MARIA JOSÉ TEIXEIRA GUEDES GONZÁLEZ

Licenciada em Ciências Farmacêuticas (UP)

ESTUDO DE COMPOSTOS DE ORIGEM VEGETAL COM POTENCIAL ACTIVIDADE BIOLÓGICA E OBTENÇÃO DE DERIVADOS

FACULDADE DE FARMÁCIA

PORTO - 1995

MARIA JOSÉ TEIXEIRA GUEDES GONZÁLEZ

Assistente da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Estudo de Compostos de Origem Vegetal com Potencial Actividade Biológica e Obtenção de Derivados

FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

1995

DISSERTAÇÃO DE CANDIDATURA AO GRAU DE DOUTOR APRESENTADA À FACULDADE DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

ORIENTADOR:

Professor Doutor Anake Kijjoa

CO-ORIENTADOR:

Professora Doutora Madalena Maria de Magalhães Pinto.

Ao

Pepe, Raquel e Joana

Pelo seu amor, carinho e compreensão

A

meus Pais e Irmãos

À memória do
Professor Doutor Joaquim Polónia.

Tudo o que pudesse dizer ficaria muito aquém do que lhe devo como pessoa e como investigadora.

Este trabalho está incluído no Projecto de Investigação 1A-Química de Produtos Naturais do Centro de Estudos de Química Orgânica, Fitoquímica e Farmacologia da Universidade do Porto (apoio financeiro do Instituto Nacional de Investigação Científica e Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica).

Parte do trabalho foi apresentado nas comunicações e pulicações seguintes:

. Maria José T. G. González, Madalena M. M. Pinto and Anake Kijjoa, "Anacardic Acid derivative and Cardanols from *Knema elegans* Pierre", XII Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Química, Coimbra de 10 a 13 de Março, 1991.

. Maria José T. G. González, Madalena M. M. Pinto and Anake Kijjoa, "New Acetophenone and Cardanols from *Knema elegans* Pierre", no Seventh European Symposium on Organic Chemistry, Namur, Bélgica, 15 a 19 de Julho, 1991.

. Anake Kijjoa, Maria José T. G. González, Madalena M. M. Pinto, Ing-On-Monanondra and Werner Herz (1991), "Chemical Constituents of *Knema Laurina* and *Knema tenuinervia* ssp. *setosa* " ***Planta Med.*** **57**, 575-577.

. Maria José T. G. González, Madalena M. M. Pinto and Anake Kijjoa, "Flavan and Anacardic Acid derivatives from *Knema laurina*", no XIII Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Química, Lisboa, 29 de Janeiro a 1 de Fevereiro, 1992.

. Paulo M. M. Pinho, Maria José T. G. González, Madalena M. M. Pinto and Anake Kijjoa, "2,6-Diaryl-3,7-Dioxabicyclo [3.3.0] octane Lignans from *Paulownia taiwaniana* and *Knema austrosiamensis*" no XIII Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Química, Lisboa, 29 de Janeiro a 1 de Fevereiro, 1992.

. Maria José T.G.González, Anake Kijjoa, Madalena M. M. Pinto and Choojit Anantachoke, " Lignans and Diarylpropanoids from *Knema austrosiamensis*", no 18th IUPAC Symposium on the Chemistry of Natural Products, Estrasburgo, França, 30 Agosto a 4 de Setembro, 1992.

. Maria José T. G. González, Madalena M. M. Pinto, Anake Kijjoa, Choojit Anantachoke and Werner Herz (1992), "Stilbenes and others constituents of *Knema austrosiamensis*", ***Phytochemistry*** **32** , 433-437.

. Maria José T.G.González, Carlos J. Queiróz de Oliveira, Madalena M. M. Pinto and Anake Kijjoa, "Acylresorcinols and Acylphloroglucinols from *Knema austrosiamensis*", no XIV Encontro Anual da Sociedade Portuguesa de Química, Aveiro, 5 a 8 de Abril, 1994.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Anake Kijjoa, supervisor desta tese, o meu agradecimento pela valiosa orientação científica e pelos permanentes ensinamentos, incentivo e amizade demonstrada durante a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Madalena Pinto o meu especial agradecimento. A ela devo o entusiasmo pelo trabalho na área dos Produtos Naturais, e o contínuo incentivo na procura de novos conhecimentos. Os muitos anos de trabalho em conjunto foram sempre estimulantes e de grande amizade.

Agradeço ainda:

Aos colegas do Laboratório de Química Orgânica, principalmente aos que mais de perto seguiram o meu trabalho, e de quem sempre senti apoio e colaboração.

Ao Doutor Carlos Queiróz de Oliveira pela realização dos espectros de massa e pela valiosa colaboração na sua interpretação.

À Professora Doutora Margarida Ferreira pela cedência do aparelho de Cromatografia gasosa-Espectrometria de massa e ao colega José Fernandes a disponibilidade demonstrada na obtenção dos cromatogramas.

Ao Engenheiro Rui Pinto, chefe do Serviço de Iconografia, toda a colaboração prestada.

A todos os Técnicos e Auxiliares do Laboratório de Química Orgânica, em especial ao Senhor Ananias e Senhora Isabel, que me acompanharam ao longo destes anos e de quem sempre recebi uma grande amizade.

À Professora Doutora Ing-on Mondranondra, Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand e Doutora Choojit Anantachoke, Forest Products Research Division, Royal Forest Department, Bangkok, Thailand, pela cedência dos extratos e classificação das plantas.

Ao Professor Doutor Werner Herz do Departamento de Química, da Universidade da Flórida, Tallahassee, Florida, EUA, pela colaboração e obtenção de espectros de RMN de ^{1}H de 500 MHz, dos espectros de Massa de Ionização Química e pela valiosa discussão do trabalho.

Aos colegas Salete, Rui, João e Agostinho do Laboratório de Química-Fisica, pela pronta disponibilidade com que sempre atenderam os meus pedidos.

A todos os Amigos que sempre me apoiaram com as suas palavras sábias nos momentos mais difíceis.

RESUMO

Procedeu-se ao estudo químico dos constituintes de duas espécies de *Knema* da família de *Myristicaceae*.

Do extracto clorofórmico de *Knema laurina* Warb. isolaram-se sete constituintes químicos, cinco pertencentes a derivados dos ácidos anacárdicos: 3-(12-fenil-8*Z*-dodecenil)-fenol, 5-(12-fenil-8*Z*-dodecenil)-resorcinol, ácido 2-hidroxi-6-(12-fenildodecil)-benzóico, ácido 2-hidroxi-6-(10-fenildecil)-benzóico, ácido-2-hidroxi-6-(8Z-pentadecenil)-benzóico, uma acetofenona, 2,4-diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona e uma flavana, (-)-7-hidroxi-3',4'-metilenodioxiflavana.

Do extracto clorofórmico de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. isolaram-se quatro alquilresorcinóis: 1-(2,6-diidroxifenil)-9*Z*-tetradecen-1-ona, 1-(2,6-diidroxifenil)-tetradecan-1-ona, 1-(2,6-diidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona, 1-(2,6-diidroxifenil)-dodecan-1-ona, quatro alquillfloroglucinóis: 1-(2,4,6-triidroxifenil)-9*Z*-tetradecen-1-ona, 1-(2,4,6-triidroxifenil)-tetradecan-1-ona, 1-(2,4,6-triidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona, 1-(2,4,6-triidroxifenil)-dodecan-1-ona, dois lignanos: (+)-2,6-*Bis*-(3,4-metilenodioxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano, (+)-2-(3,4-metilenodioxifenil)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano, um diarilpropano, 1-(4-hidroxi-2-metoxifenil)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-propano, uma flavana, 7,4'-diidroxi-3'-metoxiflavana, e dois estilbenos: 4',5-dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno e 3,5- diidroxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno.

Todas as estruturas foram estabelecidas por métodos espectroscópicos e por métodos químicos, através da obtenção de derivados acetilados . A localização das ligações duplas foi determinada após obtenção de derivados tiometilados, seguidos de análise por cromatografia gasosa-espectrometria de massa.

De salientar que a estrutura do diarilpropano foi confirmada por expreriências de NOE.

Os compostos 3-(12-fenil-8*Z*-dodecenil)-fenol, 2,4-diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona e 4',5-dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno são descritos pela primeira vez.

ABSTRACT

This thesis reports a chemical investigation of *Knema laurina* Warb. and *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. (Myristicaceae). Seven compounds have been isolated from the chloroform extract of the bark of *Knema laurina* Warb., five of which are anacardic acid derivatives: 3-(12-phenyl-8Z-dodecenyl)-phenol, 5-(12-phenyl-8Z-dodecenyl)-resorcinol, 2-hydroxy-6-(10-phenyldecyl)-benzoic acid, 2-hydroxy-6-(12-phenyldodecyl)-benzoic acid, 2-hydroxy-6-(8Z-pentadecenyl)-benzoic acid, one acetophenone, 2,4-dihydroxy-6-(10-phenyldecyl)-acetophenone and one flavan, (-)-7-hydroxy-3',4'-methylenedioxyflavan.

The chloroform extract of the bark of *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. furnished, besides, four alkylresorcinols: 1-(2,6-dihydroxyphenyl)-9Z-tetradecen-1-one, 1-(2,6-dihydroxyphenyl)-tetradecan-1-one, 1-(2,6-dihydroxyphenyl)-9-phenylnonan-1-one, 1-(2,6-dihydroxyphenyl)-dodecan-1-one and four alkylphloroglucinols: 1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-9Z-tetradecen-1-one, 1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-tetradecan-1-one, 1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-9-phenylnonan-1-one, 1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-dodecan-1-one and two lignans: (+)-2,6-*Bis*-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0]-octane, (+)-2-(3,4-methylenedioxyphenyl)-6-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0]-octane, one flavan, 7,4'-dihydroxy-3'-methoxyflavan, one diarylpropane, 1-(4-hydroxy-2-methoxyphenyl)-3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-propane and two stilbenes, 4',5-dimethoxy-3-hydroxy-*trans*-stilbene and 3,5-dihydroxy-4'-methoxy-*trans*-stilbene.

Isolated for the first time are: 3-(12-phenyl-8Z-dodecenyl)-phenol, 2,4-dihydroxy-6-(10-phenyldecyl)-acetophenone and 4',5-dimethoxy-3-hydroxy *trans*-stilbene.

Spectroscopic methods and chemical modification, particularly acetylation, are used for structure elucidation of the constituents. While tiomethylation and GC-MS were used for determination of the double bond positions of the side chain of some derivatives of anacardic acid, resorcinol and phloroglucinol, the NOE experiments of diarylpropane were performed to establish the positions of hydroxyl and methoxyl groups in the benzene rings.

RESUMÉ

On présente l' étude chimique des composés présents dans deux éspèces de *Knema* de la famille *Myristicaceae*.

Sept composés ont été isolés de l' extract chloroformique de *Knema laurina* Warb., cinq dérivés des acides anacardiques: 3-(12-phényl-8*Z*-dodecenyl)-phénol, 5-(12-phényl-8*Z*-dodecenyl)-resorcinol, acide 2-hydroxy-6-(12-phényldodecyl)-benzoique, acide 2-hydroxy-6-(10-phényldecyl)-benzoique, acide-2-hydroxy-6-(8*Z*-pentadecenyl)-benzoique, une acétophénone, 2,4-dihydroxy-6-(10-phényldecyl)-acétophénone e une flavane, (-)-7-hydroxy-3',4'-methylenedioxyflavane.

De l' extract chloroformique de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. on été isolés quatre composés alkylresorcinols: 1-(2,6-dihydroxyphényl)-9*Z*-tetradecen-1-one , 1-(2,6-dihydroxyphényl)-tetradecan-1-one, 1-(2,6-dihydroxyphényl)-9-phénylnonan-1-one, 1-(2,4-dihydroxyphényl)-dodecan-1-one, quatre alkylphloroglucinols: 1-(2,4,6-trihydroxyphényl)-9*Z*-tetradecen-1-one, 1-(2,4,6-trihydroxyphényl)-tetradecan-1-one, 1-(2,4,6-trihydroxyphényl)-9-phénylnonan-1-one, 1-(2,4,6-trihydroxyphényl)-dodecan-1-one, deux lignanes: (+)-*Bis*-(3,4-methylenedioxyphényl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0]-octane, (+)-2-(3,4-methylenedioxyphényl)-6-(4-hydroxy-3-methoxyphényl)-3,7-dioxabicyclo [3.3.0]-octane, un diarylpropane, 1-(4-hydroxy-2-methoxyphényl)-3-(3-hydroxy-4-methoxyphényl)-propane, une flavane, 7,4'-dihydroxy-3'-methoxyflavane, e deux stilbenes: 4',5-dimethoxy-3-hydroxy-*trans*-stilbene et 3,5- dihydroxy-4'-methoxy-*trans*-stilbene.

Tous les structures ont été etablies par méthodes spéctroscopiques et chimiques, en obtention de derivés acetylés. La position des doubles liaisions a été mis en evidence par thiomethylation suivies d' analyses par chromatographie gaseuse-spectrometrie de masse. La structure du diarylpropane a été confirmé par NOE.

Les composés 3-(12-phényl-8*Z*-dodecenyl)-phénol, 2,4-dihydroxy-6-(10-phényldecyl)-acétophenone et 4',5-dimethoxy-3-hydroxy-*trans*-stilbene sont rapportés par la primiére fois.

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ac_2O	Anidrido acético
CC	Cromatografia em Coluna
CCF	Cromatografia em Camada Fina
CCFP	Cromatografia em Camada Fina Preparativa
$CDCl_3$:	Clorofórmio deuterado
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada com espectrometria de massa
COSY	Correlated Spectroscopy
DEPT	"Distortionless Enhancement by Polarization Transfer"
DMSO-d6	Dimetilsulfóxido deuterado
D_2O	Água deuterada
EM	Espectrometria de massa
EM-IE	Espectrometria de massa de impacto electónico
Fig.	Figura
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Resolução
HPTLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Camada Fina
IV	Infravermelho
int. rel.	Intensidade relativa
M^+	Ião molecular
m/e	Relação massa carga
NOE	Efeito Nuclear Overhauser
pág.	Página
ppm	Partes por milhão
PF	Ponto de Fusão
Py	Piridina
RMN de ^1H	Ressonância magnética nuclear de protão
RMN de ^{13}C	Ressonância magnética nuclear de carbono treze
RMN de ^{13}C BB	Ressonância magnética nuclear de carbono treze com desacoplamento de banda larga por ruído modulador ("Broad Band decoupling")

RMN-2D	Ressonância Magnética Nuclear Bidimensional
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
u.a.m.	Unidades de massa atómica
$[\alpha]_D$	Poder rotatório específico
J	Constante de acoplamento em Hz
δ	Deslocamento químico em ppm
s	Singuleto
sl	Singuleto largo
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo duplo dupleto
m	Multipleto
t	Tripleto
ε	Coeficiente de extinção molar
λ	Comprimento de onda em nanómetros
$\bar{\nu}$	Número de onda em cm

ÍNDICE

1.- **Introdução e objectivos** 2

2.- **Actividade biológica** 13

2.1.- Ácidos anacárdicos, cardóis e cardanóis 13

2.1.1.- Actividade moluscicida 14

2.1.2.- Actividade antibacteriana 15

2.1.3.- Actividade antitumoral 16

2.2.- Estilbenos 16

3.2.1.- Actividade antifúngica 17

2.3.- Lignanos 18

2.3.1.- Interação planta-planta 19

2.3.2.- Interação planta-insecto 20

2.3.3.- Interação planta-fungo 23

2.3.4.- Actividade antitumoral 24

2.3.5.- Lignanos no Reino Animal 24

3.- **Constituintes químicos isolados de *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.** 28

3.1.- *Knema laurina* Warb. 28

3.2.- *Knema austrosiamensis* W.J.J.O.de Wilde. 30

4.- **Considerações biogenéticas sobre os compostos isolados de *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.** 37

4.1.- Compostos formados por ciclização da cadeia poliacetato 37

4.1.1.- Ácido anacárdico **(5)** 37

4.2.2.- Acilresorcinóis e acilfloroglucinóis. **(Compostos 18-19, 21-23 e 25)** 37

4.2.- Compostos derivados de fenilpropanóides 40

4.2.1.- Arilacilresorcinóis e arilacilfloroglucinóis **(Compostos 20 e 24)** 40

4.2.2.- Derivados arílicos dos ácidos anacárdicos, cardóis e cardanóis 40

4.2.3.- Acetofenona **(Composto 6)** 43

4.2.4.- Estilbenos, flavanas e 1,3-diarilpropanos **(Compostos 7 e 28-31)** 44

4.3.- Lignanos **(Compostos 26 e 27)** 44

5- Resultados e discussão 49

5.1.- Parte A: Determinação estrutural dos constituintes químicos e derivados de *Knema laurina* Warb. 49

5.1.1.- 3-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-fenol **(1)** 49

- Tiometilação 56

- Introdução 56

- Tiometilação do composto **1** 59

5.1.2.- 5-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-resorcinol **(2)** 60

-Tiometilação do composto **2** 63

5.1.3.- Derivados dos ácidos anacárdicos **(3, 4, 5)** 65

5.1.3.1.- Ácido 2-hidroxi-6-(10-fenildecil)-benzóico **(3)** 65

5.1.3.2.- Ácido 2-hidroxi-6-(12-fenildodecil)-benzóico **(4.)** 69

5.1.3.3.- Ácido 2-hidroxi-6-(8Z-pentadecenil)-benzóico **(5)** 72

- Tiometilação do composto **5** 77

5.1.4.- 2,4-Diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona **(6)** 79

5.1.5.- (-)-7-Hidroxi-3',4'-metilenodioxiflavana **(7)** 85

5.2.- Parte B: Determinação estrutural dos constituintes químicos e derivados de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. 94

5.2.1.- Acilresorcinóis **(18, 19, 20 e 21)** 94

5.2.1.1.- 1-(2,6-Diidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona **(18)** 95

- Tiometilação do composto **18** 101

5.2.1.2.- 1-(2,6-Diidroxifenil)-tetradecan-1-ona **(19)** 102

5.2.1.3.- 1-(2,6-Diidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona **(20)** 103

5.2.1.4.- 1-(2,6-Diidroxifenil)-dodecan-1-ona **(21)** 105

5.2.2.- Acilfloroglucinóis **(22, 23, 24 e 25)** 106

5.2.2.1.- 1-(2,4,6 Triidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona **(22)** 107

- Tiometilação do composto **22** 109

5.2.2.2.- 1-(2,4,6 Triidroxifenil)-tetradecan-1-ona **(23)** 110

5.2.2.3.- 1-(2,4,6 Triidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona **(24)** 111

5.2.2.4.- 1-(2,4,6 Triidroxifenil)-dodecan-1-ona **(25)** 112

5.2.3.- (+)-2,6-*Bis*-(3,4-metilenodioxifenil)-3,7-dioxabiciclo-[3.3.0]-octano **(26)** 114

5.2.4.- (+)-2-(3,4-Metilenodioxifenil)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxabiciclo-[3.3.0]-octano **(27)** 119

5.2.5.- 7,4'-Diidroxi-3'-metoxiflavana **(28)** 126

5.2.6.- 1-(4-Hidroxi-2-metoxifenil)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-propano **(29)** 132

5.2.7.- 4',5-Dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno **(30)** 139

5.2.8.- 3,5-Diidroxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno **(31)** 144

6- **Parte experimental: Métodos gerais da Parte A e Parte B** 149
- Instrumentos e materiais usados 149
6.1.- Parte A: Experimental de *Knema laurina* Warb. 153
6.1.1.- Extracção e isolamento dos constituintes químicos de *Knema laurina* Warb. 153
6.1.2.- Acetilação dos compostos isolados 156
6.1.2.1.- Acetilação do composto **2** 156
6.1.2.2.- Acetilação do composto **6** 157
6.1.2.3.- Acetilação do composto **7** 157
6.1.3.-Tiometilação dos compostos **1** ,**2** e **5** 157
6.1.3.1.-Formação de dimetiltioéteres 157
6.1.3.2.- Cromatografia gasosa-espectrometria de massa 158
6.1.4.- Dados físicos e espectroscópicos dos constituintes químicos de *Knema laurina* Warb. 159
6.2.- Parte B: Experimental de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. 170
6.2.1- Extracção e isolamento dos constituintes químicos de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. 170
6.2.2.- Acetilação dos compostos isolados 176
6.2.2.1.- Acetilação do composto **18** 176
6.2.2.2.- Acetilação do composto **22** 176
6.2.2.3.- Acetilação do composto **27** 177
6.2.2.4.- Acetilação do composto **28** 177
6.2.2.5.- Acetilação do composto **29** 177
6.2.2.6.- Acetilação do composto **30** 177
6.2.2.7.- Acetilação do composto **31** 178
6.2.3.-Tiometilação dos compostos **18**, **22** 178
6.2.3.1.- Formação de dimetiltioéteres 178
6.2.3.2.- Cromatografia gasosa-espectrometria de massa 178
6.2.4.- Dados físicos e espectroscópicos dos constituintes químicos de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde. 179
7.- **Bibliografia** 195

INTRODUÇÃO E OBJECTIVOS

1. Introdução e objectivos

Um dos principais ramos da Química Farmacêutica, nomeadamente na sua componente de Química Orgânica, corresponde à procura da diversidade molecular a partir de fontes vegetais. A diversidade molecular, tão útil na procura de compostos com actividade biológica interessante, poderá derivar fundamentalmente de duas origens: síntese ou sistemas biológicos [1, 2]. Se à primeira corresponde um número ilimitado de combinações, a segunda encontra-se limitada pelos blocos construtores disponíveis para biossíntese. De qualquer forma, a diversidade molecular correspondente às estruturas de metabolitos secundários, até agora isolados, é extremamente rica e variada.

As aplicações desses compostos são bastante diversas mas, para efeitos de organização, poderão agrupar-se em quatro grupos fundamentais (Fig. 1) [2]:

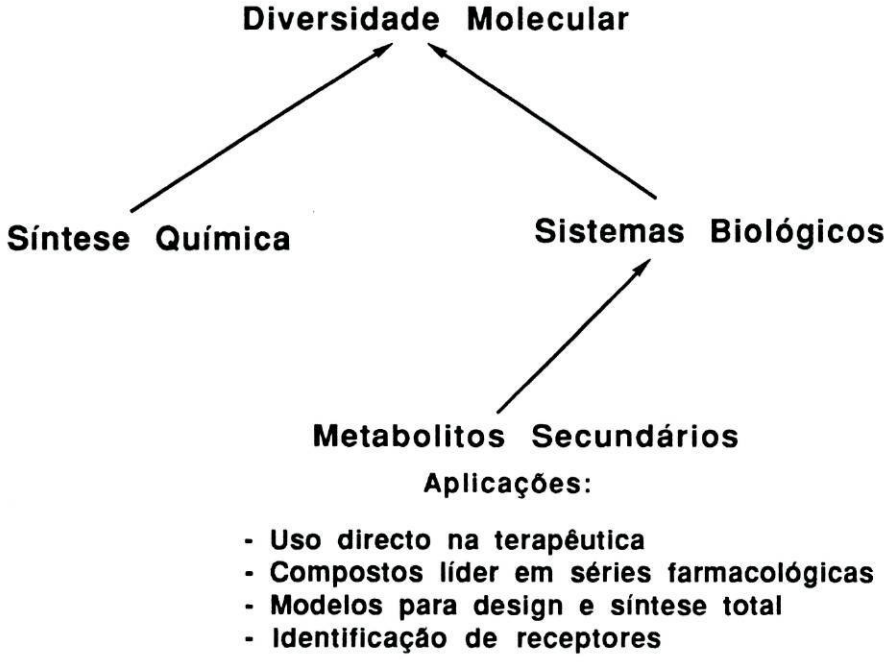


Fig. 1- Génese da diversidade molecular.

- **Uso directo na terapêutica**: Exemplos clássicos são os alcalóides, como a morfina de *Papaver somniferum* e quinino de *Cinchona*, usados como analgésico e antimalárico respectivamente, e vinblastina e vincristina, isoladas de *Catharanthus roseus* G. Don., utilizadas como antimitóticos [3]. Também o taxol, um produto natural complexo, isolado da madeira de *Taxus brevifolia* [4], e de outras espécies [5,6] que emergiu dos programas de screening de produtos naturais com actividade antitumoral. O taxol exibe potentes propriedades antileucémicas e antitumorais [7] e corresponde ao primeiro composto com o núcleo do taxano [8] que demonstrou possuir estas actividades. Actualmente este composto é utilizado no tratamento de certos tipos de cancro resistentes à cisplatina [9,10,11]. Muitos outros exemplos se podem encontrar mas a sua enumeração tornar-se-ia fastidiosa neste momento.

-**Compostos líder em séries farmacológicas**: são muitos os exemplos de compostos líder, como seja a castanospermina isolada das sementes de *Castanospermum australe* A. Cunn. et Fras. [12]. É um potente inibidor da β-glucosidase, β-glucocerebrosinase e α– e β–glucosidases lisosomais [13], bem como um inibidor da replicação do HIV [14]. Embora a alta toxicidade da castanospermina impeça o seu uso na terapêutica, é sem dúvida um composto líder permitindo a obtenção de derivados menos tóxicos e com uma actividade mais específica [15].

A malária é ainda uma das mais importantes doenças tropicais estimando-se em aproximadamente 200 milhões o número de casos de ocorrência anual. Um dos principais problemas desta doença é a resistência às drogas apresentada pelas diferentes estirpes de *Plasmodium*, o que dificulta o seu tratamento. Em 1972 foi isolada uma droga antimalárica de origem natural, a artemisinina (*Artemisia annua* L.) [16]. Este composto, uma sesquiterpenolactona, corresponde a uma nova classe química de compostos antimaláricos activos contra estirpes de *Plasmodium* resistente a todos os antimaláricos conhecidos. No entanto, devido à natureza altamente

lipofílica da artemisinina, há alguns problemas com a sua utilização na terapêutica, tendo-se sintetizado uma série de derivados [17].

- **Modelos para design e síntese total**: Um exemplo interessante integrado neste grupo, corresponde aos morfinanos obtidos por simplificação molecular da morfina [18].

- **Identificação de receptores**: um dos objectivos mais interessantes no uso de produtos naturais, particularmente de plantas superiores, tem sido o seu emprego na identificação de receptores em sistemas de mamíferos e o seu uso na investigação das funções fisiológicas/patológicas de drogas alvo [19].

Como exemplos clássicos deste importante papel desempenhado pelos metabolitos secundários das plantas referem-se os alcalóides, como a nicotina, a fisostigmina e o curare, na investigação extensiva dos receptores nicotínico e muscarínico, da pilocarpina e dos alcalóides do tropano no receptor muscarínico [20].

Quando um neurotransmissor, hormona ou droga, se liga ao receptor da superfície celular, induz uma série de passos que resultam no transporte da informação para o interior da célula, iniciando uma resposta fisiológica ou farmacológica [19]. A identificação de potenciais drogas alvo corresponde ao primeiro passo em programas de desenvolvimento de drogas e, normalmente, é seguido por computador, modelizando o agonista, a proteína receptora e finalmente o potencial antagonista.

A procura da diversidade molecular a partir de fontes vegetais implica a selecção de espécies de plantas. Esta selecção é obviamente um facto crucial para o sucesso da investigação e pode ser feita basicamente através de quatro aproximações [21]:

- ao acaso - em que todas as plantas são colhidas independentemente de conhecimentos anteriores sobre elas.

- taxonómica - baseia-se num conhecimento prévio de que um dado género ou família, contém compostos supostamente com interesse.

- etnofarmacológica - a recolha é baseada no conhecimento dessas plantas como sendo ou tendo sido usadas com fins medicinais pelas populações, e com base nessas informações, a planta é colhida e analisada.

- fitoquímica- compreende o estudo de um determinado tipo particular de compostos com interesse biológico, por exemplo, os alcalóides. Neste caso, localiza-se uma família, um gênero ou uma espécie de acordo com a bibliografia, e comprova-se a sua existência mediante ensaios químicos em diferentes partes da planta e, se necessário, em plantas com diferentes idades. [22].

O reino das plantas representa um enorme reservatório para a descoberta de novas moléculas. O potencial de plantas superiores como fonte de novas drogas está ainda por explorar. Entre as aproximadamente 250000 espécies de Angiospermas, 155000 encontram-se nos trópicos [23] e destas 250000, só uma percentagem relativamente pequena foi investigada até 1985. Foram isolados 120 agentes terapêuticos de estrutura conhecida, sendo 74 % deste número baseado em registos etnofarmacológicos [24].

Para se atingir o objectivo do estudo desses metabolitos, o caminho que envolve a escolha das plantas a utilizar - até aos estudos estruturais e de actividade - implica a colaboração interdisciplinar e multidisciplinar entre botânicos, fitoquímicos, químicos orgânicos, farmacologistas, toxicologistas e biólogos ligados à biologia molecular [2].

Esta tarefa poderá envolver várias etapas como se esquematiza na fig. 2, pag. 6 [2,15].

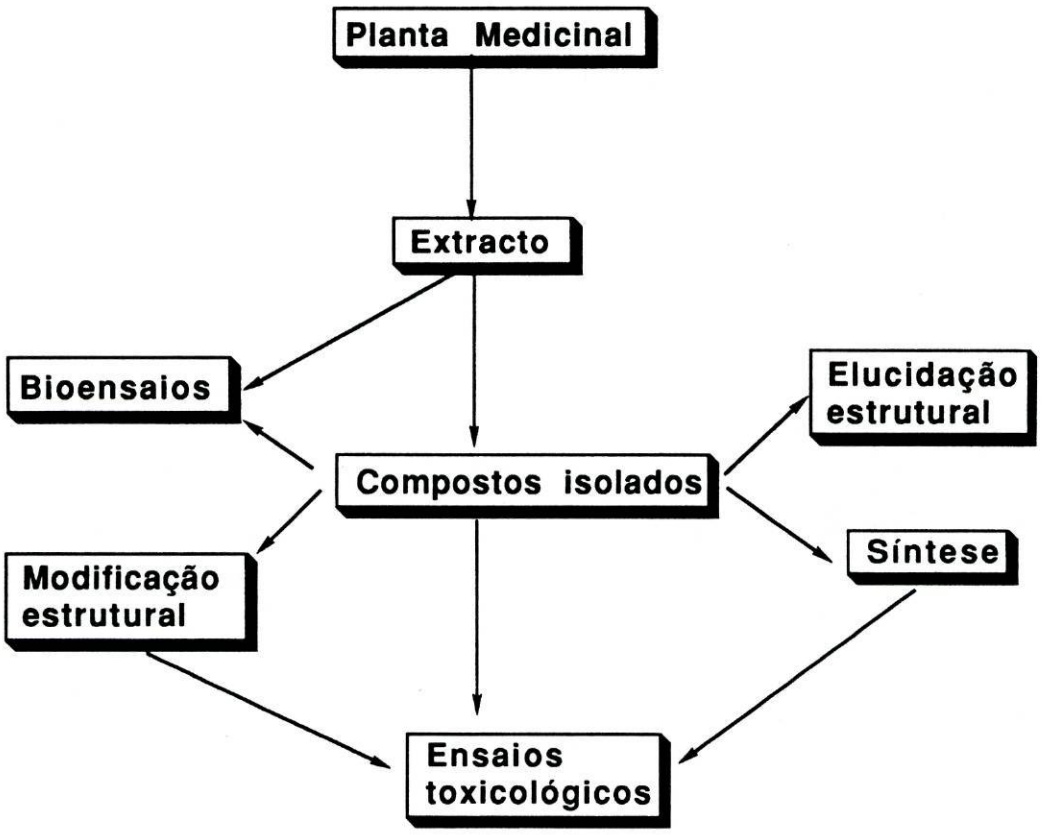


Fig. 2 - Esquema geral da metodologia usada na obtenção de princípios activos e fontes vegetais.

O procedimento global implicará assim:

- recolha, identificação botânica e secagem do material.
- preparação apropriada dos extractos e análises preliminares (por exemplo, por várias técnicas cromatográficas).
- screenings biológicos e farmacológicos dos extractos.
- separações cromatográficas e correspondente bioensaio de cada fracção.
- verificação da pureza dos compostos isolados.
- elucidação estrutural por métodos químicos e físico-químicos.

- preparação de derivados/análogos para a determinação da relação estrutura-actividade.
- isolamento em larga escala, síntese parcial ou total, para posteriores testes biológicos e toxicológicos.

Tendo em conta o enquadramento descrito, o nosso trabalho permitiu manipular e aperfeiçoar várias técnicas analíticas necessárias à extracção, isolamento e purificação dos metabolitos secundários, bem como aprofundar os vários conhecimentos dos vários métodos químicos e ou físico-químicos conducentes à elucidação estrutural. Por fim, contribuir para o estudo da diversidade molecular das plantas, assim como enriquecer o arsenal químico, farmacológico e taxonómico com novos produtos naturais ou descritos pela primeira vez numa dada espécie.

As plantas estudadas pertencem à família *Myristicaceae* e, das aproximadamente 60 espécies do gênero *Knema* situadas a Sudeste da Ásia, 12 são endémicas na Tailândia sendo conhecidas pelos seus nomes comuns, como sangue de búfalo ou sangue de cavalo, devido à sua resina vermelha escura. O presente estudo incidiu sobre *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

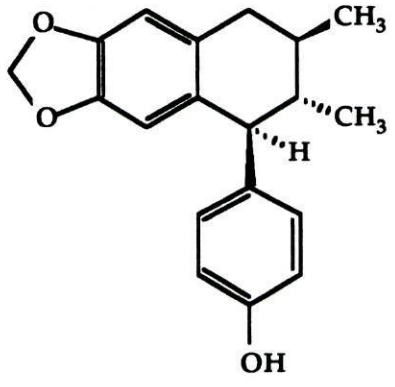
No início do nosso trabalho, apenas tinham sido estudadas as espécies *Knema attenuata* Warb (casca) [25,26] e *Knema elegans* Warb. (óleo de sementes) [27]. Posteriormente foram estudadas *Knema furfuracea* Warb. (folhas) [28] e *Knema glomerata* Merril (casca) [29]. O nosso grupo estudou *Knema furfuracea* Warb. (casca) [30,31] e *Knema tenuinervia* ssp. *setosa* (casca) [31,32].

Os compostos isolados destas espécies encontram-se resumidos no Quadro 1 (pág. 8).

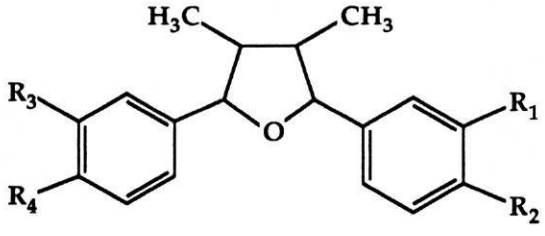
Nas páginas 28 a 35 encontram-se especificados os compostos por nós isolados e incluídos neste trabalho.

Quadro 1- Famílias químicas de compostos isolados em espécies de *Knema*.

Família de compostos	Estruturas (págs.9 a 11)	Fonte	Ref.
Lignanos	I	*K. attenuata*	25,26
	IIa,b,c	*K. elegans*	27
	III, IV	*K. furfuracea*	30
Isocumarinas	V	*K. furfuracea*	30,31
	VI	*K. tenuinervia*	31,32
Ác. anacárdicos	VII a-j	*K. elegans*	27
	VII i	*K. furfuracea*	30,31
	VII i	*K. tenuinervia*	31,32
	VII i	*K. glomerata*	29
Cardóis	VIII b,d,e,h-j	*K. elegans*	25
	VIII c,i,h	*K. glomerata*	29
Cardanóis	IX c,d,f-i	*K. elegans*	25
	IX i	*K. furfuracea*	30,31
	IX d	*K. tenuinervia*	31,32
	IX h, i, X	*K. glomerata*	29
Acetofenonas	XI a	*K. tenuinervia*	31,32
	XI a,b,c	*K. glomerata*	29
Fenilacilfenóis	XII a,b	*K. furfuracea*	28



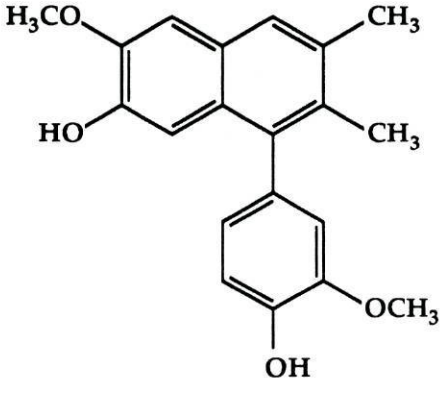
I



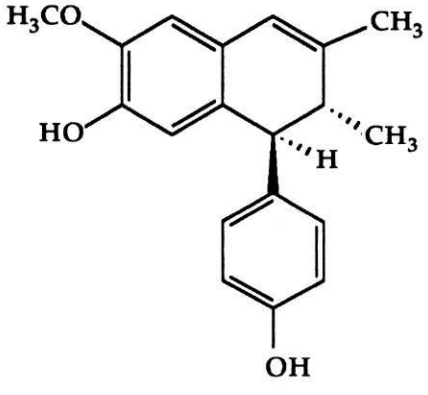
II a R_1-R_2 = R3-R4 = -O-CH_2-O-

II b R1-R2 = -O-CH_2-O-; R3 = -OCH_3 , R4 = -OH

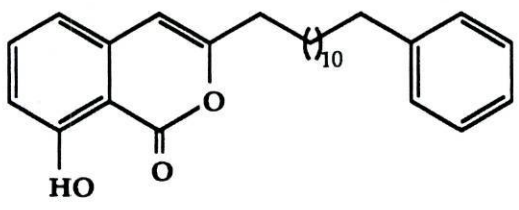
II c R1=R3 = -OCH_3 ; R2 = R4 = -OH



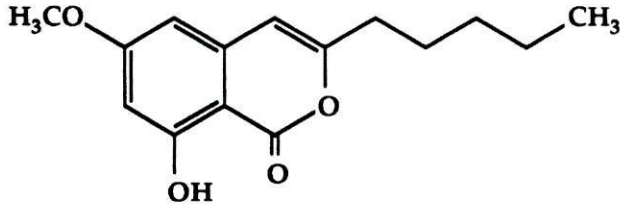
III



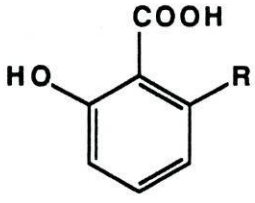
IV



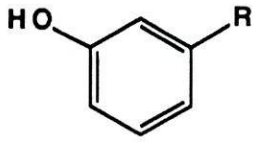
V



VI







VII VIII IX

VII a, R= $-(CH_2)_{10}-CH_3$

VII b, VIII b, R= $-(CH_2)_{12}-CH_3$

VII c, IX c R= $-(CH_2)_{14}-CH_3$

VII d, VIII d, IX d R= $-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_5-CH_3$

VII e, VIII e R= $-(CH_2)_9-CH=CH-(CH_2)_3-CH_3$

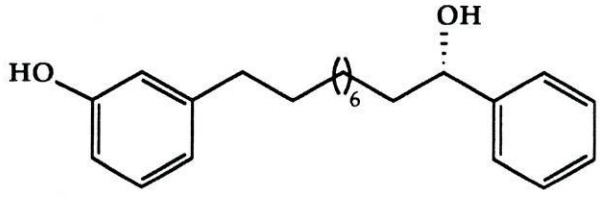
VII f, IX f R= $-(CH_2)_9-CH=CH-(CH_2)_5-CH_3$

VII g, IX g R= $-(CH_2)_{11}-CH=CH-(CH_2)_3-CH_3$

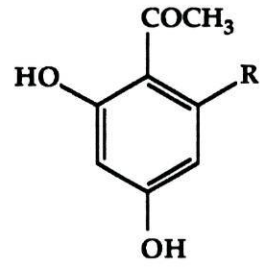
VII h, VIII h, IX h R= $-(CH_2)_{10}-C_6H_5$

VII i, VIII i, IX i R= $-(CH_2)_{12}-C_6H_5$

VII j, VIII j R= $-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_3-C_6H_5$



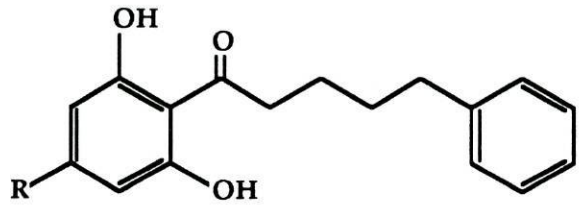
X



XI a R= -$(CH_2)_{10}$-C_6H_5

XI b R= -$(CH_2)_8$-C_6H_5

XI c R= -$(CH_2)_{12}$-CH_3



XII a R=-OCH_3

XII b R=-H

ACTIVIDADE BIOLÓGICA

2. Actividade Biológica.

Algumas classes dos compostos isolados do género *Knema* exibem actividades biológicas e/ou farmacológicas interessantes.

2. 1. Ácidos anacárdicos, cardóis e cardanóis.

Estes compostos também designados por fenóis de cadeia longa não isoprenóide podem ser divididos em três grupos distintos [33].

Grupo I- correspondente aos compostos derivados do ácido *orto*-hidroxibenzóico substituído na posição 6 por uma cadeia lateral, comumente designados por ácidos anacárdicos (Estrutura **VII**, pág. 10).

Grupo II- pertencem a este grupo os derivados 1,3-diidroxibenzeno e 2-metil-1,3-diidroxibenzeno substituídos na posição 5 por uma cadeia lateral, também designados por cardóis ou resorcinóis (Estrutura **VIII**, pág. 10).

Grupo III- designados por cadanóis ou fenóis correspondem a compostos derivados do hidroxibenzeno substituído por uma cadeia lateral ligada ao carbono 3 (Estrutura **IX**, pág. 10).

Conforme se pode observar nas estruturas **VII**, **VIII** e **IX** (pág. 10), existem duas séries destes compostos dependendo do tipo de cadeia lateral. Uma série correspondente aos compostos isolados da família das *Anacardiaceae* [34-37], *Gingkoaceae* [38], *Leguminosae* [39,40] e *Myristicaceae* [27,29-31] que contêm uma cadeia alquílica terminal, normalmente de quinze átomos de carbono, podendo no entanto conter onze, catorze ou dezassete carbonos. A cadeia pode ser saturada ou insaturada e neste caso com uma, duas ou três insaturações, normalmente com configuração *cis*.

A outra série destes compostos foi isolada somente em *Myristicaceae* [27,29-32] e caracteriza-se por conter uma cadeia lateral alquílica com dez ou doze átomos de carbono e um grupo fenilo terminal. Esta cadeia alquílica pode ser saturada ou insaturada contendo normalmente uma insaturação com configuração *cis*.

A maioria dos compostos com cadeia alquílica terminal exibem algumas actividades biológicas interessantes como seja, moluscicida [41-44], antifúngica [37,45], antibacteriana [42,46-50] e antitumoral [51-53].

2. 1.1. Actividade moluscicida.

A schistosomíase é uma doença parasitária endémica da América do Sul, África e Extremo Oriente, afectando mais de 200 milhões de pessoas e constituindo um dos maiores problemas de saúde nos trópicos.

Durante as últimas décadas os numerosos projectos para o controlo da schistosomíase no Terceiro Mundo têm mostrado que os compostos com actividade moluscicida são importantes no controlo dos vectores (caracóis), podendo constituir um meio rápido e eficiente para a redução ou eliminação da doença [41-43].

Alguns estudos sobre a relação estrutura-actividade dos compostos isolados do óleo da casca da castanha de cajú (Anacardiaceae), contra o molusco *Biomphalaria glabratus*, confirmaram os resultados obtidos por Sullivan *et al* [44]. Assim, a actividade moluscicida dos ácidos anacárdicos aumenta na proporção directa do grau de insaturação da cadeia lateral. Relativamente aos cardóis, 2-metilcardóis e cardanóis concluiram que a actividade moluscicida não é muito afectada pelo grau de insaturação, sendo no entanto dramaticamente aumentada pela presença de grupos hidrofílicos.

2. 1. 2. Actividade antibacteriana.

O fraccionamento do óleo da casca da castanha de cajú (Anacardiaceae) dirigido por bioensaios de modo a testar a actividade antibacteriana, levou ao isolamento de dezasseis componentes fenólicos (ácidos anacárdicos, cardóis, 2-metilcardóis e cardanóis) com uma cadeia lateral alquílica de quinze átomos de carbono saturada e insaturada (uma, duas ou três ligações duplas) [45].

Todos os compostos foram testados contra onze microrganismos diferentes verificando-se uma potente actividade antibacteriana somente contra as bactérias Gram-positivo, nomeadamente, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Propionibacterium acnes*.

Os resultados obtidos permitiram relacionar a estrutura-actividade destes compostos e usando os cardanóis como compostos padrão, retiraram-se as seguintes conclusões:

- a presença de mais um grupo hidroxilo fenólico na estrutura dos cardanóis origina um aumento da actividade.

- a introdução de um metilo nos cardóis resulta numa pequena descida da actividade.

- a presença de um grupo carboxilo no anel dos cardanóis corresponde a um dramático aumento da actividade.

- em geral um aumento do número de ligações duplas na cadeia lateral resulta num aumento da actividade antibacteriana.

O estudo comparativo da actividade antimicrobiana entre o ácido salicílico, ácido anacárdico (trieno), resorcinol, cardol (trieno) e ácido *p*-hidroxibenzóico, contra bactérias Gram-positivo, permitiu concluir que este último, juntamente com o ácido salicílico e resorcinol usados em cosmética e como conservantes dos alimentos mostram, por um lado, uma fraca actividade, mas por outro, exibem um largo espectro de acção contra quase todos os microrganismos testados. Pelo contrário, o ácido anacárdico e cardol

exibem um estreito espectro de acção, mas a sua actividade contra bactérias específicas como o *P. acnes*, *S. mutans* e *S. aureus* é dramaticamente aumentada, quando comparada com o ácido salicílico e resorcinol. Estes resultados permitem concluir que o ácido anacárdico e cardol, devido ao seu estreito espectro de acção, não devem ser usados como conservantes, mas podem e devem ser utilizados nos problemas de cárie dentária e de pele, causados por microrganismos específicos, tais como, *S. mutans*, *S. aureus* e *P. acnes* [45-47]

2.1.3. Actividade antitumoral.

Alguns estudos recentes mostram que alguns ácidos anacárdicos, cardóis e metilcardóis possuem actividade antitumoral [51-53]. No entanto, contrariamente à actividade moluscicida e antibacteriana, a actividade antitumoral não está relacionada com o número de insaturações.

Kubo *et al* [54] referem que, apesar destes compostos não exibirem uma actividade antitumoral tão potente de modo a torná-los líderes para planeamento de fármacos, merecem no entanto posteriores investigações devido à sua potencial inoquidade para o Homem.

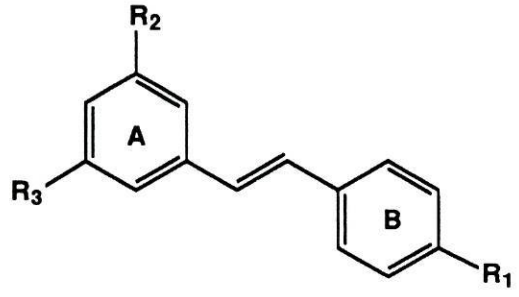
2. 2. Estilbenos.

Esta classe de compostos, também chamados difeniletilenos, com uma estrutura geral indicada na Fig. 3, pág. 17, ocorrem naturalmente num grande número de famílias de plantas [55,56], e são mais comumente encontradas em madeira, casca e folhas das árvores de floresta. Na madeira, os estilbenos encontram-se fundamentalmente no xilema secundário que contem células do parênquima vivo e reserva de materiais, e também na camada mais interior do xilema, correspondente à parte constituída por células mortas e reservas de materiais [56].

2. 2. 1. Actividade antifúngica.

Alguns estilbenos exibem uma importante actividade antifúngica e, durante muito tempo, procurou-se elucidar a forma como estes agentes antimicrobianos são responsáveis pela durabilidade da madeira de várias espécies de árvores [57-59].

Os principais compostos com actividade antifúngica são o pinosilvino **(XIII)**, o éter metílico do pinosilvino **(XIV)** e o resveratrol **(XV)**, cujas estruturas estão indicados na Fig. 3. Quase todos os estilbenos que ocorrem na madeira têm um núcleo de resorcinol, podendo no entanto ocorrer substituições adicionais de grupos hidroxilo ou metoxilo, embora seja menos comum a presença de derivados glicosilados [57].



	R_1	R_2	R_3
XIII	H	OH	OH
XIV	H	OH	OMe
XV	OH	OH	OH

Fig . 3- Estilbenos com actividade antifúngica.

Os vários estudos conducentes a elucidar o papel dos estilbenos na preservação da madeira e na inibição da invasão fúngica tem sido questionada [55]. Este facto relaciona-se com a diferente actividade fungitóxica encontrada nos estilbenos isolados de madeiras resistentes, quando testados em meio de agar, na ausência da madeira, e quando impregnados em madeiras susceptíveis ao ataque fúngico [57-59].

Alguns autores interpretam esta diferente fungitoxicidade, sugerindo que os estilbenos actuam sinergisticamente com outros metabolitos presentes na madeira resistente.

Os recentes trabalhos de Schultz *et al* [60-63] referem que os estilbenos, quando são formados na planta exibem uma moderada actividade fungicida; no entanto, perante uma invasão fúngica, a via biossintética poderá produzir intermediários mais activos, ou os próprios estilbenos serem modificados "in vivo" de modo a formarem compostos com maior actividade. Estas modificações poderiam incluir polimerização oxidativa dos estilbenos [63-67], redução [68-71], ciclização [70-72], hidroxilação aromática, metilação dos grupos hidroxilos fenólicos e C-alquilação [73-75].

Outras actividades biológicas de alguns estilbenos e derivados são actividade nematocida [76], actividade semelhante à estrona [77], piscicida [78,79], antihipertensiva e vasodilatador coronário [79,80], potente actividade inibidora da hialuronidase [81], antimitótica [82,83] e antileucémica [84-87].

Recentemente tem havido um interesse crescente na síntese de derivados de estilbenos e diidroestilbenos como potenciais agentes anticancerígenos devido às suas propriedades antileucémicas e antimitóticas. [88-90].

2. 3. Lignanos.

Estes compostos naturais têm vindo a demonstrar uma grande importância, derivada das suas variadas actividades biológicas e acções farmacológicas no Homem [91,92].

Têm ainda um papel importante a nível ecológico, atendendo à interacção planta-planta [92-96], planta-insecto [92,97-104] e planta-fungo [92,105-107] que têm demonstrado.

A nível molecular tem sido referido o seu papel na interrupção do transporte de nucleotídeos, na síntese do DNA e como inibidores específicos de certas enzimas [108,109].

O interesse por estes compostos tem sido crescente, principalmente a partir do seu isolamento em animais, incluindo o Homem, devido à perspectiva interessante de possuirem actividade hormonal [92,109-111].

