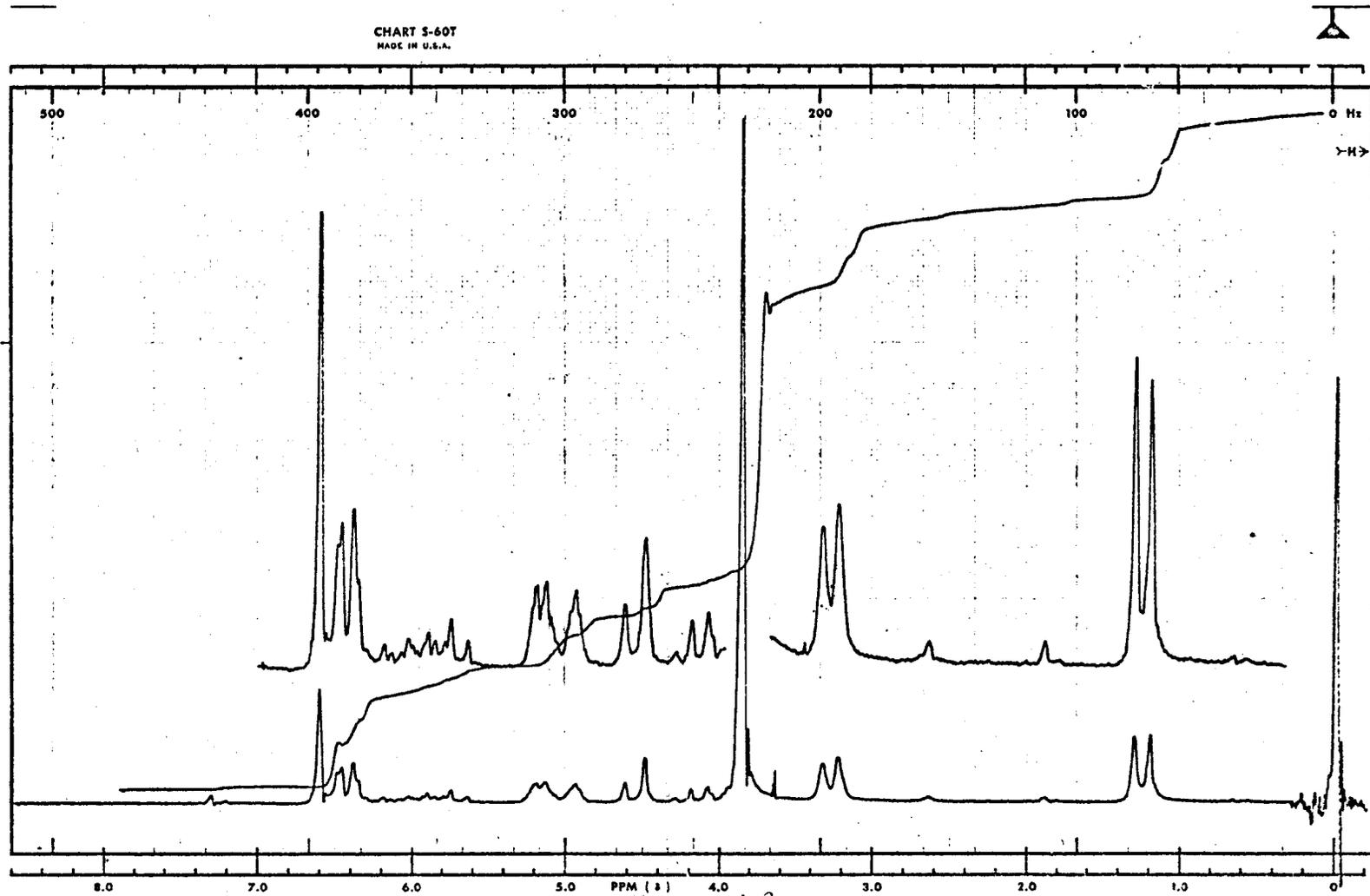


Fig.40
Espectro RMP de LA-2

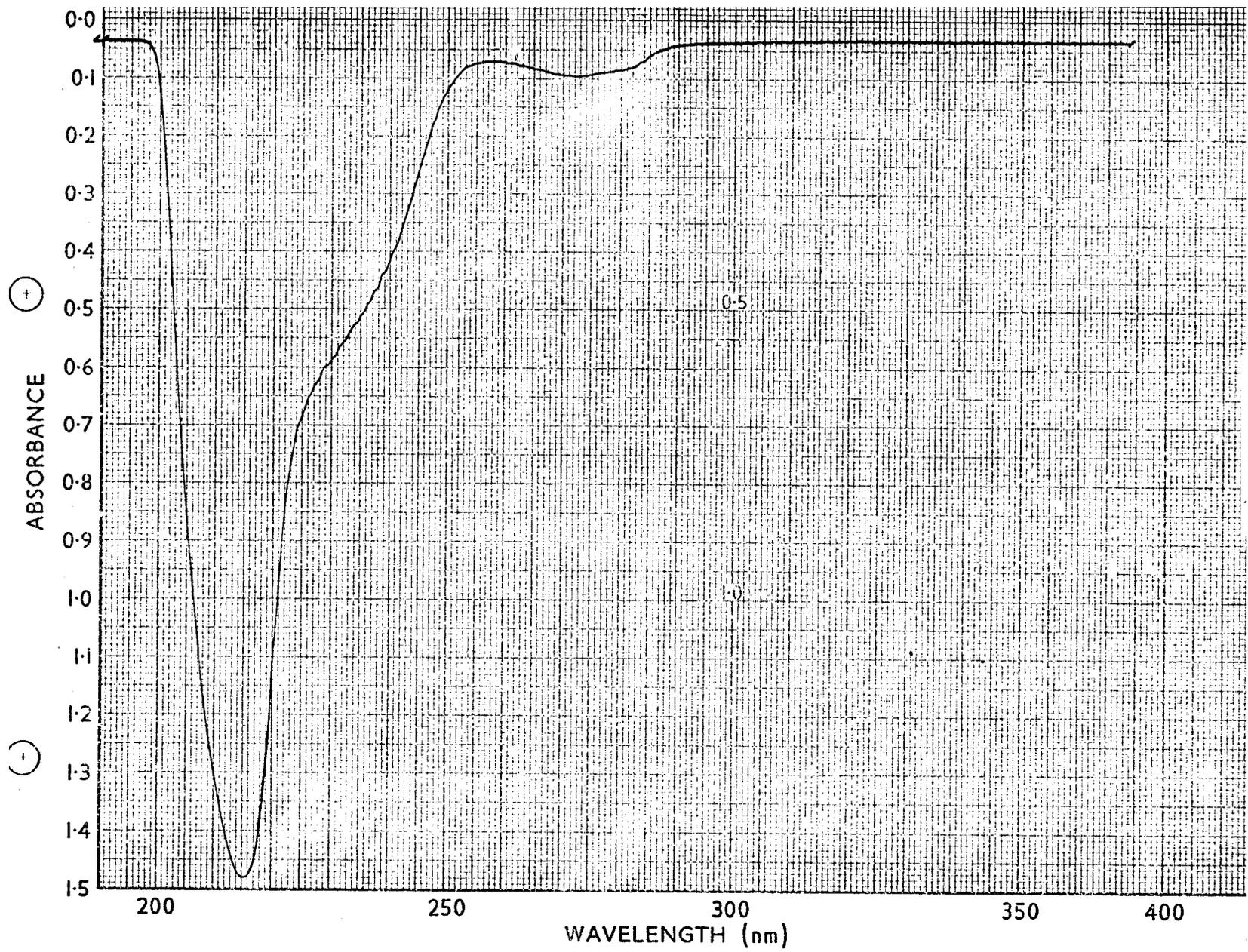


Fig.41

Espectro no UV de LA-2

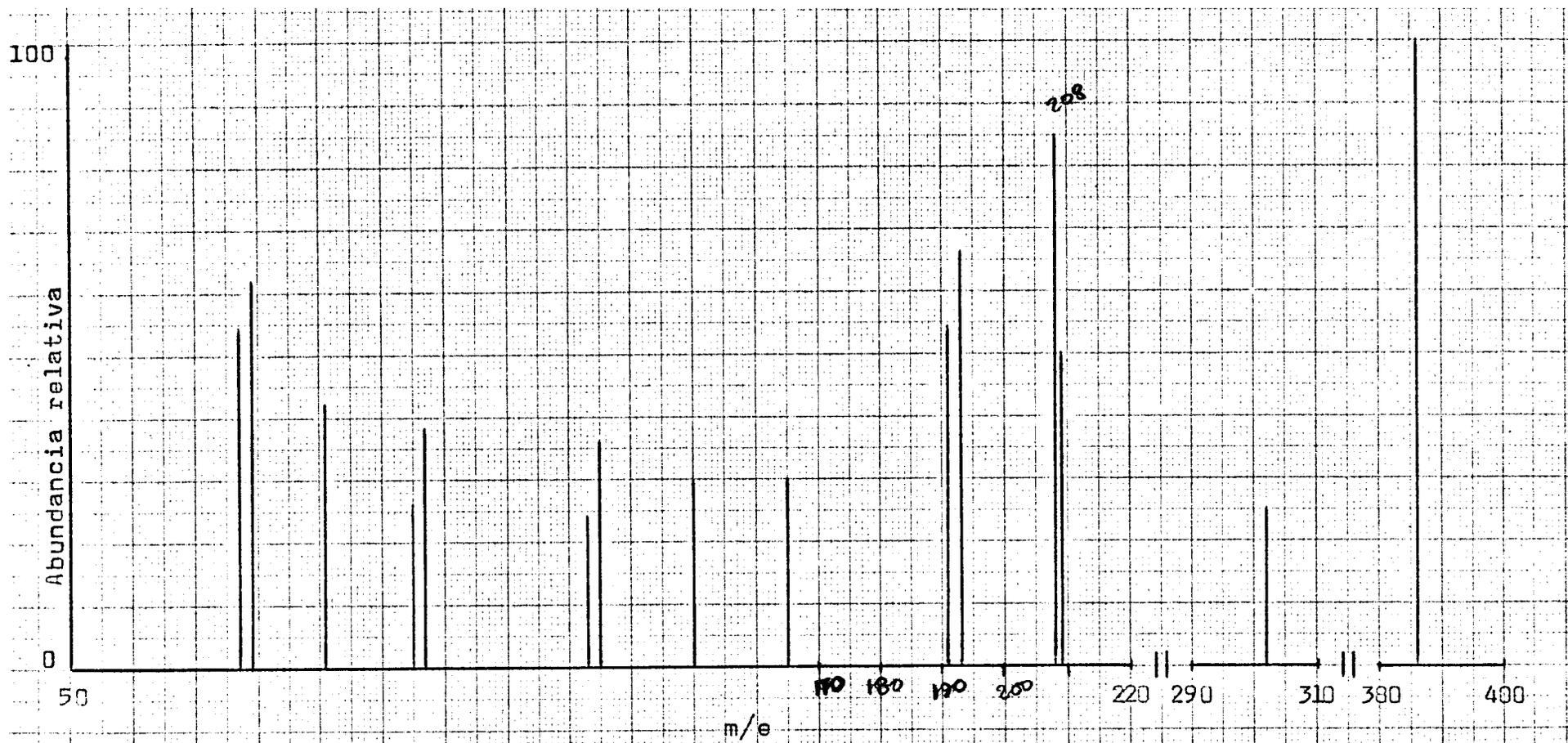


Fig.42
Espectro de massa de LA-2

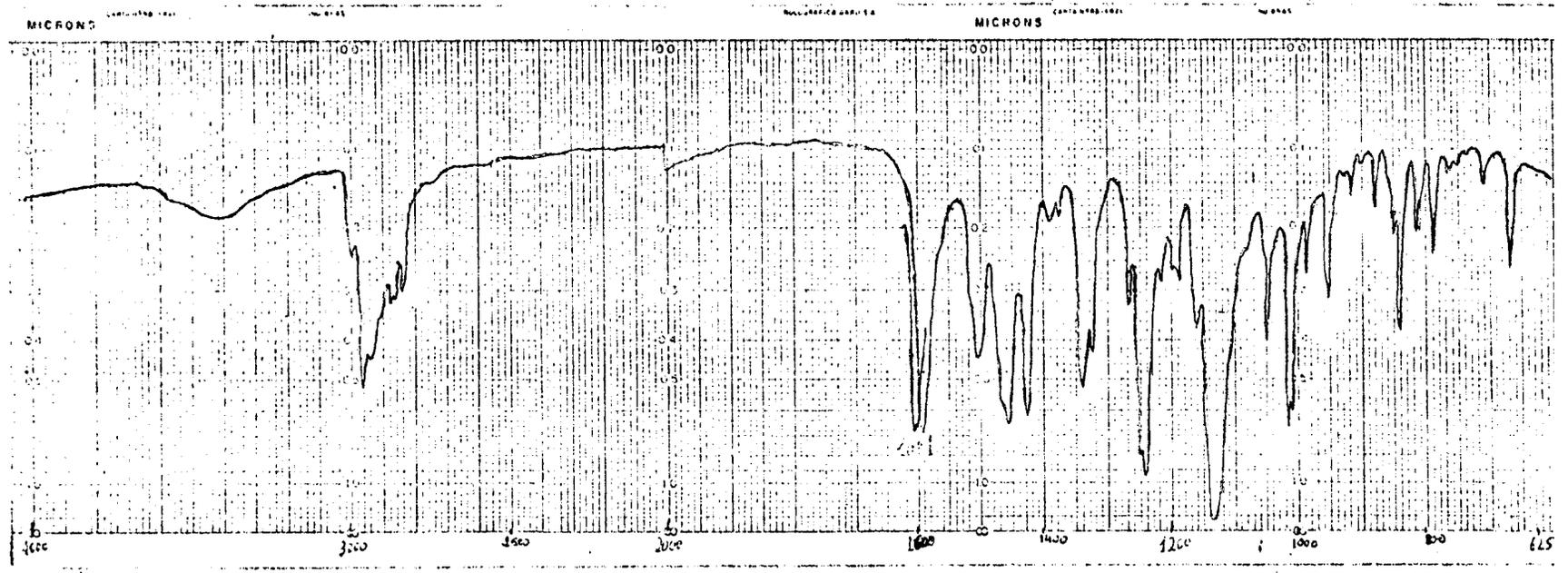


Fig.43
Espectro no IV de LA-1-H₂

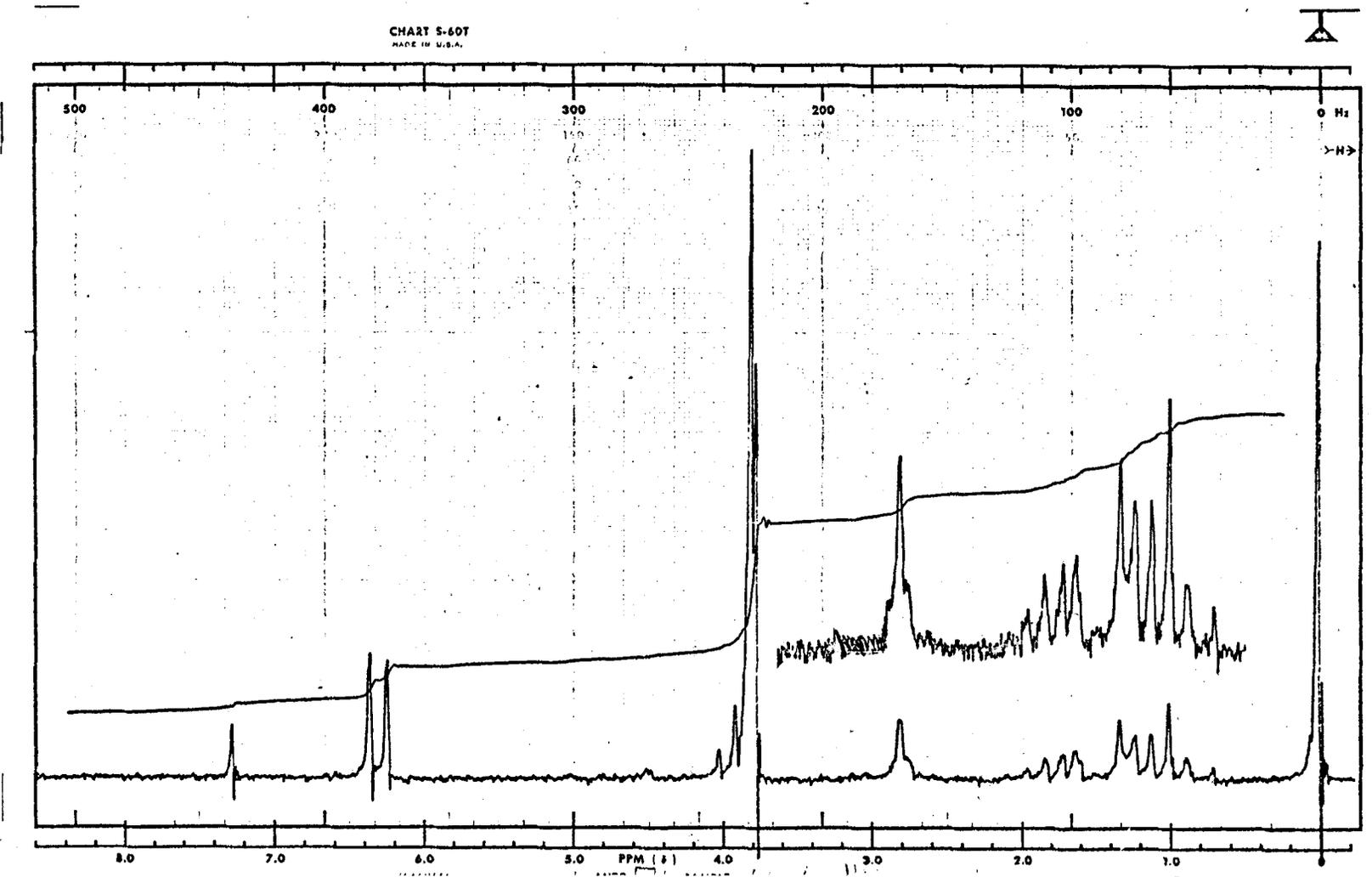


Fig.44
Espectro RMP de LA-1-H₂

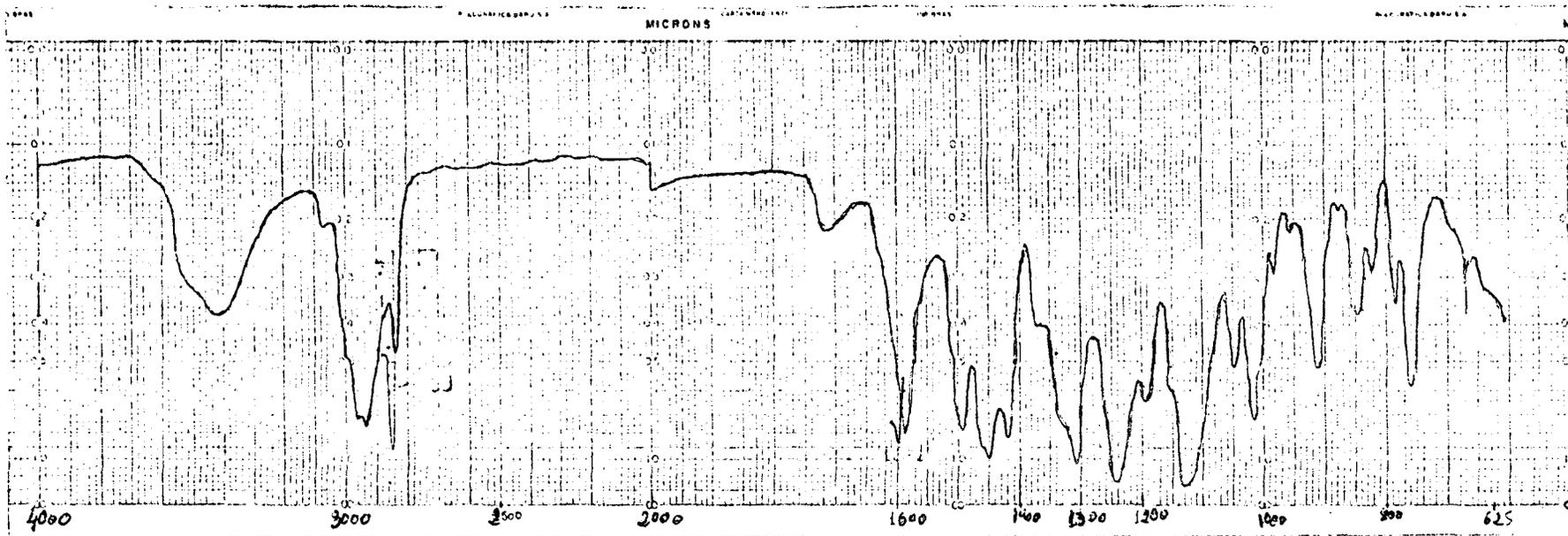


Fig.45
