

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

ESTUDO FITOQUÍMICO DO GÊNERO

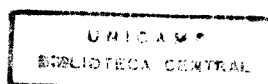
*Pachyrhizus* Rich ex D. C.

SHIRLEI SCRAMIN n/14/nbase

TESE DE DOUTORADO

1994

ORIENTADOR: Prof. Dr. ADERBAL FARIAS MAGALHÃES t



DADE	BC
CHAMADA:	FIONCAMP
	5014e
VALOR BC/	23.118
DD	28/94
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
VALOR	R\$ 11,00
TA	02/12/94
CPD	

M-00063463-6

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães (Orientador)**

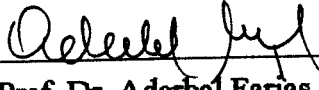
**Profa. Dra. Vera Lúcia Garcia Rehder**

**Prof. Dr. Walter Baptist Mors**

**Prof. Dr. Marcos Nogueira Eberlin**

**Prof. Dr. Paulo Matsuo Imamura**

**Este Exemplar Corresponde à Redação Final da Tese Defendida por SHIRLEI SCRAMIN  
e Aprovada pela Comissão Julgadora no dia 29 de setembro de 1994.**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães**  
**(Orientador)**

Aos meus pais, Diva e Ettore (*In memoriam*), pelo estímulo

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães meu especial agradecimento pela orientação na realização deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dra. Eva Gonçalves Magalhães pelas valiosas sugestões apresentadas.

Aos Profs. Paulo Imamura, Luzia Koike, Marcos Eberlin e Anita Marsaioli pelas importantes críticas e sugestões.

Ao Prof. Dr. Ivany Vallio pelo material botânico cedido.

À Sônia Crisóstomo e Paula Pilli pela colaboração que prestaram, especialmente na parte referente à obtenção dos espectros de RMN-<sup>1</sup>H e RMN-<sup>13</sup>C.

Ao Cidão pelos espectros de massa.

Às amigas Bia, Graça, Ivani, Márcia e Marta pela amizade, colaboração e presença constante.

À Eugênia Brenelli um especial agradecimento pela amizade, incentivo e, principalmente pela paciência na impressão deste trabalho.

À Claudia Harumi pela análise quantitativa.

Aos colegas de laboratório pelo convívio e ajuda.

Aos funcionários D<sup>as</sup> Nena, Maria, Pimpim, Fontana, Laurindo e a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a elaboração e realização deste trabalho.

À Maria Amélia e Nilce pela cooperação prestada junto à biblioteca do CNPMA-EMBRAPA.

À EMBRAPA pelo incentivo e apoio financeiro.

## ÍNDICE

	Pag.
VOLUME I	
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE ABREVIATURAS	iii
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E IDENTIFICADAS	v
INTRODUÇÃO GERAL	1
Capítulo 1 - Estudo Fitoquímico do Gênero <i>Pachyrhizus</i>	2
I - INTRODUÇÃO	3
II - OBJETIVOS	15
III - RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
Avaliação Fitoquímica de <i>Pachyrhizus ferrugineus</i> (Piper) Sorensen	16
Descrição da Planta	16
Isolamento dos Constituintes das Sementes de <i>Pachyrhizus ferrugineus</i>	17
Avaliação Fitoquímica de <i>Pachyrhizus tuberosus</i> (Lam.) Sprengel	38
Descrição da Planta	38
Isolamento dos Constituintes das Sementes Vermelhas de <i>Pachyrhizus tuberosus</i>	39
Avaliação Fitoquímica de <i>Pachyrhizus ahipa</i> (Weed.) Parodi	46
Descrição da Planta	46
Isolamento dos Constituintes das Sementes de <i>Pachyrhizus ahipa</i>	47
Avaliação Fitoquímica de <i>Pachyrhizus tuberosus</i> (Lam.) Sprengel (Variedade Sementes Pretas)	51
Descrição da Planta	51
Isolamento dos Constituintes das Sementes Pretas de <i>Pachyrhizus tuberosus</i>	52
Avaliação Fitoquímica de <i>Pachyrhizus panamensis</i> Clausen	58
Descrição da Planta	58
Isolamento dos Constituintes de <i>Pachyrhizus panamensis</i>	59

IV - ANÁLISE QUANTITATIVA DOS COMPONENTES DOS EXTRATOS DAS SEMENTES DE <i>Pachyrhizus</i>	62
V - CONCLUSÕES	67
Capítulo 2 - Tentativa de Síntese da 3-fenilcumarina <u>9</u> e do 2-etoxiisoflaveno <u>130</u>	68
I - INTRODUÇÃO	69
II - OBJETIVOS	80
III - RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
1. Rota sintética para a obtenção de 6-benzilóxicumarano ( <u>132</u> ) a partir de 2,6-dihidróxibenzaldeído ( <u>95</u> ).	83
2. Rota sintética para a obtenção de 5-formil-6-hidróxicumarano ( <u>88</u> ).	88
3. Obtenção de 2,4,5-trimetóxiciglicidato de sódio ( <u>127</u> ) a partir do reagente 2,4,5-trimetóxicibenzaldeído ( <u>124</u> ).	90
IV - CONCLUSÕES	101
PARTE EXPERIMENTAL	102
Métodos Gerais	102
Isolamento dos Isoflavonóides	104
Análise Quantitativa dos Componentes dos Extratos das sementes de <i>Pachyrhizus</i>	137
Tentativa de Síntese da 3-Fenilcumarina <u>9</u> e do 2-etoxiisoflaveno <u>130</u>	143
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	165
Capítulo 1: Fitoquímica	165
Capítulo 2: Síntese	169
APÊNDICE	171
Espectros	
Capítulo 1: Fitoquímica	
Capítulo 2: Síntese	
Figuras	
Capítulo 1: Fitoquímica	

## RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido em duas partes. Na primeira parte realizamos o estudo fitoquímico de quatro espécies do gênero *Pachyrhizus* (consta de cinco espécies). Foram isoladas e identificadas 16 substâncias, sendo que o isoflaveno 12 e o 2-arilbenzofurano 14 são substâncias inéditas e a isoflavona 11 é inédita como produto natural. Nesta primeira parte também procedemos à análise quantitativa de alguns componentes dos extratos em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> das sementes de *P. ferrugineus* e *P. ahipa*, utilizando a CLAE em fase reversa.

Na segunda parte tentamos a síntese de 3-fenilcumarina 9 (isolada de *P. ferrugineus*) e do 2-etóxiisoflaveno 130. Para atingir este objetivo, sintetizamos o 5-formil-6-hidróxicumarano (88) e tentamos a transformação do aldeído 2,4,5-trimetóxi-benzaldeído (124) no homólogo 128, que através de uma condensação aldólica com 88 forneceria a 3-fenilcumarina correspondente. Entretanto, em lugar do aldeído 128, obtivemos dois derivados cinâmicos inéditos, 136 e 138, além da cloridrina 141.



## ABSTRACT

The present work was developed in two parts. In Part one we did the phytochemical study of four species of the genera *Pachyrhizus* (composed by five species). Sixteen compounds were isolated and identified; among them, the isoflaven 12 and 2-arylbenzofuran 14 are new compounds, and the isoflavone 11 is new as natural product. The quantitative evaluation of some components from CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extracts of *P. ferrugineus* and *P. ahipa* seeds were done by HPLC reverse phase.

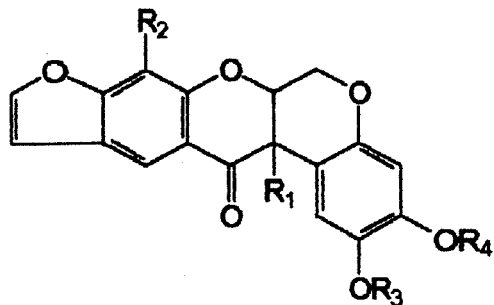
In Part two, we started the synthesis of 3-phenylcoumarin 9 (isolated from *P. ferrugineus*) and 2-ethoxy-isoflaven 130. We prepared the 5-formyl-6-hydroxy-coumaran (88) and tried the transformation of 2,4,5-trimethoxybenzaldehyde (124) into the aldehyde 128, in order to promote the aldolic condensation between 88 and 128. Although the transformation of 124 into 128 was not possible, we obtained two new cinnamic derivatives 136 and 138, besides chlorohydrin 141.

## LISTA DE ABREVIATURAS

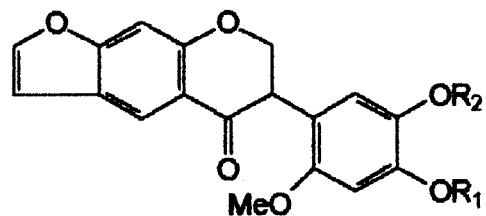
ab.rel.	Abundância relativa
ax	Axial
C.C.	Cromatografia em coluna
C.C.D.	Cromatografia em camada delgada
C.C.P.	Cromatografia em camada preparativa
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
cm <sup>-1</sup>	Centímetro recíproco (unidade de número de onda)
δ e ppm	Parte por milhão da frequência aplicada
d	Dubleto
D <sub>2</sub> O	Água deuterada
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
dl	Dubleto largo
ε	Absortividade molar
E.	Espectro
E.M.	Espectrometria de massas
eq	Equatorial
et al.	E outros
Et <sub>2</sub> O	Éter etílico
EtOH	Etanol
EtONa	Etóxido de sódio
eV	Elétrons-volt
Hz	Hertz
I.V.	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
Lit.	Literatura
λ <sub>max</sub>	Comprimento de onda máximo
m	Multiplete
m/z	Relação massa/carga
MeCN	Acetonitrila
MeOH	Metanol

MeONa	Metóxido de sódio
MHz	Mega-Hertz
nm	nanômetro
$\nu_{\max}$	Frequência máxima
P.F.	Ponto de fusão
PAD	<i>Pachyrhizus ahipa</i> em diclorometano
Pd/C	Paládio sobre carvão
PFD	<i>Pachyrhizus ferrugineus</i> em diclorometano (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )
PPD	<i>Pachyrhizus panamensis</i> em diclorometano
Pt/C	Platina sobre carvão
PTE	<i>Pachyrhizus tuberosus</i> em éter etílico (sementes pretas)
PTV	<i>Pachyrhizus tuberosus</i> vermelho
RMN- <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
RMN- <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
tBuOK	t-Butóxido de potássio
t <sub>R</sub>	Tempo de retenção
U.V.	Ultravioleta

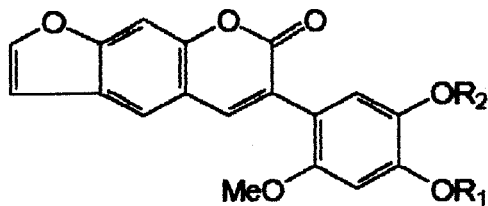
SUBSTÂNCIAS ISOLADAS E IDENTIFICADAS



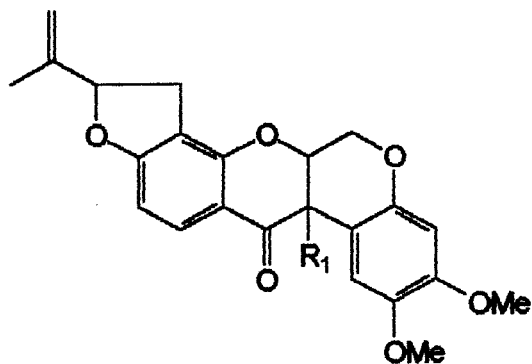
- 1:**  $R_1 = R_2 = H, R_3 + R_4 = -CH_2-$   
**2:**  $R_1 = H, R_2 = OMe, R_3 + R_4 = -CH_2-$   
**5:**  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 + R_4 = -CH_2-$   
**7:**  $R_1 = R_2 = H, R_3 = R_4 = CH_3$   
**15:**  $R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = R_4 = CH_3$



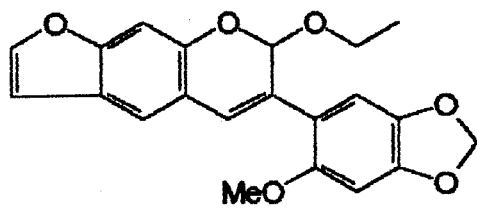
- 3:**  $R_1 + R_2 = -CH_2-$   
**8:**  $\Delta^{2,3}, R_1 + R_2 = -CH_2-$   
**11:**  $\Delta^{2,3}, R_1 = R_2 = CH_3$



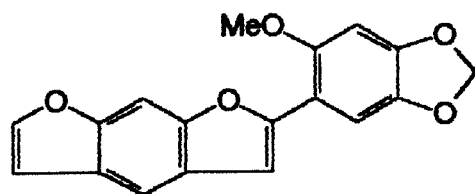
- 4:**  $R_1 + R_2 = -CH_2-$   
**9:**  $R_1 = R_2 = CH_3$



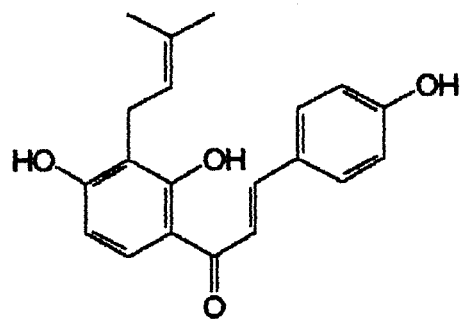
- 6:**  $R_1 = H$   
**10:**  $R_1 = OH$



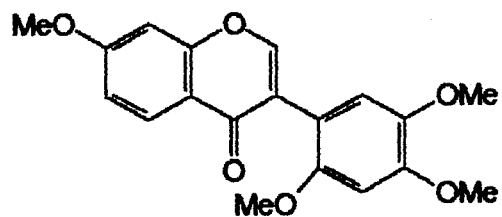
**12**



**14**



**13**



**16**

## INTRODUÇÃO GERAL

A Química de Produtos Naturais constitui tradicionalmente a parte da Química Orgânica que trata do registro da constituição dos metabólitos secundários dos seres vivos, da biossíntese destes compostos e das sínteses e transformações destes produtos. Dentro da Química de Produtos Naturais, a Fitoquímica é a que apresentou um maior desenvolvimento nestes últimos anos, tendo se concentrado na busca de substâncias biologicamente ativas, que pudessem servir de modelo para a síntese ou, ainda, para serem usadas em semi-sínteses.

Nosso grupo de trabalho está envolvido na avaliação fitoquímica de espécies vegetais pertencentes à família Leguminosae em busca de novos constituintes que possam esclarecer a localização do gênero a nível de família, tribo e sub-tribo e na síntese de produtos naturais que possam apresentar algum tipo de atividade biológica.

Este trabalho foi dividido em dois capítulos que estão assim apresentados:

1. - Estudo Fitoquímico do Gênero *Pachyrhizus*.
2. - Tentativa de Síntese da 3-fenilcumarina 9 e do 2-etóxiisoflaveno 130.

# **CAPÍTULO 1**

## **ESTUDO FITOQUÍMICO DO GÊNERO** *Pachyrhizus*

## I - INTRODUÇÃO

A família Leguminosae é uma das maiores famílias dentre as dicotiledôneas, sendo superada apenas pelas Compositae e Orchidaceae<sup>1,2</sup>. As Leguminosae contêm cerca de 650 gêneros com aproximadamente 18.000 espécies. A família Leguminosae é considerada uma das mais importantes do ponto de vista econômico, constituindo uma inestimável fonte de alimentos, através de suas sementes. Várias espécies são usadas como plantas forrageiras, outras são utilizadas como fontes de taninos, resinas e madeiras, bem como substâncias aromatizantes, medicinais e inseticidas<sup>1</sup>.

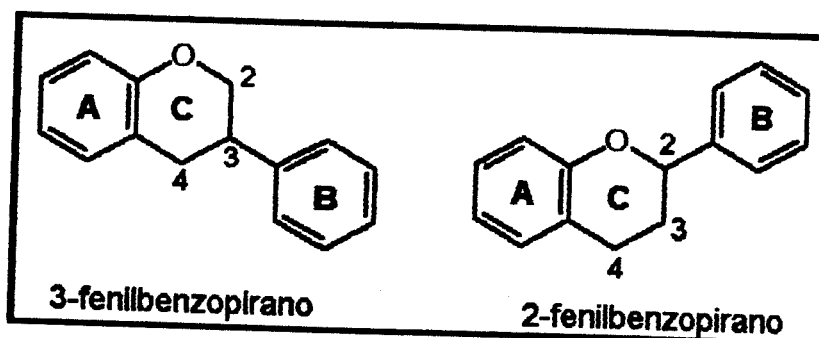
Não há consenso no que diz respeito a sua divisão taxonômica. Normalmente são divididas em 3 subfamílias: Caesalpinoideae (152 gêneros com cerca de 2.800 espécies), Mimosoideae (56 gêneros com aproximadamente 2.800 espécies) e Papilionoideae (440 gêneros e cerca de 12.000 espécies). Algumas vezes são reconhecidas como famílias separadas - Caesalpinaceae, Mimosaceae e Fabaceae (Papilionaceae).

A família Leguminosae é caracterizada por seus frutos serem conhecidos como legumes. Um legume é um fruto deiscente, que se desenvolve a partir de um único carpelo e se desdobra em duas valvas, que envolvem as sementes<sup>1</sup>.

A subfamília Papilionoideae representa o grupo mais evoluído dentro da família Leguminosae e é de distribuição mundial. A maioria dos representantes arbóreos desta subfamília é encontrada nos trópicos e hemisfério sul e os arbustivos e herbáceos em regiões temperadas<sup>1,2</sup>.

Do ponto de vista fitoquímico, a subfamília Papilionoideae caracteriza-se por conter cerca de 90% dos isoflavonóides de origem vegetal até hoje identificados<sup>3</sup>. Apesar da distribuição restrita dos isoflavonóides dentro do reino vegetal, a variação estrutural encontrada nestes produtos naturais é grande, e isto se deve tanto ao número e complexidade de substituintes no sistema 3-fenilbenzopirano, como também aos diferentes níveis de oxidação neste esqueleto básico e à presença de anéis heterocíclicos extras<sup>4</sup>.

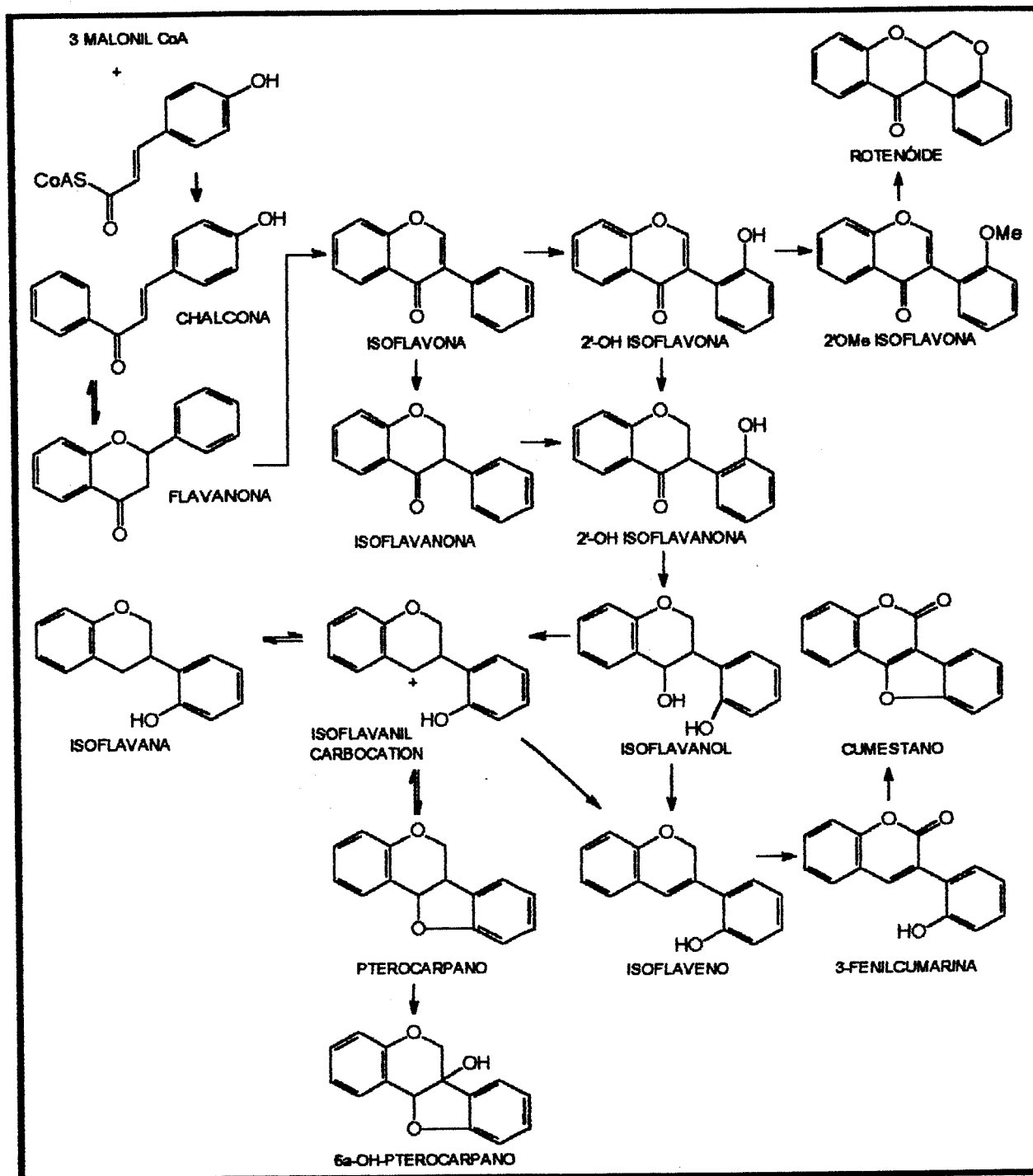
O sistema 3-fenilbenzopirano, em termos estruturais, é constituído por 2 anéis benzênicos (A e B), ligados por uma cadeia de três átomos de carbono que se apresenta ramificada, o que diferencia o isoflavonóide de um flavonóide (apresenta a cadeia de três carbonos na forma linear)<sup>5</sup>.



Do ponto de vista de sua biogênese, os isoflavonóides são constituídos de uma unidade  $C_6$  e uma  $C_9$ . A unidade  $C_6$ , que dá origem ao anel A, é formada pela condensação de três unidades de malonilCoA (com eliminação de três moléculas de  $CO_2$ ), enquanto que a unidade  $C_9$ , que compõe o anel B e os carbonos 2, 3 e 4, é derivada do ácido cinâmico ou um seu derivado oxigenado. A condensação do ácido cinâmico com três moléculas de malonilCoA forma como primeiro intermediário a chalcona, que por ciclização, dá origem à flavanona correspondente, que é modificada em um número limitado de etapas levando aos diferentes tipos de isoflavonóides<sup>6,7,8</sup> (esquema 1).

Os isoflavonóides isolados de plantas são classificados em tipos ou classes, dependendo da sua formação<sup>3</sup>. Podem ocorrer com componentes de tecidos sadios, sendo conhecidos como "constitutivos". Também podem ocorrer em tecidos que foram atacados por organismos bióticos ou abióticos, sendo chamados de "induzidos". Esta última classe, comumente encontrada em Papilionoideae, é produzida como substância de defesa da planta, tem ação antimicrobiana e é conhecida como fitoalexina ou metabólito secundário de plantas com "stress".

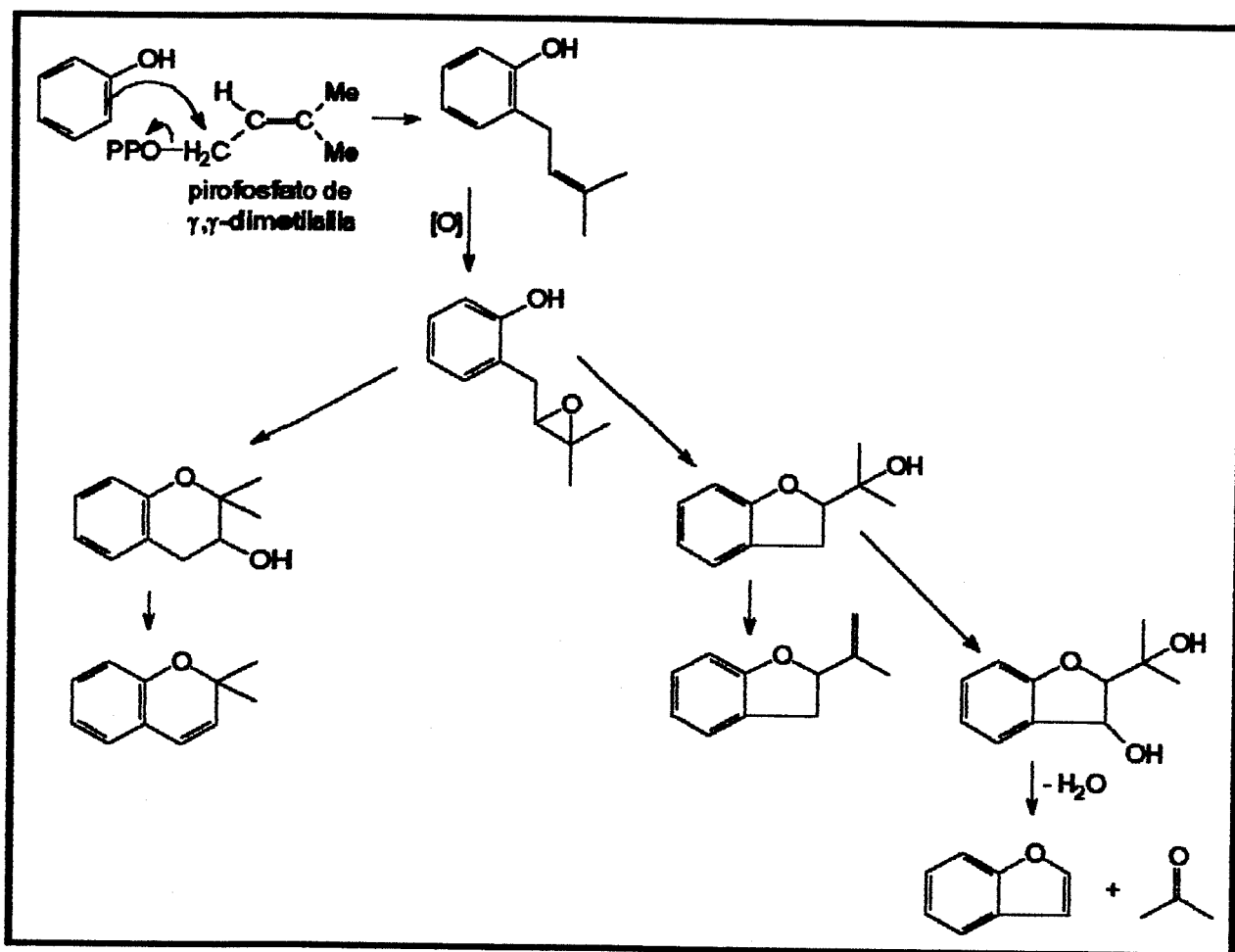




ESQUEMA 1 - Afinidades biossintéticas entre os isoflavonóides.

A subfamília Papilionoideae caracteriza-se por apresentar em suas espécies vegetais, unidades de isopreno nos esqueletos de isoflavonóides e flavonóides. Estas

unidades de cinco átomos de carbono, conhecidas como grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetilalila ou prenila<sup>9</sup>, podem se apresentar sob várias formas modificadas, diferindo no estado de oxidação e também envolvida na formação do anel (furano, dimetilcromeno, isoprenildiidrofurano, etc.) por enlace com uma hidroxila vizinha<sup>10,11,12</sup> (esquema 2).



ESQUEMA 2 - Formação dos substituintes prenilados comumente encontrados em isoflavonóides de Papilionoideae.

No presente trabalho, foi realizado um estudo químico sobre o gênero *Pachyrhizus* Rich. ex DC.<sup>13,14</sup>, pertencente à tribo Phaseoleae, a qual contém cerca de 1500 espécies em aproximadamente 90 gêneros, que estão distribuídos em 8 subtribos *sensu* Hutchinson<sup>15</sup>:

Subtribo 1. Cajaninae	Subtribo 5. Glicininae
Subtribo 2. Diocleinae	Subtribo 6. Ophrestiinae
Subtribo 3. Kenediinae	Subtribo 7. Erythrinae
Subtribo 4. Phaseolinae	Subtribo 8. Clitoriinae

O gênero *Pachyrhizus* (Subtribo Diocleinae) é um legume que contém raiz tuberosa comestível, sendo de fácil cultivo e tendo simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio<sup>16</sup>. As espécies de *Pachyrhizus* apresentam-se como trepadeiras herbáceas, com exceção de *P. ahipa*, que é uma planta semi-ereta, cujas sementes estão contidas em vagens que medem de 8 a 17 cm de comprimento<sup>14,15</sup>.

O gênero contém cinco espécies, *P. erosus* (L.) Urban, *P. ahipa* (Weed) Parodi, *P. tuberosus* (Lam.) Sprengel, *P. ferrugineus* (Piper) Sorensen e *P. panamensis* Clausen, das quais as três primeiras são cultivadas e as outras duas são encontradas na forma nativa. As cinco espécies de *Pachyrhizus* encontram-se distribuídas na América Central e América do Sul<sup>14,15</sup>.

As raízes tuberosas de *P. ahipa* podem pesar até 1 kg e são ingeridas cruas ou cozidas, principalmente na região dos Andes, ao passo que as raízes tuberosas de *P. erosus* são os alimentos favoritos na América Central e sudeste da Ásia e estão se tornando bastante populares nos Estados Unidos como um ingrediente de saladas. *P. tuberosus* é uma planta que chega a atingir 10 m de extensão e suas raízes tuberosas são usadas como as da *ahipa*. As espécies nativas (não cultivadas) de *P. ferrugineus* e *P. panamensis* também apresentam raízes tuberosas, mas não se tem informação se estas são ou não comestíveis<sup>14,16</sup>.

Um número considerável de investigações químicas de várias partes das plantas (com pouquíssimas exceções todos os materiais estudados foram obtidos de uma espécie: *P. erosus*) pode ser contido em dois tópicos: composição nutritiva das raízes tuberosas e ação inseticida ou fungicida das sementes ou folhas<sup>14,16</sup>.

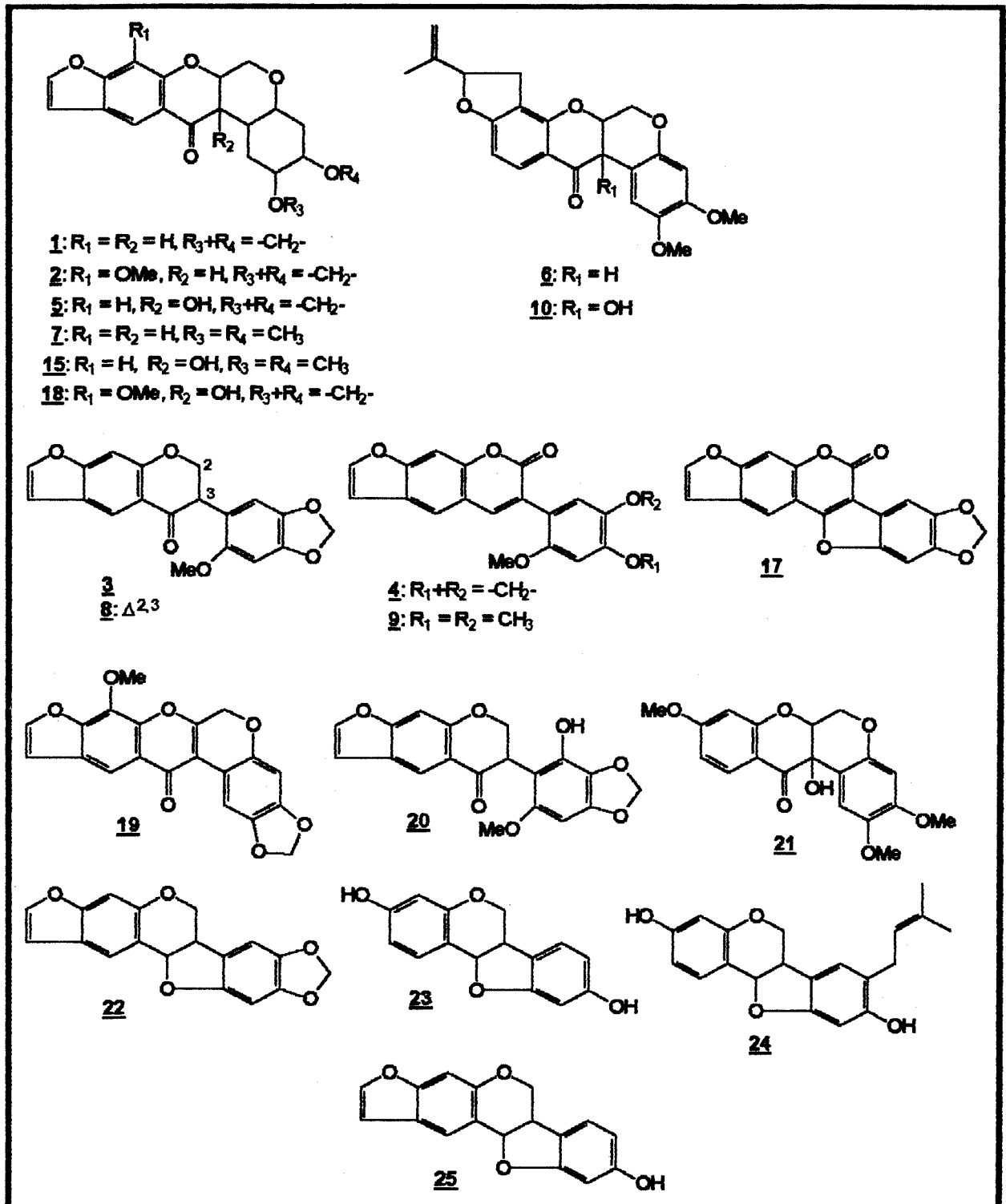
As raízes tuberosas apresentam um grande valor nutritivo, devido ao alto teor de proteínas, aminoácidos, amido e fibras, servindo como fonte alimentar. As sementes, por sua vez, têm um alto teor de óleo, mas não podem ser ingeridas por serem consideradas tóxicas.

Poucas pragas e doenças foram registradas nas espécies de *Pachyrhizus*, indicando que essas espécies possuem vários tipos de resistência. Raramente as partes aéreas são atacadas por insetos e isto se deve à produção de rotenóides, sendo este tipo de resistência mais conhecido e divulgado na literatura<sup>16</sup>.

A revisão bibliográfica feita sobre o gênero *Pachyrhizus* (realizada entre 1945 e 1994) constatou que as plantas desse pequeno gênero produzem basicamente isoflavonóides (Tab. 1, Quadro 1).

Tabela 1 - Levantamento bibliográfico das espécies de *Pachyrhizus* já estudadas.

Espécies	Substâncias Isoladas	Parte da Planta	Autor
<i>P. erosus</i>	<u>4</u> , <u>6</u> , <u>7</u>	sementes	Norton & Hansberry (1945) <sup>17</sup>
<i>P. erosus</i>	<u>2</u>	sementes	Bickel & Schmid (1953) <sup>18</sup>
<i>P. erosus</i>	<u>4</u>	sementes	Simonitsch et al. (1957) <sup>19</sup>
<i>P. erosus</i>	<u>17</u>	sementes	Eisenbeiss & Schmid (1959) <sup>20</sup>
<i>P. erosus</i>	<u>1</u> , <u>2</u> , <u>3</u> , <u>4</u> , <u>5</u> , <u>6</u> , <u>7</u> , <u>8</u> , <u>18</u>	sementes	Krishnamurti et al. (1970) <sup>21</sup>
<i>P. erosus</i>	<u>1</u> , <u>2</u> , <u>3</u> , <u>4</u> , <u>5</u> , <u>6</u> , <u>7</u> , <u>8</u> , <u>10</u> , <u>15</u> , <u>17</u> , <u>18</u> , <u>19</u> , <u>20</u> , <u>21</u>	sementes	Kalra et al. (1977) <sup>22</sup>
<i>P. erosus</i>	<u>22</u> , <u>23</u> , <u>24</u> , <u>25</u>	caules	Ingham (1979) <sup>23</sup>
<i>P. tuberosus</i>	<u>1</u> , <u>3</u> , <u>4</u> , <u>5</u> , <u>6</u> , <u>7</u> , <u>9</u>	sementes	Magalhães et al. (1992) <sup>24</sup>



QUADRO 1: Estruturas das substâncias encontradas em *Pachyrhizus*.

Comparando-se a composição química do gênero *Pachyrhizus* (com apenas 2 espécies já estudadas) com a do pequeno gênero africano *Neorautanenia* (tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolinae), pode-se observar a grande afinidade química entre estes dois gêneros (tabela 2, quadro 2).

Em função desta semelhança, Ingham em 1979<sup>23</sup> propôs que os gêneros *Pachyrhizus* (subtribo Diocleinae - considerada mais primitiva) e *Neorautanenia* (subtribo Glycininae - mais evoluída) fossem colocadas dentro da mesma subtribo; a Glycininae.

Em 1990, Ingham<sup>25</sup> reiterou essa proposta quando usou isoflavonóides no estudo sobre aspectos sistemáticos da formação de fitoalexinas dentro da tribo Phaseoleae. Neste trabalho, 76 espécies vegetais que representam 36 gêneros dessa tribo produziram fitoalexinas após a inoculação do fungo *Helminthosporium carbonum* nas folhas das 76 espécies de plantas.

Como resultado, a pesquisa revelou diferentes tendências na produção de fitoalexinas dentro de Phaseoleae, sendo que as subtribos Diocleinae, Phaseolinae e Glycininae distinguem-se das demais por apresentarem um acúmulo de pterocarpanos (considerados como isoflavonóides mais "avançados" ou "complexos"). Então, a partir dessa premissa Ingham propôs a transferência de *Pachyrhizus* da subtribo Diocleinae para a que pertencia o gênero *Neorautanenia* (subtribo Phaseolinae, de acordo com atual classificação).

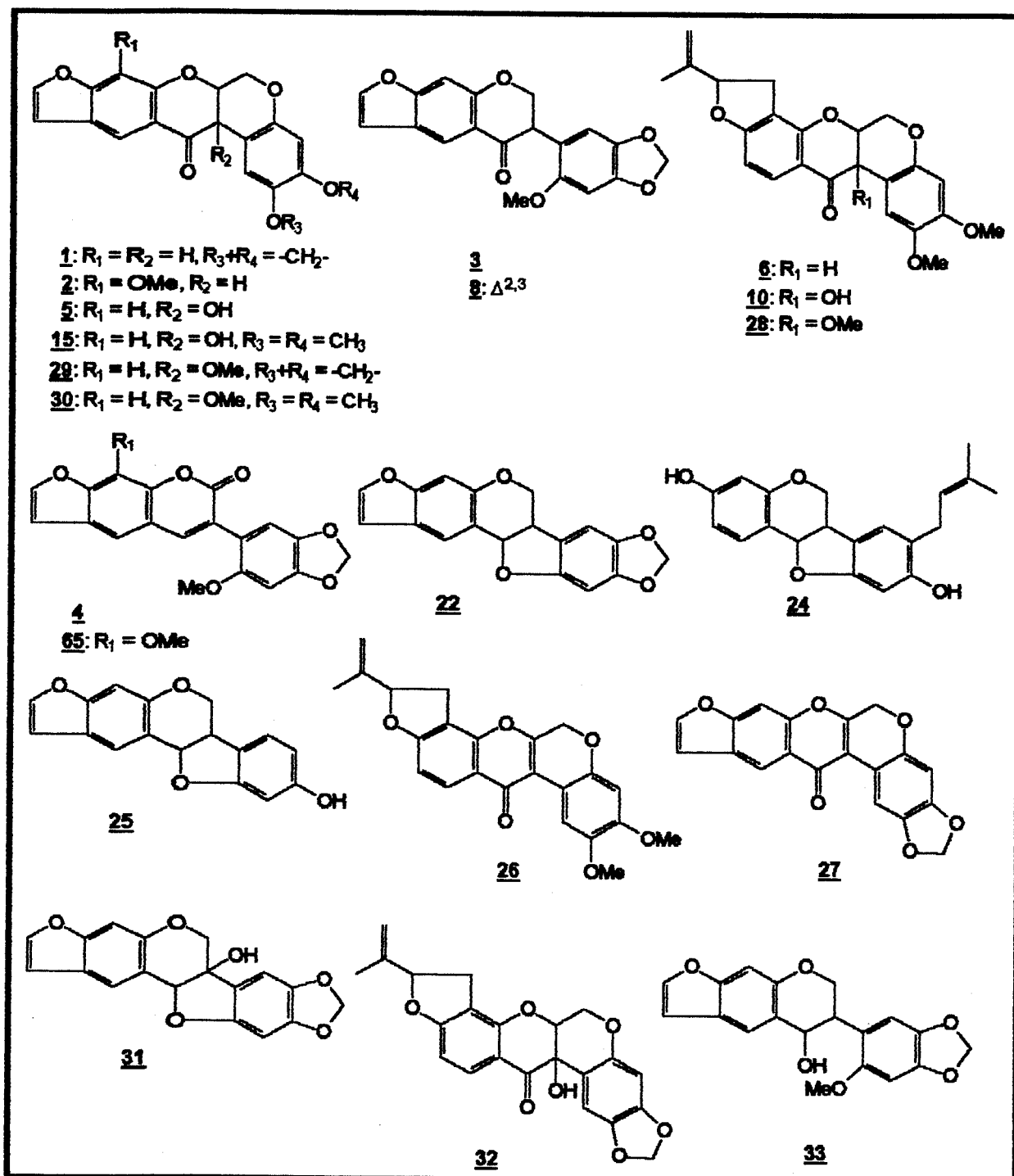
Essa proposta foi contestada por Sorensen em 1990, que diz não estar de acordo não somente devido à presença do aminoácido canavinina nas espécies de Diocleinae, mas principalmente por causa das características morfológicas, cromossômicas e de distribuição geográfica dos gêneros *Pachyrhizus* e *Neorautanenia*.

Apesar da grande diversidade química que se observa em sementes de *P. erosus* e *P. tuberosus* (sementes pretas), é interessante notar a pequena quantidade de pterocarpanos encontrados nestas espécies, ao passo que no gênero *Neorautanenia* eles aparecem com maior predominância do que outros tipos de isoflavonóides. Então, levando esse fator em consideração, além dos já alegados por Sorensen, achamos que não se deve agrupar estes gêneros em uma mesma subtribo.

Além do fato de muitas das substâncias isoladas por nós se tratarem de fitoalexinas, como muito bem caracterizou Ingham, é muito provável que alguns isoflavonóides estivessem contidos nos nossos extratos, na forma de traços e não foram detectados e identificados.

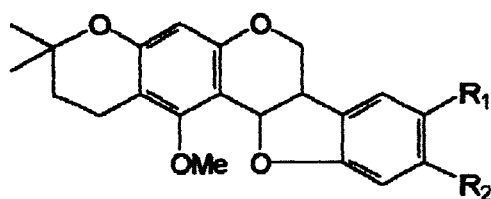
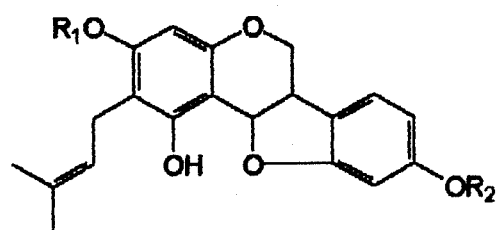
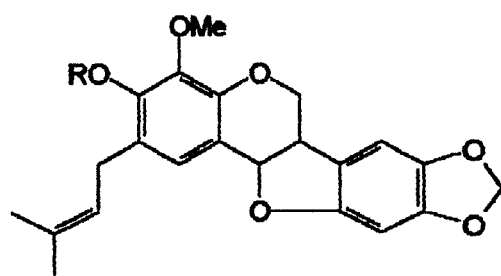
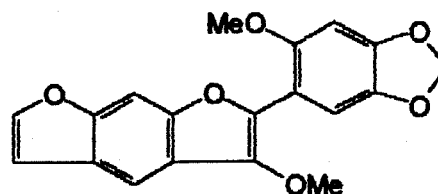
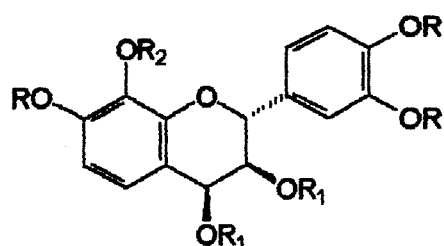
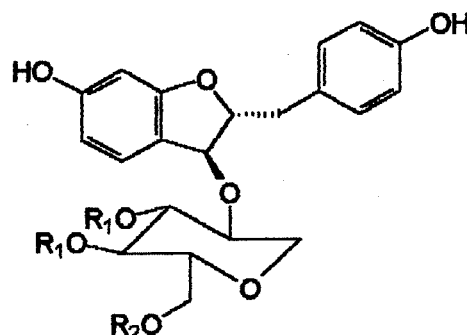
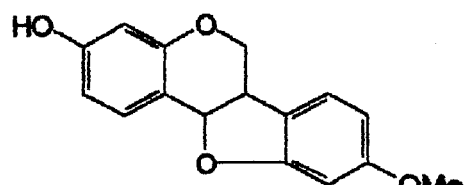
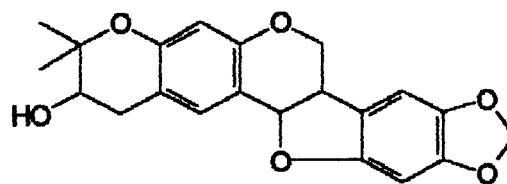
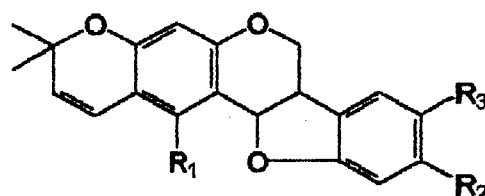
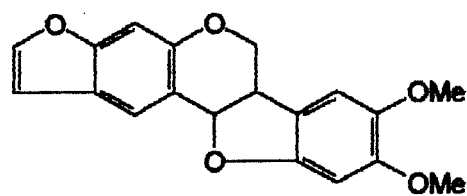
Tabela 2 - Levantamento bibliográfico do gênero *Neorautanenia*.