Alguns lignanos de origem natural são potentes inibidores de vírus em culturas de células [112-117]. Recentemente, verificou-se que a (-)-arctigenina e (-)-traquelogenina inibem fortemente *in vitro* a replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) [118]. Pensa-se que, após infecção das células por HIV-1, estes compostos evitam o aumento da actividade da topoisomerase II envolvida na replicação do vírus. Contudo, outros lignanos não mostram esta actividade [111].

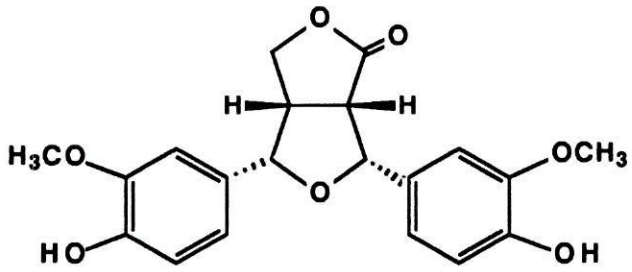
2.3.1. Interacção planta-planta.

Alguns lignanos desenvolvem um papel fundamental na regulação dos processos fisiológicos das plantas.

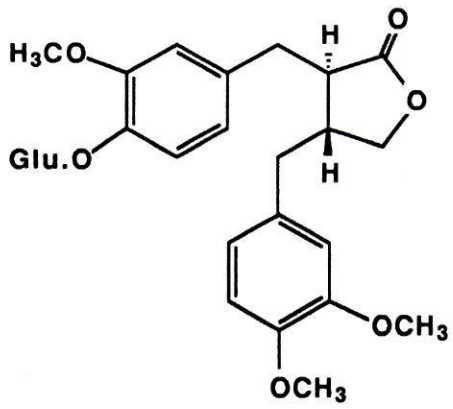
Lavie *et al.* [93], estudaram o comportamento das vagens de *Aegilops ovata. L.*, na germinação de alfaces *Lactucca*, isolando um composto com actividade inibidora da germinação. Esta actividade exerce-se fundamentalmente sob acção de luz fluorescente. Este facto tornou-se relevante, uma vez que todos os inibidores conhecidos apresentam maior actividade na ausência da luz. O composto isolado corresponde a um monoepoxilignanolídeo **(XVI)**, cuja estrutura contém um grupo epóxido e um anel lactónico de cinco átomos.

Estudos posteriores realizados por Gutterman *et al* [94], permitiram concluir que este composto é um forte inibidor da germinação, sendo a sua acção fortemente dependente de radiações de comprimento de onda específico.

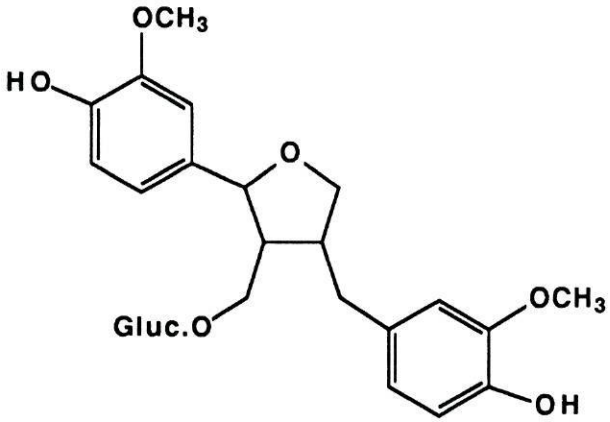
Outros lignanos, como a actiina **(XVII)** e o monoepoxilignano **(XXIII)**, isolados da raiz da batata, exibem também propriedades inibidoras da germinação [95,96], sendo este último produzido em resposta à infecção por um nemátodo [96].



XVI



XVII



XVIII

2. 3. 2. Interacção planta-insecto.

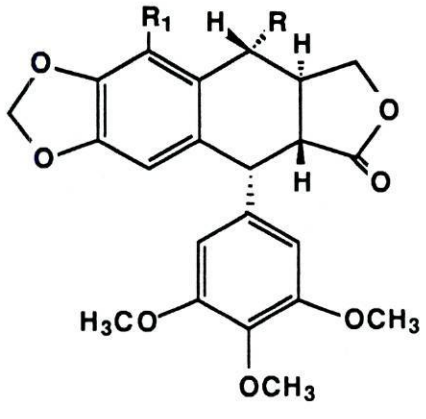
As plantas e os insectos que as rodeiam estão em desenvolvimento simultâneo e, muitas vezes de forma antagonista, o que é conseguido pela produção de novos produtos químicos, repelentes ou atraentes [91].

Alguns compostos de estrutura semelhante à podofilotoxina **(XIX)**, como o éter metílico da β-peltatina **(XX)** e a desoxipodofilotoxina **(XXI)**, são importantes na inibição do crescimento larvar de alguns insectos [98].

A kobusina **(XXII)** e sesamina **(XXIII)** inibem o crescimento larvar do bicho da seda *Bombix mori* [99].

A sesamina **(XXIII)**, sesamolina **(XXIV)**, asarinina **(XXV)** e hinoquinina **(XXVI)**, entre outros, são compostos que têm em comum um grupo 3,4-metilenodioxifenilo, apresentando propriedades sinergistas para piretrinas e aletrinas [100]. A sesamina e asarinina aumentam a toxicidade de uma larga variedade de insecticidas. Todos os compostos referidos são importantes no aumento da toxicidade de muitos insecticidas, apresentando uma potência sinergista semelhante aos usados comercialmente [101,102].

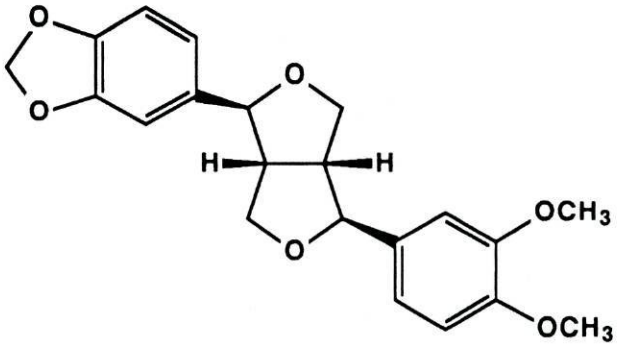
Estudos recentes reportam o isolamento de um novo lignano, (+)-epi-magnolina A **(XXVII)**, que inibe o crescimento larvar de *Drosophyla melanogaster* [103].



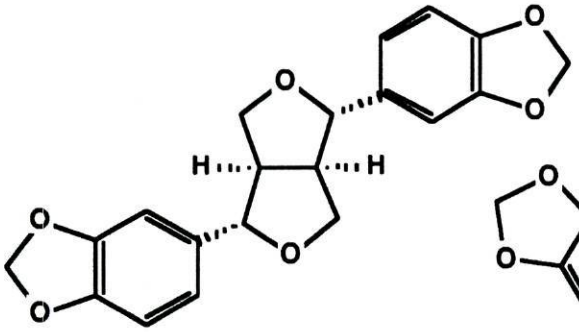
XIX R=-OH; R1=-H

XX R=-H; R1=-OCH_3

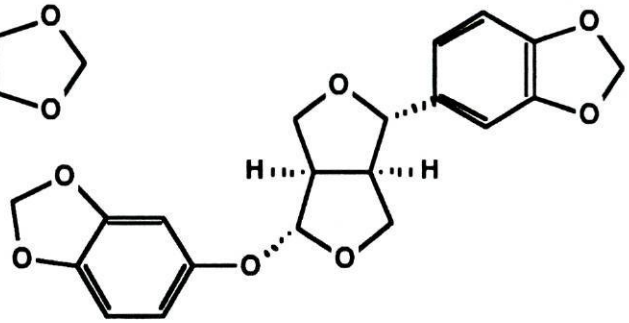
XXI R=-H; R1=-H



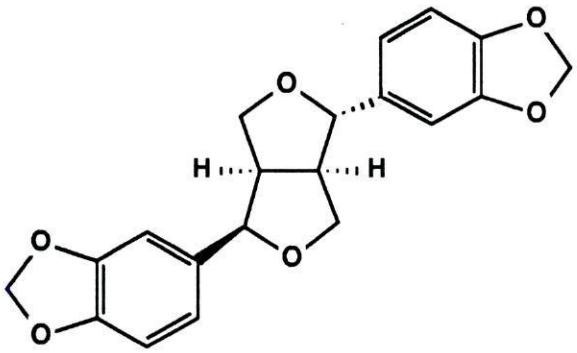
XXII



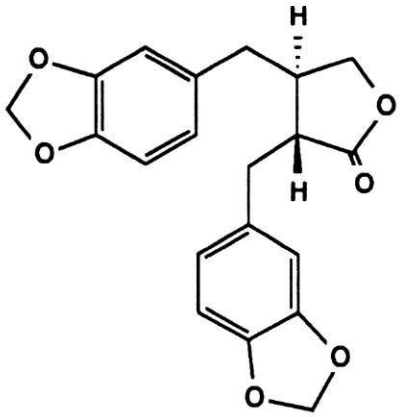
XXIII



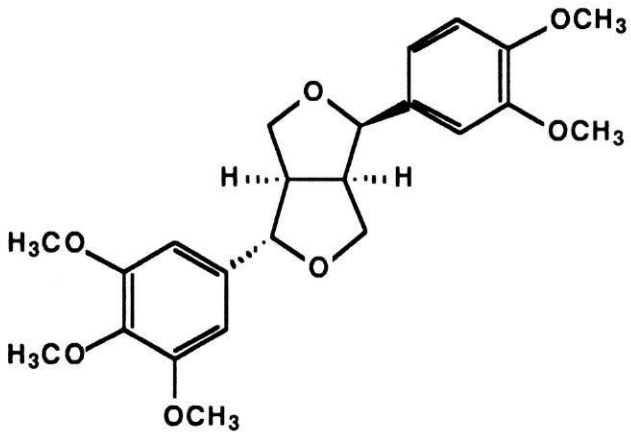
XXIV



XXV



XXVI

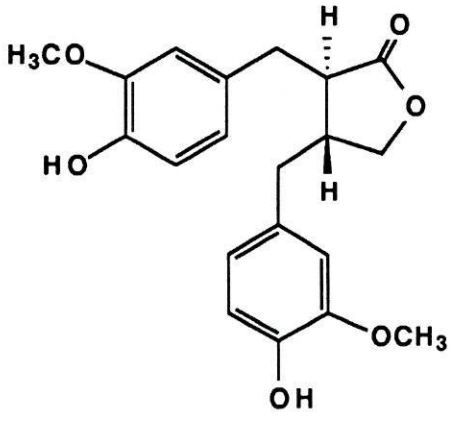


XXVII

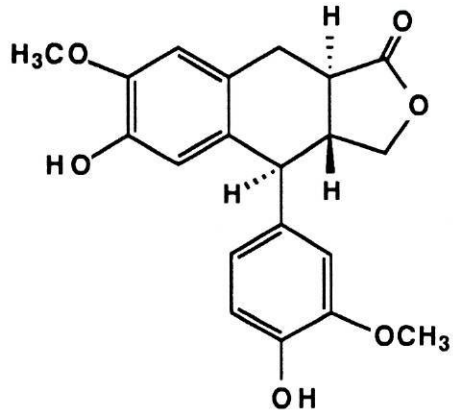
2. 3. 3. Interacção planta-fungo.

Vários estudos sugerem que os lignanos são produzidos no tronco, em resposta ao ataque fúngico, tendo alguma acção na prevenção e subsequente degradação das madeiras [92].

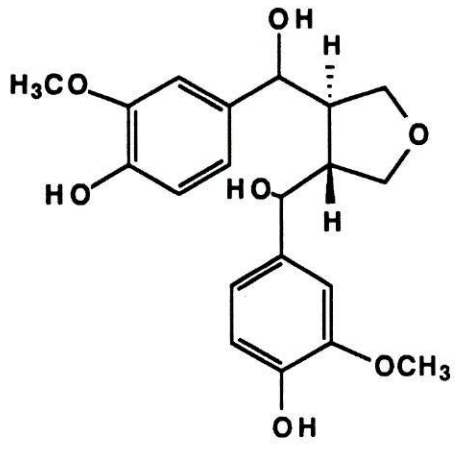
Dos tecidos infectados pelo fungo *Fomes annosus* foram isolados vários lignanos como o matairesinol **(XXVIII)**, conidendrina **(XXIX)**, liovilo **(XXX)** e hidroximatairesinol **(XXXI)**. Contudo, Shain e Hillis [105,106], referem somente os compostos **(XXVIII)** e **(XXXI)** como apresentando poder inibidor do crescimento do fungo. A actividade fungistática parece ser atribuída à inibição de enzimas extracelulares fúngicas como a celulase, poligalacturonase, aril-β-glicosidase e lacase [107].



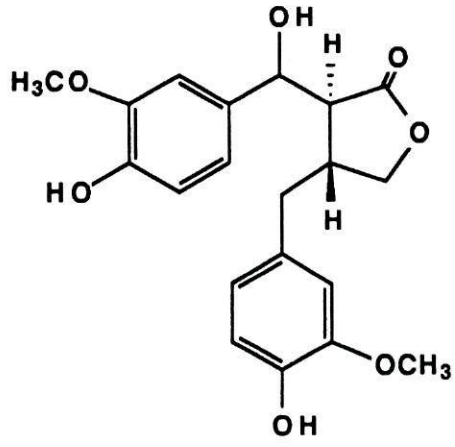
XXVIII



XXIX



XXX



XXXI

2. 3. 4. Actividade antitumoral.

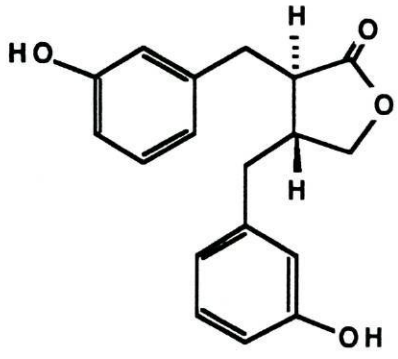
Os compostos isolados de *Podophyllum hexandrum* e *Podophyllum peltatum* constituem uma fonte importante de podofilotoxinas, pertencentes às ariltetralinas, com actividade antitumoral. Estes compostos, serviram além disso, como ponto de partida para a produção de drogas semissintéticas anticancerígenas como o etoposídeo (VP-16) e o teniposídeo (VM-26) [119-121].

Recentemente tem sido extensivamente estudado o efeito de derivados sintéticos da podofilotoxina na actividade da topoisomerase II, na polimerização da tubulina e na resistência das células tumorais ao etoposídeo (VP-16). [123-128].

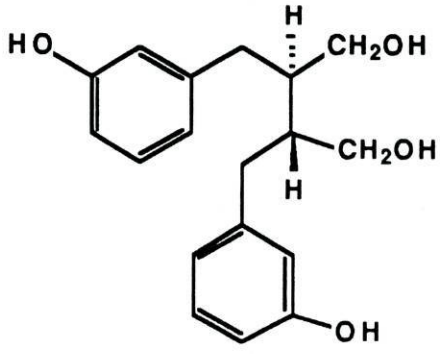
2. 3. 5. Lignanos no reino animal.

Os compostos isolados de origem animal por Setchell *et al* datam de 1980 [129-131]. As suas estruturas diferem de todos os lignanos de origem vegetal, por conterem um substituinte na posição *meta* do anel benzénico.

Os dois primeiros lignanos isolados correspondem ao *trans*-2,3-*Bis*-(3-hidroxibenzil)-γ-butirolactona **(XXXII)** e 2,3-*Bis*-(3-hidroxibenzil)-butano-1,4-diol **(XXXIII)**, conhecidos respectivamente como enterolactona e enterodiol.



XXXII



XXXIII

Ambos são racémicos, podendo aparecer como conjugado do ácido glucurónico (urina e bilis) ou não conjugados (fezes) [130,133].

Os prováveis precursores dietéticos destes lignanos são o secoisolariciresinol [130] e o matairesinol [134]. Além disso pensa-se que estes compostos são biossintetizados por uma bactéria intestinal a partir das fibras ingeridas. Geralmente a quantidade de lignanos excretados pelo homem está correlacionado com a quantidade de fibra ingerida [131].

A recente descoberta dos lignanos em diferentes amostras biológicas, coloca a questão do seu significado a nível fisiológico. Fagoo *et al* [110], analisando a estrutura da enterolactona **(XXXIX)**, verificaram que tem em comum com o ácido ascórbico e os glicosídeos cardiotónicos, um anel γ-butirolactona, importante na interacção Na^+, K^+-ATPase.

Este composto inibe a actividade de Na^+, K^+-ATPase e desloca a (3H)-hubaína dos seus locais de ligação competindo com ela. Referem ainda que, devido à alta concentração deste lignano nas amostras biológicas, ele pode contribuir para uma suposta actividade semelhante à digitalina, encontrada nos tecidos, sangue e urina de muitos mamíferos incluindo o Homem [110].

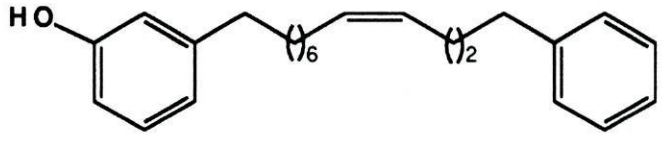
As estruturas difenólicas da enterolactona e do enterodiol mostram similaridades com os estrogéneos sintéticos dienoestrol e dietilestilbestrol, o que tem levado a pensar que estes compostos possam ter um papel fisiológico no Homem. Alguns autores especulam que a utilização de dietas ricas em fibras, podem provocar uma diminuição do risco de alguns cancros dependentes de hormonas, como sejam, o cancro da mama nas mulheres e o cancro da próstata nos homens [111,135-137]

CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

3. Constituintes Químicos isolados de *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

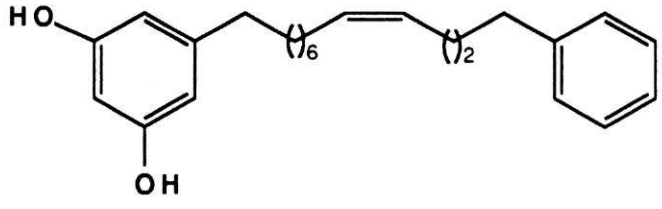
3.1. *Knema laurina* Warb.

- **3-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-fenol**



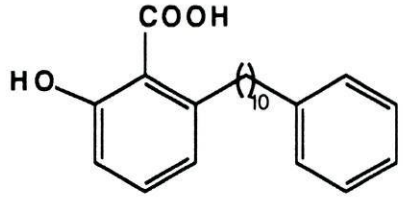
1

- **5-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-resorcinol**



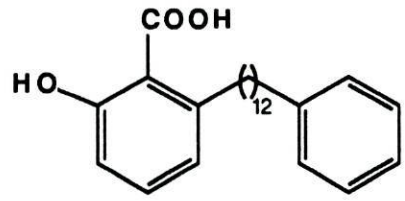
2

- **Ácido 2-hidroxi-6-(10-fenildecil)-benzóico**



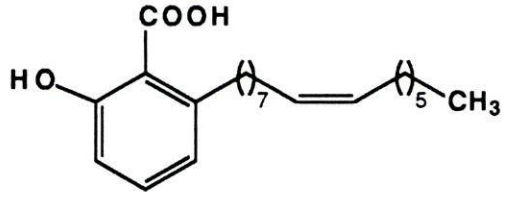
3

- **Ácido 2-hidroxi-6-(12-fenildodecil)-benzóico**



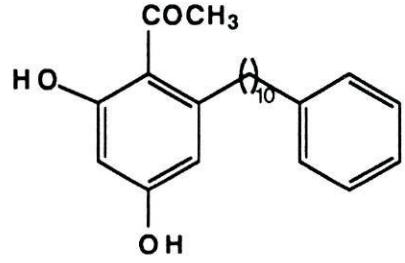
4

- **Ácido 2-hidroxi-6-(8Z-pentadecenil)-benzóico**



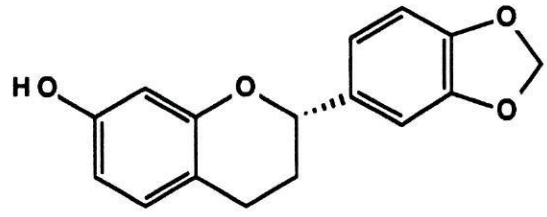
5

- **2,4-Diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona**



6

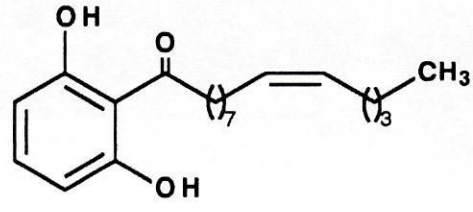
- **(-)-7-Hidroxi-3′,4′-metilenodioxiflavana**



7

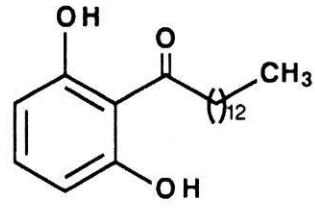
3. 2. *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona**



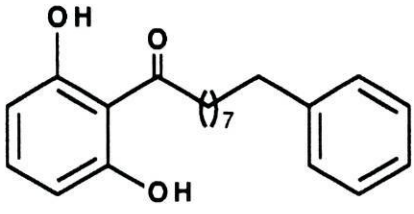
18

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-tetradecan-1-ona**



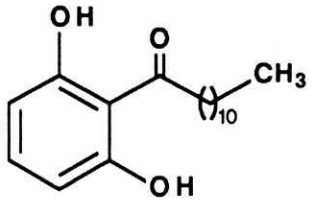
19

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona**



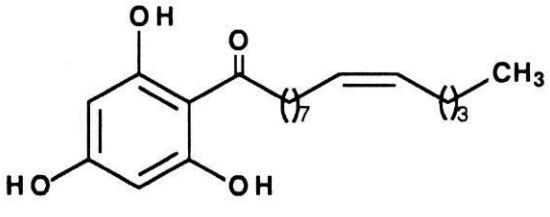
20

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-dodecan-1-ona**



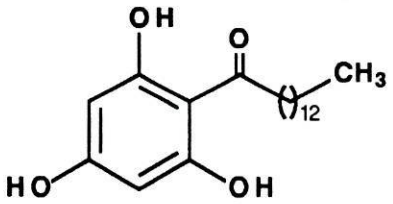
21

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona**



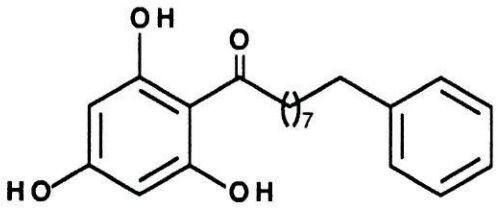
22

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-tetradecan-1-ona**



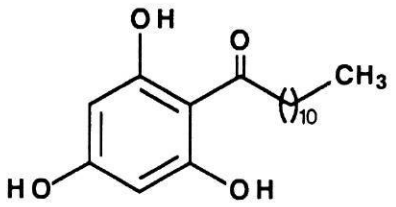
23

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona**



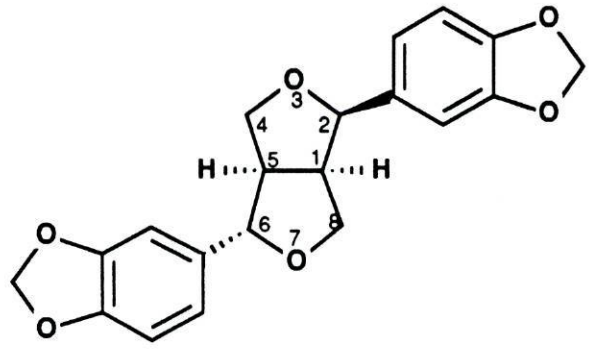
24

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-dodecan-1-ona**



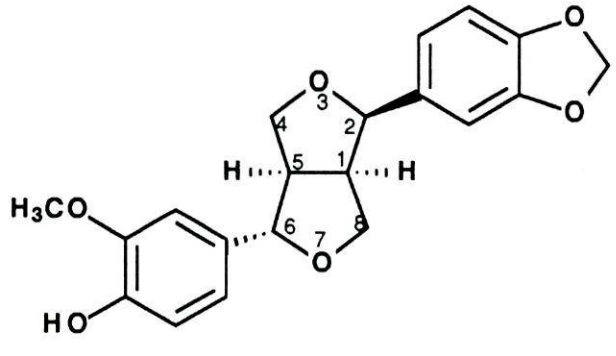
25

- **(+)-2,6-*Bis* (3,4-metilenodioxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano**



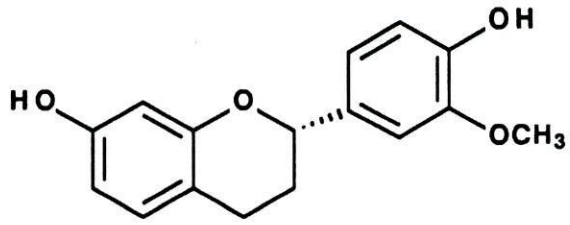
26

- **(+)-2-(3,4-Metilenodioxifenil)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano**



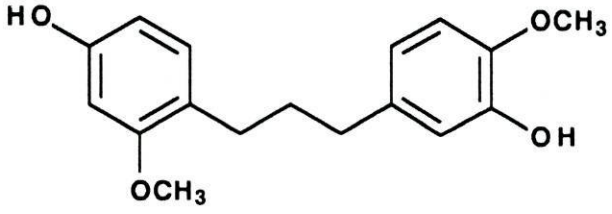
27

- **7,4′-Diidroxi-3′-metoxiflavana**



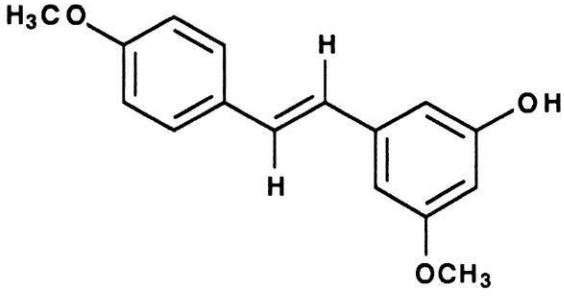
28

- **1-(4-Hidroxi-2-metoxifenil)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-propano**



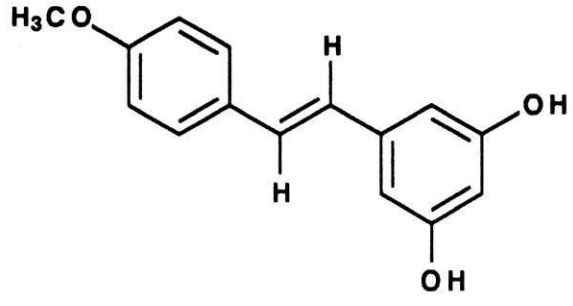
29

- **4′,5-Dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno**



30

- **3,5-Diidroxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno**



31

CONSIDERAÇÕES BIOGENÉTICAS SOBRE OS COMPOSTOS ISOLADOS DE *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

4. Considerações biogenéticas sobre os compostos isolados de *Knema laurina* Warb. e *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

4. 1. Compostos formados por ciclização da cadeia poliacetato

4. 1. 1. Ácido anacárdico (5)

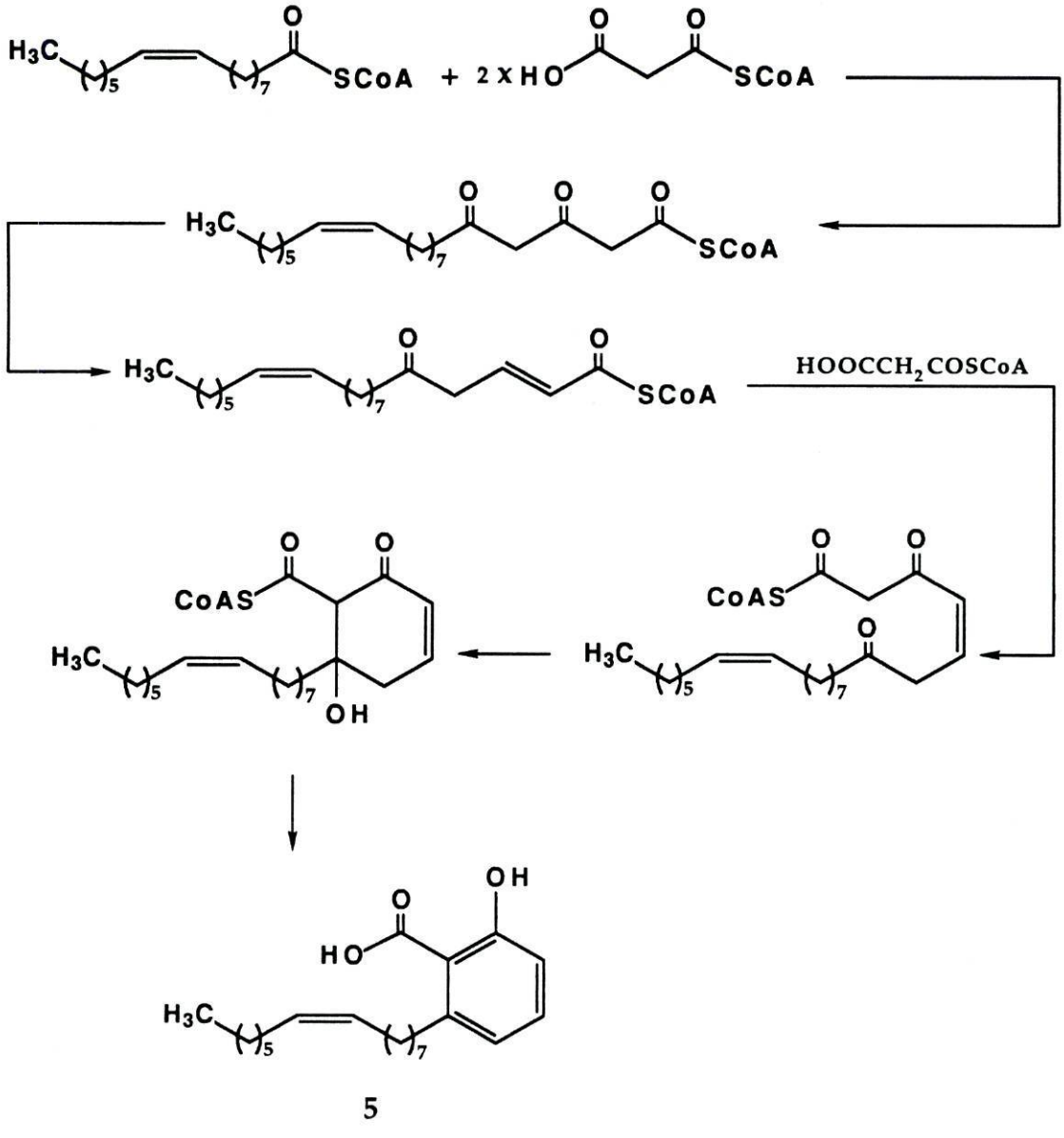
Segundo alguns autores [138,139] a biossíntese deste tipo de compostos é similar à dos ácidos gordos, sendo provavelmente derivados de um ácido gordo (ácido palmitoleico, neste caso) e de três unidades de malonato.

Walters *et al* [140] após estudos experimentais verificaram que, na biossíntese de ácidos anacárdicos, contrariamente ao sistema de enzimas sintetase dos ácidos gordos, é utilizado um sistema de enzimas que não reduz e desidrata todos os grupos ceto durante o alongamento da cadeia; deixa intactos alguns grupos específicos para promover a condensação aldólica que origina o anel aromático. Assim, propõe-se a biogénese do composto **5**, indicada no Esquema 1 (pág. 38).

4. 1. 2. Acilresorcinóis e acilfloroglucinóis (compostos 18-19, 21-23 e 25)

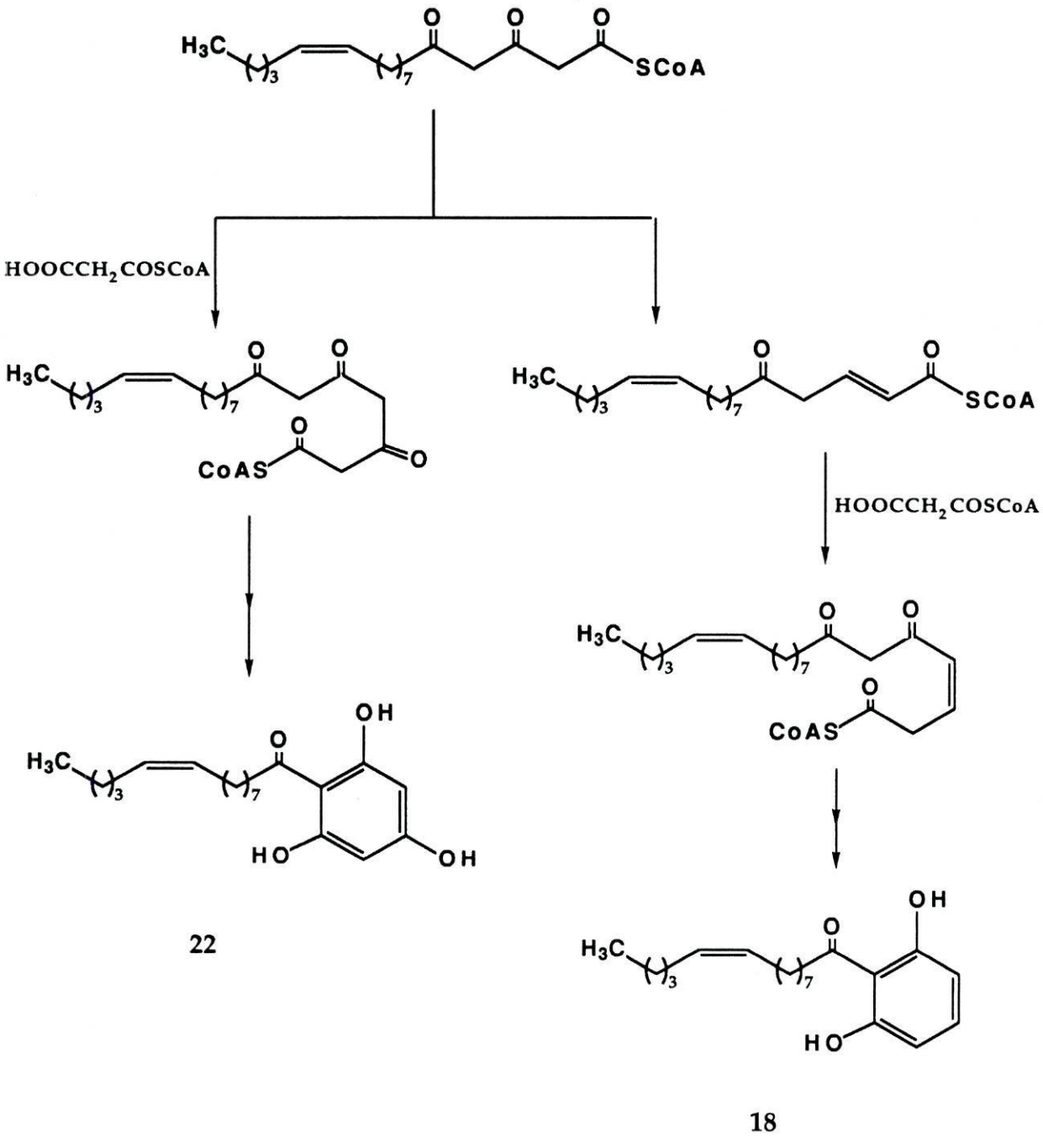
Estes compostos provavelmente derivam da mesma via biogenética dos ácidos anacárdicos, tendo como precursores um ácido gordo apropriado e três unidades de malonato. Existem, no entanto, algumas diferenças na biossíntese destes compostos, como sejam, a ciclização ocorrer por uma condensação do tipo Claisen [138] e nos compostos acilfloroglucinóis, deverá excluir-se o passo redutivo antes da aromatização. O Esquema 2 (pág. 39) indica a biossíntese do acilresorcinol **18** e acilfloroglucinol **22** insaturados. Os

compostos saturados, **19, 21, 23** e **25** derivam provavelmente de um ácido gordo saturado seguindo a mesma via biossintética.



5

Esquema 1- Biogénese do composto **5**.



Esquema 2- Biogénese dos compostos **18** e **22**.

4 2. Compostos derivados de fenilpropanóides

Muitos dos compostos aromáticos encontrados na Natureza surgem da extensão de unidades C_6-C_3 derivadas de cinamato e de unidades de acetato ou malonato, originando uma ampla classe de metabolitos secundários representados por C_6-C_3-$(C_2)_n$ [138]. Dentro desta classe de compostos podemos citar, como exemplo, os flavonóides, curcuminóides e malabariconóides.

4. 2. 1. Arilacilresorcinóis e arilacilfloroglucinóis (compostos 20 e 24)

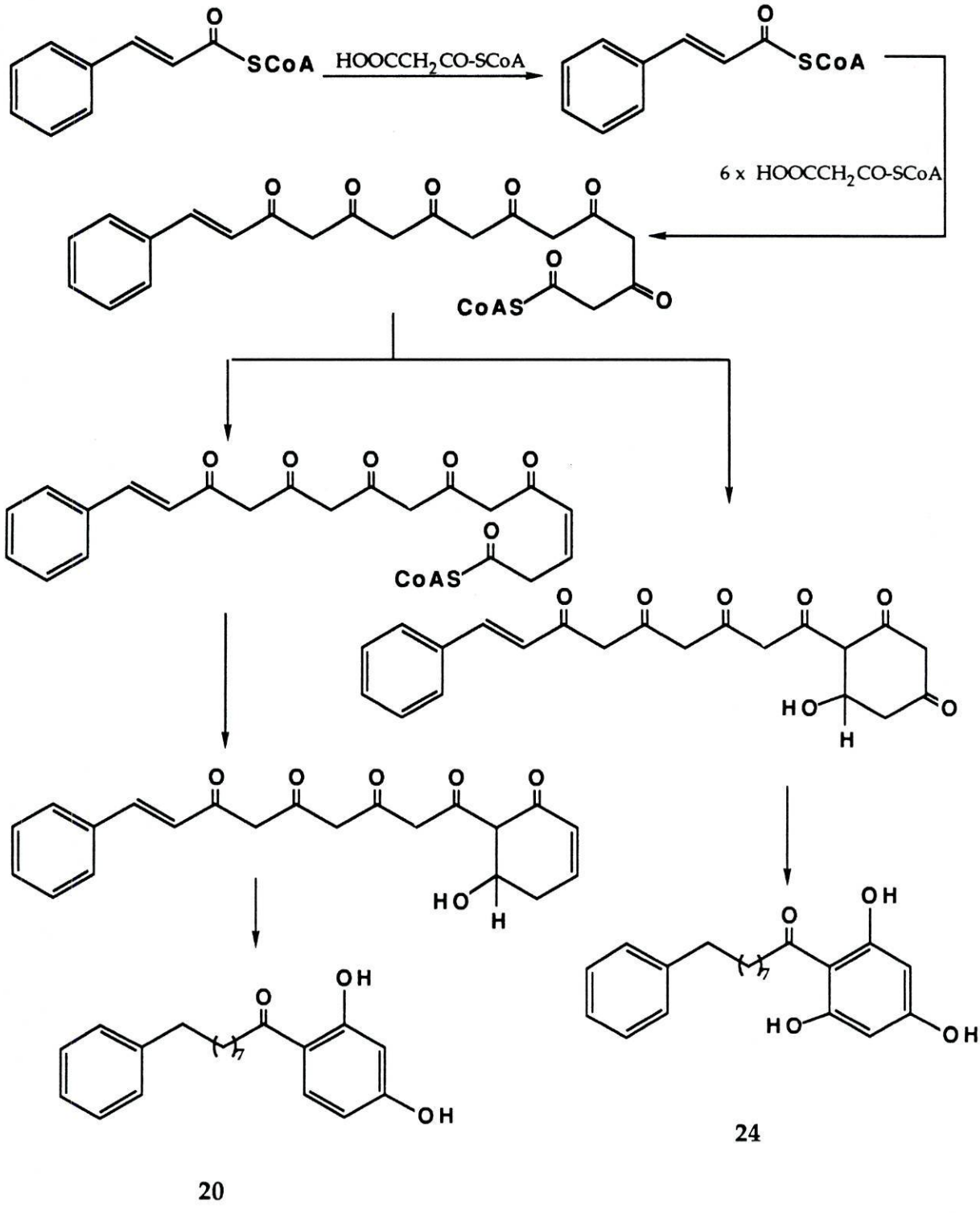
A biossíntese dos curcuminóides envolve uma unidade de cinamato e uma cadeia pentacetato (ácido cáprico) [141].

É provável que na biossíntese do composto **20**, também designado por malabaricona, esteja envolvida uma unidade de cinamato e uma cadeia hexacetato [142]. O composto **24** deriva provavelmente da mesma origem biogenética, excluindo o passo de redução do grupo carbonilo antes da condensação intramolecular.

Propõe-se a biogénese indicada no Esquema 3 (pág. 41) para os compostos **20** e **24**.

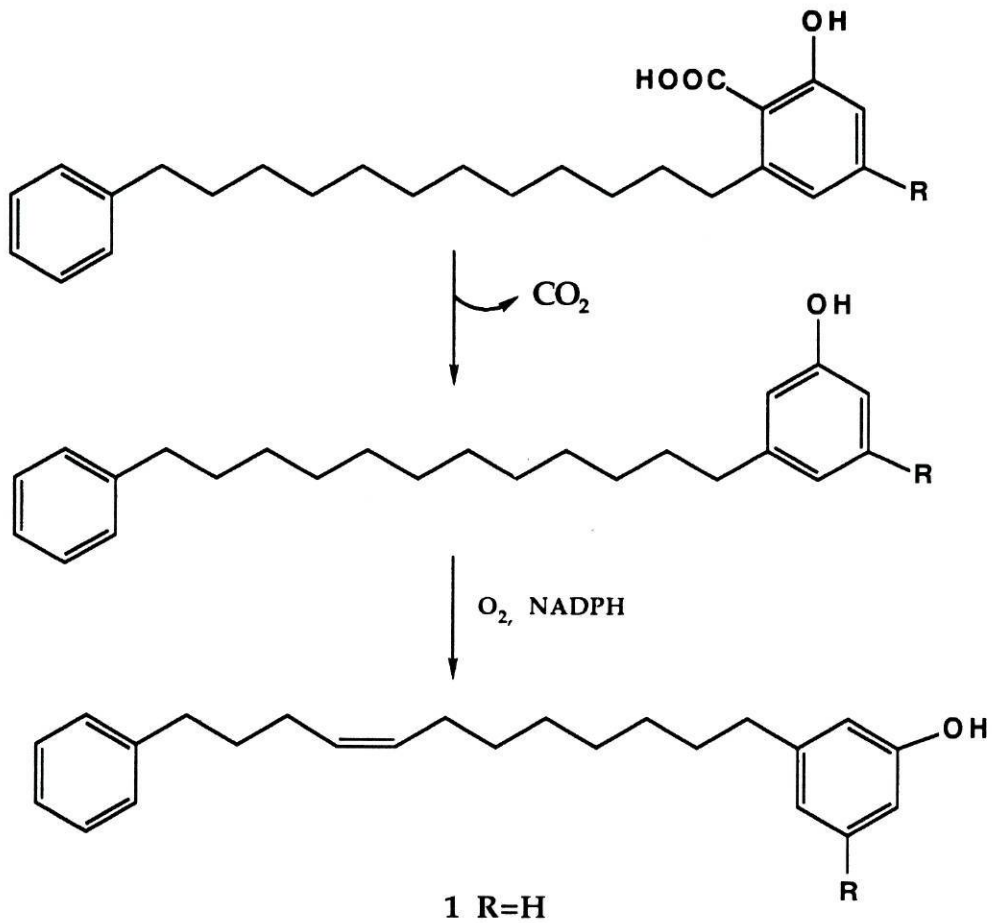
4. 2. 2. Derivados arílicos dos ácidos anacárdicos, cardóis e cardanóis

Os compostos **1-4** correspondem a uma nova classe de ácidos anacárdicos com um grupo arilo terminal [27]. É provável que a via biogenética destes compostos seja C_6-C_3 - $(C_2)_n$, estando envolvida uma unidade de cinamato e uma cadeia heptacetato (ácido mirístico, composto **3**) ou uma cadeia octacetato (ácido palmítico, composto **4**). Os subsequentes passos de ciclização, redução e hidrólise devem ocorrer de uma forma similar ao já descrito para a biossíntese dos ácidos anacárdicos (Esquema 1, pág.38).



Esquema 3- Biogénese dos compostos **20** e **24**.

Na biossíntese do fenilcardol **(2)** e fenilcardanol **(1)** deverá ocorrer uma descarboxilação que poderá ou não ser concomitante com a aromatização e uma insaturação [143] (Esquema 4)



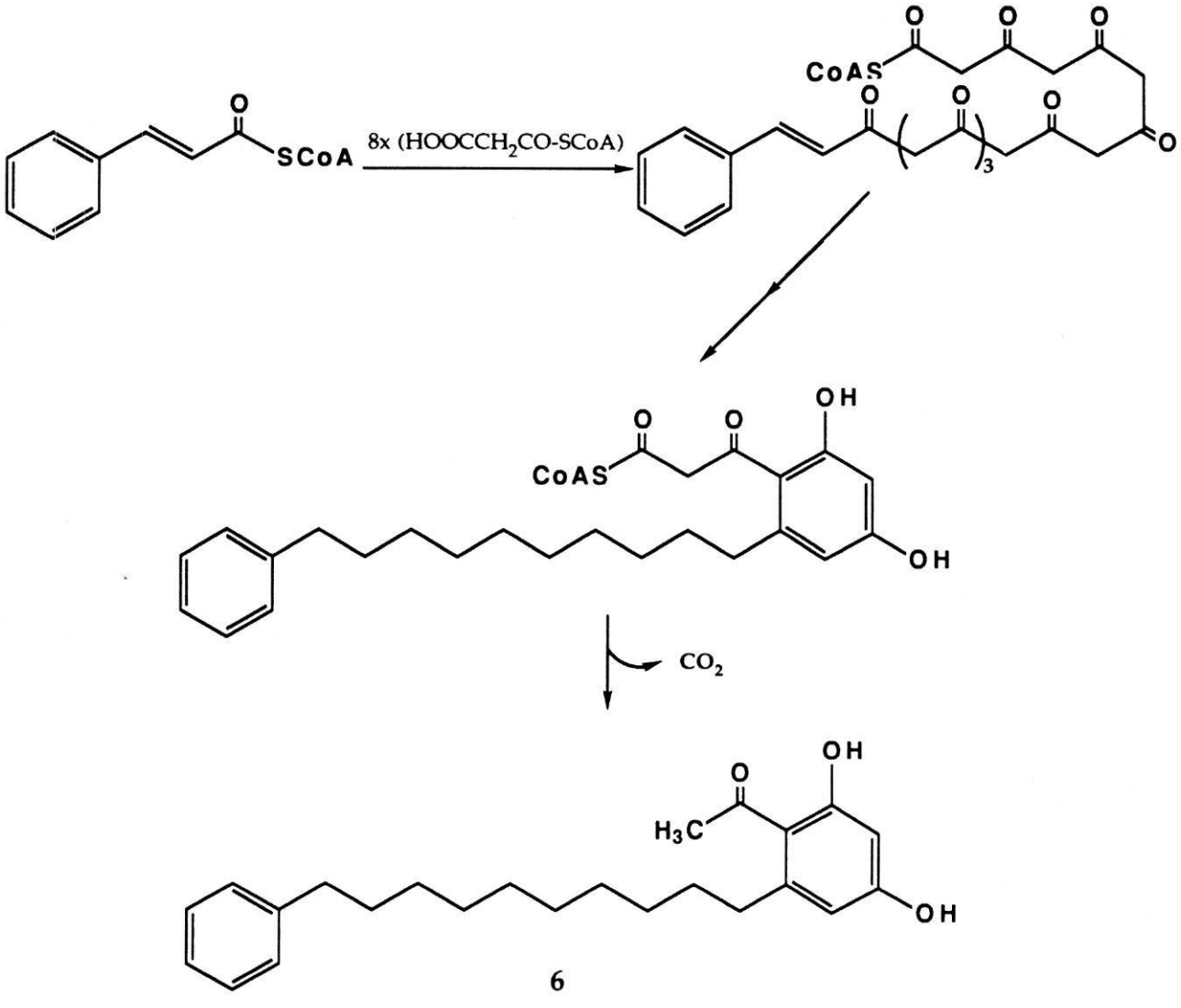
1 R=H
2 R=OH

Esq. 4- Biogénese dos compostos **1** e **2**.

4. 2. 3. Acetofenona (composto 6)

A biossíntese deste composto deve provavelmente ocorrer de uma forma similar á dos ácidos fenilanacárdicos (**3** e **4**), diferindo no tipo de condensação da cadeia poliacetato e na posterior β-descarboxilação do grupo cetoácido [138].

O Esquema 5 indica a provável biossíntese do composto **6**.



Esquema 5- Biogénese do composto **6**.

4. 2. 4. Estilbenos, flavanas e 1,3-diarilpropanos (compostos 7 e 28-31)

Segundo Gottlieb [144] a ocorrência conjunta de flavanas, 1,3-diarilpropanos e 1,3-diarilpropano-2-ol, em espécies de *Virola* e *Iryanthera* (*Myristicaceae*) aponta para uma derivação biogenética a partir de chalconas.

Relativamente aos estilbenos, alguns autores [147,148] propõem a mesma derivação biogenética, mas contrariamente à chalcona sintetase, o poliacetato ligado à enzima sintetase dos estilbenos está dobrada de uma forma diferente para que ocorra descarboxilação durante a ciclização.

Conjugando estas duas informações a biogénese mais provável para os compostos **7** e **28** a **31**, está indicada nos Esquemas 6 e 7, (páginas 45 e 46).