Espectro no IV de LA-1-OH

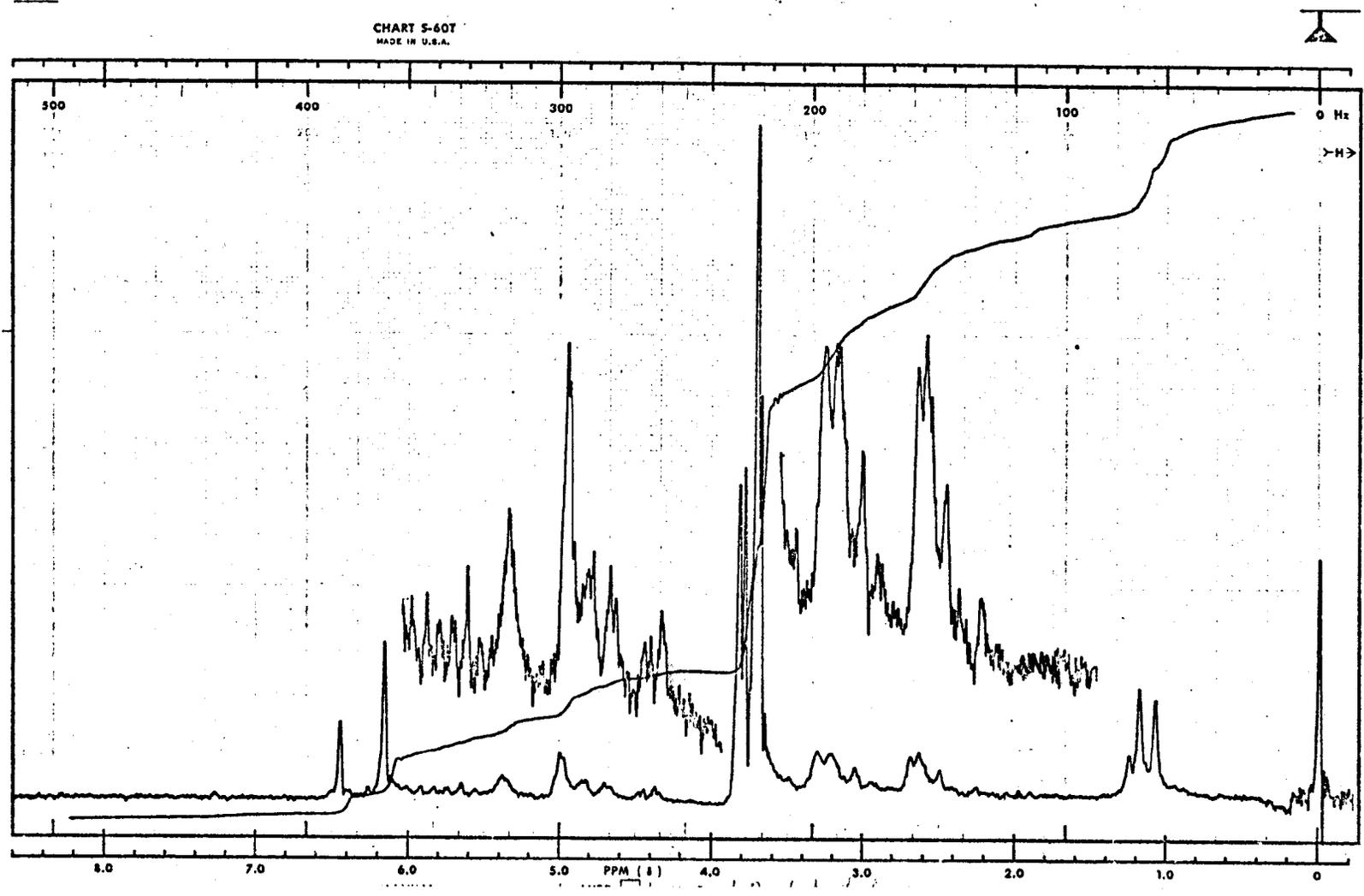


Fig.46
Espectro RMP de LA-1-OH

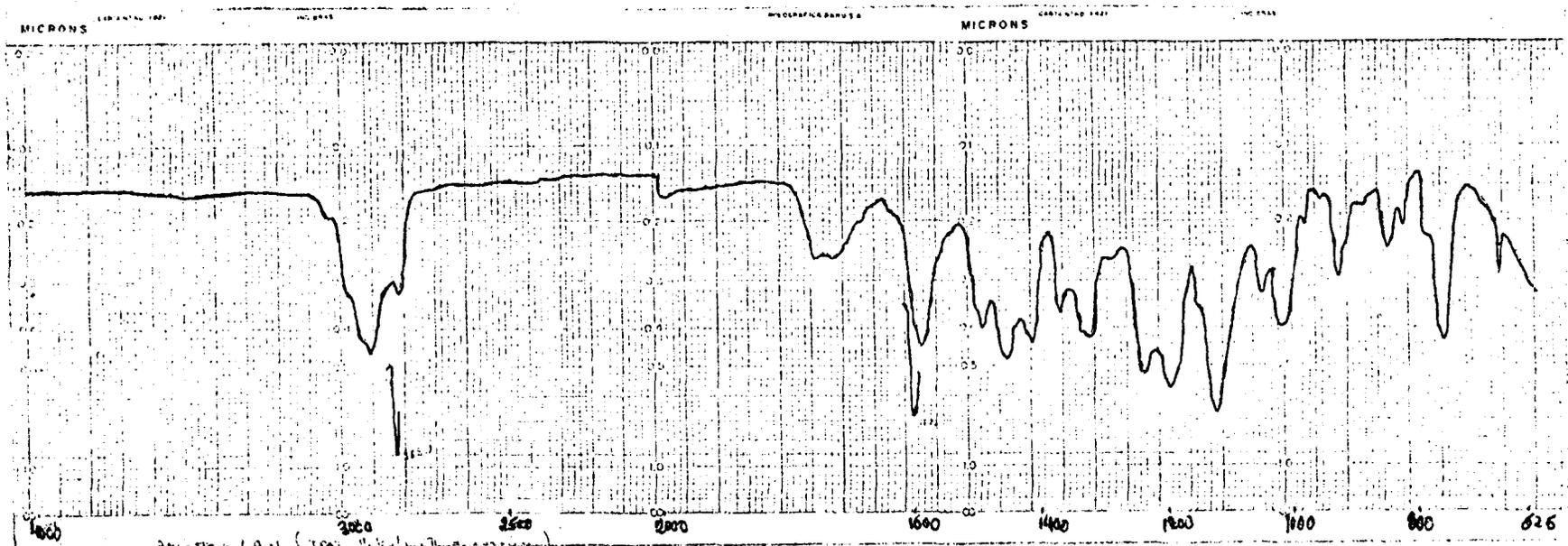


Fig.47
Espectro no IV de LA-1-OH-OAc

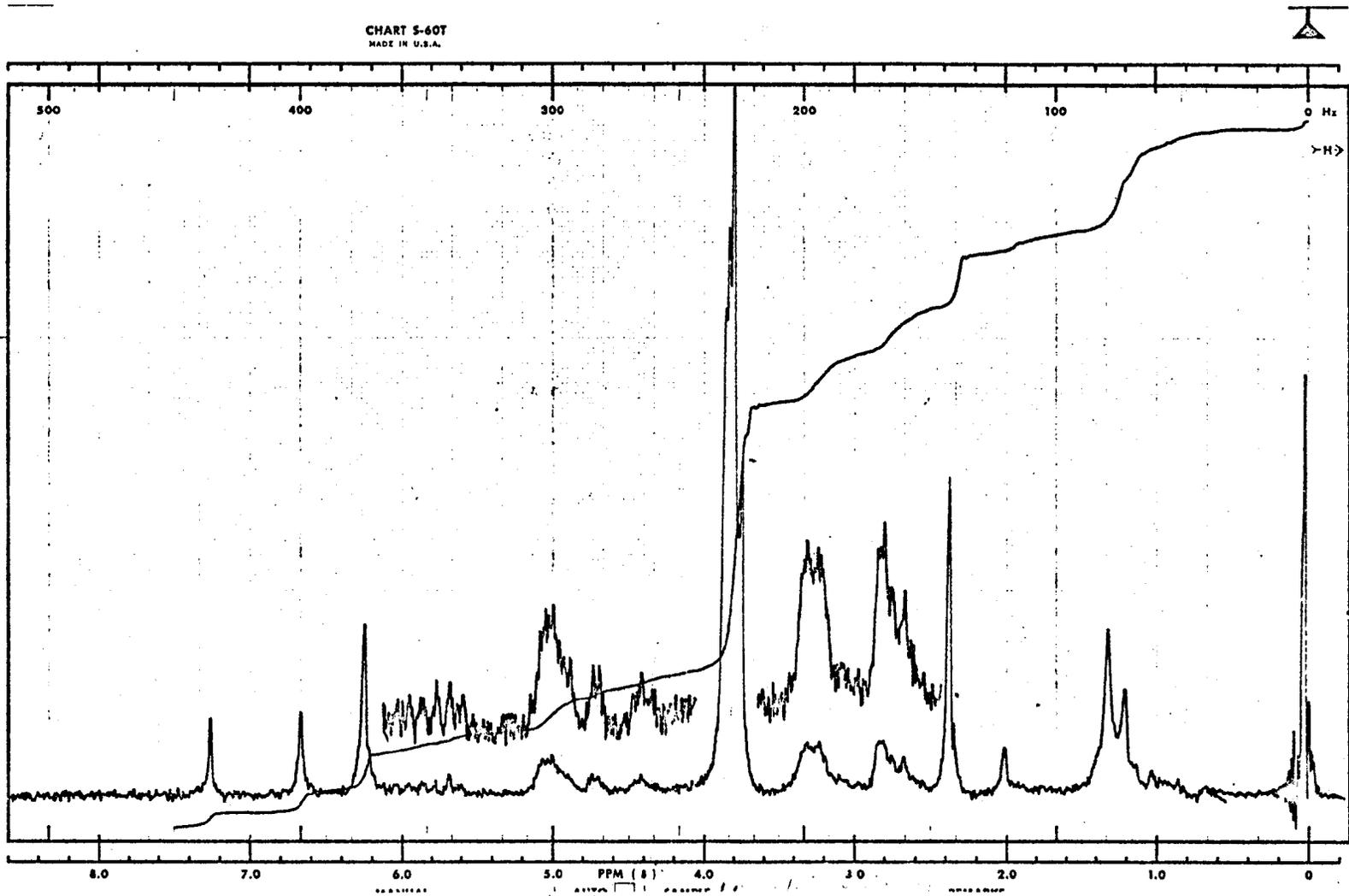


Fig.48
Espectro RMP de LA-1-OH-OAc

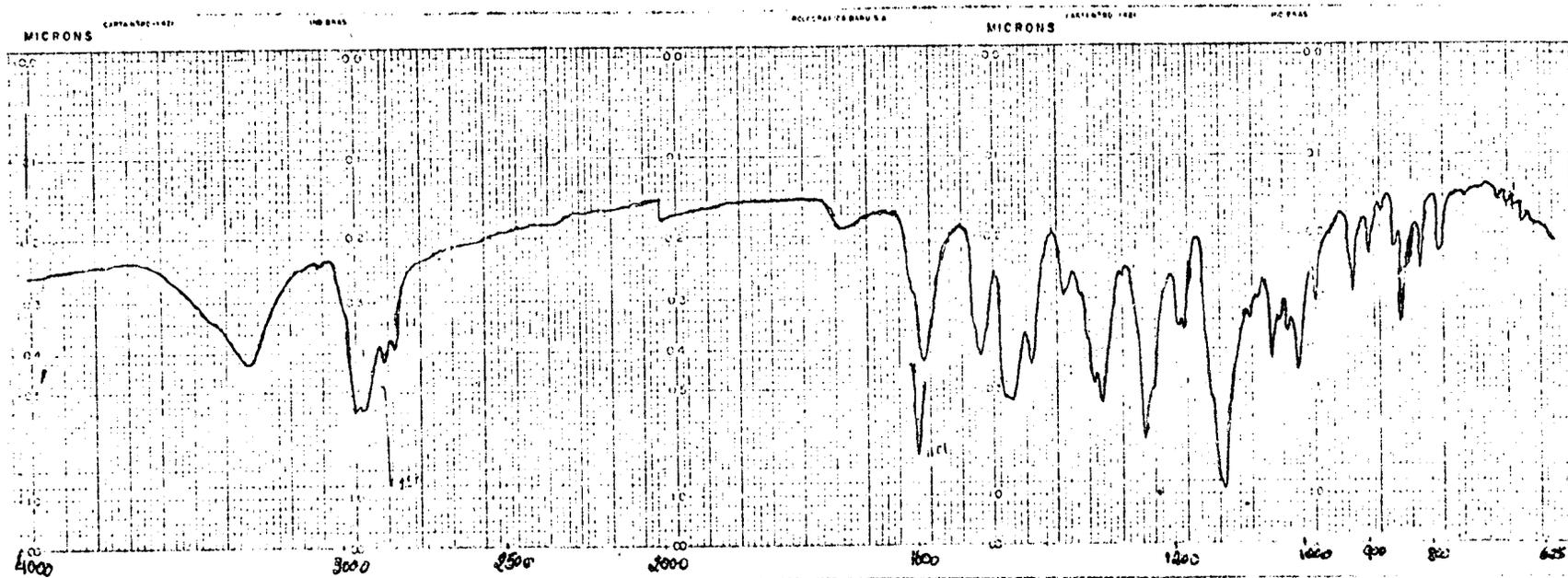


Fig.49
Espectro no IV de LA-1-OH-H₂

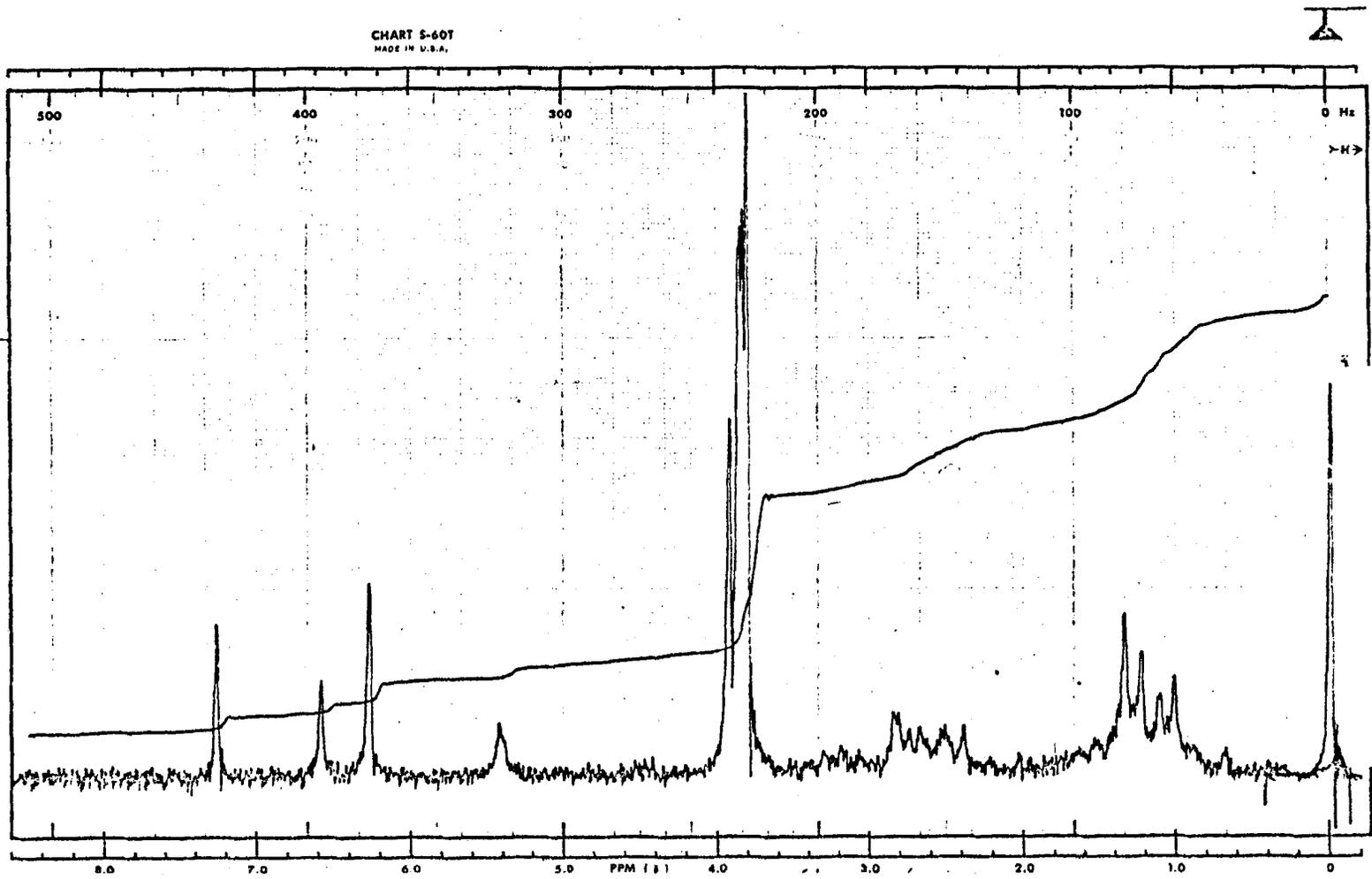


Fig. 50
Espectro RMP de LA-1-OH-H₂

CHART 5-60T
MADE IN U.S.A.