Espécies	Substâncias Isoladas	Parte da Planta	Referências
<i>N. amboensis</i>	<u>5, 6, 10, 26, 27, 28, 29</u>	raízes	26
	<u>6, 30, 31, 32</u>	raízes	27
	<u>33</u>	raízes	28
	<u>34, 35, 36, 37, 38, 39</u>	cascas das raízes	29
	<u>40</u>	cascas das raízes	30
	<u>41, 42, 43</u>	cascas das raízes	31
	<u>44, 45</u>	cascas das raízes	32
	<u>15, 37, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54</u>	cascas das raízes	33
<i>N. edulis</i>	<u>3, 4, 22</u>	tubérculos	34
	<u>3, 8, 22</u>	raízes	35
	<u>55</u>	raízes	36
	<u>24, 25, 56, 57, 58</u>	raízes	37
	<u>59, 60, 61</u>	cascas das raízes	38
	<u>34, 35, 36, 37, 38, 39</u>	cascas das raízes	29
<i>N. ficifolia</i>	<u>3, 4, 8, 22,</u>	raízes	35
	<u>62, 63, 64, 65, 66</u>	raízes	39
	<u>67</u>	raízes	40
	<u>68</u>	raízes	41
<i>N. mitis</i>	<u>1, 3, 4, 5, 8, 10, 22</u>	raízes	42
<i>N. pseudopachyrhiza</i>	<u>1, 3</u>	raízes	43
	<u>1, 3, 4, 69</u>	raízes	44

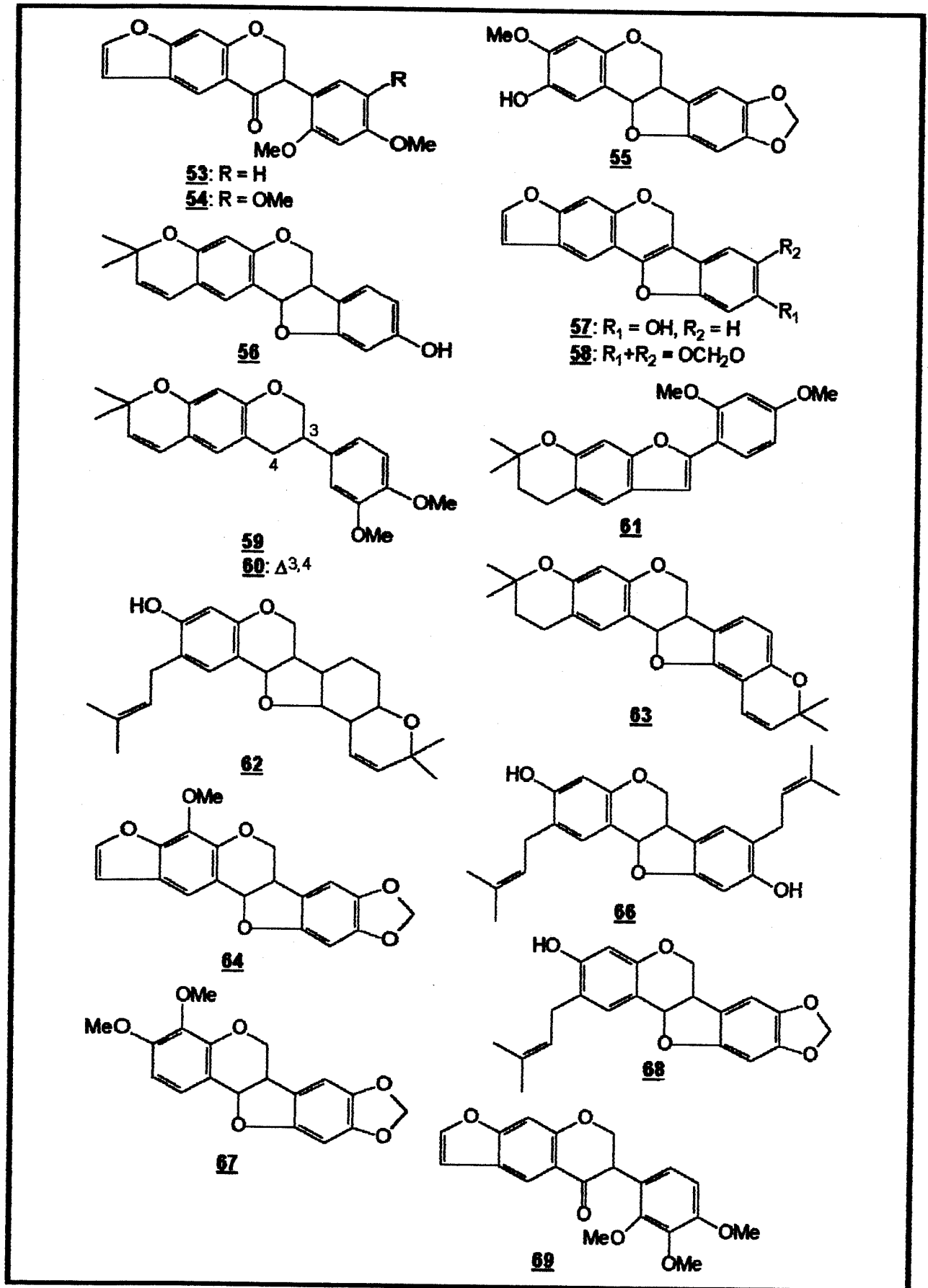


QUADRO 2 - Estruturas dos compostos isolados de *Neorautanenia*.



QUADRO 2 - (Continuação) - Estruturas dos compostos isolados de *Neorautanenia*.**34:**  $R_1 = \text{OMe}, R_2 = \text{H}$ **35:**  $R_1 + R_2 = \text{OCH}_2\text{O}$ **36:**  $R_1 = R_2 = \text{H}$ **37:**  $R_1 = R_2 = \text{Me}$ **38:**  $R = \text{H}$ **39:**  $R = \text{Me}$ **40****41:**  $R = R_1 = R_2 = \text{H}$ **42:**  $R = \text{Me}, R_1 = R_2 = \text{H}$ **43:**  $R = R_1 = \text{Me}, R_2 = \text{H}$ **44:**  $R_1 = R_2 = \text{H}$ **45:**  $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Ac}$ **46****47****48:**  $R_1 = \text{H}, R_2 + R_3 = \text{OCH}_2\text{O}$ **49:**  $R_1 = R_2 = \text{OMe}, R_3 = \text{H}$ **50:**  $R_1 = \text{OMe}, R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$ **51:**  $R_1 = \text{OH}, R_2 + R_3 = \text{OCH}_2\text{O}$ **52**

QUADRO 2 - (Continuação) - Estruturas dos compostos isolados de *Neorautanenia*.



## II - OBJETIVOS DO TRABALHO:

No presente trabalho, retomou-se o estudo do gênero *Pachyrhizus*, que havia sido iniciado em 1986 com uma avaliação química das sementes pretas de *P. tuberosus*, das quais foram isolados e identificados sete isoflavonóides<sup>24</sup>.

Procedeu-se à análise química de três espécies fitoquimicamente inéditas (*P. ferrugineus*, *P. ahipa* e *P. panamensis*), além de duas variedades de *P. tuberosus* (sementes pretas e sementes vermelhas). Para a identificação dos constituintes químicos de *Pachyrhizus*, foram utilizados métodos espectroscópicos.

Também faz parte deste trabalho a análise quantitativa de alguns constituintes químicos presentes nas espécies de *P. ferrugineus* e *P. ahipa*, a qual foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência.

### III - RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Avaliação Fitoquímica de *Pachyrhizus ferrugineus* (Piper) Sorensen

##### Descrição da Planta

A espécie *P. ferrugineus* encontra-se distribuída desde o México até a parte central da Guatemala. Suas sementes maduras são usadas como vermífugo na Guatemala<sup>13,14</sup>.

É uma trepadeira herbácea, com uma porção lenhosa acima da raiz tuberosa, com 1 a 5 m de extensão, contendo vagens largas e longas (0,12-0,13 x 8-13 cm). Raízes tuberosas com até 60 cm de comprimento, caules estriados, eriçados a lisos com pêlos marrons. Folhas subcoreáceas, densamente a escassamente eriçadas, verde-escuras na face superior, folíolos apresentam variações quanto ao contorno. As flores são grandes, azuis a azul-violáceas. As vagens são chatas, duras com pêlos marrons, mesmo maduras, as sementes são achatadas, vermelho-amarronzadas, maiores que as das outras espécies.

*P. ferrugineus* já havia sido citada anteriormente como sendo *P. vernalis*<sup>13</sup>, mas após uma extensiva descrição da espécie *P. ferrugineus* (apresenta uma grande variação morfológica) decidiu-se que *P. vernalis* passaria a ser denominada *P. ferrugineus*.

## Isolamento dos Constituintes das Sementes de *Pachyrhizus ferrugineus*

O extrato em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de *P. ferrugineus* após fracionamento em coluna cromatográfica e processos usuais de purificação, forneceu onze substâncias com estruturas isoflavonoídicas, compreendendo: seis rotenóides, duas 3-fenilcumarinas, uma isoflavanona e duas isoflavonas (uma delas, inédita como produto natural).

A análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  fornece informações muito importantes para definir o tipo do esqueleto das substâncias isoladas, possibilitando, principalmente, a identificação dos prótons e carbonos que compõem o anel C dos isoflavonóides<sup>42,45-49</sup>.

### Rotenóides 1, 2 e 7

Ao se proceder à análise parcial dos espectros de RMN- $^1\text{H}$  das substâncias 1 (PFD-4), 2 (PFD-5 e PFD-6) e 7 (PFD-10) (E.2, E.5 e E.20), identificou-se os sinais dos prótons pertencentes aos anéis B e C de rotenóides, que apareceram na região alifática dos espectros - 3,89  $\delta$  a 5,0  $\delta$  - e que faziam parte de um sistema do tipo ABCD. Este conjunto de sinais constituem-se numa característica desta classe de compostos<sup>50-52</sup> (tabela 3).

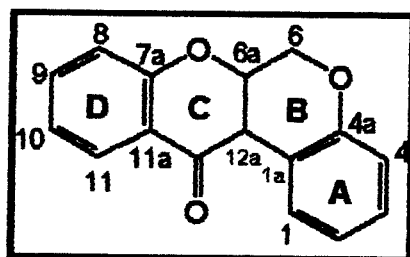


Tabela 3 - Deslocamentos químicos (em ppm) dos prótons dos anéis B/C das substâncias 1, 2 e 7.

Prótons	Substância <u>1</u>	Substância <u>2</u>	Substância <u>7</u>
6ax	4,19 (d, J = 12,0 Hz)	4,20 (dl, J = 12,0 Hz)	4,22 (d, J = 12,0 Hz)
6eq	4,64 (dd, J = 12,0 e 3,2 Hz)	4,70 (dd, J = 12,0 e 3,0 Hz)	4,67 (dd, J = 12,0 e 3,19 Hz)
6a	4,96 (ddd J = 3,9, 1,0 e 3,2 Hz)	5,0 (ddd, J = 4,0, 1,0 e 3,0 Hz)	4,99 (ddd, J = 4,0, 1,0 e 3,0 Hz)
12a	3,89 (d, J = 3,9 Hz)	3,9 (d, J = 3,9 Hz)	3,94 (d, J = 4,0 Hz)

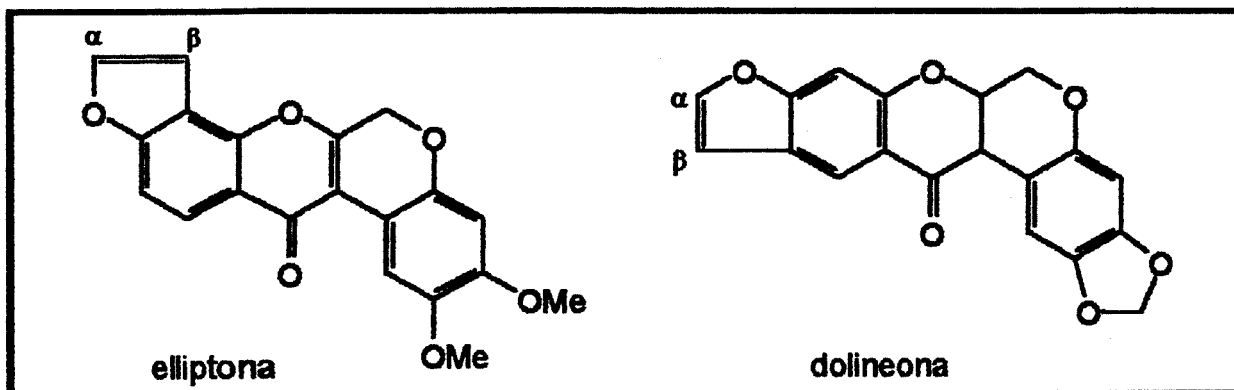
Além desses sinais em comum, as substâncias 1, 2 e 7 também apresentaram sinais coincidentes nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  para dois prótons e dois carbonos olefinicos, respectivamente. Este conjunto de sinais, encontrando-se presente em 9 dos 11 isoflavonóides isolados de *P. ferrugineus*, foi atribuído aos  $\text{C}_\alpha\text{H}_\alpha$  e  $\text{C}_\beta\text{H}_\beta$  do sistema furano<sup>42,48,49</sup> (tabela 4).

Tabela 4 - Deslocamentos químicos (em ppm) dos  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  pertencentes ao sistema furano de 1, 2 e 7.

	Substância <u>1</u>	Substância <u>2</u>	Substância <u>7</u>
H	$\alpha = 7,54$ (d, J = 2,3 Hz)	$\alpha = 7,55$ (d, J = 2,2 Hz)	$\alpha = 7,55$ (d, J = 2,2 Hz)
	$\beta = 6,73$ (dd, J = 2,3 e 1,1 Hz)	$\beta = 6,74$ (d, J = 2,2 Hz)	$\beta = 6,74$ (dd, J = 2,2 e 1,0 Hz)
C	$\alpha = 146,44$ (CH)	$\alpha = 146,08$ (CH)	$\alpha = 146,30$ (CH)
	$\beta = 107,11$ (CH)	$\beta = 107,30$ (CH)	$\beta = 106,97$ (CH)

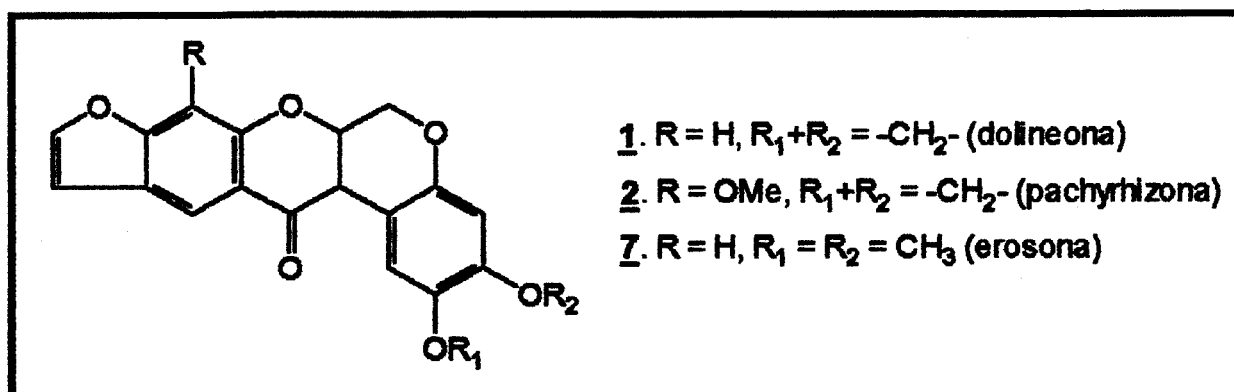
Os outros sinais dos espectros de RMN- $^1\text{H}$  das substâncias 1, 2 e 7 eram referentes a prótons aromáticos, todos do tipo singlete. Isto significava dizer que os prótons não se acoplavam entre si e que, portanto, o anel furano apresentava-se linearmente fundido ao anel D, tendo em vista que os prótons  $\text{H}_1$  e  $\text{H}_4$  (anel A) apareciam na região de 6,7 e 6,4  $\delta$ , respectivamente, o que confirmava o padrão de substituição do anel A de rotenóides substituídos nas posições 2 e 3 por funções oxigenadas<sup>50,52</sup>.

Na natureza, são encontrados rotenóides que apresentam o anel furano fundido ao anel D, tanto na forma angular (como a elliptona)<sup>53</sup> como na forma linear (dolineona). Mas, é interessante observar que somente nos gêneros *Pachyrhizus* e *Neorautanenia* é que se detectou os rotenóides com anéis furanos fundidos linearmente ao anel D<sup>3</sup>.



Para as substâncias 1 e 7 os prótons  $H_{11}$  e  $H_8$  apareciam a 8,2 e 7,0  $\delta$ , respectivamente. A substância 2 apresentava para o próton  $H_{11}$  o sinal para um próton que se encontrava protegido em torno de 0,3  $\delta$  (aparecendo a 7,91  $\delta$ ). Outra característica observada nos espectros de RMN- $^1H$ , foi a presença dos duplo dubletos a 6,74  $\delta$  ( $H_\beta$ ) para as substâncias 1 e 7 e de apenas um dubleto a 6,74  $\delta$  para 2. O duplo dubleto é devido ao acoplamento a longa distância entre os prótons  $H_\beta$  e  $H_8$ . É conhecido como acoplamento do tipo "W"<sup>44,54</sup>. A substância 2 não mostrava no espectro de RMN- $^1H$  o sinal para o próton  $H_8$ , visto que o carbono  $C_8$  encontrava-se substituído por um grupo metoxila, que aparecia no espectro como um singlete a 4,15  $\delta$  (3H).

Para as substâncias 1 e 2 observava-se dois dubletos a 5,80  $\delta$  ( $J = 1,3$  Hz) e 5,86  $\delta$  ( $J = 1,3$  Hz), indicativo da presença do grupo metilenodioxí, ao passo que para 7 encontrou-se dois singletos a 3,77 e 3,81 (para 3H cada) atribuídos a duas metoxilas<sup>46</sup>.



### Rotenóide 5

A substância 5, encontrada na fração PFD-10, também apresentou no espectro de RMN- $^1H$  (E.14) sinais para os prótons  $H_\alpha$  e  $H_\beta$  do anel furano (7,55  $\delta$  (d) e 6,75

$\delta$  (dd) e os sinais para os prótons do grupo metilenodioxí (5,80  $\delta$  (d) e 5,85  $\delta$  (d)), além de 4 singletos na região aromática. Os sinais que apareciam a 6,51 e 6,48  $\delta$  foram atribuídos aos prótons  $H_1$  e  $H_4$ . O singlete largo a 7,02  $\delta$  foi assinalado para o próton  $H_8$  e o sinal a 8,19  $\delta$  era indicativo do próton  $H_{11}$ .

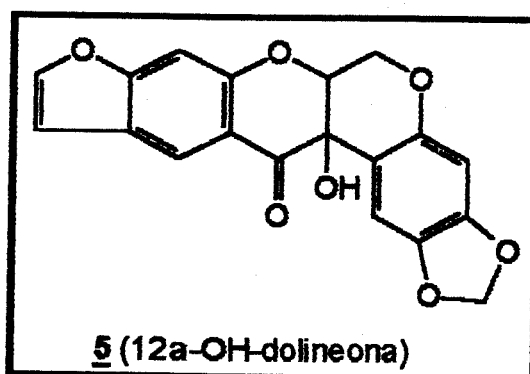
A análise do espectro de RMN- $^1H$  de 5 indicava uma mudança significativa na região de 3,8 a 5,0  $\delta$ , quando se comparava este espectro com os das substâncias 1, 2 e 7. Esta diferença foi atribuída à presença de uma OH ligada ao  $C_{12a}$ <sup>51</sup>, mudando o padrão de acoplamento dos prótons  $H_{6ax}$ ,  $H_{6eq}$  e  $H_{6a}$  e que se apresentaram da seguinte maneira:

$H_{6ax}$ : 4,50  $\delta$ , dd,  $J = 12,0$  e  $2,0$  Hz

$H_{6eq}$ : 4,63  $\delta$ , dd,  $J = 12,0$  e  $2,0$  Hz

$H_{6a}$ : 4,62  $\delta$ , sl

O sinal para o próton da OH aparecia no espectro como um singlete a 4,48  $\delta$ . Este substituinte em  $C_{12a}$  dava uma proteção em torno de 0,35  $\delta$  para o próton  $H_{6a}$ , ao mesmo tempo que desprotegia o próton  $H_{6ax}$  ( $\sim 0,31$   $\delta$ ), quando se comparava os deslocamentos químicos dos prótons dos anéis B/C de 5 com os dos prótons dos anéis B/C de 1, 2 e 7.



A análise dos dados espectrais de RMN- $^{13}C$  das substâncias 1, 2, 5 e 7 (E.3, E.6, E.15, E.21) permitiu-nos estabelecer as características mais significativas das estruturas desses rotenóides (tabela 5).



Tabela 5 - Deslocamentos químicos (em ppm) dos carbonos das substâncias 1, 2, 5 e 7, nos espectros de RMN-<sup>13</sup>C.

Carbonos	Substância <u>1</u>	Substância <u>2</u>	Substância <u>5</u>	Substância <u>7</u>
1	107,06 (CH)*	106,93 (CH)	105,90 (CH)	110,61 (CH)
2	142,59 (C)	142,28 (C)	142,50 (C)	144,10 (C)
3	148,16 (C)	147,88 (C)	149,83 (C)	147,70 (C)
4	99,06 (CH)	98,86 (CH)	99,34 (CH)	99,44 (CH)
6	66,50 (CH <sub>2</sub> )	66,24 (CH <sub>2</sub> )	64,01 (CH <sub>2</sub> )	66,36 (CH <sub>2</sub> )
8	100,20 (CH)	148,55 (C)	100,16 (CH)	101,19 (CH)
9	158,90 (C)	149,70 (C)	158,16 (C)	158,87 (C)
10	123,30 (C)	123,84 (C)	123,50 (C)	123,16 (C)
11	121,23 (CH)	114,02 (CH)	121,21 (CH)	121,08 (CH)
12	190,90 (C=O)	190,73 (C=O)	193,25 (C=O)	190,86 (C=O)
α	146,44 (CH)	146,08 (CH)	146,70 (CH)	146,30 (CH)
β	107,11 (CH)*	107,30 (CH)	107,01 (CH)	106,97 (CH)
1'	101,35 (CH <sub>2</sub> )	101,14 (CH <sub>2</sub> )	101,49 (CH <sub>2</sub> )	-
1a	105,50 (C)	105,15 (C)	109,38 (C)	104,41 (C)
4a	148,70 (C)	148,55 (C)	149,90 (C)	149,83 (C)
6a	72,20 (CH)	72,25 (CH)	76,02 (CH)	72,40 (CH)
7a	160,10 (C)	150,96 (C)	160,48 (C)	159,97 (C)
11a	116,25 (C)	117,12 (C)	114,76 (C)	116,26 (C)
12a	45,36 (CH)	45,18 (CH)	68,42 (C)	44,98 (CH)
2-OMe	-	-	-	56,34 (CH <sub>3</sub> )
3-OMe	-	-	-	55,84 (CH <sub>3</sub> )
8-OMe	-	61,10 (CH <sub>3</sub> )	-	-

\* valores intercambiáveis

O carbono metilênico C<sub>6</sub>, geralmente, aparece no espectro de RMN-<sup>13</sup>C na região de 65,1-66,8 δ, enquanto que os carbonos metínicos sp<sup>3</sup> - C<sub>6a</sub> e C<sub>12a</sub> - absorvem a 71,6-72,2 δ e 43,5-45,3 δ, respectivamente<sup>49,53</sup>. O carbono carbonílico C<sub>12</sub> aparece como o mais desprotegido no espectro, a 186,6-190,5 δ. Esses sinais estavam presentes nos espectros de RMN-<sup>13</sup>C das substâncias 1, 2 e 7 (E.3, E.6, E.21), ao passo que os carbonos C<sub>6</sub>, C<sub>6a</sub>, C<sub>12a</sub> e C<sub>12</sub> de 5 (E.15) apareciam a 64,01, 76,02, 68,42 e 193,25 δ,

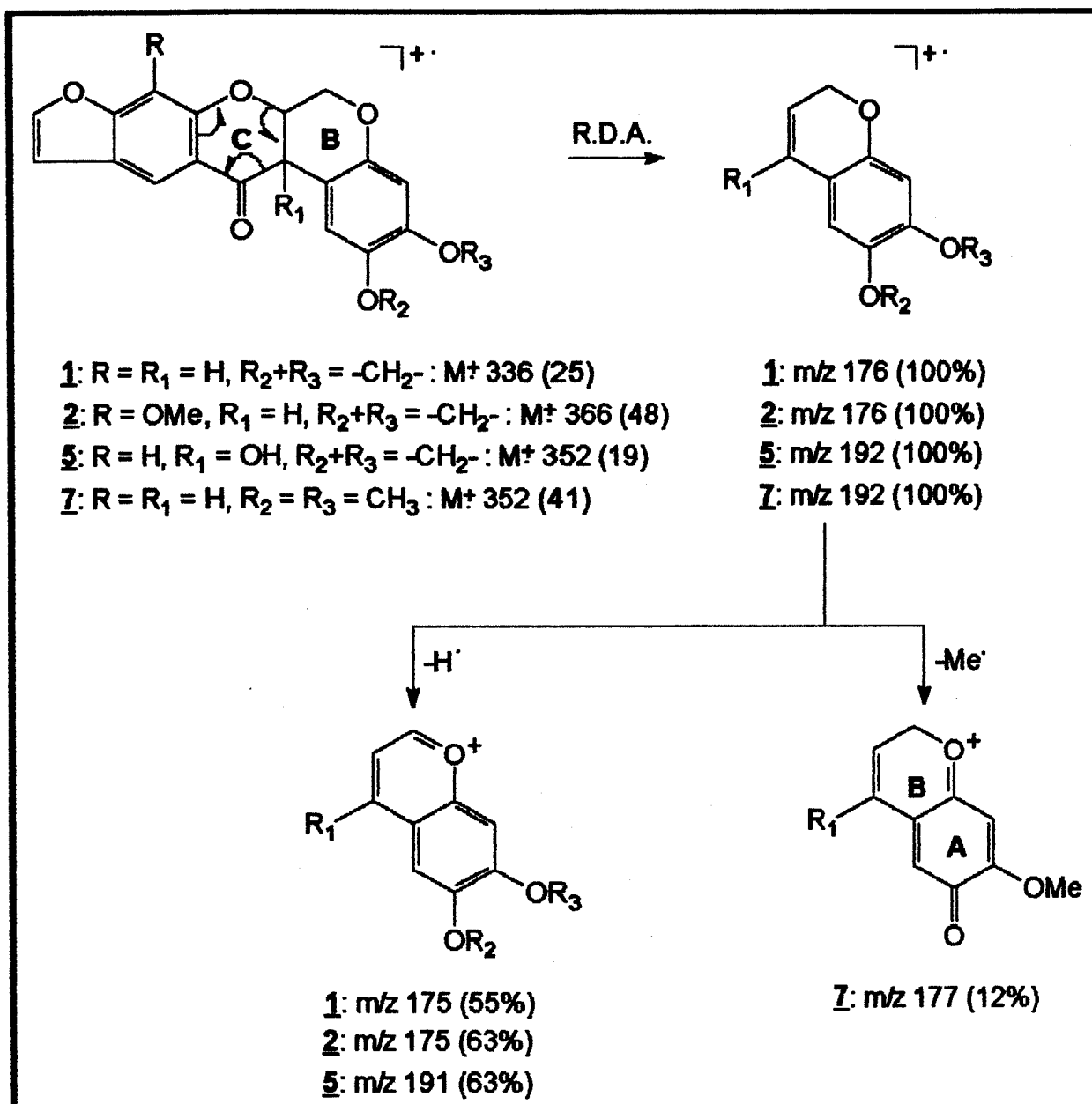
respectivamente, e essa desproteção encontrada para os carbonos C<sub>6a</sub>, C<sub>12a</sub> e C<sub>12</sub> é devida à presença de OH em C<sub>12a</sub>. Esses carbonos compõem a junção dos anéis B e C de rotenóides.

Através da comparação dos espectros obtidos para as substâncias 1, 2, 5 e 7, podemos constatar que o C<sub>1</sub> (sp<sup>2</sup>) no anel A absorvia na faixa de 105,9-107,0 δ para as substâncias 1, 2 e 5, ao passo que para a 7 o C<sub>1</sub> aparecia a 110,61 δ. Isso demonstrava que o grupo OMe em C<sub>2</sub> na substância 7 causava uma desproteção em torno de 4,0 δ, mas para o C<sub>4</sub> das substâncias acima referidas a presença de diferentes substituintes oxigenados em C<sub>3</sub> não provocou mudança no deslocamento de C<sub>4</sub> (98,86-99,44 δ). O C<sub>4</sub> mostrou-se muito protegido por se encontrar *orto* a dois substituintes oxigenados. O carbono quaternário C<sub>1a</sub> (sp<sup>2</sup>) de 1, 2 e 7 apresentou um sinal a 105,50 δ, mostrando-se protegido devido aos efeitos combinados *orto* e *para* dos substituintes oxigenados em C<sub>4a</sub> e C<sub>3</sub>, respectivamente. Para a substância 5, o efeito é menor devido à presença de OH em C<sub>12a</sub>.

Quanto aos sinais referentes aos carbonos sp<sup>2</sup> do anel D, observou-se que para as substâncias 1, 5 e 7 os carbonos C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub> e C<sub>11</sub> absorviam a, aproximadamente, 100,2, 159,5 e 121,0 δ, respectivamente, ao passo que para a substância 2 os carbonos C<sub>8</sub>, C<sub>9</sub> e C<sub>11</sub> absorviam a 148,55, 149,70 e 114,02 δ. A desproteção encontrada para o C<sub>8</sub> da substância 2 em torno de 48 δ é explicada pela presença do grupo OMe, grupo este que é também responsável pela proteção observada para os carbonos C<sub>9</sub> e C<sub>11</sub>, 9,5 e 7,0 δ, respectivamente, devido aos efeitos *orto* e *para* que o grupo OMe exerce sobre estes dois carbonos. Outro carbono do anel D que também apresentou um efeito *orto* de proteção foi o C<sub>7a</sub> de 2, em torno de 10,0 δ.

Os dados espectrais de RMN-<sup>13</sup>C das substâncias 1 e 5 foram compatíveis aos apresentados na literatura<sup>42</sup>, ao passo que os das substâncias 2 e 7 estão sendo relatados pela primeira vez (só foram encontrados dados de RMN-<sup>1</sup>H em 60 MHz)<sup>55,56</sup>.

Os espectros de massa das substâncias 1, 2, 5 e 7 (E.1, E.4, E.13, E.19), apresentaram os fragmentos mais significativos, oriundos do rearranjo do tipo Retro Diels-Alder<sup>57</sup> (esquema 3).

ESQUEMA 3 - Fragmentações propostas para as substâncias 1, 2, 5 e 7.

### 3-fenilcumarina 4

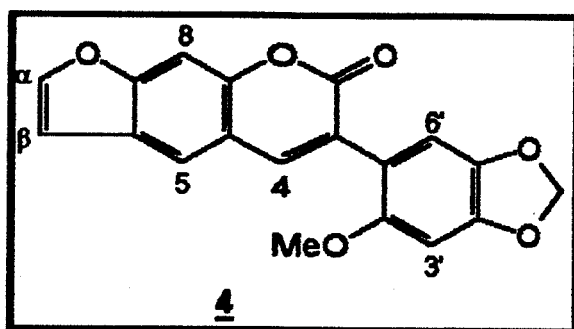
Das frações PFD-8 e PFD-9 obteve-se a substância 4 na forma de cristais amarelos, que apresentava uma fluorescência dourada quando observada sob a luz de lâmpada U.V. a 366 nm.

O seu espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.11) apresentava cinco singletos na região aromática, para cinco prótons, além de dois singletos a 3,77 e 5,97 δ referentes aos prótons dos grupos metoxila e metilenodioxi, respectivamente<sup>46,58</sup>, um dubleto a 7,70 δ (J = 2,19 Hz) e um duplo dubleto a 6,83 δ (J = 2,19 e 1,0 Hz) característicos dos prótons α e β do anel furano<sup>42</sup>.

Os singletos a 7,49 e 7,68 δ foram assinalados para os prótons H<sub>2</sub> e H<sub>5</sub>, estando *para* um em relação ao outro, dando ao anel furano uma fusão do tipo linear com o anel A. Este padrão de substituição do anel A mostrou ser idêntico ao do anel D das substâncias 1, 5 e 7.

Os picos a 6,64 e 6,90 δ, singletos, eram indicativos de dois prótons que não se acoplavam e aos quais atribuiu-se os prótons H<sub>3</sub> e H<sub>6</sub> do anel B, estando este anel substituído nas posições 2', 4' e 5', o que explicava a falta de acoplamento em *orto* ou *meta*.

Restava ainda no espectro de RMN-<sup>1</sup>H um singlete a 7,81 δ e que foi atribuído ao próton H<sub>4</sub> do anel C de uma 3-fenilcumarina<sup>42</sup>.



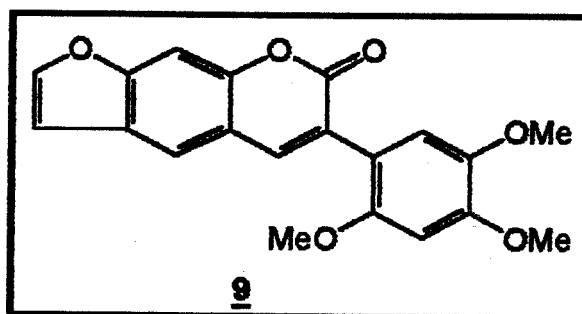
O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.12) apresentou sinais para dois carbonos quaternários sp<sup>2</sup> a 180,31 e 124,01 δ e para um carbono metínico sp<sup>2</sup> a 142,54 δ. Esse conjunto de sinais confirmava a presença dos carbonos C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> do anel C de uma 3-fenilcumarina<sup>49</sup>. Esses e outros sinais estavam compatíveis com os apresentados na literatura para a pachyrhizina, substância isolada anteriormente de *Pachyrhizus*<sup>3,24,42</sup> e *Neorautanenia*<sup>3,42</sup>.

### 3-fenilcumarina 9

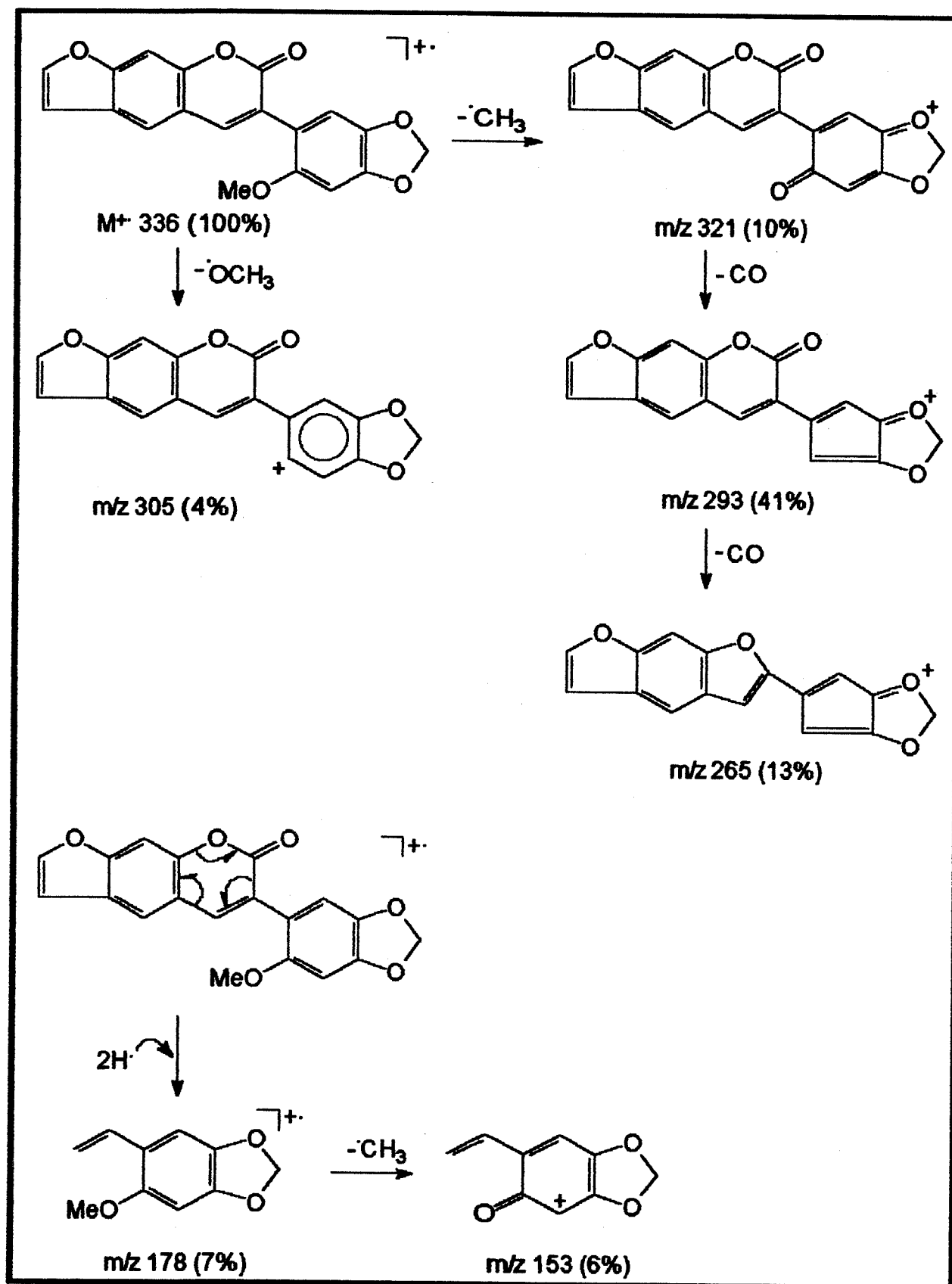
A fração PFD-14.17 forneceu após sucessivas purificações por C.C.P. (eluição contínua com CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2,5%) uma substância cristalina marrom 9, que sob luz U.V. apresentava fluorescência dourada.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.26) apresentou cinco singletos para cinco prótons metínicos aromáticos, praticamente sobreponíveis aos da substância 4, conferindo à substância 9 o esqueleto de outra 3-fenilcumarina, onde o próton H<sub>4</sub> aparecia a 7,86 δ.

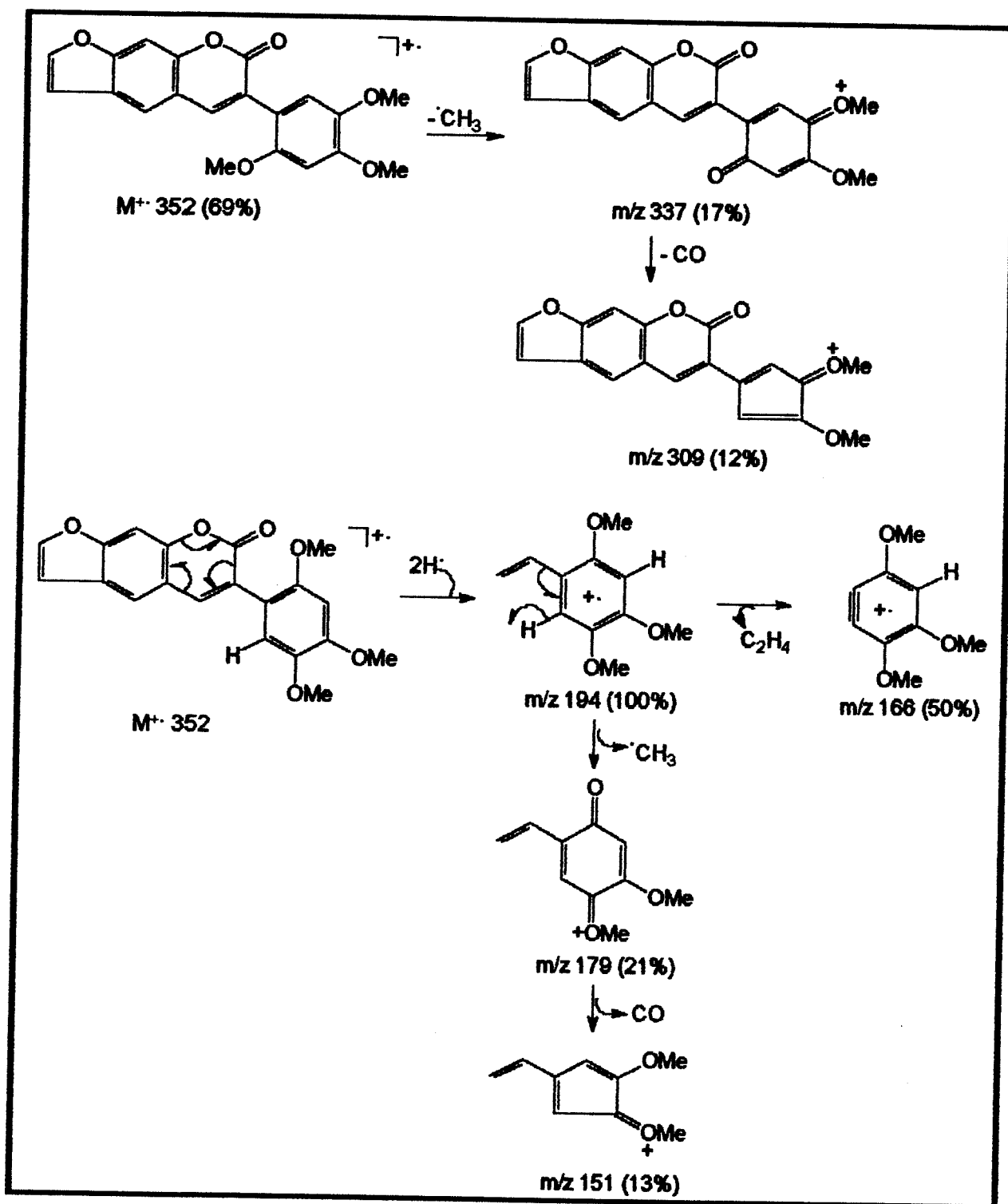
O que as diferenciava eram os substituintes do anel B. A presença de três singletos a 3,82 δ (3H), 3,88 δ (3H) e 3,94 δ (3H) indicou a presença de três grupos metoxilas ligados às posições 2', 4' e 5' do anel B.



A substância 9 foi anteriormente isolada de *P. tuberosus* (sementes pretas)<sup>24</sup>. Nos esquemas 4 e 5 estão representados os principais fragmentos fornecidos pelos espectros de massa para as substâncias 4 e 9 (E.10, E.25).



ESQUEMA 4 - Principais fragmentações propostas para a substância 4.



ESQUEMA 5 - Fragmentações propostas para a substância 9.

## Rotenóides 6 e 10

Das frações PFD-13 e PFD-14.17, após sucessivas purificações por C.C.P., obteve-se os rotenóides 6 e 10.

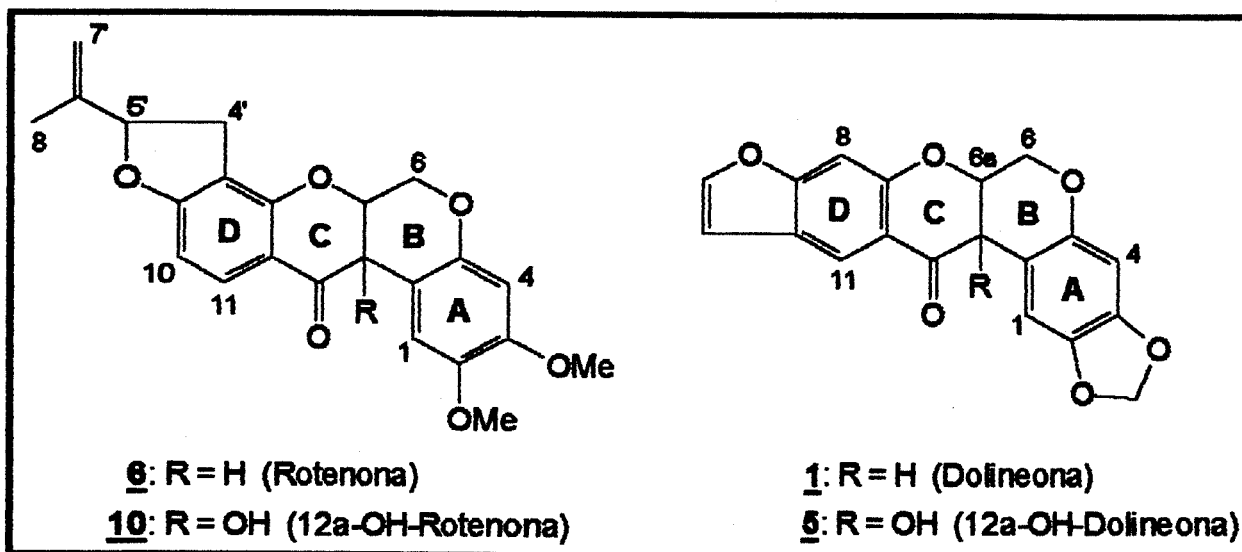
Os espectros de RMN-<sup>1</sup>H dessas substâncias (E.17, E.28) apresentaram sinais que indicavam a presença do grupo isopropenildiidrofurano fundido ao anel D, que apareciam na região alifática do espectro: 2,93 e 3,29  $\delta$  ( $H_4'$ ), 5,24  $\delta$  ( $H_5'$ ), 4,94 e 5,07  $\delta$  ( $H_7'$ ) e 1,77  $\delta$  ( $H_2'$ )<sup>45</sup>. Dois dubletos a 7,82  $\delta$  ( $J = 8,0$  Hz) e 6,53  $\delta$  ( $J = 8,0$  Hz), foram atribuídos aos prótons em *orto* do anel D,  $H_{11}$  e  $H_{10}$ , da substância 6, sendo que para os da substância 10 apareciam a 7,84  $\delta$  ( $J = 8,0$  Hz) e 6,50  $\delta$  ( $J = 8,0$  Hz). A presença de dois prótons em *orto* confirmava a fusão do tipo angular entre o anel isopropenildiidrofurano e o anel D.

Ainda na região alifática dos espectros de RMN-<sup>1</sup>H observou-se a presença de dois singletos, integração para três prótons cada, atribuídos às metoxilas em  $C_2$  e  $C_3$  do anel A, que para a substância 6 apareciam a 3,82 e 3,73  $\delta$ , ao passo que para 10 ocorriam a 3,81 e 3,76  $\delta$ .

Os sinais que caracterizaram a presença dos prótons pertencentes à junção dos anéis B e C no espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 6 apareciam a 4,18  $\delta$  (d,  $J = 12,07$  Hz), 4,61  $\delta$  (dd,  $J = 12,07$  e 3,15 Hz), 4,87  $\delta$  (m) e 3,84  $\delta$  (d,  $J = 4,0$  Hz), e foram assinalados aos prótons  $H_{6ax}$ ,  $H_{6eq}$ ,  $H_{6a}$  e  $H_{12a}$ , respectivamente. Para a substância 10, esses sinais apresentavam-se como multipletos a 4,55  $\delta$ , com uma integração para quatro prótons. Este conjunto de sinais indicou-nos a presença de um grupo hidroxila em  $C_{12a}$ , que alterou os deslocamentos químicos e o padrão de acoplamento dos prótons  $H_{6ax}$ ,  $H_{6eq}$  e  $H_{6a}$ . O próton do grupo hidroxila também encontrava-se a 4,55  $\delta$ .

A presença do grupo hidroxila em  $C_{12a}$  também alterou o deslocamento químico do próton  $H_1$  da substância 10, quando este foi comparado com o da substância 6. Ele aparecia a 6,54  $\delta$  para a substância 10 e a 6,77  $\delta$  para 6, o que indicava uma proteção em torno de 0,23  $\delta$  para o próton  $H_1$  de 10.





Ao compararmos as feições espectrais de RMN-<sup>1</sup>H dos dois grupos de rotenóides, observamos que para os prótons aromáticos do anel D a principal diferença residia no padrão de acoplamento, onde os rotenóides **6** e **10** tinham os prótons H<sub>10</sub> e H<sub>11</sub> acoplando-se em *orto* e apresentavam-se como dois dubletos, ao passo que os rotenóides **1** e **5** mostravam os prótons H<sub>8</sub> e H<sub>11</sub> sem se acoplarem e aparecendo como dois singletos.

Para os prótons que compõem a fusão dos anéis B e C não se verificou diferenças marcantes quanto aos deslocamentos químicos dos prótons H<sub>6ax</sub>, H<sub>6eq</sub>, H<sub>6a</sub> e H<sub>12a</sub> dos rotenóides **6** e **1**, mas para os prótons de **5** e de **10** observou-se diferenças significativas tanto no deslocamentos químicos como também nos acoplamentos (Tabela 6).

Tabela 6 - Deslocamentos químicos (em ppm) dos prótons H<sub>6ax</sub>, H<sub>6eq</sub> e H<sub>6a</sub> das substâncias **10** e **5**.

H	Substância <b>10</b>	Substância <b>5</b>
6ax	4,55 (m)	4,50 (dd, J = 12,0 e 2,0 Hz)
6eq	4,55 (m)	4,63 (dd, J = 12,0 e 2,0 Hz)
6a	4,55 (m)	4,62 (sl)

Quanto aos prótons pertencentes ao anel A, não se observou diferenças nos deslocamentos químicos dos prótons H<sub>1</sub> dos rotenóides **6** e **1**, **10** e **5**. O mesmo se verificou para o próton H<sub>4</sub> (Tabela 7).