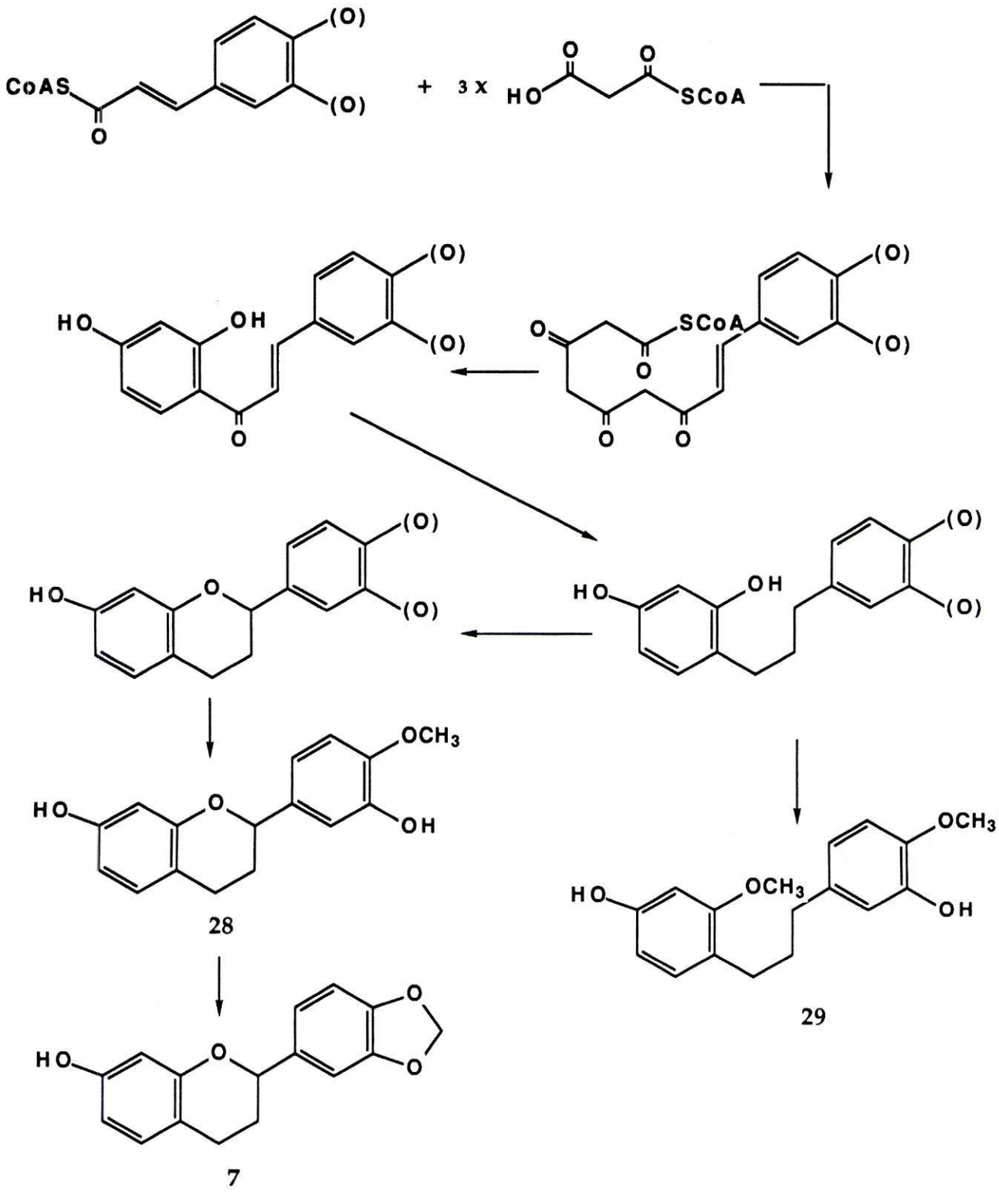
4. 3. Lignanos (compostos 26 e 27)

Estes compostos pertencem a um grupo de produtos naturais cujos esqueletos carbonados são formados por ligação β–β de duas unidades C_6-C_3, os quais são formados biogeneticamente através da via do ácido xiquímico [145].

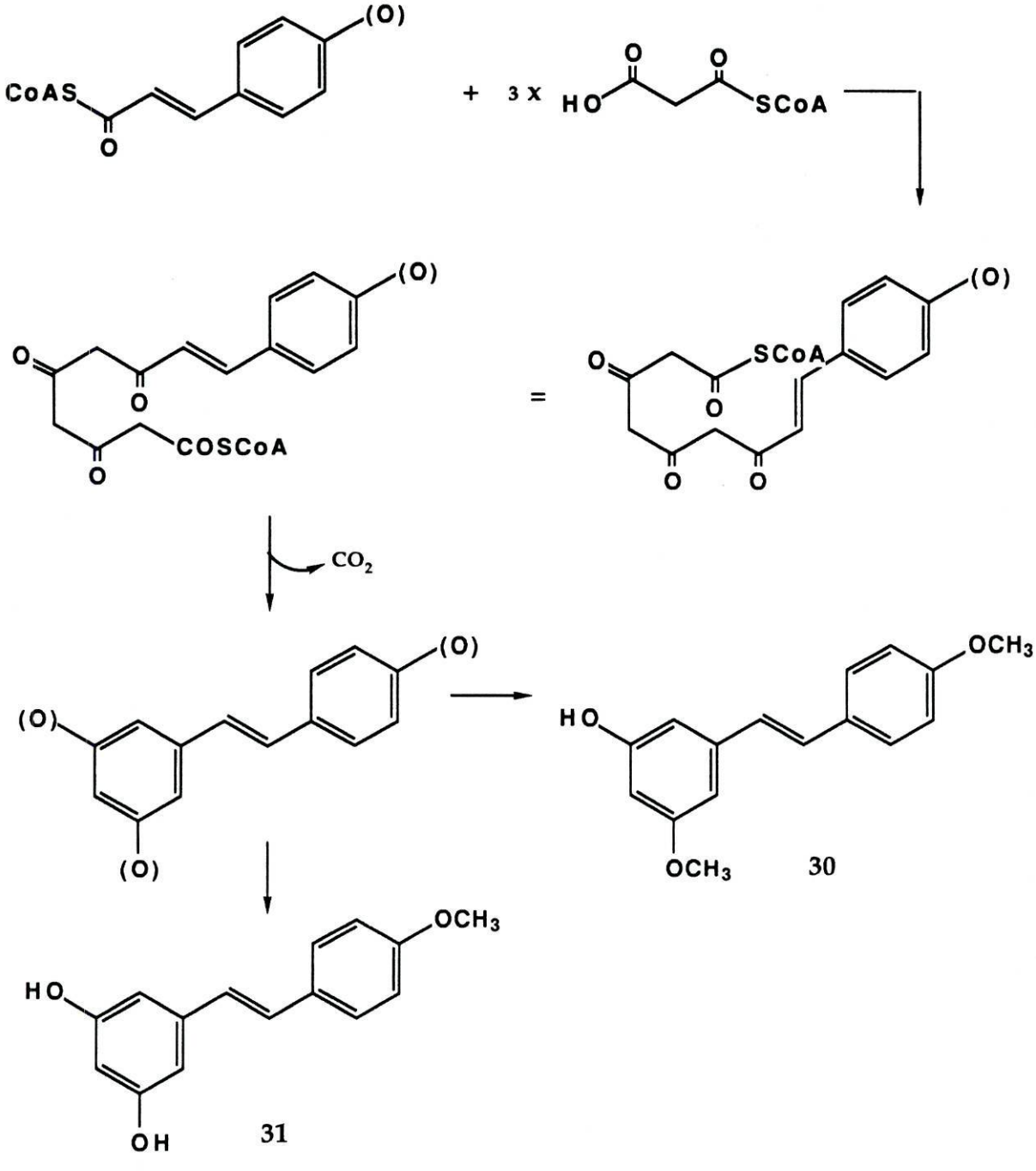
Foi admitido que a ligação de duas unidades C_6-C_3 acontecia por um processo de acoplamento fenólico oxidativo, análogo ao proposto para a biossíntese de ligninas [146]. No entanto, este tipo de acoplamento originaria produtos racémicos, enquanto que os lignanos naturais são, normalmente, enantiomericamente puros e por isso, derivados de processos estereoespecíficos de acoplamento oxidativo [147].

Os lignanos são essencialmente dímeros de alcool cinamílico os quais, por posteriores ciclizações e outras modificações moleculares, originam um vasto leque de diferentes tipos estruturais.

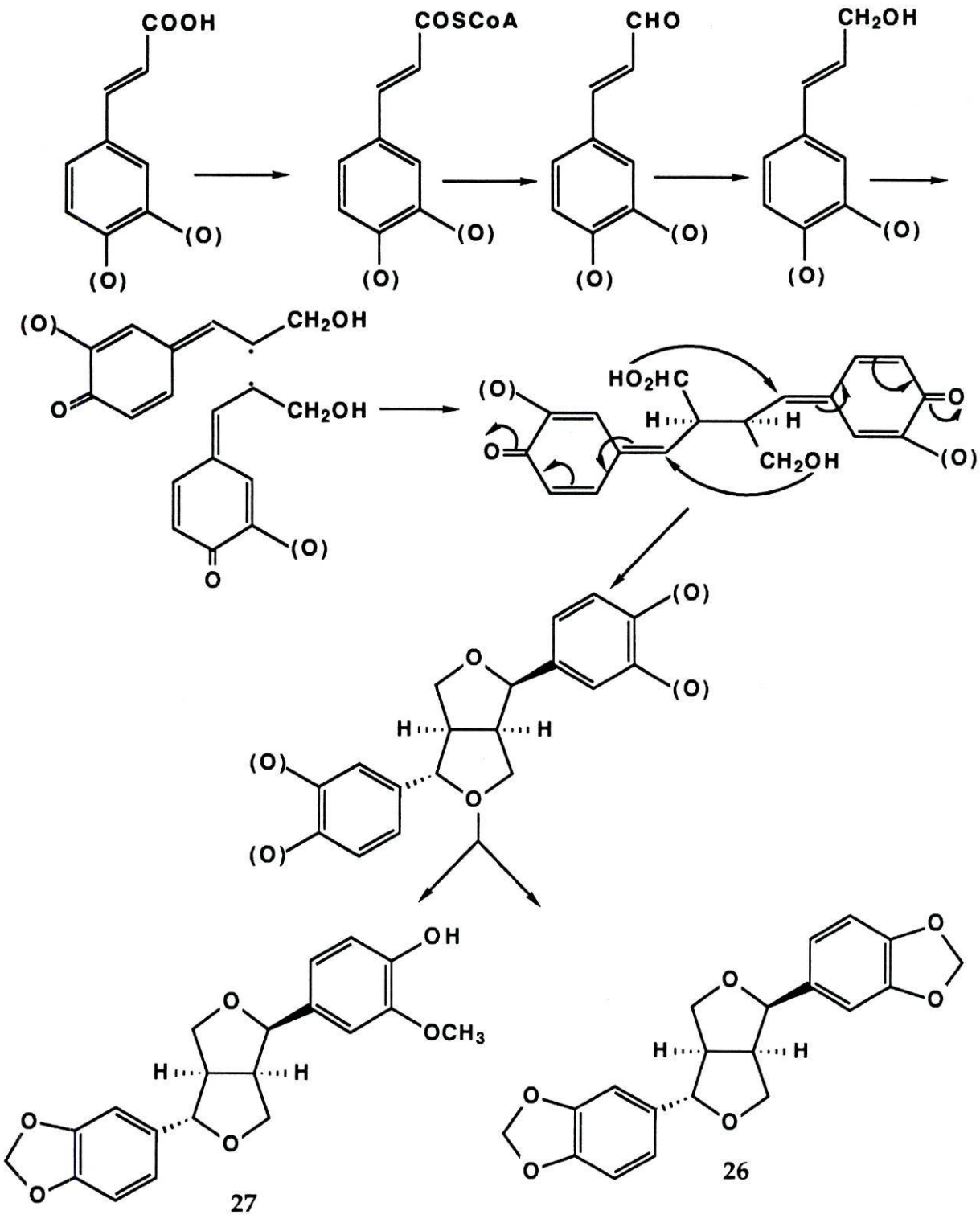
A biogénese dos compostos **26** e **27** é indicada no Esquema 8 (pág. 47).



Esquema 6- Biogénese dos compostos **7**, **28** e **29**.



Esquema 7- Biogénese dos compostos **30** e **31**.



Esquema 8- Biogénese dos compostos **26** e **27**.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PARTE A: DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS E DERIVADOS DE *Knema laurina* Warb.

5. Resultados e discussão

5.1. Parte A: Determinação Estrutural dos Constituintes Químicos e Derivados de *Knema laurina* Warb.

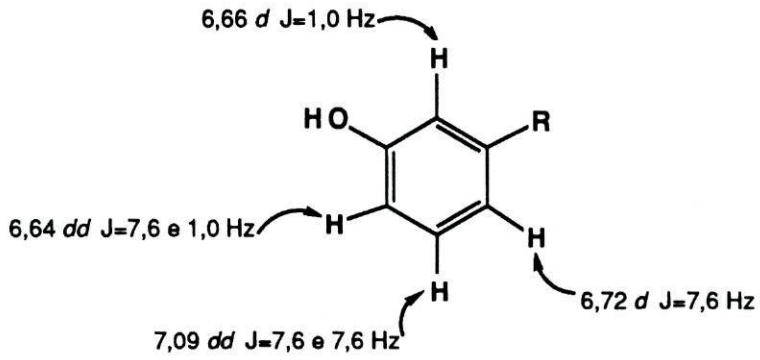
5. 1. 1. 3-(12-Fenil-8*Z*-dodecenil)-fenol (1)

O espectro no I V (pág. 159) do composto **1** evidencia uma banda larga de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo entre 3100-3500 cm^{-1}, e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1610, 1590, 1490 e 1450 cm^{-1}.

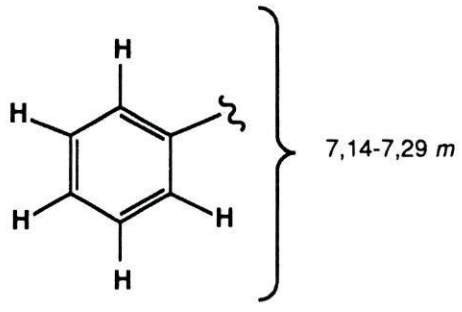
O espectro no UV (pág. 159) mostra bandas de absorção a 220 e 273 nm (log ε 3,5 e 3,2 respectivamente) que, em meio alcalino, sofrem um deslocamento batocrómico para 235 e 289 nm (log ε 3,5 e 3,3 respectivamente), indicando a presença de grupo hidroxilo fenólico [149].

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág, 159) indica a presença de protões aromáticos entre δ 6,6 e δ 7,3 (9H). A análise da expansão do espectro nesta região mostra que cinco destes protões aparecem como um multipleto entre δ 7,14 a δ 7,29 e os restantes protões aparecem como um duplo dupleto a δ 7,09 (1H, J=7,6 e 7,6, Hz), um dupleto a δ 6,72 (1H, J=7,6 Hz), um dupleto a δ 6,66 (1H, J=1,0 Hz) e um duplo dupleto a δ 6,64 (1H, J=7,6 e 1,0 Hz).

As experiências de desacoplamento mostram que a irradiação do duplo dupleto a δ 7,09 provoca alteração dos sinais correspondentes ao dupleto a δ 6,72 e ao duplo dupleto a δ 6,64 evidenciando acoplamentos. Os valores dos deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento destes protões aromáticos levam a concluir pela presença da estrutura parcial correspondente a um grupo fenólico substituído na posição *meta* por um grupo alquilo [30],



enquanto que os cinco protões do multipleto (δ 7,14 a δ 7,29) podem ser atribuídos a um grupo fenilo [30]:



Na região dos protões alifáticos, além de um singuleto largo a δ 6,30 (que desaparece após adição de D_2O) correspondente ao protão hidroxilo fenólico podem ainda observar-se os seguintes sinais :

- um "quarteto aparente" centrado a δ 5,36 atribuído a dois protões olefínicos;

- dois tripletos parcialmente sobrepostos a δ 2,51 (2H, J=7,0 Hz) e δ 2,61 (2H, J=7,0 Hz) atribuíveis a protões benzílicos;

- dois multipletos centrados a δ 2,00 (4H) e δ 1,66 (4H) ;

- um singuleto largo a δ 1,27 (~ 8H).

A Figura 4, correspondente à ampliação e expansão do espectro na região dos dois protões olefínicos, mostra que o sinal do "quarteto aparente" é de facto um multipleto, devido ao acoplamento de um sistema ABX_2 [150] com constantes de acoplamento de aproximadamente 11 e 5 Hz.

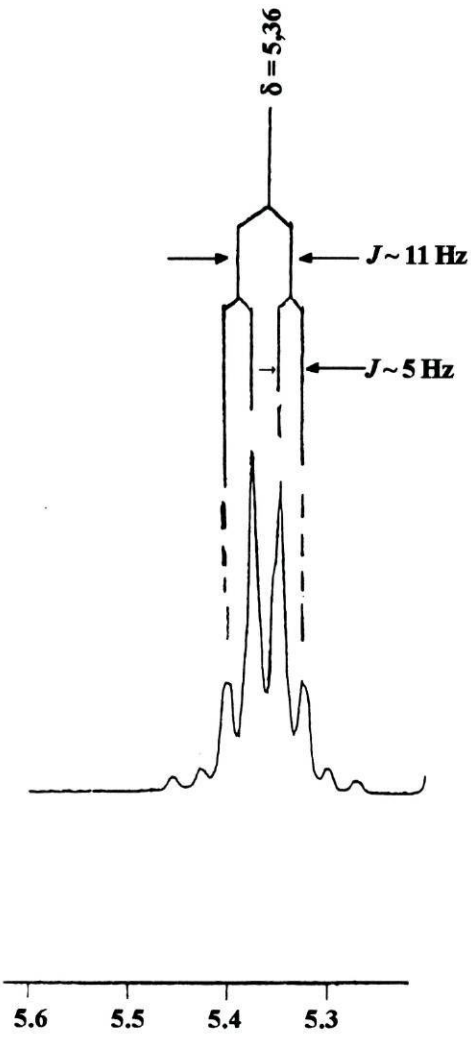
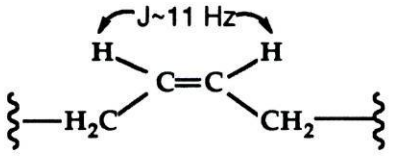


Fig. 4- Ampliação e expansão do espectro de RMN de ^1H na região dos protões olefínicos.

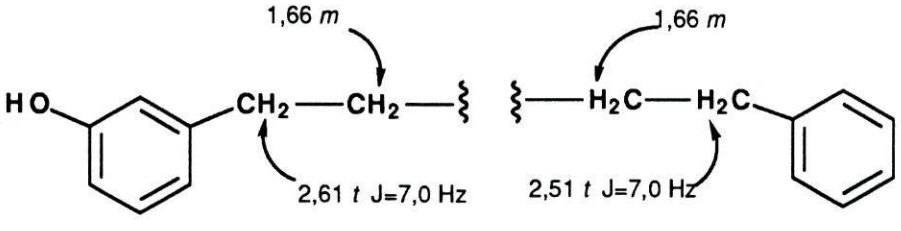
O valor da constante de acoplamento entre os protões olefínicos (~11Hz) indica uma configuração *cis* da ligação dupla [150]:



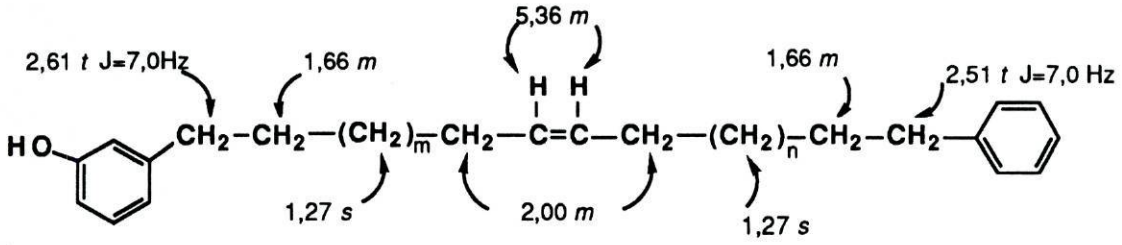
As experiências de desacoplamento na zona dos protões alifáticos, mostram que:

- a irradiação do multipleto centrado a δ 2,00 (4H) provoca a alteração do multipleto centrado a δ 5,36 (2H) sugerindo uma posição alílica para esses protões;

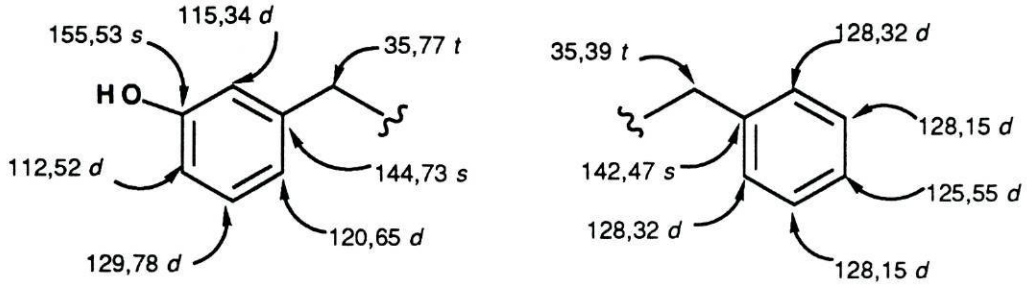
- a irradiação do multipleto centrado a δ 1,66 (4H) leva à alteração dos sinais dos tripletos a δ 2,51 (2H) e δ 2,61 (2H) indicando acoplamentos vicinais:



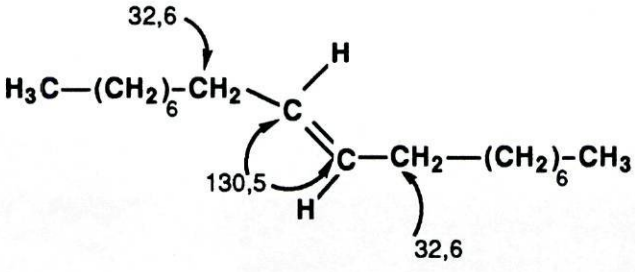
O sinal do singuleto largo a δ 1,27 pode ser então atribuído a protões metilénicos da cadeia alquílica, situados entre os aneis aromáticos e a ligação dupla, correspondendo à estrutura:



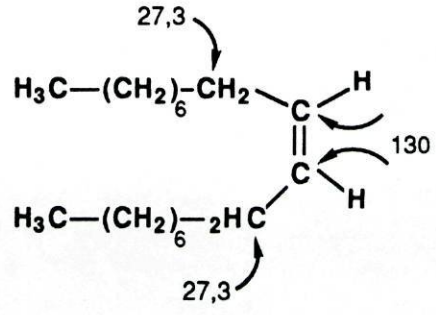
Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e sequência DEPT, pág. 159) evidenciam não só os deslocamentos químicos típicos dos carbonos do anel fenólico 1,3-dissubstituído [151] mas também do grupo fenilo [152]:



Também se confirma a existência da configuração *cis* da ligação dupla, através da comparação com os compostos modelo **8** e **9**. De acordo com Mudd [153] os valores de deslocamento químico dos carbonos sp^2 da ligação dupla (~ 130 ppm) não são significativamente diferentes, quer se trate do isómero *cis* ou *trans*, enquanto que os carbonos alílicos apresentam valores a δ 27 e 33 para os isómeros *cis* e *trans* respectivamente. Os valores do deslocamento químico dos carbonos olefínicos e alílicos do composto em estudo são a δ 129,23, 26,73 e 27,16 respectivamente, concordantes por isso com a configuração *cis* da ligação dupla.

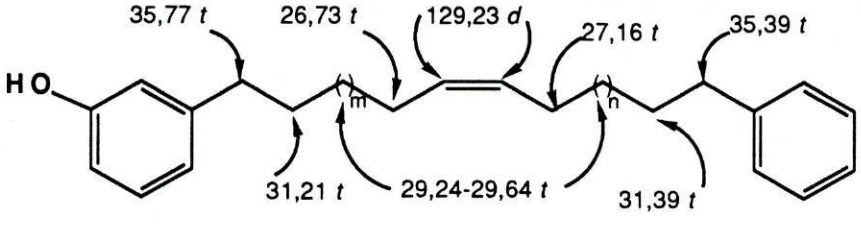


8



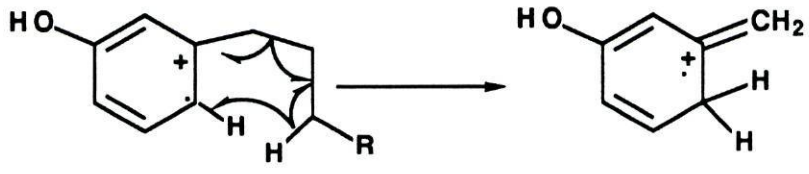
9

Apesar dos sinais evidentes dos carbonos benzílicos a δ 35,77 *t* e 35,39 *t* e dos carbonos vizinhos a δ 31,21 *t* e 31,39 *t*, a tentativa de assinalar a presença de todos os carbonos do composto **1**, através dos dados de RMN de ^{13}C não foi possível, devido à aglomeração dos sinais correspondentes aos carbonos metilénicos situados entre δ 29,24 e δ 29,64:



Como resultado, o espectro de RMN de ^{13}C não permitiu determinar o número de carbonos metilénicos da cadeira lateral.

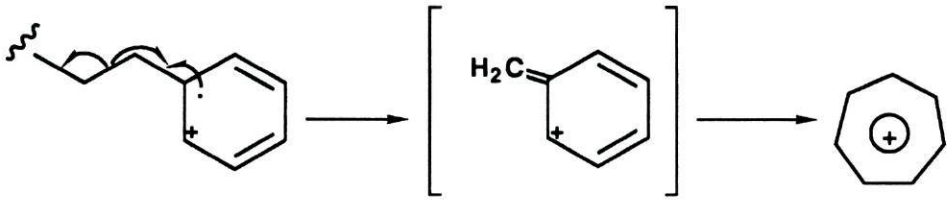
O espectro de massa indicou o valor de massa molecular relativa de 336 u.m.a. Além deste valor, os vários picos mais abundantes do espectro podem indicar o padrão de fragmentação típico do composto em estudo; assim, o fragmento de massa m/e=108, que corresponde ao pico base do espectro, resulta do mecanismo de fragmentação do grupo fenólico 1,3-dissubstituído através do rearranjo de McLafferty (Fig. 5, pág. 55) [154] ;



m/e=108

Fig. 5- Formação do fragmento m/e=108 obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

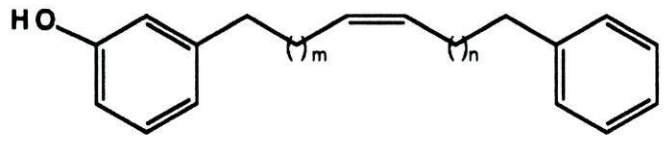
o pico a m/e=91 correspondente ao ião tropílio, devido à cisão da ligação β, confirma também a presença do grupo fenilo (Fig.6) [154].



m/e=91

Fig. 6- Formação do fragmento m/e=91 obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

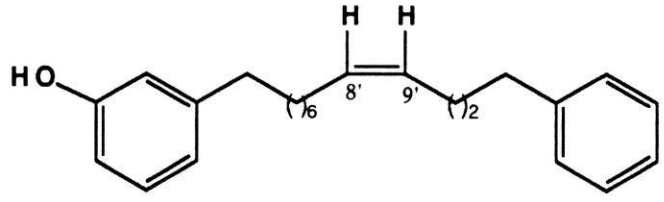
Com base na massa molecular obtida por EM e em conjunto com os espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C, foi possível atribuir ao composto **1** a fórmula molecular $C_{24}H_{32}O$ e a estrutura:



(m+n=8)

A possibilidade da ligação dupla se localizar entre C-8' e C-9' da cadeia lateral, isto é, três carbonos afastada do grupo fenilo terminal é proposta pelos valores de deslocamento químico observados para C-7' (δ 26,73 *t*), C-10' (δ 27,16 *t*), C-11' (δ 31,39 *t*) e C-12' (δ 35,39 *t*).

Consequentemente a estrutura completa para o composto **1** poderá ser :



. Tiometilação

. Introdução

A localização da ligação dupla no composto **1** foi confirmada através da obtenção do seu derivado tiometilado e posteriormente analisado por CG-EM (pág. 157 e 158).

Este método foi utilizado para a determinação da posição da ligação dupla por Buser *et al* [155] em compostos alcénicos de cadeia longa presentes em extractos biológicos [156-162].

A técnica de tiometilação apresenta grandes vantagens sobre outras técnicas (mercuração-desmercuração, por exemplo), devido ao meio homogéneo em que a reacção decorre, podem usar-se quantidades da ordem dos nanogramas e a reacção é quase quantitativa. Além destas vantagens, a tiometilação origina um único producto reaccional, facilmente detectável por espectrometria de massa de impacto electrónico [161].

É de referir que não se encontrou nenhuma referência na bibliografia disponível, relativamente à utilização desta técnica em compostos aromáticos de cadeia longa insaturada.

O mecanismo reaccional ocorre por uma típica reacção de adição com estereoquímica *anti* (Fig.7).

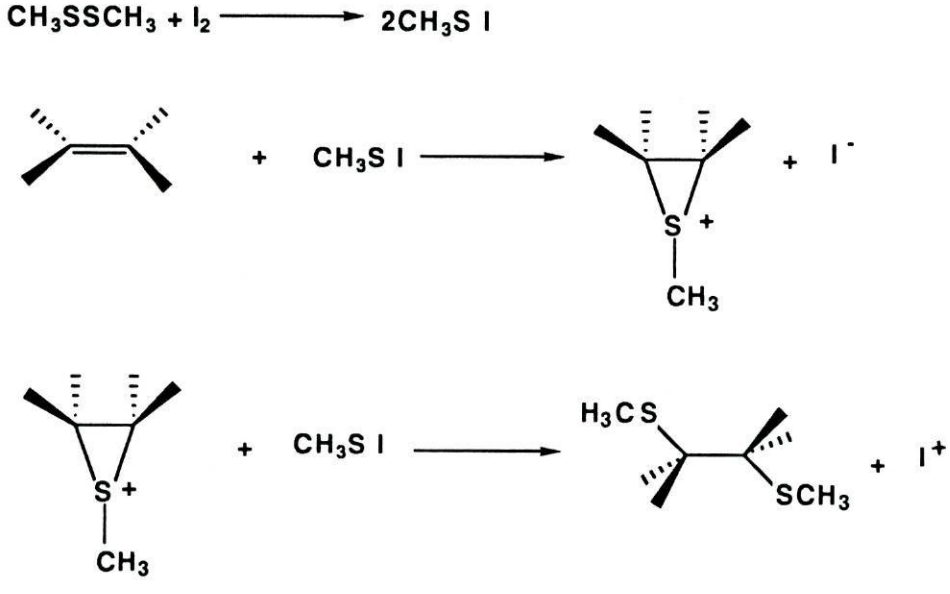


Fig. 7- Reacção geral de tiometilação de alcenos

Comparando os cromatogramas antes e após se proceder à tiometilação, verifica-se que os derivados, devido ao acréscimo de 94 u.m.a. correspondem no cromatograma a maiores tempos de retenção [157,159].

Por EM-IE estes derivados quebram preferencialmente na ligação C-C que contém os substituintes SCH_3 (Fig. 8), originando dois fragmentos maioritários ($\mathbf{A^+}$ e $\mathbf{B^+}$) [158]. O pico molecular é sempre bem visível.

A sensibilidade da detecção foi aumentada fazendo a pesquisa específica do ião com valor de m/e=61 ($CH_3SCH_2^+$) em todos os espectros dos compostos tiometilados e com uma abundância superior a 20% [158].

Para determinar a posição da ligação dupla dos compostos utilizaram-se como iões diagnóstico os fragmentos ($\mathbf{A^+}$) e ($\mathbf{B^+}$).

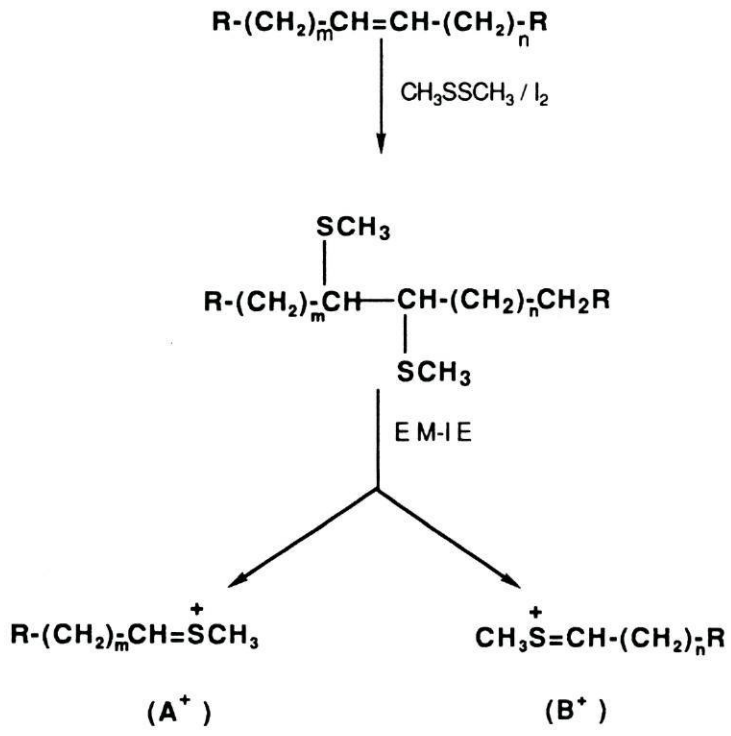


Fig. 8- Localização da ligação dupla em alcenos por tiometilação e EM-IE. ($\mathbf{A^+}$) e ($\mathbf{B^+}$) correspondem aos fragmentos maioritários.

. **Tiometilação do composto 1**

O EM-IE do derivado tiometilado do composto **1** mostra um pico significativo correspondente ao ião molecular com valor de m/e=430 e dois picos com valor de m/e=251 e 179 correspondentes aos fragmentos ($\mathbf{A^+}$) e ($\mathbf{B^+}$) respectivamente. De salientar que o pico base com valor de m/e=131 corresponde ao fragmento ($\mathbf{B^+}$) com perda de $SHCH_3$. O padrão de fragmentação do composto **1** tiometilado (Fig. 9) confirmou a posição da ligação dupla em C-8'.

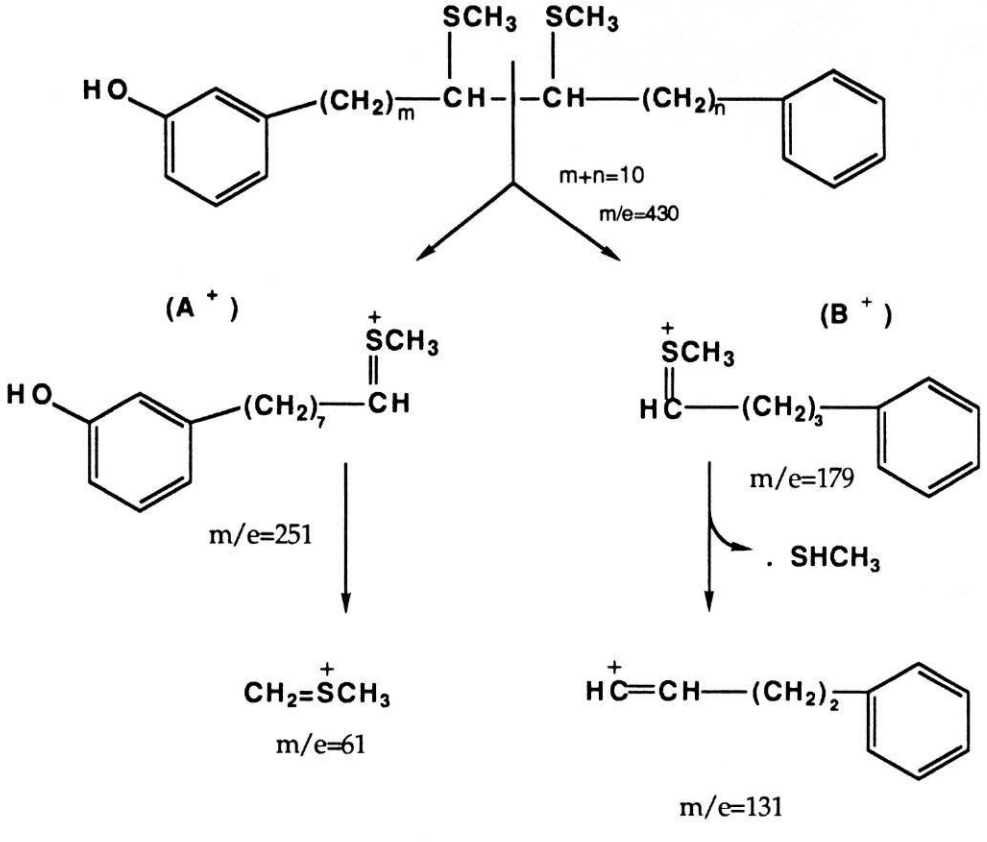


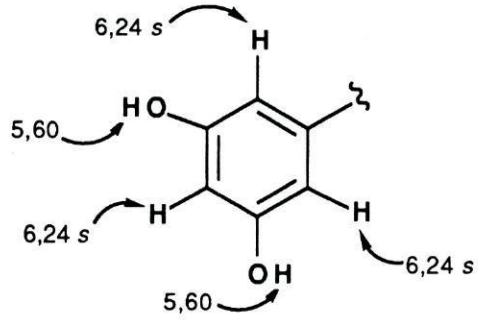
Fig. 9- Esquema de fragmentação do composto **1** tiometilado.

5. 1. 2. 5-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-resorcinol (2)

O espectro no I V (pág. 160) do composto **2** evidencia uma banda larga de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo entre 3200-3600 cm^{-1}, e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1600, 1460 e 1450 cm^{-1}.

O espectro no UV (pág. 160), mostra bandas a 210, 275 e 281 nm (log ε 3,7, 2,7 e 2,7 respectivamente), que em meio alcalino sofrem um deslocamento batocrómico para 216 e 289 nm (log ε 3,9 e 2,9), indicando a presença de grupo hidroxilo fenólico [149].

No espectro de R M N de ^1H a 200 MHz (pág, 161) observa-se um multipleto entre δ 7,16 e 7,28 (5H) correspondente a protões aromáticos de um grupo fenilo semelhante ao do composto **1**. Um singuleto ligeiramente alargado a δ 6,24 (3H), (que não desaparece após adição de D_2O) é atribuído a protões aromáticos. Uma banda larga centrada a δ 5,60 (2H) corresponde a protões de grupo hidroxilo fenólico. Estes valores de deslocamento químico sugerem a presença de um núcleo resorcinol monossubstituído referente à estrutura parcial [46,163-165]:



Na região dos protões alifáticos, os protões olefínicos a δ 5,36 (2H) correspondem a um sistema ABX_2 com constantes de acoplamento de 11 e 5 Hz, indicando a natureza *cis* da ligação dupla [150]. Os dois tripletos a δ 2,61 (2H, J=7,5 Hz) e δ 2,45 (2H, J=7,5 Hz) são atribuíveis a protões benzílicos e os dois multipletos centrados a δ 2,02 (4H) e δ 1,63 (4H), sugerem uma posição vicinal dos protões olefínicos e benzílicos respectivamente. A campo mais alto aparecem ainda dois singuletos largos a δ 1,27 e δ 1,25 (~8H).

Para confirmar a presença dos dois grupos hidroxilo procedeu-se à acetilação do composto com anidrido acético e piridina [166]. O espectro de R M N de ^1H do derivado acetilado (pág.161) indica, além do sinal a δ 2,28 referente a dois grupos metilo de grupos acetoxilo equivalentes, ligados ao núcleo aromático, um deslocamento para campo mais baixo dos três protões aromáticos para δ 6,80 (2H, *d*, J=2,0 Hz) e δ 6,74 (1H, *d*, J=2,0 Hz). Como se observa na Fig. 10, os valores de deslocamento químico e constantes de acoplamento indicam que estes três protões, além de se encontrarem em posição *meta* dois deles são equivalentes. No espectro da região alifática verifica-se também que um dos tripletos a δ 2,45 é deslocado para campo mais baixo (δ 2,59), coincidindo com o sinal do outro tripleto do grupo benzílico.

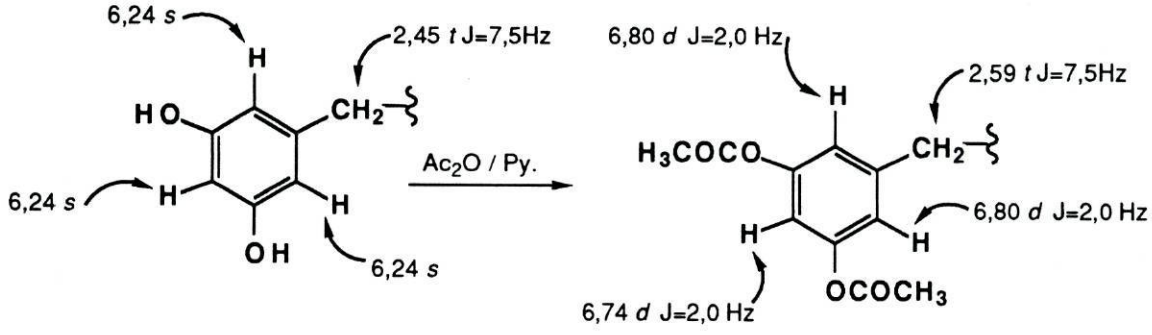
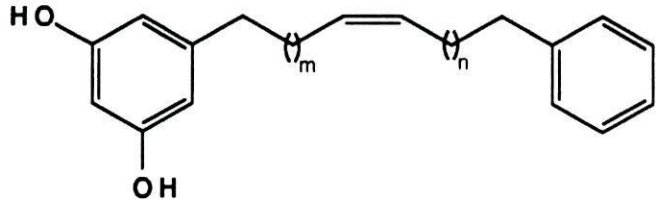


Fig. 10- Valores de deslocamento químico dos espectros de RMN de ^1H do composto **2** e do derivado acetilado.

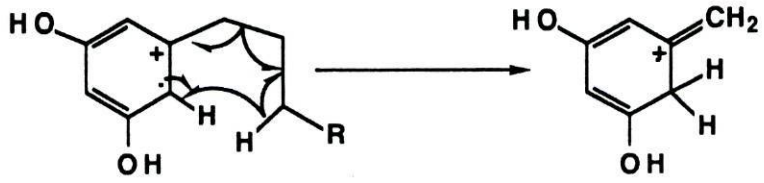
Os valores de deslocamento químico dos espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT, pág. 161), confirmam não só a presença do grupo fenilo (δ 142,59 *s*, 128,39 *d*, 128,22 *d*, 125,61 *d*) [152], como também de um anel resorcinol *meta* substituído (δ 156,50 *s*, 146,12 *s*, 142,94 *s*, 108,03 *d*, 100,17 *d*). Na região alifática, os valores de deslocamento químico dos átomos de carbonos da cadeia lateral (δ 129,82 *d*, 129,29 *d*, 35,80 *t*, 35,45 *t*, 31,75 *t*, 31,45 *t*, 29,23 *t*, 28,86 *t* 27,20 *t*, 26,60 *t*) são semelhantes aos do composto **1**.

De igual modo os valores de deslocamento químico dos átomos dos carbonos alílicos a δ 27,20 e 26,60, são idênticos aos do composto **1** e tal como discutido anteriormente, a presença destes sinais confirma a configuração *cis* da ligação dupla [153].

Com base nos dados de IV, UV, RMN de ^{1}H e ^{13}C do composto e do seu derivado acetilado, propomos para o composto em estudo uma estrutura como:



Do espectro de massa do composto **2** pode salientar-se o pico de m/e=124 correspondente ao fragmento do núcleo do resorcinol substituído formado pelo rearranjo de McLafferty (Fig.11, pág. 63) e o pico de m/e=91 [154].

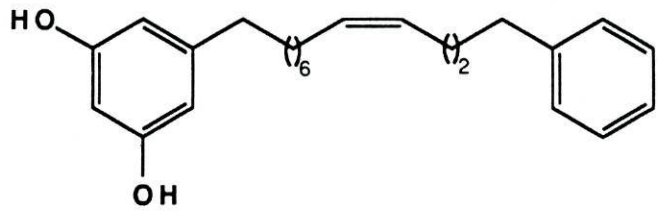


m/e=124

Fig. 11- Formação do fragmento m/e=124 obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

O valor de massa molecular relativa de 352 u.m.a., permite propôr o valor de m+n=8.

Tendo em conta a semelhança dos dados espectroscópicos relativamente ao composto **1**, poderá apontar-se como localização da ligação dupla o carbono 8'. A estrutura do composto **2** poderá corresponder a :



Para confirmar a localização da ligação dupla recorreu-se à preparação do derivado tiometilado seguido de análise por CG-MS (pág. 157 e 158).

. Tiometilação do composto 2

O EM-IE do derivado tiometilado do compostro **2** (pág. 64), mostra um pico significativo com valor de m/e=492 referente à adição de 94 u.m.a. relati

vamente à adição de dois grupos SCH_3 à ligação dupla e de mais 46 u.m.a. resultantes da afectação do núcleo aromático hidroxilado. Os restantes picos do espectro com valores de m/e=313 e m/e=179, referem-se aos fragmentos (**A**$^+$) e (**B**$^+$). A Fig. 12 mostra o padrão de fragmentação do composto **2** tiometilado, o qual confirma a posição da ligação dupla entre C-8' e C-9'.

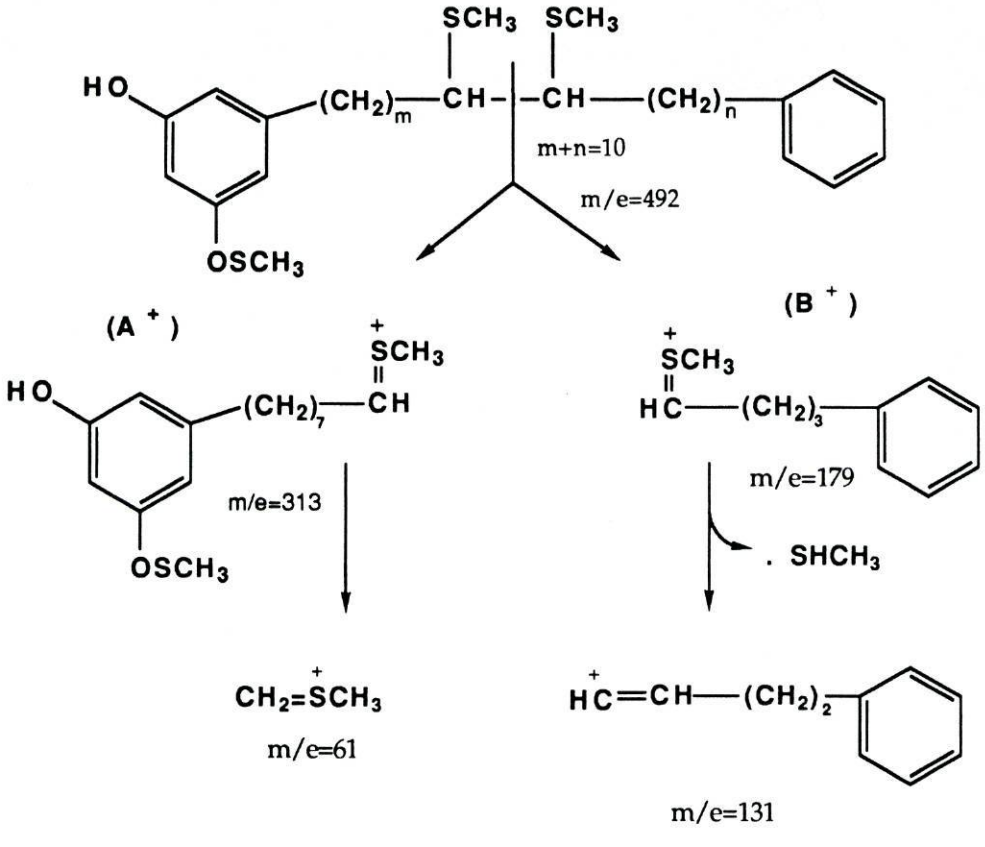


Fig. 12- Esquema de fragmentação do composto **2** tiometilado.

5. 1. 3. Derivados de Ácidos Anacárdicos 3, 4, 5

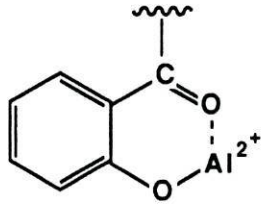
Os compostos **3, 4** e **5** cocristalizaram em metanol. A técnica de cromatografia de gele de sílica em camada fina e a cromatografia radial (cromatotron) não permitiram separar estes três compostos.

A sua separação só foi possível através da técnica de HPTLC de fase reversa RP-18 (pág. 154).

5. 1. 3. 1. Ácido 2-hidroxi-6-(10-fenildecil)-benzóico (3)

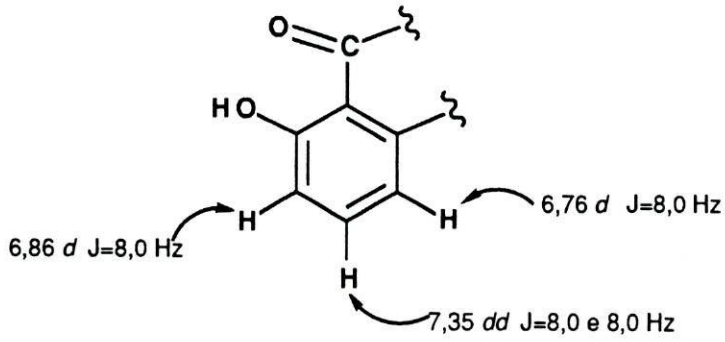
O espectro no I V do composto **3** (pág, 162) evidencia uma banda larga de absorção de estiramento entre 3400-3600 cm^{-1} característica de grupo hidroxilo, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1600, 1580, 1490 e 1450 cm^{-1}, semelhantes às bandas observadas no espectro de IV do composto **1** e **2** e uma banda de forte intensidade a 1650 cm^{-1} que poderá corresponder a um grupo carbonilo conjugado.

Através do espectro no UV (pág. 162) verificou-se a presença de bandas de absorção a 217, 242, 288 e 308 nm (log ε 4,2, 3,6, 3,1 e 3,4 respectivamente), que sofrem um deslocamento batocrómico para 289 e 315 nm (log ε 3,1 e 3,3), provocado pela adição de uma solução metanólica de cloreto de alumínio, irreversível após a adição de uma solução ácida. Este facto poderá indicar a existência de um sistema *orto*-hidroxibenzoílico [149]:

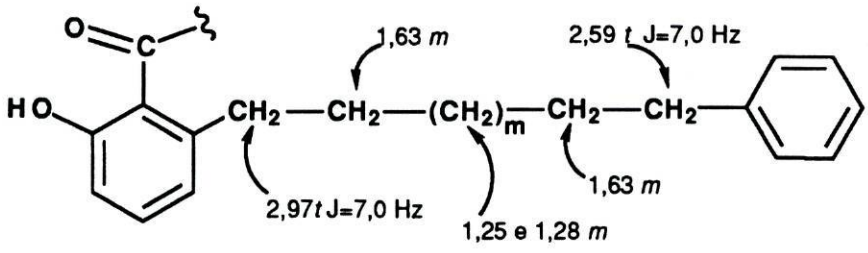


O espectro de R M N de ^1H a 200 MHz (pág, 163) revela sinais entre δ 6,9 e δ 7,4 (8H) referentes a protões aromáticos. A análise da expansão do espectro nesta região mostra claramente a presença de um multipleto entre δ 7,14 e 7,26 (5H) característicos de grupo fenilo como observado nas estruturas **1** e **2**.