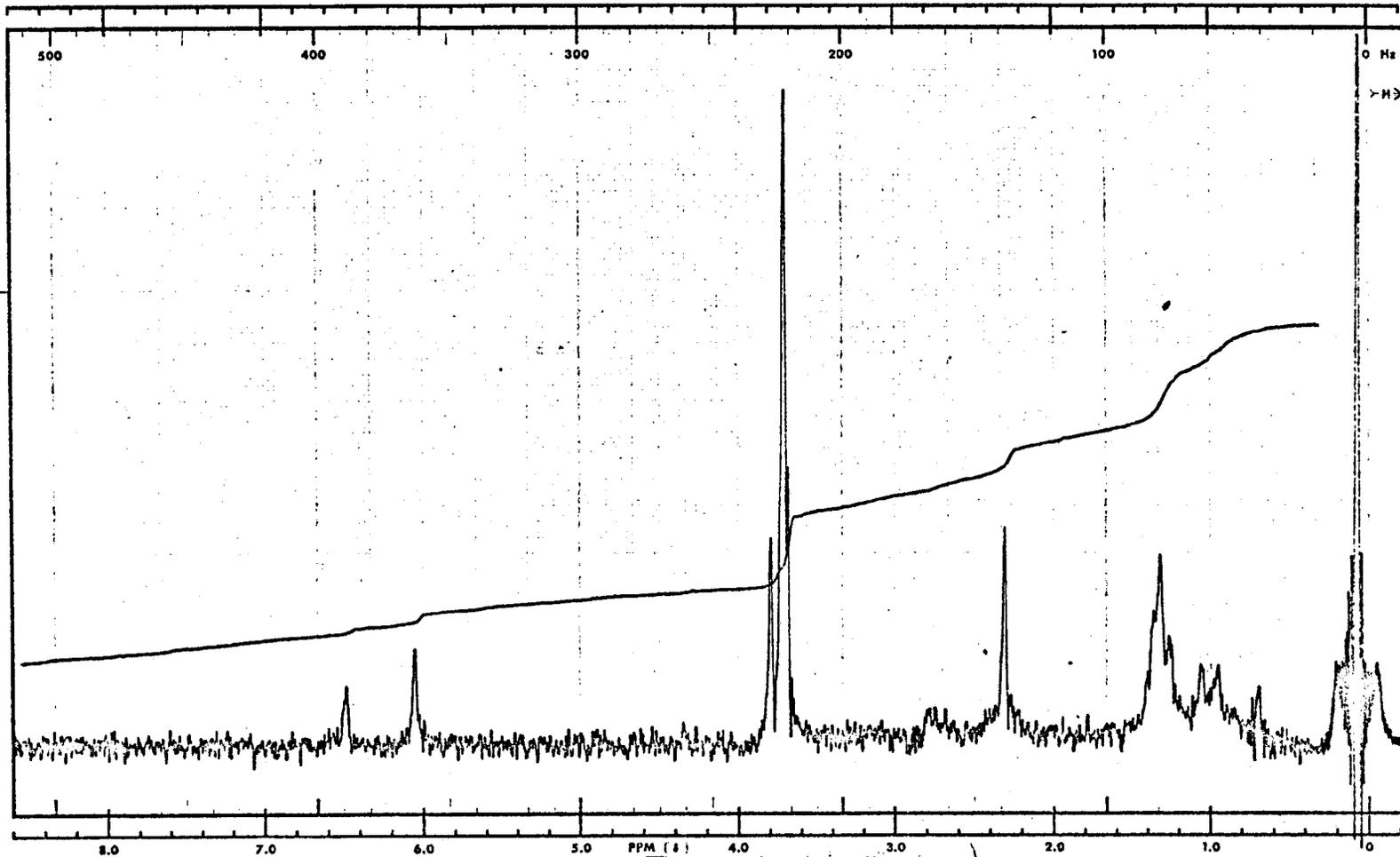


Fig.51
Espectro RMP de LA-1-OH-H₂-OAc

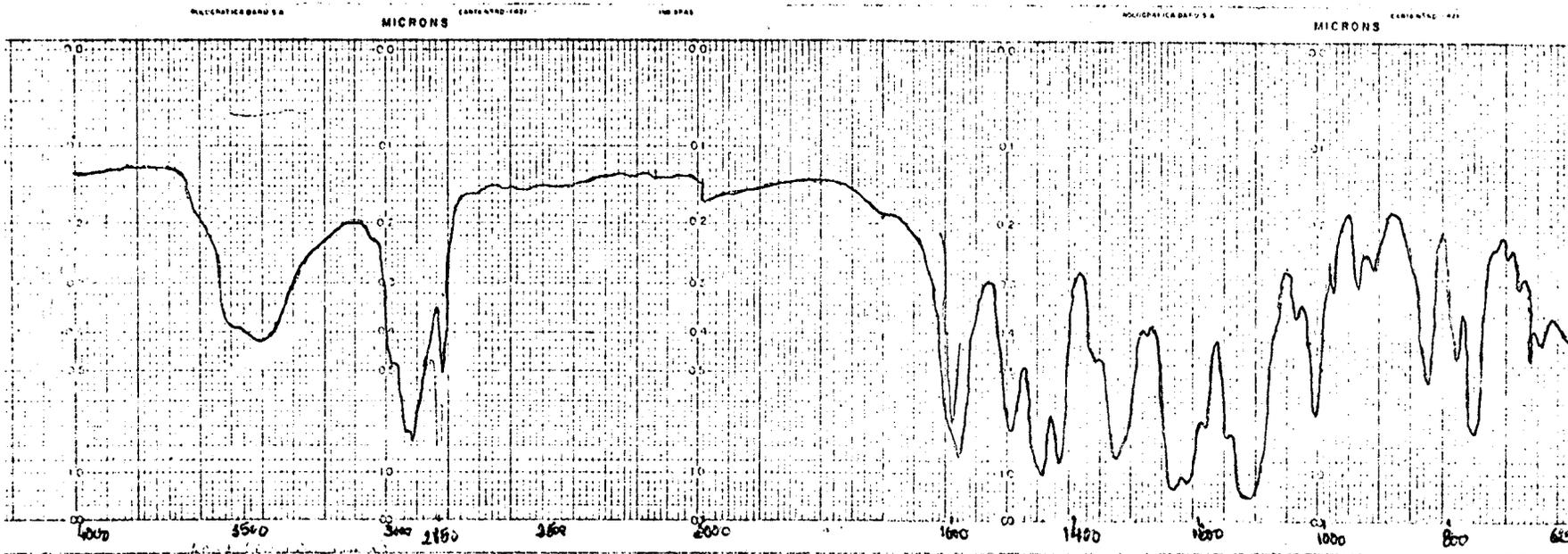


Fig.52
Espectro no IV de LA-1-pir

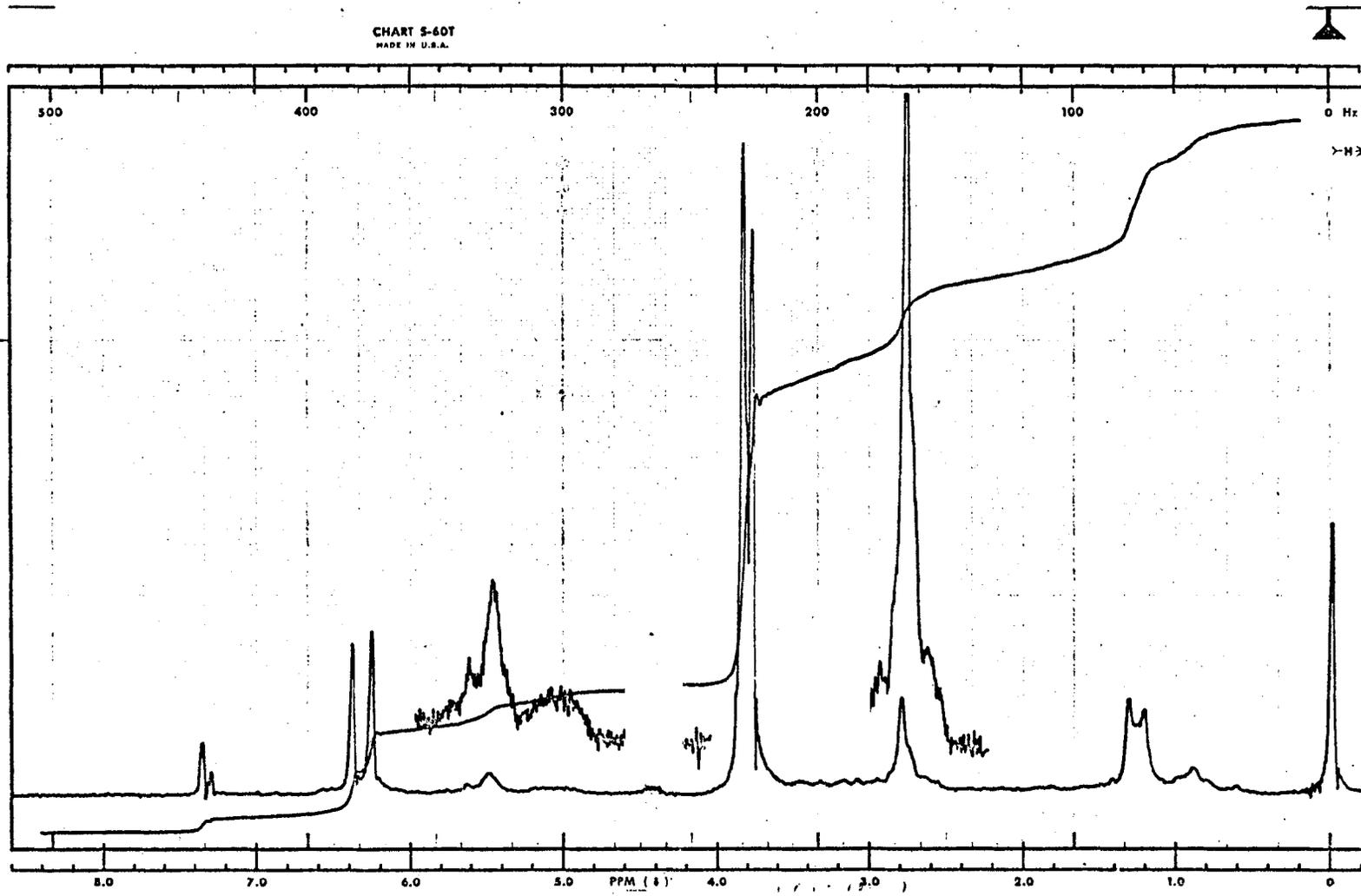


Fig.53
Espectro RMP de LA-1-pir

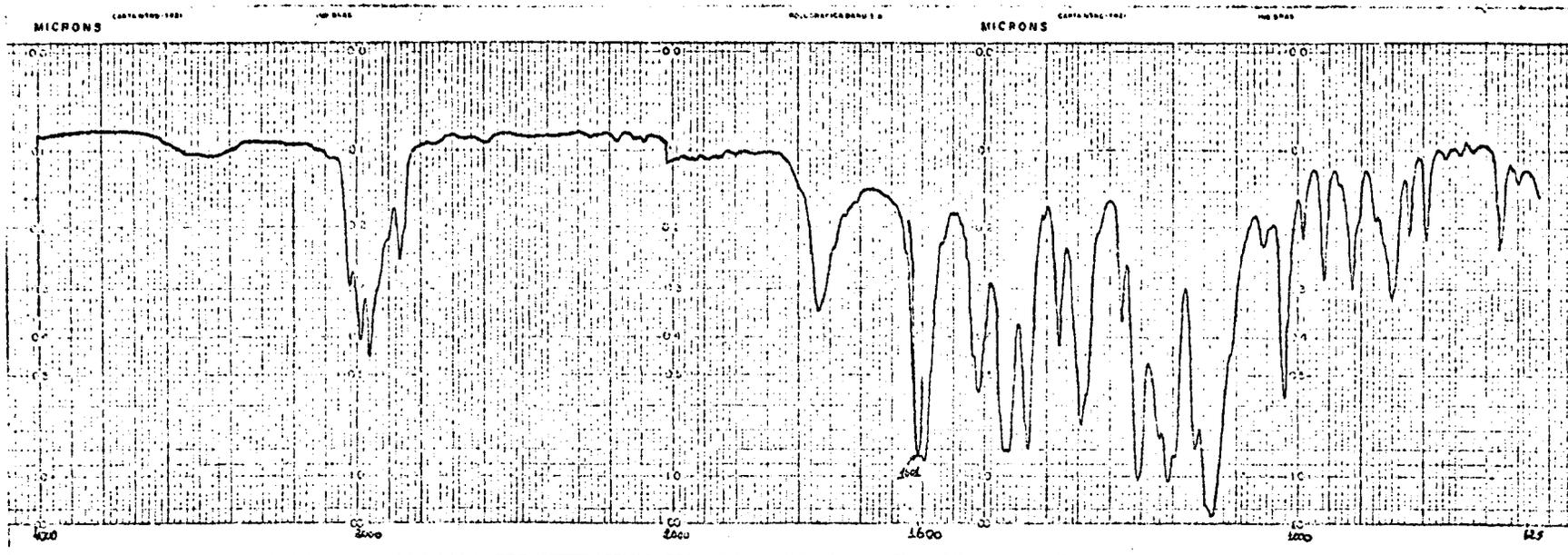


Fig.54
Espectro no IV de LA-1-pir-OAc

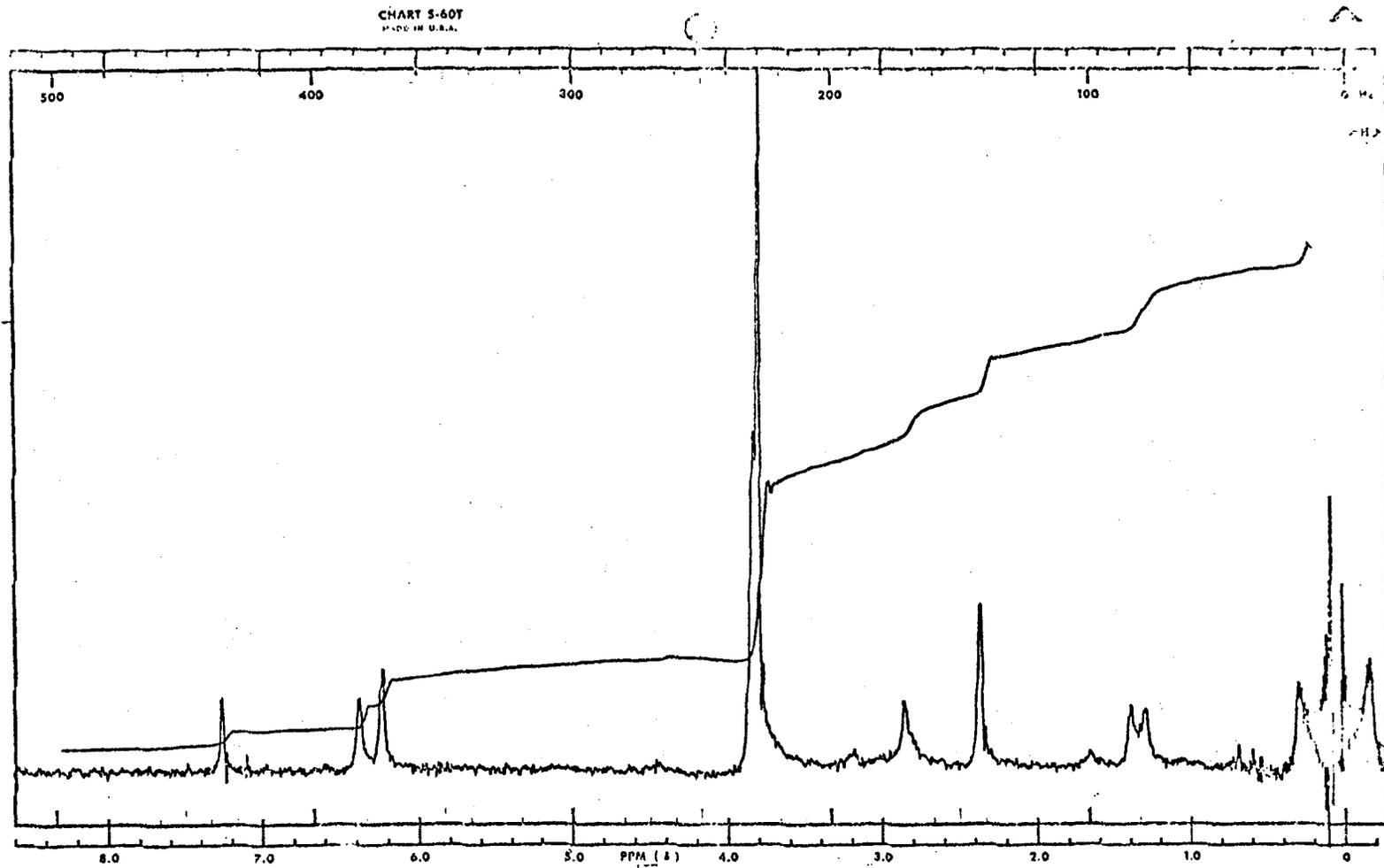


Fig.55
Espectro RMP de LA-1-pir-OAc

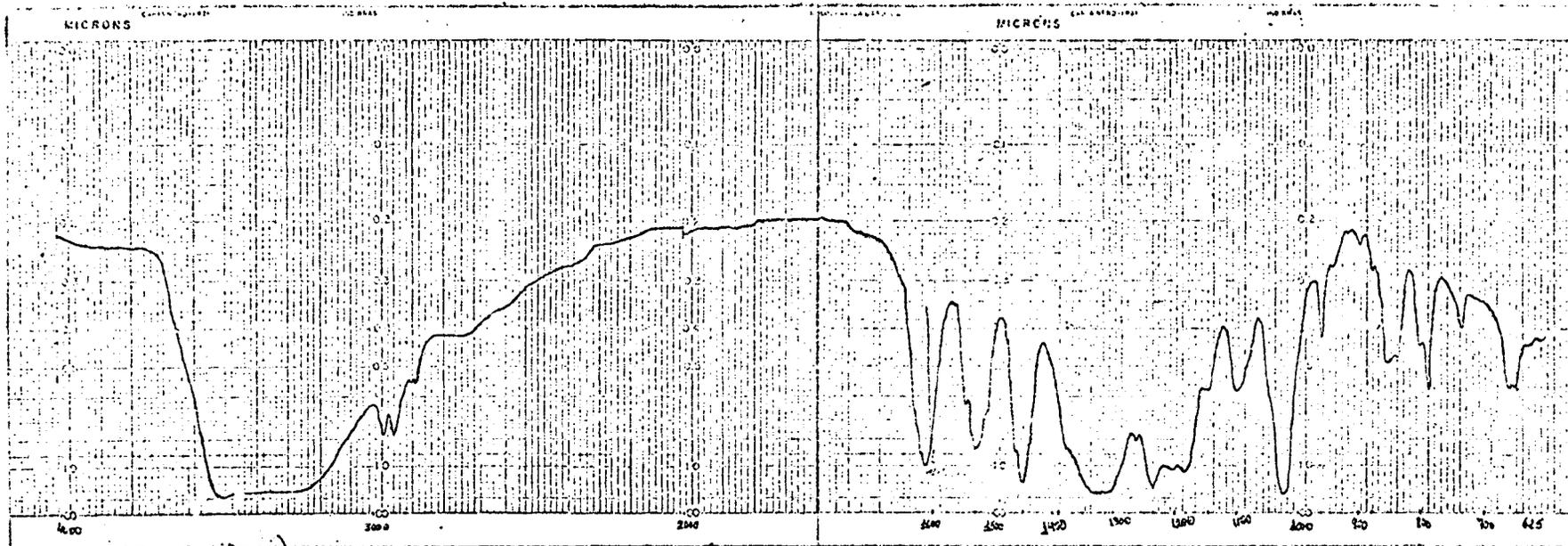


Fig.56

Espectro no IV de LA-1-H₂-OH

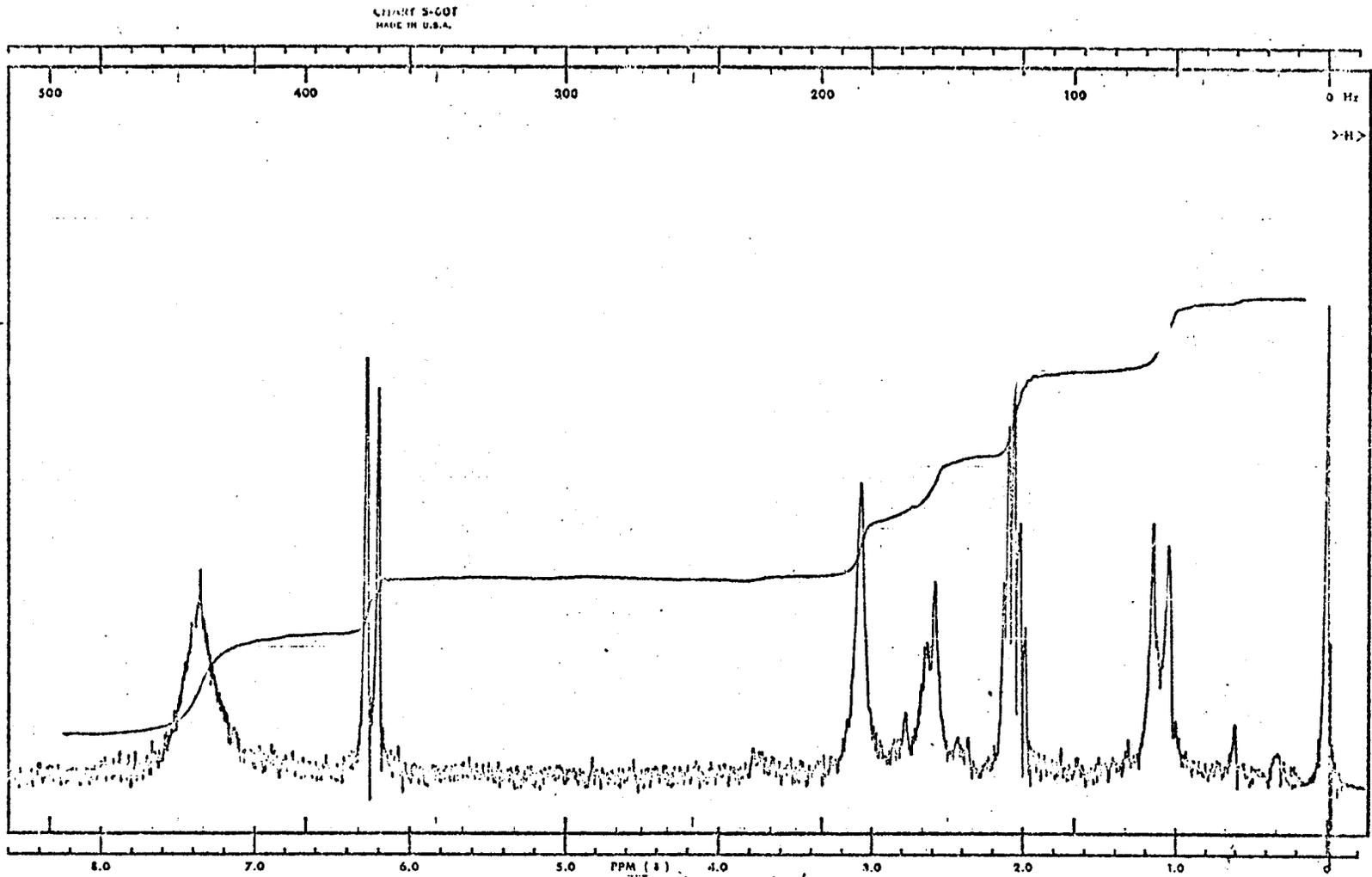


Fig.57
Espectro RMP de LA-1-H₂-OH

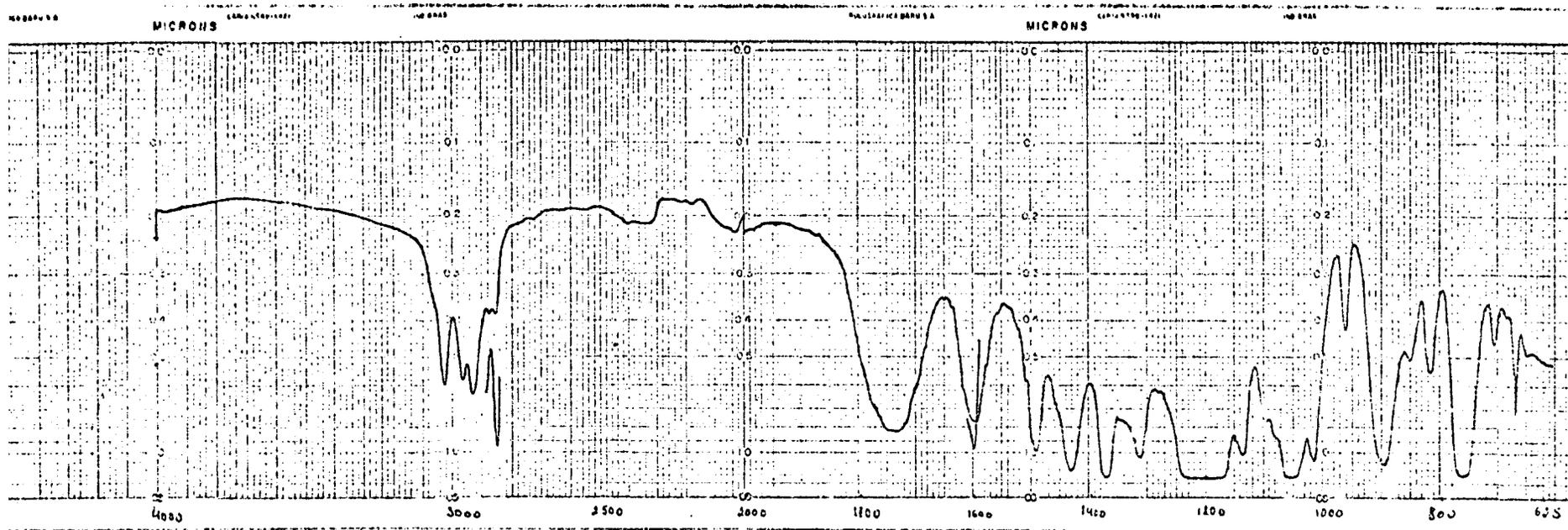


Fig.58
Espectro no IV de LA-1-H₂-OH-OAc

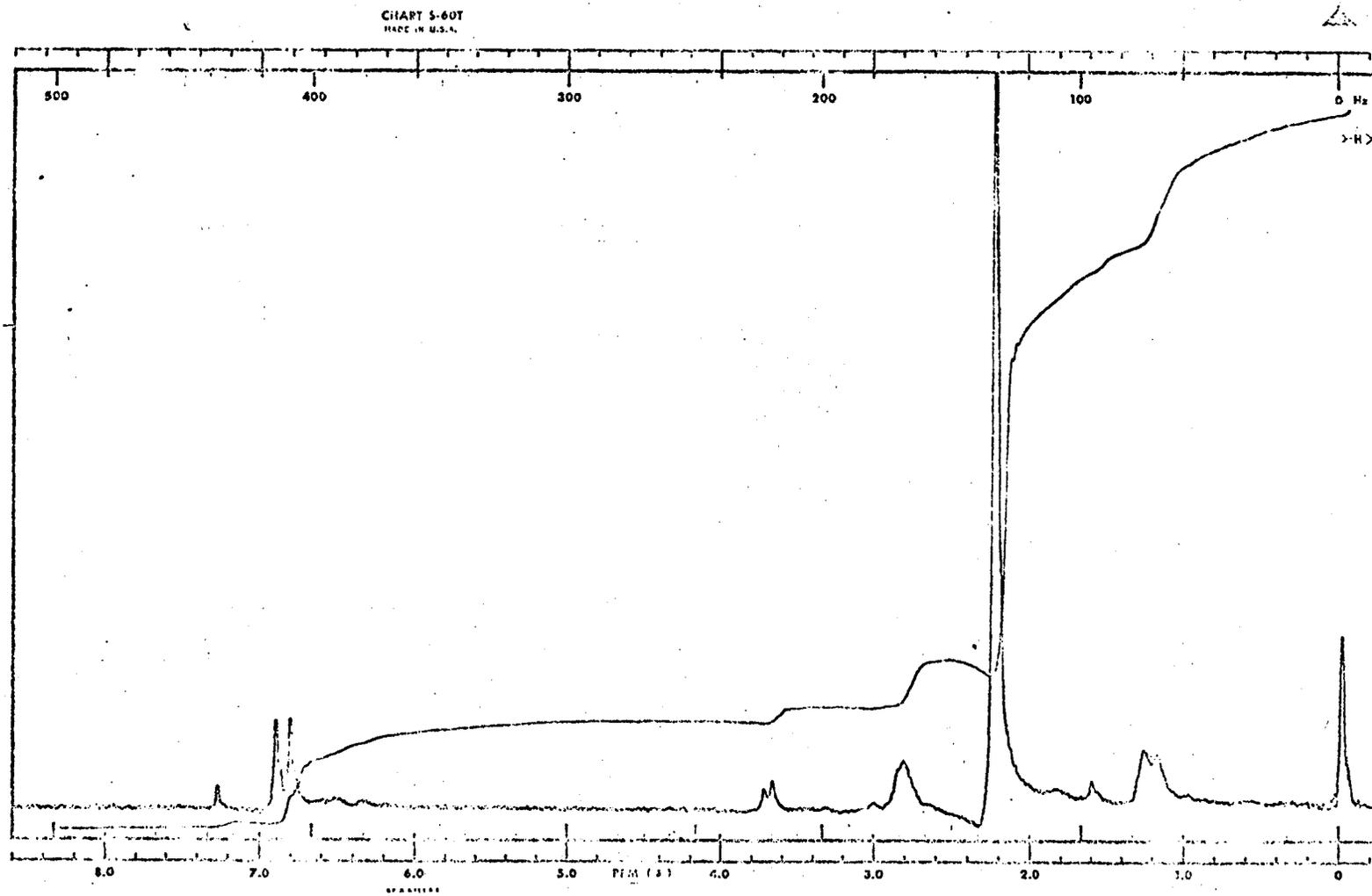


Fig.59
Espectro RMP de LA-1-H₂-OH-OAc

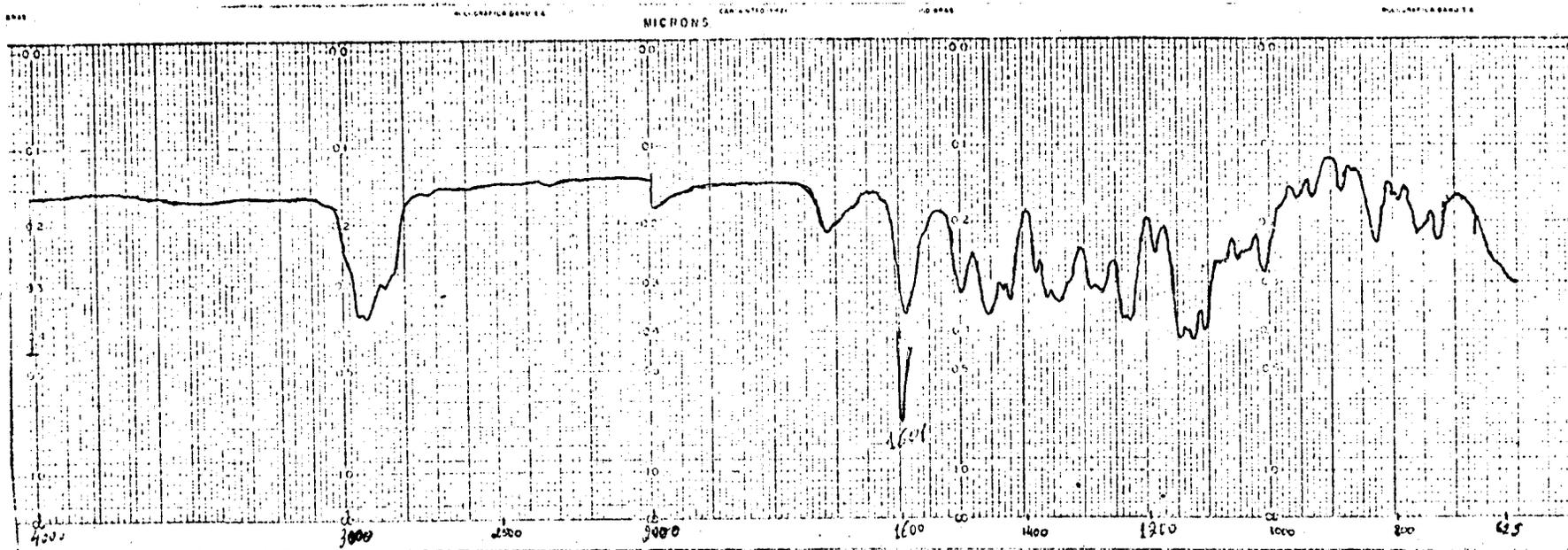


Fig.60

Espectro no IV de LA-2-H₂

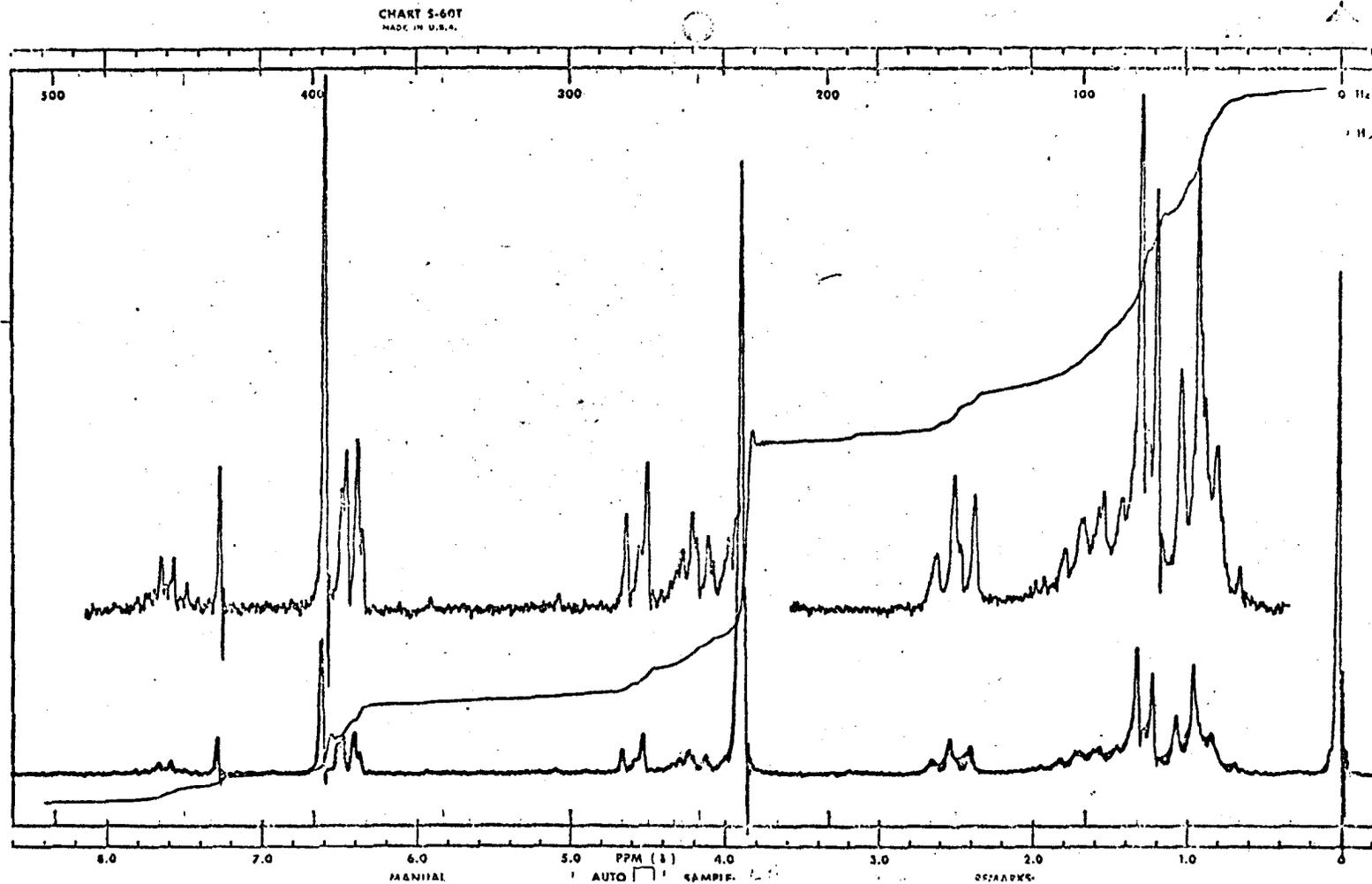


Fig.61
Espectro RMP de LA-2-H₂

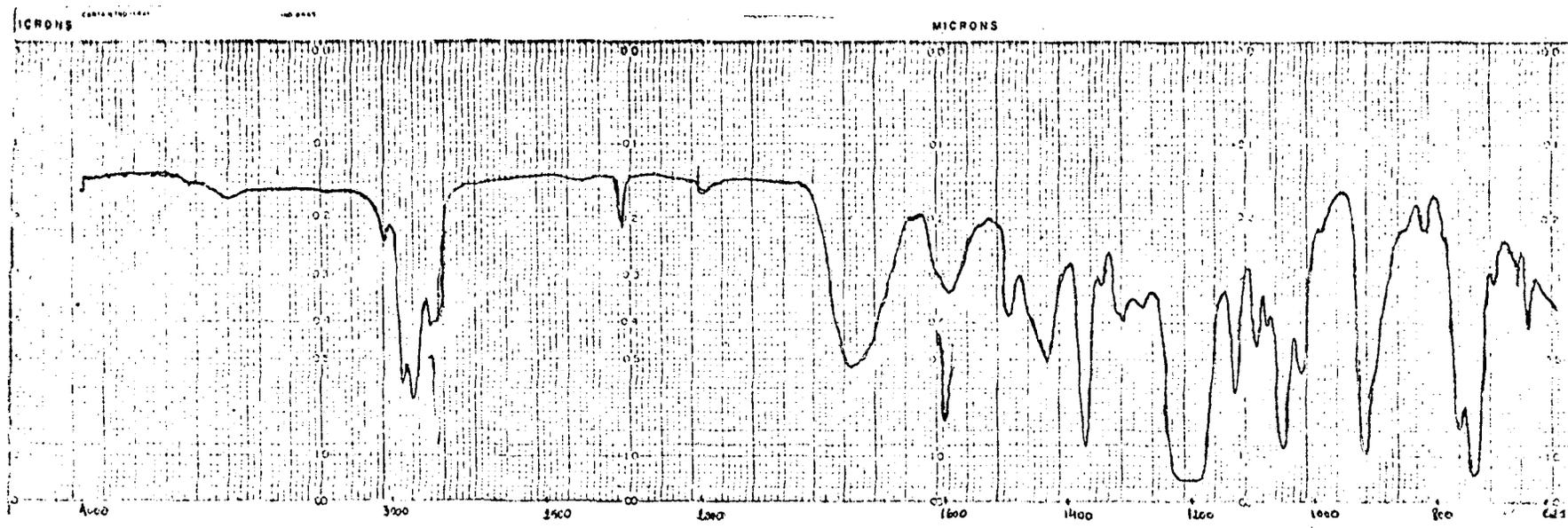


Fig.62

Espectro no IV de LA-2-H₂-OH-OAc

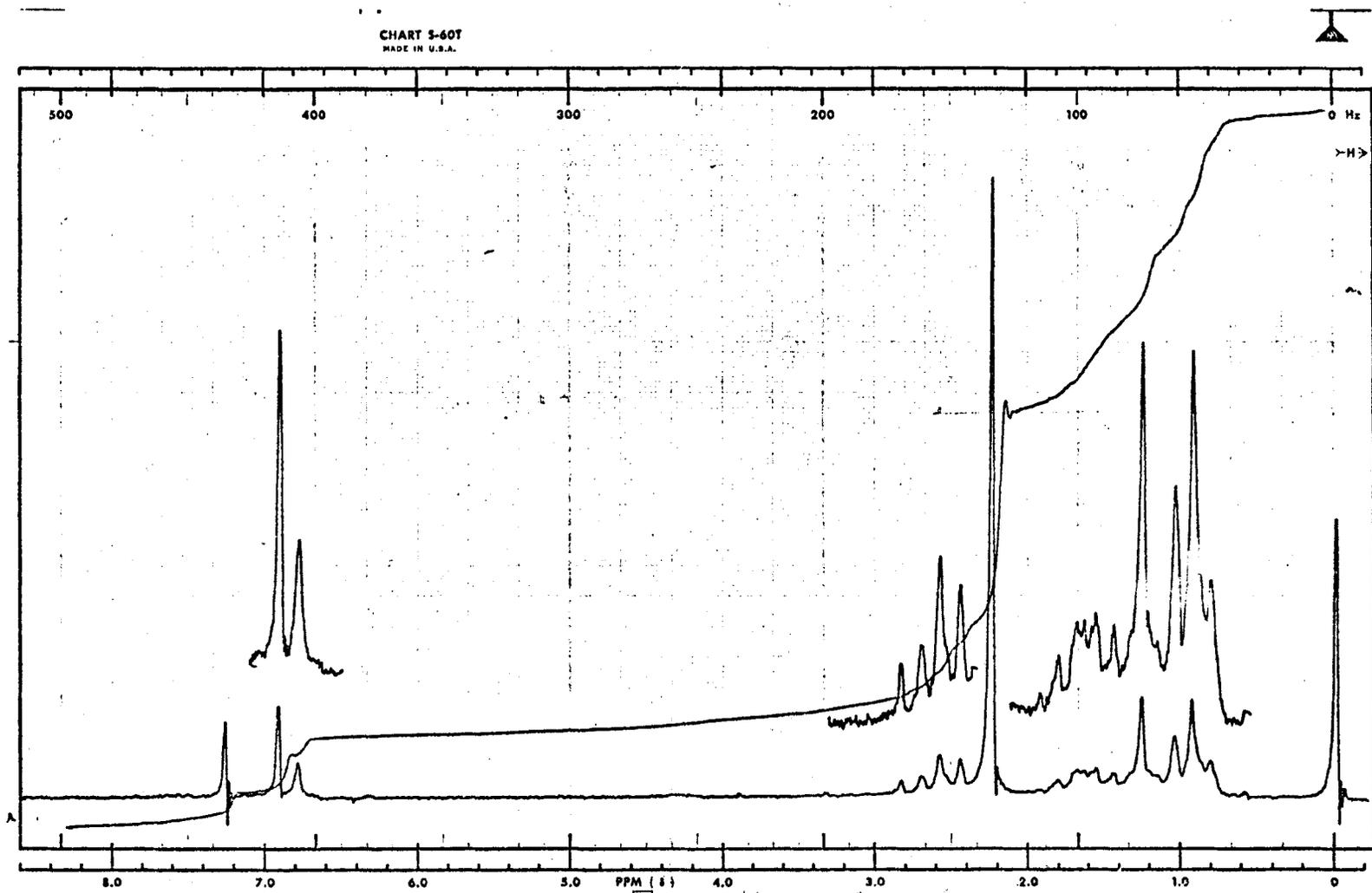


Fig.63
Espectro RMP de LA-2-H₂-OH-OAc