Tabela 7 - Deslocamentos químicos (em ppm) dos prótons H<sub>1</sub> e H<sub>4</sub> dos rotenóides 6, 1, 10 e 5.

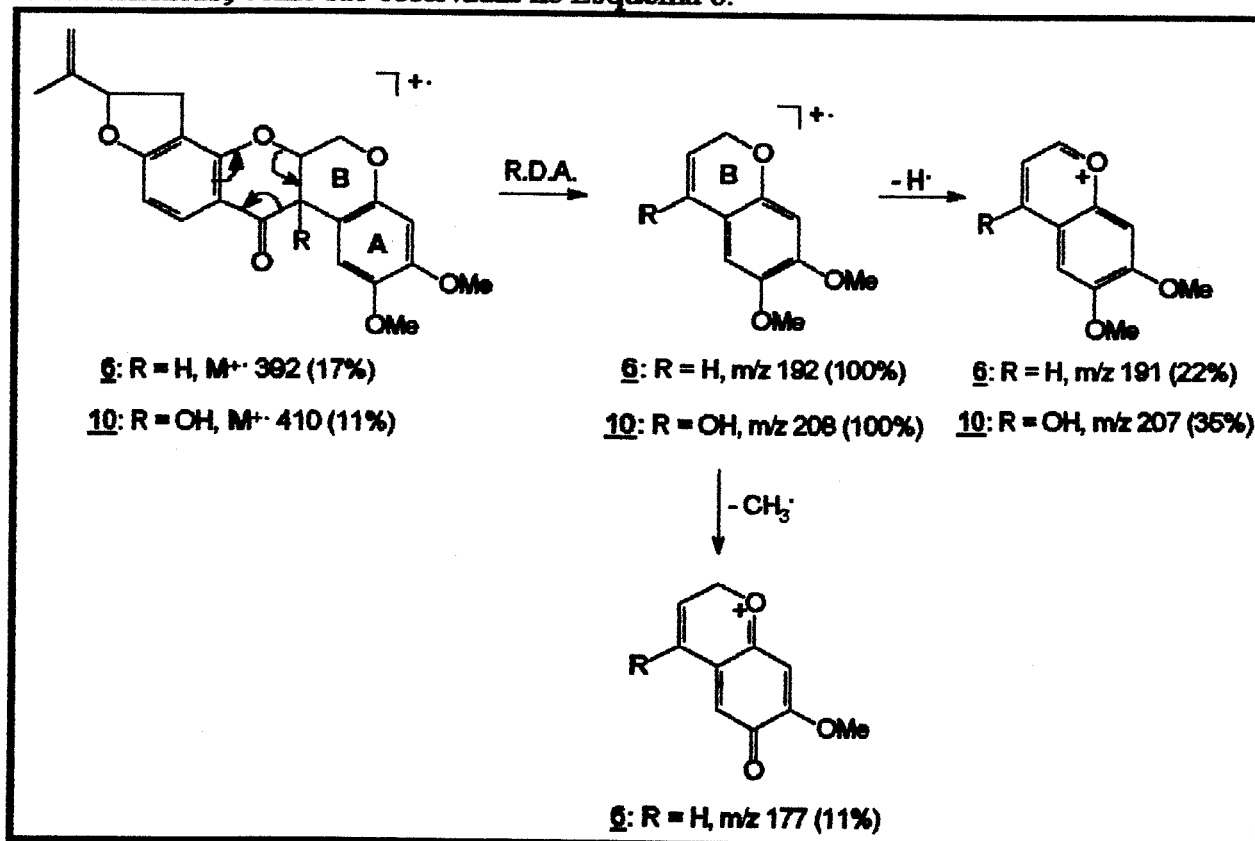
H	Substância <u>6</u>	Substância <u>1</u>	Substância <u>10</u>	Substância <u>5</u>
1	6,77 (s)	6,72 (s)	6,54 (s)	6,51 (s)
4	6,45 (s)	6,44 (s)	6,48 (s)	6,48 (s)

O espectro de RMN-<sup>13</sup>C de 6 (E.18) mostrou os sinais 31,28, 87,83, 143,02, 112,54 e 17,14 δ que caracterizavam a presença dos carbonos C<sub>4'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>, C<sub>7'</sub> e C<sub>8'</sub> do anel isopropenildiidrofurano<sup>49</sup>.

A presença dos sinais a 66,91, 72,22, 188,90 e 44,61 δ confirmava a presença dos carbonos C<sub>6</sub>, C<sub>6a</sub>, C<sub>12</sub> e C<sub>12a</sub> que compõem a junção dos anéis B e C da substância 6.

As substâncias 6 e 10 encontram-se bastante difundidas nas plantas da subfamília Papilionoideae, sendo encontradas nos gêneros *Derris*, *Lonchocarpus*, *Mundulea*, *Neorautanenia*, *Pachyrhizus*, *Piscidia* e *Tephrosia*<sup>3</sup>.

Os espectros de massas de 6 e 10 (E.16, E.27) apresentaram fragmentações características, como são observadas no Esquema 6.



ESQUEMA 6 - Principais fragmentações das substâncias 6 e 10.

### Isoflavanona 3

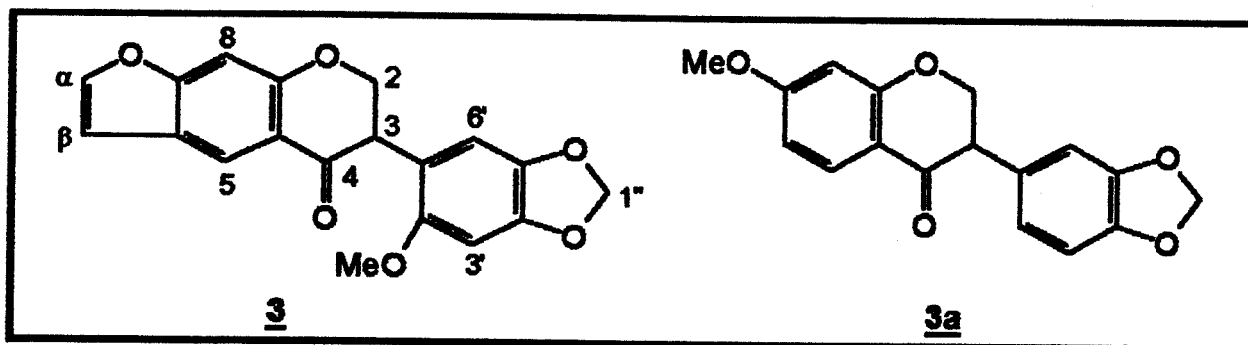
A substância foi isolada da fração PFD-7 após C.C.P. (eluição contínua por 1 hora com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

O seu espectro de RMN- $^1\text{H}$  (E.8) mostrou na região aromática quatro sinais singletos para quatro prótons, o que indicava a presença de prótons que não se acoplavam, além de um duplete a 7,56  $\delta$  ( $J = 2,27$  Hz) e um duplo duplete a 6,75  $\delta$  ( $J = 2,27$  e 0,98 Hz) atribuídos aos prótons  $\text{H}_\alpha$  e  $\text{H}_\beta$  do anel furano. O singlete a 8,22  $\delta$  foi assinalado para o próton mais desprotegido da estrutura 3 por estar *peri* à carbonila<sup>59,60</sup> e a 7,08  $\delta$  para o próton  $\text{H}_g$ . Portanto, o anel furano encontra-se fundido linearmente ao anel A.

Os substituintes do anel B foram identificados como sendo os grupos metoxila e metilenodioxi através dos singletos a 3,74  $\delta$  (3H) e a 5,91  $\delta$  (2H), respectivamente. Os singletos a 6,53 e 6,58  $\delta$  foram assinalados para os prótons  $\text{H}_{3'}$  e  $\text{H}_{6'}$  do anel B. Esse conjunto de sinais definiu a substituição dos carbonos 2', 4' e 5' do anel B, que se encontrava substituído pela metoxila e pelo metilenodioxi.

O padrão de substituição dos anéis A e B da substância 3 já havia sido encontrado nas substâncias 4 e 9.

O que definiu o tipo de esqueleto isoflavonoidico foram os sinais para os prótons que compõem o anel C, que se apresentavam com três duplo dubletos a 4,48  $\delta$  (1H,  $J = 10,9$  e 5,6 Hz), 4,55  $\delta$  (1H,  $J = 11,7$  e 10,9 Hz) e 4,26  $\delta$  (1H,  $J = 11,7$  e 5,6 Hz). Este grupo de sinais foi assinalado para os prótons  $\text{H}_{2ax}$ ,  $\text{H}_{2eq}$  e  $\text{H}_3$ , respectivamente, de uma isoflavanona<sup>42,61</sup>.



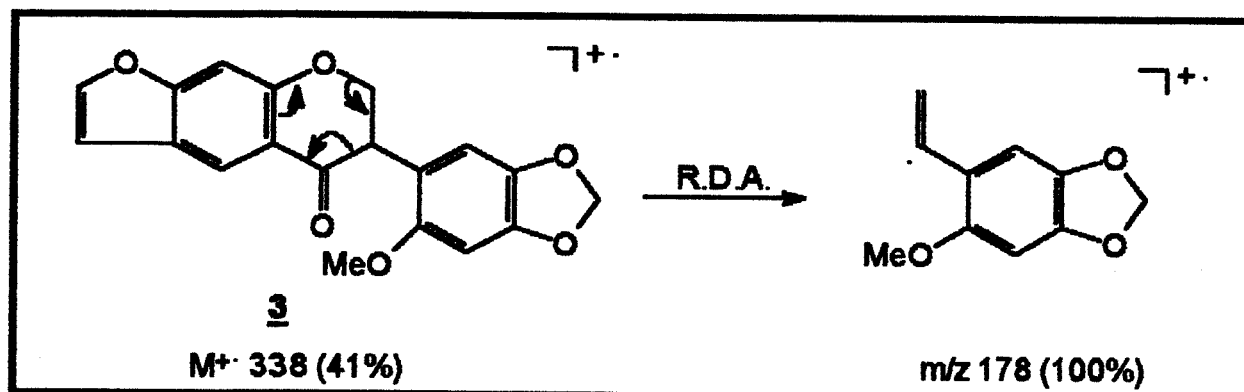
O espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (E.9) de 3 apresentou para o anel heterocíclico os sinais a 71,5, 48,27 e 192,07  $\delta$  para um carbono oximetilênico ( $\text{C}_2$ ), um metínico  $\text{sp}^3$  ( $\text{C}_3$ ) e um carbonílico ( $\text{C}_4$ )<sup>42</sup>. Estes sinais são comparáveis aos do modelo 3a<sup>49</sup>, que estão presentes na Tabela 8.

Tabela 8 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos carbonos 2, 3 e 4 da substância 3 e do modelo 3a.

Carbono	Substância <u>3</u>	Substância <u>3a</u>
2	71,30	71,8
3	48,27	51,4
4	192,07	190,7

Tanto estes sinais como os encontrados para os outros carbonos de 3 estavam compatíveis com os apresentados para os carbonos de neotenona, uma isoflavanona que ocorre nas espécies de *Pachyrhizus*<sup>21,24,42</sup> e *Neorautanenia*<sup>34,35,42</sup>.

O espectro de massa (E.7) mostrou apenas um fragmento, além do pico molecular.



### Isoflavona 8

A fração PFD-13 após purificação por C.C.D. (eluição contínua por 4 horas com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) forneceu a substância 8, que se apresentou como cristais marrons.

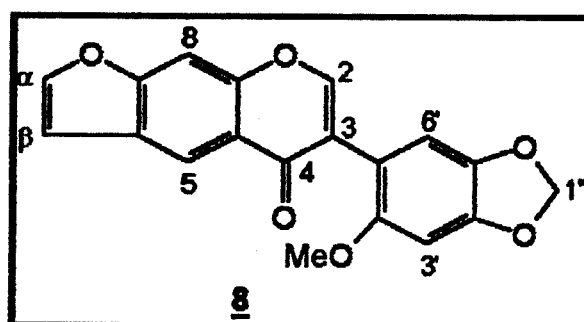
O espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 8 (E.23) mostrava na região aromática a presença de 5 sinais singletos com integração para 5 prótons, o que nos indicou que o padrão da substituição desta substância era igual ao das 3-fenilcumarinas 4 e 9 e da isoflavanona 3.

Dois singletos, um a 3,74  $\delta$  (3H) e outro a 5,97  $\delta$  (2H), foram assinalados para os prótons dos grupos metoxila e metilenodioxí. O dubleto a 7,73  $\delta$  (J = 2,3 Hz) e o duplo dubleto a 6,92  $\delta$  (J = 2,3 e 0,97 Hz) eram indicativos da presença dos prótons H <sub>$\alpha$</sub>  e H <sub>$\beta$</sub>  do anel furano.

Os prótons  $H_{3'}$  e  $H_{6'}$  apresentaram seus sinais a 6,65 e 6,86  $\delta$ . Para o próton  $H_2$  foi assinalado o pico a 7,58  $\delta$ . O sinal situado em campo mais baixo do espectro, a 8,54  $\delta$ , foi atribuído ao próton  $H_5$  por se encontrar *peri* à carbonila<sup>59,60</sup>.

A definição do tipo de esqueleto para o isoflavonóide **8** foi dada pelo sinal a 7,99  $\delta$  (1H), singlete, característico do próton  $H_2$  de isoflavonas<sup>46,62</sup>.

As substâncias **3** e **8** apresentaram-se com os mesmos substituintes nos anéis A e B, diferindo-se apenas quanto ao estado de oxidação do anel C.



O anel heterocíclico C de isoflavonas é constituído de um carbono metínico oxiolefínico ( $C_2$ ), carbono quaternário  $sp^2$  ( $C_3$ ) e um carbono carbonílico ( $C_4$ ). Eles absorvem geralmente entre 150,6-155,4, 122,0-126,1 e 174,2-181,2  $\delta$ , respectivamente, no espectro de RMN-<sup>13</sup>C<sup>49,63-65</sup>.

O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.24) de **8** apresentou os sinais a 154,75, 121,08 e 176,65  $\delta$  que confirmaram a presença dos carbonos  $C_2$ ,  $C_3$  e  $C_4$  do anel C de isoflavona.

Quando se comparou nos espectros de RMN-<sup>13</sup>C das substâncias **3**, **4** e **8** os deslocamentos dos carbonos  $C_{2'}$ ,  $C_{4'}$  e  $C_{5'}$ , observou-se que apareciam sempre em torno de 152,0, 148,0 e 142,0  $\delta$ , respectivamente. Dentre estes três carbonos quaternários  $sp^2$ , o  $C_{2'}$  foi o que mais se encontrava desprotegido por estar próximo à carbonila, enquanto que o  $C_{5'}$  era o mais protegido devido às presenças dos substituintes oxigenados em *orto* e *para*.

A região aromática do espectro de **8** ainda mostrou sinais para quatro carbonos metínicos  $sp^2$  a 95,49, 99,83, 111,28  $\delta$  e 118,99  $\delta$ , que foram atribuídos aos carbonos  $C_{3'}$ ,  $C_8$ ,  $C_{6'}$  e  $C_5$ . O carbono  $C_5$  era o mais desprotegido por se encontrar *peri* à carbonila.

Os carbonos dos grupos metoxila e metilenodioxí apareciam a 55,88 e 101,40  $\delta$ , enquanto que os do grupo furano absorviam a 147,45  $\delta$  ( $C_{\alpha}$ ) e 107,05  $\delta$  ( $C_{\beta}$ ).

A substância **8** já havia sido encontrada em *Pachyrhizus erosus*<sup>21,22</sup>, é conhecida como deidroneotenona, mas ainda não tem dados de RMN-<sup>13</sup>C relatados na literatura.

## Isoflavona 11

O último isoflavonóide isolado de *P. ferrugineus* era o que tinha o menor valor de Rf dentre os que se observou em uma placa de C.C.D.. Foi isolado da fração PFD-19 após sucessivas C.C.P. (eluição com CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2%). Apresentava-se puro na análise qualitativa em C.C.D., mas os cristais amarelo-escuros mostraram-se impuros quando se procedeu à leitura do seu ponto de fusão.

A maioria dos isoflavonóides apresenta no espectro de U.V. dois máximos de absorção principais, um dos quais ocorre na região de 240-285 nm (banda II) e outro em 300-400 nm (banda I)<sup>47</sup>. A banda I é atribuída à conjugação existente no sistema cinamóila da molécula (associada ao anel B) e a banda II é atribuída ao sistema benzoila (associada ao anel A). No caso de isoflavonas, não existe conjugação entre os dois sistemas aromáticos (anéis A e B), o que justifica a presença de absorções referentes somente à banda II, e que aparece na faixa de 240-280 nm<sup>47</sup>.

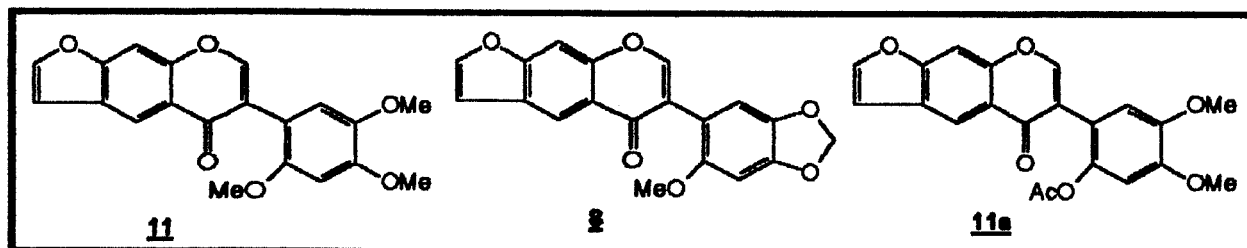
A substância 11 apresentou no seu espectro de U.V. (E.30) absorções máximas a 298,0 nm (4,12) e 237,5 nm (4,54) e foram atribuídas às absorções da banda II de uma isoflavona.

O seu espectro de I.V. (E.31) mostrou, entre outras, as seguintes absorções: 1636,0 cm<sup>-1</sup> (carbonila  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha'$ ,  $\beta'$  - insaturada), 1611,0 e 1524,7 (anel aromático)<sup>54,66</sup>.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 11 (E.32) apresentou na região aromática cinco singletos referentes a cinco prótons, além do dubleto a 7,74  $\delta$  ( $J = 2,3$  Hz) e do duplo dubleto a 6,92  $\delta$  ( $J = 2,3$  e 0,93 Hz) atribuídos aos prótons H <sub>$\alpha$</sub>  e H <sub>$\beta$</sub>  do anel furano.

O singlete a 8,05  $\delta$  indicou a presença do próton H<sub>2</sub> do anel C de isoflavona, e os singletos a 7,59 e 8,56  $\delta$  foram atribuídos aos prótons H<sub>8</sub> e H<sub>5</sub>, respectivamente, e confirmaram a fusão linear do anel furano com o anel A. Esses sinais eram praticamente idênticos aos encontrados para a substância 8 e o modelo 11a<sup>67</sup> (tabela 9).

Os picos a 6,64 e 6,97  $\delta$  foram assinalados para os prótons H<sub>3'</sub> e H<sub>6'</sub>, confirmando para o anel B a substituição nas posições 2', 4' e 5' por substituintes oxigenados. A presença dos singletos, agudos e intensos a 3,79  $\delta$  (3H), 3,87 (3H) e 3,94  $\delta$  (3H) foi indicativo de três metoxilas ligadas ao anel B.

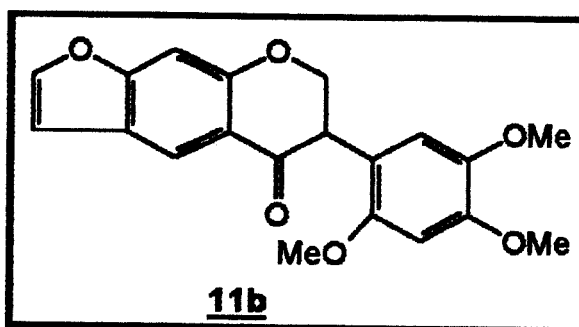
Tabela 9 - Deslocamentos químicos dos prótons ( $\delta$ ) das substâncias 11 e 8 e do modelo 11a.

Próton	Substância <u>11</u>	Substância <u>8</u>	Substância <u>11a</u>
2	8,05 (s)	7,99 (s)	7,94 (s)
5	8,56 (s)	8,54 (s)	8,55 (s)
8	7,59 (s)	7,58 (s)	7,59 (sl)
3'	6,64 (s)	6,65 (s)	6,73 (s)
6'	6,97 (s)	6,86 (s)	6,89 (s)
$\alpha$	7,74 (d, J = 2,3 Hz)	7,73 (d, J = 2,3 Hz)	7,75 (d, J = 2,5 Hz)
$\beta$	6,92 (dd, J = 2,3 e 0,93 Hz)	6,92 (dd, J = 2,3 e 0,93 Hz)	6,90 (dd, J = 2,5 e 1,0 Hz)
OMe	3,94 (s)	-	3,90 (s)
OMe	3,87 (s)	-	3,90 (s)
OMe	3,79 (s)	3,74 (s)	(AcO) 2,13 (s)
1"	-	5,97 (s)	-

A análise do espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  da substância 11 (E.33) confirmou a presença do anel heterocíclico C de isoflavona ao apresentar os sinais a 154,87, 120,96 e 177,06  $\delta$  referentes aos carbonos  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$ , e  $\text{C}_4$ <sup>49,63-65</sup>.

Os picos a 56,99, 56,68 e 56,29  $\delta$  foram atribuídos às metoxilas ligadas aos carbonos do anel B. Este conjunto de sinais definiu a diferença que existia entre os espectros de RMN- $^{13}\text{C}$  das substâncias 11 e 8, que para os demais carbonos apresentaram sinais praticamente sobreponíveis.

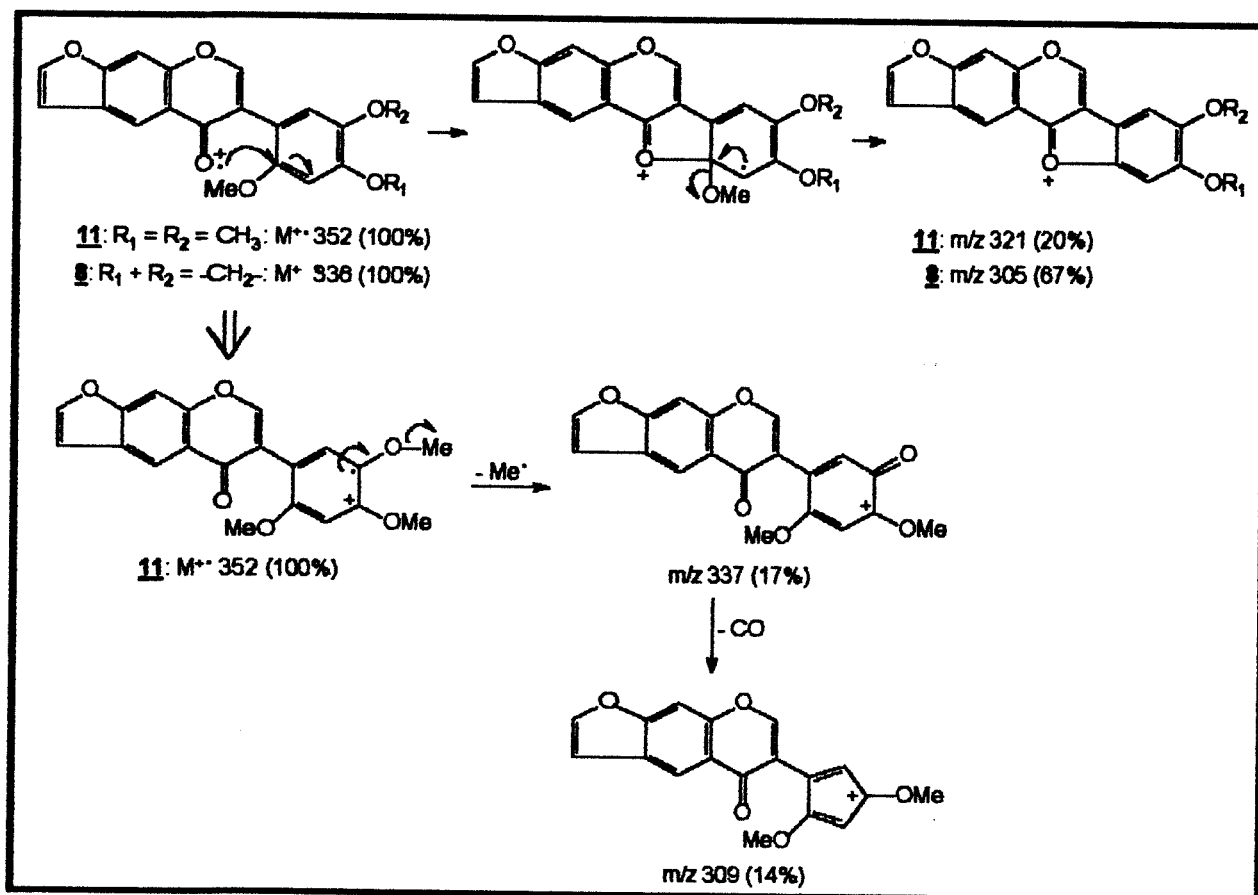
A isoflavona 11 está sendo relatada pela primeira vez como um produto natural, mas em 1965 foi sintetizada por Fukui e colaboradores<sup>68</sup>. Dela só foram apresentados os dados espectrais de U.V. e I.V.. A isoflavanona correspondente (11b) foi isolada de *Neorautanenia amboensis*<sup>33</sup>.



Em *P. ferrugineus* as estruturas das 3-fenilcumarinas 4 e 9, da isoflavanona 3 e das isoflavonas 8 e 11 apresentaram um mesmo padrão de substituição tanto para o anel A como para o anel B e diferenciando-se apenas quanto ao tipo de anel heterocíclico C, que se apresentou tanto em sua forma oxidada (isoflavonas e 3-fenilcumarinas) como na forma reduzida (isoflavanona).

Os espectros de massa das isoflavonas 8 e 11 (E.22 e E.29) apresentaram o íon molecular ( $M^+$ ) com intensidade relativa de 100% e outras fragmentações que geraram picos de baixa intensidade relativa, como o da perda do grupo 2'-OMe que deu origem ao íon oxônio, típico de isoflavonas substituídas em  $C_2'$  por este grupo<sup>69</sup> (Esquema 7).



ESQUEMA 7 - Principais fragmentações propostas para as substâncias **11** e **8**.

## **Avaliação Fittoquímica de *Pachyrhizus tuberosus* (Lam.) Sprengel**

### **Descrição da Planta**

A espécie *P. tuberosus* é uma planta nativa das Américas Central e do Sul (da bacia do rio Amazonas)<sup>13,14</sup>.

É uma trepadeira herbácea, sendo a maior dentro do gênero, chegando a ter acima de 10 m de extensão, com raízes tuberosas. As vagens são as mais compridas dentre todas as espécies (13-19 cm x 0,14-0,23 cm), caules estriados, folhas parcialmente eriçadas e folíolos inteiros com contornos uniformes, flores grandes, azuis claras e brancas. Vagens alongadas, eriçadas a pilosas quando verdes e glabrasas quando maduras, as sementes são arredondadas, apresentando-se nas cores pretas, vermelhas ou matizadas de preto e branco.

## Isolamento dos Constituintes das Sementes Vermelhas de *Pachyrhizus tuberosus*

O extrato em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  das sementes de *P. tuberosus* foi fracionado em coluna cromatográfica e após purificação por C.C.P. forneceu oito substâncias que foram identificadas como isoflavonóides, tais como: um isoflaveno, quatro rotenóides, uma isoflavanona, uma 3-fenilcumarina e uma isoflavona.

### Isoflaveno 12

Das sementes de *P. tuberosus* foram obtidas as substâncias 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 e 12. A substância 12 é inédita e estruturalmente relacionada à pachyrhizina (4). Foi obtida da fração PTV-6.7, após a C.C.P. (eluição contínua por uma hora com  $\text{CHCl}_3$ ), e ocorria como um óleo amarelo.

O espectro de U.V. (E.35) apresentou absorções máximas a 333,5 (3,95), 288,5 (3,45) e 240,8 (4,26) nm, que caracterizaram a presença das bandas I (conjugação do sistema cinamoila) e II (conjugação do sistema benzoila)<sup>47</sup>.

O espectro de I.V. (E.36) mostrou absorções a 1627,9, 1504,3, 1486, 1464,0  $\text{cm}^{-1}$  (C=C), 1126,9  $\text{cm}^{-1}$  (C-O-C), 908,7  $\text{cm}^{-1}$  (C=C-H). Este espectro indicava também a ausência da absorção para o grupo carbonila.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.37) apresentou um singlete a 5,97  $\delta$  (1H), que indicava um próton ligado a um carbono  $\text{sp}^3$  fortemente desprotegido, além dos sinais a 3,69  $\delta$  (1H, dq,  $J = 7,5$  Hz), 3,91  $\delta$  (1H, dq,  $J = 7,5$  Hz) e 1,16  $\delta$  (3H, t,  $J = 7,5$  Hz) que faziam parte de um padrão complexo do tipo ABX<sub>3</sub> e que pertenciam ao grupo etoxila<sup>70</sup>. Os prótons metilênicos são diastereotópicos, aparecendo com deslocamentos químicos diferentes e acoplando-se entre si e com os prótons metílicos (Figura 1). O sinal a 5,97  $\delta$  foi, portanto, atribuído ao próton H<sub>2</sub>.

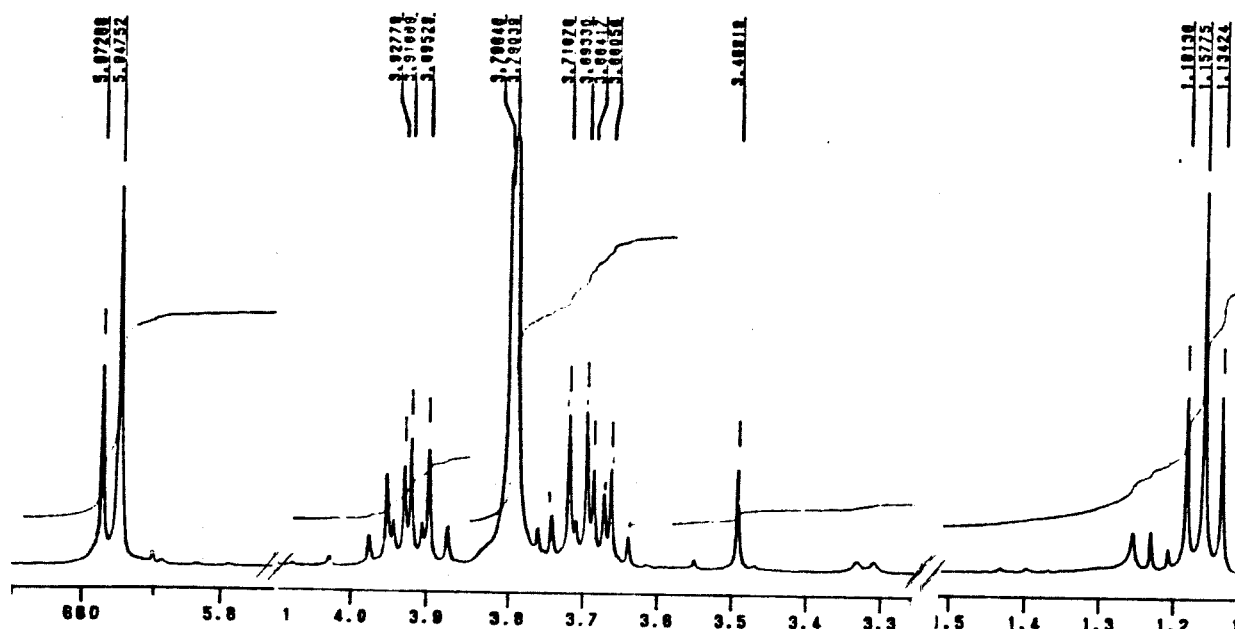
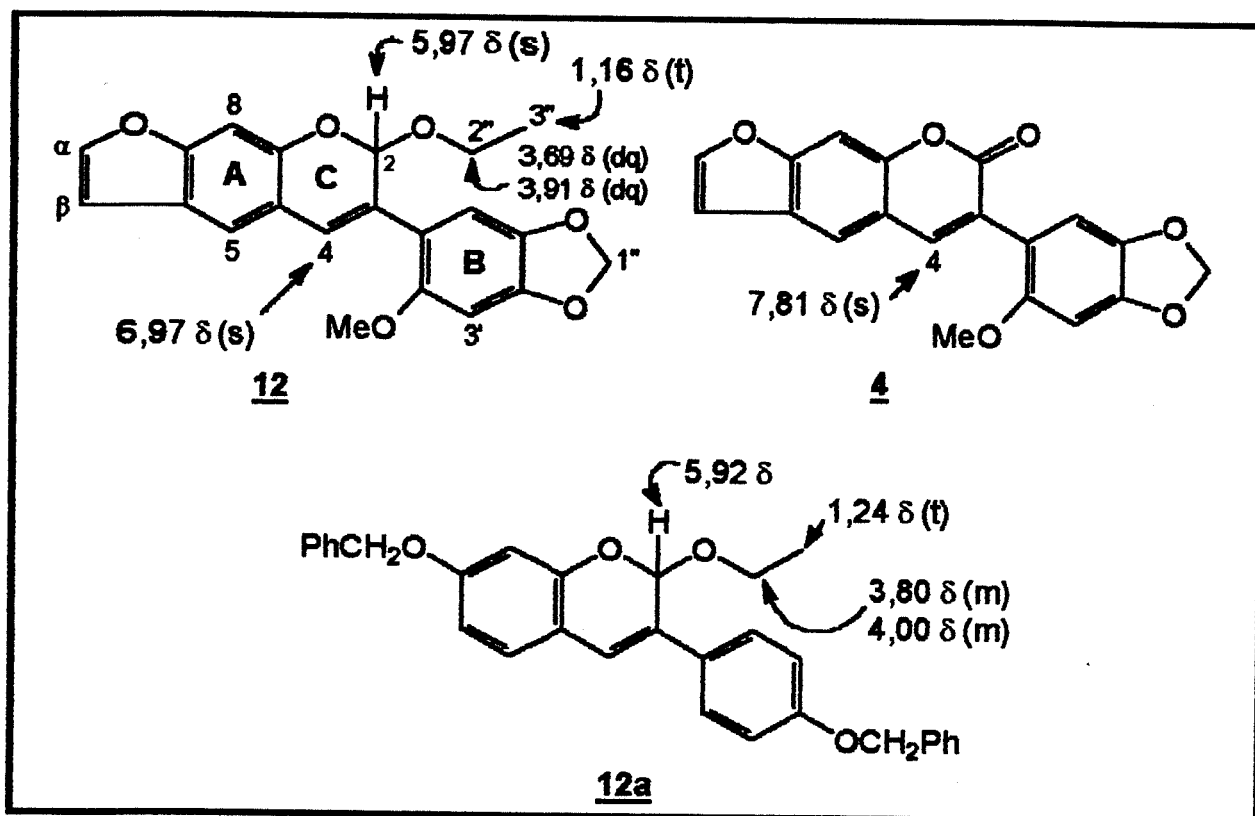


Figura 1 - Espectro parcial de RMN-<sup>1</sup>H, representando a região de 0,0-6,0  $\delta$ .

A região aromática do espectro de RMN-<sup>1</sup>H apresentou 5 singletos. O espectro ainda apresentava sinais para os prótons dos grupos metoxila a 3,79  $\delta$ , metilenodioxi a 5,97  $\delta$  e do anel furano a 7,52  $\delta$  (d,  $J = 2,24$  Hz) e 6,70  $\delta$  (dd,  $J = 2,24$  e 1,3 Hz).

A substância 12 era, portanto, um derivado da pachyrhizina (4), apresentando um grupo etoxila ligado ao carbono C<sub>2</sub>. Abaixo estão assinalados os prótons do anel C das substâncias 12 e 4 e do modelo 12a<sup>70</sup>.



Quando se comparou os deslocamentos dos prótons  $H_4$ ,  $H_5$  e  $H_8$  da substância 12 com os da pachyrhizina (4), observou-se que a redução da carbonila produziu uma proteção para os referidos prótons de 12 (tabela 10).

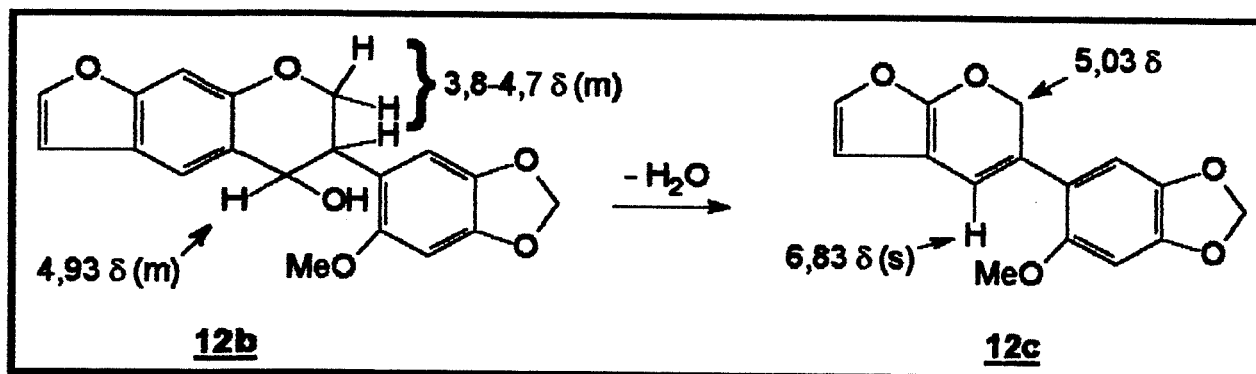
Tabela 10 - Delocamentos químicos (em ppm) dos prótons  $H_4$ ,  $H_5$  e  $H_8$  das substâncias 12 e 4.

Prótons	Substância <u>12</u>	Substância <u>4</u>
4	6,97 (s)	7,81 (s)
5	7,36 (s)	7,68 (s)
8	7,17 (s)	7,49 (s)

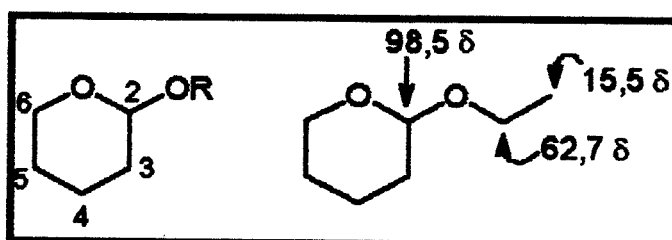
Os prótons  $H_{3'}$  e  $H_{3''}$  do anel B de 12 apareceram a 6,58 e 6,92  $\delta$ , não sofrendo qualquer tipo de influência quanto à redução do anel C, quando seus deslocamentos químicos foram comparados aos da pachyrhizina (4).

Na literatura foi relatado o isolamento de um isoflavanol (12b) de *Neorautanenia amboensis*<sup>28</sup>, que apresentava os mesmos substituintes que foram

assinalados para os anéis A e B de **12**. Após desidratação, formou o isoflaveno correspondente (**12c**) e dava para o próton H<sub>4</sub> o deslocamento químico a 6,83 δ, ao passo que o espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **12** apresentou para o próton H<sub>4</sub> o sinal a 6,97 δ.



O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.38) confirmou a presença do grupo etoxila ao apresentar os sinais a 63,80 δ (CH<sub>2</sub>) e a 15,29 δ (CH<sub>3</sub>). Para o carbono metínico sp<sup>3</sup> C<sub>2</sub> foi atribuído o sinal a 97,52 δ, tomando-se como modelo os deslocamentos químicos do C<sub>2</sub> de tetraidropiranos substituídos em 2<sup>71</sup>, confirmando assim a natureza "acetálica" do carbono C<sub>2</sub>.



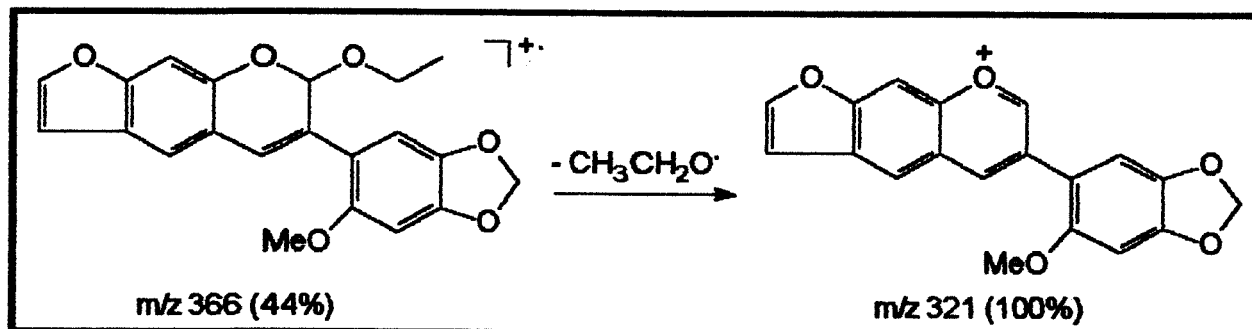
R	C <sub>2</sub> (δ)
CH <sub>3</sub>	99,9
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	98,5
isoC <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	96,5
tC <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	94,1

O sinal a 118,76 δ para um carbono terciário sp<sup>2</sup> foi atribuído ao carbono C<sub>4</sub>. Comparando-se o deslocamento químico de C<sub>4</sub> da substância **12** com o da pachyrhizina (**4**), que aparece a 142,0 δ, observou-se que o carbono C<sub>4</sub> de **12** encontrava-se protegido em torno de 20 δ e que isto se devia à ausência da carbonila em C<sub>2</sub>.

O deslocamento químico do carbono  $C_3$  de 12 a 119,10  $\delta$ , ao ser comparado com o da pachyrhizina (4) a 124,01  $\delta$ , mostrou uma proteção em torno de 5  $\delta$ , ao contrário do carbono  $C_5$  que aparecia a 124,93  $\delta$  e que sofreu uma desproteção em 5,2  $\delta$ , quando se comparou os deslocamentos de  $C_5$  das substâncias 12 e 4.

Outro efeito dessa redução foi observado nos carbonos quaternários  $sp^2$   $C_2'$ ,  $C_4'$  e  $C_5'$ , que absorviam a 147,87  $\delta$ , 144, 47 e 141,52  $\delta$ , estando protegidos em torno de 4 $\delta$  quando se comparou esses deslocamentos com os da pachyrhizina (tabela 11).

O espectro de massas (E.34) apresentou para a substância 12 o ion molecular  $M^+$  em  $m/z$  366 (44%) e o pico base em  $m/z$  321 (100%), referente à perda de 45 unidades de massa e formando um ion oxônio, muito estável, que estabeleceu a aromaticidade do anel C.



Isoflavenos são raramente encontrados na natureza, possivelmente por causa de sua baixa estabilidade, somente uns poucos exemplos de ocorrência natural são conhecidos<sup>4</sup>. Além de lábeis, são compostos que apresentam alta reatividade, servindo de intermediários na síntese de outras classes de isoflavonóides (3-fenilcumarinas, pterocarpanos)<sup>4,70</sup>.

A inusitada ocorrência em plantas do derivado etoxilado (12) e a abundância de pachyrhizina (4) no extrato das sementes vermelhas de *P. tuberosus*, faz-nos supor que 12 e 4 poderiam derivar-se de um intermediário biologicamente reduzido, o 2-hidróxi-3-isoflaveno correspondente (12d). Infelizmente não detectamos tal "intermediário", nem pudemos obter a rotação óptica da substância isolada, a fim de comprovar a procedência como sendo natural e não um artefato.

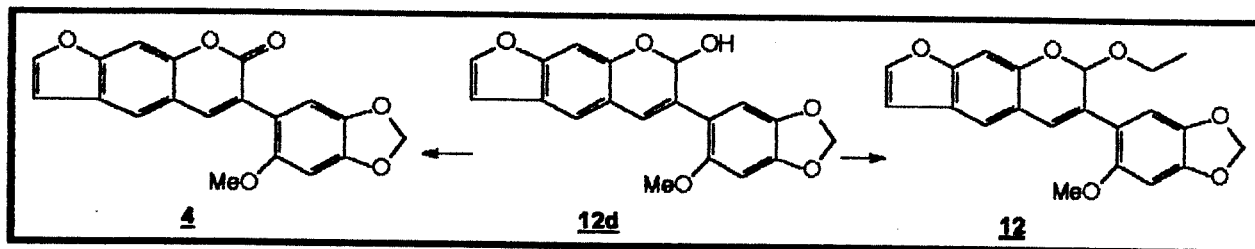




Tabela 11 - Deslocamentos químicos( $\delta$ ) observados no espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  das substâncias 12 e 4.

Carbono	Substância <u>12</u>	Substância <u>4</u>
2	97,52 (CH)	180,31 (C=O)
3	119,10 (C)	124,01 (C)
4	118,76 (CH)	142,54 (CH)
5	124,93 (CH)	119,65 (CH)
6	121,95 (C)	124,83 (C)
7	152,68 (C)	156,22 (C)
8	99,76 (CH)	99,45 (CH)
4a	118,88 (C)	116,20 (C)
8a	155,33 (C)	153,06 (C)
1'	128,99 (C)	124,83 (C)
2'	147,87 (C)	151,69 (C)
3'	95,27 (CH)	95,44 (CH)
4'	144,47 (C)	148,85 (C)
5'	141,52 (C)	141,31 (C)
6'	109,13 (CH)	110,35 (CH)
$\alpha$	144,47 (CH)	146,81 (CH)
$\beta$	106,46 (CH)	106,39 (CH)
1"	101,38 (CH <sub>2</sub> )	101,50 (CH <sub>2</sub> )
2"	63,80 (CH <sub>2</sub> )	-
3"	15,29 (CH <sub>3</sub> )	-
2'-OMe	56,60 (CH <sub>3</sub> )	56,78 (CH <sub>3</sub> )

## **Avaliação Fittoquímica de *Pachyrhizus ahipa* (Weed.) Parodi**

### **Descrição da Planta**

A espécie *P. ahipa* é bastante cultivada na Bolívia e Peru.

É uma herbácea semi-ereta ou ereta, medindo 30-40 cm de altura, raízes tuberosas na forma de cebolas, chegando a pesar 1,0 Kg, caules glabrosos, folhas glabras e ligeiramente pilosas, folíolos ovalados, inteiros, flores com 17,0-19,0 cm de tamanho, azul-violáceas a brancas. Vagens alongadas, duras com pêlos brancos quando verde, glabras com sulcos longitudinais acentuados, (13,0-17,0 cm x 0,15-0,17 cm), sementes pretas ou matizadas de branco e preto.

## Isolamento dos Constituintes das Sementes de *Pachyrhizus ahipa*

Do extrato em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  das sementes de *P. ahipa* foram isolados, após fracionamento em C.C. e purificação por C.C.P., nove substâncias a saber: uma chalcona, cinco rotenóides, uma isoflavanona, uma 3-fenilcumarina e uma isoflavona.

### Chalcona 13

A análise do extrato em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  detectou a presença de 13, além de outras oito substâncias que já haviam sido encontradas em *Pachyrhizus* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 10).

A substância 13, isolada das frações PAD-14 e PAD-15, apresentou-se na forma de cristais vermelho-alaranjados que mesmo após sucessivas tentativas de purificação mostravam-se contaminados por um óleo.

O espectro de U.V. (E.40) mostrou máximos de absorção a 230,5 (3,76), 262,5 (3,60) e 357,5 (3,68) nm, que indicaram o cromóforo de uma chalcona, principalmente em virtude da absorção a 357,5 nm<sup>47</sup>.