Os restantes protões aromáticos correspondem a um duplo dupleto a δ 7,35 (1H, J=8,0 e 8,0 Hz) e dois dupletos a δ 6,86 (1H, J=8,0 Hz) e δ 6,76 (1H, J=8,0 Hz). As experiências de desacoplamento mostram que, a irradiação do duplo dupleto a δ 7,35 altera os sinais dos dois dupletos a δ 6,86 e δ 6,76. Este padrão de acoplamento, em conjunto com os valores de deslocamento químico destes protões, revelam a presença de um grupo fenólico 1,2,3-trissubstituído [32]:



Na região dos protões alifáticos, o espectro R M N de ^1H não mostra sinais de protões olefínicos (~ 5 ppm) mas apenas dois tripletos a δ 2,97 (2H, J=7,0 Hz) e δ 2,59 (2H, J=7,0 Hz) atribuídos a protões benzílicos. Além destes sinais, observa-se um multipleto centrado a δ 1,63 (4H) que, através das experiências de desacoplamento, mostrou acoplamento vicinal com os quatro protões benzílicos. A campo mais alto, ainda se podem observar dois singuletos largos a δ 1,25 e δ 1,28 (12H) correspondentes a protões metilénicos de uma cadeia alquílica, entre dois aneis aromáticos:

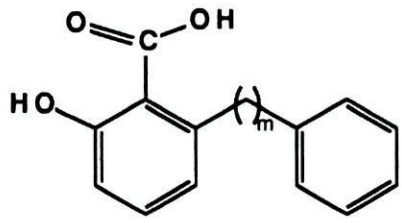


Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT, pág. 163) além de evidenciarem um singuleto a δ 175,53 típico de um carbono carbonílico de ácido carboxílico [167], mostram valores de deslocamento químico de grupo fenilo semelhantes ao do composto **1** (δ 142,94 *s*, 128,39 *d*, 128,20 *d*, 125,54 *d*) e de átomos de carbonos de anel aromático trissubstituído (δ 163,55 *s*, 147,64 *s*, 135,27 *d*, 122,68 *d*, 115,82 *d*, e 110,53 *s*) [30].

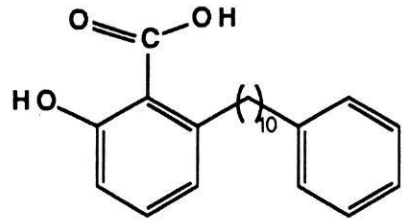
O sinal a δ 163,55 poderá corresponder a um carbono ligado a um grupo hidroxilo fenólico enquanto que o carbono a δ 110,53 poderá estar ligado a um grupo atractor de electões, neste caso o grupo carbonilo [168]. O singuleto a δ 147,64 deverá ser atribuído a um carbono aromático ligado a um grupo alquilo [168].

Na região dos carbonos alifáticos, além dos dois carbonos benzílicos a δ 36,47 *t* e 35,97 *t*, observam-se mais dois valores de deslocamento químico de carbonos adjacentes aos carbonos benzílicos a δ 32,02 *t* e 31,50 *t*. Os restantes carbonos metilénicos aparecem como um conjunto de picos sobrepostos entre δ 29,57 e 29,73. Não se observam sinais correspondentes a carbonos metínicos nem metílicos no espectro.

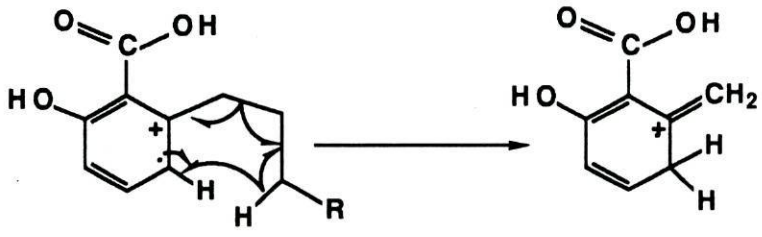
Combinando os dados retirados dos espectros no IV, UV de RMN de ^{1}H e ^{13}C, pode concluir-se que o composto **3** possui a estrutura:



Como o espectro de RMN de ^{13}C não permitiu determinar o número de carbonos da cadeia alquílica, devido à aglomeração de sinais dos carbonos metilénicos, recorreu-se à espectrometria de massa para determinar o número de grupos metilénicos entre os aneis aromáticos. O espectro de massa mostrou o pico do ião molecular de m/e=354 que, em conjunto com os espectros de RMN de ^{1}H e ^{13}C, indica a fórmula molecular $C_{23}H_{30}O_3$ e a estrutura do composto **3** corresponde a:



Do espectro de massa poderá salientar-se o pico base de m/e=91, atribuído ao ião tropílio obtido pela cisão β do grupo fenilo [19] e o pico de m/e 152 correspondente ao fragmento devido ao rearranjo McLafferty do anel *orto*-hidroxibenzóico [154] (Fig.13,pág. 69)



m/e=152

Fig. 13- Formação do fragmento m/e=152 obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

5. 1. 3. 2 Ácido 2-hidroxi-6-(12-fenildodecil)-benzóico (4)

O espectro no I V do composto **4** (pág, 163) é quase sobreponível ao espectro do composto **3**, sendo as bandas de absorção de estiramento entre 3400-3600 cm^{-1} características de grupo hidroxilo, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1600, 1580, 1490 e 1480 cm^{-1} e uma banda de forte intensidade a 1650 cm^{-1} que poderá corresponder a um grupo carbonilo conjugado.

Tanto o espectro de R M N de ^{1}H a 200 MHz (pág, 163) como o espectro de R M N de ^{13}C (pág. 164) são quase coincidentes com os do composto **3**, revelando valores de deslocamento químico típicos de derivado de ácido anacárdico. As Tabelas 1 e 2 (pág. 70 e 71) permitem, comparar os valores de deslocamento químico de protão e carbono entre os compostos **3** e **4**.

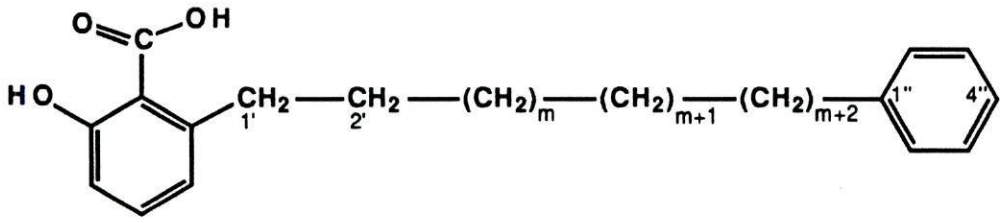


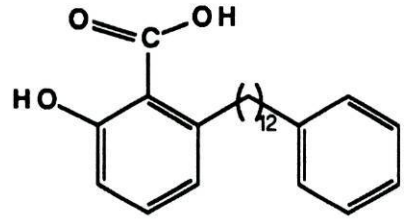
Tabela 1 - Valores de δ de ^1H dos compostos **3** e **4**.

^1H	composto **3** (*J*, Hz)	composto **4** (*J*, Hz)
H-4	7,35, *dd* (8,0 e 8,0)	7,35, *dd* (8,0 e 8,0)
H-2''-H- 6''	7,14-7,26, *m*	7,16-7,25, *m*
H-3	6,86, *d* (8,0)	6,87, *dd* (8,0 e 1,0)
H-5	6,76, *d* (8,0)	6,77, *dd* (8,0 e 1,0)
2 H-1'	2,97, *t* (7,0)	2,97, *t* (7,0)
2 Hm+2	2,59, *t* (7,0)	2,59,*t* (7,0)
2 H-2', 2 Hm+1	1,63, *m*	1,59, *m*
$(CH_2)_m$	1,28 e 1,25, sl	1,26, sl

Tabela 2- Valores de δ de ^{13}C dos compostos **3** e **4**.

^{13}C	composto **3**	composto **4**
COOH	175,53	175,59
C-2	163,57	163,59
C-6	147,64	147,79
C-1''	142,94	142,93
C-4	135,27	135,38
C-3'', C-5''	128,39	128,36
C-2'', C-6''	128,20	128,16
C-4''	125,54	125,51
C-5	122,68	122,73
C-3	115,82	115,86
C-1	110,53	110,46
C-1'	36,47	36,43
C-m+2	35,97	35,98
C-2'	32,02	31,99
C-m+1	31,50	31,48
C-m	29,73 e 29,57	29,69 e 29,53

A única diferença significativa entre os compostos **3** e **4** relaciona-se com os seus espectros de massa. O espectro de massa do composto **4** mostra, apesar da semelhança do padrão de fragmentação com o composto **3**, a massa molecular relativa de 382 u.m.a.. Esta diferença corresponde a mais dois grupos metilénicos na cadeia lateral correspondendo o composto **4** ao ácido 2-hidroxi-6-(12-fenildodecil)-benzóico.



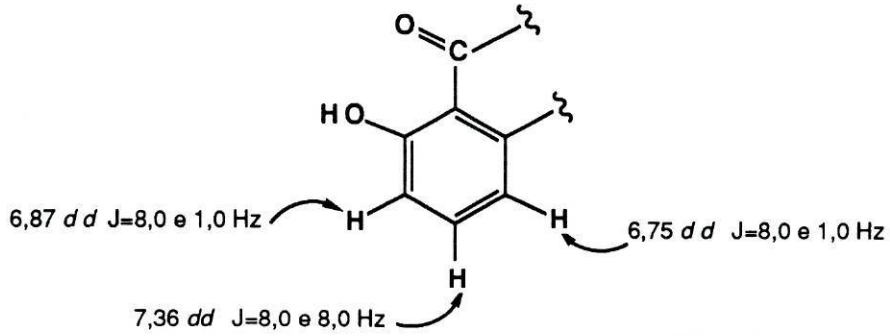
4

5. 1. 3. 3. Ácido 2-hidroxi-6-(8Z-pentadecenil)-benzóico (5)

O espectro no IV do composto **5** (pág. 164) evidencia uma banda larga de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo entre 3200-3600 cm^{-1}, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1600, 1580 cm^{-1} e uma banda de forte intensidade a 1650 cm^{-1} que poderá ser atribuída a um grupo carbonilo conjugado.

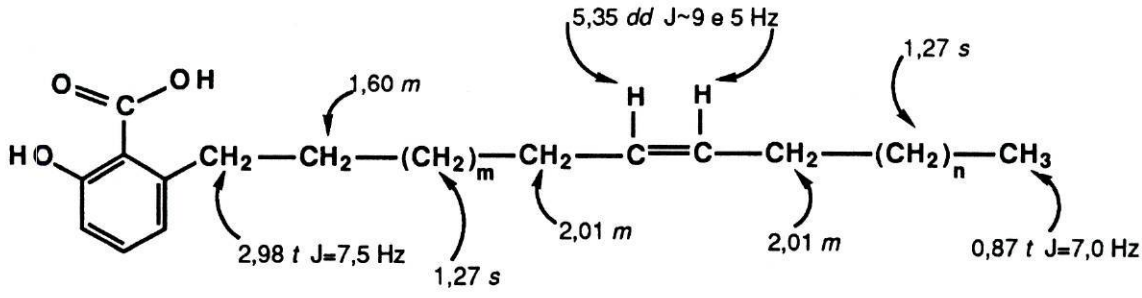
O espectro no UV (pág. 164), mostra bandas de absorção a 206 e 303 nm (log ε 4,7 e 3,7 respectivamente), que sofrem um deslocamento batocrómico para 303 e 312 nm (log ε 4,7 e 3,5 respectivamente) provocado pela adição de uma solução metanólica de cloreto de alumínio. Este deslocamento mantém-se irreversível após adição de uma solução ácida indicando a presença de um sistema *orto*-hidroxibenzoílico [149] semelhante aos dos compostos **3** e **4**.

O espectro de R M N de ^1H a 200 MHz (pág, 165) revela sinais referentes a três protões aromáticos entre δ 6,8 e δ 7,4. A análise da expansão do espectro nesta região evidencia três duplos dupletos a δ 7,36 (1H, J=8,0 e 8,0 Hz), δ 6,87 (1H, J=8,0 e 1,0 Hz) e δ 6,75 (1H, J=8,0 e 1,0 Hz). Tendo em conta os valores de deslocamento químico dos três protões aromáticos, as multiplicidades e o padrão de acoplamento, sugere-se a presença do anel 1,2,3-trissubstituído [30,32] como encontrado no composto **3**



Por analogia com os dados referentes aos compostos **1** e **2**, os protões olefínicos a δ 5,35 e as constantes de acoplamento de aproximadamente 9 e 5 Hz, sugerem a presença de uma ligação dupla com configuração *cis*. Além deste sinal, observa-se um tripleto a δ 2,98 (2H, J=7,5 Hz), e dois multipletos centrados a δ 2,01 (4H) e a δ 1,60 (2H), correspondentes a protões metilénicos adjacentes aos protões olefínicos e benzílicos respectivamente. A campo mais alto surge um singuleto largo a δ 1,27 (~16H) e um tripleto a δ 0,87 (3H, J=7,0 Hz) este último atribuído a um grupo metilo terminal.

Os dados até agora analisados sugerem uma estrutura análoga às estruturas dos compostos **3** e **4** diferindo apenas na cadeia lateral insaturada e no grupo metilo terminal.



Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT, pág. 165) confirmam não só a presença do ácido *orto*-hidroxibenzóico [30,32] idêntico aos compostos **3** e **4** (δ 175,37 *s* C=O, 163,60 *s*, 147,65 *s*, 135,27 *d*, 122,68 *d*, 115,82 *d*, e 110,49 *s*) como também a ausência de outro anel aromático no composto **5**.

O sinal de deslocamento químico a δ 129,84 é atribuído aos dois carbonos olefínicos. A configuração *cis* da ligação dupla foi deduzida através dos mesmos argumentos usados para os compostos **1** e **2**, baseados nos valores de deslocamento químico dos carbonos alílicos a δ 27,20 [153]. Os restantes valores de deslocamento químico dos carbonos alifáticos (δ 36,47 *t* e δ 32,01 *t*, 31,78 *t*, 30,92 *t*, 29,73 *t*, 28,99 *t*, 22,66 *t*) são característicos de uma cadeia lateral alquílica insaturada e o valor a δ 14,09 é referente a um grupo metilo terminal [169].

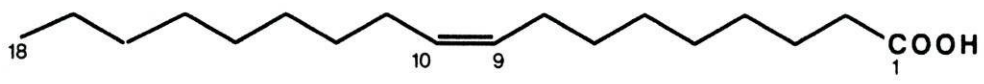
Além do pico de m/e=152, correspondente ao ião formado pelo rearranjo de McLafferty a partir do ácido 2-hidroxibenzóico, o espectro de massa ainda mostra o pico do ião molecular a 346 u.m.a..

Conjugando toda a informação fornecida pelos espectros no IV, UV, RMN de ^{1}H e ^{13}C, anteriormente descritos, o composto **5** deve possuir a fórmula molecular $C_{22}H_{34}O_3$ em que o valor de m+n é igual a 8.

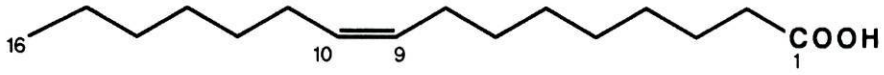
A única dúvida na estrutura do composto é a posição da ligação dupla. Na ausência de picos característicos devidos aos fragmentos formados pela quebra da ligação na posição β à dupla ligação, no espectro de massa, os únicos dados disponíveis para uma tentativa de localizar a posição da ligação dupla são os valores de deslocamento químico do espectro de RMN de ^{13}C.

Como a cadeia lateral do composto **5** contém a ligação dupla e o grupo metilo terminal, usaram-se compostos modelo derivados dos ácidos gordos insaturados [170] e comparam-se os valores de deslocamento químico dos seus carbonos com os do composto **5** (Tabela 3, pág. 76). A escolha destes compostos modelo foi baseada não só na configuração *cis* da ligação dupla, mas também no número de grupos metilénicos entre o grupo metilo terminal e a ligação dupla, sendo sete no ácido oleico **(10)**, cinco no ácido pal-

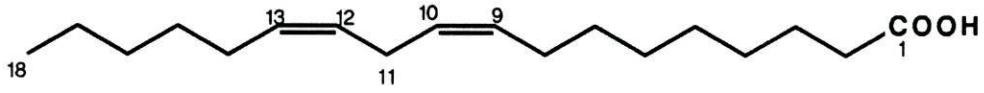
mitoleico **(11)**, quatro no ácido linoleico **(12)**, três no acetato de *cis*-7-dodecenilo **(13)** e dois no acetato de *cis*-8-dodecenilo **(14)**.



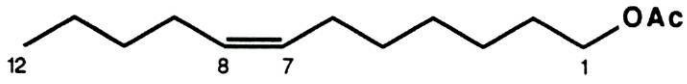
10



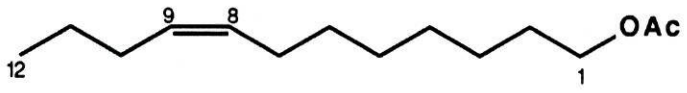
11



12



13



14

Os valores mais baixos de deslocamento químico dos carbonos do grupo metilo terminal dos compostos **12, 13,** e **14** (δ 13,8; 13,6 e 13,3) e dos carbonos alílicos do composto **13** (δ 26,6) bem como os valores bastante altos dos carbonos alílicos dos compostos **12** e **14** (δ 27,9 e 28,7), permitiram optar pelos compostos **10** e **11**.

Tabela 3 - Valores de δ de ^{13}C dos compostos **10, 11, 12, 13** e **14**.

^{13}C	comp.**10**	comp. **11**	comp. **12**	comp. **13**	comp. **14**
C-1	180,3	180,3	180,2	64,1	64,1
C-2	34,0	34,2	33,8	28,2	28,2
C-3	24,5	24,6	24,4	25,5	25,4
C-4	29,0	29,1	28,9	28,5	28,7
C-5	29,0	29,1	28,9	29,2	28,7
C-6	29,3	29,1	28,9	26,6	29,2
C-7	29,5	29,7	29,4	129,4	26,8
C-8	27,0	27,2	27,9	129,7	129,4
C-9	129,6	129,8	129,6	26,6	129,4
C-10	129,8	130,2	127,7	31,6	28,7
C-11	27,0	27,2	25,3	22,0	22,5
C-12	29,5	29,7	127,7	13,6	13,3
C-13	29,3	29,1	129,8	--	--
C-14	29,0	31,9	27,9	--	--
C-15	29,0	22,7	28,9	--	--
C-16	31,8	14,1	31,1	--	--
C-17	22,7	--	22,4	--	--
C-18	13,9	--	13,8	--	--

Embora os valores de deslocamento químico dos carbonos alílicos e do grupo metilo terminal do composto **5** (δ 27,20 *t* e 14,09 *q*) sejam mais próximos dos do ácido palmitoleico **(11)** (δ 27,2 e 14,1) do que do ácido oleico **(10)** (δ 27,0 e 13,9), a opção por cinco ou sete grupos metilénicos entre a ligação dupla e o grupo metilo terminal para o composto **5** não foi decisiva devido à semelhança dos valores de deslocamento químico dos restantes carbonos.

Para confirmar a localização da ligação dupla, recorreu-se à preparação do derivado tiometilado, seguido de análise por CG-MS (pág. 157 e 158)..

. Tiometilação do composto 5

O EM-IE do derivado tiometilado do compostro **5** mostra um pico significativo com valor de m/e=396 referente à descarboxilação e adição de 94 u.m.a.. Os restantes picos do espectro com valores de m/e=251 e m/e=145, são os picos mais intensos e referem-se aos fragmentos (**A**$^+$) e (**B**$^+$).

A Fig. 14 (pág. 78) mostra o padrão de fragmentação do composto **5** tiometilado, o qual confirma a posição da ligação dupla em C-8'.

Os compostos **1, 2, 3, 4** e **5** isolados neste trabalho são derivados dos ácidos anacárdicos, cardóis e cardanóis contendo uma cadeia n-alquilfenílica, excepto o composto **5** com uma cadeia alquílica.

O composto **1** é descrito pela primeira vez, enquanto que os compostos **2, 3, 4** e **5** foram isolados do óleo das sementes de *Knema elegans* após conversão em ésteres acetilmetílicos e a sua separação por HPLC (coluna de fase reversa) [27]. O composto **4** foi também isolado de espécies de *Knema furfuracea* [30] e *Knema tenuinervia* (*Myristicaceae*) [32], enquanto que o composto **5** foi isolado do óleo da casca de castanha de cajú (*Anacardiaceae*) [34-36].

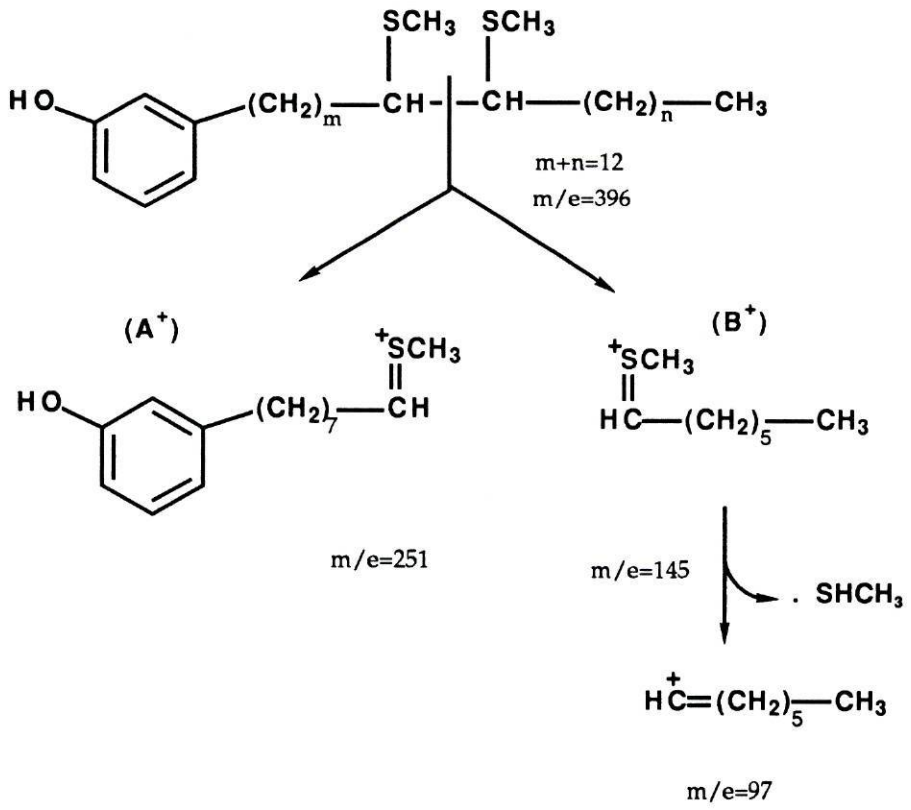


Fig. 14- Esquema de fragmentação por EM do composto **5** tiometilado.

5. 1. 4. 2,4-Diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona (6)

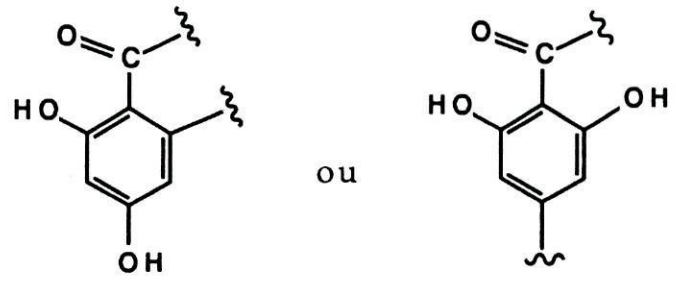
A análise do espectro no IV do composto **6** (pág. 166), não mostrou grande diferença com os dos compostos **3, 4** e **5** evidenciando uma banda larga de absorção de estiramento característica do grupo hidroxilo entre 3200-3600 cm^{-1} e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1590, 1490 e 1450 cm^{-1}. No entanto, a banda de forte intensidade, que poderá corresponder a um grupo carbonilo conjugado, é encontrada a menor frequência a 1620 cm^{-1}, relativamente a 1650 cm^{-1} para os compostos **3, 4** e **5**.

O espectro no UV (pág, 166), mostra bandas de absorção a 203 e 276 nm (log ε 3,3 e 2,7 respectivamente) que, em meio alcalino, sofrem um deslocamento batocrómico para 209 e 332 nm (log ε 4,4 e 3,0 respectivamente), indicando a presença de grupo hidroxilo fenólico. A formação de um quelato, após adição de cloreto de alumínio, estàvel em meio ácido, é indicativa da existência de um sistema *orto*-hidroxibenzoílico [149].

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág, 166), mostra um singuleto largo a δ 13,18 (2H), um multipleto entre δ 7,15 e 7,30 (5H) e um singuleto largo a δ 6,27 (2H). Após adição de D_2O apenas desaparece o sinal a δ 13,18. Este facto não só mostra que este sinal pertence aos grupos hidroxilo fenólico, devendo um deles estar em ponte de hidrogénio intramolecular com o grupo carbonilo na posição *orto*, mas também que o singuleto largo a δ 6,27 poderá corresponder a dois protões aromáticos especialmente protegidos.

Os valores de deslocamento químico entre δ 7,15 e δ 7,30 (5H) são, sem dúvida, pertencentes a um grupo fenilo análogo ao dos compostos **1, 2, 3** e **4**.

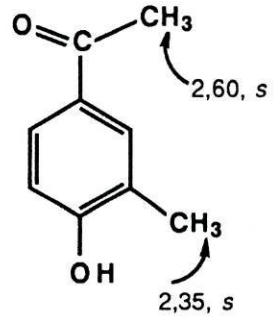
A ausência de protões de grupo metoxilo no espectro de RMN de ^1H faz supôr que os dois protões aromáticos, com valor de deslocamento químico a δ 6,27, deverão situar-se no anel fenólico de acordo com as estruturas parciais:



Na região alifática do espectro, os protões metilénicos da cadeia alquílica saturada são observados como :

- dois tripletos correspondentes a protões benzílicos a δ 2,78 (2H, J=7,4 Hz) e δ 2,59 (2H, J=7,4 Hz), um multipleto a δ 1,59 (4H) e um singuleto δ 1,29 (~ 12H) referente a protões metilénicos. Além destes sinais, a presença de um singuleto a δ 2,62 (3H), sobreposto ao tripleto a δ 2,59, pode através do seu valor de deslocamento químico, corresponder à presença de um grupo metilo ligado a um carbono sp^2 não protonado.

A ausência de sinais de protões olefínicos contribui para eliminar a hipótese da ligação deste grupo metilo a uma ligação dupla. Consequentemente, o grupo metilo poderá estar ligado a um anel aromático ou a um grupo carbonilo. A opção pela segunda hipótese foi baseada na comparação dos valores de protões metílicos do composto **6** com os do composto modelo **15** [171]:



15

Como se pode observar, a diferença entre o valor de deslocamento químico do grupo metilo ligado a um anel aromático (δ 2,35) e dos protões metílicos ligados ao grupo carbonilo (δ 2,60 ppm) é muito significativa.

A acetilação do composto **6** (pág., 167) foi efectuada para confirmar a existência de dois grupos hidroxilo fenólico e determinar as suas posições no anel aromático. A análise dos espectros de RMN de ^1H (Tabela 4 pág. 82) do composto original e do seu derivado acetilado mostra, a presença de dois singuletos a δ 2,28 (3H) e 2,25 (3H) correspondentes a dois grupos metilo de grupos acetoxilo ligados a núcleo aromático. Observa-se também um deslocamento para campo mais baixo do singuleto largo referente aos protões aromáticos de δ 6,27 para δ 6,86. A diferença de deslocamento químico de 0,59 ppm indica que estes protões estão situados em posição *orto* relativamente aos grupos hidroxilo fenólicos sofrendo um efeito paramagnético após acetilação.

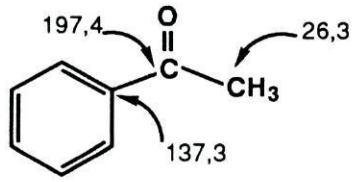
Pelo contrário, os protões metílicos (δ 2,62, *s*) e benzílicos (δ 2,78, *t*) foram deslocados para campo mais alto, para δ 2,46 e 2,59 respectivamente, o que indica claramente que um grupo carbonilo está em posição *orto* aos grupos hidroxilo fenólico e benzílico, apoiando a estrutura de 2,4-diidroxibenzoílo para o composto **6**.

Tabela 4- Valores de δ de ^1H do composto **6** e derivado acetilado.

^1H	composto **6** (J, Hz)	Deriv. acetil (J, Hz)	Δ ppm
2 OH	13,18, *s*, 1	-	
H-2"- 6"	7,15-7,30, *m*	7,16-7,27, *m*	
H-3, 5	6,27, *s*, 1	6,86, *s*, 1	0,59
$ArCH_2$	2,78, *t*, (7,4)	2,59, *t*, (7,4)	0,19
$ArCH_2$	2,59, *t*, (7,4)	2,54, *t*,(8,0)	
$COCH_3$	2,62, *s*	2,46, *s*	0,16
2 (CH_2)	1,59, *m*	1,59, *m*	
6 (CH_2)	1,29, *s*, 1	1,25, *s*, 1	
$OCOCH_3$	-	2,28, *s*	
$OCOCH_3$	-	2,25, *s*	

Os dados de RMN de ^{13}C (BB e sequência DEPT, pág. 166) do composto **6** também corroboram a existência da estrutura 2,4-diidroxibenzoílo, através da presença de seis valores de deslocamento químico dos carbonos de um grupo fenilo tetrassubstituído C-2 (165,68 *s*), C-4 (161,42, *s*), C-6 (147,89 *s*), C-1 (115,04 *s*), C-3 (110,92 *d*) e C-5 (101,56 *d*), enquanto que, na estrutura, 2,6-diidroxibenzoílo, que é simetricamente substituída, os carbonos aromáticos evidenciam apenas quatro sinais [172,173].

Nestes espectros ainda se observa a presença de um sinal correspondente a carbono carbonílico de cetona a δ 204,51, e os sinais de carbono de grupo fenilo C-1" (142,84 *s*), C-2" e C-6" (128,32 *d*), C-3" e C-5" (128,16 *d*), e C-4" (125,50 *d*), dos carbonos benzílicos (36,25 *t* e 35,90 *t*) e carbonos adjacentes (32,16 *t* e 31,42 *t*). O valor de deslocamento químico do carbono metílico do grupo metilcetona a δ 32,03 do composto **6** é bastante mais alto do que o correspondente carbono metílico de uma acetofenona **(16)** (δ 26,3) [174].



16

Este facto poderá ser devido à presença do grupo hidroxilo em posição *orto* ao grupo carbonilo, formando com este ponte de hidrogénio intramolecular.

Devido à sobreposição dos vários sinais entre δ 29,63 e 29,33, não foi possível determinar o número de carbonos metilénicos da cadeia que liga os dois aneis aromáticos.

O espectro de massa de baixa resolução indicou a massa molecular relativa de 368 u.m.a., o que equivale a uma cadeia lateral com dez grupos metilénicos. Além da massa molecular relativa, observa-se um pico de m/e=166 típico de rearranjo McLafferty [154] (Fig. 15), e dos picos de m/e =151 e m/e=123, referentes à perda do grupo metilo e carbonilo respectivamente.

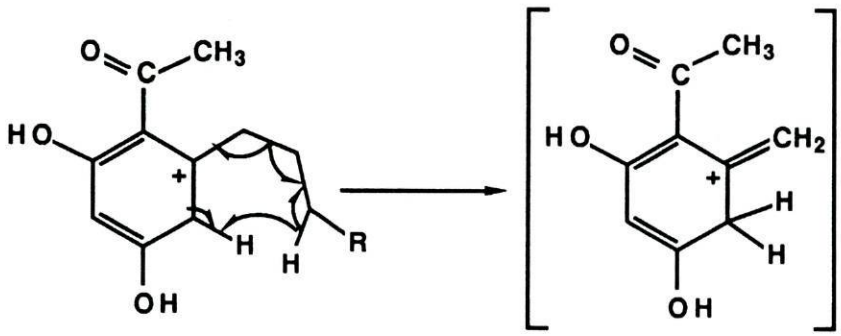
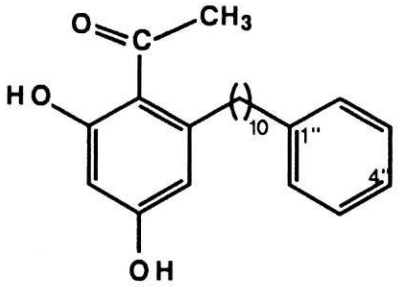


Fig. 15- Formação do fragmento m/e=166 obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

Com base no espectro de massa e em conjunto com os espectros de IV, UV, RMN de ^{1}H e de ^{13}C, foi possível atribuir ao composto **6** a fórmula molecular $C_{24}H_{32}O_3$ correspondente ao 2,4-diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona, agora descrito pela primeira vez.



6

5. 1. 5. (-)-7-Hidroxi-3', 4'-metilenodioxiflavana (7)

O espectro no IV do composto **7** (pág. 167) evidencia uma banda larga de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo entre 3200-3600 cm^{-1}, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1620, 1500 e 1490 cm^{-1}, e uma banda de forte intensidade a 1250 cm^{-1} de estiramento da ligação C-O.

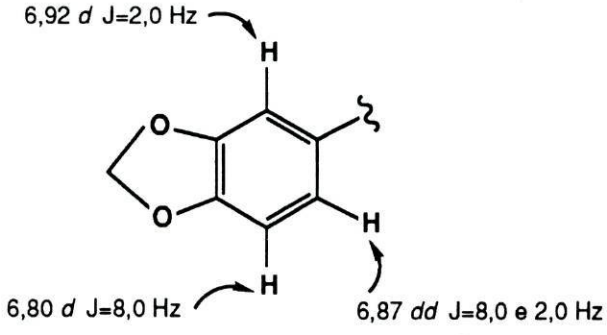
A natureza fenólica do composto foi evidenciada pelo espectro de UV (pág. 167) que mostra um deslocamento batocrómico das bandas de absorção a 208 e 284 nm (log ε 4,0 e 3,5 respectivamente) para 215 e 289 nm (log ε 4,0 e 3,5 respectivamente), após adição de uma solução metanólica de hidróxido de sódio [149].

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág. 168) revela na zona aromática a presença de um multipleto entre δ 6,4 e 7,0 (6H). A análise da expansão desta região, mostra que estes protões aparecem como três dupletos a δ 6,93 (J=8,0 Hz), δ 6,92 (J=2,0 Hz), a δ 6,80 (J=8,0 Hz), dois duplos dupleto a δ 6,87 (J=8,0 e 2,0 Hz), a δ 6,40 (J=8,0 e 2,0 Hz) e um singuleto largo a δ 6,38. Tanto as experiências de desacoplamento como o espectro bidimensional (COSY) mostram que apenas o protão a δ 6,93 está acoplado com o protão a δ 6,40. Não foi possível verificar o acoplamento entre os restantes protões devido aos deslocamentos químicos muito próximos.

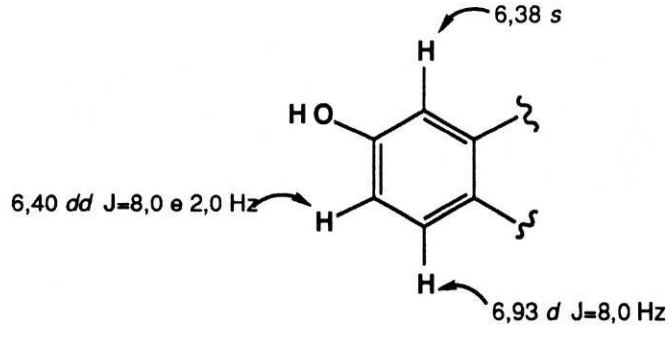
Na região dos protões alifáticos verifica-se a presença de um singuleto δ 5,96 (2H) característico de protões do grupo metilenodióxido e um singuleto largo a δ 4,85, que desaparece após adição de D_2O, atribuído ao protão do grupo hidroxilo fenólico.

O sinal do grupo metilenodióxido, juntamente com os valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos protões aromáticos

levam a sugerir a estrutura parcial referente a um anel metilenodioxifenilo [175,176]:



Os restantes protões aromáticos devem pertencer a um anel aromático trissubstituído contendo o grupo hidroxilo fenólico [175,176].



Além dos sinais referentes aos grupos metilenodióxido e hidroxilo fenólico na região dos protões alifáticos, ainda se observa um duplo dupleto a δ 4,96 (1H, J=9,8 e 2,8 Hz) e dois multipletos entre δ 2,65 e 2,98 (2H) e entre δ 1,92 e 2,21 (2H).

A expansão do espectro na região entre δ 2,65 e 2,98 mostrou que estes protões aparecem como dois duplo duplo dupletos a δ 2,90 (1H, J=16,0; 10,6 e 6,0) e δ 2,71 (1H, J=16,0; 4,7 e 3,5 Hz). Como se observa na (Fig. 16), as experiências de desacoplamento e o espectro bidimensional (COSY) mostraram que o duplo dupleto a δ 4,96 está acoplado com o multipleto entre δ 1,92 e 2,21 e este, por sua vez, está acoplado com os duplo duplo dupletos a δ 2,90 e 2,71. Os valores da constante de acoplamento do duplo dupleto a δ 4,96 (J=9,8 e 2,8 Hz) sugerem uma posição adjacente a um grupo metilénico com acoplamento axial-axial e axial-equatorial.

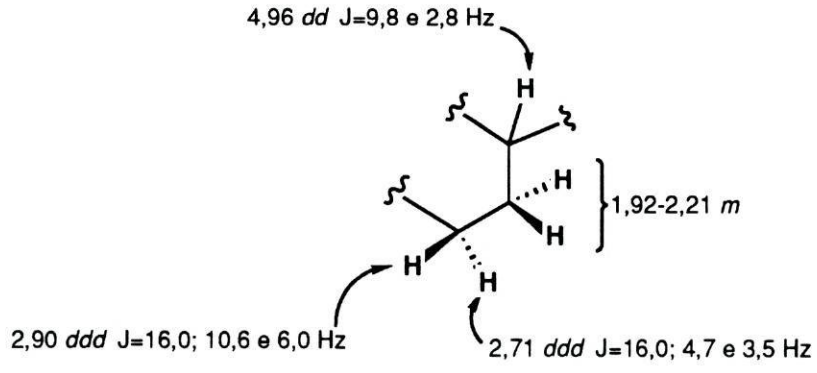
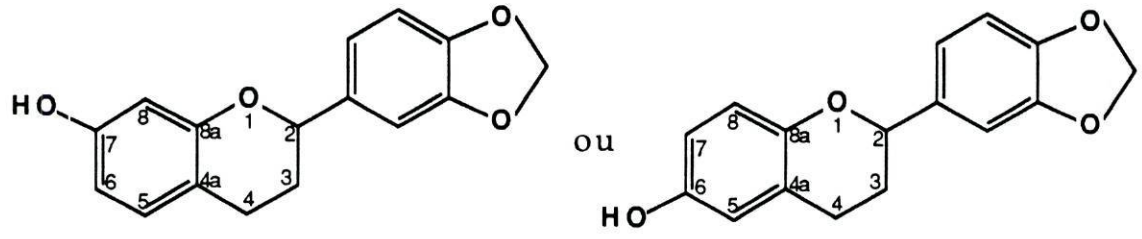


Fig.16- Valores de δ de ^1H do anel pirânico.

O valor de deslocamento químico a δ 4,96 sugere a presença de um protão metínico ligado a um grupo retirador de electrões.

Este valor é típico de um protão oximetínico, enquanto que o valor dos deslocamentos químicos dos duplos duplo dupletos a δ 2,90 e 2,71 poderão ser atribuídos a protões benzílicos. Com base nestes dados e o teste de Gibbs negativo [177] podem propôr-se, nesta fase, duas estruturas alternativas para o composto **7**:



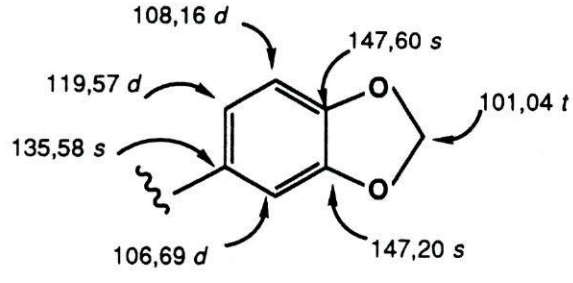
Embora o ponto de vista biogenético favoreça a estrutura 7-hidroxiflavana, a eliminação do derivado 6-hidroxilado é também baseada nos valores de deslocamento químico dos protões H-8 e H-5 pois o H-8 deveria aparecer como um dupleto a δ 6,40.

O espectro de RMN de ^1H do derivado monoacetilado (pág. 168) ($OCOC\underline{H}_3$, δ 2,28, *s*), confirmou o padrão de substituição dos aneis aromáticos da estrutrutura 7-hidroxiflavana, devido aos deslocamentos químicos sofridos por esses protões após acetilação. Como se pode observar na Tabela 5 (pág. 89), enquanto que os protões do anel metilenodióxifenilo não sofreram nenhuma alteração, o duplo dupleto a δ 6,40 e o singuleto a δ 6,38 do composto original, são deslocados para campo mais baixo a δ 6,60 (Δ=0,20 ppm) e δ 6,62 (Δ=0,24 ppm) respectivamente, indicando a sua posição *orto* ao grupo hidroxilo fenólico. O dupleto a δ 6,93 (J=8,0 Hz) sofreu um deslocamento menor para campo mais baixo (Δ=0,14 ppm) aparecendo a δ 7,07 no espectro do derivado acetilado, corroborando a sua posição *meta* em relação ao grupo hidroxilo fenólico. Os valores de deslocamento químico dos protões metilénicos do anel pirano mantêm-se inalterados.

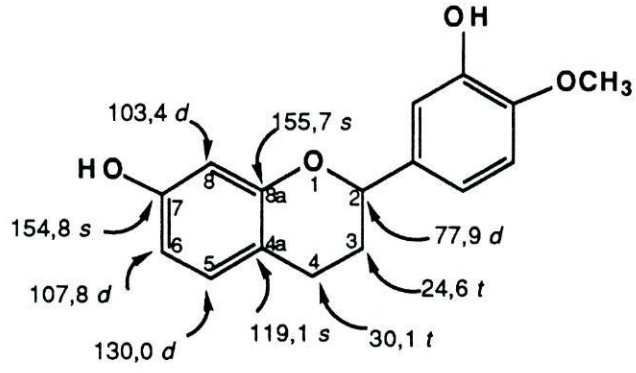
Tabela 5 - Valores δ de ^1H do composto **7** e derivado acetilado.

^1H	composto **7** (J, Hz)	Deriv. acetil (J, Hz)	Δ ppm
H-5	6,93, *d* (8,0)	7,07, *d* (8,0)	0,14
H-2'	6,92, *d* (2,0)	6,92, *d* (2,0)	
H-6'	6,87, *dd*, (8,0 e 2,0)	6,87, *dd* (8,0 e 2,0)	
H-5'	6,80, *d* (8,0)	6,81, *d* (8,0)	
H-6	6,40, *dd* (8,0 e 2,0)	6,60, *dd* (8,0 e 2,0)	0,20
H-8	6,38, *s*	6,62, *s*	0,24
-O-CH_2-O-	5,96, *s*	5,97, *s*	
H-2	4,96, *dd* (9,8 e 2,8)	4,96, *dd* (9,8 e 2,8)	
OH	4,85, *s* l	--	
H-4 ax.	2,90 *ddd* (16,0: 10,6 e 6,0)	2,80-2,96, *m*	
H-4 eq.	2,71 *ddd* (16,0; 4,7 e 3,5)	2,80-2,96, *m*	
H-3	1,92-2,21, *m*	2,06-2,18, *m*	
$OCOCH_3$	--	2,28, *s*	

Os sinais encontrados no espectro de RMN de ^{13}C (BB e DEPT pág. 168) evidenciam, além do átomo de carbono do grupo metilenodióxido a δ 101,04 *t*, doze carbonos aromáticos (δ 155,79 *s*, 154,90 *s*, 147,60 *s*, 147,20 *s*, 135,58 *s*, 130,12 *d*, 119,57 *d*, 114,04 *s*, 108,16 *d*, 107,97 *d*, 106,69 *d*, e 103,50 *d*), seis dos quais são característicos de grupo metilenodioxifenilo [176]:

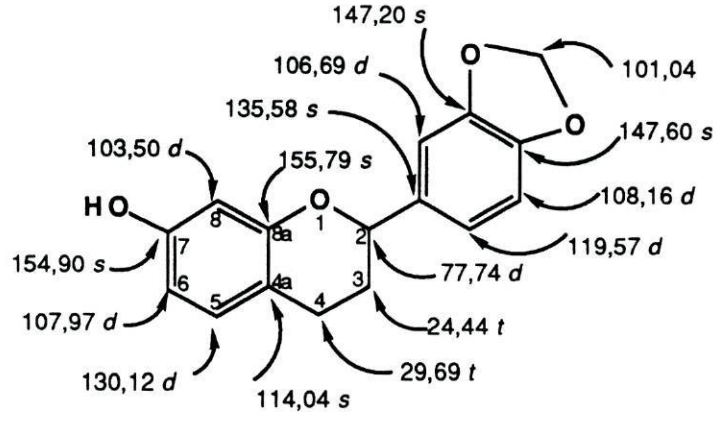


A assinalação dos átomos de carbono do anel fenólico foi baseado nos valores de deslocamento químico dos carbonos do composto modelo **17** [178]:



17

Além destes sinais no espectro de BB, a campo mais alto, observam-se apenas dois carbonos metilénicos a δ 29,69 *t* e 24,44 *t*. O carbono oximetínico a δ 77,74 *d* somente foi observado no espectro de sequência DEPT uma vez que o valor de deslocamento químico se encontrava camuflado pelo pico de clorofórmio no espectro BB. Com estes dados podem-se assinalar completamente os valores de ^{13}C do composto **7**.



7

O espectro de RMN de ^{13}C do derivado acetilado (Tabela 6) mostrou, além da presença dos sinais do grupo acetoxilo a δ 169,76 *s* ($\underline{C}O$) e 21,10 *t* ($OCO\underline{C}H_3$), algumas alterações dos valores de deslocamento químico dos carbonos referentes ao anel fenólico. Enquanto o sinal do C-7 sofre um deslocamento para campo mais alto a δ 149,65 (Δ= 5,25 ppm), os valores de δ de C-6 e C-8, pelo contrário, sofrem deslocamentos para campo mais baixo a δ 119,41 (Δ= 11,44 ppm) e δ 110,18 (Δ= 6,68 ppm), após acetilação. Os restantes carbonos mantêm praticamente inalterados os seus valores de deslocamento químico.

Tabela 6- Valores de δ de ^{13}C do composto **7** e derivado acetilado.

^{13}C	comp. **7**	Deriv. acet.	Δ ppm
$\underline{C}OCH_3$	--	169,76	
C-8a	155,79	155,58	
C-7	154,90	149,65	5,25
C-3'	147,20	147,83	
C-4'	147,60	147,25	
C-1'	135,58	135,30	
C-5	130,12	129,88	
C-6	107,97	119,41	11,44
C-4a	114,04	113,65	
C-5'	108,16	108,20	
C-6'	119,57	119,57	
C-2'	106,69	106,67	
C-8	103,50	110,18	6,68
$-OCH_2O-$	101,04	101,07	
C-2	77,74	oculto	
C-4	29,69	29,72	
C-3	24,44	24,81	
$OCO\underline{C}H_3$	--	21,10	

O espectro de massa de baixa resolução do composto **7** mostrou o pico do ião molecular a 270 u.m.a., correspondente à fórmula molecular $C_{16}H_{14}O_6$ proposta para a estrutura do composto. Os picos observados estão de acordo com o padrão de fragmentação de flavanas [175,176,179,180].

O composto **7** contém um centro assimétrico em C-2 e o valor negativo do poder rotatório específico $[\alpha]_D$ - 8º, permite concluir que o composto em estudo corresponde ao (-)-7-hidroxi-3',4'-metilenodioxiflavana.

Este composto foi isolado anteriormente nos bolbos de *Zephyranthes flava* (*Amaryllidaceae*) [175].

PARTE B: DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS E DERIVADOS DE *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

5. 2. Parte B: Determinação Estrutural dos Constituintes Químicos e derivados de *Knema austrosiamensis* W. J. J. O. de Wilde.

5. 2. 1. Acilresorcinóis (18, 19, 20 e 21)

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz do produto purificado por cristalização e mais tarde por CCF em gele de sílica mostrou sinais a δ 7,18 (1H, *dd*, J=8,0 e 8,0 Hz) e δ 6,36 (2H, *d*, J=8,0 Hz).

Na região dos protões alifáticos verificou-se a presença de um multipleto centrado a δ ~ 5,3, um tripleto a δ ~ 3,0 (J=7,0 Hz), um dupleto a δ 2,0 (J~5Hz) correspondente a protões alílicos, um multipleto centrado a δ ~1,6, dois singuletos de forte intensidade a δ ~1,3 e 1,2 e um tripleto deformado a δ ~0.9 (J=7 Hz), que poderá corresponder a um grupo metilo terminal. O facto da integração dos sinais referentes aos protões olefínicos não corresponder a dois protões, em relação à integração dos protões aromáticos (2H, δ 6,36) e metilênicos (2H, δ ~3,0), leva a pressupôr que a amostra analisada corresponde a uma mistura de compostos análogos. A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, revelou a presença de quatro compostos com massas moleculares relativas de 318 (composto **18**), 320 (composto **19**) 326 (composto **20**) e 292 (composto **21**) u.m.a, respectivamente (pág. 172).

A separação destes quatro compostos por CCF em gele de sílica, utilizando várias fases móveis não foi eficiente e recorreu-se à técnica de HPTLC (pág. 172). A utilização de placas de fase reversa RP-18 permitiu a separação de apenas três compostos: o composto **18** como maioritário e em menor quantidade os compostos **19** e **20**

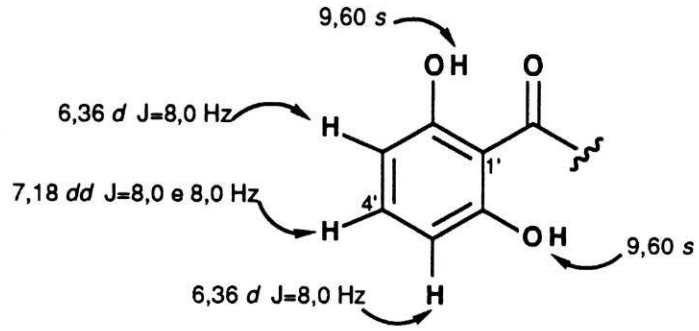
5. 2. 1. 1. 1-(2,6-Diidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona (18)

O espectro no IV do composto **18** (pág. 179) evidencia uma banda larga de absorção de estiramento de grupo hidroxilo entre 3200 e 3400 cm^{-1}, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1500 e 1490 cm^{-1} e uma banda de forte intensidade de absorção de estiramento a 1630 cm^{-1} provavelmente de grupo carbonilo conjugado.