PARTE EXPERIMENTAL

Notas; ver página 15

ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES DE LICARIA AUREA

DIAGRAMA IV

Após a coleta do material, as folhas foram separadas dos galhos grossos e finos e estes secados em estufa natural, a uma temperatura de 45° C.

Feito a secagem e eliminada a casca, a madeira foi moída e extraída exaustivamente com benzeno a frio, e posteriormente com etanol, também a frio.

As soluções resultantes foram concentradas em evaporador rotativo sob vácuo, a uma temperatura de 40° C. Obtivemos 150 g de extrato benzênico e 220 g de extrato etanólico, para uma quantidade inicial de 8 kg de madeira moída.

O extrato benzênico após vários dias em repouso se mostrou parcialmente cristalizado, o que nos levou a efetuar uma filtração dos cristais em funil de buchner. Obtivemos cerca de 11,7 g de uma substância incolor, recristalizada em n-hexano, com ponto de fusão 80-81° C, que recebeu a sigla LA-1. O extrato benzênico resultante desta filtração, após outra semana em repouso, tornou a cristalizar grande quantidade de LA-1, o que nos conduziu ao procedimento anterior com a obtenção de mais 5,5 g do material. Como nas vezes anteriores, o extrato benzênico depois de outro período em repouso, tornou a depositar cristais, o que nos levou a supor que o extrato obtido por percolação com benzeno, continha em sua maioria, a substância LA-1.

Procedemos a uma separação cromatográfica de 33 g do extrato benzênico, em coluna de vidro de 120 x 5 cm, com capacidade para 500 g de sílica gel, usando como eluente inicial benzeno. Destacamos o seguinte desenvolvimento:

Eluentes	Frações
Benzeno	1-20
Benzeno + acetato de etila (9:1)	21-27
Benzeno + acetato de etila (8:2)	28-36
Benzeno + acetato de etila (7:3)	37-44
Benzeno + acetato de etila (1:1)	45-53
Benzeno + acetato de etila (3:7)	54-60
Benzeno + acetato de etila (1:9)	61-70
Acetato de etila	71-82

As frações foram submetidas a estudo comparativo por cromatografia em camada delgada de sílica, o que permitiu reuni-las em 6 grupos, dos quais foram isoladas duas substâncias.