O espectro de I.V. (E.41) apresentou absorção a 1627,0  $\text{cm}^{-1}$ , que sugeria a presença de uma carbonila  $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ -insaturada quelada a uma hidroxila. Observou-se ainda absorções a 1606,2 e 1513,7  $\text{cm}^{-1}$  (anel aromático) e 1169,0 (C-O-C).

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.42) apresentou dois dubletos, a 7,47  $\delta$  (1H, J = 15,4 Hz) e a 7,85  $\delta$  (1H, J = 15,4 Hz), que foram atribuídos aos prótons olefinicos *trans* do sistema estirila de chalconas<sup>46,47</sup>.

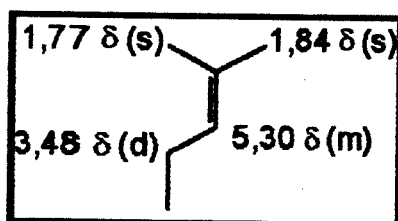
O singleto a 13,88  $\delta$  foi assinalado para o próton fortemente desprotegido de uma hidroxila quelada à carbonila, que desapareceu após adição de  $\text{D}_2\text{O}$  à amostra. A posição deste substituinte foi atribuída ao  $\text{C}_2'$  do anel A, devido à presença de dois dubletos a 6,42  $\delta$  (1H, J = 8,5 Hz) e 7,73  $\delta$  (1H, J = 8,5 Hz), atribuídos aos prótons  $\text{H}_5'$  e  $\text{H}_6'$ , respectivamente.

Quando existe um substituinte oxigenado na posição 4' do anel B de um flavonóide, observa-se no espectro de RMN-<sup>1</sup>H um padrão de dois dubletos, sendo que o dubleto para os prótons  $\text{H}_3'$  e  $\text{H}_5'$  aparece a 6,5-7,1  $\delta$  (J = 8,0 Hz) e o dubleto para os prótons  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_6'$  aparece a 7,1-8,1  $\delta$  (J = 8,0 Hz), estando os prótons  $\text{H}_3'$  e  $\text{H}_5'$  protegidos pelo oxigênio em *orto*<sup>46</sup>. Esta substituição em  $\text{C}_4'$  confere uma equivalência química tanto para os prótons  $\text{H}_3'$  e  $\text{H}_5'$  como para os prótons  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_6'$ .

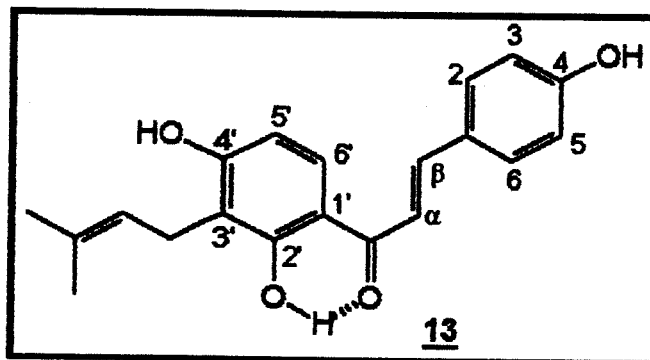
Para a substância 13, a região aromática do espectro de RMN-<sup>1</sup>H apresentou dois dubletos, para dois prótons cada, a 7,57  $\delta$  (J = 8,67 Hz) e a 6,88  $\delta$  (J = 8,58 Hz), que foram atribuídos aos prótons  $\text{H}_{2,6}$  e  $\text{H}_{3,5}$  do anel B da chalcona 13 (que apresentam

numeração diferente de flavonas e isoflavonas para os anéis A e B). Este conjunto de sinais indicava a presença de substituinte oxigenado em C<sub>4</sub>.

Os singletos a 1,77  $\delta$  (3H) e 1,84  $\delta$  (3H), juntamente com o dubleto a 3,47  $\delta$  (2H, J = 7,32 Hz) e o multipeto a 5,30  $\delta$  (1H) evidenciaram a presença do grupo  $\gamma$ ,  $\gamma$ -dimetilalila<sup>45</sup> na estrutura da substância **13**. Essa foi a única estrutura no gênero *Pachyrhizus* a ter um derivado do isopreno na forma não ciclizada.



Para este substituinte tinha-se que definir em que posição do anel A ele se encontrava, visto que o anel B estava substituído em C<sub>4</sub> por um substituinte oxigenado. Considerando que já foi assinalada a presença dos prótons em *orto* (H<sub>5'</sub> e H<sub>6'</sub>), e do próton da hidroxila em ponte com a carbonila, restava a posição em C<sub>3'</sub>, visto que o carbono C<sub>4'</sub> estava substituído por uma hidroxila. Os prótons das hidroxilas em C<sub>4</sub> e C<sub>4'</sub> apareciam como singletos largos a 6,15  $\delta$  (desaparecia após adição de D<sub>2</sub>O à amostra).



O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.43) apresentou o sinal para o carbono carbonílico a 192,47  $\delta$ , sendo atribuído à carbonila de uma chalcona, que geralmente é encontrado na faixa de 188,6-194,6  $\delta$ <sup>48,49</sup>. Os sinais a 121,34 e 145,4  $\delta$  indicaram a presença dos carbonos C <sub>$\alpha$</sub>  e C <sub>$\beta$</sub>  do sistema estirila de chalconas, que apresentam sinais para estes carbonos na região de 116,6-128,1  $\delta$  e 136,2-145,4  $\delta$ , respectivamente<sup>48,49</sup>. Estas atribuições para a carbonila e carbonos C <sub>$\alpha$</sub>  e C <sub>$\beta$</sub>  de chalcona vem confirmar os dados de U.V. e de RMN-<sup>1</sup>H para este tipo de esqueleto.

Os sinais a 116,19 e 130,70  $\delta$  foram atribuídos a dois carbonos terciários  $sp^2$  cada, tendo em vista suas intensidades no espectro quando se comparou com as dos demais sinais de carbonos metínicos  $sp^2$ . Esses sinais foram atribuídos aos carbonos  $C_{3,5}$  e  $C_{2,6}$  do anel B. A presença da hidroxila no carbono  $C_4$  produziu nos carbonos  $C_3$  e  $C_5$  uma proteção de 14 $\delta$  em relação aos carbonos  $C_2$  e  $C_6$ .

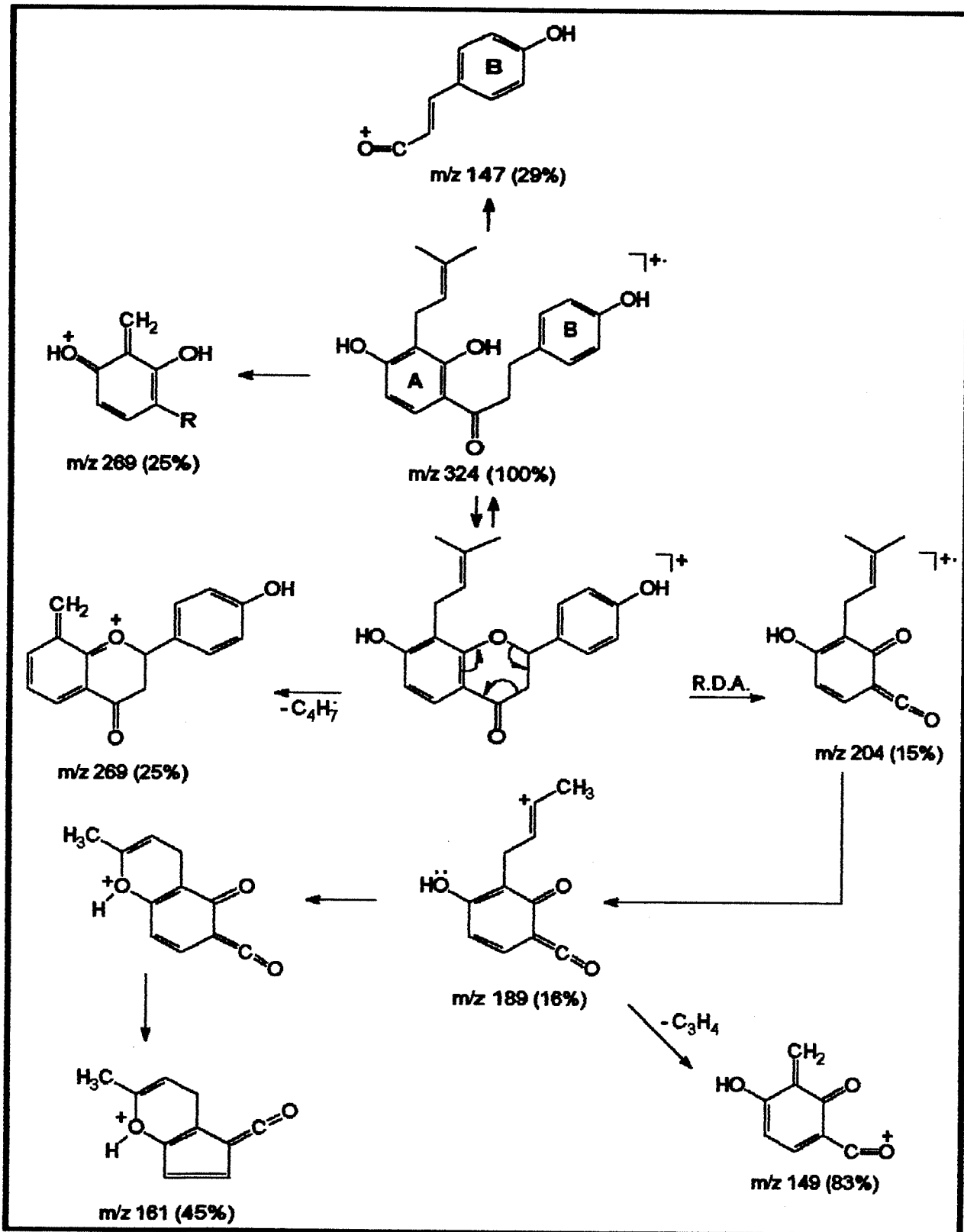
A posição em que o grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetilalila encontrava-se ligado, foi definida pela presença dos picos de baixa intensidade para três carbonos quaternários  $sp^2$  a 161,80, 114,26 e 164,15  $\delta$ . Esses sinais eram indicativos da presença do grupo alila entre os dois substituintes oxigenados, os quais conferiam uma proteção ao carbono em que este grupo estava ligado, o que definiu para o carbono  $C_3$  a substituição pelo  $\gamma,\gamma$ -dimetilalila e para os carbonos  $C_2$  e  $C_4$  a substituição pelas hidroxilas.

A presença dos sinais para os carbonos metínicos  $sp^2$  a 107,91 e 129,41  $\delta$ , assinalados para os carbonos  $C_5'$  e  $C_6'$ , respectivamente, confirmaram o padrão de substituição do anel A de **13**.

Os sinais a 21,82, 118,32, 130,06, 17,99 e 25,88  $\delta$  indicaram a presença dos carbonos  $C_1^n$ ,  $C_2^n$ ,  $C_3^n$ ,  $C_4^n$  e  $C_5^n$  do grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetilalila.

O espectro de massa (E.39) apresentou o íon molecular  $M^+$  em  $m/z$  324 (100%), além de outros fragmentos, como os que se originavam do rearranjo do tipo Retro Diels-Alder, encontrados no esquema 8.

A substância **13** foi anteriormente encontrada em *Cordia piaca* (*Lonchocarpus neuroscapha*, Leguminosae) e em *Psoralea corylifolia* (Leguminosae), é conhecida pelos nomes de 4-hidróxiisocordoina<sup>72</sup> e isobavachalcona<sup>73</sup>. Desta estrutura só foram relatados os seus dados de RMN-<sup>1</sup>H a 60 MHz.



ESQUEMA 8 - Fragmentações propostas para a chalcona 13.

## **Avaliação Fitoquímica de *Pachyrhizus tuberosus* (Lam.) Sprengel (Variedade Sementes Pretas)**

### **Descrição da Planta**

A espécie *P. tuberosus*, já descrita anteriormente, pode ser dividida em três variedades, por conter sementes pretas, vermelhas e matizadas de preto e branco.

## Isolamento dos Constituintes das Sementes Pretas de *Pachyrhizus tuberosus*

A análise comparativa entre o extrato em Et<sub>2</sub>O de *P. tuberosus* (sementes pretas) e os extratos em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> das outras três espécies de *Pachyrhizus* feita por C.C.D., revelou-nos que o extrato etéreo apresentava uma substância que se deslocava até quase o "front" da placa analítica e que não havia sido detectada anteriormente. Através da reinvestigação do extrato etéreo de *P. tuberosus* (sementes pretas) isolamos a substância **14** (fração PTE-3), que se apresentou como cristais vermelhos. O isoflaveno **12** também foi isolado da fração PTE-3.

### 2-Arilbenzofurano **14**

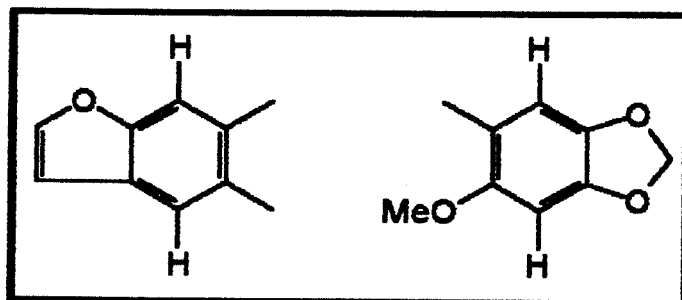
O espectro de U.V. de **14** (E.45) apresentou máximos de absorção a 354,6 (3,50), 340,6 (3,53), 293,0 (3,06), 260,5 (3,28) e a 230,0 (3,49), evidenciando a presença das bandas II (conjugação do sistema cinamoila) e I (conjugação do sistema benzoila).

O espectro de I.V. (E.46) mostrou absorções a 1623,0, 1504,1 e 1498,0 (C=C), 1194,8, 1171,8 (C-O-C) e que evidenciava a ausência do grupo carbonila.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.47) indicou a presença dos grupos metoxila e metilenodioxila através dos singletos a 3,95 e a 5,99 δ, além do anel furano que apresentou sinais a 7,61 δ (d, J = 2,2 Hz) e a 6,81 δ (dd, J = 2,2 e 1,01 Hz). Os sinais para um singlete a 7,65 δ (1H) e um dubleto a 7,60 (1H, J = 0,8 Hz) assinalavam a fusão do tipo linear do anel furano com o anel aromático.

Os sinais para dois prótons que não se acoplavam, apareciam a 6,69 δ (s) e a 7,55 δ (s).

Tínhamos, portanto, dois anéis aromáticos com os seguintes substituintes:



No espectro de RMN-<sup>1</sup>H foi também assinalada a presença de um dubleto a 7,27 δ (1H, J = 0,8 Hz), indicando um próton que tinha um acoplamento a longa distância,

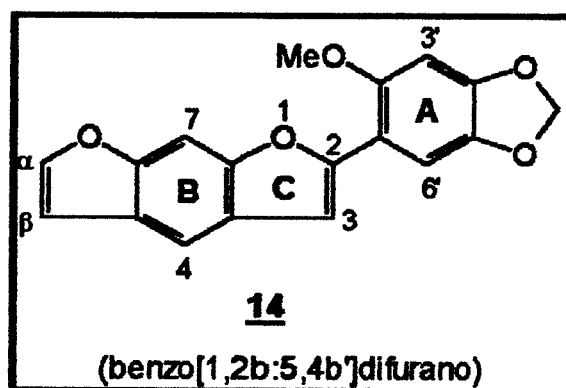


do tipo "W"<sup>30,54</sup>, com o próton a 7,60  $\delta$  (1H, J = 0,8 Hz). Este sinal foi atribuído ao próton do anel heterocíclico de **14** e que estava sendo detectado pela primeira vez neste trabalho.

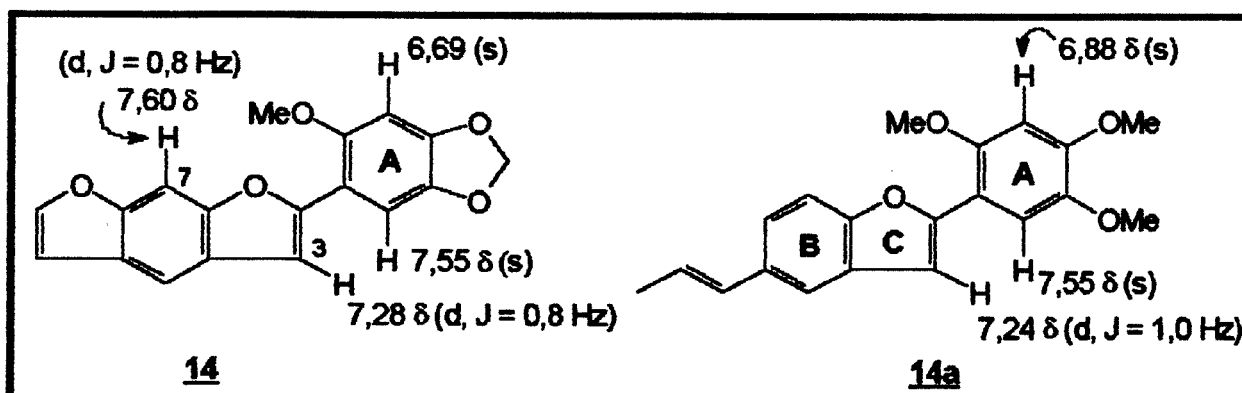
A análise do espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.48) revelou a ausência de um pico de baixa intensidade para um carbono quaternário sp<sup>2</sup> na região de 170,0-190,0, característico de carbono carbonílico de flavonóides e isoflavonóides<sup>48,49</sup>.

A presença de dois sinais intensos para dois carbonos metínicos sp<sup>2</sup> a 106,56 e a 106,55  $\delta$ , indicou-nos que a substância **14** continha em sua estrutura dois carbonos C $\beta$  de anel furano.

Essas evidências levaram-nos a propor para a substância **14** um esqueleto do tipo benzodifurano, bastante incomum, sendo o primeiro a ser encontrado em plantas.

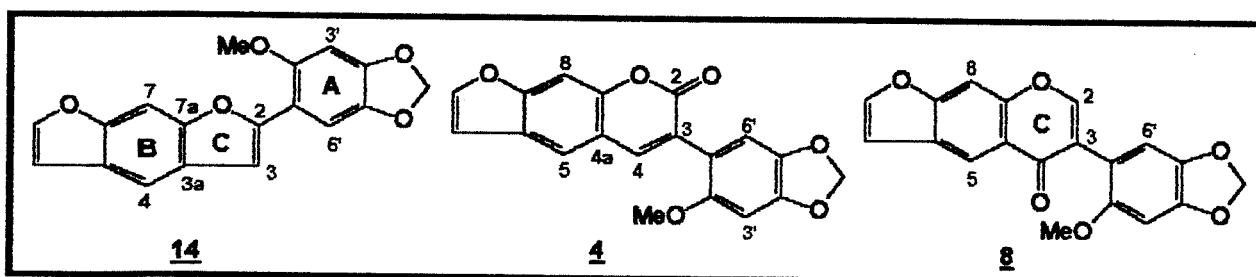


Através de levantamento na literatura encontrou-se como modelo o 2-arilbenzofurano **14a**, isolado de *Krameria*<sup>74</sup> (Krameriaceae) que apresentava além do próton H<sub>3</sub>, um padrão de substituição idêntico para o anel A (nestas estruturas a nomenclatura dos anéis aromáticos são diferentes).



Ao se proceder à comparação entre os deslocamentos químicos dos carbonos de **14** com os das substâncias **4** e **8** (tabela 12), pôde-se observar os efeitos provocados em outros carbonos de **14** com a ausência da carbonila no anel heterocíclico C.

O carbono  $C_4$  de **14**, com um sinal a 111,07  $\delta$ , teve uma proteção em torno de 8,0  $\delta$ , quando se comparou com os deslocamentos químicos do carbono  $C_5$  das substâncias **4** e **8**, que apareciam a 119,65 e 118,92  $\delta$ , respectivamente. O efeito contrário é encontrado para o carbono quaternário  $sp^2$   $C_{3a}$  de **14**, com sinal a 124,9  $\delta$ , que sofreu uma desproteção em torno de 7,0  $\delta$  em relação ao carbono  $C_{4a}$  de **4** e **8**, que absorvia a 116,2 e 117,9  $\delta$ .



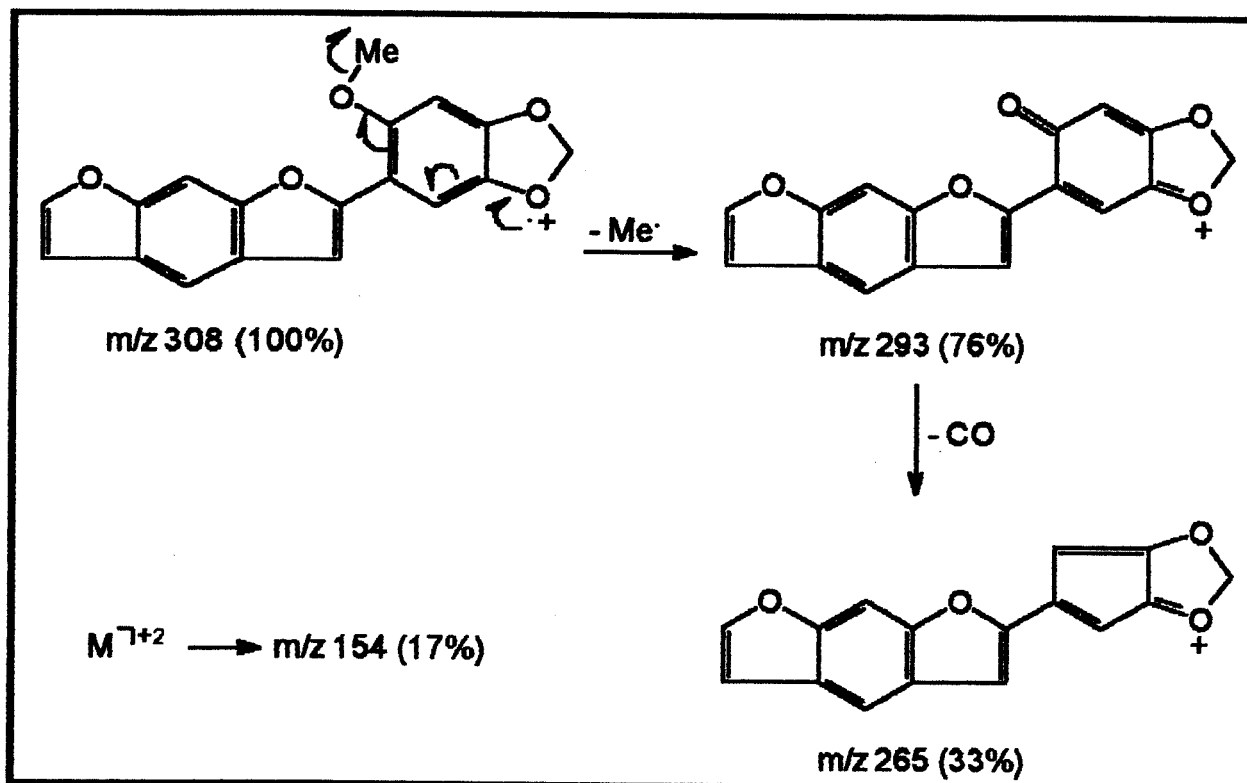
Outro carbono a sofrer uma proteção em 6,5  $\delta$ , foi o metínico  $sp^2$   $C_{6'}$ , aparecia a 104,69  $\delta$ , enquanto que para as substâncias **4** e **8** o carbono  $C_{6'}$  apresentava-se a 110,35 e 111,28  $\delta$ , respectivamente. Para o carbono quaternário  $sp^2$   $C_{1'}$  de **14**, que aparecia a 112,65  $\delta$ , a proteção foi da ordem de 12,19  $\delta$ , com relação ao carbono  $C_{1'}$  de **4**, que mostrava o sinal a 124,84  $\delta$ . A mesma proteção sofria o carbono  $C_{1'}$  de **8**. Isto pode ser explicado pela ausência da dupla ligação em conjugação com a carbonila em  $C_2$  das substâncias **14** e **8**.

O espectro de massas (E.44) apresentou o íon molecular  $M^+$  em  $m/z$  308 (100%), tendo a substância **14**, portanto, 28 unidades de massas a menos que a pachyrhizina (**4**) e deidroneotenona (**8**) que têm o mesmo peso e fórmula moleculares ( $C_{19}H_{12}O_6$ ,  $M^+$  336). O esquema 9 apresenta as propostas de fragmentação para a substância **14**.

Tabela 12 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN- $^{13}\text{C}$  das substâncias 14, 4 e 8.

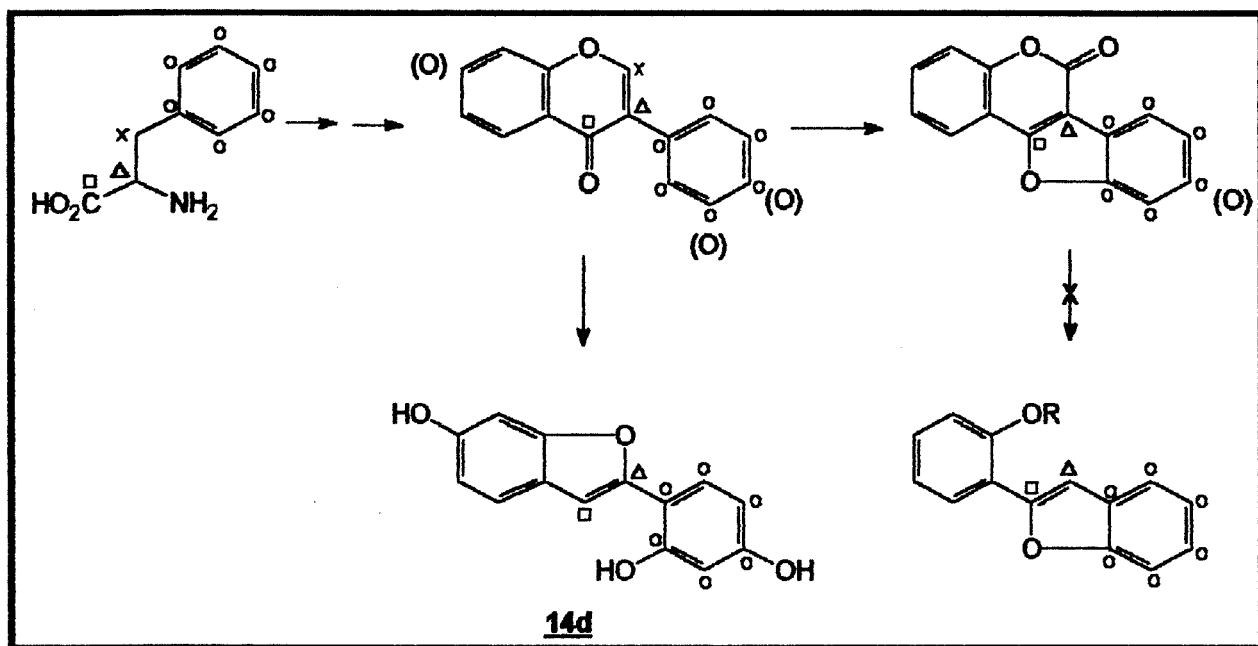
Carbono	Substância <u>14</u>	Substância <u>4</u>	Substância <u>8</u>
2	152,91 (C)	180,31 (C=O)	154,75 (CH)
3	* 106,56 (CH)	124,01 (C)	121,08 (C)
4	111,07 (CH)	142,54 (CH)	176,65 (C=O)
5	127,10 (C)	119,65 (CH)	118,99 (CH)
6	153,6 (C)	124,84 (C)	126,03 (C)
7	94,08 (CH)	156,22 (C)	157,29 (C)
8	-	99,45 (CH)	99,83 (CH)
1'	112,65 (C)	124,84 (C)	112,80 (C)
2'	152,51 (C)	151,69 (C)	153,00 (C)
3'	95,2 (CH)	95,44 (C)	95,49 (CH)
4'	148,90 (C)	148,85 (C)	148,44 (C)
5'	141,90 (C)	141,31 (C)	141,21 (C)
6'	104,69 (CH)	110,35 (CH)	111,28 (CH)
3a	124,90 (C)	-	-
4a	-	116,20 (C)	117,92 (C)
7a	153,59 (C)	-	-
8a	-	153,06 (C)	154,22 (C)
a	145,21 (CH)	146,81 (CH)	147,43 (CH)
b	* 106,55 (CH)	106,39 (CH)	107,05 (CH)
1''	101,72 (CH <sub>2</sub> )	101,50 (CH <sub>2</sub> )	101,40 (CH <sub>2</sub> )
2'-OMe	56,47 (CH <sub>3</sub> )	56,78 (CH <sub>3</sub> )	56,88 (CH <sub>3</sub> )

\* valores intercambiáveis

ESQUEMA 9 - Fragmentações apresentadas pela substância 14.

Uma grande variedade de estruturas com o esqueleto 2-arylbenzofurano é encontrada na natureza e são oriundas de três rotas biossintéticas diferentes<sup>3,75,76</sup>:

1. Algumas estruturas são de origem bis-arylpropanóide (são denominadas como "neolignanas")<sup>3</sup>.
2. Outros são oriundos de ciclização oxidativa de hidróxi estilbenos (encontrados na família Moraceae)<sup>77</sup>.
3. Estruturas derivadas de plantas leguminosas e se originam da perda de um átomo de carbono de uma estrutura isoflavonóide, na maioria das vezes ocorrem juntamente com outros isoflavonóides, tendo os mesmos substituintes nos anéis aromáticos A e B<sup>75,76</sup> (Esquema 10).



ESQUEMA 10 - Propostas biossintéticas de Dewick para a formação de 2-arylbenzofurano.

## **Avaliação Fitoquímica de *Pachyrhizus panamensis* Clausen**

### **Descrição da Planta**

A espécie *P. panamensis* é encontrada na América Central, principalmente no Canal do Panamá, norte da Colômbia e Equador (região dos Andes).

Trepadeira herbácea, reconhecida por apresentar pêlos brancos em todas as partes da planta, 1,0 a 2,5 m de comprimento, raízes tuberosas alongadas, caule estriado, folhas com pêlos brancos nas faces superior e inferior, folíolos laterais obliquamente ovalados, inteiros ou com dois lóbulos pouco profundos, flores grandes e azuis. Vagens cobertas com pêlos brancos (8-13 cm x 0,07-0,12 cm), sementes arredondadas, verde-olivas.

## Isolamento dos Constituintes de *Pachyrhizus panamensis*

Do extrato em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  das sementes de *P. panamensis*, após fracionamento em C.C. e purificação por C.C.P., foram isolados e identificados dez isoflavonóides: cinco rotenóides, uma 3-fenilcumarina, uma isoflavanona e três isoflavonas.

As substâncias 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 11, 15 e 16 foram obtidas de *P. panamensis*, sendo que 15 e 16 não estavam presentes nos outros extratos já analisados.

### Rotenóide 15

A substância 15, encontrada na fração PPD-4.5, ocorria junto com a 12a-hidróxirotenona (10) e mesmo após sucessivas tentativas de purificação por C.C.P. em diferentes sistemas de solventes, continuava em mistura.

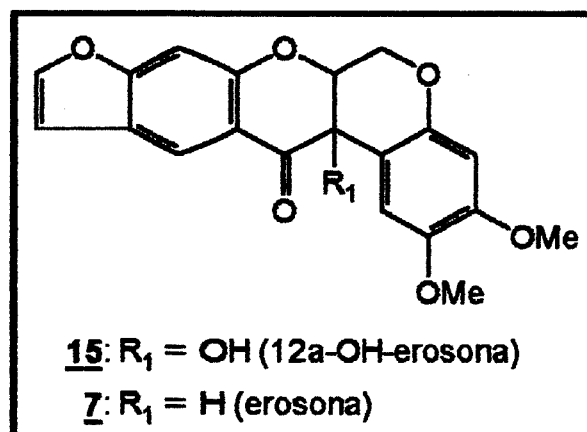
A análise do espectro de RMN- $^1\text{H}$  (E.49) indicou-nos a presença de um rotenóide que tinha como substituintes o anel furano fundido linearmente ao anel D e dois grupos metoxilas ligados ao anel A. Através da comparação feita entre o espectro de 15 e o da erosona (7) (E.20) observou-se que ambos apresentavam sinais sobreponíveis para os prótons do anel furano e para os do anel D. Na tabela 13 estão assinalados os deslocamentos químicos dos prótons que compõem os anéis A, D e furano dos rotenóides 15 e 7.

Tabela 13 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) dos prótons  $\text{H}_1$ ,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_8$ ,  $\text{H}_{11}$ ,  $\text{H}_\alpha$  e  $\text{H}_\beta$  de 15 e 7.

H	Substância <u>15</u>	Substância <u>7</u>
1	6,55 (s)	6,77 (s)
4	6,52 (s)	6,49 (s)
8	7,03 (s)	7,07 (s)
11	8,21 (s)	8,23 (s)
$\alpha$	7,56 (d, J = 2,3 Hz)	7,55 (d, J = 2,2 Hz)
$\beta$	6,75 (dd, J = 2,3 e 0,93 Hz)	6,74 (dd, J = 2,2 e 1,0 Hz)

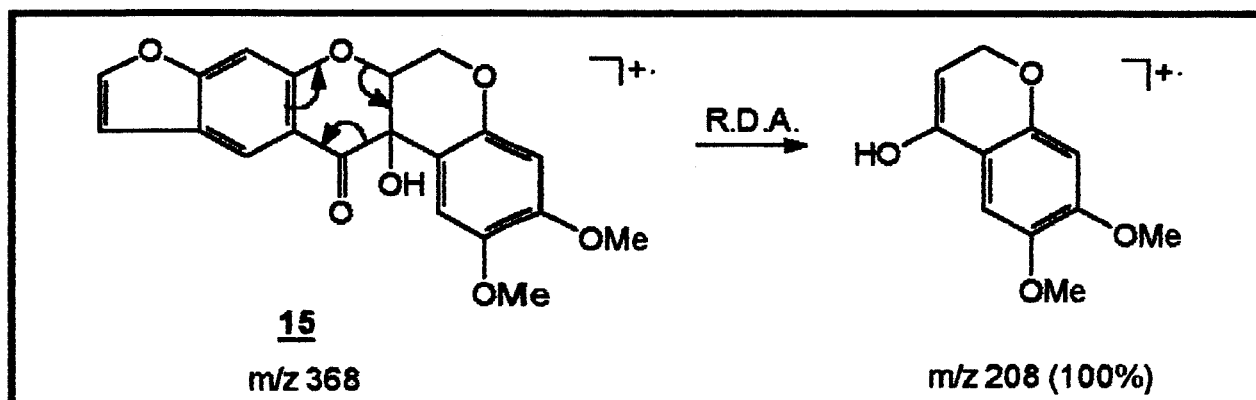
O que diferenciava esses dois rotenóides era a presença da hidroxila no carbono  $\text{C}_{12a}$ , que alterava os deslocamentos químicos e padrões de acoplamento dos prótons do sistema B/C. Na região alifática do espectro encontrava-se um conjunto de sinais semelhante ao do espectro do rotenóide 10 (E.28), com integração para 8 prótons, a 4,50  $\delta$ .

Tratava-se dos prótons  $H_c$  e  $H_{6a}$  que faziam parte da junção dos anéis B e C dos rotenóides 10 e 15, além dos prótons das hidroxilas.



A substância 15 foi reconhecida como 12a-hidróxierosona e já havia sido isolada de *P. erosus*<sup>22</sup>. Foi o sétimo rotenóide isolado de *Pachyrhizus* neste trabalho.

O espectro de CG/EM da amostra PPD-4.5 (E.50) confirmou a presença dos rotenóides 10 e 15, que apresentavam os picos moleculares  $M^+$  em  $m/z$  410 e 368, respectivamente. O pico base a  $m/z$  208 era comum aos dois.



### Isoflavona 16

Da fração PPD-8.9, após purificação por C.C.P. (eluição contínua por 4 horas em  $CHCl_3$ ), foi isolada a substância 16 como um cristal amarelo-escuro.

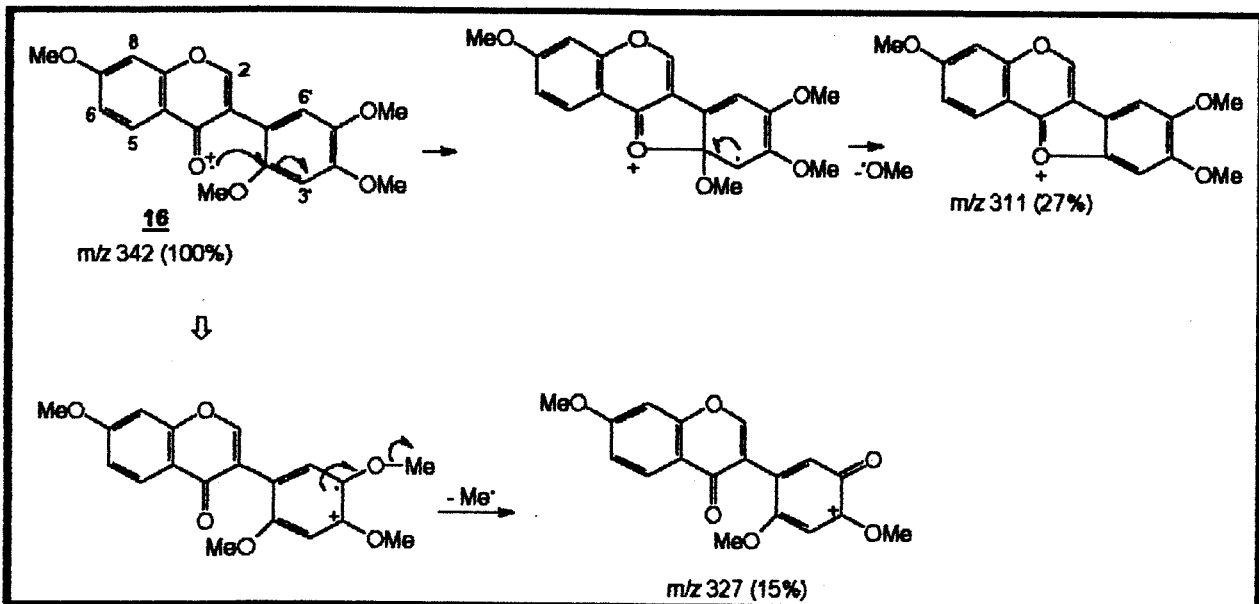
O espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.52) indicou-nos a presença de uma isoflavona muito "simples", que tinha 4 grupos metoxilas como substituintes, os quais apresentavam para os seus prótons quatro singletos, agudos e intensos, a 3,93, 3,92, 3,86 e 3,78  $\delta$ . Essa



isoflavona mostrou-se diferente das outras substâncias isoladas de *Pachyrhizus*, por não conter um substituinte derivado do grupo  $\gamma,\gamma$ -dimetilalila (tanto na forma ciclizada como na forma de cadeia aberta) ligado aos anéis aromáticos de sua estrutura.

Essa substância foi anteriormente isolada de *Calopogonium muconoides*<sup>78</sup> e de *Amorpha fruticosa*<sup>52</sup>, e seus dados de RMN-<sup>1</sup>H são praticamente sobreponíveis aos apresentados na literatura. É conhecida como 7,2',4',5'-tetrametóxiisoflavona.

O espectro de massa (E.51) apresentou o ion molecular M<sup>+</sup> em m/z 342 (100%), além de outras fragmentações (Esquema 11).



ESQUEMA 11 - Principais fragmentações apresentadas pela substância **16**.

#### IV - ANÁLISE QUANTITATIVA DOS COMPONENTES DOS EXTRATOS DAS SEMENTES DE *PACHYRHIZUS*:

##### Desenvolvimento do Método e Otimização

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa<sup>79</sup> foi utilizada para quantificar os compostos de duas espécies de *Pachyrhizus*.

O cromatógrafo utilizado foi o da Varian, modelo 9010, dotado com coluna 300 x 4,0 mm, revestida com partículas MCH-10 $\mu$ m.

A escolha da fase móvel foi feita através de testes, em que se usou primeiramente a mistura MeOH/H<sub>2</sub>O, porém observou-se a formação de gases e não foi possível degaseificá-la, mesmo após o uso de ultra-som. Isso causou uma grande instabilidade da linha de base, impossibilitando o uso dessa mistura (Figura 2). Tendo em vista essa dificuldade, mudou-se a composição da mistura para MeCN/H<sub>2</sub>O, obtendo-se então cromatogramas com melhor resolução para o extrato de *P. ferrugineus*.

Abaixo estão listados as diferentes concentrações usadas na composição da mistura MeCN/H<sub>2</sub>O (tabela 14).

Tabela 14 - Concentrações de MeCN e H<sub>2</sub>O utilizadas na obtenção dos cromatogramas

% MeCN	% H <sub>2</sub> O	Figura
60	40	3
55	45	3
52	48	3
50	50	4
48	52	4
45	55	5
40	60	6

Com o aumento da polaridade da fase móvel observou-se uma melhor resolução, sem grandes perdas na eficiência, até chegar à concentração de MeCN/H<sub>2</sub>O (45:55) (figura 5). A figura 6 apresentou picos largos, ou seja, diminuiu a eficiência.

Observou-se também que o pico 4 da figura 3 escondia uma sobreposição de picos, quando se comparou a figura 3 com a figura 5. Mas, com o aumento progressivo da polaridade da fase móvel, obteve-se a separação dos picos, sendo que sob as condições da

figura 5 o pico 4 está separado, permitindo sua quantificação. O pico 3 ficou separado de 3' sob as condições apresentadas na figura 3.

Portanto, a condição analítica que deu uma melhor separação, com boa resolução, para o extrato de *Pachyrhizus ferrugineus* foi a fase móvel composta por MeCN/H<sub>2</sub>O (45:55), eluída isocraticamente, em um fluxo de 1,5 ml/min. Apenas o pico 3 foi quantificado nas mesmas condições encontradas na figura 3 (MeCN/H<sub>2</sub>O (55:45)).

Para o extrato de *P. ahipa* foram utilizadas as mesmas condições adotadas na obtenção dos cromatogramas de *P. ferrugineus*. Os cromatogramas obtidos assemelhavam-se aos encontrados nas figuras 3 e 5, visto que esses extratos apresentavam alguns compostos em comum.

### Análise Qualitativa

Através da comparação dos tempos de retenção dos picos de cada padrão, pôde-se identificá-los nos cromatogramas dos extratos. Para os que induziam a incertezas, fez-se as co-injeções de extratos e padrão, identificando-os pelo aumento da área absoluta (figura 7).

Abaixo estão relacionadas as identificações dos picos assinalados nos cromatogramas dos extratos.

Pico	Padrão
1	dolineona
1	12a-OH-dolineona
2	erosona
3	pachyrhizona
3'	desidroneotenona
4	pachyrhizina
5	rotenona
6	neotenona

Os padrões dolineona e 12a-OH-dolineona apresentaram tempos de retenção muito próximos ( $\cong 10^0$ ). Observando os cromatogramas dos extratos, o pico 1 que corresponde aos dois padrões mostrava uma assimetria, indicando sobreposição de picos. Mesmo após o aumento da polaridade da fase móvel (MeCN/H<sub>2</sub>O (40:60)), esses picos

continuaram sobrepostos. Isso também pôde ser observado na figura 6 o que impossibilitou a quantificação dos dois padrões nessas condições analíticas.

## Análise Quantitativa

Utilizou-se o método do "Padrão Externo", onde concentrações conhecidas dos padrões foram injetadas e através da resposta do detector (por exemplo, área do pico) foram construídas as curvas de calibração<sup>79</sup>. Calculou-se então a concentração desconhecida de cada padrão presente no extrato através dessas curvas de calibração.

Uma maior reprodutibilidade foi obtida com o uso do injetor em "loop", onde volumes conhecidos e constantes foram injetados.

Para a quantificação de um determinado padrão, utilizou-se o cromatograma do extrato obtido nas mesmas condições (internas e externas) em que foram obtidas as curvas de calibração<sup>80</sup>.

### a) Curvas de Calibração

As curvas de calibração foram obtidas de forma que as concentrações fossem calculadas por interpolação e não por extrapolação, devido ao fato que a primeira é mais confiável. Há duas razões básicas: 1<sup>o</sup>) A melhor precisão de uma regressão linear é no ponto médio dos dados de uma calibração. "Movendo-se" acima ou abaixo dos limites dos dados, as incertezas das estimativas tornam-se maiores. 2<sup>o</sup>) A suposição de que a relação é verdadeiramente linear pode ser válida somente em certos limites, devido a, por exemplo, não linearidade do detector.

As equações da reta para as curvas de calibração dos padrões foram obtidas como:

$$y = a + bx$$

onde  $y$  = área absoluta dos picos fornecidos pelo integrador

$x$  = concentração do padrão (mg da amostra/ml de solvente)

Os padrões eluídos em fase móvel composta por MeCN/H<sub>2</sub>O (45:55) apresentaram as seguintes equações da reta (tabela 15):

Tabela 15 - Relação das equações da reta obtidas a partir das curvas de calibração dos padrões.

Padrão	Equação da reta	Figura
rotenona (6)	$y = -3,0616 \text{ E}04 + 4,6523617 \text{ E}06 \text{ x}$	8
pachyrhizina (4)	$y = -6,2174029 \text{ E}04 + 1,1756472 \text{ E}07 \text{ x}$	8
12a-OH-dolineona (5)	$y = 1,3105 \text{ E}04 + 1,792425 \text{ E}07 \text{ x}$	9
neotenona (3)	$y = 2,9835971 \text{ E}04 + 1,9510978 \text{ E}07 \text{ x}$	9
erosona (7)	$y = 1,2846144 \text{ E}04 + 2,1537042 \text{ E}07 \text{ x}$	10
dolineona (1)	$y = -2,069 \text{ E}03 + 2,3294 \text{ E}06 \text{ x}$	10
deidroneotenona (8)	$y = -7,5624286 \text{ E}04 + 8,2118571 \text{ E}06 \text{ x}$	11

Para o padrão eluído em fase móvel composta por MeCN/H<sub>2</sub>O (55:45), foi obtida a seguinte equação:

Padrão	Equação da reta	Figura
pachyrhizona	$y = -9,5693876 \text{ E}02 + 5,2025224 \text{ E}06 \text{ x}$	11

### b) Quantificação dos Constituintes nos Extratos

Através das curvas de calibração dos padrões e os cromatogramas dos extratos obtidos nas mesmas condições externas e internas do equipamento, calculou-se as concentrações dos padrões nos extratos estudados (tabela 16).

Tabela 16 - Quantificação das substâncias presentes nos extratos de duas espécies de *Pachyrhizus*.

Espécies	Substâncias (mg/g de sementes)					
	2	3	4	6	7	8
<i>P. ahipa</i> (Weed) Parodi	16,87	2,08	13,80	11,77	3,10	9,62
<i>P. ferrugineus</i> (Piper) Sorensen	16,90	0,67	5,12	5,28	2,08	5,88

Nesta avaliação, a pachyrhiza (2) mostrou ser o constituinte mais abundante nos dois extratos.

## V - CONCLUSÕES

A avaliação fitoquímica dos extratos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  das sementes de *P. ferrugineus*, *P. ahipa*, *P. panamensis*, *P. tuberosus* (sementes vermelhas) e da fração apolar do extrato em  $\text{Et}_2\text{O}$  de *P. tuberosus* (sementes pretas), levou ao isolamento de sete rotenóides, duas 3-fenilcumarinas, uma isoflavanona, três isoflavonas, um isoflaveno, um 2-arilbenzofurano e uma chalcona.

A identificação dos isoflavonóides foi feita através da análise dos espectros de U.V., I.V., RMN- $^1\text{H}$  e RMN- $^{13}\text{C}$ .