O espectro no UV (pág. 179), mostra bandas de absorção a 236 e 287 nm (log de ε 4,8 e 4,8 respectivamente), que sofrem um deslocamento batocrómico para 284 e 384 nm (log de ε 2,9 e 2,6 respectivamente), após adição de uma solução metanólica de hidróxido de sódio. A formação de um quelato com cloreto de alumínio, estável em meio ácido, indica a existência de um sistema *orto*-hidroxibenzoílico [149].

No espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág. 179), observam-se sinais referentes a um duplo dupleto a δ 7,18 (1 H, J=8,0 e 8,0 Hz) e um dupleto a δ 6,36 (2H, J=8,0 Hz). A dupla irradiação do duplo dupleto (δ 7,18) causa o colapso do dupleto (δ 7,36), confirmando acoplamento entre eles.

O singuleto largo a δ 9,60, que desaparece após adição de D_2O, é atribuído a dois protões hidroxílicos. Estes valores sugerem um núcleo acilresorcinol [181-186], propondo-se a estrutura parcial:



Na região alifática do espectro, os dois protões olefínicos aparecem como um tripleto a δ 5,33. A expansão do espectro nesta região (Fig. 17) permite verificar que se trata de um multipleto, originado por acoplamento de um sistema de protões ABX_2, com constantes de acoplamentos (~11 e 5 Hz) levam a concluir pela configuração *cis* da ligação dupla. [150].

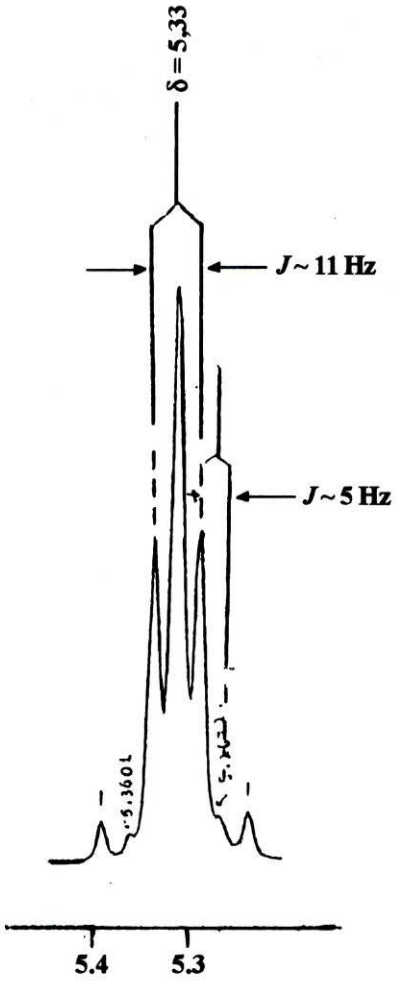


Fig 17- Ampliação e expansão do espectro na região dos protões olefínicos.

O valor do deslocamento químico do tripleto a δ 3,00 (2H, J=7,0 Hz), sugere a presença de protões metilénicos em posição α ao grupo carbonilo. Através das experiências de dupla irradiação verificou-se que os protões deste tripleto acoplam com os do multipleto a δ 1,62 (4H) e que o multipleto a δ 1,99 (4H) é atribuído a protões alílicos, visto que a irradiação deste sinal provoca uma alteração do sinal referente aos protões olefínicos.

No espectro ainda se pode observar um multipleto a δ 1,23 (~ 10H) e um tripleto a δ 0,87 (3H, J=7,0 Hz) que pode corresponder a um grupo metilo terminal.

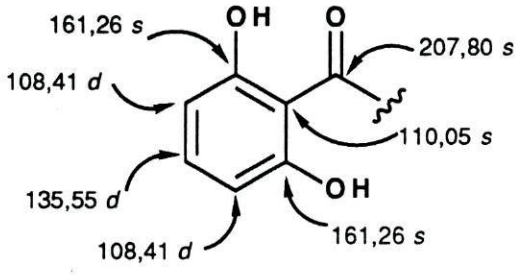
A acetilação do composto **18** forneceu um derivado diacetilado indicado pelo aparecimento, no espectro de RMN de ^1H, de um singuleto a δ 2,24 (6H) de dois grupos $OCO\underline{CH_3}$. Como se observa na Tabela 7, os sinais referentes aos protões aromáticos sofrem, após acetilação, um deslocamento para campo mais baixo .

Tabela 7 - Valores de δ de ^1H do composto **18** e derivado diacetilado.

^1H	composto **18** (J, Hz)	deriv. diacet. (J, Hz)	Δ ppm
2 OH	9,60, *s*	–	
H-4	7,18, *dd*, (8,0 e 8,0)	7,39, *dd*, (8,0 e 8,0)	0,21
H-3, H-5	6,36, *d*, (8,0)	7,03, *d*, (8,0)	0,67
-HC=CH-	5,33, *m*, (~11 e 5)	5,32, *m*, (~11 e 5)	
$-COCH_2$	3,00, *t*, (7,0)	2,70, *t*, ((7,0)	0,30
$=C-CH_2$	1,99, *m*	2,00, *m*	
$-CH_2$	1,62, *m*	1,62, *m*	
$-CH_2$	1,23 , *m*	1,29 e 1,25, *m*	
$-CH_3$	0,87, *t* (7,0).	0,86, *t*, (7,0)	
2 $OCOCH_3$	–	2,24, *s*	

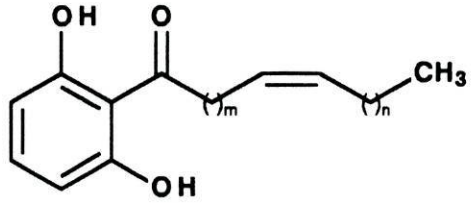
Assim o duplo dupleto a δ 7,18 foi deslocado para δ 7,39 (Δ=0,21 ppm), enquanto que o dupleto a δ 6,36 sofre um deslocamento maior para δ 7,03 (Δ=0,67 ppm). Na região dos protões alifáticos observou-se apenas o deslocamento químico para campo mais alto dos protões metilénicos em posição α ao grupo carbonilo, sendo a diferença de deslocamento de 0,30 ppm. Este facto prova que o grupo carbonilo forma ponte de hidrogénio com o grupo hidroxilo fenólico no sistema *orto*-hidroxibenzoílico do produto original.

Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT pág. 180) mostram um sinal atribuível a um grupo carbonilo cetónico a δ 207,80 *s*, além dos sinais de carbonos aromáticos característicos de anel resorcinol [182,183], apoiando assim a existência de um núcleo acilresorcinol simetricamente substituído, correspondendo à estrutura parcial:



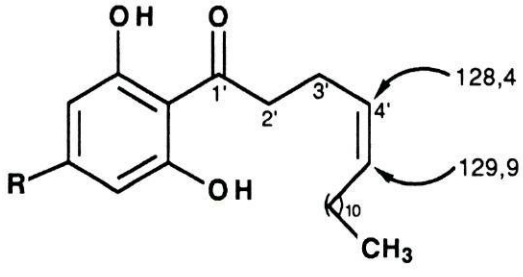
Nestes espectros ainda se observam valores de deslocamento químico muito similares dos carbonos olefínicos a δ 129,88 *d* e 129,90 *d*, e na região de carbonos alifáticos, além do sinal do carbono α ao grupo carbonilo a δ 44,76 *t*, os sinais a δ 27,17 *d* e 26,90 *d* são referentes a carbonos alílicos de ligação dupla de configuração *cis*. O sinal a δ 13,95 *q* corresponde a um grupo metilo terminal.

Com base nos dados no IV, UV, RMN de ^{1}H e ^{13}C podemos propôr a estrutura parcial do composto **18** como:



Baseados no pico correspondente ao ião molecular de 318 u.m.a., indicado pelo EM, o número de m+n seria igual a 10, possuindo o composto uma cadeia lateral de catorze átomos de carbono.

A localização da ligação dupla na cadeia lateral pode ser deduzida, tendo como modelo os compostos **32** e **33** isolados de *Virola sebifera* e *Virola elongata* [182]. Comparando os valores de deslocamento químico quase coincidentes, dos carbonos olefínicos da estrutura parcial do composto **18** (δ 129,90 e 129,88) e os valores observados nesses análogos (δ 128,4 e 129,9) poderá deduzir-se que a ligação dupla estará mais afastada do grupo carbonilo do que nesses compostos.

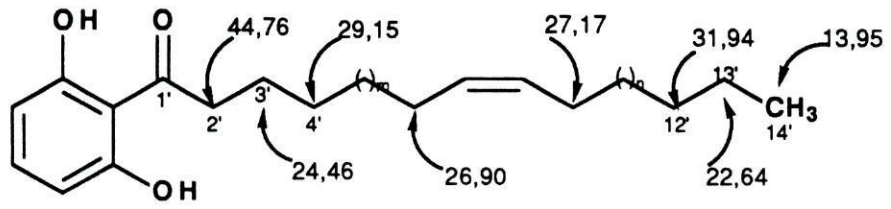


32 R=H

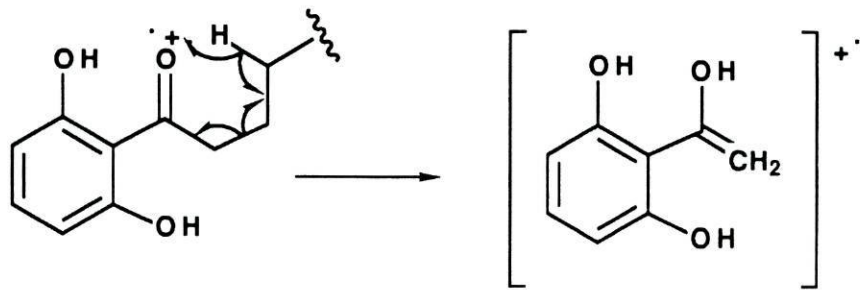
33 R=OH

Com base nos valores de deslocamento químico dos carbonos dos compostos modelo, ácido oleico **(10)** e ácido palmitoleico **(11)** (pág. 75) e relacionando-os com os encontrados para a estrutura do composto 18 poderá aventar

-se a hipótese de que a ligação dupla deverá estar afastada do grupo carbonilo por mais de três ou quatro carbonos e, pelo menos, quatro ou cinco carbonos do grupo metilo terminal:



O distanciamento ao grupo carbonilo é apoiado pelo aparecimento do pico de m/e=152 no EM. Este pico é formado através do rearranjo de McLafferty entre o grupo carbonilo e o hidrogénio γ (Fig. 18).



m/e=152

Fig. 18- Formação do fragmento de m/e=152 obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

Para determinar a posição exacta da ligação dupla recorreu-se à preparação de um derivado tiometilado, seguido de análise por CG-EM (pág. 178).

. **Tiometilação do composto 18**

O EM-IE do derivado tiometilado do composto **18**, mostra um pico significativo correspondente ao ião molecular com valor de m/e=458 e dois picos com valor de m/e=341 e 117 correspondentes aos fragmentos (A^+) e (B^+) respectivamente. O padrão de fragmentação do composto **18** tiometilado (Fig. 19), confirmou a posição da ligação dupla no carbono C-9'.

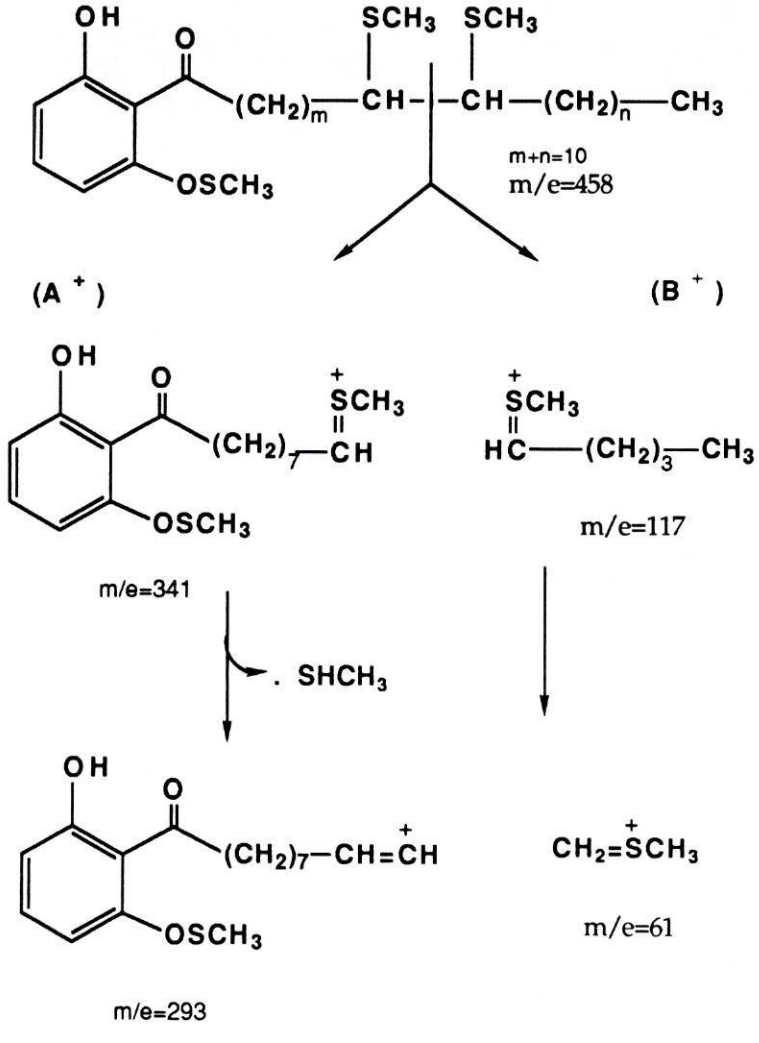


Fig. 19- Esquema de fragmentação por EM-IE do composto **18** tiometilado

5. 2. 1. 2. 1-(2,6-Diidroxifenil)-tetradecan-1-ona (19)

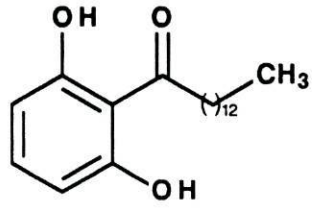
Como se observar na Tabela 8 o espectro de RMN de ^1H a 200 MHz do composto **19**, mostrou grande semelhança com o espectro de RMN de ^1H do composto **18** principalmente na região dos protões aromáticos, evidenciando a presença do sistema acilresorcinol. Na região dos protões alifáticos, observa-se um tripleto a δ 3,09 (2H, J=7,0 Hz), correspondente aos protões metilénicos em posição α ao grupo carbonilo, dois multipletos a δ 1,70 e 1,23 e um tripleto a δ 0,86 (3H, J=6,5 Hz) referente ao grupo metilo terminal.

A ausência de protões olefínicos e protões alílicos na região de ~5 ppm e 2 ppm respectivamente, permitem concluir que o composto em estudo corresponde ao análogo saturado do composto **18** .

Tabela 8 - Valores de δ de ^1H dos compostos **18** e **19**.

^1H	composto **18** (J, Hz)	composto **19** (J, Hz)
2 OH	9,60, sl.	9,68, sl.
H-4	7,18, *dd*, (8,0 e 8,0)	7,18, *dd*, (8,0 e 8,0)
H-3,5	6,36, *d*, (8,0)	6,36, *d*, (8,0)
HC=CH	5,33, *m* (~11 e 5)	–
$COCH_2$	3,00, *t*, (7,0)	3,09, *t*, (7,0)
$ArCH_2$	–	–
$=CCH_2$	1,99, *m*	–
$-CH_2$	1,62, *m*	1,70, *m*
$-CH_2$	1,23, *m*	1,23, *m*
$-CH_3$	0,87, *t* (7,0)	0,86, *t* (6,5)

A massa molecular de 320 u.m.a., indicada pelo EM, permite determinar o número de grupos metilênicos da cadeia lateral, e propôr a estrutura **19** correspondente ao 1-(2,6-diidroxifenil)-tetradecan-1-ona.



19

5. 2. 1. 3. 1-(2,6-Diidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona (20)

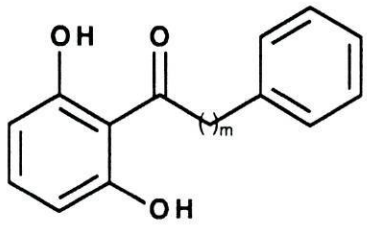
O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (Tabela 9, pág. 104) mostra na região dos protões aromáticos, além dos sinais referentes ao anel acil-resorcinol, análogo aos dos compostos **18** e **19** [δ 7,19 *dd* (J=8,0 e 8,0 Hz, H-1) e δ 6,36 *dd* (J=8,0 e 2,0 Hz, H-3 e H-5)], um multipleto entre δ 7,14 e 7,32 (5H) correspondente a protões de um grupo fenilo.

Na região alifática do espectro também se observa, além do tripleto a δ 3,09 (2H, J=7,0 Hz) correspondente a protões do grupo metilénico em posição α ao grupo carbonilo, um tripleto de protões benzílicos a δ 2,58 (2H, J=7,0 Hz) e dois singuletos de forte intensidade a δ 1,63 e 1,30 correspondentes a protões metilénicos da cadeia lateral.

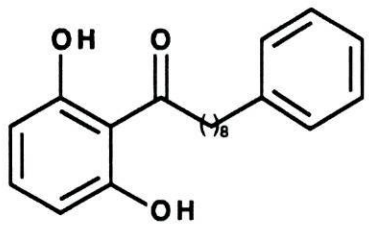
Tabela 9- Valores de δ de ^1H dos compostos **18, 19** e **20**.

^1H	composto **18** (J, Hz)	composto **19** (J, Hz)	composto **20** (J, Hz)
2 OH	9,60, *s*	9,68, *s* .	--
H-4	7,18, *dd*, (8,0 e 8,0)	7,18, *dd*, (8,0 e 8,0)	7,19, *dd*, (8,0 e 8,0)
H-3,5	6,36, *d*, (8,0)	6,36, *d*, (8,0)	6,36, *dd*, (8,0 e 2,0)
5 Ar-H	–	--	7,14-7,32, *m*
HC=CH	5,33, *m*, (~11 e 5)	–	--
$COCH_2$	3,00, *t*, (7,0)	3,09, *t*, (7,0)	3,09, *t*, (7,0)
$ArCH_2$	--	–	2,58, *t*, (7,0)
$=CCH_2$	1,99, *m*	–	--
n-CH_2	1,62, *m*	1,70, *m*	1,63, *s* l
n-CH_2	1,23, *m*	1,23, *m*	1,30, *s* l
CH_3	0,87, *t* (7,0)	0,86, *t* (6,5)	--

Como se observa na Tabela 9 o composto **20** deve corresponder a um acilresorcinol análogo do composto **19** diferindo apenas na cadeia alquílica que, neste caso, contém um grupo fenilo em vez de um grupo metilo, terminal sugerindo a estrutura parcial:



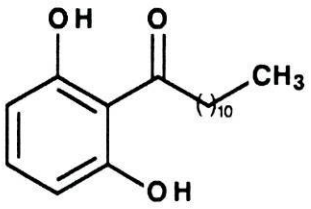
O espectro de massa indica o pico do ião molecular de m/e=326 correspondendo o composto **20**, ao 1-(2,6-diidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona.



20

5. 2. 1. 4. 1-(2,6-Diidroxifenil)-dodecan-1-ona (21)

O espectro de massa deste composto indica a massa molecular relativa de 292 u.m.a. devendo corresponder ao 1-(2,6-diidroxifenil)-decan-1-ona.



Os compostos **18, 19** e **20** foram já isolados de *Myristica dactyloides* [183], bem como homólogos com mais duas unidades metilénicas em *Virola elongata* [186] e *Virola sebifera* e *Virola elongata* [182]. Um análogo do composto **19** com mais duas unidades metilénicas foi também isolado de uma alga marinha [188]. O composto **20** foi ainda isolado em *Horsfieldia glabra* bem como um análogo com mais duas unidades metilénicas em *Virola sebifera* [181]. Relativamente ao composto **21** só foi isolado um homólogo com mais quatro unidades metilénicas em *Virola sebifera* [181].

5. 2. 2. Acilfloroglucinóis (22, 23, 24 e 25)

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz, do produto purificado por cristalização e mais tarde por CCF em gele de sílica indica a presença de um singuleto largo a δ 5,92 (2H), que não desaparece com adição de D_2O e que poderá ser atribuído a protões aromáticos de um sistema floroglucinol simetricamente substituído [182,184,186]. Na região dos protões alifáticos observa-se a presença de protões correspondentes a uma cadeia acíclica contendo uma ligação dupla, devido a um multipleto centrado a δ 5,35 (protões olefínicos), um singuleto largo a δ 3,04 (2H) (protões metilénicos), um dupleto a δ 2,02 (protões alílicos), um multipleto centrado a δ 1,68 (protões metilénicos), um singuleto a δ 1,23 (protões metilénicos) e um tripleto deformado a δ 0,86 (J=7 Hz). No entanto a integração dos sinais referentes aos protões olefínicos corresponde apenas a 1,4 protões, quando comparada com a integração dos protões aromáticos (δ 5,92) e metilênicos (δ 3,04), o que leva a sugerir que a amostra analisada corresponde a uma mistura de compostos análogos.

No sentido de detectar a composição da mistura o produto foi analisado por cromatografia gasosa, acoplada à espectrometria de massa, revelando a presença de quatro componentes com massas moleculares relativas de 334 (composto **22**), 336 (composto **23**), 342 (composto **24**) e 308 (composto **25**) u.m.a. respectivamente. A mistura foi separada por HPTLC de fase reversa RP-18 isolando-se apenas os compostos **22**, **23** e **24** (pág. 173).

5. 2. 2. 1 1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona (22)

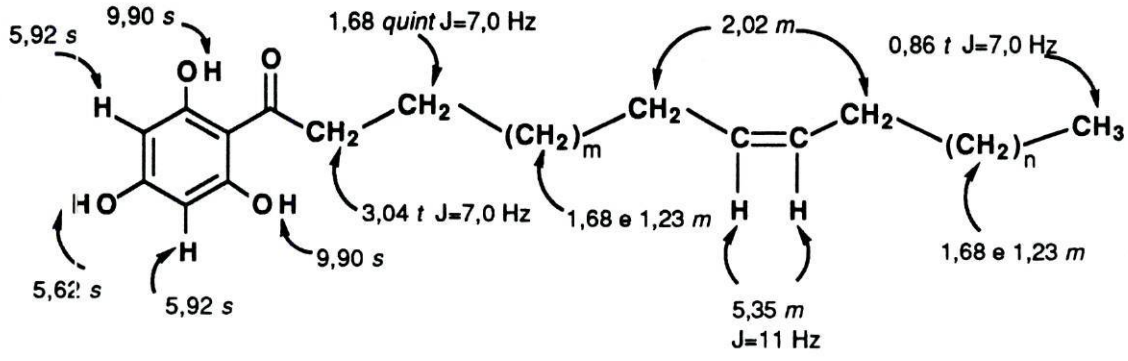
O espectro no IV do composto **22** (pág. 182) evidencia uma banda de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo 3360 cm^{-1}, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1510 e 1490 cm^{-1} e uma banda de forte intensidade de absorção de estiramento a 1630 cm^{-1} provavelmente de grupo carbonilo conjugado.

O espectro no UV (pág 182) evidencia bandas de absorção a 201, 227 e 285 nm que, por adição de uma solução metanólica de hidróxido de sódio, sofrem um deslocamento batocrómico para 215 e 321 nm. A formação de um quelato, estável em meio ácido, sugere um sitema *orto*-hidroxibenzoílico, como observado nos compostos da série acilresorcinóis.

O espectro de RMN de ^1H a 500 MHz (pág. 182), indica a presença de três singuletos largos a δ 9,90 (2H), 5,92 (2H) e 5,62 (1H). Com a adição de D_2O, apenas desaparecem os singuletos a δ 9,90 e 5,62, indicando que o singuleto a δ 5,92 corresponde a dois protões aromáticos de um anel floroglucinol simetricamente substituído [182,184,186].

Na região alifática do espectro observa-se um multipleto centrado a δ 5,35 (2H, J=11 Hz) referente a protões olefínicos com configuração *cis*, um tripleto a δ 3,04 (2H, J=7,0 Hz) de protões metilénicos em posição α ao grupo carbonilo e um multipleto centrado a δ 2,02 (4H). A campo mais baixo, além da presença de dois multipletos a δ 1,68 (este sinal contém um quinteto de 2H) e 1,23 correspondentes a protões metilénicos, ainda se observa um tripleto deformado a δ 0,86 atribuível a um grupo metilo terminal.

Através dos dados espectrais acima mencionados pode propôr-se a estrutura parcial correspondente a um derivado acilfloroglucinol com uma cadeia lateral semelhante à do composto **18**:



O espectro de RMN de ^{1}H a 200 MHz (pág. 183) do composto acetilado confirma a estrutura acilfloroglucinol pelos seguintes factos:

- o aparecimento de três grupos acetoxilo, indicados pelos dois singuletos a δ 2,25 (3H, $OCOCH_3$) e 2,21 (6H, $OCOCH_3$). De acordo com a estrutura do floroglucinol o singuleto a δ 2,21 refere-se aos dois grupos acetoxilo simétricos.

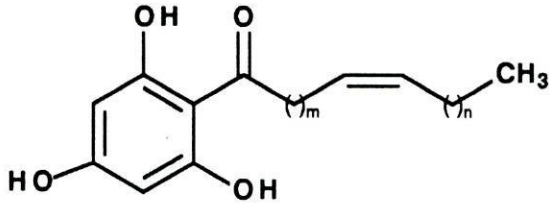
- o sinal dos dois protões aromáticos a δ 5,92 é deslocado para campo mais baixo [δ 6,90 (Δ=0,98 ppm)].

- o sinal dos dois protões metilénicos em posição α ao grupo carbonilo é deslocado para campo mais alto a δ 2,69 (Δ=0,35 ppm) comportando-se da mesma forma que os sinais dos protões do núcleo acilresorcinol.

Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT pág. 182) do composto **22** mostram, além do singuleto a δ 206,93 referente ao carbono carbonílico em ponte de hidrogénio com um grupo hidroxilo fenólico, sinais de carbonos aromáticos a δ 163,61 *s*, 162,11 *s*, 104,74 *s* e 95,40 *d* típicos de anel acilfloroglucinol [182,186]. Os deslocamentos químicos dos carbonos da cadeia lateral são semelhantes aos do composto **18**, no que se refere aos carbonos olefínicos (δ 129,84) e alílicos (δ 27,19 e 26,69). A posição da ligação dupla deve distar do

grupo metilo terminal de, pelo menos, três ou quatro carbonos. Esta hipótese é indicada pela presença dos valores de deslocamento químico dos carbonos a δ 31,93, 22,67 e 13,97, similares ao do composto **18**.

O espectro de massa de baixa resolução mostrou o pico do ião molecular de m/e=334, levando a propôr a estrutura parcial para o composto **22**:



m+n=10

Para localizar a posição da ligação dupla, recorreu-se à preparação de um derivado tiometilado seguido de análise CG-EM (pág. 178).

- **Tiometilação do composto 22**

O EM-IE do derivado tiometilado do composto **22** mostra um pico significativo de m/e=520 e dois fragmentos maioritários de m/e=403 e m/e=117 correspondentes aos fragmentos (A^+) e (B^+) respectivamente. O padrão de fragmentação do composto **22** tiometilado confirma a posição da ligação dupla no C-9' (Fig. 20, pág. 110).

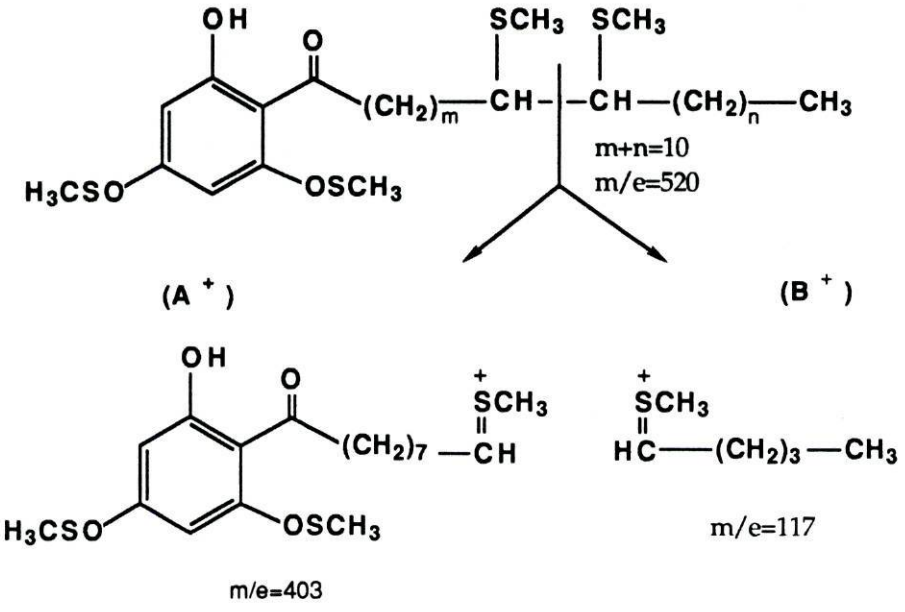


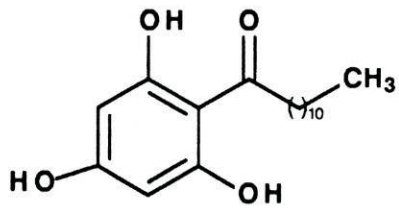
Fig. 20- Esquema de fragmentação por EM-IE do composto **22** tiometilado

5. 2. 2. 2. 1-(2,4,6-Triidroxifenil)-tetradecan-1-ona (23)

O composto **23** corresponde ao pico molecular de 336 u.m.a., detectado por CG-EM.

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág. 183) mostra-se semelhante ao do composto **22**, pela presença de um singuleto largo a δ 5,86 (2H) referente a protões aromáticos do núcleo acilfloroglucinol, de um tripleto a δ 3,01 (2H, J=6,5 Hz), de protões de grupo metilénico em posição α ao grupo carbonilo, de dois multipletos centrados a δ 1,66 e 1,23, referentes aos protões metilénicos e de um tripleto a δ 0,86 (3H, J=6,5 Hz).

A ausência de sinais atribuíveis a protões olefínicos e alílicos permite concluir que o composto **23** corresponde a um derivado de acilfloroglucinol com dez grupos metilênicos na cadeia alquílica lateral.



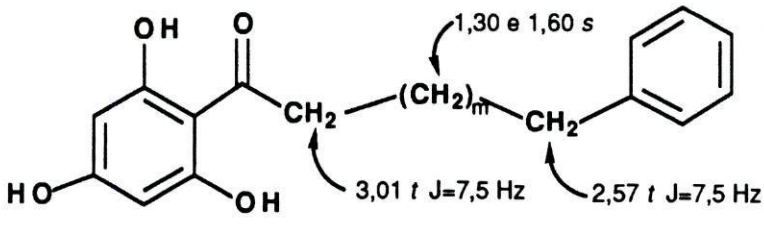
23

5. 2. 2. 3. 1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona (24)

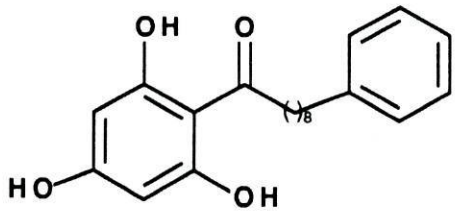
O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág. 184), mostra na região dos protões aromáticos, além de um singuleto largo a δ 5,91 (2H) referente ao anel floroglucinol, um multipleto entre δ 7,14 e 7,32 (5H) correspondente a um grupo fenilo.

A região dos protões alifáticos do espectro evidencia dois tripletos a δ 3,01 (2H, J=7,5 Hz), e 2,57 (2H, J=7,5 Hz), referentes a protões metilénicos em posição α ao grupo carbonilo e benzílicos respectivamente. A campo mais alto observa-se a presença de dois singuletos a δ 1,30 e 1,23 correspondentes a protões metilénicos.

Como não se observam sinais relativos a protões olefínicos propomos a estrutura parcial:



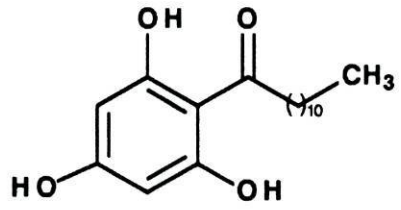
A massa molecular relativa de 342 u.m.a. sugere que o composto contém oito grupos metilênicos correspondendo ao 1-(2,4,6-triidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona.



24

5. 2. 2. 4. 1-(2,4,6-Triidroxifenil)-dodecan-1-ona (25)

O espectro de massa deste composto indica a massa molecular relativa de 308 u.m.a. pelo que deve corresponder ao 1-(2,4,6-triidroxifenil)-dodecan-1-ona.



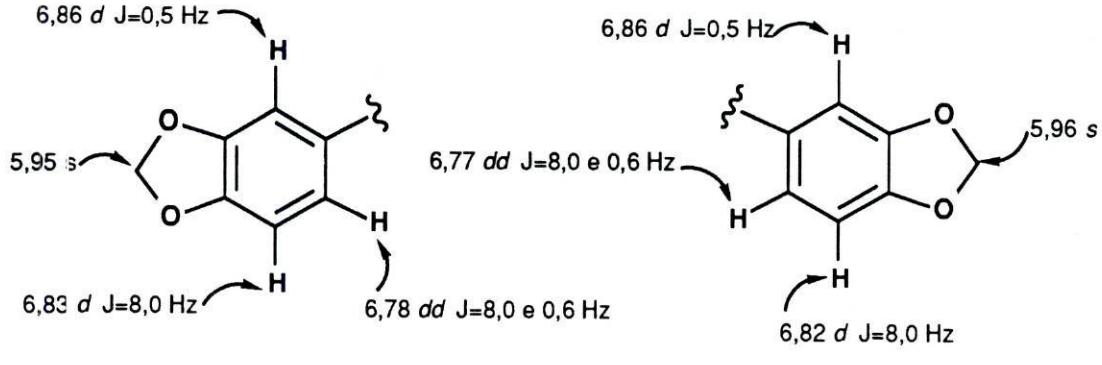
25

O composto **23** foi isolado de *Virola elongata* [186] enquanto que o composto **24** foi isolado de *Horsfieldia glabra* [184]. Análogos destes compostos com mais duas unidades metilénicas foram isolados de uma alga marinha [188] e de *Virola elongata* [184] respectivamente. Relativamente aos compostos **22** e **25** só foram referenciados análogos com mais duas e quatro unidades metilénicas respectivamente em *Virola elongata* [186].

5. 2. 3. (+)-2,6-*Bis*-(3,4-metilenodioxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]--octano (26)

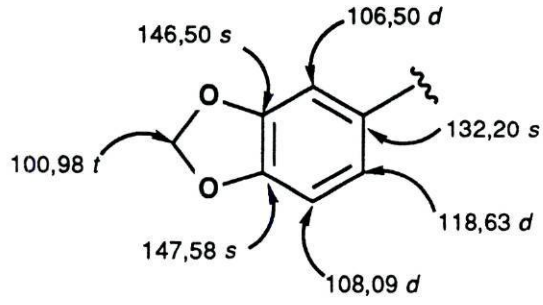
O espectro no IV do composto **26** (pág. 185) evidencia bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1500 e 1490 cm-^{1}, e uma banda de forte intensidade a 1260 cm^{-1} de estiramento da ligação C-O.

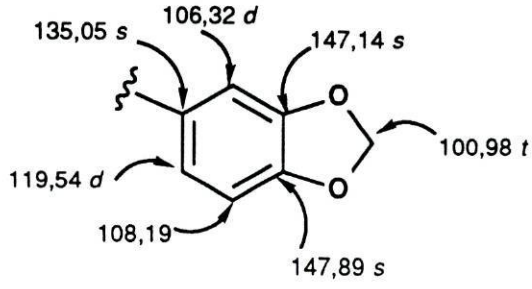
O espectro de RMN de ^{1}H a 200 MHz (pág. 185) indica um multipleto entre δ 6,73 e 6,87 (6H). A expansão do espectro nesta região revela que, de facto, este multipleto corresponde a um dupleto a δ 6,86 (2H, J=0,5 Hz), dois dupletos a δ 6,83 (1H, J=8,0 Hz) e δ 6,82 (1H, J=8,0 Hz), dois duplos dupletos a δ 6,78 (1H, J=8,0 e 0,6 Hz) e δ 6,77 (1H, J=8,0 e 0,6) e dois singuletos a δ 5,95 (2H) e δ 5,96 (2H) característicos de protões de dois grupos metileno-dióxido. A presença destes grupos e o padrão de acoplamento dos protões aromáticos sugerem a presença de dois grupos metilenodioxifenilo 1,3,4-trissubstituídos (piperonilo) [189].



A presença dos dois grupos piperonílicos é confirmada pelos sinais nos espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT, pág. 185), que mostra um sinal de car-

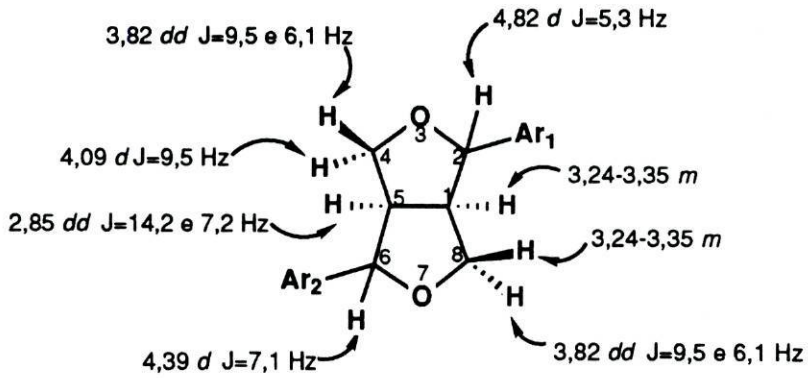
carbono metilenodióxido e doze sinais de carbonos aromáticos, cujos valores de deslocamento químico são típicos de grupos piperonílico [190]:



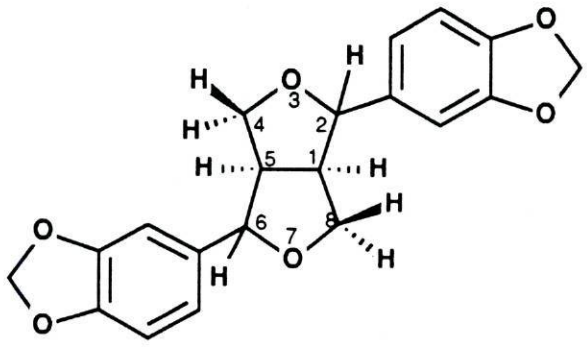


Na região de protões alifáticos do espectro de RMN de ^1H, além de três dupletos a δ 4,82 (1H, J=5,3 Hz), 4,39 (1H, J=7,0 Hz) e δ 4,09 (J=9,5 Hz), observa-se um duplo dupleto a δ 3,82 (2H, J=9,5 e 6,1 Hz), um multipleto entre δ 3,24 e 3,35 (2H) e um duplo dupleto a δ 2,85 (1H, J=14,2 e 7,2 Hz).

Este conjunto de sinais de protões alifáticos é característico de um núcleo que faz parte de lignanos do tipo 2,6-diaril-3,7-dioxabiciclo-[3.3.0]-octano [191]:



Combinando com a presença de dois grupos piperonilo, o composto **26** deve possuir a estrutura:



Nestes composto de origem natural os átomos de hidrogénio ligados aos carbonos C-1 e C-5 dos aneis heterocíclicos estão normalmente na configuração *cis* a qual lhe confere uma menor tensão angular [191].

A diferença nos valores de deslocamento químico dos protões oxibenzílicos (H-2 e H-6) revela que o composto pertence à série *epi*. Como se observa na Fig 21, o hidrogénio axial (H-6) mostra um deslocamento químico a campo mais alto do que o hidrogénio equatorial (H-2), devido ao efeito anisotrópico exercido pelo anel benzénico do grupo piperonilo axial ligado ao C-2 [190,191].

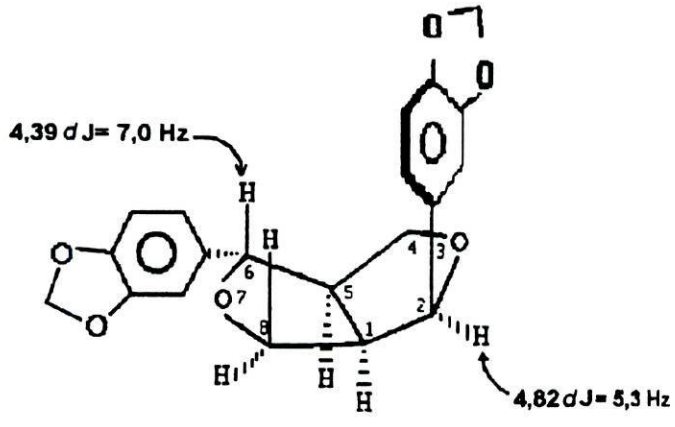
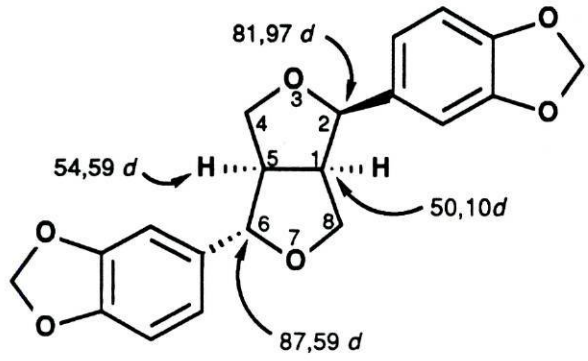


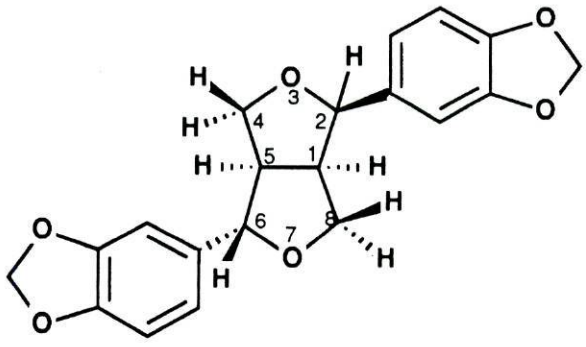
Fig. 21- Valores de δ de protões oxibenzílicos do composto **26**

Os espectros de RMN de ^{13}C (pág. 185), mostram diferenças significativas nos valores de deslocamento químico dos pares de carbonos alifáticos C-2/C-6 e C-1/C-5, o que apoia a proposição do composto pertencer à série *epi* [189].



O espectro de massa de baixa resolução mostra o valor de massa molecular relativa de 354 u.m.a., o qual corresponde à fórmula molecular $C_{20}H_{18}O_6$ de acordo com a fórmula proposta.

O valor positivo de rotação óptica (pág. 184) permite concluir que o composto 26 corresponde à (+)-episesamina, (+)-2,6-*Bis*-(3,4-metileno-dioxifenil) -3,7-dioxobiciclo-[3.3.0] octano.



26

Este composto foi isolado noutras espécies e os dados espectrais estão concordantes com os descritos para a (+)-episesamina [192-196].

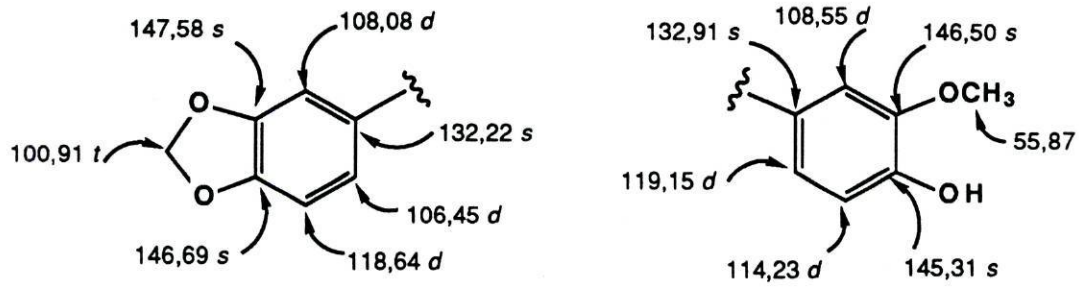
5. 2. 4. (+)-2-(3,4-Metilenodioxifenil)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano: (+)-Xantoxilol (27)

O espectro no IV pág. (186) do composto **27** evidencia uma banda de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo a 3380 cm^{-1}, bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1605 cm^{-1}, 1590 cm^{-1}, 1510 cm^{-1}, 1490 cm^{-1} e uma banda de forte intensidade a 1270 cm^{-1} de estiramento da ligação C-O.

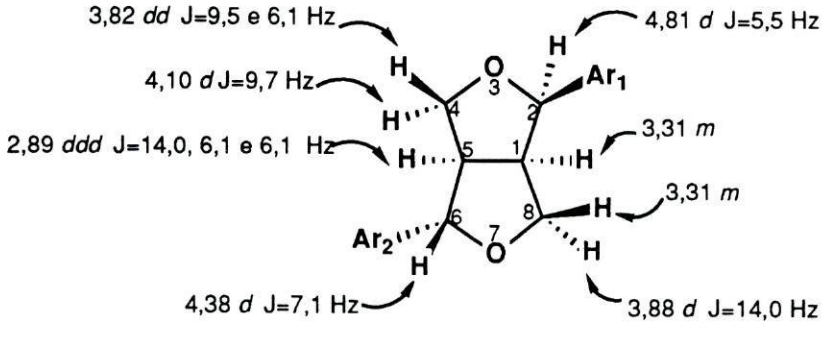
O espectro no UV (pág. 186), mostra bandas de absorção a 205, 232 e 284 nm (log ε 4,7, 4,1 e 3,9 respectivamente) que após a adição de uma solução metanólica de hidróxido de sódio, sofrem um deslocamento batócromico para 217 e 288 nm (log ε 5,1 e 4,3 respectivamente), indicando a natureza fenólica do grupo hidroxilo.

O espectro de RMN de ^{1}H a 200 MHz (pág. 186), exibe sinais de núcleo furofurano análogo ao do composto **26**, no entanto o padrão de substituição dos núcleos aromáticos é diferente. Neste composto apenas se observa um sinal a δ 5,95 (2H) de grupo metilenodióxido e dois singuletos a δ 5,71 (1H) e δ 3,88 (3H) referentes a grupos hidroxilo fenólico e metoxilo respectivamente. Este facto sugere que o composto contém um anel piperonilo e um anel guaiacilo (4-hidroxi-3-metoxifenilo).

Os valores de deslocamento químico dos carbonos nos espectros de RMN ^{13}C (BB e DEPT, pág. 186), confirmam a presença destes dois núcleos [189]:



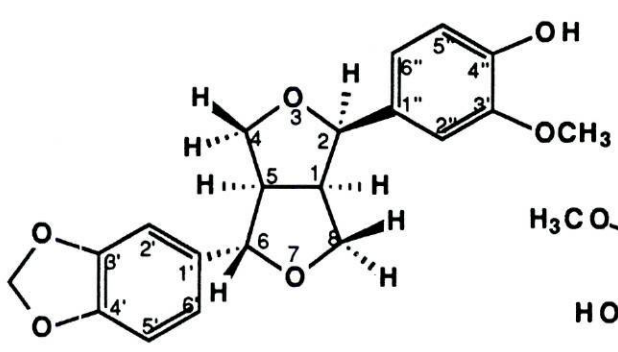
Como se observa na estrutura do núcleo 3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano os valores de deslocamento químico dos protões oxibenzílicos a δ 4,81 (J=5,5 Hz, H-2 equatorial) e 4,38 (J=7,2 Hz, H-6 axial) indicam que o composto **27** corresponde à série *epi*, tal como discutido para o composto **26** (pág. 117). Os restantes sinais do espectro correspondem a um dupleto a 4,10 (J=9,7 Hz, H-4eq.), um dupleto a δ 3,88 (J=14,0 Hz, H-8 eq.), um duplo dupleto a δ 3,82 (J=9,5 e 6,1 Hz, H-4ax.), um multipleto centrado a δ 3,31 (H-8ax. e H-1) e um duplo duplo dupleto a δ 2,89 (J=14,0, 6,1 e 6,1, H-5).



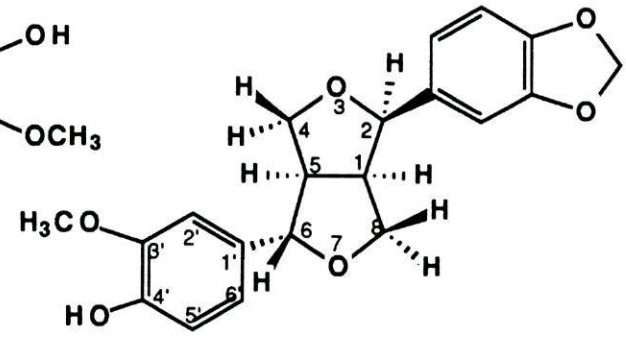
Ar_1=3,4-metilenodioxifenilo ou 4-hidroxi-3-metoxifenilo

Ar_2=3,4-metilenodioxifenilo ou 4-hidroxi-3-metoxifenilo

Tendo em conta que os grupos piperonilo e guaiacilo podem estar ligados aos carbonos 2 ou 6 o composto **27** poderá corresponder ao pluviatilol **(34)** ou xantoxilol **(35)**.