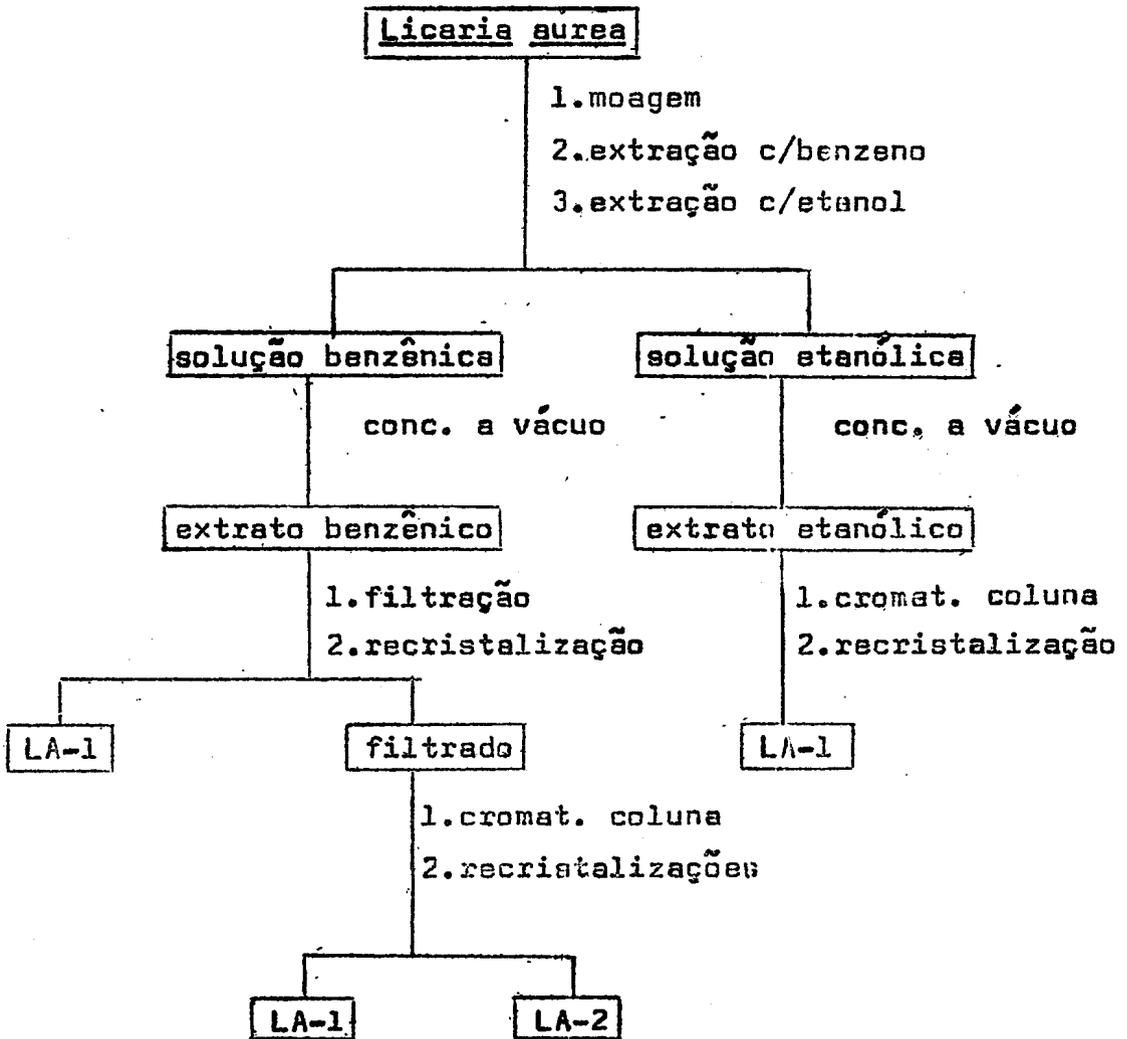
As frações 6-11, ofereceram cristais incolores impurificados por um óleo, que após serem lavados com n-hexano e em seguida recristalizados com n-hexano + benzeno (algumas gotas), obtivemos cerca de 4 g de uma substância incolor, com ponto de fusão 92-94^o C. Recebeu a sigla LA-2.

As frações 28-42, ofereceram cristais incolores impurificados por um óleo, que após serem lavados com n-hexano e recristalizados em n-hexano + benzeno, obtivemos 7,4 g de LA-1, isolada previamente por filtração do extrato benzênico bruto.

Os demais grupos de frações do extrato benzênico não conduziram a nenhuma substância pura.

O extrato etanólico da madeira, foi trabalhado nas mesmas condições do extrato benzênico, conseguiu-se isolar, novamente, grandes quantidades de LA-1

DIAGRAMA IV



LA-1

Cristais incolores de ponto de fusão 80-81° C (rec. em n-hexano + benzeno). $IV\lambda_{\max}^{KCl}$ (cm⁻¹) 3075, 2995, 2960, 2935, 2840, 1587, 1498, 1452, 1372, 1325, 1265, 1240, 1225, 1208, 1182, 1155, 1125, 1045, 1032, 1005, 990, 948, 925, 860, 842, 830, 775, 750 e 670. RMP (CDCl₃, τ) 8,77 (d, J=6,0 Hz, 3H), 7,23 (s,m, superpostas, 2H), 6,30 e 6,25 (s,s, 12H), 5,62 (d, J=6,0 Hz, 2H), centrada em 4,80 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,83 (s, 2H) e 3,71 (s, 2H). $UV\lambda_{\max}^{EtOH}$ (nm) 212 e 270 (ε resp. 46230 e 1200). EM M⁺: 402 (100) m/e (%), 221 (60), 22 (36), 182 (36), 181 (72), 162 (40), 151 (32), 150 (32), 137 (28), 136 (28) e 91 (20).

LA-2

Cristais incolores de ponto de fusão 92-94° C (rec. em n-hexano + benzeno) [lit. (25) 94° C]. $IV\lambda_{\max}^{KCl}$ (cm⁻¹) 3065, 2940, 2925, 2835, 1590, 1500, 1460, 1450, 1420, 1378, 1372, 1365, 1356, 1340, 1320, 1290, 1275, 1240, 1225, 1195, 1185, 1150, 1135, 1125, 1100, 1045, 1030, 1000, 982, 965, 940, 925, 917, 908, 880, 832, 826, 818, 805, 765, 737, 720, 675, 655 e 640. RMP (CDCl₃, τ) 8,77 (d, J=6,0 Hz, 3H), 6,73 (d, J=6,0 Hz, 2H), 6,15 (s, 12H), 5,95 (m, 1H), 5,46 (d, J=8,0 Hz, 2H), centrada em 4,94 (m, 2H), 4,10 (m, 1H), 3,63 (d, J=2,0 Hz, 1H), 3,51 (d, J=2,0 Hz, 1H) e 3,40 (s, 2H). $UV\lambda_{\max}^{EtOH}$ (nm) 215 e 273 (ε resp. 55580 e 2100). EM M⁺: 386 (100) m/e (%), 302 (25), 209 (50), 208 (85), 193 (66), 191 (54), 165 (30), 135 (36), 133 (24), 107 (38), 105 (26), 91 (42), 79 (62) e 77 (54).

Hidrogenação de LA-1

LA-1 (100 mg), etanol (15 ml) e catalizador Pd/C 15% (15 mg) foram submetidos a atmosfera de hidrogênio com agitação

e a temperatura ambiente por 8 horas. A mistura da reação foi filtrada para eliminar o excesso de catalizador e evaporada sob vácuo. Recristalização em fração leve de petróleo + benzeno (algumas gotas) permitiu separar uma nova substância, denominada LA-1-H₂.

LA-1-H₂, cristais incolores, ponto de fusão 89-91° C (rec. em fração leve de petróleo + benzeno). IVV_{\max}^{KCl} (cm⁻¹) 2960, 2880, 2860, 2840, 1590, 1510, 1495, 1460, 1450, 1390, 1370, 1335, 1318, 1265, 1250, 1240, 1215, 1185, 1160, 1130, 1045, 1010, 1005, 980, 950, 915, 876, 845, 835, 805, 785, 705 e 670. RMP (CDCl₃, τ) 9,00 (t, J_N7 Hz, 3H), 8,70 (d, J_N6 Hz, 3H), 8,20 (m, 2H), 7,18 (s,m, superpostas, 2H), 6,22 e 6,20 (s,s, 12H), 6,07 (t, J_N7 Hz, 2H), 3,75 (s, 2H) e 3,62 (s, 2H).

Clivagem com ácido sulfúrico/ácido acético de LA-1

LA-1 (300 mg) foi dissolvida em ácido acético (12 ml) e posteriormente submetida a tratamento com uma mistura de ácido sulfúrico + ácido acético (0,15:3,0 ml) durante 48 horas em repouso, à temperatura ambiente. Em seguida se juntou água gelada para induzir a formação de precipitado, o que não foi conseguido. A mistura da reação foi neutralizada (com hidróxido de bário) para eliminar o ácido e filtrada para separação do sal formado. O produto da reação foi obtido por extração com cloroformio, e evaporação do solvente. Cromatografia em coluna de sílica permitiu separar de LA-1 não alterada uma nova substância oleosa (209 mg), denominada LA-1-OH.

LA-1-OH, substância oleosa. $IVV_{\max}^{\text{filme}}$ (cm⁻¹) 3420, 2955, 2930, 2838, 1585, 1495, 1450, 1420, 1373, 1335, 1308, 1240, 1195, 1130, 1120, 1050, 1015, 990, 955, 915, 875, 845, 822, 785, 760 e 670. RMP (CCl₄, τ) 8,88 (d, J_N6 Hz, 3H), centrada em 7,42 (s,m, superpostas, 2H), 6,75 (d, J_N6 Hz, 2H), 6,32, 6,30, 6,22 e 6,20 (s,s,s,s, 12H), centrada em 5,17 (m, 2H), 4,66 (s, 1H), 4,25 (m, 1H), 3,86 (s, 2H) e 3,56 (s, 1H).

Acetilação de LA-1-OH

LA-1-OH (66 mg) foi tratada com uma mistura de anidrído acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi deixada em repouso por 48 horas, à temperatura ambiente. A seguir, juntou-se gelo picado e separou-se o precipitado formado. Este foi então lavado com HCl 10% até a eliminação da piridina e, posteriormente com água até pH neutro. Obteve-se 49 mg de uma substância cristalina ligeiramente amarelada, denominada LA-1-OH-OAc.

LA-1-OH-OAc, substância cristalina, ponto de fusão 49-51° C (rec. em n-hexano). $IV\bar{V}_{\max}^{KCl} (cm^{-1})$ 2940, 2845, 1745, 1590, 1495, 1455, 1415, 1370, 1335, 1320, 1240, 1200, 1150, 1125, 1050, 1020, 980, 930, 850, 825, 785, 760 e 670. RMP ($CDCl_3, \tau$) 8,73 (d, $J \approx 7$ Hz, 3H), 7,63 (s, 3H), centrada em 7,23 (s,m, superpostas, 2H), 6,72 (d, $J \approx 6$ Hz, 2H), 6,26, 6,22, 6,18 e 6,15 (s,s,s,s, 12H), centrada em 5,10 (m, 2H), centrada em 4,13 (m, 1H), 3,75 (s, 2H) e 3,34 (s, 1H).

Hidrogenação de LA-1-OH

LA-1-OH (119 mg), etanol (15 ml) e catalizador Pd/C 15% (15 mg) foram submetidos a atmosfera de hidrogênio com agitação e a temperatura ambiente por 8 horas. A mistura da reação foi filtrada para eliminar o excesso de catalizador e evaporada sob vácuo. Obteve-se uma substância ligeiramente amarelada (130 mg), oleosa, denominada LA-1-OH-H₂.

LA-1-OH-H₂, substância oleosa. $IV\bar{V}_{\max}^{\text{filme}} (cm^{-1})$ 3290, 2960, 2930, 2870, 2840, 1590, 1500, 1450, 1423, 1370, 1325, 1312, 1280, 1248, 1232, 1195, 1185, 1145, 1125, 1085, 1070, 1048, 1035, 1025, 1005, 980, 922, 900, 855, 845, 835, 815 e 705. RMP ($CDCl_3, \tau$) 9,00 (t, $J \approx 6$ Hz, 3H), 8,72 (d, $J \approx 6$ Hz, 3H), 6,60 a 8,60, 6H, 6,21, 6,16 e 6,10 (s,s,s, 12H), 4,60 (s, 1H), 3,72 (s, 2H) e 3,42 (s, 1H).

Acetilação de LA-1-OH-H₂

LA-1-OH-H₂ (50 mg) foi tratada com uma mistura de anidrido acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi deixada em repouso por 40 horas, à temperatura ambiente. A seguir, juntou-se gelo picado e separou-se o acetato precipitado. Este foi então lavado com HCl 10% até a eliminação da piridina e, posteriormente com água até pH neutro. Obteve-se uma substância oleosa (57 mg), ligeiramente amarelada, designada LA-1-OH-H₂-OAc.

LA-1-OH-H₂-OAc, substância oleosa. RMP (CCl₄, %) 9,05 (t, J_w6 Hz, 3H), 8,70 (d, J_w6 Hz, 3H), 7,70 (s, 3H), 6,60 e 8,60 (exceto a banda em 7,70 já assinalada), ν 6H, 6,30 e 6,20 (s, s, 12H), 3,95 (s, 2H) e 3,52 (s, 1H).

Tentativa de pirólise de LA-1

LA-1 (100 mg) e N,N-dietilanilina (0,5 ml) foram submetidos a atmosfera de nitrogênio (para evitar oxidação) com agitação e a temperatura de ebulição por 4 horas. A mistura da reação foi tratada com HCl 2N para eliminar a N,N-dietilanilina e, posteriormente com água até pH neutro. Obteve-se uma substância nova, oleosa, ligeiramente amarelada, isolada do produto da reação por cromatografia em coluna. Foi denominada LA-1-pir.

LA-1-pir, substância oleosa. IV ν filme (cm⁻¹) 3430, 2960, 2940, 2840, 1590, 1500, 1462, 1450, 1425, 1365, 1335, 1280, 1240, 1220, 1187, 1155, 1130, 1045, 1015, 985, 945, 915, 835, 785 e 760. RMP (CCl₄, %) 8,77 (d, J_w6 Hz, 3H), centrada em 7,22 (s, m, superpostas, 2H), 6,25 e 6,20 (s, s, 12H), 4,55 (s, 1H), 3,77 (s, 2H) e 3,63 (s, 2H).

Acetilação de LA-1-pir

LA-1-pir (36 mg) foi tratada com uma mistura de anidrido acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi deixada em repouso por 48 horas, à temperatura ambiente. A seguir, jun-

tou-se gelo picado e separou-se o acetato precipitado. Este foi então lavado com HCl 10% até a eliminação da piridina e, posteriormente com água até pH neutro. Obteve-se 42 mg de uma substância cristalina, denominada LA-1-pir-OAc.

LA-1-pir-OAc, substância cristalina, ponto de fusão 119-122° C. $\nu_{\text{max}}^{\text{KCl}}$ (cm^{-1}) 3000, 2970, 2940, 2040, 1765, 1595, 1505, 1460, 1430, 1380, 1340, 1278, 1250, 1215, 1205, 1160, 1130, 1100, 1050, 1015, 985, 950, 908, 900, 870, 845, 815, 790 e 675. RMP (CDCl_3 , τ) 8,66 (d, J_{AB} 6 Hz, 3H), centrada em 7,15 (s,m, superpostas, 2H), 7,63 (s, 3H), 6,16 (s, 12H), 3,75 (s, 2H) e 3,62 (s, 2H).

Tentativa de hidrogenólise de LA-1

LA-1 (100 mg), etanol (15 ml) e catalizador PtO_2 pré-hidrogenado (25 mg) foram submetidos a atmosfera de hidrogênio com agitação e a temperatura ambiente por 18 horas. A mistura da reação foi filtrada para eliminar o excesso de catalizador e evaporada sob vácuo. Obteve-se um produto cristalino de ponto de fusão 89-91° C, idêntico a LA-1- H_2 anteriormente separado (ponto de fusão mixto, cromatografia em camada fina e superposição de seus espectros no IV, confirmaram a suposição).

Tentativa de hidrólise alcalina de LA-1

LA-1 (100 mg) em uma mistura 4N de KOH/MeOH (20 ml), foi aquecida sob refluxo durante 16 horas. Em seguida, após a evaporação do solvente sob vácuo, se adicionou 15 ml de água e a mistura resultante foi neutralizada com HCl 10% até pH neutro. Extração com clorofórmio e posterior evaporação permitiu obter-se LA-1 inalterada.

Clivagem com ácido iodídrico/ácido acético de LA-1-H₂

LA-1-H₂ (440 mg) foi submetida a refluxo por 1 hora com uma mistura de ácido iodídrico 68% (3,3 ml) + ácido acético (3,3 ml) em presença de fósforo vermelho (3,0 g). A mistura foi evaporada sob vácuo à temperatura de 100° C. O resíduo foi dissolvido em água e extraído com clorofórmio (8 x 10 ml). Cromatografia em coluna permitiu separar uma substância marrom avermelhada (320 mg), de ponto de fusão 201-204° C, denominada LA-1-H₂-OH.

LA-1-H₂-OH, substância cristalina de cor marrom avermelhada, ponto de fusão 201-204° C (rec. fração leve de petróleo + metanol). $\text{IV}\checkmark_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$ 3330 (larga), 2965, 2930, 1612, 1530, 1470, 1460, 1450, 1320 (larga), 1235, 1180, 1148, 1100, 1125, 960, 900, 880, 850, 835, 800, 785, 735, 660 e 650. RMP (CD₃COCD₃, τ) 8,90 (d, J₆ Hz, 3H), 7,40 (s,m, superpostas, 2H), 3,80 (s, 2H), 3,72 (s, 2H) e 2,64 (s, 5H).

Acetilação de LA-1-H₂-OH

LA-1-H₂-OH (160 mg) foi tratada com uma mistura de anidrido acético (2 ml) e piridina (2 ml). A solução foi aquecida por 2 horas à temperatura de 100° C. A seguir, juntou-se gelo picado e separou-se o acetato precipitado. Este foi então lavado com HCl 3% para eliminar a piridina e, posteriormente com água até pH neutro. Obteve-se 230 mg de uma substância oleosa, denominada LA-1-H₂-OH-OAc.