Constatou-se que, de fato, todas as espécies de *Pachyrhizus* continham rotenóides em suas sementes, sendo que os rotenóides 1, 2, 6 e 10 estavam presentes em todos os extratos obtidos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Através de levantamento bibliográfico, observou-se que os isoflavonóides 3, 4 e 8 são encontrados em diversas espécies de *Neorautanenia* e em *Pachyrhizus erosus*, além de sua ocorrência em todas as espécies estudadas no presente trabalho.

As substâncias 12 e 14 não foram relatadas na literatura, enquanto que 11 só foi citada na literatura como um produto de síntese, portanto, é inédita como produto natural.

É interessante ressaltar que o flavonóide 13 ocorreu em *Pachyrhizus ahipa*, como também nos gêneros *Cordia* e *Psoralea* (ambos pertencentes à família Leguminosae). O isoflavonóide 16 além de ocorrer em *Pachyrhizus panamensis*, também foi encontrado em *Calopogonium* e *Amorpha* (Leguminosae).

O gênero *Pachyrhizus* encontra-se corretamente localizado dentro da família Leguminosae, com sua posição na sub-tribo Diocleinae bem definida por Sorensen.

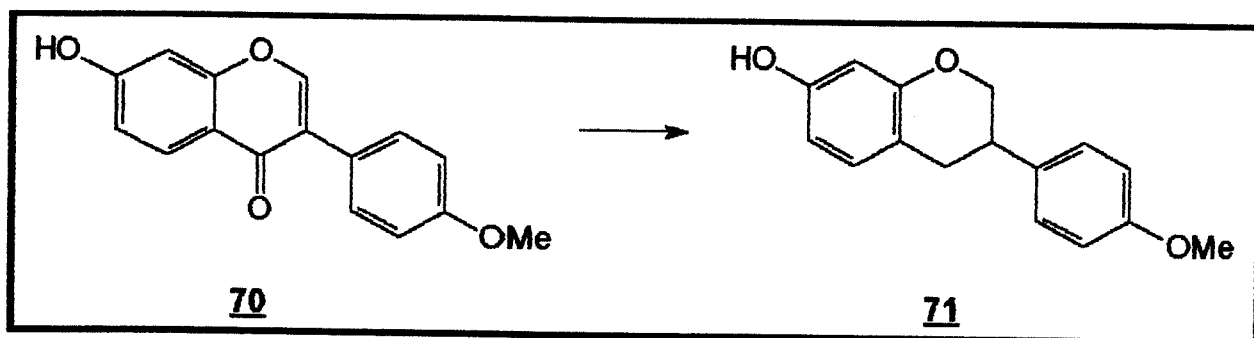
## **CAPÍTULO 2**

**TENTATIVA DE SÍNTESE DA 3-  
FENILCUMARINA 9 E DO 2-  
ETOXIISOFLAVENO 130**



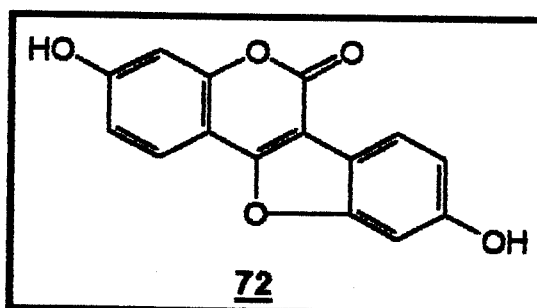
## I - INTRODUÇÃO

A classe dos isoflavonóides destaca-se por possuir substâncias com propriedades biológicas bastante diversificadas, algumas dessas são características de certos compostos<sup>1</sup>. Algumas isoflavonas são estrógenos fracos, passíveis de serem convertidas a substâncias mais ativas no organismo animal, podendo-se citar o exemplo clássico do equol (71). Ele é o principal produto de metabolização da formometina (70) (presente no trevo *Trifolium subterraneum*, leguminosa)<sup>2</sup> no organismo animal, interferindo no ciclo estral das ovelhas que se alimentam desta planta.



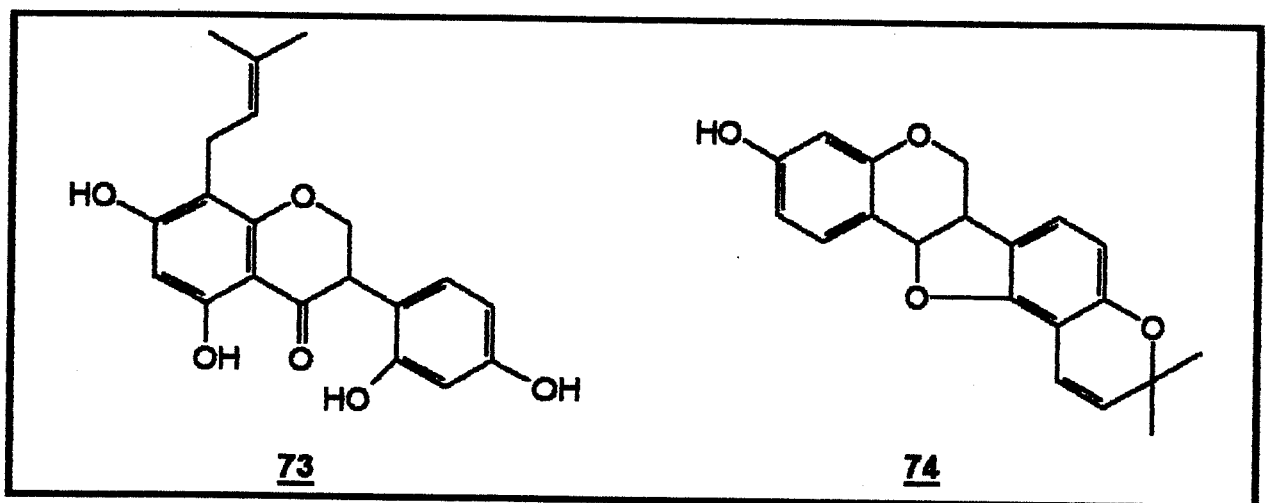
A rotenona 6, um isoflavonóide presente nas raízes de certas espécies de *Derris* e afins, possui atividade inseticida e, junto com outros rotenóides, apresenta ação ictiotóxica<sup>3,4</sup>.

Isoflavonóides do tipo cumestrol (72), isolado de *Medicago sativa* (alfafa)<sup>3</sup>, têm-se mostrado mais ativos que as próprias isoflavonas e também são encontrados em Leguminosae. Apresentam forte atividade estrogênica, o que pode provocar problemas na pecuária.



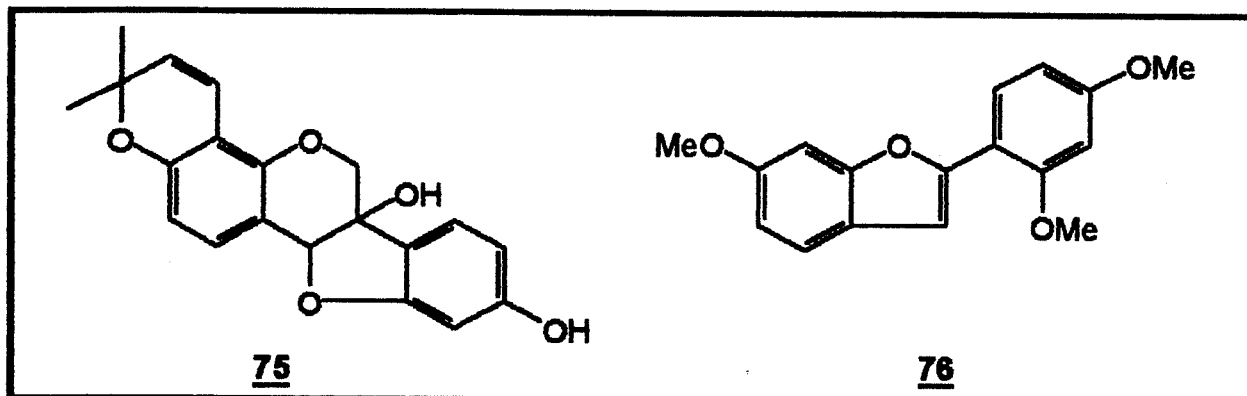
Um considerável número de pterocarpanos e isoflavanos, bem como isoflavonas e isoflavononas - especialmente as que contêm substituintes prenilados - são extremamente tóxicas a fungos saprofíticos e fitopatogênicos, causando inibição à

germinação de esporos, alongamento do tubo germinal ou ao crescimento das hifas<sup>1</sup>. A exposição a isoflavonóides como a kievitona (73) e phaseolidina (74) tem efeito sobre as hifas, como a interrupção rápida da corrente citoplasmática, desenvolvimento de vacúolos e grânulos no citoplasma, o que acarretará na perda de peso seco e marcantes efeitos sobre a respiração endógena e exógena. Todas essas anomalias vão ocorrer devido à exposição dos fungos a determinados isoflavonóides, que levarão a danos severos às membranas desses fungos<sup>1</sup>.

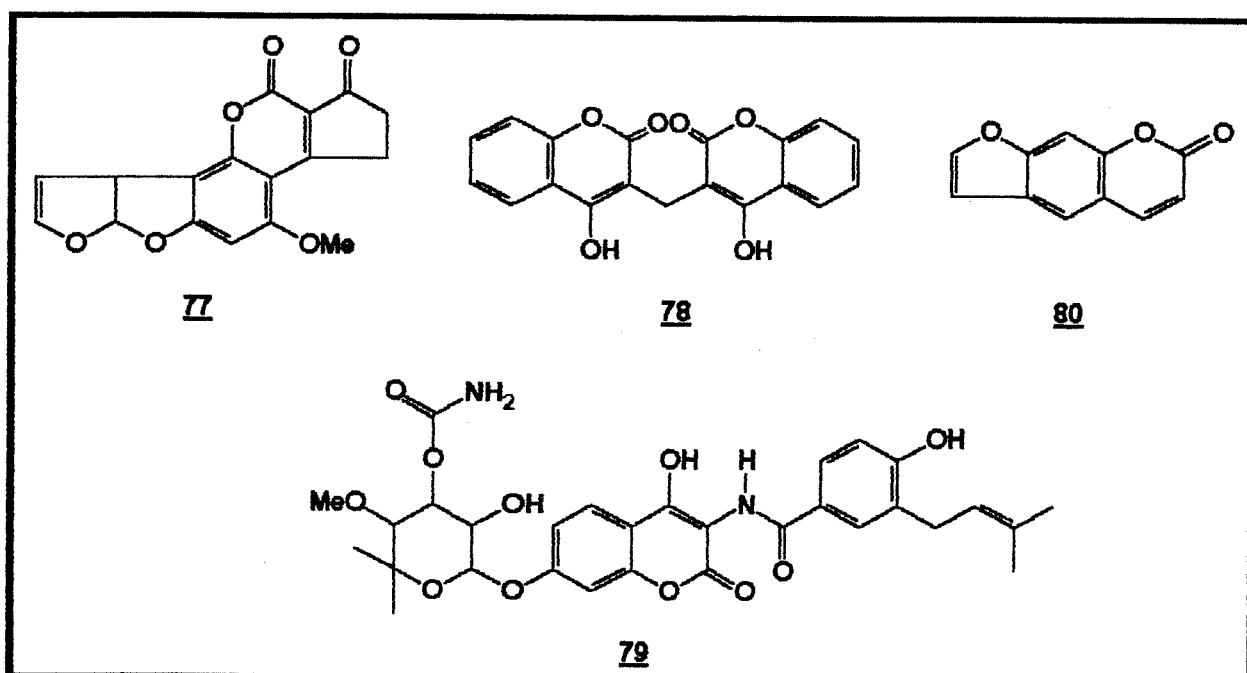


Como já foi mencionado anteriormente, a maioria das plantas leguminosas produzem "fitoalexinas" (isoflavonóides do tipo "induzido") como defesa contra invasão de fungos e de outros inimigos bióticos ou abióticos. Essas substâncias têm importante papel na prevenção à colonização de fungos em plantas leguminosas.

Além da ação sobre fungos, têm-se observado que alguns isoflavonóides são tóxicos às células de leveduras, enquanto que outros têm atividade antibacteriana ou nematostática, como é o caso do pterocarpano glyceolina (75)<sup>1</sup>. A pulverização com análogos sintéticos de vignafurana (76), uma fitoalexina com estrutura 2-arilbenzofurânica, apresentou resultados animadores, particularmente contra o fungo da ferrugem da folha do feijão - o *Uromyces viciae-fabae*<sup>1</sup>.

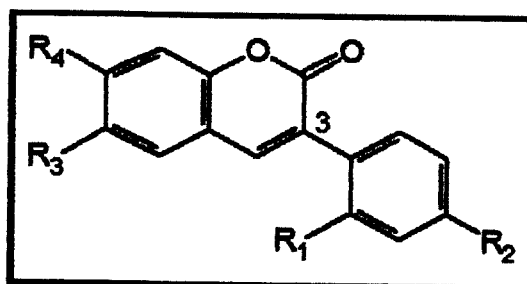


Entre os efeitos fisiológicos exercidos pelas cumarinas estão a hepatotoxicidade aguda e carcinogenicidade de certas aflatoxinas (como AFB<sub>1</sub>, 77), a ação anticoagulante de dicumarol (78), a atividade antibiótica de novobiocina (79) e o efeito fotossensibilizante sobre a pele de furanocumarinas lineares (como o psoraleno (80))<sup>5</sup>.

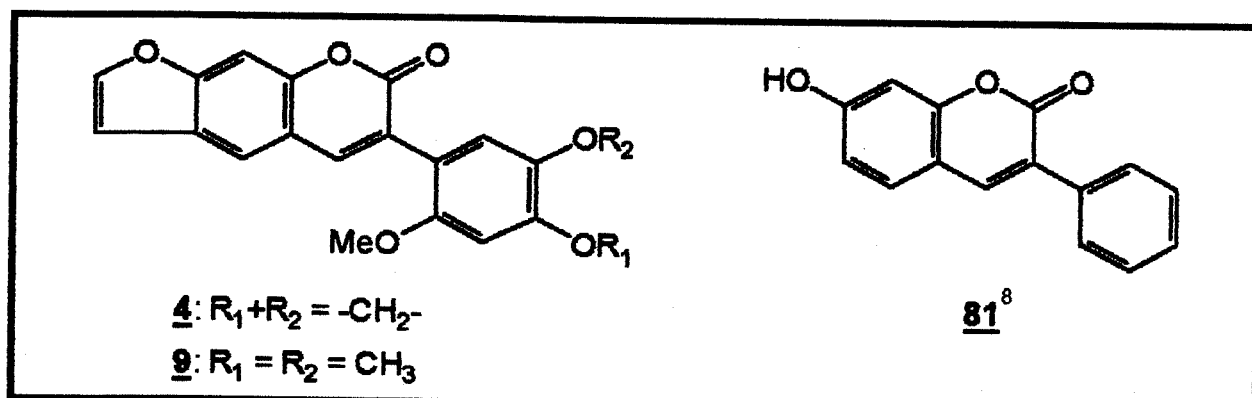


Com relação às 3-fenilcumarinas, uma série delas, incluindo éteres e derivados da cadeia lateral de alta lipofilicidade, foi sintetizada e avaliada "in vitro" e "in vivo" quanto à atividade fungicida<sup>6</sup>. Foram utilizados fungos fitopatogênicos importantes, de diferentes classes taxonômicas (*Colletotrichum*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Uromyces*).

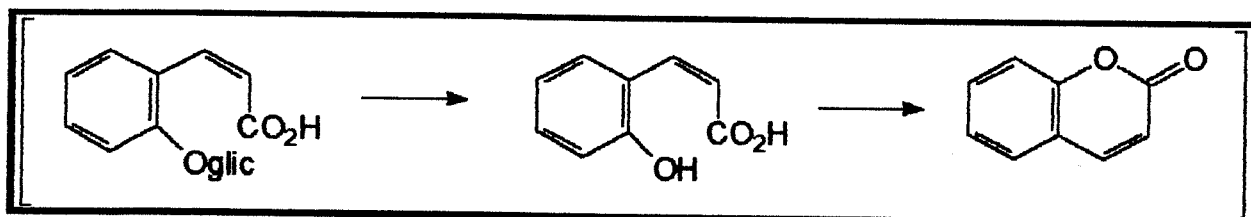
Os resultados indicaram que o aumento da lipofilicidade tinha efeito negativo, diminuindo a ação fungicida e que a OH livre era indispensável para a atividade biológica.



Outro trabalho sobre avaliação biológica de 3-fenilcumarinas foi desenvolvido, envolvendo a atividade bactericida de 3-fenilcumarinas<sup>7</sup>, duas delas isoladas de *Pachyrhizus tuberosus* (sementes pretas) - a 4 e a 9 - e uma que foi sintetizada, sendo representada pela estrutura 81<sup>8</sup>. O que se constatou foi que a substância 9 apresentou uma ação mais potente contra vários tipos de bactérias, como: *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Bacillus* e *Staphylococcus*<sup>7</sup>.



As 3-fenilcumarinas são isoflavonóides que têm um alto grau de oxidação. Estruturalmente, o núcleo benzopirona pode ser considerado como um derivado do ácido 2'-hidróxicinâmico, formado pela lactonização das funções carboxila e 2'-hidróxi<sup>5</sup>. Como tal, o núcleo da cumarina é de origem fenilpropanóide, tendo o anel benzênico ( $C_6$ ) ligado à cadeia lateral ( $C_3$ ).



Mas, as 3-fenilcumarinas são as únicas que apresentam o núcleo benzopirona derivado de 2 caminhos biossintéticos - via shikimato/chorismato e via policetídic<sup>5</sup>.

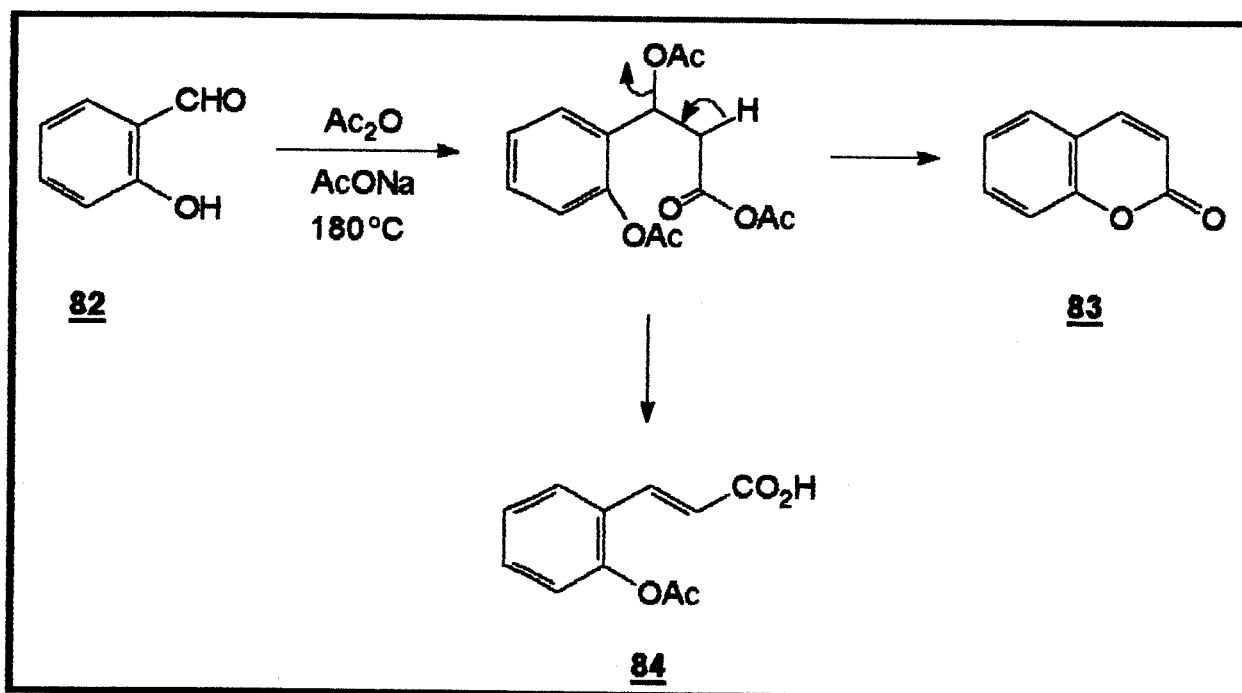
A síntese total de inúmeras cumarinas naturais tem demonstrado que a etapa-chave, em muitos casos, é a da formação do anel pirona. Em algumas sínteses em que se requer a presença de substituintes fenólicos nos anéis aromáticos A e B, estes são introduzidos nos anéis antes da formação do anel pirona. Em outros casos, o núcleo cumarínico é formado primeiro, seguido pelas etapas de oxigenação, C- ou O- alquilação e criação de anéis adicionais<sup>5</sup>.

### Formação do anel pirona

Novas abordagens foram adotadas para a formação do anel pirona, desde que a sua síntese foi desenvolvida por Perkin em 1868. Agora parte-se de fenóis adequadamente substituídos e o tipo de substituinte do anel pirona da cumarina a ser sintetizada, determina o tipo de reagente necessário para a condensação e, também, o tipo de grupo acila a ser introduzido *orto* à OH fenólica para facilitar a formação do anel pirona<sup>5</sup>.

### Anel pirona não substituído

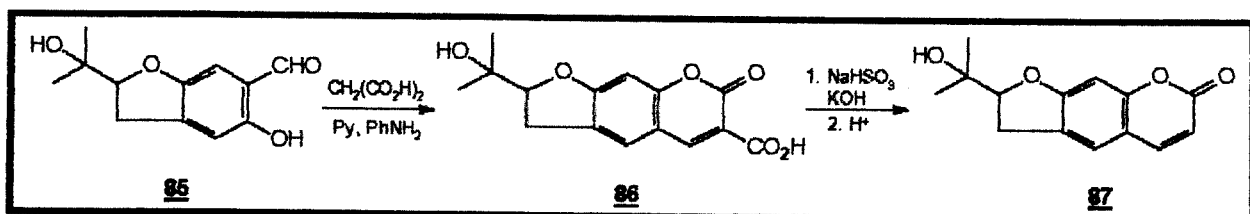
Na reação clássica de Perkin, o *o*-hidróxibenzaldeído (**82**) é aquecido com anidrido acético e acetato de sódio, a 180 °C. O ion acetato gera um enolato (a partir do anidrido acético), que adiciona à carbonila aldeídica e é "trapeado" como acetato. A reação produz a cumarina **83** e o ácido *o*-acetóxicinâmico **84**, após eliminação de ácido acético (Esquema 1).



ESQUEMA 1 - Rota sintética desenvolvida por Perkin.

As duas principais dificuldades encontradas no método de Perkin estão na preparação dos *o*-hidróxibenzaldeídos adequadamente substituídos e os baixos rendimentos observados em alguns casos.

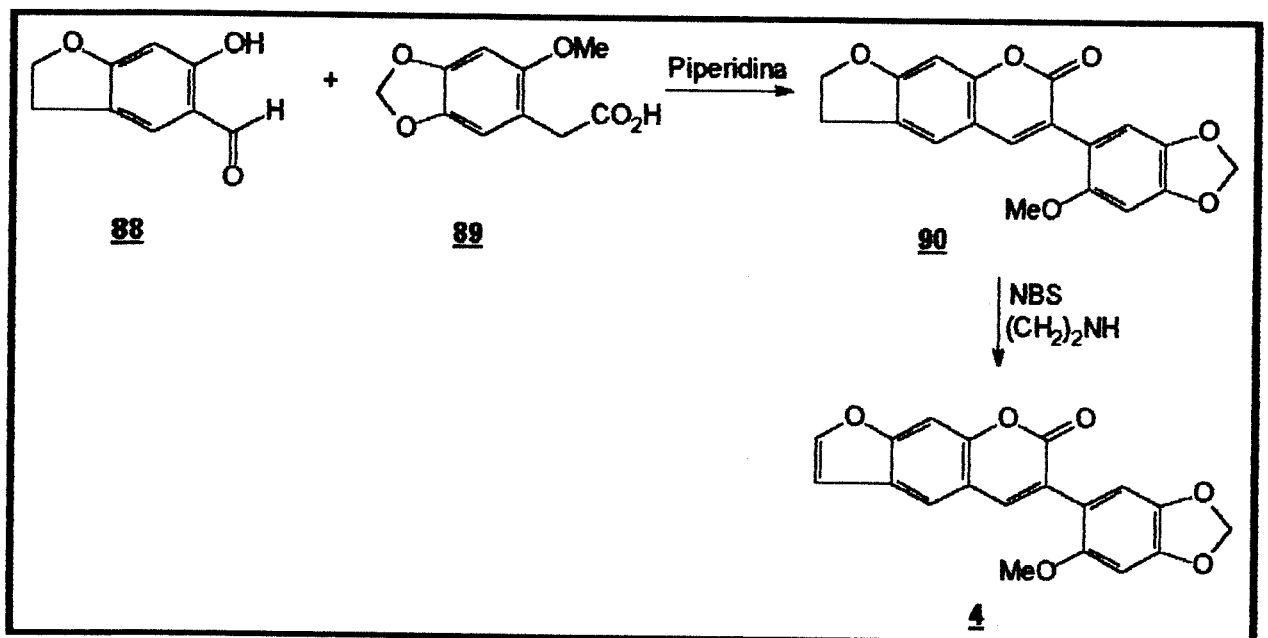
Um método mais suave, em duas etapas, envolve a condensação do *o*-hidróxibenzaldeído **85** com o ácido malônico, em presença de piridina e anilina à temperatura ambiente. A cumarina **86** obtida com bom rendimento, é então descarboxilada<sup>5</sup> (Esquema 2).

ESQUEMA 2 - Rota sintética proposta para diidrofuranocumarina **87**.

Os aldeídos usados nessas sínteses são obtidos a partir da formilação dos fenóis correspondentes, utilizando-se o método de Gatterman ( $\text{Zn}(\text{CN})_2/\text{AlCl}_3$ )<sup>9</sup> ou de Vielsmeier ( $\text{DMF}/\text{POCl}_3$ )<sup>9</sup>.

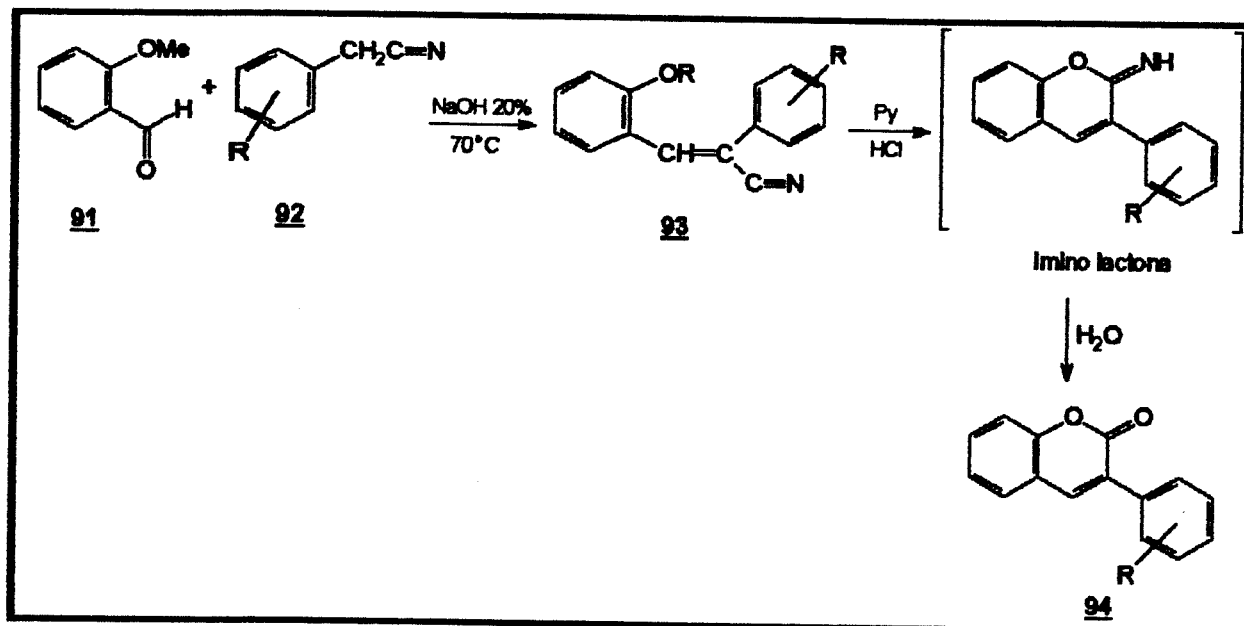
## 3-fenilcumarinas

Na síntese de pachyrhizina (**4**) foram empregados o aldeído 5-formil-6-hidróxicumarano (**88**) e o ácido 2-metóxi-4,5-metilenodioxifenilacético (**89**), que foram condensados na presença de piperidina fornecendo a diidropachyrhizina **90**. Desta, após deidrogenação pela N-bromosuccinimida/dimetilamina, originou a pachyrhizina (**4**)<sup>10</sup> (Esquema 3).



ESQUEMA 3 - Rota sintética para a obtenção de pachyrhizina (**4**).

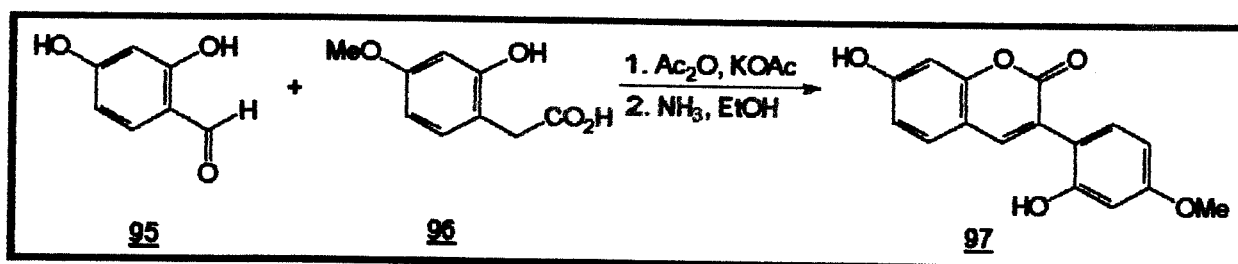
Outra rota para se obter 3-fenilcumarinas foi utilizada por Buu-Hoi et al.<sup>11</sup>, que consistia na condensação de 2-metóxi-benzaldeído (**91**) e fenilacetoneitrilas **92**, para dar acriloneitrilas **93**, seguida de demetilação e ciclização em presença de piridina e ácido clorídrico, originando a 3-fenilcumarina **94** (Esquema 4).



ESQUEMA 4 - Proposta de síntese para 3-fenilcumarinas substituídas no anel B.

Esse método foi adotado para obter 3-fenilcumarinas substituídas nos anéis A e B por vários grupos fenólicos, as quais apresentam interesse farmacológico como espasmolítico.

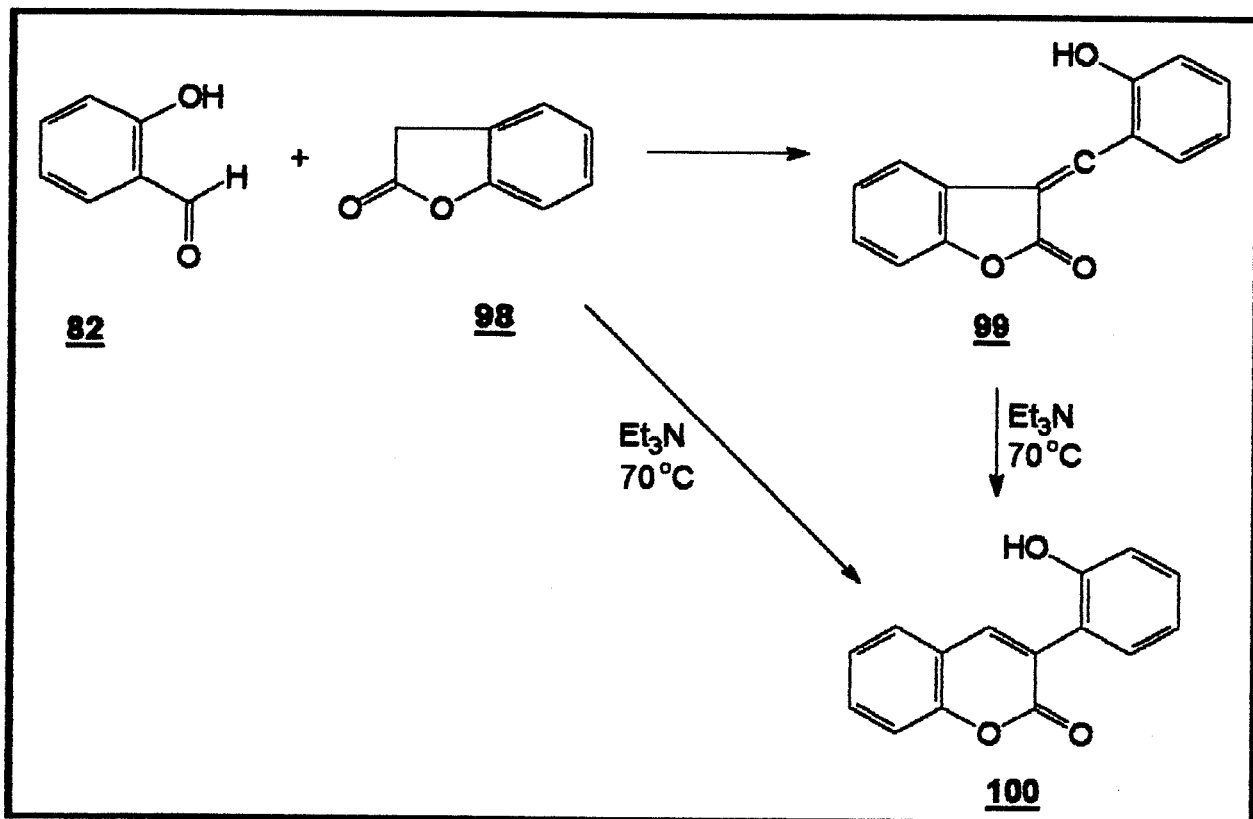
Na reação de Perkin-Oglialoro<sup>8</sup> utilizou-se a condensação do tipo Knoevenagel entre o 2,4-dihidróxibenzaldeído (95) e o ácido 2-hidróxi-4-metóxi-1-fenilacético (96), em presença de anidrido acético e acetato de potássio, obtendo-se após deacilação por NH<sub>3</sub>/EtOH, a 2',7-dihidróxi-4'-metóxicumarina (97) (Esquema 5).



ESQUEMA 5 - Reação de condensação do tipo Knoevenagel.

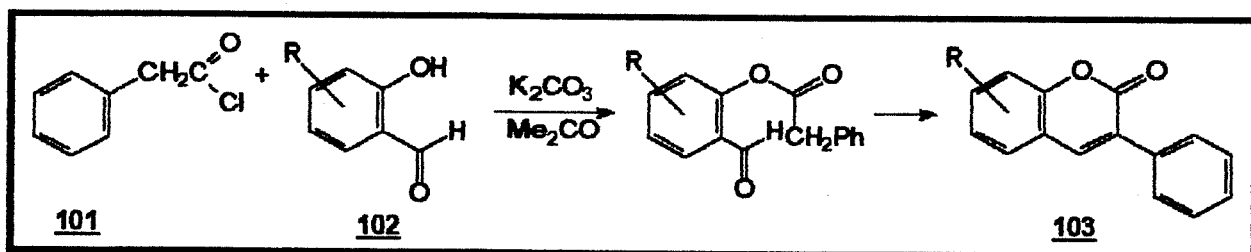
Um procedimento alternativo foi utilizado por Walter et al.<sup>12</sup>, ao usar o *o*-hidróxibenzaldeído (82) e a benzofuran-2-ona (98) em presença de trietilamina, que resultou na cumarina 100 (Esquema 6).





ESQUEMA 6 - Reação de condensação entre benzofuranona e o *o*-hidróxibenzaldeído.

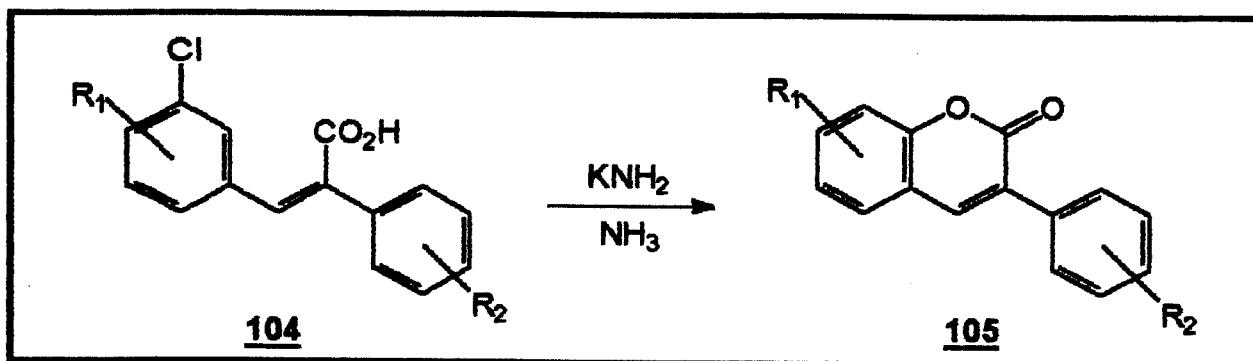
A condensação de Kostanecki catalizada por base<sup>13</sup> é usada na reação entre o cloreto de fenacetila (**101**) com vários *o*-hidróxibenzaldeídos substituídos **102**, em presença de carbonato de potássio em acetona, fornecendo 3-fenilcumarinas com o anel A substituído **103**. Esta rota sintética não é aplicada para a obtenção de 3-fenilcumarinas com o anel B substituído (Esquema 7).



ESQUEMA 7 - Rota sintética para obtenção de 3-fenilcumarina com anel A substituído.

Uma rota de síntese pouco utilizada é a que emprega ácidos  $\alpha$ -cinâmico halogenados **104**, os quais são tratados com amideto de potássio em amônia líquida<sup>14</sup>. Tanto

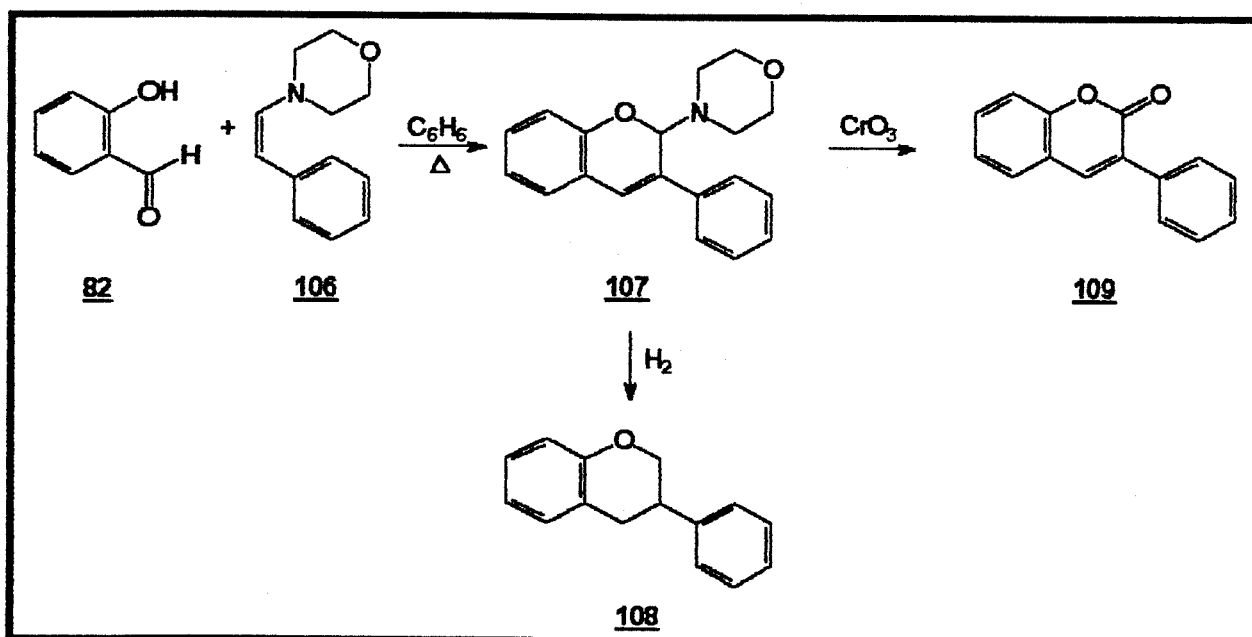
os isômeros *cis* como *trans* dão os mesmos produtos, que provavelmente passam por um intermediário tipo benzino, resultando nas 3-fenilcumarinas **105** (Esquema 8).



ESQUEMA 8 - Obtenção de 3-fenilcumarinas a partir de ácidos  $\alpha$ -cinâmicos halogenados.

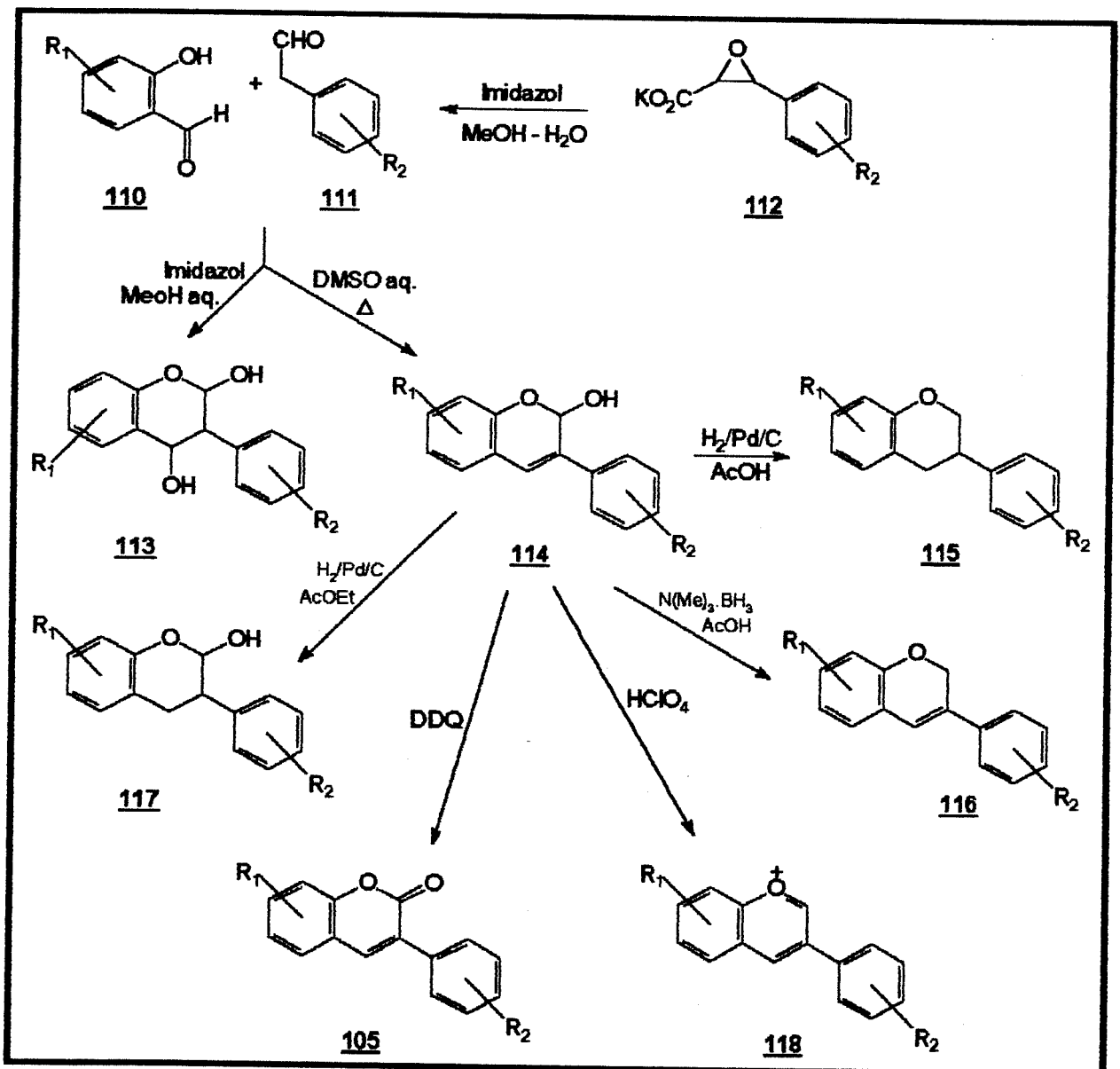
Dois derivados de isoflav-3-enos são muito úteis como intermediários na síntese de outros isoflavonóides.

1. A reação entre N-estirilmorfolina (**106**) e o *o*-hidróxibenzaldeído (**82**) passa pelo intermediário enamima **107**, que pode ser reduzido à isoflavana **108** ou oxidado à 3-fenilcumarina **109**<sup>15</sup> (Esquema 9).



ESQUEMA 9 - Rota sintética para obtenção de 3-fenilcumarinas a partir de derivados de isoflav-3-enos.

2. Condensação de *o*-hidróxibenzaldeídos **110** com fenilacetaldéidos **111**, gerados no local da reação a partir de sal de arilglicidato **112**, que fornece, dependendo das condições empregadas, 2,4-dihidróxiisoflavanos **113** ou 2-hidróxiisoflavenos **114**<sup>16</sup>. Os 2-hidróxiisoflavenos são intermediários valiosos, capazes de serem convertidos à isoflavanos **115**, isoflavenos **116**, 2-hidróxiisoflavanos **117**, 3-fenilcumarinas **105** ou tonflavilium **118**. No esquema 10 estão as sequências reacionais que levam à formação de diferentes isoflavonóides com substituintes oxigenados nos anéis A e B.



ESQUEMA 10 - 2-hidróxiisoflavenos como intermediários para a síntese de outros isoflavonóides.