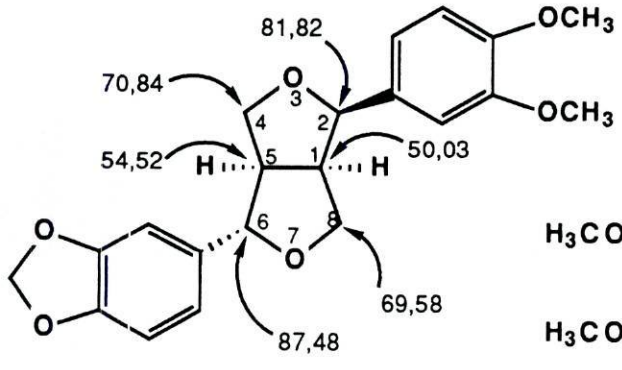


34

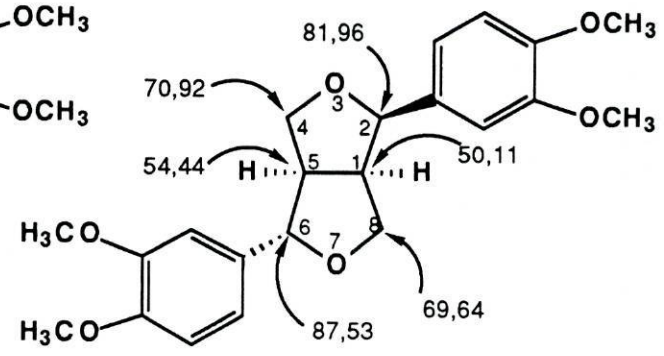


35

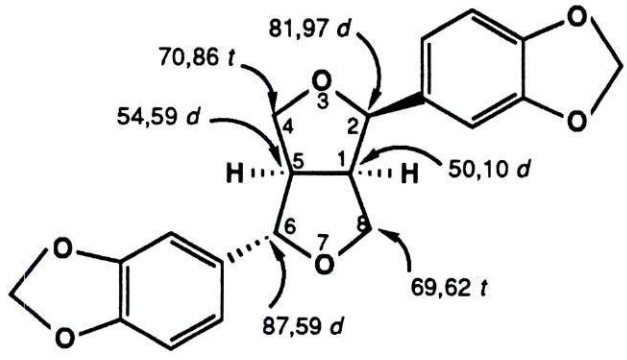
Como os valores de deslocamento químico dos protões dos aneis 3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano não podem ser utilizados para distinguir entre as estruturas dos dois compostos, recorremos aos valores de deslocamento químico dos carbonos deste núcleo em vários lignanos modelo, metilpluviatilol **(36)** [189], epieudesmina **(37)** [189], episesamina **(26)** e comparamos com os do composto **27.**



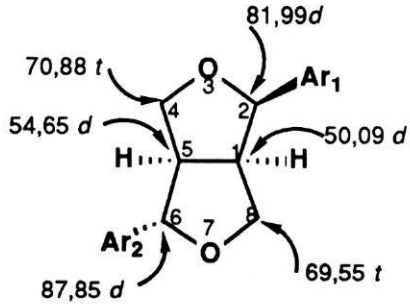
36



37



26



27

Como se pode verificar, os valores de deslocamento químico dos carbonos do núcleo furofurano, não são influenciados pela natureza dos substituintes arilo e, por isso, não permitem distinguir estes compostos.

Na tentativa de verificar a estereoquímica dos grupos piperonilo e guaiacilo procedeu-se à acetilação do composto **27**. A análise do espectro de RMN de ^1H a 200 MHz do derivado monoacetilado (pág. 187) indicou, além do singuleto a δ 2,29 ($OCOC\underline{H}_3$), um deslocamento para campo mais baixo dos protões aromáticos para δ 6,99 (*d*, J=8,0 Hz) e 6,98 (*d*, J=2,0 Hz), atribuídos aos protões em posição *orto* e *meta* ao grupo hidroxilo fenólico. Além desta alteração observou-se na região dos protões alifáticos apenas o deslocamento para campo mais baixo do protão oxibenzílico axial de δ 4,38 (*d*, J=7,2 Hz) para δ 4,47 (*d*, J=7,2 Hz). Como se observa na Fig. 22 (pág. 123) a desproteção de 0,09 ppm causada pelo grupo acetoxilo é indicativo de uma posição geminal do grupo guaiacilo equatorial.

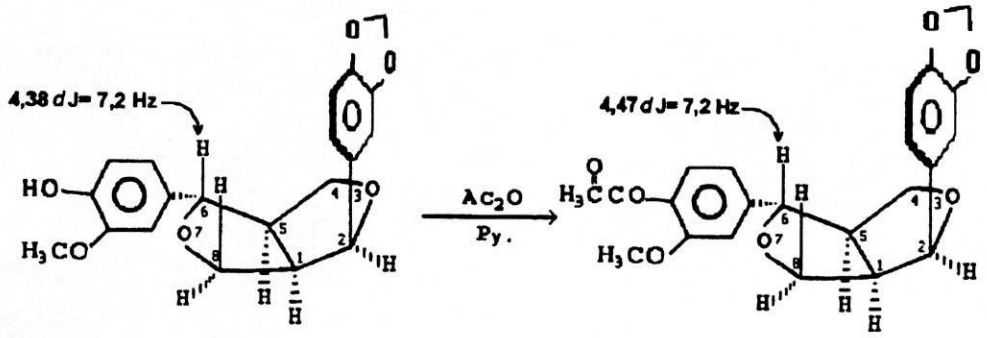


Fig. 22- Valores de δ de ^{1}H do composto **27** e do derivado acetilado

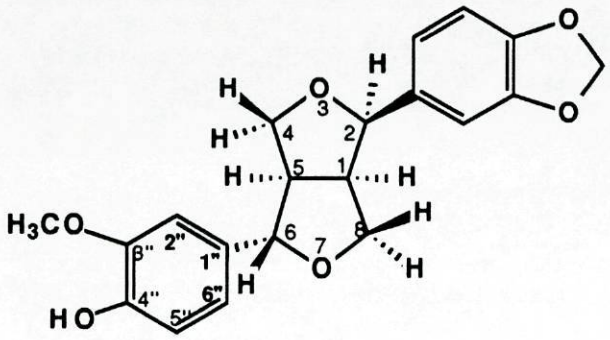
Este facto levou a concluir que o composto **27** corresponde à estrutura do xantoxilol, em que o anel guaiacilo está na posição equatorial e consequentemente o grupo piperonilo na posição axial [189].

O espectro de RMN de ^{13}C do derivado monoacetilado (Tabela 10, pág. 124) mostrou, além dos sinais do grupo acetoxilo a δ 169,09 (CO) e δ 20,65 ($C\underline{H}_3$), algumas alterações nos deslocamentos químico de carbonos aromáticos do anel guaiacilo. O carbono ligado ao grupo acetoxilo sofre um deslocamento para campo mais alto a δ 140,21 (Δ=5,10 ppm), enquanto que os carbonos *orto* e *meta* a este grupo sofrem deslocamentos para campo mais baixo a δ 151,20 (Δ=4,70 ppm), δ 122,68 (Δ=8,45 ppm) e δ 139,18 (Δ=6,27 ppm). Os carbonos do núcleo 3,7-dioxabiciclo-[3.3.0]-octano quase não sofreram alteração.

Tabela 10-Valores de δ de ^{13}C dos compostos **27** e de derivado acetilado.

^{13}C	Comp. **27**	Deriv. acet.	Δ ppm
C-1	50,09, *d*	50,09, *d*	
C-2	81,99, *d*	82,01, *d*	
C-4	70,88, *t*	70,99, *t*	
C-5	54,65, *d*	54,61, *d*	
C-6	87,85, *d*	87,30, *d*	
C-8	69,55, *t*	69,74, *t*	
C-1'	132,22, *s*	132,19, *s*	
C-2'	108,08, *s*	108,13, *s*	
C-3'	147,58, *s*	147,63, *s*	
C-4'	146,69, *s*	146,68, *s*	
C-5'	118,64, *d*	118,68, *s*	
C-6'	106,45, *d*	106,39, *d*	
C-1''	132,91, *s*	139,18, *s*	6,27
C-2''	108,55, *d*	109,92, *d*	
C-3''	146,50, *s*	151,20, *s*	4,70
C-4''	145,31, *s*	140,21, *s*	5,10
C-5''	114,23, *d*	122,68, *d*	8,45
C-6''	119,15, *d*	118,14, *d*	
OMe	55,87, *q*	55,90, *q*	
$O\underline{C}H_2O$	100,91, *t*	100,95, *t*	
$O\underline{C}OCH_3$	----	169,09, *s*	
$CO\underline{C}H_3$	----	20,65, *q*	

O espectro de massa de baixa resolução do composto **27** indicou a massa molecular de 356 u.m.a., a qual corresponde à estrutura do xantoxilol. O valor do poder rotatório do composto **27** [α] +151º (pág. 185) permite concluir que o composto corresponde ao (+)-xantoxilol:



27

O composto (-)-xantoxilol já foi isolado da casca de *Xanthoxylum piperitum* DC. [197]. De salientar que é a primeira vez que se descreve o espectro de RMN de ^{13}C para este composto.

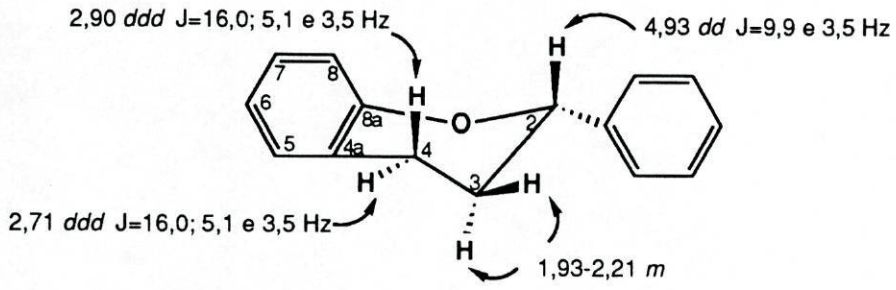
5. 2. 5. 7,4'-Diidroxi-3'-metoxiflavana (28)

O espectro no I V do composto **28** (pág. 188) evidencia uma banda de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo a 3440 cm^{-1} e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1610, 1590 e 1510 cm^{-1}.

O espectro no UV (pág. 188) mostra bandas de absorção a 206, 225 e 282 nm (log ε 4,8; 4,0, 3,8), que sofrem um deslocamento batocrómico para 214, 242 e 290 nm (log ε 5,1; 4,6, 4,4), após adição de uma solução metanólica de hidróxido de sódio, indicando a natureza fenólica do composto.

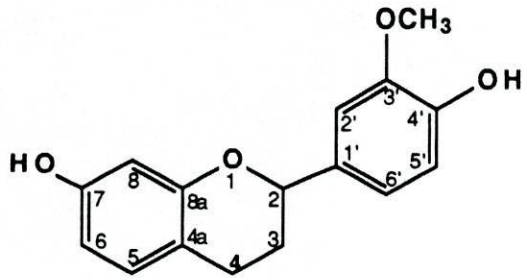
O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (pág. 188) evidencia a presença de protões aromáticos entre δ 6,8 e 7,0 (4H) e entre δ 6,3 e 6,4 (2H), três singuletos a 5,62 (1H) e 4,79 (1H) e δ 3,88 (3H) referentes a dois grupos hidroxilo fenólico e um grupo metoxilo ligado a anel aromático. Além destes valores, ainda se observam sinais de protões característicos de anel pirânico de uma flavana semelhantes aos do composto **7**:

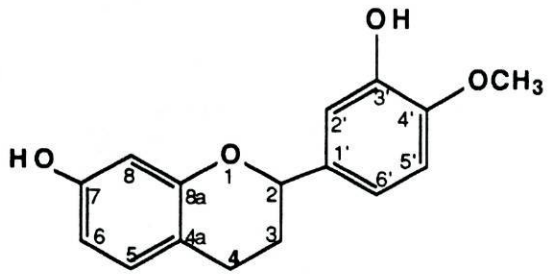
- um duplo dupleto a δ 4,93 (J=9,9 e 3,5 Hz) de H-2 axial;
- um duplo duplo dupleto a δ 2,90 (J=16,0; 5,1 e 3,5 Hz) de H-4 axial;
- um duplo duplo dupleto a δ 2,71 (J=16,0; 5,1 e 3,5 Hz) de H-4 equatorial;
- um multipleto entre δ 1,93 e 2,21 correspondentes a H-3 axial e H-3 equatorial.

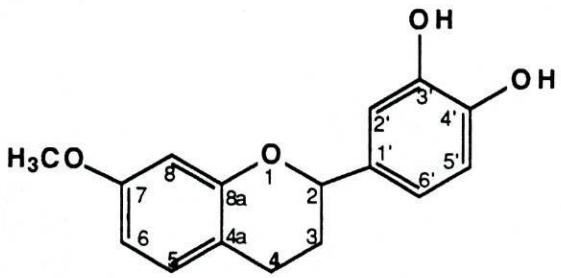


A ampliação da região de protões aromáticos revelou que o multipleto entre δ 6,8 e 7,0 é constituído por um dupleto δ 6,91 (1H, J=8,0 Hz) e um multipleto entre δ 6,89 e 6,94 (3H). O multipleto entre δ 6,3 e 6,4 corresponde a um dupleto a δ 6,38 (1H, J=2,0 Hz) e um duplo dupleto a δ 6,37 (1H, J=8,8 e 2,5 Hz).

Este padrão de acoplamento dos protões aromáticos é quase análogo ao observado no composto **7** (7-hidroxi-3',4'-metilenodióxiflavana). A diferença entre estes dois compostos refere-se à presença de um grupo hidroxilo e um grupo metoxilo em vez de um grupo metilenodióxido. Consequentemente o composto **28** poderá corresponder a uma das seguintes estruturas:

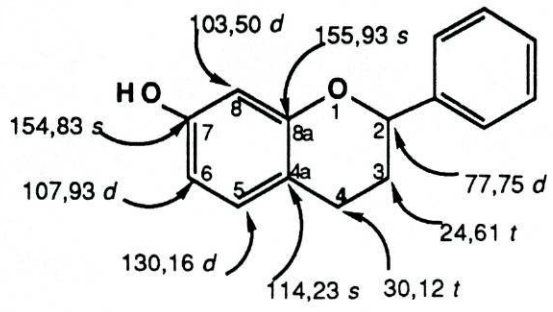






A última estrutura foi excluída com base no seu comportamento no espectro de UV. A adição de uma solução metanólica de cloreto de alumínio não provocou um deslocamento batocrómico das bandas de absorção, indicando a ausência de um sistema *orto*-diidroxifenilo.

Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT, pág. 188) do composto, também indicam valores de deslocamento químico de núcleo 7-hidroxiflavana semelhante aos observados na estrutura 7-hidroxi do composto **7**.



Embora os valores de deslocamento químico dos carbonos do segundo anel aromático sejam semelhantes ao núcleo guaiacilo [189], a determinação da posição do grupo hidroxilo foi baseada na observação da mudança de deslocamento químico dos protões aromáticos no derivado acetilado.

O espectro de RMN de ^{1}H do derivado diacetilado (pág. 188) mostra além dos sinais a δ 2,30 e 2,27 (6H, $OCOC\underline{H}_3$), que o duplo dupleto a δ 6,37 (J=8,8 e 2,5 Hz) e o dupleto a δ 6,38 (J=2,0 Hz) do composto original, foram deslocados para δ 6,58 e 6,63 respectivamente. Estes sinais devem corresponder a H-6 e H-8.

A ressonância correspondente aos restantes protões aromáticos traduz-se num multipleto entre δ 6,8 e 7,0 que aparece agora como um dupleto a δ 7,06 (J=8,0 Hz), dois dupletos a a δ 7,02 (J=2,0 Hz) e um dupleto a δ 7,02 (J=8,0 Hz).

Na região dos protões alifáticos observa-se um deslocamento para campo mais baixo do protão oximetínico (H-2) de δ 4,92 para 4,99 (Δ=0,07 ppm), após a acetilação.

Este efeito é semelhante ao observado com o xantoxilol, o qual indica que o o grupo hidroxilo fenólico deve estar ligado ao carbono 4' (Fig. 23).

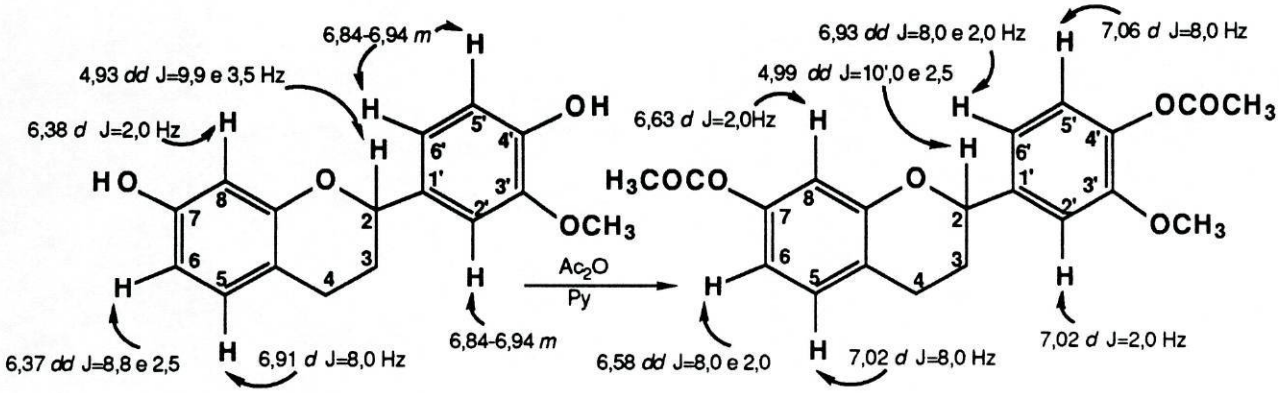


Fig. 23- Valores de δ de ^1H do composto **28** e do derivado acetilado.

Com base nos dados dos espectros de RMN de ^1H do composto original e do derivado diacetilado pode-se eliminar a estrutura em que o grupo metoxilo está na posição 4'.

O espectro de massa de baixa resolução (pág. 187) mostrou o pico do ião molecular a 272 u.m.a., o pico base de m/e=150, e outro sinal de forte intensidade de m/e=123 são indicadores de fragmentos originados por fragmentação retro-Diels-Alder (Fig. 24, pág. 130 [175,176,179,188].

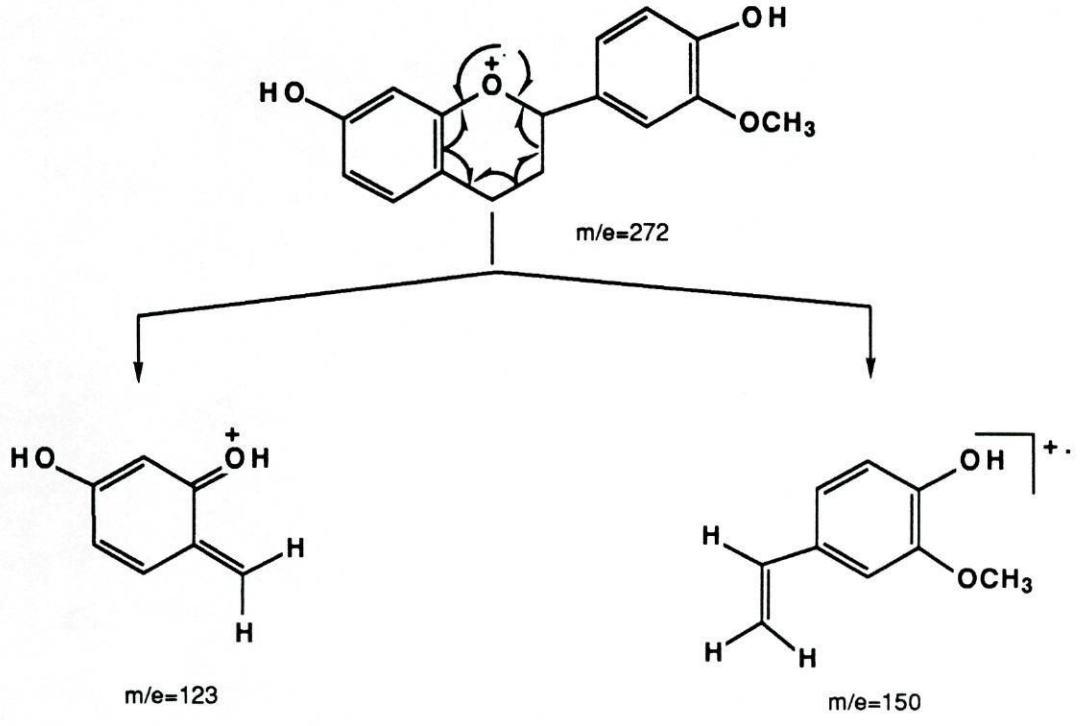
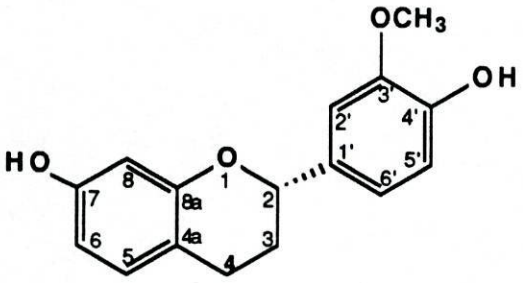


Fig. 24- Formação dos fragmentos m/e=123 e m/e=150, obtido por espectrometria de massa de impacto electrónico.

Estes valores do espectro de massa, juntamente com os espectros no IV, UV, RMN de ^{1}H e de ^{13}C e o valor positivo do poder rotatório específico (pág.), permitem concluir que o composto **28** corresponde ao (+)-7,4'-diidroxi-3'-metoxiflavana.



28

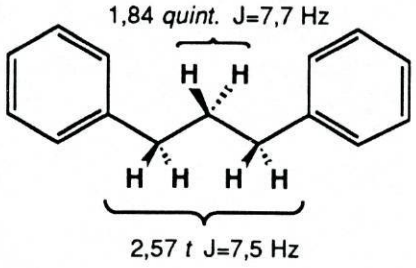
Este composto foi isolado dos bolbos de *Zephyranthes flava* (*Amaryllidaceae*) [175], da madeira de *Iryanthera elliptica* Ducke (*Myristicaceae*) [198], e da madeira de tronco de *Iryanthera grandes* Ducke (*Myristicaceae*) [199]. É de referir ser esta a primeira vez que se assinalam os valores de deslocamento químico de RMN de ^{13}C deste composto.

5. 2. 6. 1-(4-Hidroxi-2-metoxifenil)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-propano (29)

O espectro no I V do composto **29** (pág. 189) evidencia uma banda de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo a 3440 cm-1 e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1620, 1600 e 1525 cm^{-1}.

O registo do espectro no UV (pág. 189), indica bandas de absorção a 209, 228, e 281 nm (log ε 3,7, 3,9 e 3,7 respectivamente), que após adição de uma solução metanólica de NaOH, sofrem um deslocamento batocrómico para 220 e 292 nm (log ε 4,0 e 3,8 respectivamente), indicando a natureza fenólica do grupo hidroxilo [149].

O espectro de RMN de ^1H a 500 MHz (pág. 189) indica a presença de protões aromáticos entre δ 6,3 e 7,0 (6H). Na região alifática, observa-se uma banda larga centrada a δ 5,43 (2H) que desaparece após adição de D_2O e dois singuletos a 3,84 e δ 3,73 correspondentes a grupos hidroxilo e metoxilos respectivamente. A campo mais alto verifica-se a presença de um tripleto a 2,57 (4H, J=7,5 Hz), característico de protões benzílicos e um quinteto a δ 1,84 (2H, J= 7,7 Hz). As experiências de dupla irradiação mostram o acoplamento destes protões, sugerindo a possibilidade de uma estrutura como [199-202]:

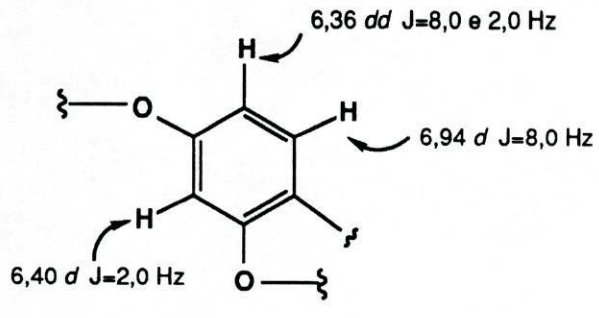


A análise da expansão do espectro na região dos protões aromáticos evidencia a presença de :

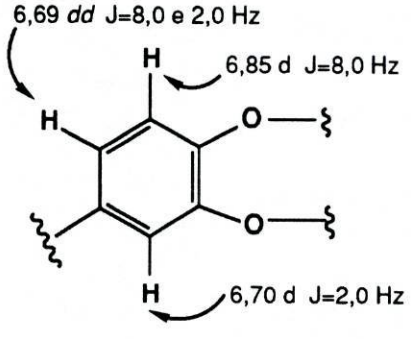
- um dupleto a δ 6,94 (1H, J=8,0 Hz), que está acoplado com o dupleto a δ 6,40 (1H, J=2,0 Hz) e com o duplo dupleto a δ 6,36 (1H, J=8,0 e 2,0 Hz);

- um dupleto a δ 6,85 (1H, J=8,0 Hz), que está acoplado com o dupleto a δ 6,70 (1H, J=2,0 Hz) e com o duplo dupleto a δ 6,69 (1H, J=8,0 e 2,0 Hz).

O padrão de acoplamento dos protões aromáticos leva a pressupôr a presença de dois aneis aromáticos 1,2,4- e 1,3,4-trissubstituídos sugerindo as estruturas parciais **38** e **39**:

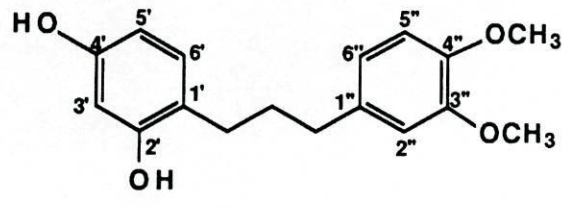


38

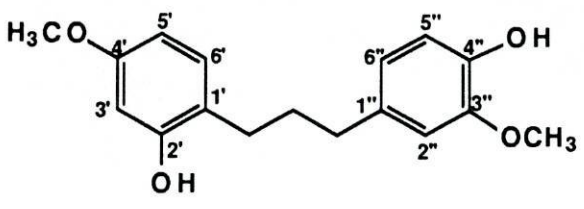


39

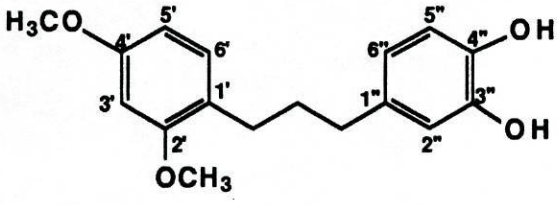
As diferentes localizações dos dois grupos hidroxilo e metoxilo nos aneis aromáticos podem corresponder a uma das seguintes estruturas :



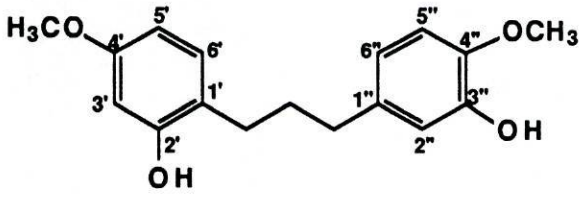
40



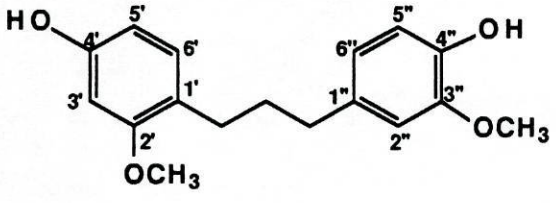
41



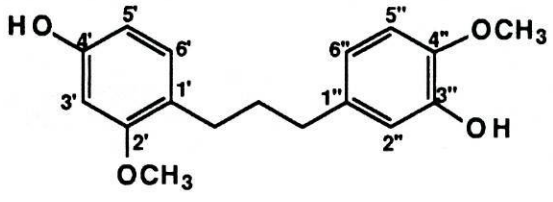
42



43



44



45

A eliminação da estrutura **42** foi sugerida devido à ausência de um sistema *orto*-diidroxifenilo comprovado pela falta de um deslocamento batocrómico, após adição de um solução metanólica de cloreto de alumínio, no espectro do UV [149]. A impossibilidade da estrutura **44** foi baseada no teste de Gibbs positivo.

A determinação da posição dos grupos hidroxilo e metoxilo e portanto a escolha entre as estruturas **40, 41, 43** e **45**, foi tentada pela análise dos valores de deslocamento químico dos protões aromáticos após acetilação.

A Tabela 11, referente ao espectro de RMN de ^1H a 200 MHz do derivado diacetilado (δ 2,29 e 2,28, 6H, $OCOC\underline{H}_3$) mostra que todos os valores de deslocamento químico dos protões aromáticos são deslocados para campo mais baixo, em relação ao composto original.

Tabela 11- Valores de δ de ^1H do composto **29** e derivado diacetilado.

^1H	composto **29**	deriv. diacetilado	Δ (ppm)
H-6'	6,94	7,10	0,16
H-5''	6,85	6,93	0,08
H-2''	6,70	6,79	0,09
H-6''	6,69	6,76	0,07
H-3'	6,40	6,58	0,18
H-5'	6,36	6,62	0,26

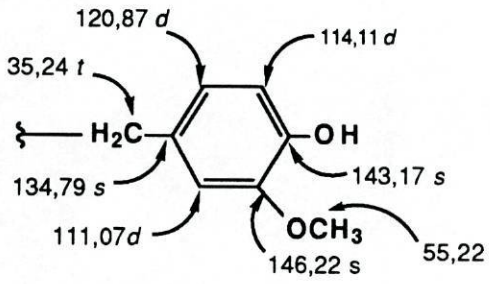
O deslocamento químico de todos os protões aromáticos, permite a exclusão da estrutura **40** visto que, cada anel, deve possuir um grupo hidroxilo, que após acetilação, cause desproteção de todos os protões aromáticos.

A tentativa de escolha entre as estruturas **41**, **43** e **45**, foi baseada na análise da variação dos valores de deslocamento químico de todos os protões aromáticos após acetilação. No anel 1,2,4-trissubstituído verifica-se um deslocamento para campo mais baixo dos protões H-3' e H-5' de 0,18 e 0,26 ppm, indicando as posições *orto* ou *para* em relação ao grupo hidroxilo. Este facto não permitiu distinguir o padrão de substituição entre as estruturas **41**, **43** e **45**.

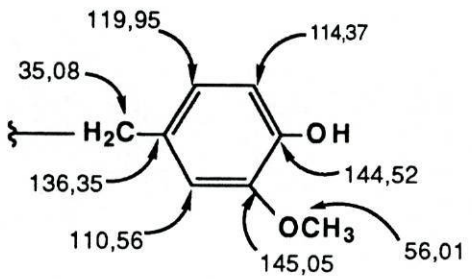
A variação de deslocamento químico dos protões H-2" e H-6" referentes ao anel 1,3,4-trissubstituído é semelhante ao do anel anterior, sendo de 0,09 e 0,07 ppm respectivamente. Este padrão de variação também não permite concluir qual dos protões está em posição *orto* ao grupo hidroxilo.

A tentativa de distinguir entre as três estruturas pelo espectro de RMN de ^{13}C (BB e DEPT, pág. 190) também não foi possível. Os valores de deslocamento químico e multiplicidades dos sinais dos carbonos indicam a presença de três carbonos metilénicos (δ 35,24 *t*, 31,75 *t*, 29,11 *t*), dois dos quais são de natureza benzílica (δ 35,24 *t*, 35,75 *t*). Dos doze carbonos aromáticos, seis não são substituídos (δ 106,49 *d*, 111,07 *d*, 114,11 *d*, 120,87 *d*, 130,06 *d* e 98,90 *d*) e seis são substituídos (δ 158,30 *s*, 154,83 *s*, 146,22 *s* 143,17 *s*, 134,79 *s* e 122,72 *s*), quatro dos quais estão ligados a funções oxigenadas (δ 158,30 *s*, 154,83 *s*, 146,22 *s* e 143,17 *s*).

Comparando os valores de deslocamento químico dos carbonos de um dos aneis aromáticos do composto **29**, com os do modelo **46**, poder-se-ia admitir a presença de um anel 4-hidroxi-3-metoxifenilo [183].



29



46

As posições dos grupos metoxilo e hidroxilo foram determinadas através da experiência de NOE (500 MHz), como se observa na Fig. 25, (pág 137).

A irradiação na frequência de um dos sinais do grupo metoxilo (δ 3,78), causou um aumento de intensidade de 4,3 % somente do sinal do protão H-3' (δ 6,40 *d*, J=8,0 Hz), enquanto que a irradiação na frequência do segundo grupo metoxilo a δ 3,87, aumentou de 3,9 % a intensidade do sinal do protão H-5'' (δ 6,85 *d*, J=8,0 Hz).

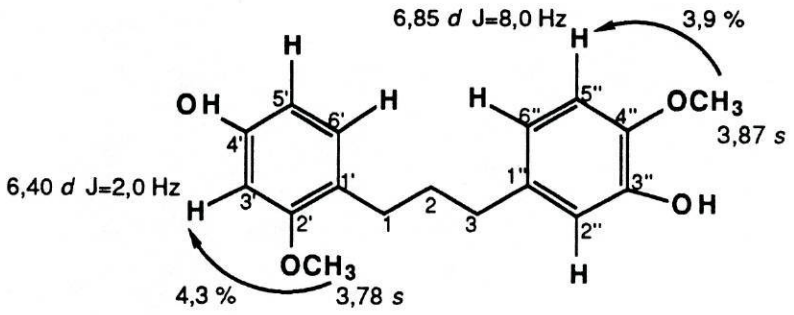
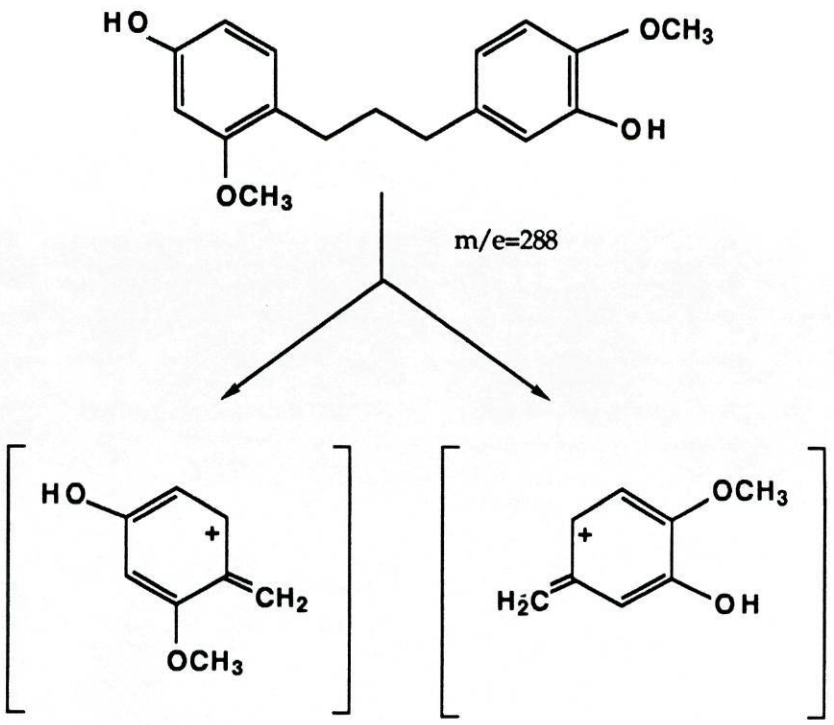


Fig. 25- Experiências de NOE do composto **29**.

Este facto permite concluir que o composto corresponde à estrutura **45**

O espectro de massa de baixa resolução indica a presença do pico referente ao ião molecular de m/e=288, o qual está de acordo com a estrutura do composto.

Além deste sinal, a presença do pico do ião fragmento a m/e=151 e o pico base de m/e=137, juntamente com a ausência do pico de m/e=123, confirma o padrão de fragmentação deste composto (Fig. 26, pág. 138) [200,202].



m/e=137 m/e=137

Fig. 26- Formação dos fragmentos m/e=137 obtido por espectrometria de massa de impacto eletrónico.

Este composto já foi isolado de *Virola multinervia* (202). De salientar que os dados espectrais de RMN de ^{13}C do composto nunca tinham sido descritos.

5. 2. 7. 4',5-Dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno (30)

O espectro no IV do composto **30** (pág. 191) evidencia uma banda de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo a 3380 cm^{-1} e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1610, 1590, 1500 e 1450 cm^{-1}.

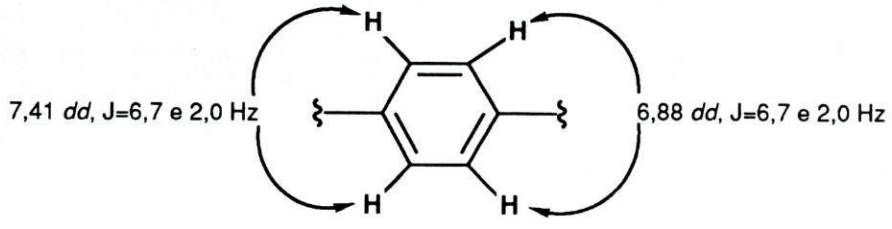
A natureza fenólica do composto foi evidenciada por uma intensa cor púrpura após pulverização com uma solução de cloreto férrico seguida de aquecimento [203].

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz do composto **30** (pág. 191) mostra, além de dois dupletos a δ 7,00 (1H, J=16,3 Hz) e 6,83 (1H, J=16,3 Hz) atribuíveis a protões olefínicos de configuração *trans*, cinco duplos dupletos na zona aromática a δ 7,41 (2H, J=6,7 e 2,0 Hz), δ 6,88 (2 H, J=6,7 e 2,0 Hz), a δ 6,61 (1H, J=2,0 e 2,0 Hz), 6,56 (1H, J=2,0 e 2,0 Hz) e 6,31 (1H, J=2,0 e 2,0 Hz).

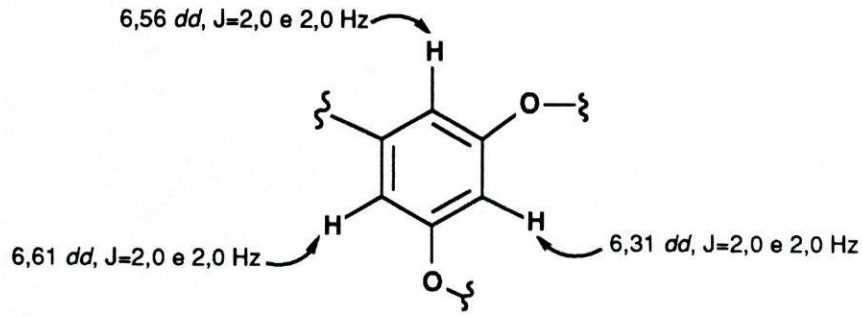
Tanto as experiências de desacoplamento como o espectro de correlação protão-protão (COSY), revelaram o acoplamento entre:

- os dois dupletos a δ 7,00 (1H) e 6,83 (1H).
- os dois duplos dupletos, a δ 7,41 (2H) e δ 6,88 (2H).

Estes valores a δ 7,41 e δ 6,88 indicam a presença de um anel aromático 1,4-dissubstituído por dois substituintes de diferentes electronegatividades como se observa na estrutura:



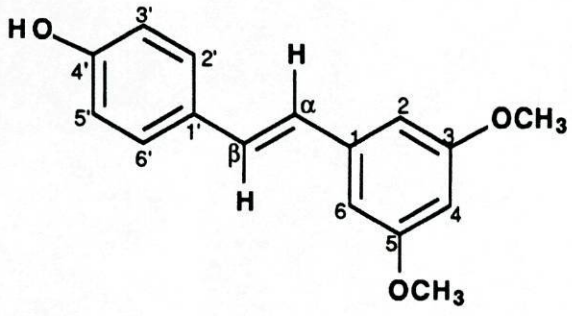
A presença de um segundo anel aromático oxigenado é sugerida pelos valores de deslocamento químico a δ 6,61, 6,56 e 6,31, dos protões aromáticos e dos respectivos acoplamentos. A posição *meta* entre estes protões, indicada pelas suas multiplicidades e constantes de acoplamento (J=2,0 Hz), levam-nos a propôr a estrutura parcial:

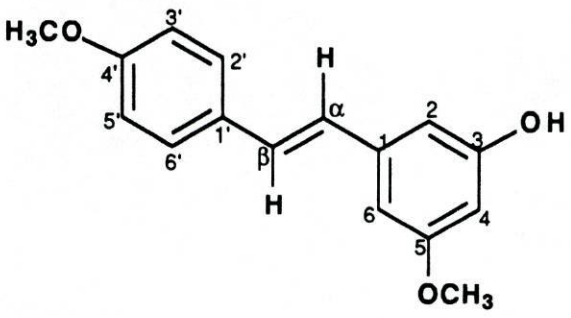


Os dois sinais dos dupletos a δ 7,00 e 6,83 acoplados entre si com constantes de acoplamento de 16,3 Hz, são característicos de um sistema AB de protões olefínicos em posição *trans* [204].

A campo mais alto do espectro de RMN de ^1H observa-se um singuleto largo a δ 5,00 referente a um protão hidroxilo fenólico (desaparece com D_2O), e dois singuletos a δ 3,81 e 3,80 correspondentes a dois grupos metoxilo.

Como não se observam outros sinais no espectro, a dupla ligação deve estar conjugada com os aneis aromáticos sugerindo a presença de um derivado de um estilbeno [55, 205-210].



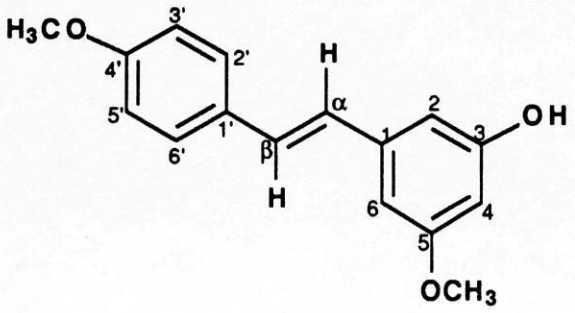


Para localizar a posição dos grupos hidroxilo procedeu-se à acetilação do composto **30**. O espectro de RMN de ^1H do derivado monoacetilado (δ 2,29 *s*, OCOC$\underline{H}_3$) mostrou que os sinais referentes aos protões do grupo fenilo 1,3,5-trissubstituído foram deslocados para campo mais baixo a δ 6,86 (*dd*, J=2,0, Δ=0,25), 6,83 (*dd*, J=2,0, Δ=0,27) e 6,51 (*dd*, J=2,0 e 2,0, Δ=0,20). Os protões do anel aromático 1,4-dissubstituído permaneceram inalterados como se observa na Tabela. 12.

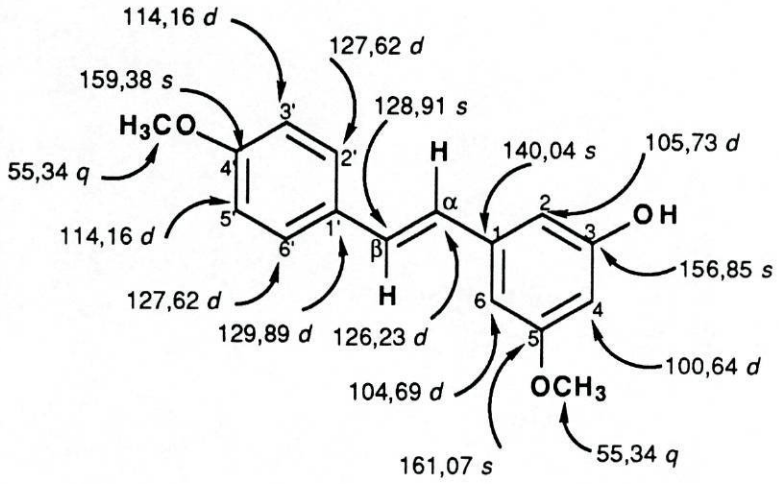
Tabela 12 - Valores de δ de ^1H do composto **30** e do derivado acetilado.

^1H	composto **30** (J, Hz)	deriv. acetil.(J, Hz)	Δ ppm
H-3', 5'	7,41, *dd*, (6,7 e 2,0)	7,41, *d*, (9,0)	
H-2', 6'	6,88, *dd*, (6,7 e 2,0)	6,88, *d*, (9,0)	
H-2	6,61, *dd*, (2,0 e 2,0)	6,86, *dd*, (2,0 e 2,0)	0,25
H-6	6,56, *dd*, (2,0 e 2,0)	6,83, *dd*, (2,0 e 2,0)	0,27
H-4	6,31, *dd*, (2,0 e 2,0)	6,51, *dd*, (2,0 e 2,0)	0,20
Hα	6,83, *d*, (16,3)	6,86, *d*, (16,0)	
H_β	7,00, *d*, (16,3)	7,02, *d*, (16,0)	
OH	5,00, *s* l	--	
OCH_3	3,81, *s*	3,80, *s*	
OCH_3	3,80, *s*	3,80, *s*	
$OCOCH_3$	---	2,29, *s*	

Este facto levou a concluir que o grupo hidroxilo fenólico se encontra na posição 3 do anel benzénico 1,3,5-trissubstituído:



Os espectros de RMN de ^{13}C do composto **30** (BB e DEPT, pág. 191), mostram além de dois dupletos a δ 126,23 e 128,91 referentes a carbonos olefínicos de *trans*-estilbeno [86], sinais de doze carbonos aromáticos com valores de deslocamento químico típicos de grupos *p*-metoxifenilo [86] e 3-hidroxi-5-metoxifenilo [62]



A massa molecular de 256 u.m.a., indicada pelo espectro de massa, está de acordo com a fórmula molecular $C_{16}H_{16}O_3$ do composto **30**, isolado pela primeira vez, o qual corresponde ao 4',5-dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno.

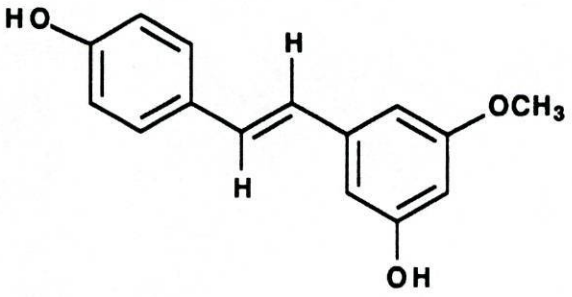
5. 2. 8. 3,5-Diidroxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno (31)

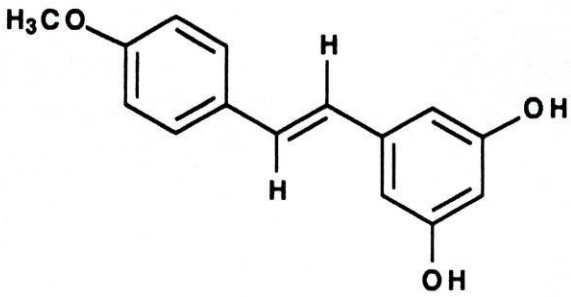
O espectro no IV do composto **31** (pág. 192) evidencia uma banda larga de absorção de estiramento característica de grupo hidroxilo entre 3100 cm^{-1} e 3600 cm^{-1} e bandas de estiramento de grupo C=C de anel aromático a 1600 cm^{-1}, 1570 cm^{-1} e 1520 cm^{-1}.

O espectro no UV (pág. 192), mostra bandas de absorção a 217 e 305 nm (log ε 4,4 e 4,3 respectivamente) que, após adição de uma solução metanólica de hidróxido de sódio, sofrem um deslocamento para 306 nm (log ε 4,3), indicando a presença de grupo hidroxilo fenólico [149].

O espectro de RMN de ^1H a 200 MHz (DMSO) do composto **31** (pág. 192) evidencia um singuleto largo a δ 9,23 (2H) que desaparece com adição de D_2O, atribuível a dois protões hidroxílicos. Na região dos protões aromáticos observam-se sinais entre δ 6,4 e 8,0 (9H).

A ampliação e expansão do espectro nesta região permite observar a presença de dois dupletos a δ 7,50 (2H, J=8,7 Hz), que está acoplado com outro dupleto a δ 6,91 (2H, J=8,7 Hz), evidenciando a presença de um anel 1,4-dissubstituído como observado no composto **30**. Os dois dupletos com constantes de acoplamento de 16,3 Hz a δ 6,89 (1H) e 6,86 (1H) são atribuídos a protões olefínicos de *trans*-estilbeno. Um dupleto a δ 6,40 (2H, J=2,0 Hz), que acopla com o duplo dupleto a δ 6,12 (1H, J=2,0 e 2,0 Hz), pertencem a um anel 1,3,5-trissubstituído. Como na região de protões alifáticos apenas se observa a presença de um grupo metoxilo a δ 3,75 (3H), o composto **31** poderá ter as estruturas:



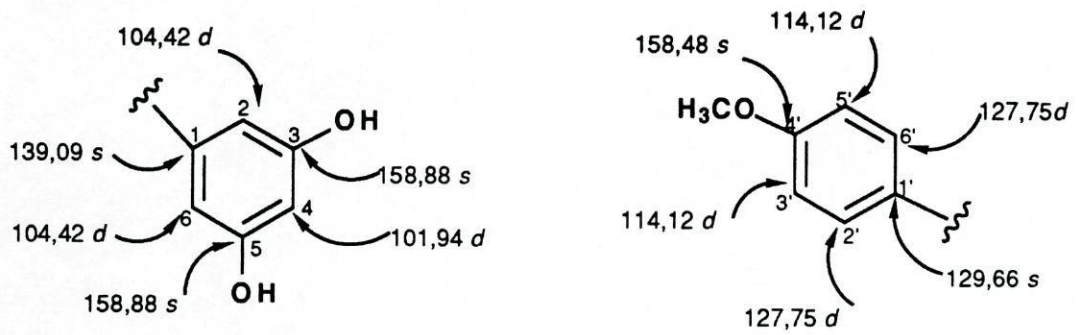


Os espectros de RMN de ^{13}C (BB e DEPT Tabela 13), mostram valores de deslocamento químico de carbonos quase análogos aos observados para o composto **30** .

Tabela 13- Valores de δ de ^{13}C dos compostos **30** e **31**.

^{13}C	Comp. **30**	Comp. **31**
C-1	140,04 *s*	139,09 *s*
C-2	105,73 *d*	104,42 *d*
C-3	156,85 *s*	158,88 *s*
C-4	100,64 *d*	101,94 *d*
C-5	161,07 *s*	158,88 *s*
C-6	104,69 *d*	104,42*d*
C-α	126,23 *d*	126,66 I
C-B	128,91 *d*	127,48 *d*
C-1'	129,89 *s*	129,66 *d*
C-2'	127,62 *d*	127,75 *d*
C-3'	114,16 *d*	114,12 *d*
C-4'	159,38 *s*	158,48 *s*
C-5'	114,16 *d*	114,12 *d*
C-6'	127,62 *d*	127,75 *d*
O$\underline{C}H_3$	55,34 *q*	55,12 *q*
O$\underline{C}H_3$	55,34 *q*	--

A única diferença relativamente ao composto **31**, é que apenas se observam dois valores de deslocamento químico de carbonos aromáticos ligados ao átomo de oxigénio (δ 158,88 *s* e 158,48 *s*). O sinal a δ 158,88 deve corresponder a dois carbonos quimicamente equivalentes e, consequentemente, poderiam corresponder aos carbonos 3 e 5 do anel 3,5-diidroxifenilo enquanto que o sinal δ 158,48 pode corresponder ao carbono 4' do anel *p*-metoxifenilo:

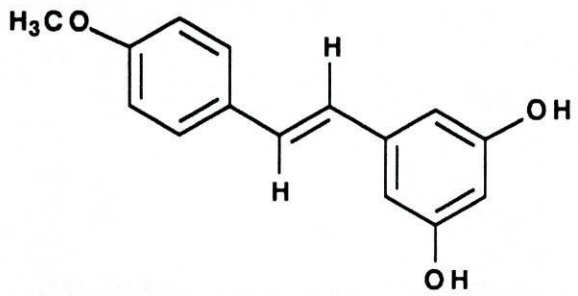


Para confirmar a hipótese da estrutura evidenciada pelos valores de deslocamento químico de carbonos no espectro de RMN de ^{13}C, efectuou-se a acetilação. O espectro de RMN de ^{1}H do derivado diacetilado (δ 2,27 s, 6H, OCOC$\underline{H}_3$, Tabela 14, pág. 147), revelou que os sinais referentes aos protões aromáticos do anel 1,3,5-trissubstituído sofreram um deslocamento muito significativo para campo mais baixo de δ 6,40 para 7,24 (Δ= 0,84) e de δ 6,12 para 6,85 (Δ= 0,73), enquanto que os sinais dos protões aromáticos do anel 1,4-dissubstituído não sofreram alterações significativas (Δ~ 0,04). Este padrão de deslocamento dos protões aromáticos é devida à desproteção provocada pelos grupos acetoxilo o que permite confirmar a estrutura proposta.