LA-1-H₂-OH-OAc, uma substância oleosa. $\text{IV}\checkmark_{\text{max}}^{\text{filme}} (\text{cm}^{-1})$ 2950, 2920, 2870, 2850, 1765, 1600, 1495, 1465, 1435, 1370, 1310, 1200 (larga), 1125, 1075, 1045, 1010, 955, 935, 890, 815, 745 e 705. RMP (CDCl₃, τ) 8,80 (d, J₆ Hz, 3H), 7,80 (s, 15H), 7,20 (s,m, superpostas, 2H), 3,20 (s, 2H) e 3,10 (s, 2H).

Hidrogenação de LA-2

LA-2 (250 mg), etanol (15 ml) e catalizador PtO_2 pré hidrogenado (30 mg) foram submetidos a atmosfera de hidrogênio com agitação e a temperatura ambiente por 8 horas. A mistura da reação foi filtrada, para eliminar o excesso de catalizador, e evaporada sob vácuo. Obteve-se um produto oleoso ligeiramente amarelado (264 mg), denominado LA-2- H_2 .

LA-2- H_2 , uma substância oleosa. $\text{IV}\checkmark_{\text{max}}^{\text{filme}} (\text{cm}^{-1})$
 2875, 2865, 2832, 1590, 1500, 1450, 1430, 1420, 1385, 1365, 1345, 1295, 1275, 1245, 1230, 1185, 1150, 1130, 1110, 1075, 1055, 1040, 1030, 1015, 960, 930, 885, 830, 805, 795, 775, 760 e 730. RMP (CDCl_3 , τ) 9,05 (t, $\text{J}_{\text{H}} 6$ Hz, 3H), 8,72 (d, $\text{J}_{\text{H}} 6$ Hz, 3H), centrada em 8,50 (m, 2H), 7,48 (t, $\text{J}_{\text{H}} 6$ Hz, 2H), 6,08 (s, 12H), 5,95 (m, 1H), 5,40 (d, $\text{J}_{\text{H}} 8$ Hz, 2H), 3,62 (d, $\text{J}_{\text{H}} 2$ Hz, 1H), 3,51 (d, $\text{J}_{\text{H}} 2$ Hz, 1H) e 3,40 (s, 2H).

Clivagem com ácido iodídrico/ácido acético de LA-2- H_2 e acetilação do produto bruto da reação.

LA-2- H_2 (167 mg) foi mantido sob refluxo por 1 hora com uma mistura de ácido iodídrico 68% (1,5 ml) + ácido acético (1,5 ml), em presença de fósforo vermelho (2,0 g). A mistura foi evaporada sob vácuo a temperatura de 100°C . O resíduo foi dissolvido em água e extraído com clorofórmio (8 x 5 ml). A solução clorofórmica foi separada, evaporada e o resíduo foi tratado com uma mistura de anidrido acético (1 ml) e piridina (1 ml). A solução foi aquecida por 2 horas à temperatura de 100°C . Juntou-se gelo picado e separou-se o acetato precipitado. O produto isolado foi destilado a 0,2 mm, constituindo-se a fração de ponto de ebulição $160\text{-}200^\circ \text{C}$, em uma substância oleosa, ligeiramente amarelada, denominada LA-2- H_2 -OH-OAc.

LA-2- H_2 -OH-OAc, uma substância oleosa. $\text{IV}\checkmark_{\text{max}}^{\text{filme}} (\text{cm}^{-1})$ 3030, 2960, 2930, 2870, 2850, 1755, 1595, 1495, 1435,

1375, 1350, 1310, 1280, 1205 (larga), 1130, 1095, 1000, 1055, 1025, 915, 820, 765, 745, 740, 710, 670 e 650. RMP (CDCl₃, °C) 9,10 (t, J=7 Hz, 3H), 8,46 (m, 2H), 7,75 (s, 9H), 7,50 (t, J=7 Hz, 2H), 3,20 (s, 1H) e 3,10 (s, 1H).

CONCLUSÕES E COMENTÁRIOS BIOSSINTÉTICOS

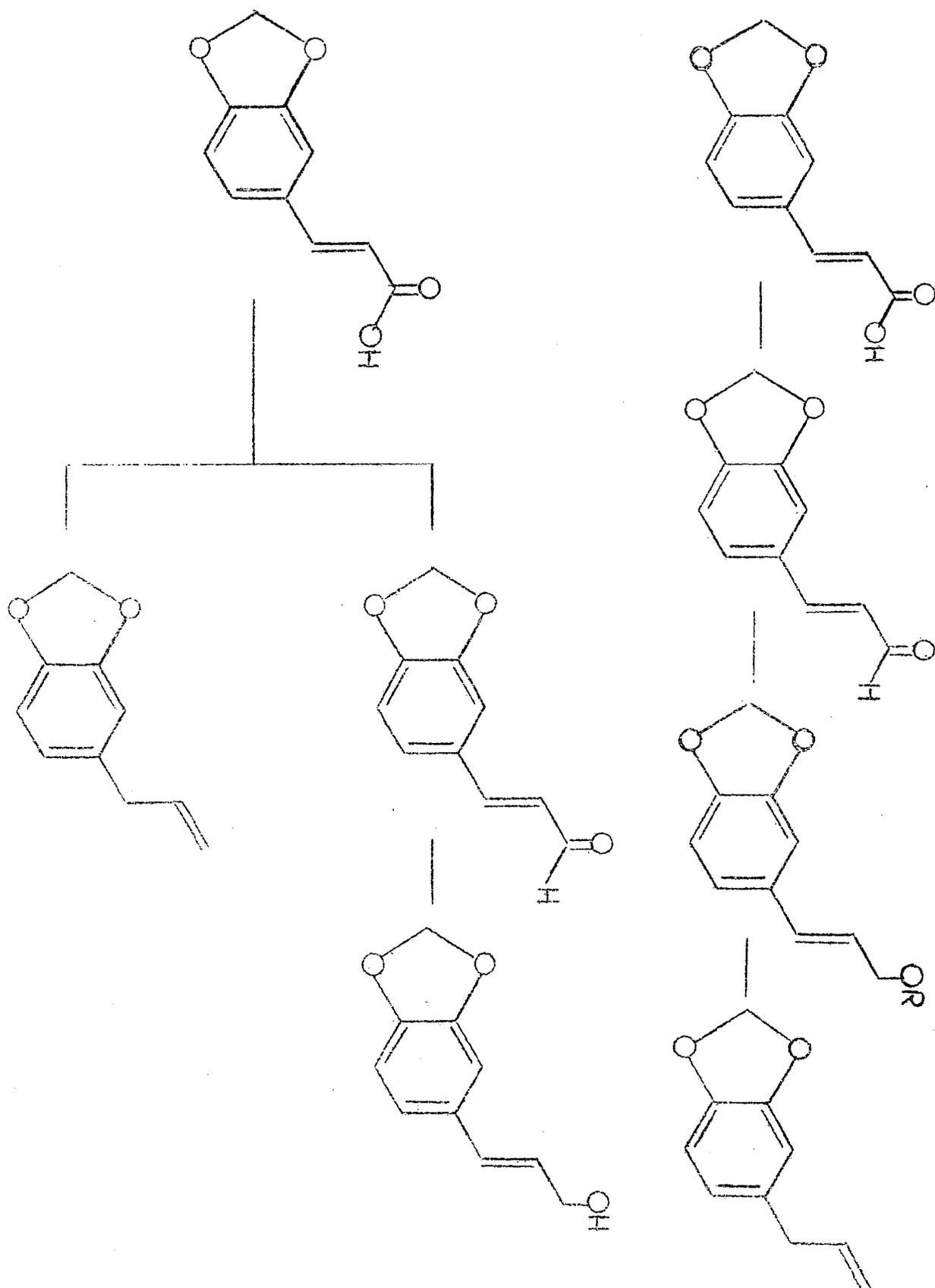
O estudo químico das espécies amazônicas Eugenia biflora (L.) DC e Myrcia citrifolia (Aubl.) Urb. revelou em ambas, a presença de um triterpeno largamente espalhado no reino vegetal, β -amirina, e da eucaliptina (5-hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona), constituinte previamente isolado de espécies australianas do gênero Eucalyptus e Angophora (2). Dimetilflavonas são extremamente raras na natureza, e esta é a primeira vez que se registra a sua ocorrência em espécies do gênero Eugenia e Myrcia.

Da laurácea Licaria puchury-major (Mart.) Kosterman isolou-se, além do sitosterol, um número de substâncias de evidentes relações biossintéticas: Aldeído 3,4-metilenodioxicinâmico, álcool 3,4-metilenodioxicinâmico, aldeído siríngico (4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzaldeído), safrol (3,4-metilenodioxialilbenzeno) e eugenol (4-hidroxi-3-metoxialilbenzeno). O aldeído 3,4-metilenodioxicinâmico foi isolado previamente do canfôreiro, Cinnamomum camphora Sieb. (15), onde também ocorre acompanhado pelo safrol. Não consta no levantamento da literatura que realizamos, a ocorrência natural do álcool 3,4-metilenodioxicinâmico. O aldeído siríngico é largamente encontrado em vegetais (26). A presença do eugenol e safrol na planta já tinha sido anteriormente verificada pelo estudo do óleo volátil das sementes, folhas e galhos finos (12) (13).

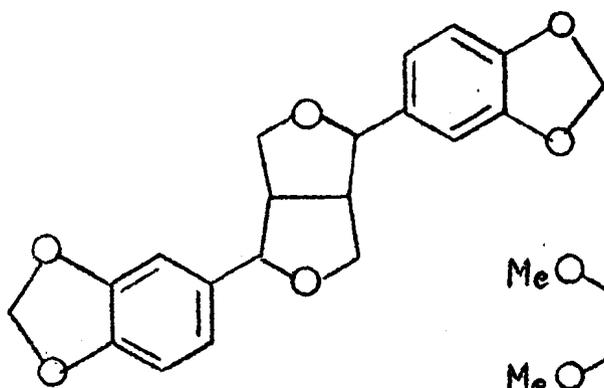
Nossos dados por si já seriam interessantes do ponto de vista fitoquímico, na época atual, no entanto, adquirem um significado todo especial. De fato, longos anos supunha-se, de acordo com uma hipótese originalmente formulada por Birch (27), que o caminho biossintético até os alilbenzenos, classe de substâncias da qual o eugenol é um exemplo, se desenvolvesse a par

tir de precursores tipo fenilalanina ou tirosina, pela via redutiva que envolve ácidos cinâmicos, aldeídos cinâmicos, alcoois cinâmílicos sob forma de seus pirofosfatos (Quadro 4). Em trabalho publicado em fins de 1971, no entanto, Canonica e col. (28) afirmam não estar esta hipótese apoiada em experimentação válida e lançam dúvida sobre a ocorrência da via redutiva. Experimentação direta efetuada por estes autores em plantas do gênero Ocimum leva à conclusão que alilbenzenos são formados por uma sequência reacional que envolve descarboxilação de um ácido cinâmico e posterior acréscimo, ao fragmento C_6C_2 , de um átomo de carbono proveniente de um precursor adicional, levando assim o esqueleto do produto de novo a C_5C_3 . O mecanismo deste processo é totalmente obscuro. É deveras notável que apareça esta hipótese, justamente no momento em que nos isolamos de uma mesma fonte vegetal, quase todos os metabolitos da via redutiva direta de Birch. Caso os autores italianos de fato tiverem razão, derivam no puchuri, de um lado, o eugenol, e por outro lado o aldeído 3,4-metilenodioxicinâmico e o álcool 3,4-metilenodioxicinâmílico, por duas vias diversas de um ácido cinâmico precursor.

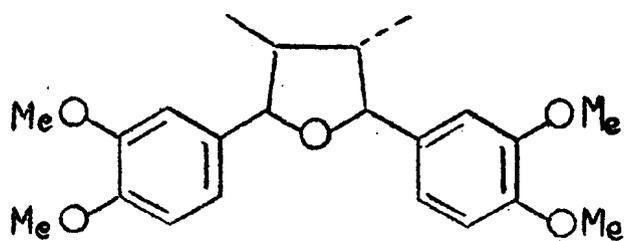
Espécies de lauráceas, além dos arilpropanoides isolados do puchuri, contém muitos bis-arilpropanoides, como por exemplo sesamina e veraguensina (29) (30). Com relação aos seus esqueletos, sesamina e veraguensina (XIX e XX) possuem duas unidades arilpropanoídicas, ligadas entre si pelos carbonos em posição β , pertencendo conseqüentemente a classe das lignanas, importantes por sua aplicação farmacológica. Por outro lado os bis-arilpropanoides isolados por nosso grupo, licarina, burchellina, porosina e guianina (31)(32)(33)(23) (XXI, XXII, XXIII e XI), mostram uma variação constitucional em relação às lignanas, no sentido que a ligação entre as duas unidades não envolve necessariamente ambos os carbonos β . Uma das três posições conjugadas com esta posição pode servir como cabeça de ponte (Quadro 5). A esta nova classe de substâncias, designou-se de neolignanas.



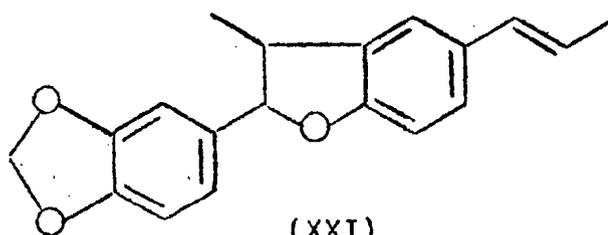
Quadro 4



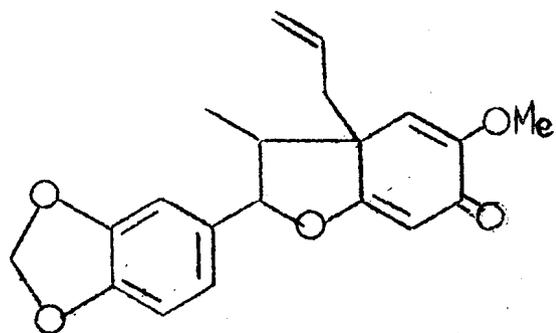
(XIX)



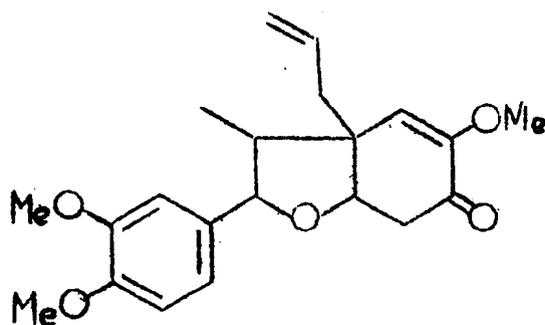
(XX)



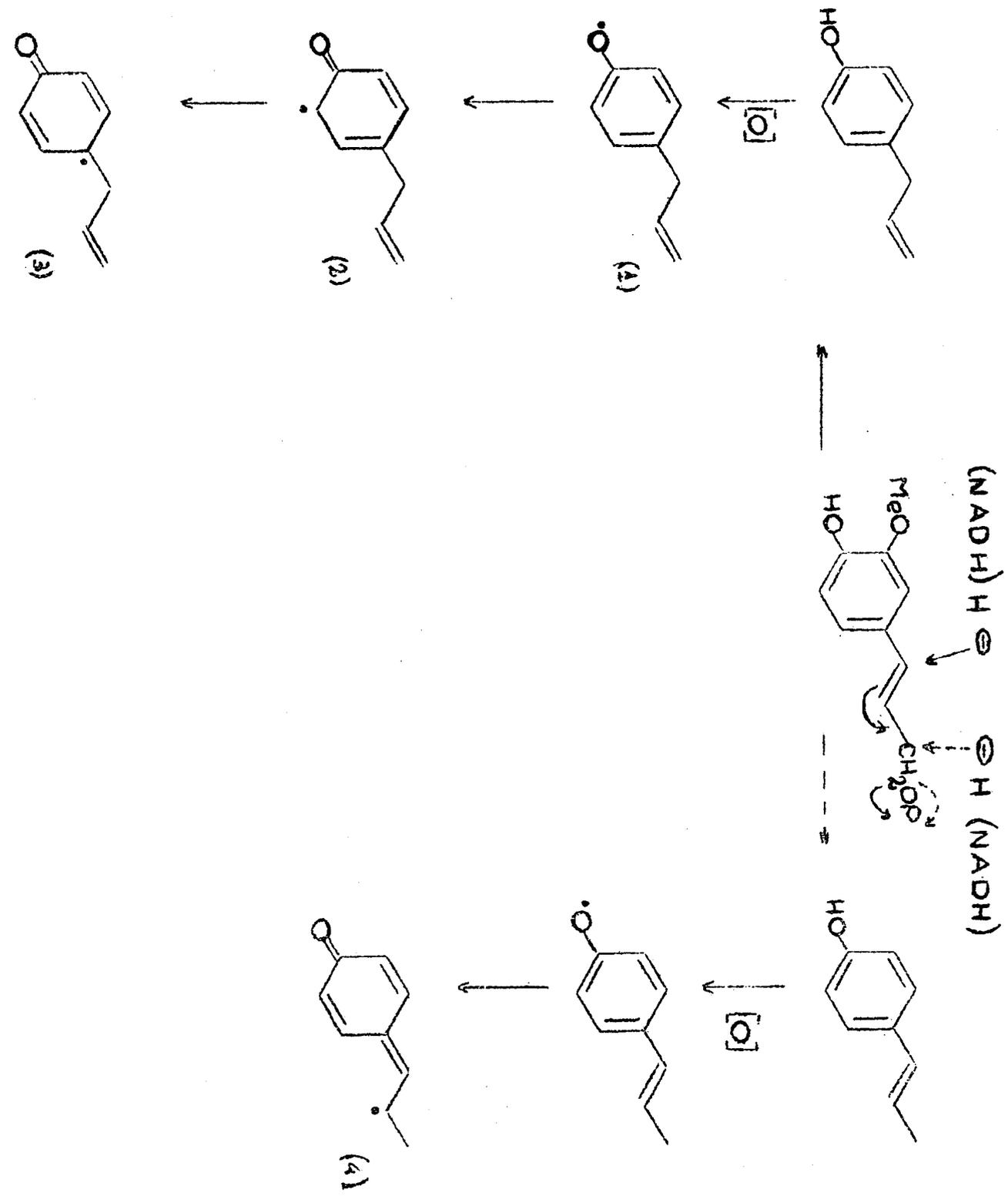
(XXI)