## II - OBJETIVOS

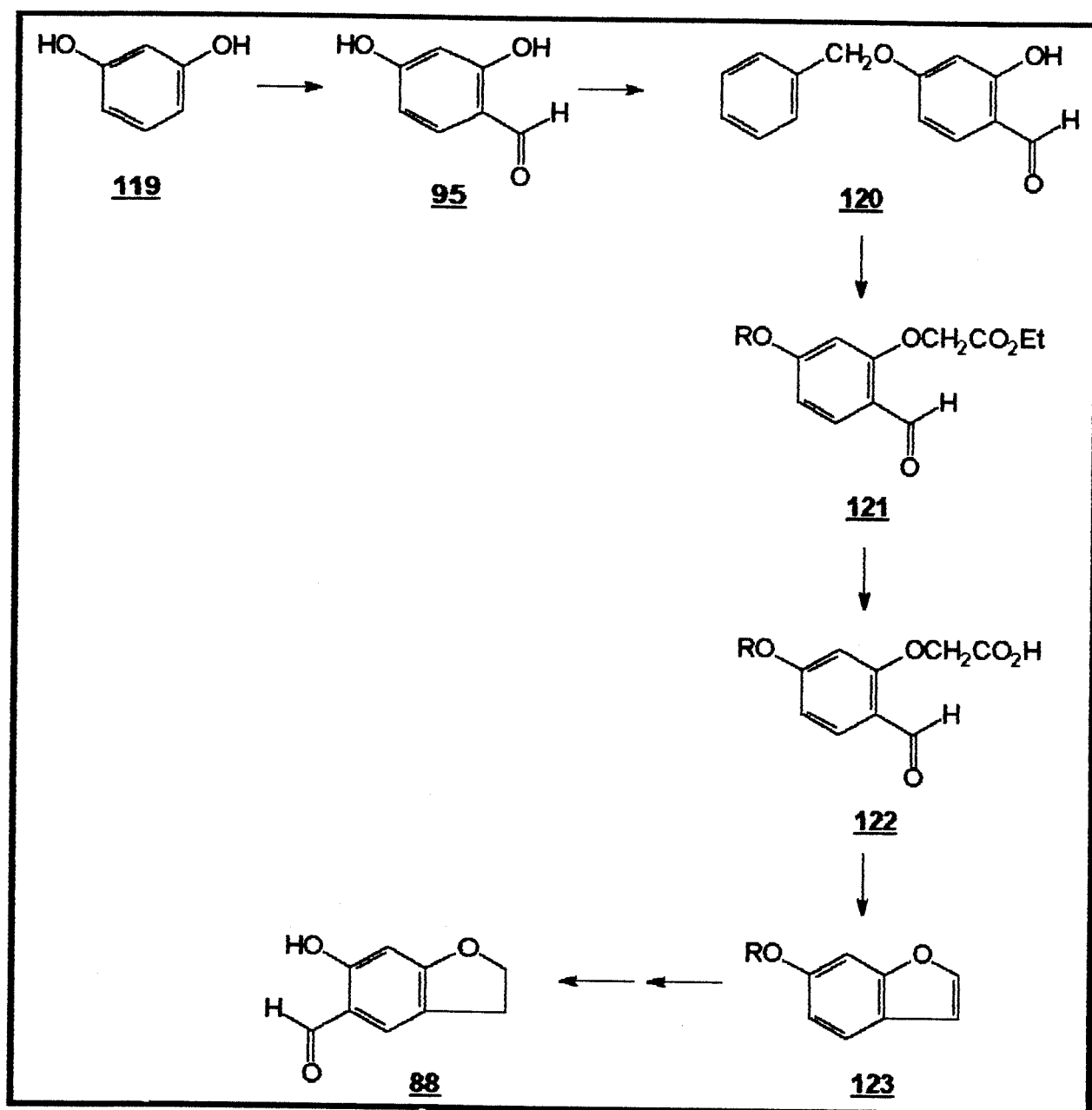
Um pequeno número de 3-fenilcumarinas é encontrado na natureza, em particular na família Leguminosae<sup>17</sup>. Interessou-nos desde o início do nosso trabalho obtermos maiores quantidades e mais variedades estruturais destes compostos via síntese, a fim de submetê-los a ensaios biológicos utilizando-se fungos e bactérias fitopatogênicos visando a proteção de plantas.

A proposta de síntese da 3-fenilcumarina **9** (que anteriormente já havia apresentado ação potente na inibição do crescimento de bactérias) e do seu derivado reduzido, foi baseada no trabalho desenvolvido por Liepa<sup>16</sup>. Por esta rota sintética seriam obtidos tanto a 3-fenilcumarina **9** como também o isoflaveno correspondente, através de reações de transformação do intermediário do tipo 2-hidróxiisoflaveno **114** (Esquema 10).

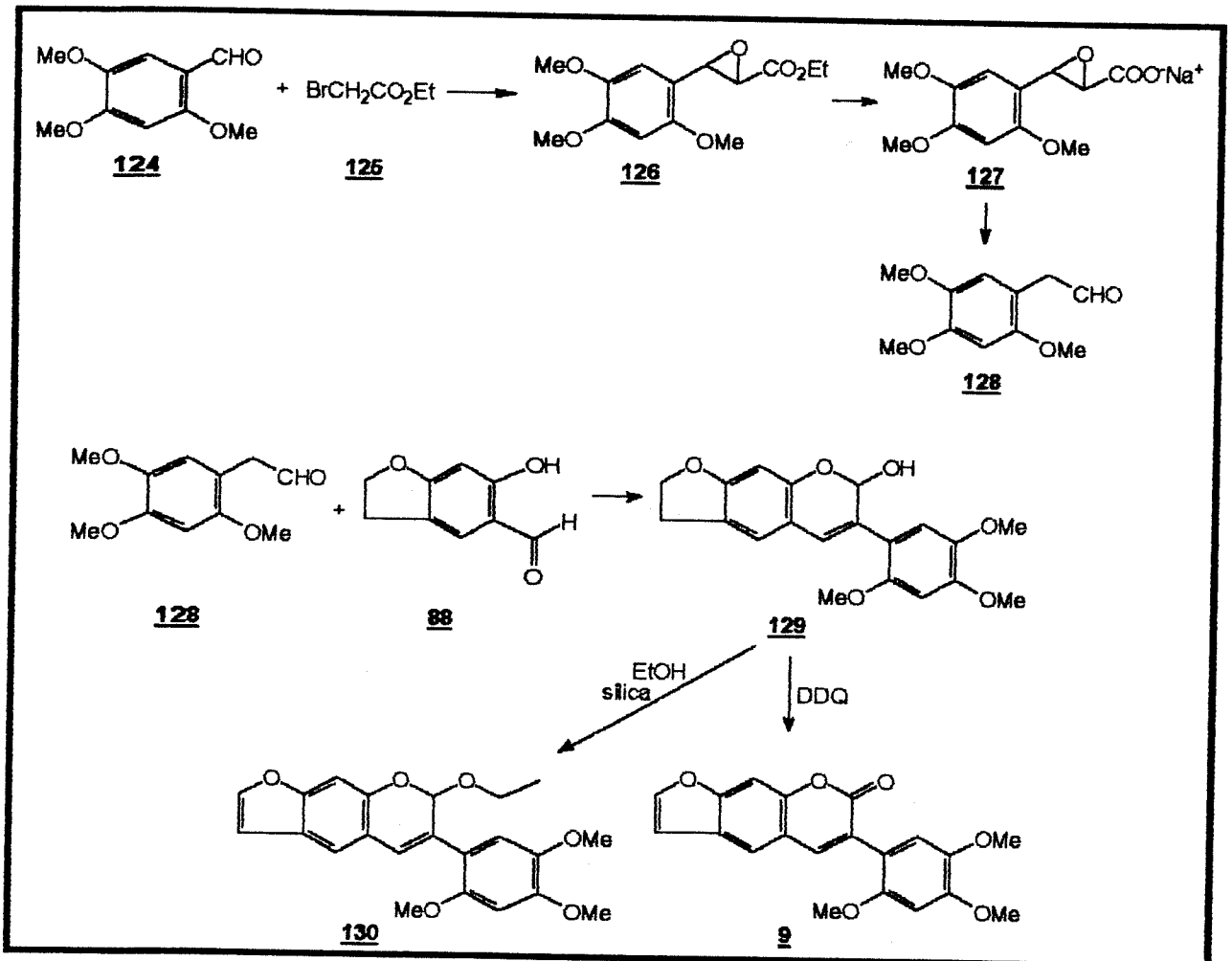
Propusemo-nos a preparar o derivado de *o*-hidróxi benzaldeído adequado, para se ter o anel A com o substituinte desejado. Também estava incluído a transformação do produto comercial 2,4,5-trimetóxi benzaldeído (**124**) no arilglicidato correspondente, para que numa última sequência de reações obtivéssemos os produtos de condensação destes reagentes, com anéis A e B substituídos como na substância **9** (Esquemas 11 e 12).

A primeira etapa da tentativa de síntese foi iniciada tendo como objetivo a obtenção do reagente 5-formil-6-hidróxicumarano (**88**), utilizado anteriormente na síntese de pachyrhizina (**4**)<sup>10</sup> e de pachyrhizona (**2**)<sup>18</sup>, as quais também apresentam um anel furano fundido linearmente aos anéis A e D, respectivamente. Para a síntese do reagente **88** utilizou-se o método empregado por Horning et al.<sup>19</sup> na síntese de furocumarinas e por Davies et al.<sup>20</sup> na síntese de furanocromenos lineares.

Arilacetaldéidos são relativamente instáveis<sup>16,21</sup> e decidiu-se tentar a utilização de um precursor, o qual poderia ser gradualmente transformado "in situ", em condições adequadas de reação. Essas transformações foram adotadas anteriormente por Konda et al.<sup>22</sup> na síntese de isoquinolina, a qual foi efetuada a partir do tratamento de 2-feniletilamina com sais de arilglicidatos em soluções aquosas (pH = 4). Na síntese de 2-hidróxiisoflavenos Liepa<sup>16</sup> também se utilizou desta transformação para obter o fenil acetaldéido adequado para a reação de condensação.

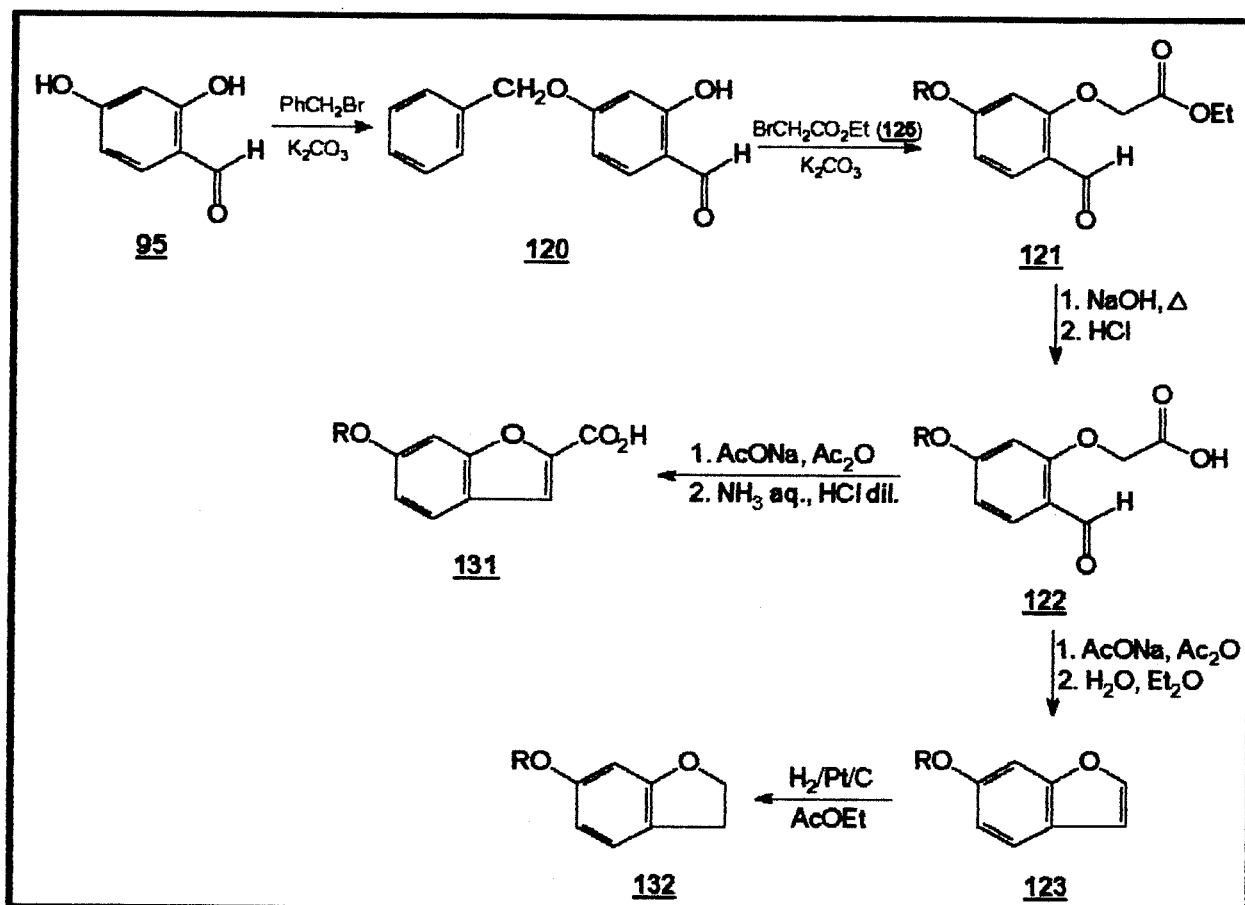


ESQUEMA 11 - Síntese de 5-formil-6-hidróxicumarano (88).

ESQUEMA 12 - Proposta de síntese para as substâncias **9** e **130**.

## III - RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Rota sintética para a obtenção de 6-benziloxicumarano (**132**) a partir de 2,6-dihidroxibenzaldeído (**95**).

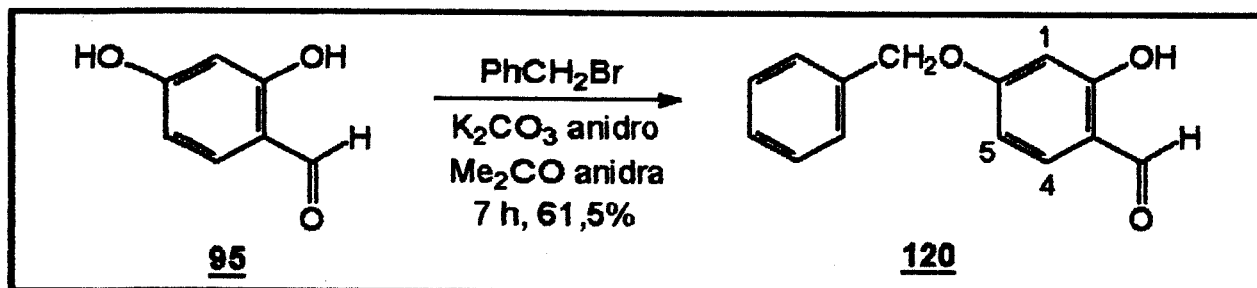


ESQUEMA 13 - Proposta de síntese do intermediário **132** a partir do aldeído **95**.

O 2,6-dihidroxibenzaldeído (**95**) havia sido preparado anteriormente para a obtenção de outras 3-fenilcumarinas mais simples, estando disponível para a primeira tentativa de síntese do reagente **88**.

Para se chegar ao cumarano **132** foi necessário, primeiramente, proteger as hidroxilas fenólicas.

A seletiva proteção do grupo OH em  $\text{C}_6$  do aldeído **95**, foi feita através de uma benzilação com brometo de benzila, obtendo-se um produto bruto que não foi submetido à purificação por não ser essencial para a etapa seguinte.



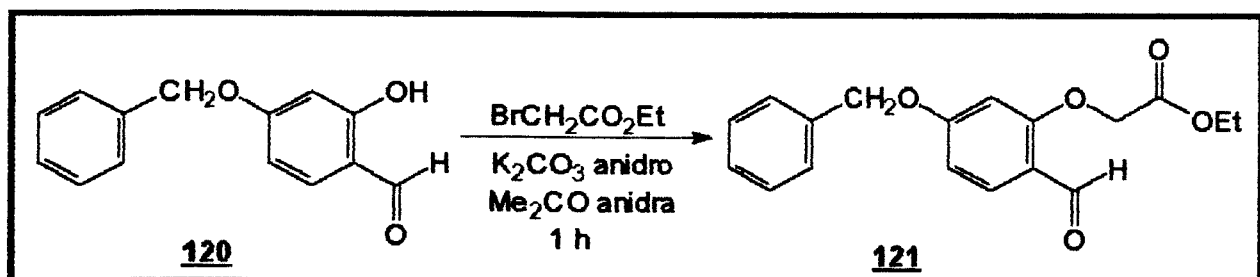
O produto benzilado **120** foi caracterizado pela análise de seus dados espectrais. Na literatura só constava o seu ponto de ebulição<sup>20</sup>.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **120** (E.4) apresentou um singlete a 5,10 δ (2H) e um multiplete a 7,36 δ (5H), atribuídos aos prótons do metileno benzílico e aos prótons do grupo fenila<sup>23</sup>. Os singletos, agudos e intensos, a 9,72 e 11,47 δ, eram indicativos da presença do próton aldeídico e o da hidroxila em ponte com a carbonila.

Os dubletos a 6,51 δ (1H, J = 2,4 Hz) e a 7,43 δ (1H, J = 8,7 Hz) e o duplo dubleto a 6,63 δ (1H, J = 8,7 e 2,4 Hz) foram assinalados para os prótons H<sub>1</sub>, H<sub>4</sub> e H<sub>5</sub> do 6-benxiloxi-2-hidroxibenzaldeído (**120**).

O espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **120** (E.5) confirmou a presença dos carbonos do anel fenila, apresentando a 135,75, 128,81, 128,46 e 127,59 δ os sinais dos carbonos C<sub>1'</sub>, C<sub>2',6'</sub>, C<sub>4'</sub> e C<sub>3',5'</sub>. O pico correspondente ao carbono metilênico sp<sup>3</sup> a 70,36 δ era indicativo do metileno benzílico<sup>24</sup>.

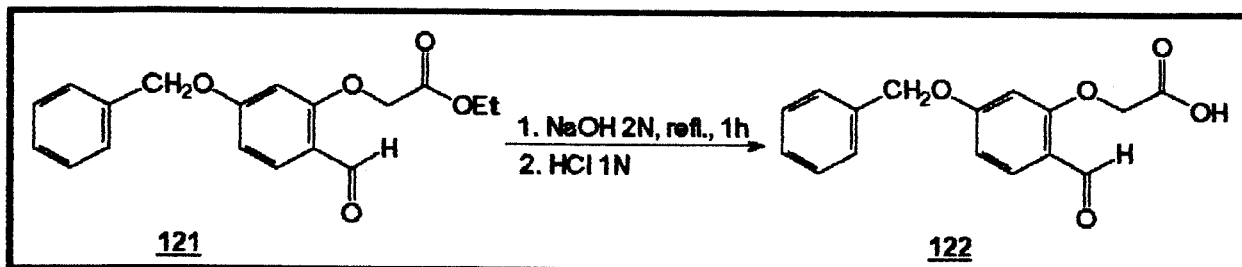
Na etapa seguinte fez-se a proteção do grupo OH em C<sub>2</sub>. Esta reação foi dificultada pela ponte de H formada entre a carbonila em C<sub>3</sub> e a hidroxila em C<sub>2</sub>. O reagente de partida **120** foi recuperado em quantidade apreciável e o rendimento foi baixo (15%).



A reação de eterificação da OH em C<sub>2</sub> foi confirmada ao se analisar o espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **121** (E.9), que apresentou os sinais a 4,69 δ (2H, s), 4,27 δ (2H, q, J = 7,1 Hz) e 1,30 δ (3H, t, J = 7,1 Hz), para os prótons do grupo acetato de etila ligado à OH fenólica em C<sub>2</sub>.

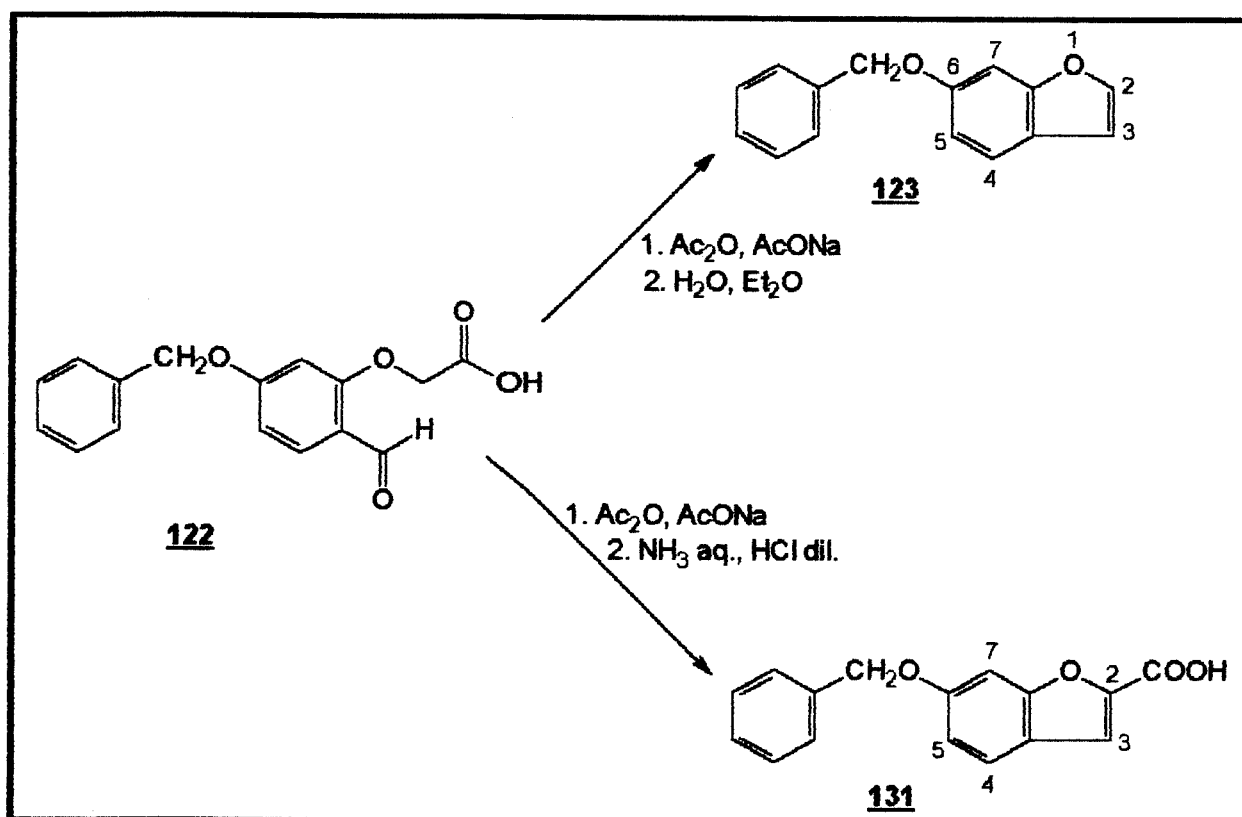


O espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de **121** (E.10) indicou a presença dos sinais para o carbono metínico  $\text{sp}^2$  a 188,16  $\delta$  e para o quaternário  $\text{sp}^2$  a 168,01, que foram atribuídos às carbonilas do aldeído e do éster<sup>24</sup>, respectivamente.



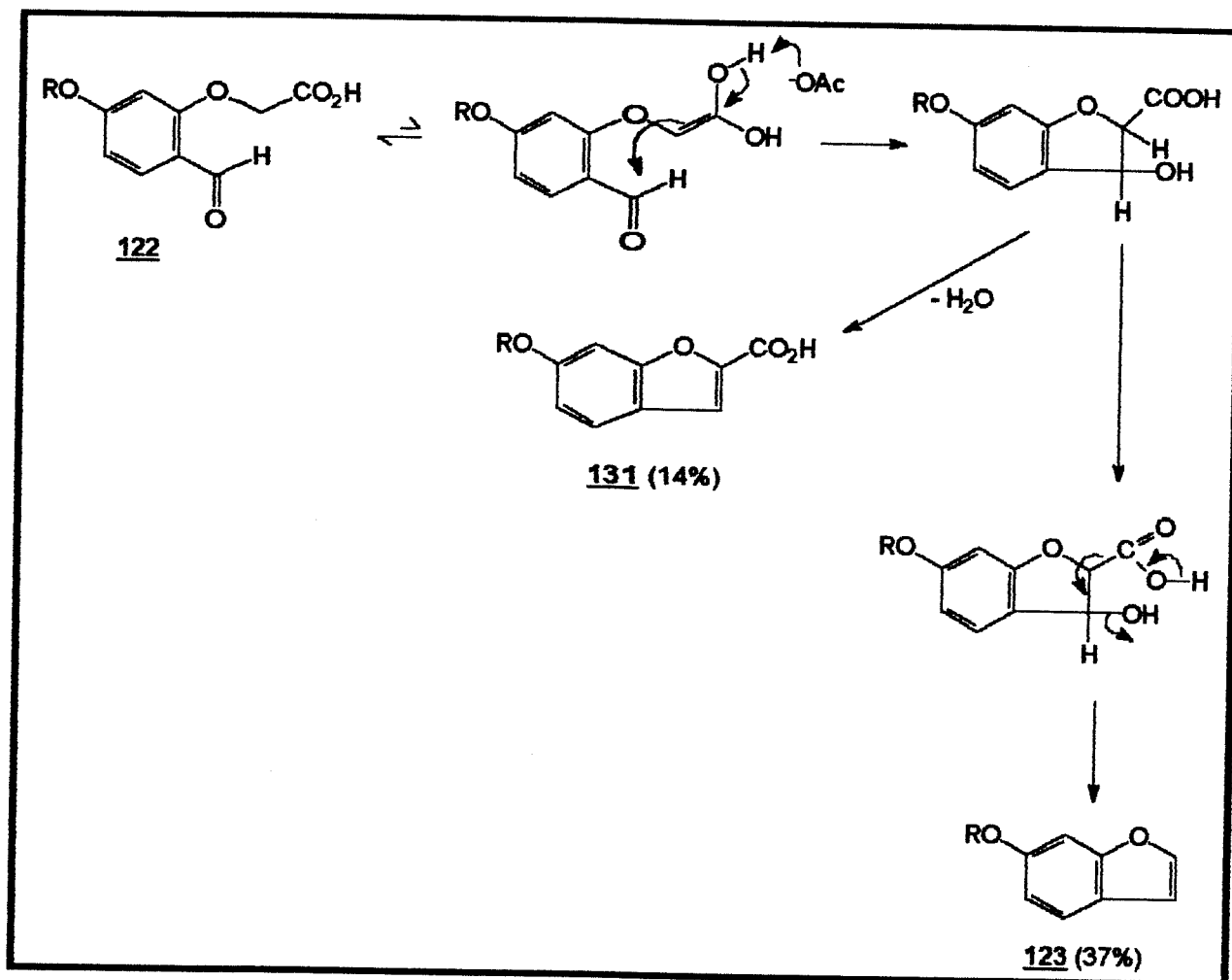
No espectro de RMN- $^1\text{H}$  de **122** (E.14) verificou-se a ausência dos sinais a 4,27  $\delta$  (2H) e a 1,30 (3H), típicos dos prótons de um grupo etila ligado a uma função oxigenada.

O espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (E.15) mostrou os sinais para o carbono do grupo carboxila a 170,07  $\delta$  e para o carbono de uma carbonila aldeídica a 189,68  $\delta$ .



Para a ciclização e descarboxilação de **122**, procedeu-se à agitação, sob refluxo, em presença de anidrido acético e acetato de sódio. Obteve-se dois produtos, sendo

que o furano **123** foi obtido em maior porcentagem que **131**. Para a obtenção desses dois produtos foram propostos os seguintes mecanismos (Esquema 14):



ESQUEMA 14 - Proposta de mecanismo para a formação de **131** e **123**.

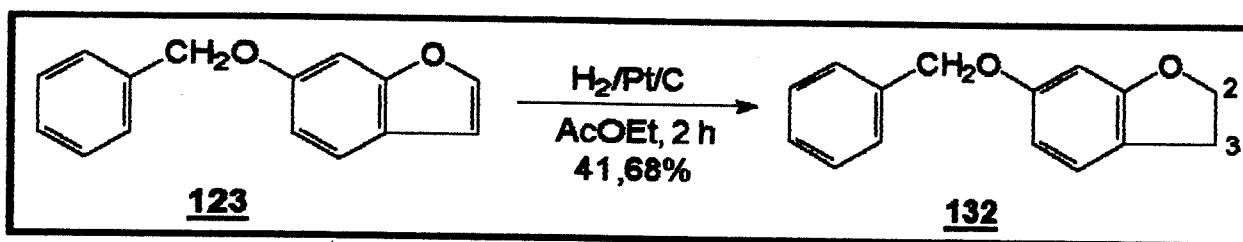
A ciclização de **122**, formando o anel furano em **123**, pôde ser confirmada pela análise do espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.19), que apresentou um dubleto a 7,51 δ (1H, J = 2,2 Hz) e um duplo dubleto a 6,67 δ (1H, J = 2,2 e 1,02 Hz), característico dos prótons H<sub>2</sub> e H<sub>3</sub> do anel furano<sup>25</sup>.

O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.20) mostrou os sinais para os carbonos do anel furano a 144,23 δ (CH) e a 106,35 δ (CH)<sup>26</sup>.

Para o produto **131**, o espectro de RMN-<sup>1</sup>H (E.21) mostrou o dubleto a 7,53 δ (1H, J = 0,8 Hz), atribuído ao próton H<sub>3</sub> de um anel furano substituído no C<sub>2</sub> pelo grupo carboxila.

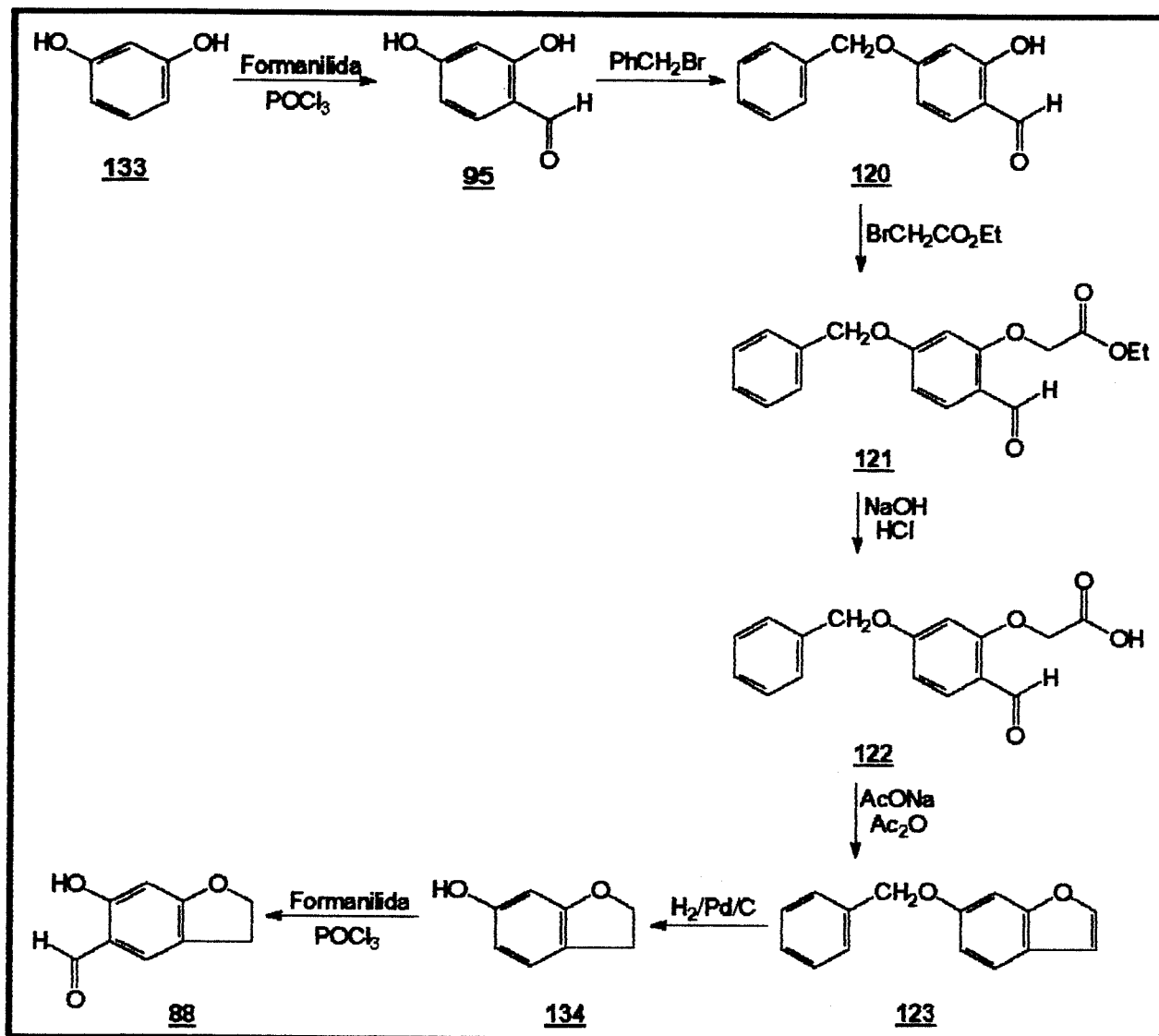
O espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (E.22), apresentou os sinais a 162,90  $\delta$  (C) e a 115,05 (CH), que foram indicativos da presença dos carbonos  $\text{C}_2$  e  $\text{C}_3$  do anel furano substituído no  $\text{C}_2$  por uma carboxila. Um pico de baixa intensidade a 174,44  $\delta$  confirmou a presença do carbono de um grupo carboxila.

A redução do anel furano de 123 foi realizada em presença de catalisador Pt/C, em um hidrogenador com pressão de 15 psi.

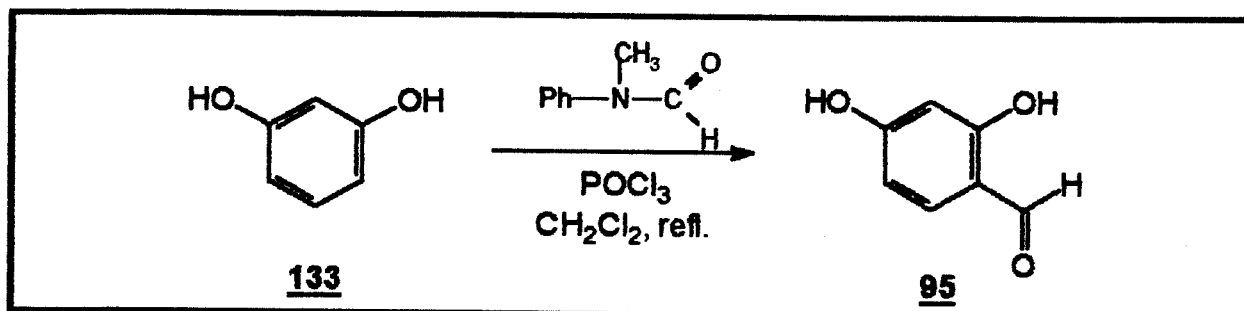


A reação de hidrogenação de 123 produziu o diidrofurano (ou cumarano) 132, que apresentou no espectro de RMN- $^1\text{H}$  (E.26) os tripletos a 4,57  $\delta$  (2H,  $J = 8,78$  Hz) e a 3,13  $\delta$  (2H,  $J = 8,78$  Hz) para os prótons  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$ . Os sinais a 70,25  $\delta$  ( $\text{CH}_2$ ) e a 29,06  $\delta$  ( $\text{CH}_2$ ) no espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (E.27), confirmaram a presença dos carbonos metilênicos  $\text{sp}^3$  do anel diidrofurano.

Nesta primeira etapa conseguiu-se chegar à obtenção do cumarano 132 em quantidade insuficiente para se proceder à reação de formilação, não se obtendo o reagente 88.

2. Rota sintética para a obtenção de 5-formil-6-hidroxicumarano (**88**).ESQUEMA 15 - Proposta de síntese para o 5-formil-6-hidroxicumarano (**88**).

Nessa etapa foi necessário proceder à formilação do resorcinol (**133**)<sup>9</sup>, para se obter o resorcilaldeído (**95**) em maior quantidade para se chegar ao reagente **88**.



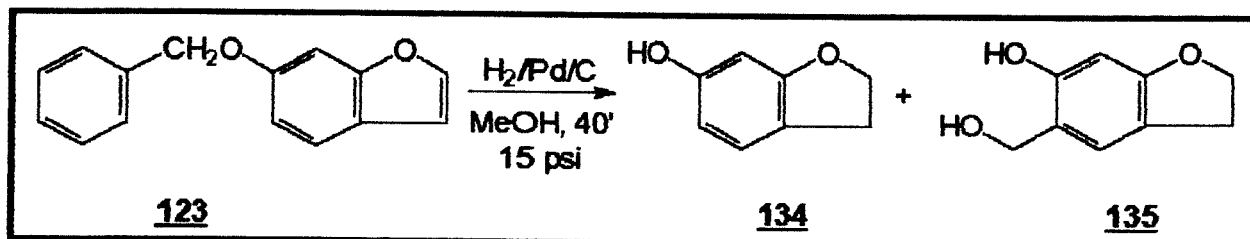
Essa reação forneceu uma mistura de resorcilaldeído (95) e formanilida difícil de ser separada. Após inúmeras tentativas de purificação (recristalizações sucessivas em Éter de petróleo/ $\text{Et}_2\text{O}$ ) observava-se que cristais amarelo-escuros ficavam contaminados por uma substância oleosa. Após purificação por C.C.P. (em  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  2%) de 0,10 g da mistura obteve-se os componentes puros e que foram identificados por análises espectrais.

O produto 95 apresentou no espectro de RMN- $^1\text{H}$  (E.29) dois singletos, agudos e intensos, a 9,70 e 11,4  $\delta$ , que foram assinalados para os prótons do aldeído e da hidroxila em ponte com a carbonila, respectivamente. Mostrou também os sinais a 6,39  $\delta$  (1H, d,  $J = 2,2$  Hz), 6,49  $\delta$  (1H, dd,  $J = 8,5$  e 2,2 Hz) e a 7,42  $\delta$  (1H, d,  $J = 8,5$  Hz), atribuídos aos prótons  $\text{H}_1$ ,  $\text{H}_5$  e  $\text{H}_4$ , respectivamente.

As reações de proteção das duas hidroxilas fenólicas foram realizadas com a mistura resorcilaldeído + formanilida. Seguiu-se a metodologia adotada anteriormente obtendo-se o produto 121, que por hidrólise forneceu o ácido fenóxiacético 122 com um rendimento melhor (78,97%) do que o obtido na 1ª etapa (49,64%).

Da reação de ciclização foi obtido apenas a cumarona 123 com 68,57% de rendimento.

Para a redução da cumarona 123 foi utilizado o catalisador Pd/C, que se mostrou mais potente que Pt/C, porque além de reduzir o anel furano também desprotegeu a OH fenólica através de uma hidrogenólise. Devido ao uso de MeOH como solvente, obteve-se também o produto de adição do MeOH ao anel aromático.

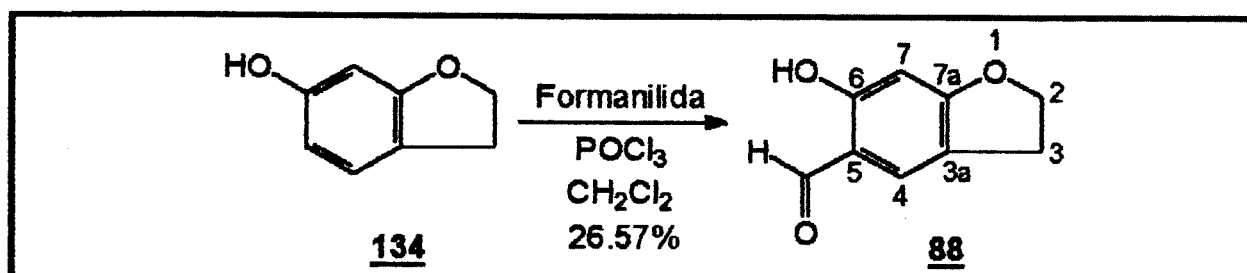


O espectro de RMN- $^1\text{H}$  de 134 (E.30) apresentou dois tripletos a 4,55  $\delta$  (2H,  $J = 8,0$  Hz) e a 3,07  $\delta$  (2H,  $J = 8,0$  Hz), atribuídos aos prótons  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_3$  do anel diidrofurano e

um singlete largo a 6,20  $\delta$  (1H), assinalado para o próton da OH fenólica em C<sub>6</sub>. Estes sinais são compatíveis com os encontrados na literatura para 134<sup>27</sup>.

O espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.31) mostrou sinais para dois carbonos metilênicos sp<sup>3</sup> a 72,11 e 28,99  $\delta$ , que foram assinalados para os carbonos C<sub>2</sub> e C<sub>3</sub> do anel diidrofurano.

Na reação de formilação de 134 empregou-se as mesmas condições adotadas para a obtenção do resorcilaldeído (95).



O espectro de I.V. de 88 (E.36) mostrou as absorções a 3422,2-2744,4 cm<sup>-1</sup> (O-H) e a 1640,0 cm<sup>-1</sup> (C=O), que caracterizou os grupos hidroxila e carbonila que encontravam-se quelados. Na literatura, o único dado espectroscópico encontrado para 88 era o relativo à absorção da carbonila no espectro de I.V.<sup>28</sup>, que também absorvia a 1640,0 cm<sup>-1</sup>.

O espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 88 (E.37) apresentou dois singletos, agudos e intensos, a 9,65  $\delta$  (1H) e a 11,72  $\delta$  (1H) referentes ao próton do aldeído e ao da hidroxila quelada à carbonila. Na região aromática do espectro aparecia dois singletos, a 6,36  $\delta$  (1H) e a 7,29  $\delta$  (H), indicativos da presença dos prótons H<sub>7</sub> e H<sub>4</sub>, respectivamente.

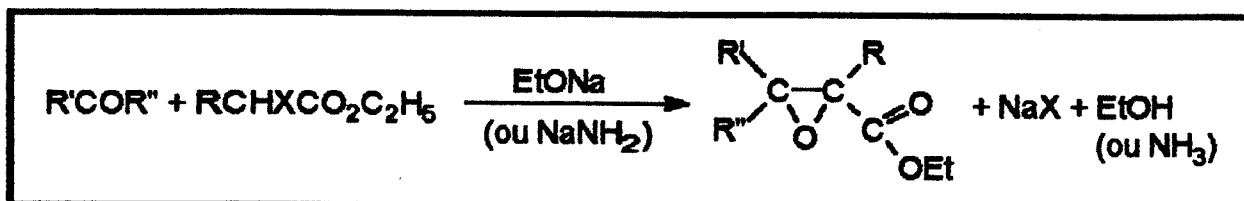
A carbonila aldeídica foi caracterizada no espectro de RMN-<sup>13</sup>C (E.38), que mostrou um pico para o carbono metínico sp<sup>2</sup> a 194,10  $\delta$ .

### 3. Obtenção de 2,4,5-trimetóxiciglicidato de sódio (127) a partir do reagente 2,4,5-trimetóxicibenzaldeído (124).

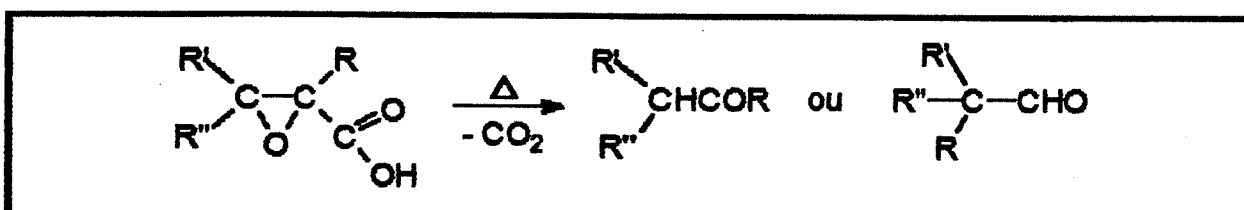
Para aumentar a cadeia carbônica do aldeído 124 a fim de se obter o reagente 128, utilizou-se como estratégia a formação de um intermediário do tipo fenilglicidato, que posteriormente sob condições adequadas de reação seria transformado no fenilacetaldeído 128<sup>16</sup>.

A primeira tentativa para a obtenção do intermediário 126 foi feita a partir da reação de condensação entre o reagente 124 e o haloéster 125. Este tipo de reação é conhecido na literatura como reação de condensação de Darzen<sup>29,30</sup> e, que produz um  $\alpha,\beta$ -

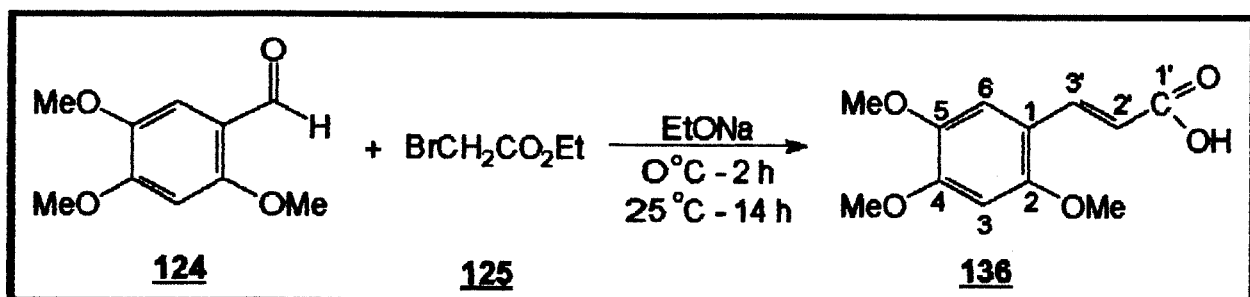
epóxiéster (ou éster glicídico). As bases usualmente empregadas são  $\text{EtO}^-$  ( $\text{EtONa}$ ) e  $\text{NH}_2^-$  ( $\text{NaNH}_2$ ).



Os ésteres glicídicos são convertidos a aldeídos ou cetonas tendo um carbono a mais que os de partida. Essa transformação ocorre após a hidrólise e descarboxilação dos epóxiácidos.



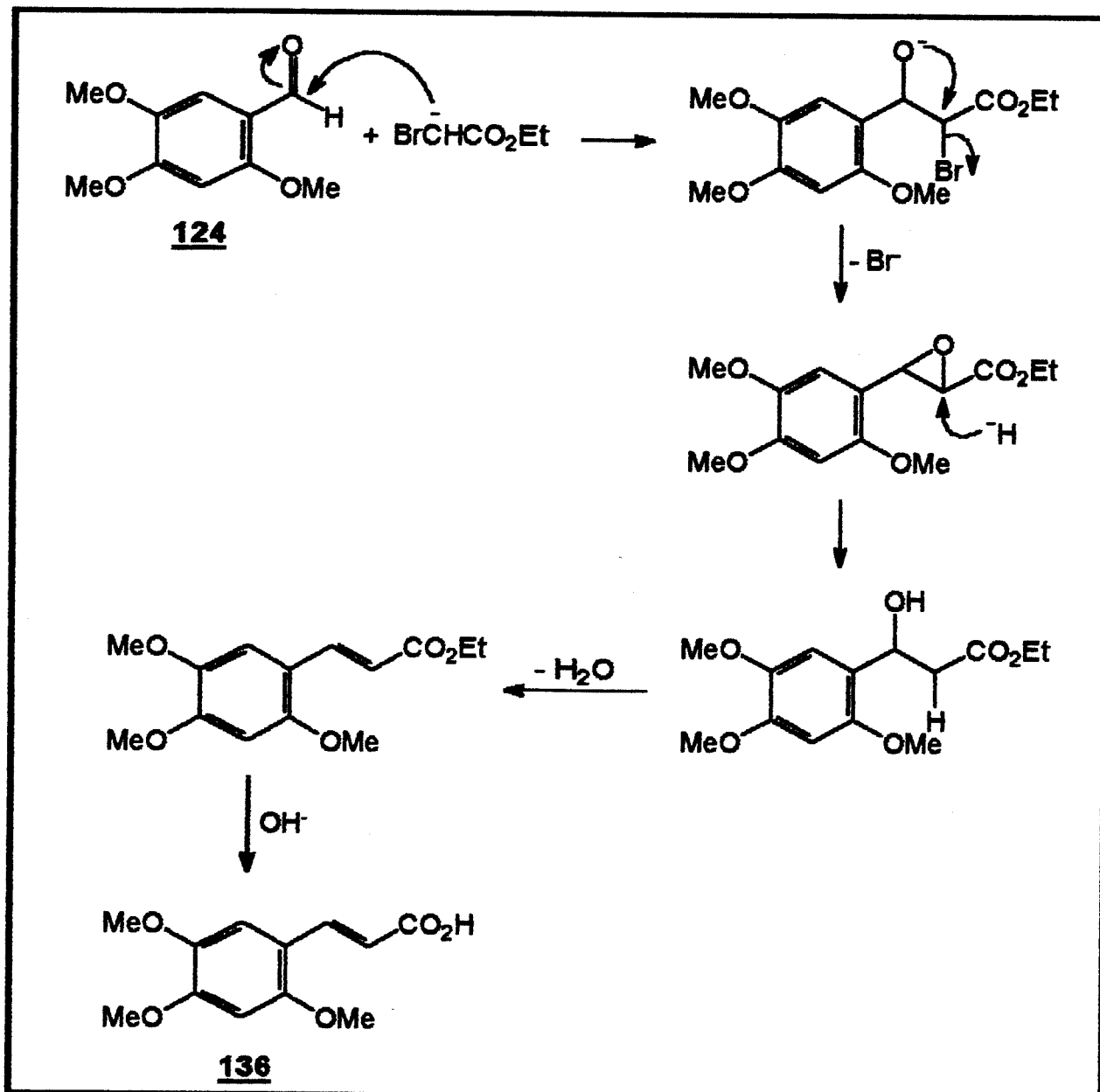
Mas, ao se proceder a este tipo de reação utilizando-se os reagentes 124 e 125 obteve-se o composto 136, ao invés do nosso desejado produto (glicidato). Este composto após purificação por C.C.P. apresentava-se como um material oleoso fortemente colorido (alaranjado). Isso era observado principalmente no espectro de U.V. (E.39) que mostrava absorção máxima a 406,8 (3,89) nm, próprio de um cromóforo que tem alto grau de conjugação de elétrons<sup>23</sup>.



O espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 136 (E.41) apresentou dois dupletos, com  $J = 16,0$  Hz, a 7,14 e 8,05  $\delta$ , atribuídos aos prótons olefinicos *trans*<sup>23</sup>  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_3'$ , respectivamente.

O espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (E.42) confirmou a presença do ácido  $\alpha,\beta$ -insaturado ligado a  $\text{C}_1$ , através dos sinais a 137,53  $\delta$  (CH), 124,04 (CH) e 189,68 (C=O), que foram atribuídos aos carbonos  $\text{C}_3'$ ,  $\text{C}_2'$  e  $\text{C}_1'$ , respectivamente<sup>24,31</sup>.

Para a formação desse derivado cinâmico propôs-se o mecanismo de reação, onde o hidreto ( $\text{H}^-$ ) seria liberado a partir de uma reação lateral do tipo Cannizzaro (Esquema 16):

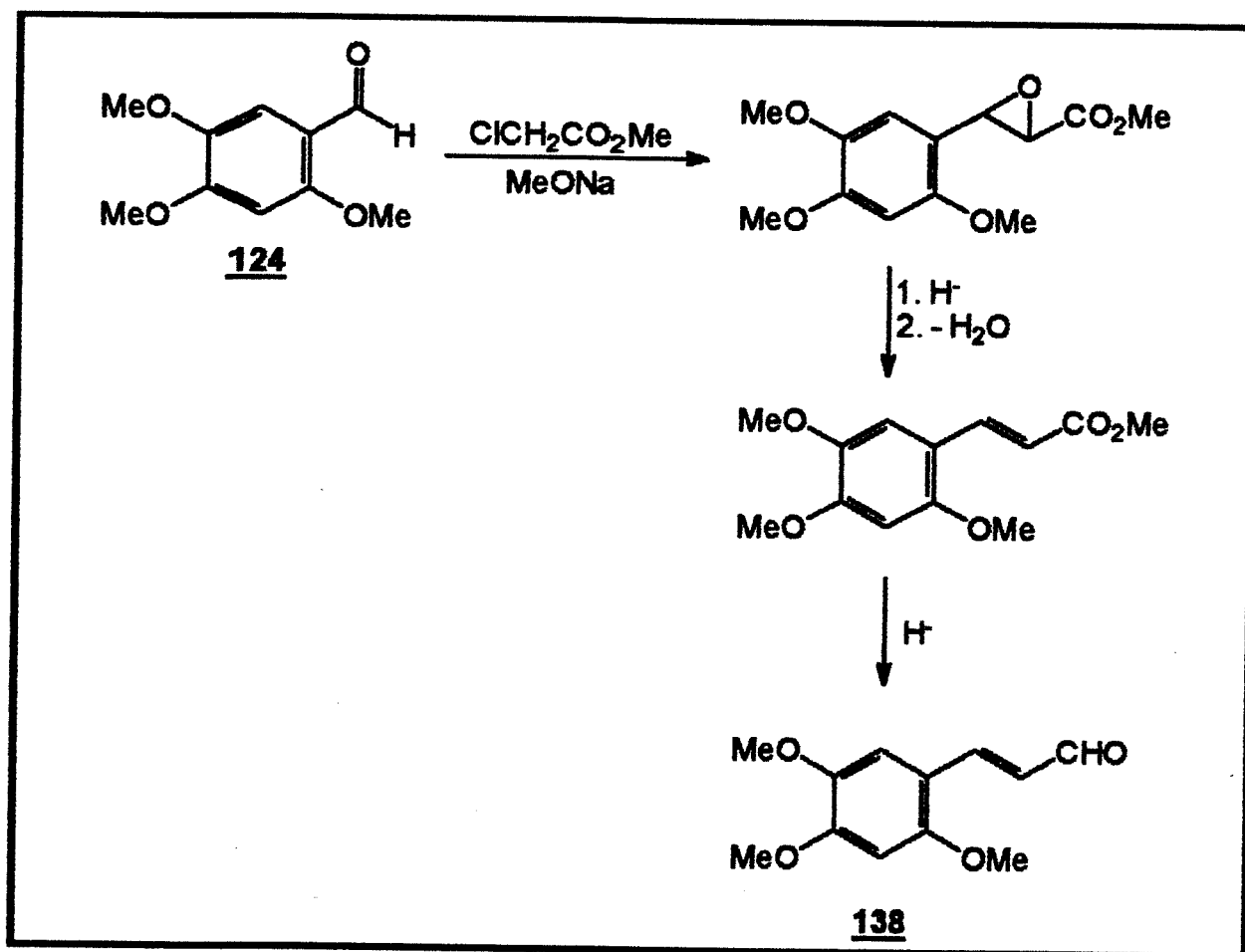


ESQUEMA 16 - Mecanismo proposto para a formação do produto **136**.





Para ocorrer a formação de um derivado do aldeído cinâmico, primeiramente houve a condensação do aldeído 124 com o carbânion formado a partir de 137, seguido da abertura do epóxido e desidratação do álcool resultante, chegando à hidrólise do éster à ácido e a redução deste à aldeído (Esquema 17).



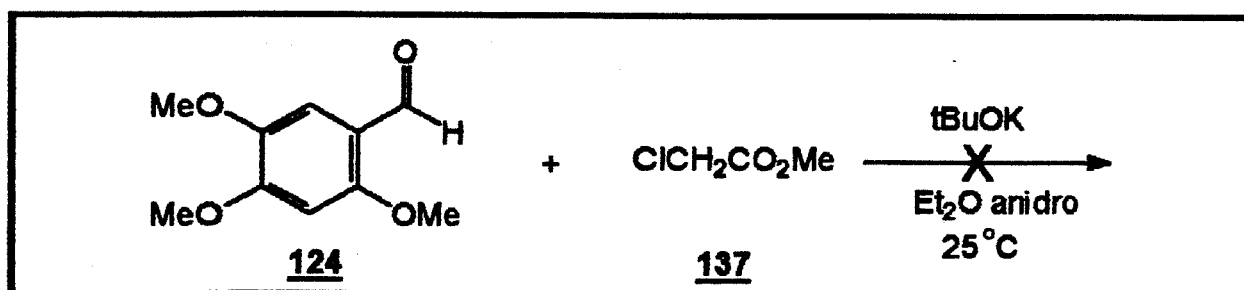
ESQUEMA 17 - Mecanismo proposto para a formação do aldeído 138.

Existe na literatura um grande número de trabalhos sobre a síntese de aldeídos  $\alpha,\beta$ -insaturados, mas somente alguns deles são adequados para síntese de aldeídos cinâmicos com grupos doadores de elétrons no anel aromático e, mesmo assim, são preparados com dificuldades e com baixos rendimentos<sup>32</sup>.

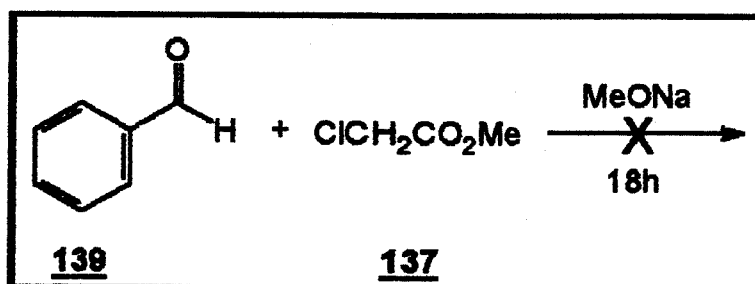
A maioria dos métodos adotados para a síntese de aldeídos cinâmicos substituídos por grupos oxigenados (doadores de elétrons) dependem da condensação, catalisada por uma base, do aldeído adequado com o acetaldeído; ou da redução do cloreto de cinamoila correspondente<sup>32</sup>.

No nosso trabalho, o que se tinha como objetivo era obter o epóxido e não um derivado do aldeído cinâmico, mas as condições de reação empregadas tanto na primeira como nessa tentativa levaram à abertura do epóxido, desidratação e hidrólise do éster  $\alpha,\beta$ -insaturado.

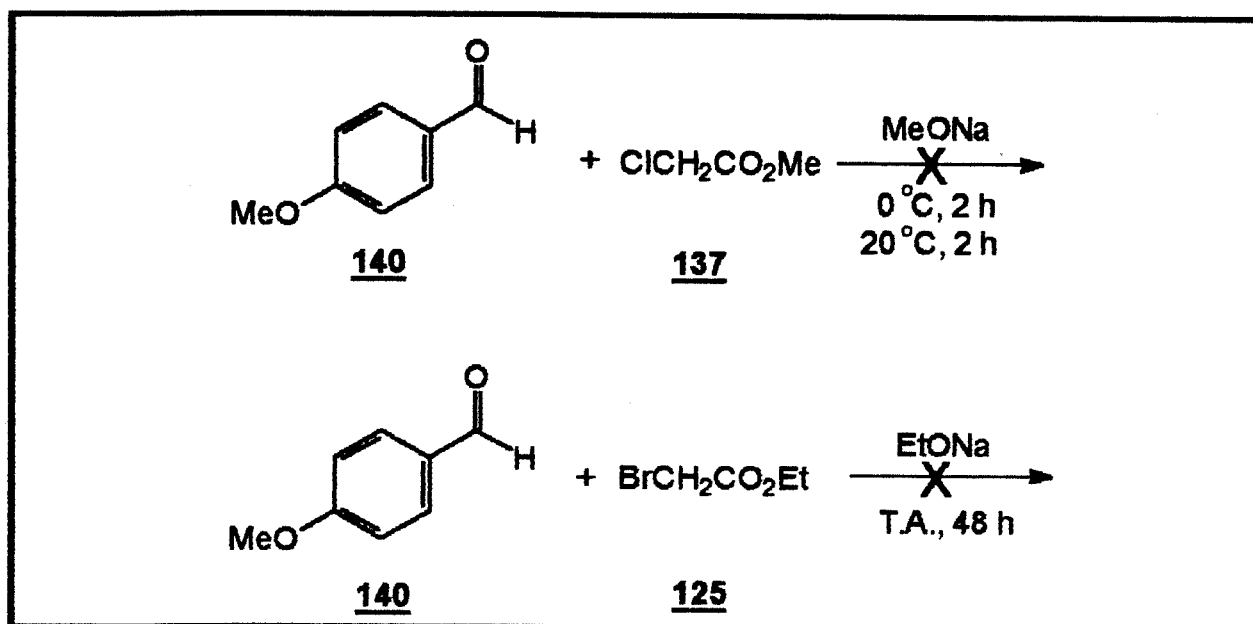
A partir da obtenção de resultados incompatíveis com nossos objetivos, mudamos o catalisador básico a fim de aumentarmos a força da base e gerarmos o carbânion em maior quantidade e se obter apenas o epóxiéster, sem chegar à sua clivagem e posterior desidratação e hidrólise. Após 18 horas de reação só obtivemos o reagente 124 intacto.



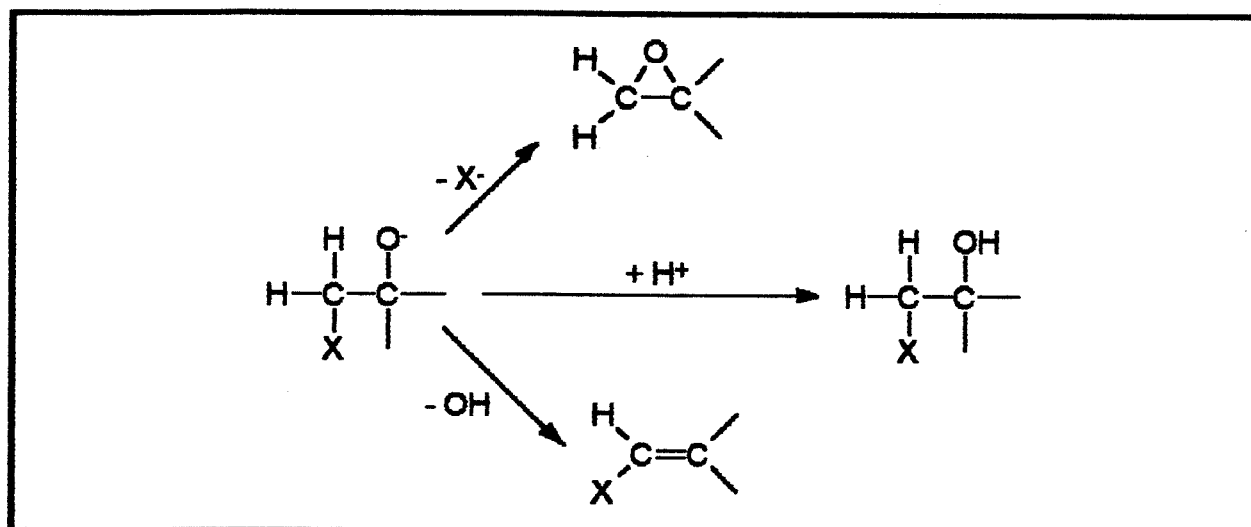
Após a mudança do catalisador e com o resultado negativo obtido, resolveu-se utilizar um aldeído menos substituído. O benzaldeído (139) e o cloroacetato (137), utilizados em presença de metóxido de sódio e após 18 horas de reação, foram recuperados intactos.



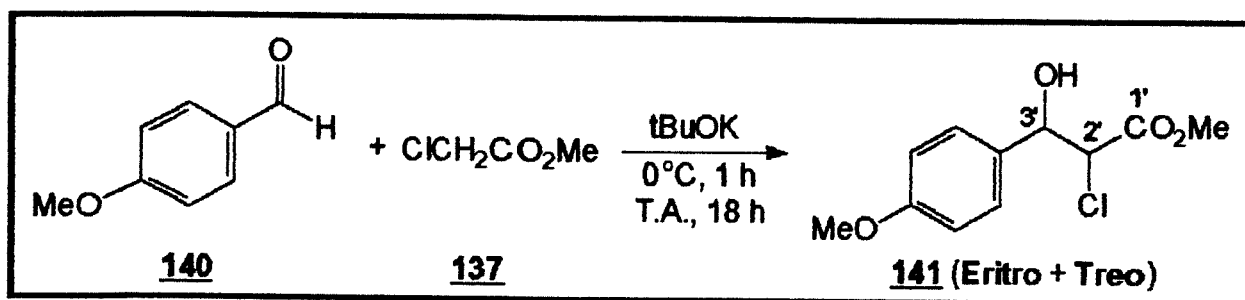
Outras duas tentativas foram feitas, usando-se desta vez o 4-metóxi-benzaldeído (140) e variando os reagentes de condensação, visto que tanto Ban et al.<sup>33</sup> como Liepa<sup>16</sup> usaram esses reagentes e obtiveram o epóxido desejado. Não houve formação de produtos.



Neste tipo de condensação existem fortes evidências de que na reação de Darzen formar-se-ia o ânion halodrina como intermediário e a partir deste seriam formados diferentes tipos de compostos, como é proposto por Ballester<sup>34</sup>.



Para preservar o enolato formado na reação não pode haver traços de solvente prótico que gerou a base. Na tentativa de se conseguir chegar ao epóxido desejado, utilizou-se a base tBuOK comercial, tratada e mantida em condições anidras. Nas outras tentativas, as bases eram geradas no balão reacional, sob condições anidras e o que se supunha, era que estaria presente nas reações, traços dos solventes empregados na obtenção das bases (EtOH, MeOH ou tBuOH, todos anidros).



O produto representado por **141** era de fato uma mistura de dois diastereoisômeros que, mesmo após tentativa de purificação por C.C.P. (eluição contínua com  $\text{CHCl}_3$ ), não foram separados. Destes compostos foram obtidos apenas os espectros de I.V., RMN- $^1\text{H}$  e RMN- $^{13}\text{C}$ .

O espectro de I.V. de **141** (E.48) apresentou absorções a  $3422,8\text{ cm}^{-1}$  (O-H),  $1743,0\text{ cm}^{-1}$  (C=O) e a  $1612,0$  e  $1514,3\text{ cm}^{-1}$  (C=C).

O espectro de RMN- $^1\text{H}$  para a mistura de produtos (E.49) mostrou sinais duplicados tanto para os prótons do anel aromático como para os que pertenciam à cadeia do haloéster propiônico.

O produto que estava em maior quantidade na mistura era o diastereoisômero **141 E**, que apresentou sinais de maior intensidade para os prótons  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_3'$  com valores de  $J = 12,45\text{ Hz}$  a  $4,40$  e  $5,15\ \delta$ , respectivamente. Na região aromática do espectro apareciam dois dubletos, um a  $7,44\ \delta$  ( $2\text{H}$ ,  $J = 8,79\text{ Hz}$ ) e outro a  $6,99\ \delta$  ( $2\text{H}$ ,  $J = 8,79\text{ Hz}$ ), atribuídos aos prótons  $\text{H}_{2,6}$  e  $\text{H}_{3,5}$  do anel aromático substituído em *para*. Para os prótons dos grupos metoxilas foram assinalados os picos a  $3,98\ \delta$  ( $3\text{H}$ ) e a  $3,48\ \delta$  ( $3\text{H}$ ).

Para o diastereoisômero **141 T**, o espectro de RMN- $^1\text{H}$  mostrou os sinais para os prótons  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_3'$  a  $4,25\ \delta$  ( $d$ ,  $J = 2,8\text{ Hz}$ ) e a  $4,95\ \delta$  ( $d$ ,  $J = 2,3\text{ Hz}$ ). Na região aromática, observou-se a presença dos dubletos a  $7,34\ \delta$  ( $2\text{H}$ ,  $J = 8,7\text{ Hz}$ ) e a  $6,90\ \delta$  ( $2\text{H}$ ,  $J = 8,7\text{ Hz}$ ) e que foram assinalados para os prótons  $\text{H}_{2,6}$  e  $\text{H}_{3,5}$  do anel aromático substituído em *para*. Os prótons dos grupos metoxilas apareceram a  $3,84$  e  $3,81\ \delta$ .

Em um estudo sobre RMN- $^1\text{H}$  de dois ésteres diastereoisoméricos, realizado em 1970 por Roux-Schimdt et al.<sup>35</sup>, foram utilizados diferentes solventes na obtenção dos espectros (tabela 1). A nomenclatura adotada para os isômeros naquela época está assinalada nas projeções de Newman:

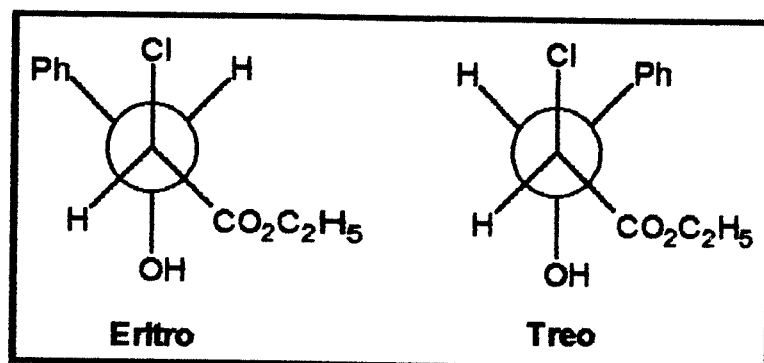


Tabela 1 - Deslocamentos químicos (em ppm) dos prótons dos diastereoisômeros *Eritro* e *Treo* em diferentes solventes.

H	CCl <sub>4</sub>		DMSO		Piridina	
	<i>Eritro</i>	<i>Treo</i>	<i>Eritro</i>	<i>Treo</i>	<i>Eritro</i>	<i>Treo</i>
CH <sub>3</sub>	1,26	1,10	1,23	1,07	1,20	0,99
CH <sub>2</sub>	4,18	4,04	4,23	4,03	4,30	4,06
H <sub>A</sub>	4,18	4,30	4,46	4,70	4,91	5,06
H <sub>B</sub>	4,90	5,00	4,85	*	5,52	5,66
J <sub>AB</sub>	8,5 Hz	6,5 Hz	9,0 Hz	6,5 Hz	9,0 Hz	6,5 Hz

\* sinal mascarado pelo próton da hidroxila

Desse estudo observou-se que o diastereoisômero *treo* mostrava uma maior desproteção para os prótons H<sub>A</sub> e H<sub>B</sub>, independente do solvente utilizado, mas com uma constante de acoplamento menor do que a apresentada para o composto *eritro*.

Ao compararmos os dois conjuntos de sinais encontrados para os diastereoisômeros 141 E e 141 T com os apresentados para as cloridrinas 142 e 143, (obtidos em CDCl<sub>3</sub>)<sup>36</sup>, observou-se diferenças tanto na magnitude das constantes de acoplamento como também no padrão de acoplamento dos prótons da cadeia propiônica (tabela 2).

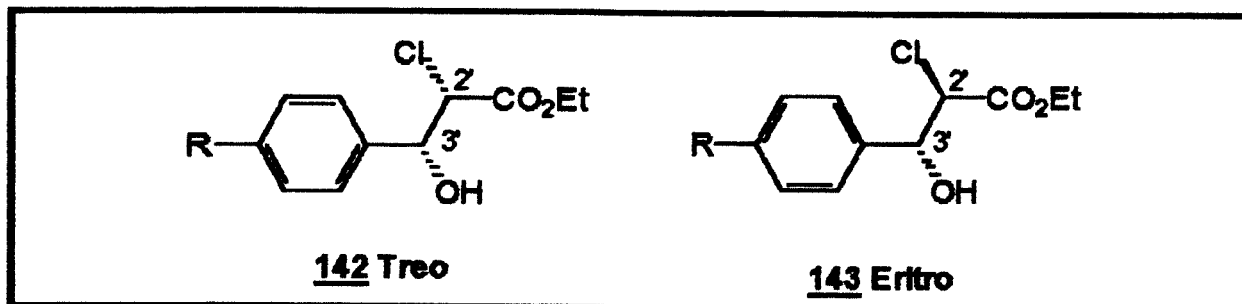


Tabela 2 - Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) e constantes de acoplamento (J) dos prótons  $H_2'$  e  $H_3'$  dos produtos **141 E** e **141 T** e das substâncias modelos **142** e **143**.

H	Substância <b>141 E</b>	Substância <b>141 T</b>	Substância <b>142</b>	Substância <b>143</b>
2'	4,40, d, J = 12,45 Hz	4,25, d, J = 2,8 Hz	4,43, d, J = 6,5 Hz	4,36, d, J = 8,0 Hz
3'	5,15, d, J = 12,45 Hz	4,95, d, J = 2,3 Hz	5,12, dd, J = 6,5 e 3,6 Hz	5,03, dd, J = 8,0 e 5,1 Hz
OH	-	-	2,94, d J = 3,6 Hz	2,99, d, J = 5,1 Hz

O espectro de RMN- $^{13}C$  dos diastereoisômeros **141 E** e **141 T** (E.50) apresentou um conjunto de sinais mais intensos para o que estava em maior proporção na mistura. Também mostrou os sinais para o diastereoisômero minoritário.

As propostas de deslocamentos químicos para os carbonos destas haloidrinas estão sendo feitas pela primeira vez, visto que não existe na literatura dados de RMN- $^{13}C$  para estas substâncias.

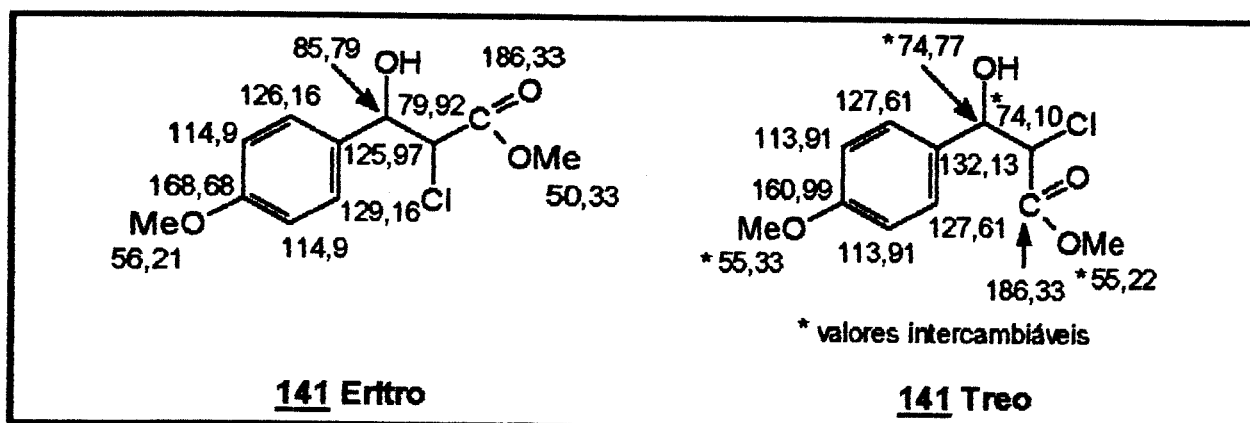
A parte alifática do espectro do diastereoisômero **141 E** apresentou sinais para dois carbonos metínicos  $sp^3$  a 85,79 e 70,92  $\delta$ , que foram atribuídos aos carbonos  $C_3'$  e  $C_2'$ , respectivamente. Na região de 56,21 a 50,33  $\delta$  foram encontrados sinais para 4 carbonos metílicos  $sp^3$ , caracterizando a presença de 4 grupos metoxilas nas estruturas dos dois produtos. Para o produto **141 E**, os sinais a 56,21 e 50,33  $\delta$  foram atribuídos aos carbonos da metoxila aromática e a do éster, respectivamente.

Os sinais a 114,90 e 129,16  $\delta$  foram atribuídos aos carbonos metínicos  $sp^2$   $C_{3,5}$  e  $C_{2,6}$  de um anel aromático substituído em *para*.

O espectro apresentou para os dois compostos o mesmo deslocamento químico para o carbono carbonílico, que aparecia como um pico de baixa intensidade a 186,33  $\delta$ .

Para o diastereoisômero minoritário **142 T** o espectro apresentou sinais com intensidade menor. Para os carbonos metínicos  $C_3'$  e  $C_2'$  os picos apareciam muito próximos, a 74,77 e 74,10  $\delta$ . O mesmo sucedia com os picos dos carbonos das metoxilas (aromática e alifática), que apareciam a 55,33 e 55,22  $\delta$ .

Abaixo estão assinalados os deslocamentos químicos dos carbonos nas estruturas dos compostos **141 E** e **141 T**.



A nossa tentativa de se obter o epóxido a partir da condensação de Darzen não forneceu o produto esperado usando tanto o 2,4,5-trimetóxi-benzaldeído (**124**) bem como o benzaldeído (**139**) e o 4-metóxi-benzaldeído (**140**). Modificou-se também as condições de reação utilizando-se bases e haloacetatos diferentes.

Nas reações em que se obteve os derivados cinâmicos **136** e **138**, houve a formação do epóxido, que posteriormente foi clivado. Na reação em que se isolou as haloidrinas não chegou a haver a eliminação do cloro e conseqüente ciclização, levando à formação do epóxido.



#### IV - CONCLUSÕES

O caminho sintético proposto para a síntese da 3-fenilcumarina 9 e o 2-etoxiisoflavono 130 levou-nos à obtenção do reagente 5-formil-6-hidroxicumarano (88) e do 6-benziloxicumarano (132).

A sequência sintética para a obtenção do reagente 88 foi de 7 etapas, com rendimentos em torno de 1,0%. Foram realizadas análises espectroscópicas de todos os produtos desta etapa de síntese e que estão sendo citadas pela primeira vez, com exceção do composto 134 (apresentou na literatura dados de RMN-<sup>1</sup>H) e do reagente 88 (foi citado dados de I.V.).

A transformação do reagente 2,4,5-trimetóxi benzaldeído (124) no fenilglicidato 127 não foi alcançada. O que se obteve nas sucessivas tentativas foram os dois derivados cinâmicos 136 e 138, além da mistura de diastereoisômeros 141 E e 141 T.

Com a obtenção dos derivados cinâmicos 136 e 138 através da clivagem do epóxido e desidratação do álcool correspondente, concluiu-se que ocorreu uma reação lateral do tipo Cannizzaro na qual houve liberação de hidreto (H<sup>-</sup>), que levou à produção do álcool secundário.

A explicação para a produção das cloridrinas 141 E e 141 T, a partir da condensação de Darzen, é dada pelo mecanismo proposto por Ballester, onde o intermediário chave seria o ânion halodrina.

Do levantamento feito na literatura, não foram encontradas informações sobre a síntese dos produtos 136 e 138 sendo, portanto, inéditos os dados espectrais apresentados para estes compostos. É também um método diferente para a preparação destes derivados cinâmicos, mesmo tendo sido obtidos com rendimentos em torno de 10%.

A partir do fracasso na tentativa de transformação do aldeído 124, não nos foi possível testar a condensação aldólica do 5-formil-6-hidroxicumarano (88) com o fenilacetaldeído 128.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Métodos Gerais

- Os pontos de fusão (PF) foram determinados com ajuda de uma placa aquecedora Reichert, acoplada a um microscópio, e não foram corrigidos.

- Os espectros de absorção no infra-vermelho (I.V.) foram registrados em espectrofotômetro Perkin Elmer, FTIR, em pastilhas de KBr ou em filmes sobre celas de NaCl.

- Os espectros de ultra-violeta (U.V.) foram obtidos em um espectrofotômetro Perkin Elmer R 100 A, utilizando clorofórmio, diclorometano (grau espectroscópico).

- Os espectros de massa (E. M.) foram feitos em espectrômetro Varian Mat 311 por impacto eletrônico à 70 eV.

- Os espectros de ressonância magnética nuclear de próton (RMN-<sup>1</sup>H) foram registrados em espectrômetros Varian Gemini-300 (300 MHz) e Bruker ACP-300 (300 MHz). O solvente utilizado foi o clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>), usando como referência interna o tetrametilsilano (TMS).

- Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN-<sup>13</sup>C) foram obtidos em instrumentos Varian Gemini 300 (75,5 MHz) e Bruker ACP-300 (75,5 MHz), em clorofórmio deuterado (CDCl<sub>3</sub>).

- Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são indicados em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

- A análise por CG/MS foi realizada em um aparelho da Hewlett Packard modelo P 5970 MS ChemStation que consiste de um cromatógrafo a gás modelo 5890 A com detector de ionização de chama, equipado com coluna megabore H.P. 17, (50% fenil metil silicone; 10 m x 0,53 mm x 2,0  $\mu$ m). Utilizou-se como gás de arraste uma mistura de H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e ar sintético com um fluxo de 30 ml/min e 300 ml/min, respectivamente. A injeção foi da ordem de 0,1  $\mu$ l de solução em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> da amostra. As condições utilizadas para as amostras foram:

- temperatura do injetor: 250 °C

- temperatura do detector: 270 °C

- programa 90 °C, 10 °C por minuto, 270 °C

- A análise quantitativa por CLAE foi feita em um aparelho da Varian, modelo 9010, que consiste de um cromatógrafo líquido com detector de U.V. ( $\lambda = 240$  nm), equipado com coluna de fase reversa (300 x 4,0 mm) com partículas MCH-10  $\mu$ m. A injeção foi da ordem de 10  $\mu$ l de solução em CH<sub>3</sub>CN, a velocidade do papel foi de 0,5 cm/min e utilizou-se o integrador com atenuação 16.

- As cromatografias em camada delgada analítica foram feitas em sílica gel G e GF<sub>254</sub> da Merck (na proporção 1:1), sobre suporte de vidro (espessura de 0,25 mm). Os compostos foram detectados por irradiação com lâmpada ultra-violeta a 254 e 366 nm e/ou pulverizados com revelador para terpenos (ácido acético glacial 100 ml, ácido sulfúrico 2,0 ml, anisaldeído 1,0 ml) ou solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina: etanol: ácido sulfúrico (2,0 g:100 ml:4 ml). Também foi utilizada a oxidação em cubas de vidro saturadas com iodo ressublimado.

- As cromatografias em camada preparativa foram realizadas em placas de vidro 20 x 20 cm ou 10 x 20 cm com uma camada de sílica gel G e GF<sub>254</sub> da Merck (espessura 1mm). A detecção foi feita por irradiação com lâmpada ultra-violeta a 254 e 366 nm.

- As cromatografias em coluna foram realizadas em sílica gel 60 (0,06-0,20 mm) da Merck. A proporção de sílica utilizada foi aproximadamente 50 vezes o peso do produto bruto a ser purificado (50:1).

- A purificação e tratamento dos solventes e reagentes, quando necessário, foram feitas segundo as técnicas descritas por Perrin et al.<sup>37</sup>.

**Isolamento dos Isoflavonóides**  
***Pachyrhizus ferrugineus* (Piper) Sorensen**

As sementes (14 g) de *P. ferrugineus* (coletadas na Seção de Fisiologia Vegetal - I.B./UNICAMP em 05/91), foram secas em estufas a 45 °C, moídas e extraídas a quente, em Soxhlet, primeiramente em éter de petróleo (para extrair o excesso de óleo contido nas sementes), durante 27 horas, e em seguida em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> durante 15 horas. O extrato obtido foi concentrado à pressão reduzida (a temperatura não ultrapassou os 40 °C, 0,40 g); e 0,30 g foi dissolvido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e adicionado a uma coluna cromatográfica (50 cm x 4,5 cm) empacotada com 22 g de sílica gel 60, eluída com um gradiente de solventes de polaridades crescentes:

Eluente	Frações	Reunião das Frações	Massa (mg)		Reunião das Frações	Massa (mg)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1-65	1 (PFD-1)	3,1		91-95 (PFD-20)	1,6
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 1%	66-90	2 (PFD-2)	4,8		96-100 (PFD-21)	2,3
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 2%	91-106	3 (PFD-3)	4,5		101-103 (PFD-22)	1,6
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 4%	107-120	4-5 (PFD-4)*	18,4		104-105 (PFD-23)	1,6
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10%	121-128	6-7 (PFD-5)*	11,4		106-110 (PFD-24)	3,2
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 20%	129-131	8 (PFD-6)*	5,7		111-118 (PFD-25)	7,7
MeOH	132	9-10 (PFD-7)*	14,5		119-130 (PFD-26)	19,7
		11 (PFD-8)*	9,4		131-132 (PFD-27)	10,0
		12-16 (PFD-9)*	39,2			47,7
		17-20 (PFD-10)*	15,2			
		21-22 (PFD-11)	5,5			
		23-26 (PFD-12)	17,8			
		27-37 (PFD-13)*	32,8			
		38-40 (PFD-14)*	3,8			
		41-43 (PFD-15)*	3,3			
		44-66 (PFD-16)*	9,3			
		67-79 (PFD-17)*	2,2			
		80 (PFD-18)	1,0			
		81-90 (PFD-19)*	11,7			
			213,6			T = 261,3

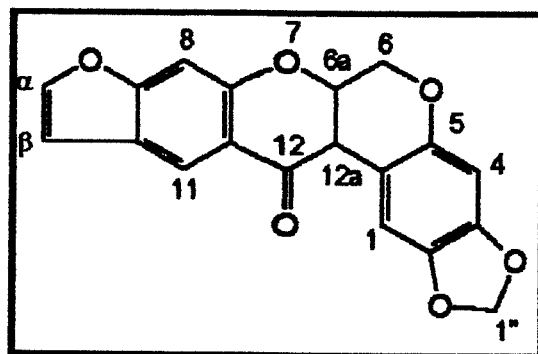
\*Frações estudadas

Isoflavonóide **1**: a fração PFD-4 (18,4 mg) foi concentrada e submetida a C.C.P. (eluição contínua durante 1 hora com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) e o isoflavonóide **1** foi isolado puro (10,0 mg, como cristais incolores).

PF: 220,0-222,0 °C (Lit.: 235 °C, 233-35 °C)<sup>42,44</sup>

Espectro de Massa de **1** (E.1):  $M^+$ : 336 (25);  $m/z$  (%), 176 (100), 175 (55).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **1** ( $\text{CDCl}_3$ , E.2):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,72	s	
4	6,44	s	
8	7,06	s	
11	8,21	s	
6ax	4,19	d	$J_{6ax-6eq} = 12,0$
6eq	4,64	dd	$J_{6eq-6ax} = 12,0$ , $J_{6eq-6a} = 3,2$
6a	4,96	ddd	$J_{6a-12a} = 3,9$ , $J_{6a-6eq} = 3,2$ , $J_{6a-6ax} = 1,0$
12a	3,89	d	$J_{12a-6a} = 3,9$
$\alpha$	7,54	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,30$
$\beta$	6,73	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,30$ , $J_{\beta-8} = 1,1$
1''	5,80	d	$J = 1,3$
1''	5,86	d	$J = 1,3$

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de 1 (CDCl<sub>3</sub>, E.3):

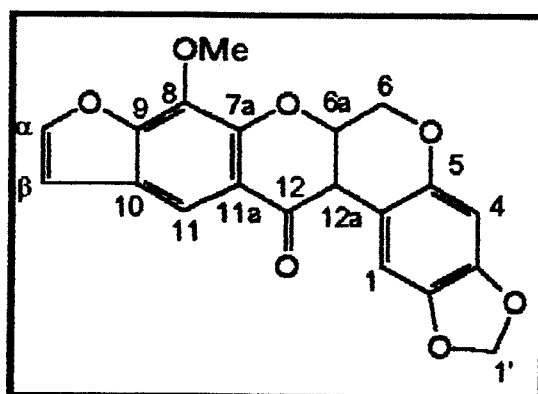
C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
1	107,06	CH	α	146,44	CH
2	142,59	C	β	107,11	CH
3	148,16	C	1"	101,35	CH <sub>2</sub>
4	99,06	CH	1a	105,50	C
6	66,50	CH <sub>2</sub>	4a	148,70	C
8	100,02	CH	6a	72,20	CH
9	158,90	C	7a	160,10	C
10	123,30	C	11a	116,25	C
11	121,23	CH	12a	45,36	CH
12	190,90	C=O			

Isoflavonóides 2 e 1: As frações PFD-5 (11,4 mg) e PFD-6 (5,7 mg) foram purificadas por C.C.P. contínua (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, por 1 hora). A substância 2 foi isolada em pequena quantidade (2,7 mg), na forma de cristais amarelo-pálidos. Uma maior quantidade de 1 (8,7 mg) também foi detectada e isolada destas frações.

PF: 238,0-241,0 °C (Lit.: 272 °C)<sup>18</sup>

Espectro de Massa de 2 (E.4) M<sup>+</sup>: 336 (48), m/z (%); 176 (100), 175 (63).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 2 (CDCl<sub>3</sub>, E.5):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,71	s	
4	6,43	s	
11	7,91	s	
6ax	4,20	dl	$J_{6ax-6eq} = 12,00$
6eq	4,70	dd	$J_{6eq-6ax} = 12,00, J_{6eq-6a} = 3,0$
6a	5,00	ddd	$J_{6a-12a} = 4,0, J_{6a-6eq} = 3,0, J_{6a-6ax} = 1,0$
12a	3,90	d	$J_{12a-6a} = 3,9$
$\alpha$	7,55	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,2$
$\beta$	6,74	d	$J_{\beta-\alpha} = 2,2$
1'	5,80	d	$J = 1,3$
	5,86	d	$J = 1,3$
OMe	4,15	s	

Espectro de RMN- $^{13}C$  de **2** ( $CDCl_3$ , E.6):

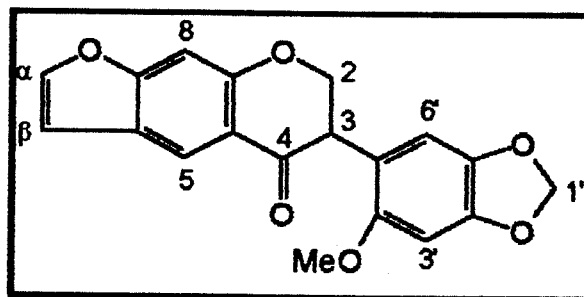
C	$\delta$ (ppm)		C	$\delta$ (ppm)	
1	106,93	CH	$\alpha$	146,08	CH
2	142,28	C	$\beta$	107,30	CH
3	147,88	C	1'	101,14	CH <sub>2</sub>
4	98,86	CH	1a	105,15	C
6	66,24	CH <sub>2</sub>	4a	148,55	C
8	148,55	C	6a	72,25	CH
9	149,70	C	7a	150,96	C
10	123,84	C	11a	117,12	C
11	114,02	CH	12a	45,18	CH
12	190,73	C=O	OMe	61,10	CH <sub>3</sub>

Isoflavonóides **3**, **1**, e **2**: A fração PFD-7 (14,5 mg) foi concentrada e submetida a C.C.P. (elução por 1 hora, com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e o isoflavonóide **3** foi isolado como cristais amarelo-escuros (2,0 mg). Também foram isoladas as substâncias **1** (2,0 mg) e **2** (2,0 mg).

PF: 150,0-152,0 °C (Lit.: 180,5 °C; 149 °C, 152 °C)<sup>42,43</sup>

Espectro de Massa de **3** (E.7): M<sup>+</sup>. 338 (41) m/z (%), 178 (100).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **3** (CDCl<sub>3</sub>, E.8):



H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2ax	4,48	dd	$J_{2ax-2ea} = 10,9$ , $J_{2ax-3} = 5,6$
2eq	4,55	dd	$J_{2ea-3} = 11,7$ , $J_{2ea-2ax} = 10,9$
3	4,26	dd	$J_{3-2ea} = 11,7$ , $J_{3-2ax} = 5,6$
5	8,22	s	
8	7,05	s	
3'	6,53	s	
6'	6,58	s	
α	7,56	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,27$
β	6,75	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,27$ , $J_{\beta-8} = 0,98$
1''	5,91	s	
OMe	3,74	s	



Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **3** (CDCl<sub>3</sub>, E.9):

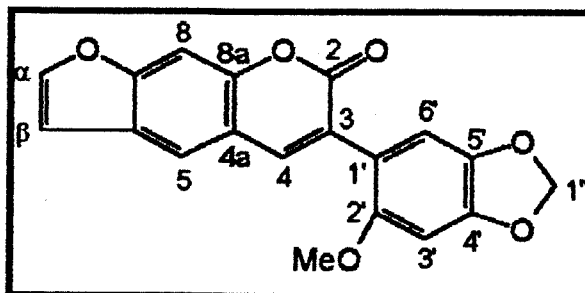
C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
2	71,3	CH <sub>2</sub>	5'	141,53	C
3	48,27	CH	6'	109,92	CH
4	192,07	C=O	4a	118,87	C
5	120,96	CH	8a	159,98	C
6	115,67	C	α	145,76	CH
7	159,30	C	β	107,06	CH
8	99,69	CH	1"	101,15	CH <sub>2</sub>
1'	122,75	C	OMe	56,39	CH <sub>3</sub>
2'	152,75	C			
3'	95,34	CH			
4'	147,90	C			

Isoflavonóide **4**: A fração PFD-8 (9,4 mg) após purificação por C.C.P. (eluição contínua por 2 horas, com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) forneceu o isoflavonóide **4** puro, na forma de cristais amarelos (8,6 mg).

PF: 208,0-210,0 °C (Lit. 204-5 °C, 208-9 °C)<sup>42</sup>

Espectro de Massa: de **4** (E.10): M<sup>+</sup> 336 (100), m/z (%), 321 (8), 305 (4), 293 (41), 265 (13), 207 (5), 199 (9), 178 (7), 168 (6), 153 (6).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **4** (CDCl<sub>3</sub>, E.11):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
4	7,81	s	
5	7,68	s	
8	7,49	s	
3'	6,64	s	
6'	6,90	s	
$\alpha$	7,70	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,19$
$\beta$	6,83	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,19, J_{\beta-8} = 1,0$
1"	5,97	s	
OMe	3,77	s	

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de 4 ( $\text{CDCl}_3$ , E. 12):

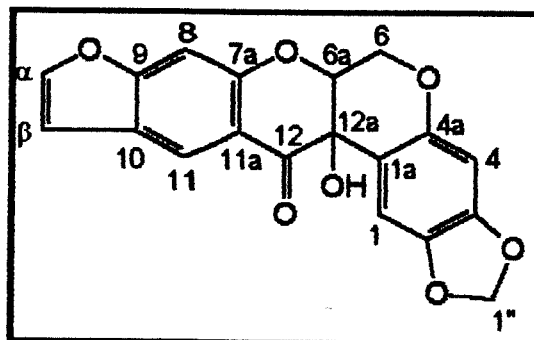
C	$\delta$ (ppm)		C	$\delta$ (ppm)	
2	180,31	C=O	5'	141,31	C
3	124,01	C	6'	110,35	CH
4	142,54	CH	$\alpha$	146,81	CH
5	119,65	CH	$\beta$	106,39	CH
6	124,84	C	1"	101,50	CH <sub>2</sub>
7	156,22	C	4a	116,20	C
8	99,45	CH	8a	153,06	C
1'	124,84	C	OMe	56,78	CH <sub>3</sub>
2'	151,69	C			
3'	95,44	CH			
4'	148,85	C			

Isoflavonóides 5, 6, e 4: A fração PFD-9 (39,2 mg) após a concentração do solvente, foi submetida a C.C.P. (eluição contínua por 1 hora com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), sendo isolados puros os isoflavonóides 5 (5,0 mg - cristais amarelo-pálidos), 6 (5,0 mg - cristais incolores) e em maior quantidade 4 (25 mg - cristais amarelos).