Tabela 14- Valores de δ de ^1H do composto **31** e derivado acetilado.

^1H	,composto **31** (J, Hz)	Deriv. acetil.(J, Hz)	Δ ppm
2 OH	9,23, *s*	--	
H-3',5'	7,50, *d* (8,7)	7,53, *d* (8,7)	0,03
H-2',6'	6,91, *d* (8,7)	6,95, *d* (8,7)	0,04
H-α	6,89, *d* (16,3)	7,27, *d* (15,5)	
H-β	6,86, *d* (16,3)	7,07, *d* (15,5)	
H-2,6	6,40, *d* (2,0)	7,24, *d* (2,0)	0,84
H-4	6,12, *dd* (2,0 e 2,0)	6,85, *dd* (2,0 e 2,0)	0,73
$OC\underline{H}_3$	3,75, *s*	3,75, *s*	
2 $OCOC\underline{H}_3$	--	2,27, *s*	

O especto de massa de baixa resolução indicou a massa molecular de 242 u.m.a., confirmando a estrutura **31** correspondendo ao 3,5-diidroxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno.



31

Este composto foi isolado de *Clarisia racemosa* [207], de *Rheum webbianum* L. [208] e obtido por hidrólise do 3β-D-glucopiranosídeo de *Rheum rhaponticum* [209,210]. Foi sintetizado por Reimann [211]. É de salientar ser esta a primeira vez que se descreve o espectro de RMN de ^{13}C.

PARTE EXPERIMENTAL:
MÉTODOS GERAIS DA PARTE A E PARTE B

6. Parte Experimental: Métodos gerais da Parte A e Parte B.
. Instrumentos e materiais usados.

. Os pontos de fusão foram determinados em bloco Koefler e não foram corrigidos.

. Os espectros de UV foram registados em aparelho Shimadzu UV/Visível modelos 265 e 160.

. Os espectros no IV das amostras sólidas foram obtidos em discos de brometo de potássio (Uvasol, Merck) contendo aproximadamente 1% de amostra.

. Os espectros de RMN de ^{1}H a 200 MHz e de ^{13}C a 50,3 MHz foram registados em aparelhos Brucker Pulse NMR, Spectrometer CxP (200 MHz). Os espectros de RMN de ^{1}H a 500 MHz em aparelho Varian (Parte B). Os deslocamentos químicos foram registados em unidades de δ, as constantes de acoplamento em Hz e como referência interna foi usado o TMS.

. Os espectros de EM foram registados nos espectrómetro Hitachi Perkin-Elmer, RMU-6M (impacto electrónico) e Finnigan GC/MS System model 4510, 70 eV (Ionização química positiva, Parte B) e são referidos em m/e (% dos fragmentos).

. O polarímetro usado foi Polartronic Universal, Schmidt + Haensch.

. Os solventes foram evaporados com auxílio de pressão reduzida, usando um evaporador rotativo "Buchi" ou em corrente de azoto.

. Na cromatografia em Coluna (CC) usou-se como fase estacionária gele de sílica 60 (0,2-0,5 mm) Merck.

. Na cromatografia em camada fina analítica e preparativa utilizou-se gele de sílica G-60 GF254 Merck. Foi feita uma suspensão em água e distribuída sobre placas de vidro com auxílio de um espalhador Quickfit. A espessura da camada para as referidas placas foi de 0,25 mm e activada a 100ºC durante 1 hora.

. As pesagens foram efectuadas em balança Metler AE 163.

. Os critérios de pureza adoptados foram a nitidez e constância do PF e a observação de uma única mancha em cromatografia de camada fina, em diferentes fases móveis.

. Os solventes usados foram de marca Merck e Pronalab, com graus de pureza "pro-análise" e "puro".

. Os solventes usados para RMN foram $CDCl_3$ e DMDS-d_6 (Uvasol, Merck) com grau de deuteração superior a 99,0 %.

. Na cromatografia de HPTLC foram usadas cromatoplacas HPTLC-Fergplatten RP-18 F254 S Merck.

. Cromatógrafo de gases com detector de massa HP Hewlett-Packard 5890A, equipado com detector selectivo de massa modelo HP MSD 5970B e com um sistema de controlo e estação de trabalho de dados HP 59970. Coluna capilar DB-Wax, da marca J&W, de 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de fase.

. Cromatotron Modelo 7924T Harrison Research Inc. Ser. nº Q 85 USA.

. Na cromatografia radial utilizou-se gele de sílica HF 254+366 Merck. Foi feita uma suspensão em água e distribuída em placas com 1 mm de espessura e activada a 30ºC durante 12 horas.

PARTE A: EXPERIMENTAL DE *Knema laurina* Warb.

6. 1. Parte A: Experimental de *Knema laurina* Warb.

6. 1. 1. Extracção e isolamento dos constituintes químicos e derivados de *Knema laurina* Warb.

O material botânico estudado (casca de tronco) foi colhido em Março de 1989 no Parque Nacional de Kao Kichakoot, Chantaburi na Tailândia.

A casca do tronco, depois de seca e finamente pulverizada (3Kg), foi submetida a percolação exaustiva com metanol à temperatura ambiente. Após eliminação do solvente com auxílio de pressão reduzida formou-se um extrato bruto de aspecto gomoso (50g).

Esta goma (30g) foi dissolvida em clorofórmio. A evaporação do solvente com auxílio de pressão reduzida, até à secura, originou um extrato bruto (11g). Este extrato foi cromatografado por CC de gele de sílica (270g) e como fase móvel usaram-se misturas de várias proporções de éter de petróleo 60-80º/ clorofórmio.

Foram recolhidas 151 fracções de 500 ml cada. Todas as fracções, após concentração até à secura a pressão reduzida, foram submetidas a CCF analítica e de acordo com o seu comportamento cromatográfico foram reunidas em 9 grupos:

Grupo 1- líquido viscoso amarelo esverdeado (~800 mg) contendo substâncias apolares ainda não estudadas.

Grupo 2 - líquido oleoso amarelado (1000 mg) contendo substâncias gordas que não foram purificadas.

Grupo 3 - líquido oleoso amarelado (214 mg). Purificou-se por CCF preparativa usando como fase móvel éter de petróleo/clorofórmio 7:3, fornecendo um líquido viscoso amarelo designado por **1**.

Grupo 4 - líquido oleoso acastanhado (460 mg). Foi recromatrografado por CC (pág. 154), forneceu o composto **1**.

Grupo 5 - óleo acastanhado (512 mg), foi recromatografado por CC (pág. 155) forneceu um sólido amarelo de P.F. 123-125°C correspondente ao composto **7**.

Grupo 6 - óleo viscoso amarelo esverdeado (750 mg), foi purificado por CCF preparativa usando como fase móvel clorofómio/éter de petróleo 4:6, fornecendo um óleo viscoso **6**.

Grupo 7 - óleo acastanhado (942 mg), foi recromatografado por CC (pág. 156), fornecendo **1** e um líquido viscoso **2**.

Grupo 8 - óleo acastanhado (500 mg), cristalizado em metanol apresentava por CCF analítica uma mancha com arrastamento nas várias fases móveis utilizadas. A sua separação foi possível usando placas de HPTLC $RP\text{-}_{18}$ F_{254} S e como fase móvel acetonitrilo, isolando-se dois sólidos brancos PF 84-86 °C **3** e 93-95 °C **4** e um líquido viscoso referente ao composto **5**

Grupo 9 - óleo castanho (637 mg) consistiu de substâncias polares que ainda não foram estudadas.

As condições cromatográficas e os compostos isolados encontram-se descritos na Tabela 15.

Tabela 15 - Grupos de fracções reunidas de acordo com as características cromatográficas.

Grupos	Fracções	Fase móvel	Produtos isolados (mg)
1	1-22	éter pet./clorof.,9:1	Materiais apolares não estudados.
2	23-49	éter pet./clorof., 8:2	Substâncias gordas não estudadas.
3	50-57	éter pet./clorof., 7:3	**1** (91).

Continuação da Tabela 15

4	58-67	éter pet./ clorof., 7:3	**1** (186).
5	68-70	éter pet./clorof., 6:4	**7** (135).
6	71-78	éter pet./clorof., 6:4	**6** (250).
7	79-95	éter pet./clorof., 5: 5	**1** (25) e **2** (45).
8	96-124	éter pet./clorof., 3:7	**3** (30), **4** (22) e **5** (20)
9	125-151	clorofórmio	Subst. polares não estudadas.

Purificação dos compostos do grupo 4

As fracções correspondentes a este grupo mostraram, por CCF analítica, conter uma mancha principal com Rf semelhante ao constituinte **1** sendo então submetidas a CC de gele de sílica (20 g), e cromatografadas com misturas de éter de petróleo/clorofórmio em várias proporções. Recolheram-se 16 sub-frações de 15 ml cada, que foram posteriormente purificadas por CCF preparativa, usando como fase móvel clorofórmio/éter de petróleo 95:5, isolando-se o composto **1**.

Purificação dos compostos do grupo 5

As frações deste grupo, foram reunidas e recromatografadas em CC usando gele de sílica (25g), e misturas de várias proporções de éter de petróleo/clorofórmio, recolhendo-se 70 sub-fracções de 20 ml cada. A sub-fracção 1-41 não foi ainda estudada. A sub-fracção 42-70, foi purificada por CCF preparativa, usando como fase móvel clorofómio/acetona 8:2 fornecendo o composto **7**.

Purificação dos compostos do grupo 7

As fracções deste grupo foram recromatografadas em CC de gele de sílica (29 g) usando como fase móvel misturas de várias proporções de éter de petróleo/clorofórmio. Recolheram-se 89 fracções de 20 ml cada (Tabela 16). Foram estudadas as seguintes sub-fracções:

- 1-10 continha substâncias gordas que não foram purificadas.
- 11-14 foi purificada por CCF preparativa, usando como fase móvel o clorofórmio e isolou-se o composto **1**.
- 15-67 não foi estudada.
- 68-89 foi purificada por CCF preparativa usando como fase móvel clorofórmio/acetona 8:2, isolando-se um líquido viscoso designado por **2.**

Tabela 16 - Resultados obtidos da CC dos compostos do grupo 7

Fase móvel	Sub-fracções recolhidas	Constituintes isolados
éter pet/clorof. 8: 2	1-10	Substâncias gordas
éter pet./clorof. 8:2	11-14	**1.**
éter pet./clorof. 5:5	15-67	Não estudada
éter pet./clorof. 2:8	68-89	**2**

6. 1. 2. Acetilação dos compostos isolados

6. 1. 2. 1. Acetilação do composto 2

Uma amostra do composto **2** (16,4 mg) foi tratada com anidrido acético (1 ml) e piridina (2 gotas), deixando-se em repouso à temperatura ambiente durante uma noite. A mistura foi vertida sobre água gelada (50 ml) e o pro-

duto resultante extraído com clorofórmio (4x50 ml). A fase clorofórmica foi lavada com solução de ácido clorídrico (1 %) e solução de bicarbonato de sódio (5 %), até pH neutro. A fase orgânica foi lavada com água (4x20 ml) e após secagem com sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado com auxílio de pressão reduzida. O produto obtido foi purificado por CCF preparativa usando éter de petróleo/clorofórmio 80:20 como fase móvel, obtendo-se 4,5 mg do derivado diacetilado.

6. 1. 2. 2. Acetilação do composto 6

Uma amostra do composto **6** (180 mg), foi tratada com anidrido acético (3 ml) e piridina (2 gotas), deixando-se em repouso durante uma noite. A mistura obtida, após o tratamento descrito em **6. 1. 2. 1.**, foi purificada por CCF preparativa usando como fase móvel clorofórmio/éter de petróleo 8:2, obtendo-se 130 mg do produto diacetilado.

6. 1. 2. 3. Acetilação do composto 7

Uma amostra do composto **7** (50 mg) foi tratada com anidrido acético (1 ml) e piridina (2 gotas), deixando-se em repouso durante a noite. A mistura obtida, após o tratamento descrito em **6. 1. 2. 1.**, foi purificada por CCF preparativa, usando como fase móvel clorofórmio/éter de petróleo 8:2, obtendo-se 15 mg de derivado monoacetilado.

6. 1. 3. Tiometilação dos compostos 1, 2 e 5

6. 1. 3. 1. Formação de dimetiltioéteres [155-162].

Dissolveu-se o resíduo contendo o composto em estudo com 200 µl de

n-hexano para um tubo de ensaio com rolha de teflón e adicionou-se 200 µl de disulfureto de dimetilo (Sigma nº D 8501) e 20 µl de uma solução de éter iodado (0,25 M) obtida recentemente [155] Agitou-se em tubo tapado e protegido da luz até ao aparecimento de uma coloração acastanhada e deixou-se durante uma noite a 100 ^{0}C. Após arrefecimento adicionou-se 200 µl de solução aquosa de tiosulfato de sódio (5 %) e 200 µl de n-hexano. Agitou-se até ao aparecimento de uma coloração ocre.

Separou-se a fase orgânica e extraiu-se a fase aquosa com duas vezes 100 µl de n-hexano. Após reunião das fases orgânicas concentrou-se em corrente suave de azoto até um volume de 3 µl aproximadamente.

A solução obtida foi analisada por GC-EM por impacto eletrónico.

6. 1. 3. 2. Cromatografia gasosa-espectrometria de massa

Cromatógrafo de gases com detector de massa HP Hewlett-Packard 5890A, equipado com detector selectivo de massa modelo HP MSD 5970B e com um sistema de controlo e estação de trabalho de dados HP 59970. Coluna capilar DB-Wax, da marca J&W, de 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de fase, ligada directamente ao detector. O gás de arrastamento foi o Hélio N 60 com um fluxo de 35 cm/segundo à temperatura de 150ºC (0,9 ml/min.). A temperatura do injector e na zona de interfase foi de 300ºC. A programação da temperatura foi de 100ºC durante 2 minutos, 100-250ºC (20º/minuto), 250-3000 C (2º /minuto), e mantida a 300º C.

O modo de injecção foi de 1µl, sem divisão de fluxo (splitless), com um tempo para a abertura da válvula (purge off time) de 2 minutos. A detecção foi por "varrimento total" (full scan) de m/e 50 a m/e 530, sendo a optimização automática, com Perfluortributilamina (PFTBA).

6. 1. 4. Dados físicos e espectroscópicos dos constituintes de *Knema laurina* Warb.

- **3-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-fenol (1)**

Óleo viscoso amarelo

EM-IE, m/e (int. rel.) : 336 [M^+] (40), 310 (61), 304 (42), 302 (100), 282 (10), 276 (37), 232 (10), 161 (20), 147 (51), 142 (41), 133, (51), 121 (100), 120 (100), 108 (100), 91 (50).

I V, $^{KBr}_{máx.}$ υ, cm^{-1} : 3100-3500 (OH), 2930, 2850, 1610, 1590, 1490, 1450, 1260, 1060.

U V $^{MeOH}_{máx.}$, nm, (log ε) : 220 (3,5), 273 (3,2).

U V $^{MeOH+NaOH}_{máx.}$, nm, (log ε) : 235 (3,5), 289 (3,3).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,14-7,29 (*m*, H-2''- H-6''), 7,09 (*dd*, J=7,6 e 7,6 Hz, H-5), 6,72 (*d*, J=7,6 Hz, H-4), 6,66 (*d*, J=1,0 Hz, H-2), 6,64 (*dd*, J=7,6 e 1,0 Hz, H-6), 6,30 (*s* l, OH), 5,36 (*m*, centro de sistema ABX_2 J~ 11 e 5 Hz, H-8'-H-9'), 2,61 (*t*, J=7,0 Hz, H-1'), 2,51 (*t*, J=7,0 Hz, H-12'), 2,00 (*m*, H-7', H-10'), 1,66 (*m*, H-2', H-11'), 1,27 (*s* l, H-3'-H-6').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz BB e DEPT) : δ 155,53 (*s*, C-3), 144,73 (*s*, C-1), 142,47 (*s*, C-1''), 129,78 (*d*, C-5), 129,23 (*d*, C-8', C-9'), 128,32 (d, C-2'', C-6''), 128,15 (d, C-3''-C-5''), 125,55 (d,

C-4''), 120,65 (d, C-4), 115,34 (d, C-2), 112,52 (d, C-6), 35,77 (*t*, C-1'), 35,39 (*t*, C-12'), 31,39 (*t*, C-11'), 31,21 (*t*, C-2'), 29,64 e 29,24 (*t* cada, C-3'-C-6'), 26,73 e 27,16 (*t* cada, C-7', C-10').

- **Composto 1 tiometilado**

EM-IE, m/e (int. rel.) : 430 [M^+] (40), 251 (48), 179 (10), 131 (100), 107 (40), 91 (30), 61 (18).

- **5-(12-Fenil-8Z-dodecenil)-resorcinol (2)**

Óleo viscoso.

EM-IE, m/e (int. rel.) : 352 [M^+] (3), 326 (4), 318 (8), 292 (3), 205 (4), 191 (4), 177 (3), 166 (6), 165 (3), 149 (4), 138 (3), 137 (14), 125 (8), 124 (100), 123 (42), 91 (12).

I V $_{máx.}^{KBr}$ **υ, cm^{-1}** : 3200-3600 (OH), 2930, 2860, 1600, 1460, 1450, 1380, 1160, 990, 830.

U V $_{máx.}^{MeOH}$ **, nm, (log ε)** : 210 (3,7), 275 (2,7), 281 (2,7).

U V $_{máx.}^{MeOH+NaOH}$ **, nm, (log ε)** : 216 (3,9), 289 (2,9).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,16-7,28 (*m*, H-2''- H-6''), 6,24,(*s* l, H-2, H-4, H-5), 5,60 (*s* l, OH), 5,36 (*dd*, J=11,0; 5,0 Hz, H-8', H-9'), 2,61 (*t*, J=7,5 Hz, H-12'), 2,45 (*t*, J=7,5 Hz, H-1'), 2,02 (*m*, H-7', H-10'), 1,63 (*m*, H-2', H-11'), 1,27 e 1,25 (*s* l, cada, H-3'- H-6').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz, BB e DEPT) : δ 156,50 (*s*, C-3*), 146,12 (*s*, C-5*), 142,94 (*s*, C-1), 142,59 (*s*, C-1''), 129,82 e 129,29, (*d* cada, C-8', C-9'), 128,39 (*d*, C-2'', C-6''), 128,22 (*d*, C-3'', C-5''), 125,61 (*d*, C-4''), 108,03 (*d*, C-2, C-6), 100,17 (*d*, C-4), 35,80 (*t*, C-1'), 35,45 (*t*, C-12'), 31,75 (*t*, C-2'), 31,45 (*t*, C-11'), 29,23; 28,86 (*t* cada, C-3'-C-6'), 27,20; 26,60 (*t* cada, C-7' e C-10') * podem trocar.

- **1,3-Diacetoxi-5-(12-fenil-8Z-dodecenil)-benzeno**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,16-7,28 (*m*, H-2''- H-6''), 6,80, (*d*, J=2,0 Hz, H-2, H-6), 6,74 (*d*, J=2,0 Hz, H-4), 5,36 (*dd*, J=9,0 e 5,0, Hz, H-8', H-9'), 2,59 (*t*, cada, J=7,5 Hz, H-1', H-12'), 2,28 (*s* l, $OCO\underline{CH_3}$), 2,01 (*m*, H-7', H-10'), 1,63 (*m*, H-2', H-11'), 1,29 e 1,25 (*s* l, cada, H-3'- H-6').

- **Composto 2 tiometilado**

EM-IE, m/e (int. rel.) :492 [M^+] (16), 398 (12), 314 (24), 313 (61), 281 (9),265 (7), 264 (8), 209 (12), 179 (20), 170 (62), 169 (45), 132, (15), 131 (100), 123 (11), 91 (31), 61 (16), 55 (6).

- **Ácido-2-hidroxi-6-(10-fenildecil)-benzóico (3)**

Sólido cristalino branco.

PF 84-86^{0}C

EM-IE, m/e (int. rel.) : 354 [M^+] (42), 344 (11), 336 (30), 318 (12), 227 (11), 185 (11), 161 (24), 152 (19), 151, (11), 148 (12), 147 (16), 145 (13), 134 (22), 133 (17), 131 (17), 108 (17), 107 (25), 105 (33), 104 (18), 103 (15), 91 (100).

KBr
I V$_{máx.}$ υ, cm^{-1} : 3400-3600 (OH), 2920, 2850, 1650 (CO), 1600, 1580, 1490, 1450, 1310, 1250, 1210, 900, 810.

MeOH
U V $_{máx.}$, nm, (log ε): 217 (4,2), 242 (3,6), 288 (3,1), 308 (3,4).

MeOH+NaOH
U V $_{máx.}$, nm, (log ε) : 216 (4,2), 244 (3,6), 298 (3,5).

MeOH+AlCl$_3$
U V $_{máx.}$, nm, (log ε): 214 (4,2), 289 (3,1), 315 (3,3).

MeOH+AlCl$_3$+HCl
U V $_{máx.}$, nm, (log ε): 214 (4,2), 289 (3,1), 315 (3,3).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,35 (*dd* J=8,0 e 8,0 Hz, H-4), 7,14-7,26 (*m*, H-2''-H-6''), 6,86, (*d*, J=8,0 Hz, H-3), 6,76 (*d*, J=8,0 Hz, H-5), 2,97 (*t*, J=7,0 Hz, H-1'), 2,59 (*t*, J=7,0 Hz, H-10'), 1,63 (*m*, H-2', H-9'), 1,28 e 1,25 (*s* l, cada, H-3'-H-8').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz, BB e DEPT) : δ 175,53 (*s*, C̲OOH), 163,55 (*s*, C-2), 147,64 (*s*, C-6), 142,94 (*s*, C-1''), 135,27 (*d*, C-4), 128,39 (*d*, C-3'', C-5''), 128,20 (*d*, C-2'', C-6''), 125,54 (*d*, C 4''), 122,68 (*d*, C-5), 115,82 (*d*, C-3), 110,53 (*s*, C-1), 36,47 (*t*, C-1'), 35,97 (*t*, C-10'), 32,02 e 31,50 (*t* cada, C-2', C-9'), 29,73 e 29,57 (*t* cada, C-3'-C-8').

- **Ácido-2-hidroxi-6-(12-fenildodecil)-benzóico (4)**

Sólido cristalino branco.

PF 93-95^{0}C

EM-IE, m/e (int. rel.) : 382 [M^+] (55), 364 (46), 346 (10), 338 (20), 273 (10),260 (5),199 (8), 185 (5), 161 (30), 152 (30), 147 (40), 108 (100).

KBr
I $V_{máx.}$ υ, cm^{-1} : 3400-3600 (OH), 2920, 2850,1650 (CO),1600, 1580, 1490, 1480, 1440, 1310, 1250, 1220, 1200.

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,35 (*dd*, J=8,0 e 8,0, Hz, H-4), 7,16-7,25 (*m*, H-2''- H-6''), 6,87 (*dd*, J=8,0 e 1,0 Hz, H-3), 6,77 (*dd*, J=8,0 e 1,0 Hz, H-5), 2,97 (*t*, J=7,0 Hz, H-1'), 2,59 (*t*, J=7,0 Hz, H-12'), 1,59 (m, H-2', H-11'), 1,26 (*s*, l, H-3'- H-10').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz, BB e DEPT) : δ 175,59 (*s*, COOH), 163,59 (*s*, C-2), 147,79 (*s*, C-6), 142,93 (*s*, C-1''), 135,38 (*d*, C-4), 128,36 (*d*, C-3'', C-5'') 128,16 (*d*, C-2'', C-6''), 125,51 (*d*, C-4''), 122,73 (*d*, C-5), 115,86 (*d*, C-3), 110,46 (*s*, C-1) 36,43 (*t*, C-1'), 35,98 (*t*, C-12'), 31,99 e 31,48 (*t* cada, C-2', C-11'), 29,69 e 29,53 (*t*, C-3'-C-10').

- **Ácido-2-hidroxi-6-(8*Z*-pentadecenil)-benzóico (5)**

Líquido viscoso.

EM-IE, m/e (int. rel.) : 346 [M^+] (55), 328 (29), 320 (15), 310 (22), 227 (11), 302 (34), 285 (10), 257 (10), 175 (20), 161 (24), 152 (50), 147, (42), 134 (37), 120 (10), 108 (50), 91 (100).

I V$_{máx.}^{KBr}$ υ, cm^{-1} : 3200-3600 (OH), 2920, 2860, 1650 (CO), 1600, 1580, 1450, 1250, 1210, 1160 e 1120.

U V$_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε) : 206 (4,7), 303 (3,7).

U V$_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε): 212 (4,9), 297 (3,9).

U V$_{máx.}^{MeOH+AlCl_3}$, nm, (log ε) : 303 (4,7), 312 (3,5).

U V $\lambda_{máx.}^{MeOH+AlCl_3+HCl}$, nm, (log ε) : 303 (4,7), 312 (3,5).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,36 (*dd* J=8,0 e 8,0 Hz, H-4), 6,87, (*d*, J=8,0 e 1,0 Hz, H-3), 6,75 (*d*, J=8,0 e 1,0 Hz, H-5), 5,35 (*dd*, J~9,0 e 5,0 Hz, H-8', H-9'), 2,98 (*t*, J=7,5 Hz, H-1'), 2,01 (m, H-7' e H-10') 1,60 (*m*, H-2'), 1,27 (*s* l, H-3'-H-6' e H-11'-H-14'), 0,87 (*t*, J=7,0 Hz, H-15').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz, BB e DEPT) : δ 175,37 (*s*, C̲OOH), 163,60 (*s*, C-2), 147,65 (*s*, C-6), (*s*, C-1''), 135,27 (*d*, C-4), 129,84 (*d*,C-8', C-9'), 122,68 (*d*, C-5), 115,82 (*d*, C-3), 110,49 (*s*, C-1), 36,47 (*t*, C-1'), 32,01 (*t*, C-2'), 31,78 (*t*, C-13') 30,92, 29,73 28,99 (*t* cada, CH_2), 27,20 (*d*, C-7'-C-10'), 22,66 (*t*, C-14'), 14,09 (*q*, C-15').

- **Composto 5 tiometilado**

EM-IE, m/e (int. rel.) : 396 [M^+] (22), 252 (19), 251 (100), 203 (6), 147(27), 145 (50), 144 (13), 133 (19), 120 (9), 108 (21), 107 (50), 97 (13), 61 (32), 55 (30).

- **2,4-Diidroxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona (6)**

Óleo viscoso

EM-IE, m/e (int. rel.): 368 [M^+] (21), 353 (27), 350 (11), 340 (18), 325 (25), 179 (36), 175 (46), 166 (52), 162 (71), 161 (16), 151 (31), 149 (16), 137 (16), 131 (30), 124 (29), 123 (14), 105 (14), 91 (100), 77 (82), 69 (93), 65 (82).

KBr
I $V_{máx.}$ υ, cm^{-1} : 3200-3600 (OH), 2990, 2920, 1620 (CO), 1590, 1490, 1450, 1380, 1260, 1160, 1080, 1040, 880.

MeOH
U V $_{máx.}$, nm, (log ε): 203 (3,3), 276 (2,7).

MeOH+NaOH
U V $_{máx.}$, nm, (log ε) : 209 (4,4), 332 (3,0).

MeOH+$AlCl_3$
U V $_{máx.}$, nm, (log ε): 310 (3,0), 361 (2,8).

MeOH+$AlCl_3$ +HCl
U V $_{máx.}$, nm, (log ε): 310 (3,0), 361 (2,8).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 13,18 (*s* l, 2 OH), 7,15-7,30 (*m*, H-2''--H-6''), 6,27 (*s* l, H-3, H-5), 2,78 (*t*, J=7,4 Hz, H-1'), 2,62 (*s*, $COC\underline{H}_3$), 2,59 (*t*, J=7,4 Hz, H-10'), 1,59 (*m*, H-2', H-9'), 1,29 (*s* l, H-3'-H-8').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz, BB e DEPT) : δ 204,51 (*s*, C=O), 165,68 (*s*, C-2), 161,42 (*s*, C-4), 147,89 (*s*, C-6), 142,84 (*s*, C-1''), 128,32 (*d*, C-2'', C-6''), 128,16 (*d*, C-3'', C-5''), 125,50 (*d*, C-4''), 115,04 (*s*, C-1), 110,92 (*d*, C-3), 101,56 (*d*, C-5), 36,25 (*t*, C-1'), 35,90 (*t*, C-10'), 32,16 (*t*, C-2'), 32,03 (*q*, $CO\underline{C}H_3$), 31,42 (*t*, C-9'), 29,63, 29,44 e 29,33 (*t*, cada C-3'- C-8').

- **2,4-Diacetoxi-6-(10-fenildecil)-acetofenona**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,16-7,27 (*m*, H-2''-H-6'') 6,86, (*s* l, H-3, H-5), 2,59 (*t*, J=7,4 Hz, H-1'), 2,54 (*t*, J=8,0 Hz, H-10'), 2,46 (*s*, $COC\underline{H}_3$), 2,28 e 2,25 (*s*, 3H cada, $OCOC\underline{H}_3$), 1,59 (*m*, H-2', H-9'), 1,25 (*s* l, H-3'-H-8').

- **(-)-7-Hidroxi-3', 4'-metilenodioxiflavana (7)**

Sólido cristalino amarelado

PF 123-125 °C.

$(\alpha)_D$ - 8° ($CHCl_3$; c=0,125g/100ml).

EM-IE, m/e (int. rel.): 270 (M^+, 100), 148 (22), 147 (54), 134 (12).

KBr
I $V_{máx.}$ υ, **cm^{-1}** : 3200-3600 (OH), 2920, 2860, 1620, 1500, 1490,1460,1380, 1250, 1150, 1120, 1040, 930. 800.

MeOH
U V **máx.** , **nm, (log ε)**: 208 (4,0), 284 (3,5).

MeOH+NaOH
U V **máx.** , **nm, (log ε)** : 215 (4,0), 289 (3,5).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 6,93 (*d*, J=8,0 Hz, H-5), 6,92 (*d*, J=2,0, Hz, H-2'), 6,87 (*dd*, J=8,0, e 2,0 Hz, H-6'), 6,80 (*d*, J=8,0 Hz, H-5'), 6,40 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6), 6,38 (*s*, H-8), 5,96 (*s*, -OC$\underline{H}_2$O-), 4,96 (*dd*, J=9,8, 2,8 Hz, H-2), 4,85 (*s* l, OH), 2,90- (*ddd*, J=16,0; 10,6 e 6,0 Hz, H-4ax.), 2,71 (*ddd*, J=16,0; 4,7 e 3,5 Hz, H-4 eq.), 1,92-2,21 (*m*, H-3).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz, BB e DEPT) : δ 155,79 (*s*, C-8a), 154,90 (*s*, C-7), 147,60 (*s*, C-4'), 147,20 (*s*, C-3'), 135,58 (*s*, C-1'), 130,12 (*d*, C-5), 119,57 (*d*, C-6'), 114,04 (*s*, C-4a), 108,16 (*d*, C-5'), 107,97 (*d*, C-6), 106,69 (*d*, C-2'), 103,50 (*d*, C-8), 101,04 (*t*, -O$\underline{C}H_2$O-), 77,74 (*d*, C-2), 29,69 (*t*, C-4), 24,44 (*t*, C-3).

- **7-Acetoxi-3', 4'-metilenodioxiflavana**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,07 (*d*, J=8,0 Hz, H-5), 6,92 (*d*, J=2,0Hz, H-2'), 6,87 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6'), 6,81 (*d*, J=8,0 Hz, H-5'), 6,62 (*s*, H-8), 6,60 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6), 5,97 (*s*, -OC$\underline{H}_2$O-), 4,96 (*dd*, J=9,8 e 2,8 Hz, H-2), 2,80-2,96 (*m*, H-4), 2,28 (s, OCOC$\underline{H}_3$.), 2,06-2,18 (*m*, H-4).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, 50,3 MHz BB e DEPT) : δ 169,76 (*s*, O$\underline{C}$OCH_3), 155,58 (*s*, C-8a), 149,65 (*s*, C-7), 147,83 (*s*, C-3'), 147,25 (*s*, C-4'), 135,30 (*s*, C-1'), 129,88 (*d*, C-5), 119,57 (*d*, C-6'),119,41 (*d*, C-6), 113,65 (*s*, C-4a), 110,18 (*d*, C-8), 108,20 (*d*, C-5'), 106,67, (*d*, C-2'), 101,07 (*t*,-O$\underline{C}H_2$O-), C-2, oculto no sinal do $CDCl_3$), 29,72 (*t*, C-4), 24,81 (*t*, C-3), 21,10 (*q*, OCO$\underline{C}H_3$).

PARTE B: EXPERIMENTAL DE *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

6. 2. Parte B: Experimental de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

6. 2. 1. Extração e isolamento dos constituintes químicos de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

O material botânico estudado foi colhido em Setembro de 1990 em Sadao, Província de Songkla, na Tailândia.

A madeira depois de seca e moída (1,2 Kg) foi submetida a percolação exaustiva com clorofórmio, à temperatura ambiente. A solução clorofórmica foi concentrada em evaporador rotativo com auxílio de pressão reduzida, fornecendo o extrato bruto (40 g).

Este extrato foi cromatografado em CC de gele de sílica (500 g), usando várias proporções de éter de petróleo (60-80º)/clorofórmio como fase móvel, recolhendo-se 205 fracções de aproximadamente 500 ml cada, como se pode observar na Tabela 17.

Tabela 17- Fracções obtidas na CC.

Fracções recolhidas	Fase móvel
1-51	éter de petróleo/clorofórmio 9:1
52-56	éter de petróleo/clorofórmio 9:1
57-66	éter de petróleo/clorofórmio 9:1
67-77	éter de petróleo/clorofórmio 9:1
78-93	éter de petróleo/clorofórmio 9:1
94-106*	éter de petróleo/clorofórmio 9:1
107-136	éter de petróleo/clorofórmio 8:2
137-161	éter de petróleo/clorofórmio 5:5
162-186	éter de petróleo/clorofórmio 1:9
187-205	éter de petróleo/clorofórmio 1:9

* A partir da fracção 94-106 a coluna partiu-se e o seu conteúdo foi submetido a percolação exaustiva com clorofórmio e acetona. Esta solução foi evaporada a pressão reduzida fornecendo (28,3 g) de extrato bruto. Este extrato foi cromatografado em CC com gele de sílica (270 g) usando como fase móvel misturas de variadas proporções de éter de petróleo 60-80º/clorofórmio.

Recolheram-se mais 98 fracções de 500 ml cada. Após CCF analítica essas fracções foram combinadas fazendo parte dos grupo 6 a 9.

Cada fracção, após concentração em evaporador rotativo com auxílio de pressão reduzida, foi submetido a CCF analítica. De acordo com as características cromatográficas, as fracções foram reunidas em 9 grupos (Tabela 18).

Tabela 18-Fracções reunidas de acordo com as características cromatográficas.

Grupos	Fracções reunidas	Quantidade(g)	Constituintes isolados (mg)
1	1-51	1	Materiais apolares não estudados.
2	52-56	0,183	**26** (100), mist. A **18**, (7), **19** (4), **20** (2) e **21** .
3	57-77	0,820	mist. A (40) e **26** (127).
4	78-93	1,3	Não estudada.
5	94-106	2,8	**27** (70), **28** (19,2) **29** (90,4) e **30** (125).
6	107-136	0,111	Não estudada.
7	138-161	0,173	**30** (20,0).
8	162-186	0,086	mist. B, **22** (3), **23** (4), **24** (5) e **25**.
9	187-205	0,911	mist. B (155) e **31** (85).

Grupo 1- óleo de cor amarelada, contém substâncias apolares, não tendo sido estudada a sua composição .

Grupo 2- óleo alaranjado com aspecto viscoso apresenta um resíduo branco. Este resíduo foi lavado com éter de petróleo 60-80 º e cristalizado, fornecendo um sólido cristalino branco de PF 121-123ºC designado por componente **26**. O óleo foi purificado por CCF preparativa, usando como fase móvel éter de petróleo 60-80º/éter etílico/ácido fórmico 70:30:0,9, isolando-se um resíduo esverdeado (49,9 mg). Esta mistura A foi posteriormente separada, por CG-EM em 4 constituintes, **18, 19, 20** e **21**. Tentou-se depois a sua separação utilizando placas de HPTLC RP_{18} F_{254} S, usando-se como fase móvel o acetonitrilo isolando-se apenas **18** (cera semi-sólida), **19** (goma), **20** (goma). O constituinte **21** não foi isolado.

Grupo 3 - líquido viscoso alaranjado com um resíduo sólido, foi posteriormente recromatografado em CC (pág. 173) tendo fornecido o composto **26** e mistura A.

Grupo 4 - óleo acastanhado, contém uma mistura que não foi ainda estudada.

Grupo 5 - óleo acastanhado viscoso, foi recromatografado (pág. 174) em CC com gele de sílica, tendo fornecido 4 constituintes, um líquido viscoso **27**, um sólido cristalino branco **28** de PF 155-157 ºC, um líquido viscoso **29** e um sólido cristalino branco **30** de PF 112-114ºC.

Grupo 6 - óleo amarelo, constituído por fracções ainda não estudadas.

Grupo 7 - resíduo sólido avermelhado, foi purificados por CCF preparativa,usando como fase móvel clorofórmio/acetona 9:1, tendo-se isolado de novo os composto **30**.

Grupo 8 - sólido avermelhado, após cristalização com n-hexano e purificado por CCF preparativa, usando clorofórmio/acetona 9:1

como fase móvel, isolou-se um resíduo branco. Este resíduo foi analisada por CG/EM isolando-se os compostos **22, 23, 24** e **25**. A tentativa de separação desta mistura por placas de HPTLC com RP_{18} F_{-254} S, levou ao isolamento de **22** (gordura semi-sólida), **23** (gordura sólida) e **24** (goma). O componente **25** não foi isolado por este método.

Grupo 9 - sólido avermelhado, as fracções constituintes deste grupo foram combinadas e purificadas por cristalização e CCF preparativa, usando como fase móvel clorofórmio/acetona 9:1, isolando-se um sólido cristalino amarelado de PF 172-174º C correspondente ao composto **31** e à mistura B

Purificação dos constituintes do grupo 3

As fracções correspondentes a este grupo foram purificadas por CC (43 g) usando como fase móvel proporções variadas de éter de petróleo/ clorofórmio, recolhendo-se 48 sub-fracções de 15 ml cada. A sub-fracção 26-29 foi cristalizada em éter de petróleo/clorofórmio fornecendo um sólido cristalino branco PF 121-122ºC correspondente ao composto **26** A sub-fracção 30-48 foi purificada por CCF preparativa tendo como fase móvel éter de petróleo 60-80º/éter etílico/ácido fórmico 50:50:0,9, forneceu também o componente **26** e a mistura A. Na tabela 19 (pág. 174) apresentam-se os resultados obtidos.

Tabela 19-compostos obtidos de acordo com as características cromatográficas do grupo **3**

Fase móvel	Sub-fracções recolhidas	Compostos isolados
éter de petróleo/clorofórmio 8:2	1-25	Não estudada
éter de petróleo/clorofórmio 7:3	26-29	**26**
éter de petróleo/clorofórmio 5:5	30-48	**26** e mist. A

Purificação dos constituintes do grupo 5

Estas fracções (2,8 g) foram recromatografadas em CC, gele de sílica (44 g) usando como fase móvel misturas de várias proporções de éter de petróleo 60-80º/clorofórmio, recolhendo-se 113 sub-fracções de 200 ml cada. Os resultados obtidos podem observar-se na Tabela 20.

Tabela 20 -Resultados obtidos por CC dos compostos do Grupo **5**

Fase móvel	Sub-fracções recolhidas	Quantidade (mg)
éter petról./clorof. 8:2	1-13	247
éter petról./clorof. 8:2	14-29	59
éter petról./clorof. 8:2	30-37	322
éter petról./clorof. 8:2	38-48	209
éter petról./clorof. 7:3	49-54	86
éter petról./clorof. 7:3	55-60	167
éter petról./clorof. 7:3	61-78	428
éter petról./clorof. 7:3	79-93	211
éter petról./clorof. 5:5	94-99	94
éter petról./clorof. 5:5	100-113	280

Após comparação por CCF analítica as sub-fracções foram reunidas de acordo com as características cromatográficas (Tabela 21, pág. 176).

Foram apenas estudadas os seguintes grupos:

- sub-fracções 15-19 - óleo amarelo, purificado por CCF preparativa utilizando como eluente éter de petróleo 60-80º/éter etílico/ácido fórmico 50:50:0,9, obtendo-se um líquido viscoso correspondente a **27**.
- sub-fracções 20-37 - sólido amarelo purificado por CCF preparativa usando como fase móvel éter de petróleo 60-80º/éter etílico/ácido fórmico 50:50:0,9 separando-se duas manchas, uma correspondente a um líquido viscoso do composto **27** a outra mancha, após cristalização com éter de petróleo 60-80º/clorofórmio forneceu um sólido cristalino branco de PF 112-114ºC correspondente ao composto **30**.
- sub-fracções 38-54 - sólido branco, após purificação por cristalização com clorofórmio/éter de petróleo 60-80º forneceu o composto **30**.
- sub-fracções 55-93 - corresponderam a um goma amarela, foi purificada por CCF preparativa usando éter de petróleo 60-80º/éter etílico/ácido fórmico 50:50:0,9 fornecendo um líquido viscoso correspondente ao composto **29**.
- sub-fracções 94-113 - corresponderam a um resíduo que cristalizou do clorofórmio fornecendo um sólido cristalino branco de PF 157-159ºC designado por composto **28**.

Tabela 21- Sub-fracções reunidas de acordo com as característica cromatográficas do grupo 5.

Sub-fracções reunidas	Compostos isolado
1-14	Não estudada
15-19	**27**
20-37	**27e 30**
38-54	**30**
55-93	**29**
94-113	**28**

6. 2. 2. Acetilação dos compostos isolados

6. 2. 2. 1. Acetilação do composto 18

O composto **18** (30,2 mg) foi tratado com anidrido acético (2ml) e piridina (3 gotas), deixando-se em repouso à temperatura ambiente durante uma noite. A mistura foi vertida sobre água gelada (50 ml) e o produto resultante extraído com clorofórmio (4x50 ml). A fase clorofórmica foi lavada com solução de ácido clorídrico (1 %) e solução de bicarbonato de sódio (5 %), até pH neutro. A fase orgânica foi lavada com água (4x20 ml) e após secagem com sulfato de sódio anidro, o solvente foi evaporado com auxílio de pressão reduzida, obtendo-se 26,4 mg do derivado diacetilado.

6. 2. 2. 2. Acetilação do composto 22

O composto **22** (59,5 mg) foi tratado com anidrido acético (2 ml) e piridina (3 gotas). A mistura foi deixada em repouso durante 48 horas.

Após o tratamento descrito em **6. 2. 2. 1.**, forneceu 31,8 mg do derivado triacetilado.

6. 2. 2. 3. Acetilação do composto 27

O composto **27** (29,6 mg) foi tratado com anidrido acético (1 ml) e piridina (2 gotas). A mistura foi deixada durante a noite. Após o tratamento descrito em **6. 2. 2. 1.**, forneceu 36,9 mg de derivado monoacetilado.

6. 2. 2. 4. Acetilação do composto 28

O composto **28** (121 mg) foi tratado com de anidrido acético (2 ml) e piridina (3 gotas). A mistura foi deixada em repouso durante a noite. Após o tratamento descrito em **6. 2. 2. 1.**, forneceu 21,7 mg do derivado diacetilado.

6. 2. 2. 5. Acetilação do composto 29

O composto **29** (125,9 mg) foi tratado com anidrido acético (2 ml) e piridina (3 gotas). A mistura foi deixada em repouso durante a noite. Após o tratamento descrito em **6. 2. 2. 1.**, forneceu 91,3 mg do derivado diacetilado.

6. 2. 2. 6. Acetilação do composto 30

O composto **30** (59,6 mg) foi tratado com anidrido acético (2 ml) e piridina (2 gotas). A mistura foi deixada em repouso durante a noite. Após o tratamento descrito em **6. 2. 2. 1.**, forneceu 43 mg de derivado monoacetilado.

6. 2. 2. 7. Acetilação do composto 31

O composto **31** (34,0 mg) foi tratado com anidrido acético (2 ml) e piridina (3 gotas). A mistura foi deixada em repouso durante a noite. Após o tratamento descrito em **6. 2. 2. 1.**, forneceu 11,9 mg do derivado diacetilado.

6. 2. 3. Tiometilação dos compostos 18 e 22

6. 2. 3. 1. Formação de dimetiltioéteres [155-162].

Técnica realizada de acordo com a pág. 157.

6. 2. 3. 2. Cromatograraria Gasosa-Espectrometria de Massa

Técnica realizada de acordo com a pág. 158.

6. 2. 4. Características Espectrais dos Constituintes Químicos de *Knema austrosiamensis* W.J.J.O. de Wilde.

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona (18)**

cera semi-sólida

EM-IE, m/e (int. rel.): 318 [M+] (4), 300 (3), 229 (3), 219 (4), 187 (5), 176 (5), 153 (3), 152 (23), 137 (100), 123 (6).

I V$_{máx.}^{KBr}$ υ, cm-1 : 3200-3400 (OH), 2920, 2860, 1630 (CO), 1500, 1490, 1440, 1370, 1260, 1190, 1180, 1075, 1035, 930.

U V$_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε) : 236 (4,8), 287 (4,8).

U V$_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε) : 284 (2,9), 384 (2,6).

U V$_{máx.}^{MeOH+AlCl_3}$, nm, (log ε): 281 (2,9), 348 (2,6).

U V$_{máx.}^{MeOH+AlCl_3+HCl}$, nm, (log ε): 281 (2,9), 348 (2,6).

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 9,60 (*s* l, OH), 7,18 (*dd*, J=8,0 e 8,0 Hz, H-4), 6,36, (*d* l, J=8,0 Hz, H-3, H-5), 5,33 (*m*, J~11 e 5 Hz, H-9', H-10'), 3,00 (*t*, J=7,0 Hz, H-2'), 1,99 (*m*, H-8', H-10'), 1,62, (*m*, contém H-3'), 1,23 (*m*, -C$\underline{H}_2$-), 0,87 (*t*, J=7,0 Hz, H-14').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz) : δ 207,80 (*s*, C-1'), 161,26 (*s*, C-2, C-6), 135,55 (*d*, C-4), 129,90 e 129,88 (*d*, cada, C-9', C-10'), 110,05 (*s*, C-1), 108,41 (*d*, C-3 e C-5), 44,76 (*t*, C-2'), 31,94 (*t*, C-12'), 29,65, 29,54, 29,39, 29,15 (*t* cada, CH_2), 27,17 e 26,90 (*t*, cada, C-8', C-9'), 24,46 (*t*, C-3'), 22,64 e 22,31 (*t* cada, C-13' e outro -CH_2-), 13,95 (*q*, C-14').

- **1-(2,6-Diacetoxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona**.

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,39 (*dd*, J=8,0, 8,0 Hz, H-4), 7,03 (*d*, J=8,0 Hz, H-3, H-5), 5,32 (*m*, JAB~11 e 5 Hz, H-9', H-10') 2 ,70 (*t*, J=7,0 Hz, H-2'), 2,24 (*s*, OCOC$\underline{H}_3$), 2,00 (*m*, H-8', H-11'), 1,62 (*m*, contém H-3'), 1,29 e 1,25 (*m* cada, -C$\underline{H}$2-), 0,86 (*t* J=7,0 Hz, H-14').

- **Composto 18 tiometilado**

EM-IE, m/e (int. rel.): 458 [M^+] (15), 410 (24), 364 (20), 362 (32), 341 (53), 293 (14), 265 (17), 211 (26), 198 (43), 185 (43), 183 (100), 169 (25), 137 (25), 117 (32), 61 (53).

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-tetradecan-1-ona (19)**

Goma

EM-IE, m/e (int. rel.) : 320 [M^+] (10), 302 (10), 189 (15), 176 (6), 175 (5), 153 (3), 152 (26), 137 (100), 123 (6).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 9,68 (*s* l, OH), 7,18 (*dd*, J=8,0, 8,0 Hz, H-4'), 6,36, (*d*, J=8,0 Hz, H-3, H-5), 3,09 (*t*, J=7,0 Hz, H-2'), 1,70 (*m*, H-3'), 1,23 (*m*, H-4'-H-13'), 0,86 (*t*, J=6,5 Hz, H-14').

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona (20)**

Goma.

EM-IE, m/e (int. rel.) : 326 [M^+] (14), 308 (8), 189 (5), 165 (32), 152 (26), 137 (100), 91 (32).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,14-7,32 (*m*, H-2''-H-6''), 7,19 (*dd*, J=8,0, 8,0 Hz), H-4), 6,36 (*dd*, J=8,0, 2,0 Hz, H-3, H-5), 3,09 (*t*, J=7,0 Hz, H-2'), 2,58 (*t*, J=7,0 Hz, H-9'), 1,63 e 1,30 (*s* l, cada, H-3'-H-8').

- **1-(2,6-Diidroxifenil)-dodecan-1-ona (21)**

EM-IE, m/e (int. rel.) : 292 [M^+] (3).

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona (22)**

Resíduo semi-sólido

EM-IE, m/e (int. rel.) : 334 [M^+] (3), 181 (17), 168 (25), 153 (100), 139 (5),127 (6), 126 (10).

I V, $\upsilon_{máx.}^{KBr}$, cm^{-1} : 3360, 2940, 2840, 1630 (CO), 1510, 1490, 1350, 1295, 1260, 1170, 1000, 960.

U V $_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε) : 201 (3,5), 227 (3,8), 285 (3,8).

U V $_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε): 215 (3,5), 321 (3,5).