(XXII)



(XXIII)

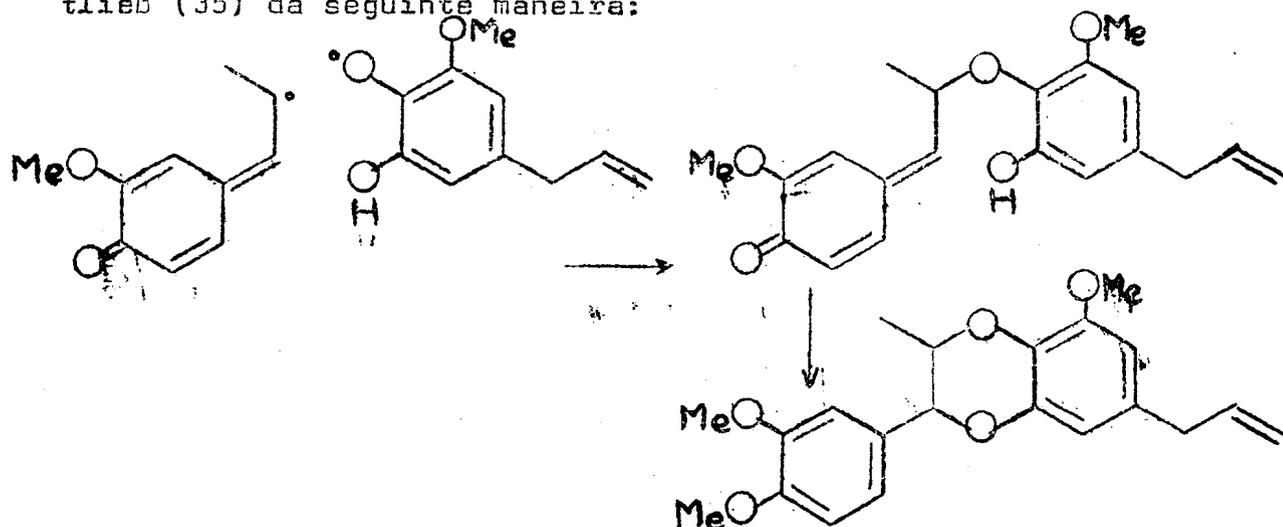


Quadro 5

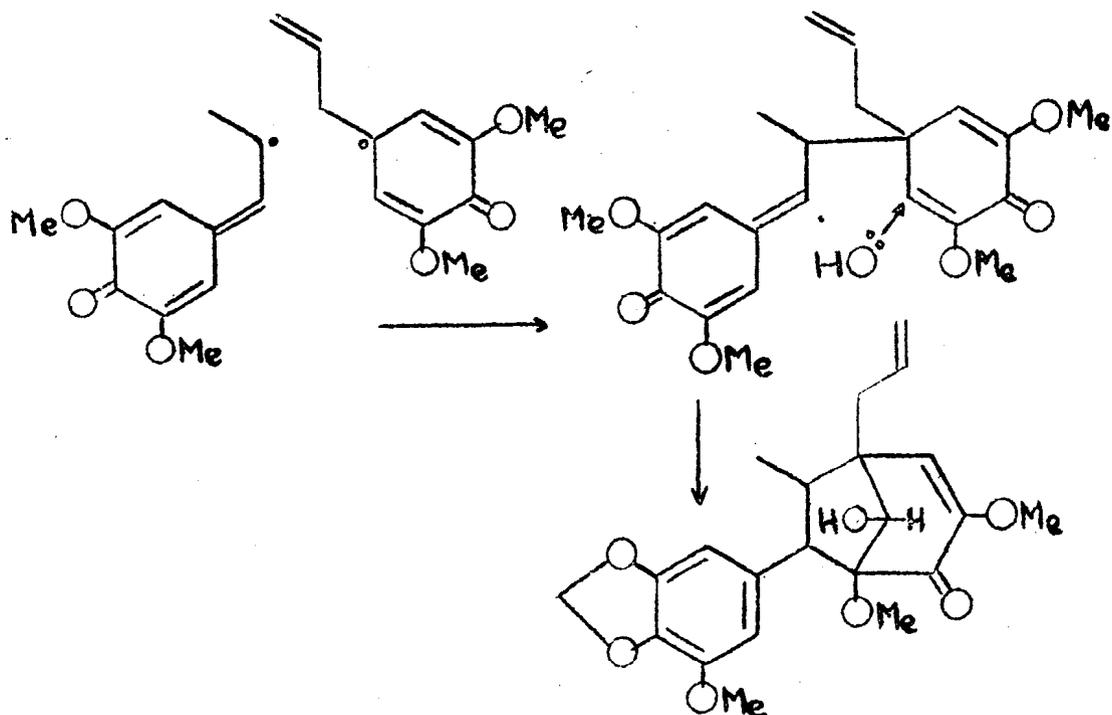
Uma racionalização plausível dos caminhos biossintéticos capazes de levarem às neolignanas, inclui a formação intermediária de radicais, indicados no Quadro 5. A estrutura dos produtos de acoplamento dependerá não apenas da natureza dos radicais, mas também de sua oxigenação adicional.

O estudo químico das espécies L. macrophylla e L. aurea permitiu isolar, além do sitosterol (LM-3) e de dois alcoóis sesquiterpênicos não identificados (LM-2 e LM-4), três bis-arilpropanoides da classe das neolignanas, designadas macrofilina, aureina e eusiderina (LM-1, LA-1 e LA-2 respectivamente). Destas somente LA-2 tinha sido anteriormente isolada, de outra espécie de laurácea, Eusideroxylon zwageri T. et B., que ocorre na Indonésia. Para a macrofilina sugerimos no presente trabalho a estrutura do 1-alil-8-hidroxi-3,5-dimetoxi-7-metil-4-oxo-6-(3',4'-metilenodioxi-5'-metoxifenil)-biciclo [3,2,1]oct-2-eno (XII). Através do uso de métodos instrumentais e químicos, conseguimos formular para a aureina uma estrutura contendo as unidades representadas no quadro 3. De acordo com o espectro de massa deveriam estas unidades se encontrar ligadas através de 2 átomos de oxigênio. Nenhuma das diversas maneiras pelas quais tal ligação pode ser postulada se coaduna, no entanto, com o espectro de RMP.

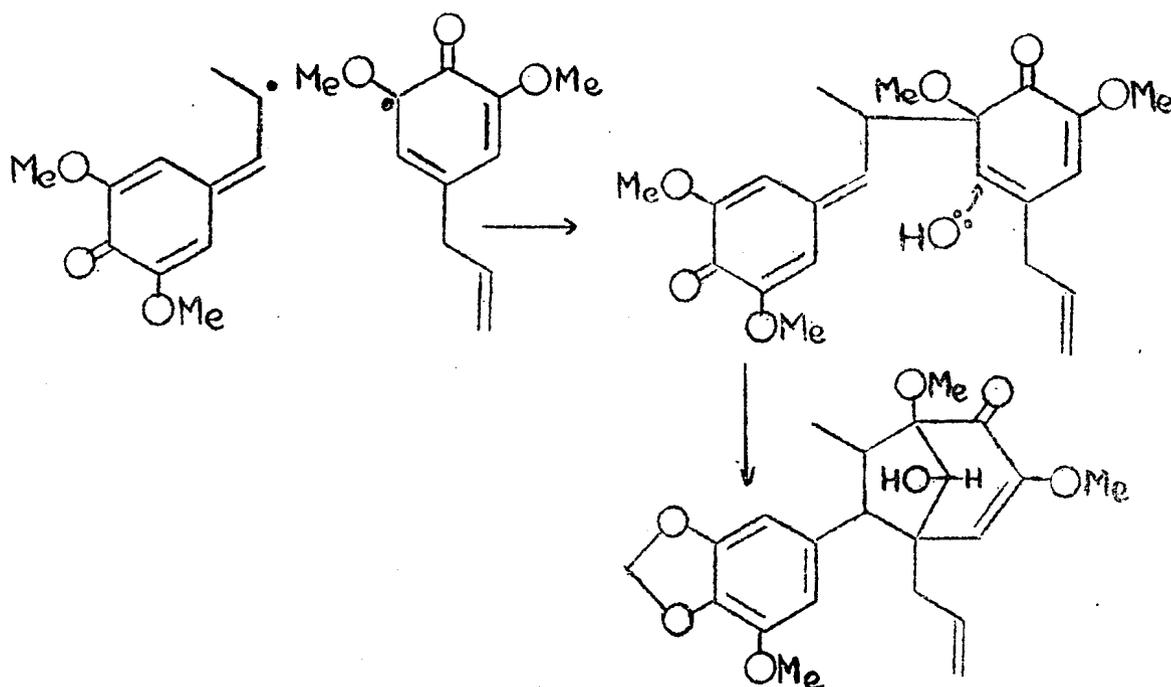
O caminho biossintético até a eusiderina, segundo a interpretação mecanística dada por Erdtman (34), é visto por Gotlieb (35) da seguinte maneira:



Com relação a macrofilina, seguindo um raciocínio análogo, consegue-se justificar convenientemente a biossíntese de uma substância tão complexa :



A notar, no entanto, que a estrutura alternativa pode ser justificada por um processo idêntico:



RESUMO

Das folhas de um exemplar de Eugenia biflora (L.) DC. e de outro de Myrcia citrifolia (Aubl.) Urb., provenientes das matas de Val-de-Cães em Belém do Pará e margem da estrada Manaus Itacoatiara, km 27, Manaus Amazonas, respectivamente, foram isolados β -amirina e eucaliptina (5-hidroxi-4',7-dimetoxi-6,8-dimetilflavona).

De um exemplar de Licaria puchury-major (Mart.) Kosterman, cultivado no km 14 da estrada Manaus-Itacoatiara, em Manaus Amazonas, obteve-se um galho de grande porte. Do seu lenho foram isolados, além do sitosterol, eugenol, safrol, aldeído 3,4-metilenodioxicinâmico e aldeído siríngico (4-hidroxi-3,5-dimetoxibenaldeído), uma substância inédita como produto natural, o álcool 3,4-metilenodioxicinâmílico. As estruturas destas substâncias foram determinadas por aplicação de métodos físicos (espectométricos) e preparação de derivados. A síntese do álcool 3,4-metilenodioxicinâmílico foi realizada por bromação alílica do isosafrol e hidrólise do produto bruto da reação.

De um exemplar de Licaria macrophylla (A.C. Smith) Kosterman, coletado na Reserva Florestal Ducke do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, em Manaus Amazonas, foram isolados, além do sitosterol e de dois alcoois sesquiterpênicos não identificados, uma nova substância, macrofilina (1-alil-8-hidroxi-3,5-dimetoxi-7-metil-4-oxo-6-(3',4'-metilenodioxi-5'-metoxifenil)-bicyclo[3,2,1]oct-2-eno), pertencente a uma nova classe de compostos orgânicos, designados neolignanais.

De um exemplar de Licaria aurea (Huber) Kosterman, coletado na Reserva Florestal Ducke do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, em Manaus Amazonas, foram isoladas duas neo-

lignanas, aureina (contendo os grupos funcionais representados no Quadro 3) e eusiderina (2-(3',4',5'-trimetoxifenil)-3-metil-7-alil-9-metoxibenzodioxano), esta última isolada previamente de outra espécie de Laurácea, Eusideroxylon zwageri T. et B., que ocorre na Indonésia.

São muito poucas as neolignanas conhecidas. Em sua maioria foram obtidas por pesquisadores de nosso grupo. Para explicar a sua biossíntese torna-se necessário postular caminhos que constituem variantes dos caminhos aceitos para a formação de lignanas. Uma destas variantes é adotada no intuito de racionalizar a biogênese da macrofilina na natureza.

BIBLIOGRAFIA

1. Raven, P.H., Berlin, B. e Breedlove, D.E. (1971) *Science* 174, 1210.
2. Braz Filho, R. (1971) Tese de Doutorado, Escola de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, p. 13.
3. Horn, D.H.S., Kranz, Z.H. e Lamberton, J.A. (1964) *Austral. J. Chem.* 17, 464.
4. Jain, A.C., Sarpel, P.D. e Seshadri, T.R. (1966) *Indian J. Chem.* 4, 481; (1967) *Chem. Abstr.* 66, 94881.
5. Elsevier's Encyclopaedia of Organic Chemistry (1952) 14, 528, 529 e 1067, Elsevier Publishing Co. Inc., New York 1940.
6. Martius, C.P.F. de (1866-1868) "Flora Brasiliensis Enumeratio Plantarum in Brasilia" V, parte 2, p.265, Monachii.
7. Mors, W.B. e Rizzini, C.T. (1966) "Useful Plants of Brazil" p.65, Holden-Day, Inc., San Francisco.
8. Robes (1800) *Berl. Jahrb. d. Pharm.* 5,6; Gildemeister E., Hoffmann F. (1916) "The Volatile Oils", II, John Wiley & Sons, New York.
9. Bonastre (1825) *Berl. Jahrb. d. Pharm.* 37, 160; Gildemeister, E. e Hoffmann, F. (1916) "The Volatile Oils" II, John Wiley & Sons, New York.
10. Müller, A. (1853) *Journ. f. prakt. Chem.* 58, 463.
11. Roure-Bertrand *Fils Bul.* (1920) p.35, april; (1920) *Chem. Abstr.* 14, 3753.
12. Gottlieb, O.R. (1956) *Boletim do Instituto de Química Agrícola*, nº 43, 14.

13. Seabra, A.P., Guimarães, E.C. e Mors, W.B. (1967) Anais Assoc. brasil. Quím. 26, 73.
14. Scott, A.I. (1964) "Ultraviolet Spectra of Natural Products" p. 109, Pergamon Press Ltd., Grã-Bretanha.
15. Ikeda, T., Takeda, S., Nakama, H. e Yokohara, T. (1940) J. Chem. Soc. Japan 61, 583.
16. Hölke, M. e Hänsel, R. (1972) Arch. Pharm. 305, 33.
17. Gottlieb, O.R. (1968) "Introdução à Espectrometria de Ressonância Magnética Protônica p. 47, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
18. Pearl, I.A. (1948) J. Am. Chem. Soc. 70, 1746.
19. Patterson, R.F. e Hibbert, H. (1943) J. Am. Chem. Soc. 65, 1862.
20. Pauly, H., Schmidt, H. e Böhme, E. (1924) Ber. 57, 1327.
21. Aragão Craveiro, A. (1969) Tese de Mestrado, Escola de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, p. 19.
22. Smith, A.C. (1931) Bull. Torrey Bot. Cl. 58, 101.
23. Von Bollow, M.V., Franca, N.C., Gottlieb, O.R. e Puentes Suarez, A.M. (1973) Phytochemistry 12, 000.
24. Pio Corrêa, M. (1952) "Dicionário das Plantas Úteis do Brasil" III, 292, Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.
25. Hobbs, J.J. e King, F.E. (1960) J. Chem. Soc. 4732.
26. Karrer, W. (1958) Konstitution und Vorkommen der Organischen Naturstoffe, Birkhäuser Verlag, Basel.
27. Birch, A.J. (1963) " Chemical Plant Taxonomy" p. 143, Editor Swain, T., Academic Press, Londres.

28. Canonica, L., Manitto, P., Monti, D. e Sanchez A., M. (1971) Chem. Comm. 18, 1008.
29. Carnmalm, B. (1956) Acta Chem. Scand. 10, 134.
30. Crossley, N.S. e Djerassi, C. (1962) J. Chem. Soc. 1459.
31. Aiba, C.J., Campos Corrêa, R.G. e Gottlieb, O.R. (1973) Phytochemistry 12, 000.
32. Araujo Lima, O., Gottlieb, O.R. e Taveira Megalhães, M. (1972) Phytochemistry 11, 2031.
33. Aiba, C.J., Braz Filho, R. e Gottlieb, O.R. (1973) Phytochemistry 12, 413.
34. Erdtman, H. (1933) Biochem. Z. 258, 177; (1933) Liebig's Ann. Chem. 503, 283.
35. Gottlieb, O.R. (1971) "Chemosystematics of the Lauraceae" p. 30, Instituto de Química, Universidade de São Paulo.