U V $_{máx.}^{MeOH+AlCl_3}$, nm, (log ε) : 207 (3,9), 306 (3,8).

U V $_{máx.}^{MeOH+AlCl_3+HCl}$, nm, (log ε) : 207 (3,9), 306 (3,8).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 500 MHz) : δ 9,90 (*s* l, OH), 5,92 (*s*, H-3, H-5), 5, 62 (s l, OH), 5,35 (*m*, J=11,0 Hz, H-9', H-10'), 3,04 (*t*, J=7,0 Hz, H2'), 2,02 (*m*, H-8', H-11'), 1,68 (*m*, H-3' a, b *quint* J=7,0 Hz), 1,23 (*m*, H-4'-H-7' e H-12'-H-13'), 0,86 (*t*, J=7,0 Hz, H-14').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 206,93 (*s*, C-1'), 163,61 (*s*, C-2, C-6), 162,11 (*s*, C-4), 129,84 (*d*, cada, C-9', C-10'), 104,74 (*s*, C-1), 95,40 (*d*, C-3, C-5), 43,99 (*t*, C-2'), 31,93 (*t*, C-12'), 29,67, 29,46, 29,22, 29,07 (*t* cada, $-CH_2-$), 27,19 e 26,69 (*t* cada, C-8', C-11'), 24,62 (*t*, C-3'), 22,67 e 22,31 (*t* cada, C-13' e outro $-CH_2-$), 13,97 (*q*, C-14').

- **1-(2,4,6-Triacetoxifenil)-9Z-tetradecen-1-ona**

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 6,90 (*s*, H-3, H-5), 5,31 (*m* H-9', H-10'), 2,69 (*t*, J=7,5 Hz, H-2'), 2,25 (*s*, -OCOC$\underline{H}_3$), 2,21 (*s*, -OCOC$\underline{H}_3$), 1,98 (*m*, H-8', H-11'), 1,65, (*m*, contém H-3'), 1,23 (*m*, H-4'-H-7', H-12'-H-13'), 0,86 (*t*, J=7,0 Hz, H-14').

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 200,56 (*s*, C-1'), 168,14 (*s*, O$\underline{C}$OCH$_3$), 151,27 (*s*, C-4), 147,95 (*s*, C-2, C-6), 129,92 e 129,66 (*d* cada, C-', C-10'), 114,07 (*d*, C-3, C-5), 44,00 (*t*, C-2'), 31,99 (*t*, C12'), 29,62, 29,29, 29,15, (*t*, cada, -CH_2-), 27,11 e 26,87 (*t*, cada, C-8', C-11'), 23,6 (*t*, C-3'), 22,64 e 22,29 (*t*, cada, C-13' e outro $\underline{C}H_2$), 21,03 e 20,85 (*q*, cada, OCO$\underline{C}H_3$), 13,96 (*q*, C-14').

- **Composto 22 tiometilado**

EM-IE, m/e (int. rel.): 520 [M$^+$] (60), 426 (50), 403 (60), 357 (32), 341 (53), 293 ((14), 265 (17), 211 (26), 198 (43), 185 (43), 183 (100), 169 (25), 137 (25), 117 (32), 61 (53).

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-tetradecan-1-ona (23)**

Resíduo semi-sólido

EM-IE, m/e (int. rel.) : 336 [M$^+$] (8), 318 (11), 205 (4), 192 (6), 181 (21), 168 (40), 153 (100), 139 (5), 126 (7).

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 5,86 (*s* l, H-3, H-5), 3,01 (*t*, J=6,5 Hz, H-2'), 1,66 (*m*, H-3'), 1,23 (*m*, H-4'-H-13'), 0,86 (*t*, J=6,5 Hz, H-14').

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9-fenilnonan-1-ona (24)**

Goma

EM-IE, m/e (int. rel.) : 342 [M+] (13), 324 (5), 181 (30), 168 (32), 153 (100), 91 (24).

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,14-7,32 (*m*, H-2"-H-6"), 5,91 (*s* l, H-3, H-5), 3,01 (*t*, J=7,5 Hz, H-2'), 2,57 (*t*, J=7,5 Hz, H-9'), 1,30 e 1,23 (*s* l, H-3'-H-8').

- **1-(2,4,6-Triidroxifenil)-9-dodecan-1-ona (25)**

EM-IE, m/e (int. rel.) : 308 [M+] (3)

- **(+)-2,6-*Bis*- (3,4-metilenodioxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano: (+)-episesamina (26)**

Sólido cristalino branco.

PF 121 - 122° C

$[\alpha]_D$ + 75° ($CHCl_3$; c= 0,128 mg/100 ml).

EM-IE, m/e (int. rel.) : 354 [M+] (37), 203 (27), 179 (18), 161 (37), 149 (100), 136 (9), 135 (41), 122 (30).

I V$_{máx.}^{KBr}$ υ, cm-1 : 2970, 2940, 2870, 1500, 1490, 1440, 1260, 1130, 1040, 960, 800.

U V$_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε): 205 (5,6), 236 (4,8), 287 (4,8).

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 6,86 (*d*, J=0,5 Hz H-2', H-2''), 6,83 (*d*, J=8,0 Hz H-5'), 6,83 (J=8,0 Hz, H-5''), 6,78 (*dd*, J=8,0 e 0,6Hz,H-6'), 6,77 (*dd*, J=8,0 e 0,6 Hz, H-6''), 5,96 e 5,95 (*s* l, 2-OC$\underline{H}_2$O-), 4,82 (*d*, J=5,3 Hz, H-2 eq.), 4,38 (*d*, J=7,0Hz, H-6 ax.), 4,09 (*d*, J=9,5 Hx, H-4 eq.), 3,82 (*dd*, J=9,5 e 6,1 Hz, H-4 ax., H-8 eq.), 3,24-3,35 (*m*, H-8 ax., H-1), 2,85 (*dd*, J=14,2 e 7,2 Hz, H-5).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 147,89 (*s*, C-4'), 147,58 (*s*, C-4''), 147,14 (*s*, C-3'), 146,50 (*s*, C-3''), 135,05 (*s*, C-1'), 132,20 (*s*, C-1''), 119,54 (*d*, C-6'), 118,63 (*d*, C-6''), 108,19 (*d*, C-5'), 108,09 (*d*, C-5''), 106,50 (*d*, C-2''), 106,32 (*s*, C-2'), 100,98 (*t*, -O$\underline{C}H_2$O-), 87,59 (*d*, C-6), 81,97 (*d*, C-2), 70,86 (*d*, C-4), 69,62 (*t*, C-8), 54,59 (*d*, C-5), 50,10 (*d*, C-1).

- **(+)-2-(3,4-Metilenodioxifenil)-6-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxa-biciclo [3.3.0]-octano: (+)-xantoxilol (27)**

Óleo viscoso

$[\alpha]_D$ +151º ($CHCl_3$; c= 0,02 g/100 ml).

EM-IE, m/e (int. rel.) : 357 $[M+1]^+$ (22), 356 (100), 325 (7), 205 (13), 203 (10), 179 (9), 177 (12), 163 (13), 161 (21), 151 (55), 150 (24), 149 (34), 137 (22), 135 (25).

IV, $\upsilon_{máx.}^{KBr}$, cm-1 : 3380, 2920, 2840, 1605, 1590, 1510, 1490, 1448, 1430, 1350, 1270, 1190, 1145, 1055, 1010, 950, 825.

UV $\lambda_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε): 205 (4,7), 232 (4,1), 284 (3,9).

UV $\lambda_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε) : 217 (5,1), 288 (4,3).

RMN de ^{1}H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 6,80-6,90 (*m*, H-2', 5', 6', 2'', 5'', 6'') 5,95 (*s*, -OC<u>H</u>$_2$O-), 5,71 (*s* l, 1 OH), 4,81 (*d*, J=5,5, Hz, H-2 eq.), 4,38 (*d*, J=7,2, Hz, H-6 ax.), 4,10 (*d*, J=9,7 Hz, H-4 eq.), 3,88 (*s*, OC<u>H</u>$_3$), 3,88 (*d*, J=14,0 Hz, H-8 eq.), 3,82 (*dd*, J=9,5 e 6,1 Hz, H-4 ax.) 3,31 (*m*, H-1, H-8 ax.), 2,89 (*ddd*, J=14,0; 6,1 e 6,1 Hz, H-5).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 147,58 (*s*, C-3'), 146,69 (*s*, C-4'), 146,50 (*s*, C-3''), 145,31 (*s*, C-4''), 132,91 (*s*, C-1''), 132,22 (*s*, C-1'), 119,15 (*d*, C-6''), 118,64 (*d*, C-5'), 114,23 (*d*, C-5''), 108,55 (*d*, C-2'') ,108,08 (*s*, C-2'), 106,45 (*d*, C-6'), 100,91 (*t*, OCH_2O-), 87,85 (*d*, C-6), 81,99 (*d*, C-2), 70,88 (*d*, C-4), 69,55 (*t*, C-8), 55,87 (*q*, OCH_3), 54,65 (*d*, C-5), 50,09 (*d*, C-1).

- **(+)-2-(3,4-Metilenodioxifenil)-6-(4-acetoxi-3-metoxifenil)-3,7-dioxabiciclo [3.3.0]-octano**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 6,99 (*d*, J=8,0 Hz, H-5"), 6,98 (*d*, J=2,0Hz, H-2"), 6,85 (*m*, H-6", H-2', H-5', H-6'), 5,94 (*s*, $OC\underline{H}_2O$-), 4,83 (*d*, J=5,5 Hz, H-2 eq.), 4,47 (*d*, J=7,2 Hz, H-6 ax.), 4,13 (*d* l, J=9,5 Hz, H-4 eq.), 3,84 (*m*, H-4 ax. e H-8 eq.), 3,82 (*s*, -$OC\underline{H}_3$), 3,30 (*m*, H-1 e H-8 ax.), 2,90 (*m*, H-5), 2,29 (*s*, -$OCOC\underline{H}_3$).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 169,09 (*s*, -$O\underline{C}OCH_3$), 151,20 (*s*, C-3"), 147,63 (*s*, C-3'), 146,68 (*s*, C-4'), 140,21 (*s*, C-4"), 139,18 (*s*, C-1"), 132,19 (*s*, C-1'), 122,68 (*d*, C-5"),118,68 (*d*, C-5'), 118,14 (*d*, C-6"), 109,92 (*d*, C-2"), 108,13 (*s*, C-2') 106,39 (*d*, C-6'), 100,95(*t*, -$O\underline{C}H_2O$-), 87,30 (*d*, C-6), 82,01 (*d*, C-2), 70,99 (*d*, C-4), 69,74 (*t*, C-8), 55,90 (*q*, -$O\underline{C}H_3$), 54,61 (*d*, C-5), 50,09 (*d*, C-1), 20,65 (*q*, -$OCO\underline{C}H_3$).

- **7,4'-Diidroxi-3'-metoxiflavana (28)**

Sólido cristalino branco.

PF 155-157 °C.

$(\alpha)_D$ + 1° ($CHCl_3$; c=0,02 g/100ml).

EM-IE, m/e (int. rel.) : 272 [M+] (76), 151 (11), 150 (100), 135 (32), 107 (18), 123 (19).

I V, $\upsilon_{máx.}^{KBr}$, cm^{-1} : 3440, 2940, 2840, 1610, 1590, 1510, 1280, 1150, 1110, 990, 840.

U V $_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε) : 206 (4,8), 225 (4,0), 282 (3,8).

U V $_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε) : 214 (5,1), 242, (4,6), 290 (4,4).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 6,91 (*d* J=8,0 Hz, H-5), 6,89-6,94 (*m*, H-2', H-5', H-6'), 6,38 (*d*, J=2,0 Hz, H-8), 6,37 (*dd* J=8,8 e 2,5 Hz, H-6), 5,62 (*s* l, OH), 4,93 (*dd* J=9,9; 3,5 Hz, H-2ax.), 4,79 (*s* l, --OH), 3,88 (*s*, -OC$\underline{H}_3$), 2,90 (*ddd*, J=16,0; 5,1 e 3,5 Hz, H-4ax.), 2,71 (*ddd*, J=16,0; 5,1 e 3,5 Hz, H-4 eq.) 1,93-2,21 (*m*, H-3).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 155,93 (*s*, C-8a), 154,83 (*s*, C-7), 146,59 (*s*, C-3'), 145,35 (*s*, C-4'), 133,59 (*s*, C-1'), 130,16 (*s*, C-5), 119,22 (*s*, C-6'), 114,23 (*s*, C-4a), 108,66 (*d*, C-5'), 107,93 (*d*, C-6, C-2'), 103,50 (*d*, C-8), 77,75 (*d*, C-2), 55,94 (*q*, -O$\underline{C}H_3$), 30,12 (*t*, C-4), 24,61 (*t*, C-3).

- **7,4'-diacetoxi-3'-metoxiflavana**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ: 7,06 (*d*, J=8,0 Hz, H-5'), 7,02 (*d*, J=2,0 Hz, H-2'), 7,02 (*d*, J=8,0 Hz, H-5), 6,93 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6'), 6,63 (*d*, J=2,0 Hz, H-8), 6,58 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6) 4,99 (*dd*, J=10,0 e 2,5 Hz, H-2), 3,82 (*s* -OC$\underline{H}_3$), 2,72-3,12 (*m*, H-4), 2,30 e 2,27 (*s*, 2-OCOC$\underline{H}_3$), 2,05-2,26 (*m*, H-3).

- **1-(4-Hidroxi-2-metoxifenil)-3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-propano (29)**

Líquido viscoso.

EM-IE, m/e (int. rel.) : 288 [M^+] [94), 151 (79), 137 (100), 107 (17).

I V, $\upsilon_{máx.}^{KBr}$, cm^{-1} : 3400, 1620, 1600, 1525, 1470, 1240, 1200, 1160, 1035.

U V $_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε) : 209 (3,7), 228 (3,9), 281 (3,7).

U V $_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε) : 220 (4,0), 292 (3,8)

U V $_{máx.}^{MeOH+AlCl_3}$, nm, (log ε): 220 (4,0), 292 (3,8)

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 500 MHz) : δ 6,94 (*d*, J=8,0 Hz, H-6'), 6,85 (*d*, J=8,0 Hz, H-5''), 6,70 (*d*, J=2,0 Hz, H-2''), 6,69 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6''), 6,40 (*d*, J=2,0 Hz, H-3'), 6,36 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-5'), 5,43 (*s* l, 2 OH), 3,84 (*s*, -OC$\underline{H_3}$-4'), 3,73 (*s*, -OC$\underline{H_3}$-2'), 2,57 (*t*, J=7,5 Hz, H-1 e H-3), 1,84 (*quint*, J=7,7 Hz, H-2).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 158,30 (*s*, C-4'), 154,83 (*s*, C-2'), 146,22 (*s*, C-4"), 143,17 (*s*, C-3"), 134,79 (*s*, C-1"), 130,06 (*d*, C-6'), 122,72 (*s*, C-1'), 120,87 (*d*, C-6"), 114,11 (*d*, C-2"), 111,07 (*d*, C-5"), 106,49 (*d*, C-5'), 98,90 (*d*, C-3'), 55,79 e 55,22 (*q*, $-OCH_3$), 35,24 (*t*, C-1), 31,75 (*t*, C-3), 29,11 (*t*, C-2).

- **1-(4-Acetoxi-2-metoxifenil)-3-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-propano**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,10 (*d*, J=8,0, Hz, H-6'), 6,93 (*d*, J=8,0 Hz, H-5"), 6,79 (*d*, J=2,0 Hz, H-2"), 6,76 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-6"), 6,62 (*dd*, J=8,0 e 2,0 Hz, H-5'), 6,58 (*d*, J=2,0 Hz, H-3'), 3,80 e 3,77 (*s* cada, $-OC\underline{H}_3$), 2,64 (*t*, J= 7,5 Hz, H-1 e H-3), 2,29 e 2,28 (*s*, $-OCOC\underline{H}_3$), 1,90 (*quint*, J=7,5 Hz, H-2).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 169,44, (*s*, $-O\underline{C}OCH_3$), 169,08, (*s*, $-O\underline{C}OCH_3$) 157,83 (*s*, C-4'), 150,56 (*s*, C-4"), 149,59 (*s*, C-2'), 141,32 (*s*, C-3"), 137,51 (*s*, C-1"), 129,71 (*d*, C-6'), 127,92 (*s*, C-1'), 122,17 (*d*, C-6"), 120,30 (*d*, C-2"), 112,75 (*d*, C-5'), 112,45 (*d*, C-5"), 104,22 (*d*, C-3'), 55,64 (*q*, $-O\underline{C}H_3$), 55,19 (*q*, $-O\underline{C}H_3$) 35,41 (*t*, C-1), 30,89 (*t*, C-3), 29,38 (*t*, C-2), 20,94 e, 20,49 (*q*, cada $CO\underline{C}H_3$).

- **4',5-Dimetoxi-3-hidroxi-*trans*-estilbeno (30)**

Sólido cristalino branco.

PF 112-114 °C.

EM-IE, m/e (int. rel.) : 256 [M^+] (100), 181 (7), 128 (7).

KBr

I V, $\upsilon_{máx.}$, cm^{-1}: 3380, 3010, 2920, 2840, 1610, 1590, 1500, 1450, 1380, 1350, 1270, 960, 830.

MeOH

U V $\lambda_{máx.}$, nm, (log ε): 305 (4,6), 318 (4,6).

MeOH+NaOH

U V $\lambda_{máx.}$, nm, (log ε) : 202 (5,6), 305 (4,6).

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,41 (*dd*, J=6,7 e 2,0, Hz, H-3', H-5'), 7,00 e 6,83 (*d* cada, J=16,3, Hz, H_α e H_β), 6,88 (*dd*, J=6,7 e 2,0, Hz, H-2' e H-6'), 6,61 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-2), 6,56 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-6), 6,31 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-4), 5,00 (*s* l, -OH), 3,81 (*s*,--$OC\underline{H}_3$), 3,80 (*s*, -$OC\underline{H}_3$).

RMN de ^{13}C ($CDCl_3$, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 161,07 (*s*, C-5), 159,38 (*s*, C-4'), 156,85 (*s*, C-3), 140,04 (*s*, C-1), 129,89 (*s*, C-1'), 128,91 e 126,23 (*d* cada, C_α e C_β), 127,62 (*d*, C-2', C-6'), 114,16 (*d*, C-3', C-5'), 105,73 (*d*, C-2), 104,69 (*d*, C-6), 100,64 (*d*, C-4) 55,34 (*q* cada, -$O\underline{C}H_3$).

- **4',5-Dimetoxi-3-acetoxi-*trans*-estilbeno**

RMN de ^1H ($CDCl_3$, 200 MHz) : δ 7,41 (*d*, J=9,0, Hz, H-3' e H-5'), 7,02 e 6,86 (*d* cada, J=16,0 Hz, H_α e H_β), 6,88 (*d*, J=9,0 Hz, H-2' e H-6'), 6,86 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-2), 6,83 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-6), 6,51 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-4), 3,80 (*s*, -OCH_3), 2,29 (*s* $OCO\underline{C}H_3$)

- **3,5- Diidroxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno (31)**

Sólido cristalino amarelado.

PF 172-174° C

EM-IE, m/e (int. rel.) : 242 [M^+] (100), 181 (26), 157 (8).

I V, $\upsilon_{máx.}^{KBr}$, cm^{-1} : 3100-3600, 2920, 2860, 1650, 1600, 1570, 1520, 1470, 1380, 1200, 810.

U V $\lambda_{máx.}^{MeOH}$, nm, (log ε) : 217 (4,4), 305 (4,3).

U V $\lambda_{máx.}^{MeOH+NaOH}$, nm, (log ε) : 209 (5,3), 306 (4,3).

RMN de ^1H (DMSO-d_6, 200 MHz): δ 9,23 (*s*, OH), 7,50 (*d*, J=8,7 Hz, H-3' H-5'), 6,91 (*d*, J=8,7 Hz, H-2', H-6'), 6,89 e 6,86 (*d*, cada J=16,4 Hz, Hα e Hβ), 6,40 (*d*, J=2,0, Hz, H-2, H-6), 6,12 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-4), 3,75 (*s*, -OC$\underline{H}_3$).

RMN de ^{13}C (DMSO-d_6, BB, DEPT, 50,3 MHz): δ 158,88 (*s*, C-3, C-5), 158,48 (*s*, C4'), 139,09 (*s*, C-1), 129,66 (*s*, C-1'), 127,75 (*d*, C-2' e C-6'), 127,48 e 126,66 (*d* cada, Cα, C_B), 114,12 (*d*, C-3' e C-5'), 104,42 (*d*, C-2 e C-6), 101,94 (*d*, C-4) 55,12 (*q*, -OCH_3).

- **3,5-Diacetoxi-4'-metoxi-*trans*-estilbeno**

RMN de ^{1}H (DMSO-d_6, 200 MHz) : δ 7,53 (*d*, J=8,7 Hz, H-3' e H-5'), 7,27 e 7,07 (*d* J=15,5 Hz, Hα e Hβ), 7,24 (*d*, J=2,0, Hz, H-2 e H-6), 6,95 (*d*, J=8,7, H-2'-H-6'), 6,85 (*dd*, J=2,0 e 2,0 Hz, H-4), 3,75 (*s*, -OC$\underline{H}_3$), 2,27 (*s*, -OCOC$\underline{H}_3$).

BIBLIOGRAFIA

7. Bibliografia.

[1]- Moos, W.H., Green, G.D. and Pavia, M.R. (1993) *Annu. Rep. Med. Chem.* **28**, 315.

[2]- Pinto, M.M.M. "Produtos Naturais: Diversidade Molecular *versus* Bioactividade" Comunicação oral no XIV Encontro Nacional da Sociedade Portuguesa de Química, 5-8 de Abril 1994, Universidade de Aveiro, Aveiro.

[3]- Decort, R.D. and Creacy, W.A. (1973) in "The Catharanthus Alkaloids" Ed. Taylor W.I. and Farnsworth, N.R., D.Marcel, New York, p. 237-278.

[4]- Wani, M C., Taylor, H.L., Wall, M.E., Coggon, P. and McPhail, A.T. (1971) *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 2325.

[5]- Apendimo, G., Gariboldi, P., Gabtta, P. and Bombardelli, E. (1993) *Fitoterapia*, Suppl. *al* Nº1 **64**, 37.

[6]- George, G.I., Gollapudi, S.R., Grunewald, G.N., Gunn, C.W., Himes, R.H., Kessawa, R.B., Liang, X-Z., Mirhorm, Y.W., Mitsher, L.A., Vander Velde, D.G. and Ye, Q-M A. (1993) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **3**, 1345.

[7]- Wall, M.E., (1993) em "Chronicles of Drug Discovery" Ed. American Chemical Society, Washington, DC. p. 327 e 349.

[8]- Lythgoe, B., Nakanishi, K. and Uyeo, S. (1964) *Proc. Chem. Soc.*, 301.

[9]- Boge, T.C., Himes, R.H., Vander Velde, D.G. and Georg, G.I. (1994) *J. Med. Chem.* **37**, 3337.

[10]- Robwinsky, E.K. and Donehower, R.C. (1991) *Pharmacol. Ther.* **52**, 35.

[11]- Robwinsky, E.K. and Donehower, R.C. (1991) *J. Natl. Cancer Inst.* **83**, 1778.

[12]- Hohenschutz, L.D., Bell, E.A., Jewess, P.J., Leworthy, D.P., Pryce, R.J., Arnold, E. and Clardy, J. (1981) *Phytochemistry* **20**, 811.

[13]- Saul, R., Chambers, J.P., Molyneux, R.J. and Elbein, A.D. (1983) *Arch. Biochem. Biophys.* **221**, 593.

[14]- Gruters, R.A., Neefjes, J.J., Tersmette, M., Goede, R.E.Y., Tulp, A., Huisman, H.G., Miedema, F. and Ploegh, H.L. (1987) *Nature* **330**, 74.

[15]- Hamburger, M. and Hostettmann, K. (1991) *Phytochemistry* **30**, 3864.

[16]- Liu, J., Ni, M., Fan, J., Wu, Z. and Chui, W. (1979) *Acta Chem. Sinica* 37, 129.

[17]- Klayman, D.L. (1985) *Science* **228**, 1049.

[18]-Korolkovas, A. and Burckhalter, J.H. (1982) em "Química Farmacêutica", Ed. Guanabara Dois S. A. Rio de Janeiro,p.165.

[19]- Evans, F.J. (1991) *J. Ethnopharmacol.* **32**, 91.

[20]- Drummond, A.H. and Hughes, P.J. (1987) *Phytotherapy Res.***1**, 1.

[21]- Cordell, G.A., Beecher, C.W.W. and Pezzuto, J.B. (1991) *J. Ethnopharmacol.* **32**, 117.

[22]- Marcano, D. and Hasegawa, M. (1991) em "Fitoquímica Organica" Ed. Universidad Central de Venezuela, Caracas,p.19.

[23]- Prance, G.T. (1977) *Ann. Missouri Bot. Gard.* **64**, 659.

[24]- Farnsworth, N.R., Akerele, O.K., Birgel, A.S., Soejarto, D.D. and Guo, Z. (1985) *Bull. World Health Organization* **63**, 965.

[25]- Joshi, B.S., Ravindranath, K.R. and Viswanathan, N. (1978) *Experientia* **34**, 422.

[26]- Joshi, B.S., Viswanathan, N., Balakrishnan, V., Gawad, D.H. and Ravindranath, K.R. (1979) *Tetrahedron* **35**, 1665.

[27]-Spencer, G.F.,Tjarks, L.W. and Kleiman, R. (1980) *J. Nat. Prod.* **43**, 724.

[28]- Zahir, A., Jossang, A. and Bodo, B. (1993) *J. Nat. Prod.* **56**, 1634.

[29]- Zeng, L., Gu, Z-M., Fang, X-P. and McLaughlin, J.L. (1994) *J. Nat. Prod.* **57**, 376.

[30]- Pinto, M.M.M., Kijjoa, A., Mondranondra, Ing-On, Gutiérrez, A.B. and Herz, W. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1985.

[31]- Pinto, M.M.M. and Kijjoa, A. (1990) *Quimica Nova* **13**, 243

[32]- Kijjoa, A., González, M.J.T.G., Pinto, M.M.M., Mondranondra, Ing-On, and Herz, W. (1991) *Planta Med.* **57**, 575

[33]- Tyman, J.H.P. (1979) *Chem. Soc. Rev.* **8**, 499.

[34]- Gellerman, J.L. and Schenk, H. (1968) *Anal. Chem.* **40**, 739.

[35]- Paul, V.J. and Yeddanapalli, L.M. (1956) *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 5675.

[36]- Yalpany, M. and Tyman, J.H.P. (1983) *Phytochemistry* **22**, 2263.

[37]- Cojocaru, M., Droby, S., Glotter, E., Jacoby, B. and Prusky, D. (1986)

Phytochemistry **25**, 1093.

[38]- Gellerman, J.L., Anderson, W.H. and Schlenk, H. (1976) *Phytochemistry* **15**, 1959.

[39]- Barrero, A.F., Sanchez, J.F., Barrón, A., Corales, F. and Rodriguez, I. (1989) *Phytochemistry* **28**, 161.

[40]- Barrero, A.F., Cabrera, E., Rodriguez, I. and Planelles, F. (1994) *Phytochemistry* **35**, 493.

[41]- Marston, A. and Hostettmann, K. (1985) *Phytochemistry* **24**, 639.

[42]- Kubo, I., Komatsu, S. and Ochi, M. (1986) *J. Agric. Food. Chem.* **34**, 970.

[43]- Corthout, J., Pieters, L., Vanden Berghe, D. and Vlietinak, A. (1994) *Planta Med.* **60**, 460.

[44]- Sullivan, J.T., Richards, C.S., Lloyd, H.A. and Krishna, G. (1982) *Planta Med.* **44**, 287.

[45]- Himejima, M. and Kubo, I. (1991) *J. Agric. Food Chem.* **39**, 415.

[46]- Barrero, A.F., Sánchez, J.F., Rodriguez, I. (1993) *J. Nat. Prod.* **56**,1737.

[47]- Kubo, I., Muroi, H. and Himejima, M. (1993) *J. Agric. Food. Chem.* **41**, 1016.

[48]- Muroi, H., kubo, A. and Kubo, I. (1993) *J. Agric. Food. Chem.* **41**, 1106.

[49]- Muroi, H. and Kubo, I. (1993) *J. Agric. Food. Chem.* **41**, 1780.

[50]- Hird, N. and Milner, P.M. (1994) *Bioorg. Med. Chem.* **4**, 1423.

[51]- Kubo, I., Ochi, M., Vieira, P.C. and Komatsu, S. (1993) *J. Agric. Food. Chem. Letters* **41**, 1012.

[52]- Itokawa, H., Totsuka, N., Nakahara, N., Takeya, K., Lepoittevin, J.P. and Asakawa, Y. (1987) *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 3016.

[53]- Itokawa, H., Totsuka, N., Nakahara, N., Maezuru, M., Takeya, K., Kondo, M., Inamatsu, M. and Morita, H. (1989) *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 1619.

[54]- Winterhalter, P. (1991) em "Fruits IV: Volatile Compounds in Food and Beverages", Maarse, E., Ed. Decker, New York, p. 389-409.

[55]- Gorham, J. (1980) *Progress in Phytochemistry* **6**, 203.

[56]- Kemp, M.S. (1986) *Phytochemistry* **25**, 1261.

[57]- Hart, J.H. (1981) *Annu. Rev. Phytopathology* **19**, 437.

[58]- Hart, J.H. and Hillis, W.E. (1974) *Phytopathology* **64**, 939.

[59]- Hart, J.H. and Shrimpton, D.M. (1979) *Phytopathology* **69**, 1139.

[60]- Schultz, T.P., Hubbard, T.F., LeHong, J., Thomas, H.F. and Nicholas, D.D. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1501.

[61]- Schultz, T.P., Cheng, Q., Boldin, W.D, Hubbard, T.F., Jin, L.Jr, Fisher, L.T.H. and Nicholas, D.D. (1991) *Phytochemistry* **30**, 2939.

[62]- Schultz, T.P., Boldin, W.D., Fisher, T.H., Nicholas, D.D., McMurtrey, K.D. and Pobanz, K. (1992) *Phytochemistry* **31**, 3801.

[63]- Langcake, P. and Pryce, R.J. (1977) *Experientia* **33**, 151.

[64]- Price, R.J. and Langcake, P. (1977) *Phytochemistry* **16**, 1452.

[65]- Powell, R.G., Bajaj, R. and McLaughlin, J.M. (1987) *J. Nat. Prod.* **50**, 293.

[66]- Sotheeswaran, S., Sultanbawa, M.V.S., Surendrakumar, S., Balasubramaniam, S., Bladon, P. (1985) *J. Chem. Soc. , Perkin Trans. I*,159.

[67]- Bokel, M., Diyasena, M.N.C., Gunatilaka, A.A.L., Kraus, W. and Sotheeswaran, S. (1988) *Phytochemistry* **27**, 377.

[68]- Gorham, J. (1977) *Phytochemistry* **16**, 249.

[69]- Fagboun, D.E., Ogundana, S.K., Adesanya, S.A. and Roberts, M.F. (1987) *Phytochemistry* **26**, 3187.

[70]- Takasugi, M., Kawashima, S., Monde, K., Katsui, N., Masamune, T. and Shirata, A. (1987) *Phytochemistry* **26**, 371.

[71]- Hata, K., Baba, K. and Kozawa, M. (1979) *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 984.

[72]- Letcher, R.M. and Nhamo, L.R.M. (1972) *J. Chem. Soc., Perkin Trans.I* 2941.

[73]- Woodword, S. and Pearce, R.P. (1988) *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **33**, 127

[74]- Langcake, P., Cornford, C.A. and Pryce, R.J. (1979) *Phytochemistry* **18**, 1025.

[75]- Mitscher, L.A., Rao, G.S.R., Khanna, I., Veysoglu, T. and Drake, S. (1983) *Phytochemistry* **22**, 573.

[76]- Suga, T., Ohta, S., Munesada, K., Ide, N., Kurokawa, M., Shimizu, M. and .Ohta, E (1993) *Phytochemistry* **33**, 1395.

[77]- Fullerton, D.S. (1982) em "Wilson and Gisvold's Text Book of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry", Ed., Doerge, R.F. Lippincott, J. B. Philadelphia, p. 672.

[78]- Inamori, Y., .Kato, Y, Kubo, M., Yasuda, M.M., Baba, K. and Kosawa, M.

(1984) *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 213.

[79]- Inamori, Y., Kubo, M., Tsujibo, H., Ogawa, M., Saito, M., Miki, Y.Y. and Takemura, S. (1987) *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 887.

[80]- Inamori, Y., Kubo, M., Kato, Y., Yasuda, M.M., Baba, K. and Kosawa, M. (1984) *Yakugaku Zasshi* **104**, 819.

[81]- Hashimoto, T., Tori, M. and Asakawa, Y. (1988) *Phytochemistry* **27**, 109.

[82]- Pettit, G.R., Singh, S.B. and Schmidt, J.M. (1988) *J. Nat. Prod.* **51**, 517.

[83]- Pettit, G.R., Singh, S.B., Niven, M., Hamel, E. and Schmidt, J.M. (1987) *J. Nat. Prod.* **50**, 119.

[84]- Mannila, E. and Talvitie, A. (1992) *Phytochemistry* **31**, 3288.

[85]- Talvitie, A. Mannila, E. and Kolehmainen, E. (1992) *Liebigs Ann. Chem.* 399.

[86]- Mannila, E., Talvitie, A. and Kolehmainen, E. (1993) *Phytochemistry* **33**, 813.

[87]- Gill, M.T., Bajaj, R., Chang, C.J., Nichols, D.E. and MacLaughin, J.L. (1987) *J. Nat. Prod.* **50**, 36.

[88]- Cushman, M., Nagarathnam, D., Gopal, D., Chakraborti, A.K., Lin, C.M. and Hamel, E. (1991) *J. Med. Chem.* **34**, 2579.

[89]- Cushman, M., Nagarathnam, D., Gopal, D., He, H-M., Lin, C.M. and Hamel, E. (1992) *J. Med. Chem.* **35**, 2293.

[90]- Thakkar, K., Geahlen, R.L. and Cushman, M. (1993) *J. Med. Chem.* **36**, 2950.

[91]- González, M.J.T.G. (1987) *Rev. Port. Farm.* **37**, 4.

[92]- MacRae, W.D. and Towers, G.H.N. (1984) *Phytochemistry* **23**, 1029.

[93]- Lavie, D., Cohen, E. C., Evenari, M. and Guttermann, J. (1974) *Nature* **249**, 388.

[94]- Guttermann, Y., Evenari, M., Cooper, R., Levy, E.C. and Lavie, D. (1980) *Experientia* **36**, 662.

[95]- Szabo, M. and Garay, A. (1970) *Acta Bot. Acad. Sci. Hug.* **16**, 207, *apud*. 180.

[96]- Yoshiara, T., Katsuyoshi, Y. and Sakamura, S. (1982) *Agric. Biol. Chem.* **46**, 853, *apud*. 180.

[97]- Akimoto, M., Matsuura, S., Muro, C., Tsujibo, H., Matsumura, E.,

Yamaguchi, H. and Inamori, Y. (1994) *Biosci. Biotech. Biochem.* **58**, 189.

[98]- Russel, G.B., Singh, P. and Fenmore, P.G. (1976) *Aust. J. Biol.* **29**, 99, *apud*. 180.

[99]- Kamikado, T., Chang, C.F., Murakoshi, S., Sakurai, A. and Tamura, S. (1975) *Agric. Biol. Chem.* **39**, 833, *Apud* 180.

[100]- Matsubara, H. (1972) *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.* **50**, 197.

[101]- Haller, H.L., McGroven, E.R., Goodhue, L.C. and Sullivan, W.N. (1942) *J. Org. Chem.* **7**, 183.

[102]- Haller, H.L., LaForge, E.B. and Sullivan, W.N. (1942) *J. Org. Chem.***7**, 185.

[103]- Miyazawa, M., Ishikara, Y., Yamanaka,J-I. and Kameoka, H. (1994) *Phytochemistry* **35**, 611.

[104]- Coloma, A.G., Escoubas, P., Mizutani, J. and Lajide, L. (1994) *Phytochemistry* **35**, 607

[105]- Kerr, R.W. (1951) *Aust. Csiro Bull.* **261**, 31, *Apud*. 180.

[106]- Shain, L. and Hillis, W.F. (1971) *Phytopatology* **61**, 842.

[107]- Takemoto, T., Miyase, T. and Kusano, G. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1890.

[108]- Keller, J.K. (1977) *Mol. Pharmacol.* **13**, 232.

[109]- Ayres, D.C. and Loyke, J.D. (1990) em "Lignans: Chemical, Biological and Clinical Properties", Ed. Cambridge, Univ. Press, Cambridge, New York,p. 85.

[110]- Fagoo, M., Braquet, P., Robin, J.P., Esanu, A. and Godfraind, T. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **134**, 1064.

[111]- Ward, R.S. (1993) *Nat. Prod. Rep.* 1.

[112]- Markkanen, T., Makinen, M.L., Maunuksela, E. and Himanen, P. (1981) *Drugs Exptl. Clin. Res.* **7**, 711.

[113]- Markkanen, T., Makinen, M.L., Nikoskelainen, J., Ruohonen, J., Nieminen, K., Jokinen, P., Raunio, R. and Hirvonen, T. (1981) *Drugs Exptl. Clin. Res.* **7**, 691.

[114]- Bedows, E. and Hatfield, G.M. (1982) *J. Nat. Prod.* **45**, 725.

[115]- MacRae, W.D., Hudson, J.B. and Towers, G.H.N. (1989) *Planta Med.* **55**,

531.

[116]- San Feliciano, A., Gordaliza, M., Miguel Del Corral, J.M., Castro, M.A., Garcia-Grávados, M. D. and Ruiz-Lázaro, P. (1993) *Planta Med.* **59**, 246.

[117]- Gordaliza, M., Castro, M.A., Garcia-Grávados, M. D., Miguel Del Corral, J.M. and San Feliciano, A. (1994) *Arch. Pharm.* **327**, 175.

[118]- Schroeder, H.C. (1990) *Z. Naturforsch, C.* **45**, 1215.

[119]- Stahelin, H. (1970) *Eur. J. Cancer* **6**, 303.

[120]- Kelleher, J.K. (1978) *Cancer Treat. Rep.* **62**, 1443, *Apud.* 180.

[121]- Ibid. 7, p. 349.

[122]- Liu, S-Y., Hwang, B.D., Aruna, M., Imakura, Y., Lee, K-H. and Cheng, Y-C. (1989) *Mol. Pharmacol.***36**, 78.

[123]- Thurston, L.S., Imakura, Y., Haruna, M., Li, D-H., Liu, Z-C., Liu, S-Y., Cheng, Y-C. and Lee, K-H. (1989) *J. Med. Chem.* **32**, 604.

[124]- Lee, K-H., Beers, S.A., Moro, M., Wang, Z-Q., kuo, Y-H., Li, L., Liu, S-Y., Chang, J-Y., Han, F-S. and Cheng, Y-C. (1990) *J. Med. Chem.* **33**, 1364.

[125]- Hu, H., Wang, Z-Q., Liu, S-Y., Cheng, Y-C. and Lee, K-H. (1992) *J. Med. Chem.* **35**, 866.

[126]- Wang, Z-Q., Hu, H., Chen, H-X., Cheng, Y-C. and Lee, K-H. (1992), *J. Med. Chem.* **35**, 871.

[127]- Terada, T., Fujimoto, K., Nomura, M., Yamashita, J., Wierzba, K., Yamazaki, R., Shibata, J., Sugimoto, Y. and Yamada, Y. (1993) *J. Med. Chem.* **36**, 1689.

[128]- Zhou, Z-M., Lee, K.J-H., Cheng, J., Wu, S-S., Chen, H-X., Guo, X., Cheng, H-C. and Lee, K-H. (1994) *J. Med. Chem.* **37**, 287.

[129]- Setchell, K.D.R., Lawson, A.M., Mitchell, F.L., Adlercreutz, H., Kirk, D.N. and Axelson, M. (1980) *Nature* **287**, 738.

[130]- Stich, S.R., Toumba, J.K., Groen, M.B., Funke, C.W., Leemhuis, J., Kink, J. and Woods, G. F. (1980) *Nature* **287**, 740.

[131]- Setchell, K.D.R., Lawson, A.M., Conway, E., Taylor, N.F., Kirk, D.N., Cooley, G., Farrant, D., Wynn, S. and Axelson, M. (1981) *Biochem. J.* **197**, 447.

[132]- Axelson, M., Setchell, K.D.R. (1981) *FEBS Letters* **123**, 337.

[133]- Setchell, K.D.R., Lawson, A.M., Borriello, S.P., Harkness, R., Gordon, H., Morgan, D.M., Kirk, D.N., Adlercreutz, H. and Axelson, M. (1981) *Lancet ii* (8236) 4.

[134]- Borriello, S.P., Setchell, K.D.R., Axelson, M. and Lawson, A.M. (1985) *J. Appl. Bacteriol.* **58**, 37.

[135]- Adlercreutz, H., Bannwart, C., Wahala, K., Makela, T., Brunow, G., Hase, T., Arosemena, P.J., Kellis, J.T.Jr and Vickery, L.E. (1993) *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **44**, 147.

[136]- Mousavi,Y. and Adlercreutz, H. (1993) *Steroids* **58**, 301.

[137]- Sathyamoorty, N., Wang, T.T.Y. and Phang, J.M. (1994) *Cancer Res.* **54**, 957.

[138]- Gueissman A.T. and Crout, D.H.G. (1969) em "Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism", Ed. Freeman, Cooper & Company, San Francisco, California.

[139]- Gerhold, D.L., Craig,R. and Mumma, R.O. (1984) *J. Chem. Ecol.* **10**, 713.

[140]- Walters, D.S., Craig, R. and Mumma, R.O. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1815.

[141]- Roughley, P.J. and Whiting, D.A. (1973) *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* 2379.

[142]- Connoly, J.D., Purushothaman, K.K. and Sarade, A. (1977) *J. Chem. Soc. , Perkin Trans. I* 587.

[143]- Shobha, S.V., Krishnaswamy, P.R. and Ravindranath, B. (1992) *Phytochemistry* **31**, 2295.

[144]- Gottlieb, O.R. (1977) *Israel J. Chem.* **16**, 45.

[145]- Massaneye, G.M., Pando, E., Rodriguez-Luis, F. and Zubia, E (1989) *Fitoterapia* **60**, 3.

[146]- Erdtman, H. (1993) *Liebigs Ann. Chem.* **503**, 283.

[147]- Dewick, P.M. (1994) *Nat. Prod. Rep.*173.

[148]- Tropf, S., Lauz, T., Reusing, S.A., Schoeeder, J. and Schroeeder, G. (1994) *J. Mol. Evol.* **38**, 610.

[149]- Markham, K.R. (1982) em "Techniques of Flavonoid Identification", Academic Press, New York, p 41.

[150]- Nathan, J. (1970) em "Introducion a la Ressonância Magnética

Nuclear" Editorial Limusa-Willey, S. A. México.

[151]- Breitmaier, E., Voelter, W. (1989) em "Carbon-13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry" 3th ed., Ed. Weinheim, New York: VCH, p. 261.

[152]- Ibid. 151 p. 256.

[153]-Mudd, A. (1983) *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* 2161.

[154]- Seibel, J. (1973) em "Espectrometria de Masas", Ed. Alhambra.

[155]- Buser, H-R., Arn, H., Guerin, P. and Rausher, S. (1983) *Anal. Chem.* **55**, 818.

[156]- Francis, G.W. and Tande, T. (1978) *J. Chromatogr.* **150**, 139.

[157] Carlson, D.A., Roan, C-S, Yost, R.A. and Hector, J. (1989) *Anal. Chem.* **61**, 1564

[158]- Scribe, P., Guezennec, J., Dagaut, L., Pepe, C. and Saliot, A. (1988) *Anal. Chem.* **60**, 1564.

[159]- Leonhardt, B.A. and Vilbiss, D. (1985) *J. Chromatogr.* **322**, 484.

[160]- Francis, G. (1981) *Chem. Phys. Lip.* **29**, 369.

[161]- Billen, J.P.J., Evershed, R.P., Attygale, A.B., Morgan, E.D. and G.Ollet, D. (1986) *J. Chem. Ecol.* **12**, 669.

[162]- Attygalle, A.B. and Morgan, E.D. (1988) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **27**, 460.

[163]- Arnone, A., Assante, G., Nasini, G. and Vajna de Pava, O. (1989) *Phytochemistry* **28**, 2803.

[164]- Barrero, A.F., Sánchez, J.F., Reyes, F. and Rodriguez, I. (1991) *Phytochemistry* **30**, 641.

[165]- Bouillant, M.L., Jacoud, C., .Zanella, I, Favre-Bonvin, J. and Bally, R. (1994) *Phytochemistry* **35**, 769.

[166]- Siggic, S.Ph.D. and Hanna, J.G. (1979) em "Quantitative Organic Analysis via Functional Groups", Ed. John Wiley and Sons, New York, p.12.

[167]- Ibid. 151, p. 114.

[168]- Ibid. 151, p. 113.

[169]-Ibid. 151, p. 192.

[170]- Wenkert, E. (1976) em "Topics in Carbon-13 NMR Spectroscopy", Ed.

G.C. Levy, John Wiley and Sons, New York.

[171]- Trang, N.D., Wanner, M.J., Koomen, G. and Dung, N. (1993) *Planta Med.* **59**, 480.

[172]- Stothers, J.B. (1972) em "Carbon-13 NMR Spectroscopy", Academic Press, New York, London.

[173]- Silverstein, R.M., Bassler, G.C., Morrill, T.C. (1981) em "Spectrometric Identification of Organic Compounds", 4 th Ed., John Wiley and Sons, New York.

[174]- Ibid. 173, p. 245.

[175]- Ghosal, S., Singh, S.K. and Srivastava, R.S. (1985) *Phytochemistry* **24**, 151.

[176]- Saini, K. S. and Ghosal, S. (1984) *Phytochemistry* **23**, 2415.

[177]- Mesquita, A.A.L., Corrêa, D.B., Gottlieb, O.R. and Magalhães, M.T. (1968) *Anal. Chim. Acta* **42**, 311.

[178]- Agrawal, P.K., Bansal, M.C. and Foo, L.J. (1989) em "Flavonoids in Carbon-13 NMR of Flavonoids", Ed. by P.K.Agrawal, Elsevier Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.

[179]- Franca, N.C., Diaz, D.P.P., Gottlieb, O.R. and Rosa, B.P. (1974) *Phytochemistry* **13**, 1631.

[180]- Sahai, R., Agrawal, S.K. and Rastogi, R.P. (1980) *Phytochemistry* **19**, 1560.

[181]- Lopes, L.M.X., Yoshida, M. and Gottlieb, O.R. (1982) *Phytochemistry* **21**, 751.

[182]- Kato, M.J., Lopes, L.M.X., Fo, H.F., Yoshida, M. and Gottlieb, O.R. (1985) *Phytochemistry* **24**, 533.

[183]- Cooray, N.F., Janz, E.R., Wimalasena, S., Wijesekera, T.P. and Nair, B.M. (1987) *Phytochemistry* **26**, 3369.

[184]- Pinto, MM.M., Kijjoa, A., Tantisewie, B., Yoshida, M. and Gottlieb, O.R. (1988) *Phytochemistry* **27**, 3988.

[185]- Kumar, N.S., Herath, H.M.T.B. and Karunaratne, V. (1988) *Phytochemistry* **27**, 465.

[186]- Kato, M.J., Yoshida, M. and Gottlieb, O.R. (1990) *Phytochemistry* **29**, 1799.

[187]- Ibid. 150, p. 18.

[188]- Gerwick, W. and Fenical, W. (1982) *Phytochemistry* **21**, 633.

[189]- A.Pelter, A., Ward, R., Rao, E.R. and Sastry, K.V. (1976) *Tetrahedron* **32**, 2783.

[190]- Pelter, A. and Ward, R.S. (1978) em "Chemistry of Lignans", Ed. by Rao, C. B. S., Andhra University Press, Andhra Pradesh, India, p.248.

[191]- Ibid. 190, p. 227.

[192]- Gunatilaka, A.A.L., Jasmin da Silva, A.M.J., Sotheeswaran, S. and Tillekeratne, L.M.V. (1982) *Phytochemistry* **21**, 2719.

[193]- Tillekeratne, L.M.V., Jayamanne, D.T., Merrasuria, K.D.V. and Gunatilaka, A.A.L. (1982) *Phytochemistry* **21**, 476.

[194]- Kitagawa, I., Nakanishi, T., Ito, Y., Sultanbawa, M.V.S. and Yosioka, I., (1972) *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 2278.

[195)- Becker, E.D. (1962) *Tetrahedron Letters* **4**, 157.

[196]- González, M.J.T.G., Pinto, M.M.M., Kijjoa, A. and Tantisewie, B. (1988) *Fitoterapia* **59**, 486.

[197]- Abe, F., Yahara, S., Kubo, S., Nonaka, G., Okabe, H. and Nishioka, I. (1974) *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 2650.

[198]- Braz Filho, R., Diaz, P.D. and Gottlieb, O.R. (1980) *Phytochemistry* **19**, 455.

[199]- Diaz, P.D. and De Diaz, A.M.P. (1986) *Phytochemistry* **25**, 2395.

[200]- Braz Filho, R., Frota Leite, M.F. and Gottlieb, O.R. (1973) *Phytochemistry*, **12**, 417.

[201]- Alves de Lima, R., Diaz Franca, N.C. and Gottlieb, O.R. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1831.

[202]- Braz Filho, R, Gottlieb, O.R. and Pinho, S.L.V. (1976) *Phytochemistry* **15**, 567.

[203]- Shriner, I., Fuson, R.C., Curtin, D.Y. and Mouril, T.C (1980) em "Systematic Identification of Organic Compounds", 6th ed. John Wiley & Sons, New York, p.348.

[204]- Pavia, D.L., Lampman, G.M. and Kriz, G.S. (1979) em "Introduction to Spectroscopy: A Guide for Student of Organic Chemistry", W.B. Saunders

Company, USA.

[205]- MacRae, W.D. and Towers, G.H.T. (1985) *Phytochemistry* **24**, 561.

[206]- Drewes, S.E. and Fletcher, J.P. (1974) *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 961.

[207]- Gottlieb, O.R., Alves de Lima, R., Mendes, P.H. and Magalhães, M.T. (1975) *Phytochemistry* **14**, 1674.

[208]- Chaudhari, M., Jain, G.P., Sarin, J.P. and Khanna, N.M. (1983) *Indian J. Chem.* **22B**, 1163.

[209]- Csupor, L. (1970) *Arch. Pharm.* **303**, 681.

[210]- Banks, H.J. and Cameron, D.W. (1971) *Aust. J. Chem.* **24**, 2427.

[211]- Reimann, E. (1971) *Liebigs Ann. Chem.* **750**, 109.