PF: 176-178 °C (Lit.: 189 °C; 180-1 °C; 194-5 °C)<sup>42</sup>

Espectro de Massa de **5** (E.13): M<sup>+</sup> 352 (19), m/z (%), 192 (100), 191 (63).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **5** (CDCl<sub>3</sub>, E.14):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,51	s	
4	6,48	s	
8	7,02	s	
11	8,19	s	
6ax	4,50	dd	$J_{6ax-6eq} = 12,0$ , $J_{6ax-6a} = 2,0$
6eq	4,63	dd	$J_{6eq-6ax} = 12,0$ , $J_{6eq-6a} = 2,0$
6a	4,62	sl	
$\alpha$	7,55	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,30$
$\beta$	6,75	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,30$ , $J_{\beta-8} = 0,92$
1''	5,80	d	$J = 1,3$
	5,85	d	$J = 1,3$
OH	4,48	s	

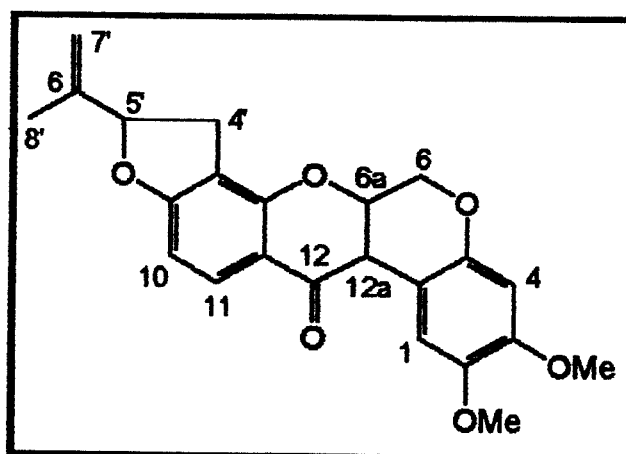
Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **5** (CDCl<sub>3</sub>, E.15):

C	δ (ppm)			C	δ (ppm)	
1	105,90	CH		α	146,70	CH
2	142,50	C		β	107,01	CH
3	149,83	C		1'	101,49	CH <sub>2</sub>
4	99,34	CH		1a	109,38	C
6	64,01	CH <sub>2</sub>		4a	149,90	C
8	100,16	CH		6a	76,02	CH
9	158,16	C		7a	160,48	C
10	123,50	C		11a	114,76	C
11	121,21	CH		12a	68,42	C
12	193,25	C=O				

PF: 144-146 °C (Lit.: 164 °C)<sup>17</sup>

Espectro de Massa de **6** (E.16): M<sup>+</sup>. 392 (17), m/z (%), 192 (100), 191 (22), 177 (11).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **6** (CDCl<sub>3</sub>, E.17):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,77	s	
4	6,45	s	
10	6,53	d	$J_{10-11} = 8,0$
11	7,82	d	$J_{11-10} = 8,0$
6ax	4,18	d	$J_{6ax-6ea} = 12,07$
6eq	4,61	dd	$J_{6ea-6ax} = 12,07, J_{6ea-6a} = 3,15$
6a	4,87	m	
12a	3,84	d	$J_{12a-6a} = 4,07$
4'ax	2,95	dd	$J_{4'ax-4'ea} = 8,0, J_{4'ax-5'} = 8,0$
4'eq	3,32	dd	$J_{4'ea-4'ax} = 10,0, J_{4'ea-5'} = 10,0$
5'	5,24	t	$J_{5'-4'} = 8,85$
7'	5,07	s	
	4,93	s	
8'	1,77	s	
2-OMe	3,81	s	
3-OMe	3,76	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **6** (CDCl<sub>3</sub>, E.18):

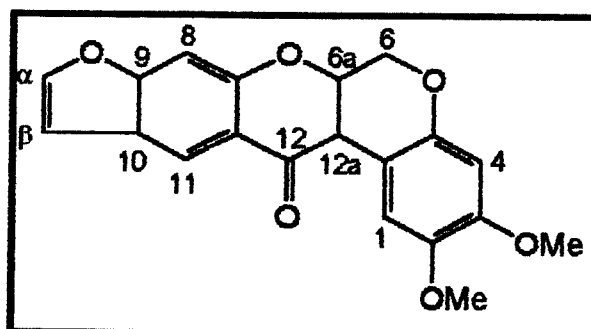
C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
1	110,40	CH	7a	157,91	C
2	143,88	C	11a	113,33	C
3	149,49	C	12a	44,61	CH
4	100,91	CH	4'	31,28	CH <sub>2</sub>
6	66,91	CH <sub>2</sub>	5'	87,83	CH
8	112,95	C	6'	143,02	C
9	167,34	C	7'	112,54	CH <sub>2</sub>
10	104,88	CH	8'	17,14	CH <sub>3</sub>
11	129,97	CH	2-OMe	56,32	CH <sub>3</sub>
12	188,90	C=O	3-OMe	55,85	CH <sub>3</sub>
1a	104,82	C			
4a	147,36	C			
6a	72,22	CH			

Isoflavonóides **7** e **6**: A fração PFD-10 (15,5 mg) por C.C.P. (eluição com CHCl<sub>3</sub>) forneceu os isoflavonóides **7** (puro, 6,0 mg - cristais amarelo-escuros) e **6** (puro, 6,0 mg - cristais amarelo-pálidos).

PF: 188-190 °C (Lit.: 218 °C)<sup>17</sup>

Espectro de Massa de **7** (E.19): M<sup>+</sup> 352 (41), m/z (%), 192 (100), 177 (12).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **7** (CDCl<sub>3</sub>, E.20):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,77	s	
4	6,49	s	
8	7,07	s	
11	8,23	s	
6ax	4,22	d	$J_{6ax-6eo} = 12,0$
6eq	4,67	dd	$J_{6eo-6ax} = 12,0, J_{6eo-6a} = 3,19$
6a	4,99	ddd	$J_{6a-12a} = 4,0, J_{6a-6eo} = 3,0, J_{6a-6ax} = 1,0$
12a	3,94	d	$J_{12a-6a} = 4,0$
$\alpha$	7,55	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,2$
$\beta$	6,74	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,2, J_{\beta-8} = 1,0$
2-OMe	3,81	s	
3-OMe	3,77	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **7** (CDCl<sub>3</sub>, E.21):

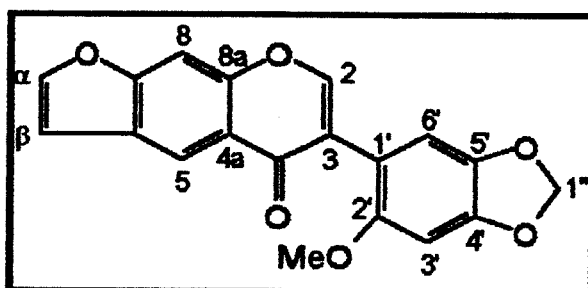
C	$\delta$ (ppm)		C	$\delta$ (ppm)	
1	110,61	CH	1a	104,41	C
2	144,10	C	4a	149,83	C
3	147,70	C	6a	72,40	CH
4	99,94	CH	7a	159,97	C
6	66,36	CH <sub>2</sub>	11a	116,26	C
8	101,19	CH	12a	44,98	CH
9	158,87	C	$\alpha$	146,30	CH
10	123,16	C	$\beta$	106,97	CH
11	121,08	CH	2-OMe	56,34	CH <sub>3</sub>
12	190,86	C=O	3-OMe	55,84	CH <sub>3</sub>

Isoflavonóides **8** e **6**: A fração PFD-13 (32,8 mg) foi submetida à C.C.P. (eluição contínua por 4 horas com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) e forneceu os isoflavonóides **8** (8,0 mg, puro e na forma de cristais marrons) e **6** (14,5 mg, cristais incolores).

PF: 240-243 °C (decomposição) (Lit.: 239-40 °C; 240-1 °C)<sup>42</sup>

Espectro de Massa de **8** (E.22): M<sup>+</sup>. 336 (100), m/z (%), 305 (67).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **8** (CDCl<sub>3</sub>, E.23):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	7,99	s	
5	8,54	s	
8	7,58	s	
3'	6,65	s	
6'	6,86	s	
$\alpha$	7,73	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,3$
$\beta$	6,92	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,3, J_{\beta-8} = 0,97$
1''	5,97	s	
2'-OMe	3,74	s	



Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **8** (CDCl<sub>3</sub>, E.24):

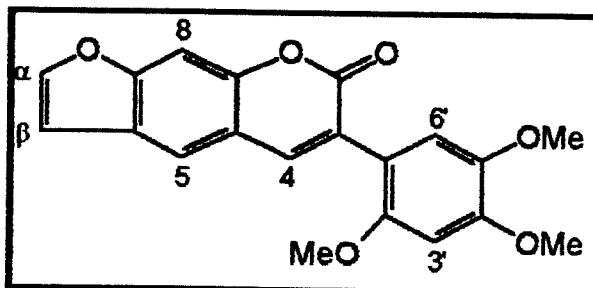
C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
2	154,75	CH	4'	148,44	C
3	121,08	C	5'	141,21	C
4	176,65	C=O	6'	111,28	CH
5	118,99	CH	4a	117,92	C
6	126,03	C	8a	154,22	C
7	157,29	C	α	147,43	CH
8	99,83	CH	β	107,05	CH
1'	112,80	C	1"	101,40	CH <sub>2</sub>
2'	153,00	C	2-OMe	56,88	CH <sub>3</sub>
3'	95,49	CH			

Isoflavonóides **9**, **10**, **6** e **8**: As frações PFD-14, PFD-15, PFD-16 e PFD-17 foram reunidas em uma única fração - PFD-14.17. Após concentração (18,6 mg) foi purificada por C.C.P. (eluição contínua por 3 horas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2%) fornecendo 2 frações ainda impuras. A fração mais apolar (PFD-14.17 (4) - 6 mg) após C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2%) forneceu os isoflavonóides **9** (2,0 mg, impuro, na forma de cristais marrons) e **10** (2,0 mg, como um óleo amarelo) além de traços de **6**. A fração mais polar (PFD-14.17 (3) - 5,0 mg) após C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2%) forneceu o isoflavonóide **8** (2,0 mg, cristais marrons).

PF: 190-194 °C (decomposição) (Lit.: 190-2 °C)<sup>24</sup>

Espectro de Massa de **9** (E.25): M<sup>+</sup>: 352 (69), m/z (%), 337 (17), 309 (12), 194 (100), 179 (21), 166 (50), 151 (13).

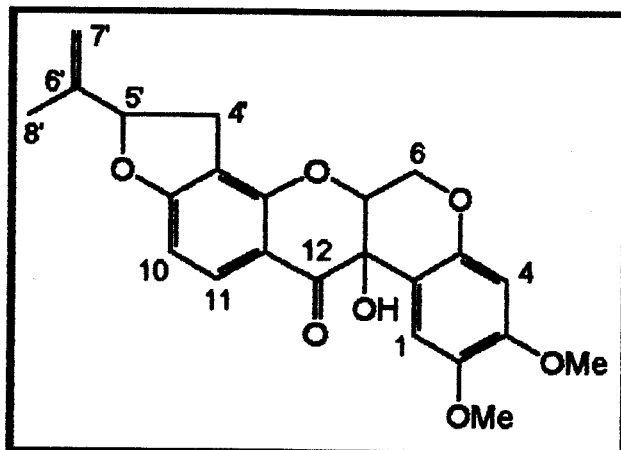
Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **9** (CDCl<sub>3</sub>, E.26):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
4	7,86	s	
5	7,70	s	
8	7,51	s	
3'	6,64	s	
6'	6,98	s	
$\alpha$	7,70	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,24$
$\beta$	6,84	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,24, J_{\beta-8} = 1,02$
2'-OMe	3,94	s	
4'-OMe	3,82	s	
5'-OMe	3,78	s	

Espectro de Massa de **10** (E.27):  $M^+$  410 (11),  $m/z$  (%), 208 (100), 207 (35).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **10** (CDCl<sub>3</sub>, E.28):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,54	s	
4	6,48	s	
10	6,50	d	$J_{10-11} = 8,0$
11	7,84	d	$J_{11-10} = 8,0$
6	4,55	m	
6a	4,55	m	
4'ax	2,93	dd	$J = 8,01, J = 7,94$
4'eq	3,29	dd	$J 9,76, J = 9,76$
5'	5,23	t	$J_{5'-4'} = 9,0$
7'	4,94	s	
	5,06	s	
8'	1,77	s	
2-OMe	3,82	s	
3-OMe	3,73	s	
12a-OH	4,55	m	

Isoflavonóide **11**: A fração PFD-19 (11,7 mg) após purificação por C.C.P. (eluição contínua por 3 horas com CHCl<sub>3</sub>/MeOH 2%)

forneceu a substância **11** impura. Após sucessivas C.C.P. ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  2%) obteve-se o isoflavonóide **11** (4,0 mg, cristais amarelo-escuros contaminados com um óleo).

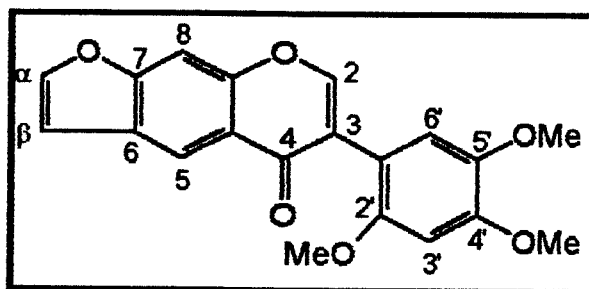
PF: 190,0-194,0 °C (Lit.: 190,0-190,5 °C; 191-2 °C)<sup>62,68</sup>

Espectro de Massa de **11** (E.29):  $M^+$ : 352 (100),  $m/z$  (%), 337 (17), 321 (20), 309 (14).

Espectro de U.V. de **11** (E.30):  $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 298,0 (4,12), 237,5 (4,54).

Espectro de I.V. de **11** (E.31):  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3443,8, 1636,0 (C=O), 1611, 1524,7, 1511,1, 1471,7 (C=C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **11** ( $\text{CDCl}_3$ , E.32):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	8,05	s	
5	8,56	s	
8	7,59	s	
3'	6,64	s	
6'	6,97	s	
$\alpha$	7,74	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,30$
$\beta$	6,92	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,30, J_{\beta-8} = 0,93$
2'-OMe	3,94	s	
4'-OMe	3,87	s	
5'-OMe	3,79	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **11** (CDCl<sub>3</sub>, E.33):

C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
2	154,87	CH	5'	143,32	C
3	120,96	C	6'	115,32	CH
4	177,06	C=O	4a	112,42	C
5	119,17	CH	8a	154,49	C
6	126,34	C	α	147,69	CH
7	157,57	C	β	107,25	CH
8	100,01	CH	2'-OMe	56,99	CH <sub>3</sub>
1'	112,92	C	4'-OMe	56,68	CH <sub>3</sub>
2'	152,20	C	5'-OMe	56,29	CH <sub>3</sub>
3'	98,46	CH			
4'	147,64	C			

***Pachyrhizus tuberosus* (Lam.) Spreng. (sementes vermelhas)**

As sementes (25,0 g) de *P. tuberosus* (coletadas na Seção de Fisiologia Vegetal - I.B./UNICAMP, em 07/91), foram secas em estufa a 45 °C, moídas e extraídas a quente, em Soxhlet, primeiramente em éter de petróleo (20 horas) e em seguida em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (19 horas). O extrato obtido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foi concentrado até secura (0,46 g), 0,40 g sendo dissolvido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e adicionado a uma coluna cromatográfica (50 cm x 4,5 cm) empacotada com 25 g de sílica gel 60, eluída com um gradiente de solventes de polaridades crescentes:

Eluente	Frações	Reunião das Frações	Massa (mg)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1-60	1-3(PTV-1)	4,82
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 1%	61-90	4-7(PTV-2)	17,58
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 3%	91-104	8-10(PTV-3)	26,40
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	105-121	11-13(PTV-4)*	14,62
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10%	122-140	14-17(PTV-5)*	42,12
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 20%	141-148	18-20(PTV-6)*	36,48
		21-37(PTV-7)*	60,90
		38-39(PTV-8)*	2,98
		40-46(PTV-9)*	5,00
		47-63(PTV-10)*	6,03
		64-79(PTV-11)*	2,72
		80-86(PTV-12)*	46,61
		87-90(PTV-13)	4,75
		91-94(PTV-14)	3,18
		95-99(PTV-15)	7,47
		100-106(PTV-16)	4,91
		107-114(PTV-17)	5,45
		115-122(PTV-18)	2,50
		123-133(PTV-19)	14,96
		134-144(PTV-20)	
		145-148(PTV-21)	
			T = 309,48

\*Frações estudadas

Isoflavonóides 1 e 2: A fração PTV-4 (14,62 mg) após a purificação por C.C.P. (eluída com  $\text{CHCl}_3$ ), forneceu os isoflavonóides 1 (6,0 mg, cristais incolores) e 2 (4,0 mg, cristais amarelo-pálidos).

Isoflavonóides 3 e 4: A fração PTV-5 (42,1 mg) foi submetida à C.C.P. (eluição contínua por 1 hora com  $\text{CHCl}_3$ ), sendo isolados os isoflavonóides 3 (3,0 mg, na forma de cristais amarelo-escuros) e 4 (27,2 mg, como cristais amarelos).

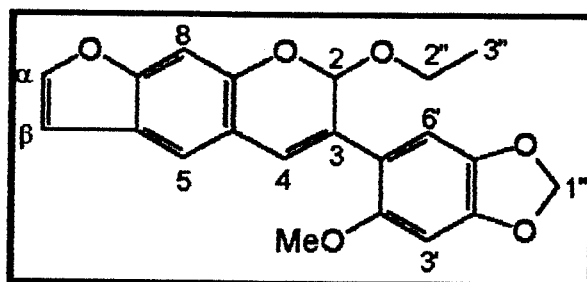
Isoflavonóides 12 e 4: As frações PTV-6 e PTV-7 foram reunidas em uma nova fração - PTV-6.7 (97,30 mg). Da C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com  $\text{CHCl}_3$ ) foram isolados o isoflavonóide 12 (1,56 mg, como um óleo amarelo escuro) e em maior quantidade o 4 (49,0 mg, na forma de cristais amarelos).

Espectro de Massa de 12 (E.34):  $M^+$  366 (44),  $m/z$  (%), 321 (100%).

Espectro de U.V. de 12 (E.35):  $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$  ( $\log \epsilon$ ) nm: 333,5 (3,95), 288,5 (3,45), 240,8 (4,26).

Espectro de I.V de 12 (E.36):  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1627,9, 1504,3, 1486,0, 1464,0 (C=C), 1192,3, 1168,5, 1126,9 (C-O-C), 908,7 (C=C-H).

Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de 12 ( $\text{CDCl}_3$ , E.37):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	5,97	s	
4	6,97	s	
5	7,36	s	
8	7,17	s	
3'	6,58	s	
6'	6,92	s	
$\alpha$	7,52	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,24$
$\beta$	6,70	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,24, J_{\beta-8} = 1,3$
1"	5,95	s	
2"	3,69	dq	$J_{2''-3''} = 7,5$
	3,91	dq	$J_{2''-3''} = 7,5$
3"	1,16	t	$J_{3''-2''} = 7,5$
2'-OMe	3,79	s	



Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **12** (CDCl<sub>3</sub>, E.38):

C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
2	97,52	CH	4a	118,88	C
3	119,10	C	8a	155,33	C
4	118,76	CH	α	144,47	CH
5	124,93	CH	β	106,46	CH
6	121,95	C	1"	101,38	CH <sub>2</sub>
7	152,68	C	2"	63,80	CH <sub>2</sub>
8	99,71	CH	3"	15,20	CH <sub>3</sub>
1'	128,99	C	2'-OMe	56,60	CH <sub>3</sub>
2'	147,87	C			
3'	95,27	CH			
4'	144,47	C			
5'	141,52	C			
6'	109,13	CH			

Isoflavonóides **4**, **6** e **8**: As frações PTV-8, PTV-9, PTV-10 e PTV-11 foram agrupadas numa nova fração - PTV-8.11 (18,75 mg), a qual foi submetida à C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com CHCl<sub>3</sub>). Foram isolados os isoflavonóides **4** (3,11 mg, como cristais amarelos), **6** (8,07 mg, como cristais incolores) e **8** (2,80 mg, como cristais amarelo-escuros).

Isoflavonóides **6**, **8** e **10**: A fração PTV-12 (46,0 mg) foi inicialmente submetida à C.C.P. (eluição com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 5%). Foram obtidas 7 frações com um grau de pureza insatisfatório. Estas frações foram reagrupadas e submetidas a uma nova C.C.P. (eluição contínua por 3 horas com CHCl<sub>3</sub>). Foram isolados os isoflavonóides **6** (6,69 mg, como cristais incolores), **8** (4,58 mg, cristais marrons) e **10** (4,77 mg, como óleo amarelo).

### *Pachyrizus ahipa (Wedd.) Parodi*

As sementes (192,8 g) de *P. ahipa* (coletadas na Seção de Fisiologia Vegetal do LB./UNICAMP em 09/91) foram secas a 45 °C, moídas e extraídas a quente, em Soxhlet, primeiramente em éter de petróleo durante 64 horas, e em seguida em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> durante 75 horas. O extrato em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, após a concentração, forneceu 21,0 g de extrato bruto.

O extrato em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foi submetido a uma tentativa de desengorduramento. Foi colocado sob refluxo durante 1 hora em 200 ml de éter de petróleo. Após o esfriamento, foi filtrado o material e verificou-se que tanto a fração éter de petróleo como a de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> continham as mesmas substâncias (após comparação por C.C.F.). As duas frações foram reunidas, concentradas, dando um extrato único (15,93 g) e que continha um alto teor de óleo.

A solução concentrada do extrato em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15,8 g) foi adicionada a uma coluna (70 cm x 7,0 cm) empacotada com 420 g de sílica gel 60, eluída com um gradiente de solventes de polaridades crescentes:

Eluente	Frações	Reunião das Frações	Massa (mg)
E.P./CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	1-7	1-3(PAD-1)	44,9
E.P./CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 75%	8-15	4-9(PAD-2)	9669,3
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	16-50	10(PAD-3)	258,6
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 1%	51-58	11-12(PAD-4)	281,7
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 2,5%	59-65	13-16(PAD-5)*	224,2
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	66-74	17-20(PAD-6)	247,7
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10%	75-81	21-25(PAD-7)*	231,5
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 25%	82-83	26-28(PAD-8)	194,1
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 50%	84-85	29-31(PAD-9)	193,0
MeOH	86	32-35(PAD-10)	140,0
		36-48(PAD-11)*	101,3
		49-58(PAD-12)	35,7
		59-60(PAD-13)	4,5
		61-65(PAD-14)*	17,0
		66-70(PAD-15)*	125,1
		71-73(PAD-16)	42,6
		74-78(PAD-17)	35,1
		79-80(PAD-18)	22,6
		81-83(PAD-19)	18,4
		84-85(PAD-20)	34,7
		86(PAD-21)	155,8
			T = 12077,5

\* Frações estudadas

Isoflavonóides 1, 2 e 3: A fração PAD-5 (224,0 mg) foi submetida à C.C.P. (eluição contínua por 3 horas com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), resultando na obtenção de 2 frações com um grau de pureza insatisfatório. Após sucessivas C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) obteve-se os isoflavonóides 1 (5,0 mg, como cristais incolores), 2 (20,0 mg, como cristais amarelo-pálidos) e 3 (17,0 mg, como cristais amarelo-escuros).

Isoflavonóides 3, 4 e 5: A fração PAD-7 (231,5 mg) foi submetida a C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com CHCl<sub>3</sub>), fornecendo os

isoflavonóides **3** (32,8 mg, como cristais amarelo-escuros), **4** (152,0 mg, como cristais amarelos) e **5** (33,51 mg, como cristais amarelo-escuros).

Isoflavonóides **4**, **6**, **8** e **10**: A fração PAD-11 (115,0 mg) foi purificada por C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com  $\text{CHCl}_3$ ) e isolou-se os isoflavonóides **4** (3,0 mg, como cristais amarelos), **6** (17,6 mg, como cristais incolores), **8** (17,0 mg, como cristais marrons) e **10** (10,0 mg, contaminado com outra substância não identificada).

Flavonóide **13**: A fração PAD-14 (17,0 mg) após C.C.P. (eluição com  $\text{CHCl}_3$ ) forneceu uma substância muito polar na forma de cristais vermelho-alaranjados (1,0 mg). Ao purificar a fração PAD-15 por sucessivas C.C.P. (eluição com  $\text{CHCl}_3$ ), obteve-se o mesmo tipo de cristal vermelho-alaranjado (10,0 mg) acompanhado de um óleo difícil de ser eliminado e por análises espectroscópicas mostrou ser o flavonóide **13**.

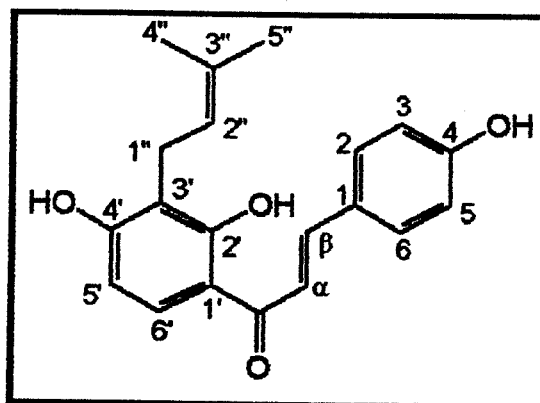
PF: 134-137 °C (Lit.: 187-8 °C)<sup>73</sup>

Espectro de Massa de **13** (E.39):  $M^+$  324 (100),  $m/z$  (%), 269 (25), 204 (15), 189 (16), 161 (45), 149 (83), 147 (29).

Espectro de U.V. de **13** (E.40):  $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 357,5 (3,68), 262,5 (3,60) e 230,5 (3,76).

Espectro de I.V. de **13** (E.41)  $\nu_{\text{max}}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3363,5 (O-H), 1627,8 (C=O), 1606,2, 1513,7 (C=C), 1169,9 (C-O-C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **13** ( $\text{CDCl}_3$ , E.42):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
5'	6,42	d	$J_{5'-6'} = 8,4$
6'	7,73	d	$J_{6'-5'} = 8,9$
2,6	7,57	d	$J_{2,6-3,5} = 8,6$
3,5	6,88	d	$J_{3,5-2,6} = 8,6$
$\alpha$	7,47	d	$J_{\alpha-\beta} = 15,4$
$\beta$	7,85	d	$J_{\beta-\alpha} = 15,4$
1"	3,48	d	$J_{1''-2''} = 7,32$
2"	5,30	m	
4"	1,77	s	
5"	1,84	s	
OH	6,15	s	
OH (pte)	13,85	s	

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **13** (CDCl<sub>3</sub> + D<sub>2</sub>O, E.42a):

H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)	H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
5'	6,42	d	$J_{5'-6'} = 8,85$	1"	3,48	d	$J_{1''-2''} = 7,01$
6'	7,73	d	$J_{6'-5'} = 8,97$	2"	5,31	m	
2',6'	7,57	d	$J_{2',6'-3',5'} = 8,56$	4"	1,77	s	
3',5'	6,88	d	$J_{3',5'-2',6'} = 8,62$	5"	1,84	s	
$\alpha$	7,46	d	$J_{\alpha-\beta} = 15,4$				
$\beta$	7,84	d	$J_{\beta-\alpha} = 15,4$				

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **13** (CDCl<sub>3</sub>, E.43):

C	δ (ppm)			C	δ (ppm)	
1'	114,46	C		α	121,34	CH
2'	161,80	C		β	144,22	CH
3'	114,26	C		1"	21,82	CH <sub>2</sub>
4'	164,15	C		2"	118,32	CH
5'	107,91	CH		3"	130,06	C
6'	129,41	CH		4"	17,99	CH <sub>3</sub>
1	128,36	C		5"	25,88	CH <sub>3</sub>
2,6	130,76	CH				
4	158,21	CH				
3,5	116,19	CH				
1"	192,47	C=O				

***Pachyrhizus tuberosus (Lam.) Spreng. (sementes pretas)***

As sementes (3,2 kg) de *P. tuberosus* (coletadas em Lavras (MG) em 11/86), foram secas, moidas e extraídas em Soxhlet com éter de petróleo, seguido por Et<sub>2</sub>O. O extrato etéreo foi seco com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, concentrado sob pressão reduzida e refluxado por 45 minutos com éter de petróleo para remoção do material graxo. Da fração desengordurada (15,0 g), foram solubilizadas 5,0 g de material em Et<sub>2</sub>O. À solução etérea foi adicionada 20 g de sílica gel 60, obtendo-se assim uma suspensão, a qual foi colocada no topo de uma C.C. (70 cm x 7,0 cm) empacotada com 500 g de sílica gel 60 e eluída com gradientes de solventes de polaridades crescentes:

Eluente	Frações	Reunião das Frações	Massa (mg)
E.P./CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 50%	1-13	1(PTE-1)	20,1
E.P./CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 75%	14-22	2(PTE-2)	60,1
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	23-50	3(PTE-3)*	1624,0
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 1,5%	51-71	4-5(PTE-4)	765,5
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 3%	72-82	6-9(PTE-5)	442,7
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	83-95	10-16(PTE-6)	33,3
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10%	96-100	17-20(PTE-7)	21,5
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 50%	101-105	21-35(PTE-8)	83,3
MeOH	106-110	36-43(PTE-9)	22,1
		44-61(PTE-10)	34,1
		62-65(PTE-11)	49,3
		66-70(PTE-12)	49,8
		71-75(PTE-13)	53,0
		76-77(PTE-14)	48,1
		78-82(PTE-15)	96,7
		83-87(PTE-16)	52,8
		88-89(PTE-17)	27,3
		90-93(PTE-18)	30,7
		94-110(PTE-19)	-

\*Fração estudada

Isoflavonóides 14 e 12: A fração PTE-3 (300 mg) foi submetida à CC.P. (eluição contínua por 2 horas em E.P./CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1). As frações mais apolares foram novamente purificadas por sucessivas C.C.P. (E.P./CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:1), obtendo-se o isoflavonóide 14 (17,0 mg, cristais vermelhos) e 12 (45,0 mg, óleo amarelo).

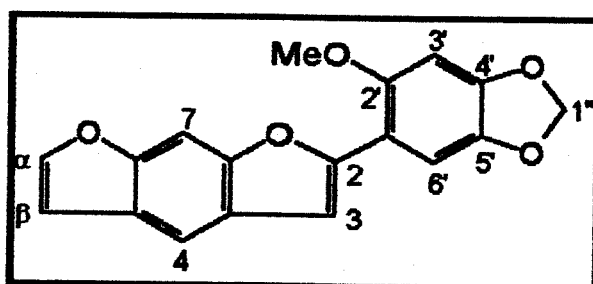
PF: 124-127 °C

Espectro de Massa de 14 (E.44): M<sup>+</sup>. 308 (100) m/z (%), 293 (76), 265 (33), 154 (M<sup>+2</sup>, 17).

Espectro de U.V. de 14 (E.45): λ<sub>max</sub><sup>CHCl<sub>3</sub></sup> (log ε) nm: 354,6 (3,50), 340,6 (3,53), 293,0 (3,06), 260,5 (3,28) e 230,0 (3,49).

Espectro de IV de 14 (E.46): ν<sub>max</sub><sup>CHCl<sub>3</sub></sup> (cm<sup>-1</sup>): 1623,0, 1504,1, 1487,5 (C=C), 1194,8, 1171,8 (C-O-C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 14 (CDCl<sub>3</sub>, E.47):



H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
3	7,27	d	J <sub>3-7</sub> = 0,8
4	7,65	s	
7	7,60	d	J <sub>7-3</sub> = 0,8
3'	6,89	s	
6'	7,55	s	
α	7,61	d	J <sub>α-β</sub> = 2,2
β	6,81	dd	J <sub>β-α</sub> = 2,2, J <sub>β-7</sub> = 1,0
1''	5,99	s	
2'-OMe	3,95	s	



Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **14** (CDCl<sub>3</sub>, E.48):

C	δ (ppm)			C	δ (ppm)	
2	152,91	C		4'	148,90	C
3	106,56*	CH		5'	141,90	C
4	111,07	CH		6'	104,69	CH
5	127,1	C		3a	124,90	C
6	153,6**	C		7a	153,59**	C
7	95,2***	CH		α	145,21	CH
1'	112,65	C		β	106,55*	CH
2'	152,51	C		1"	101,72	CH <sub>2</sub>
3'	94,08***	CH		2'-OMe	56,47	CH <sub>3</sub>

\*valores intercambiáveis

\*\* valores intercambiáveis

\*\*\*valores intercambiáveis

### *Pachyrhizus panamensis* Clausen

As sementes (4,0 g) de *P. panamensis* (coletadas na Seção de Fisiologia Vegetal - I.B./UNICAMP em 07/92), foram secas a 45 °C, moidas e extraídas a quente, em Soxhlet, primeiramente em éter de petróleo (7,0 horas) e em seguida em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (27 horas). O extrato em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> após concentração sob pressão reduzida forneceu 0,40 g de material bruto, do qual 0,35 g foi solubilizado em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e adicionado a uma coluna cromatográfica (50 cm x 4,5 cm) empacotada com 38,0 g de sílica gel 60 eluída com gradientes de polaridades crescentes:

Eluente	Frações	Reunião das Frações	Massa (mg)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1-6	1(PPD-1)*	178,80
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 1%	7-10	2(PPD-2)	90,60
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 2,5%	11-13	3(PPD-3)	22,69
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 5%	14	4-5(PPD-4,5)*	17,70
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH 10%	15	6-7(PPD-6,7)*	3,70
MeOH	16	8-9(PPD-8,9)*	8,0
		10 (PPD-10)	10,4
		11(PPD-11)	2,2
		12(PPD-12)	2,1
		13(PPD-13)	9,4
		14(PPD-14)	
		15(PPD-15)	
		16(PPD-16)	

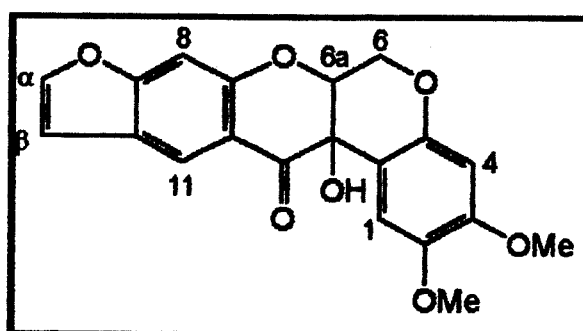
\*Frações analisadas

Isoflavonóides 1, 2, 3 e 4: A fração PPD-1 (178,8 mg) após C.C.P. (eluição com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), forneceu os isoflavonóides 1 (2,9 mg, cristais incolores), 2 (2,65 mg, cristais amarelo-escuros), 3 (2,82 mg, cristais amarelo-escuros) e 4 (2,3 mg, cristais amarelos), além de uma grande quantidade de um óleo (133,73 mg).

Isoflavonóides 15, 10, 1, 2, 3, 4, 6, e 8: A fração PPD-4,5 (17,7 mg) foi submetida à C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com CHCl<sub>3</sub>) e forneceu os isoflavonóides 1 (0,95 mg, cristais incolores), 2 (0,93 mg, cristais

amarelo-pálidos), **3** (0,3 mg, cristais amarelo-escuros), **4** (1,42 mg, cristais amarelos), **6** (1,37 mg, cristais incolores), **8** (1,86 mg, cristais marrons). Além dessas substâncias puras, obteve-se também uma fração polar (10,0 mg) contendo a mistura dos isoflavonóides **10** e **15**. Mesmo após sucessivas C.C.P. em diferentes sistemas de solventes continuavam na forma de uma mistura.

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **15** (CDCl<sub>3</sub>, E.49):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,55	s	
4	6,52	s	
8	7,03	s	
11	8,21	s	
6	4,50	m	
6a	4,50	m	
$\alpha$	7,56	d	$J_{\alpha-\beta} = 2,3$
$\beta$	6,75	dd	$J_{\beta-\alpha} = 2,2, J_{\beta-8} = 0,93$
2-OMe	3,80	s	
3-OMe	3,70	s	
OH	4,50	m	

Espectro de CG-EM de **15** (E.50):

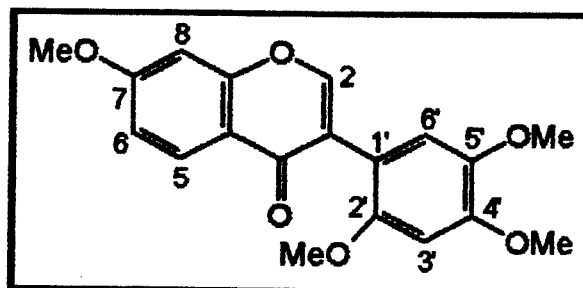
T <sub>R</sub> (min)	Pico Molecular (m/z)	Pico Base (m/z)	Substância
32,391	368	208	<b>15</b>
25,086	410	208	<b>10</b>

Isflavonóides **11** e **16**: A fração PPD-6.7 (4,0 mg) apresentava apenas a substância **11** (4,0 mg, cristais amarelo-escuros contaminados com um óleo). A fração PPD-8.9 (10,0 mg) foi submetida à C.C.P. (eluição contínua por 4 horas com CHCl<sub>3</sub>), fornecendo os isoflavonóides **16** (1,72 mg, cristais amarelo-escuros) e **11** (1,42 mg, cristais amarelo escuros contaminados com um óleo).

PF: 188 °C (Lit.: 194 °C; 190-1 °C)<sup>78</sup>

Espectro de Massa de **16** (E.51): M<sup>+</sup>. 342 (100), m/z (%), 327 (15), 311 (27).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **16** (CDCl<sub>3</sub>, E.52):



H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	7,95	s	
5	8,20	d	J <sub>5-6</sub> = 8,91
6	6,96	dd	J <sub>6-5</sub> = 8,91, J <sub>6-8</sub> = 2,4
8	6,86	d	J <sub>8-6</sub> = 2,4
3'	6,63	s	
6'	6,95	s	
OMe	3,93	s	
OMe	3,92	s	
OMe	3,86	s	
OMe	3,78	s	

## **Análise Quantitativa dos Componentes dos Extratos das Sementes de *Pachyrhizus***

### **Extração dos isoflavonóides**

#### ***Pachyrhizus ferrugineus***

As sementes de *P. ferrugineus* (181 g, coletadas na Seção de Fisiologia Vegetal do I.B./UNICAMP - 04/92), secas e moídas, foram extraídas a quente, em Soxhlet, consecutivamente em éter de petróleo (30 horas) e em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 horas). Após concentração do extrato diclorometânico, obteve-se 6,1831 g de material. Ao extrato concentrado adicionou-se éter de petróleo. Após um período de repouso, retirou-se o sobrenadante ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), concentrando-o e obtendo-se um extrato desengordurado.

#### ***Pachyrhizus ahipa***

As sementes de *P. ahipa* (20 g, coletadas na Seção de Fisiologia Vegetal do I.B./UNICAMP - 04/93), secas e moídas, foram extraídas a quente, em Soxhlet, em éter de petróleo (6 horas) e em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (23 horas). O extrato em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1,2471 g) foi submetido ao processo de desengorduramento, que consistiu na adição de éter de petróleo ao extrato concentrado. Após a formação de um precipitado branco, o sobrenadante, ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) foi retirado e concentrado.

### **Purificação dos padrões**

Os padrões foram purificados por C.C.P. em sílica gel  $\text{P}_{254}$  e eluídos pelos seguintes sistemas de solventes:

Padrão	Eluente
rotenona (6)	CHCl <sub>3</sub>
pachyrhizina (4)	CHCl <sub>3</sub>
neotenona (3)	CHCl <sub>3</sub>
12a-OH-dolineona (5)	CHCl <sub>3</sub>
deidroneotenona (8)	CHCl <sub>3</sub> /MeOH 2,5%
dolineona (1)	EP/AcOEt (90:10)
pachyrhizona (2)	EP/AcOEt (90:10)

### Purificação dos solventes

Os solventes utilizados foram previamente purificados, com excessão da acetonitrila adquirida com o grau de pureza HPLC. A água (bidestilada, deionizada e filtrada) foi fornecida pelo Instituto de Biologia - UNICAMP.

Os solventes usados em CLAE foram previamente filtrados em filtros de teflon e degaseificados por aplicação de vácuo e ultrasom.

As soluções utilizadas na CLAE foram preparadas nas proporções de volume/volume, dentro do próprio cromatógrafo líquido, através de suas bombas.

### Preparo das soluções de padrões para uso em CLAE

Todas as soluções dos padrões foram preparadas, utilizando-se balões volumétricos (10 ml, 5 ml e 2 ml) e pipetas volumétricas (2 ml) e usando como solvente a acetonitrila. Estas soluções foram filtradas em filtros especiais (Millipore) (tabela 22).

**Tabela 22** - Preparação das soluções dos padrões para as curvas de calibração.

Padrão	Massa (mg)	[C] (mg/ml)
rotenona	0,90	0,180
pachyrhizina	0,87	0,174
12a-OH-dolineona	1,00	0,200
neotenona	1,00	0,200
erosona	0,50	0,100
dolineona	0,50	0,100
pachyrhizona	0,50	0,100
deidroneotenona	0,83	0,166

As outras soluções, também utilizadas nas curvas de calibração, foram feitas por diluição a partir das soluções acima ([C]), estando nas seguintes concentrações (tabela 23).

**Tabela 23** - Diluições das soluções dos padrões

Padrão	[C']	[C'']	[C''']
rotenona	0,090	0,036	-
pachyrhizina	0,087	0,035	-
12a-OH-dolineona	0,020	0,004	-
neotenona	0,040	0,020	0,004
erosona	0,020	0,010	-
dolineona	0,050	-	-
pachyrhizona	0,050	0,020	-
deidroneotenona	0,004	-	-

### Preparo das soluções dos extratos

Todas as soluções dos extratos foram filtradas em filtros especiais (Millipore), afim de evitar contaminação da coluna. Preparou-se

as soluções, dissolvendo-se os extratos em acetonitrila, com o auxílio de balões volumétricos (5 ml) (tabela 24).

Tabela 24 - Preparação das soluções dos extratos

Extrato	Massa (mg)	[C] (mg/ml)
<i>P. ferrugineus</i>	1,17	0,234
<i>P. ahipa</i>	1,40	0,280

### Curva de calibração dos padrões

Injetou-se 10  $\mu$ l de todas as soluções padrões (em várias concentrações: C, C', C" e C'''), em fase móvel composta por acetonitrila/H<sub>2</sub>O (45:55) e fluxo de 1,5 ml/min, obtendo (tabela 25):



Tabela 25 - Concentrações das soluções de padrões empregadas na obtenção das curvas de calibração

Padrão	[ ] mg/ml	Figura	Curva de Calibração
rotenona	0,180	12	Figura 8
	0,090	12	
	0,036	12	
pachyrhizina	0,174	13	Figura 8
	0,087	13	
	0,035	13	
12a-OH-dolineona	0,200	14	Figura 9
	0,020	14	
	0,004	14	
neotenona	0,200	15	Figura 9
	0,040	15	
	0,020	15	
	0,004	15	
erosona	0,100	16	Figura 10
	0,020	16	
	0,010	16	
dolineona	0,100	17	Figura 10
	0,050	17	
deidroneotenona	0,166	18	Figura 11
	0,040	18	

O padrão pachyrhizina foi injetado e eluído em fase móvel acetonitrila/H<sub>2</sub>O (55:45), num fluxo de 1,5 ml/min (tabela 26):

Tabela 26 - Concentrações das soluções do padrão pachyrizona, usadas na obtenção da curva de calibração.

Padrão	[ ] mg/ml	Figura	Curva de Calibração
pachyrizona (8-OMe-dolineona)	0,100	19	Figura 11
	0,050	19	
	0,020	19	

### Curva de calibração dos extratos

Para cada experimento em que se obteve as curvas de calibração, injetou-se 10 µl dos extratos. Os extratos eluídos em acetonitrila/H<sub>2</sub>O (45:55) são (tabela 27):

Tabela 27 - Relação dos experimentos em que se obteve as curvas de calibração dos extratos.

Extrato	Figura	Experimento
<i>P. ahipa</i>	20	1
<i>P. ferrugineus</i>	20	1
<i>P. ahipa</i>	21	2
<i>P. ferrugineus</i>	21	2
<i>P. ahipa</i>	22	3
<i>P. ferrugineus</i>	22	3

Os extratos eluídos em acetonitrila/H<sub>2</sub>O

(55:45) são:

Extrato	Figura	Experimento
<i>P. ahipa</i>	23	4
<i>P. ferrugineus</i>	23	4

## Tentativa de Síntese da 3-Fenilcumarina 9 e do 2-etoxiflaveno 130

### Obtenção de 6-benziloxicumarano 132.

#### Benzilação de 2,6-dihidroxibenzaldeído:

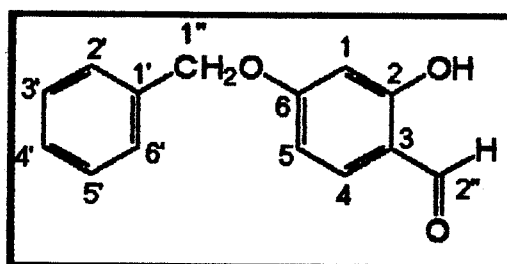
À mistura de 2,6-dihidroxibenzaldeído (1,63 g) e  $K_2CO_3$  anidro (3,04 g) dissolvida em 30 ml de acetona anidra, foi adicionado lentamente e sob agitação constante brometo de benzila (1,4 ml). A agitação foi mantida durante 3 horas, seguida por mais 4 horas de refluxo. O produto da reação foi extraído com  $Et_2O$ , seco com  $Na_2SO_4$  anidro e concentrado até a secura fornecendo 1,355 g de produto bruto (61,5%) que não foi submetido a processo de purificação.

Espectro de massa de 6-benziloxi-2-hidroxibenzaldeído (120) (E.1):  $M^+$  228 (26,3),  $m/z$  (%), 91 (100).

Espectro de U.V. de 120 (E.2):  $\lambda_{max}^{CHCl_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 316,0 (3,55), 279,5 (3,96), 239,5 (3,58).

Espectro de I.V. de 120 (E.3):  $\nu_{max}^{CH_2Cl_2}$  ( $cm^{-1}$ ): 3500-2550 (O-H), 1631,8 (C=O), 1574,4 e 1505,5 (C=C).

Espectro de RMN- $^1H$  de 120 ( $CDCl_3$ , E.4):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,51	d	$J_{1-5} = 2,40$
4	7,43	d	$J_{4-5} = 8,70$
5	6,63	dd	$J_{5-4} = 8,70, J_{5-2} = 2,40$
Fenil	7,36	m	
1"	5,10	s	
H(ald)	9,72	s	
OH(pte)	11,47	s	

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de 120 ( $\text{CDCl}_3$ , E.5):

C	$\delta$ (ppm)		C	$\delta$ (ppm)	
1	101,7	CH	1'	135,75	C
2	166,04	C	2',6'	128,81	CH
3	115,39	C	4'	128,46	CH
4	135,38	CH	3',5'	127,59	CH
5	108,95	CH	1"	70,36	$\text{CH}_2$
6	164,58	C	2"	194,38	CHO

### Esterificação de 6-benziloxi-2-hidroxibenzaldeído:

A 1,199 g de 6-benziloxi-2-hidroxibenzaldeído foi adicionado 1,159 g de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anidro e 25 ml de acetona anidra. A esta mistura, sob agitação, acrescentou-se lentamente 0,6 ml de bromoacetato de etila. A solução ficou sob refluxo por 1 hora e foi extraída em  $\text{Et}_2\text{O}$ , seca em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada sob pressão reduzida. Após purificação por C.C.P. (eluição em hexano/acetato de etila 30%) obteve-se 0,329 g de produto puro (18,7%).

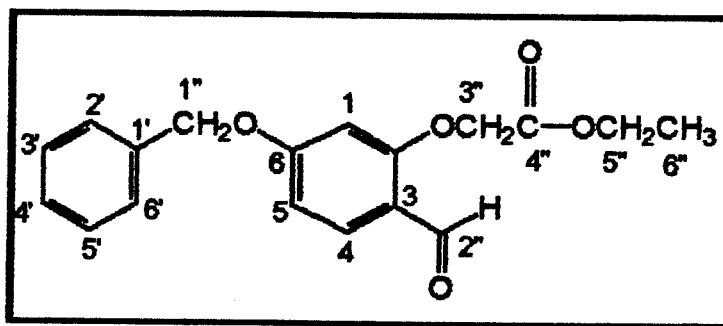
PF: 85-88 °C

Espectro de massa de 6-benziloxi-2-fenoxiacetatobenzaldeído (**121**) (E.6):  $M^+$  314 (4),  $m/z$  (%), 91 (100).

Espectro de U.V. de **121** (E.7):  $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 305,9 (3,96), 273,0 (4,16), 238,0 (3,68).

Espectro de I.V. de **121** (E.8):  $\nu_{\max}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1757,0 (C=O), 1677,5 (C=O), 1602,2 (C=C).

Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de **121** ( $\text{CDCl}_3$ , E.9):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,40	d	$J_{1-5} = 2,1$
4	7,84	d	$J_{4-5} = 8,74$
5	6,67	dd	$J_{5-4} = 8,74, J_{5-1} = 2,10$
Fenil	7,38	m	
1''	5,10	s	
3''	4,69	s	
5''	4,27	q	$J_{5''-6''} = 7,1$
6''	1,30	t	$J_{6''-5''} = 7,1$

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **121** (CDCl<sub>3</sub>, E. 10):

C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
1	99,91	CH	4'	128,43	CH
2	165,01	C	3',5'	127,57	CH
3	119,67	C	1"	70,46	CH <sub>2</sub>
4	130,70	CH	2"	188,16	CHO
5	107,56	CH	3"	65,61	CH <sub>2</sub>
6	161,80	C	4"	168,01	C=O
1'	135,17	C	5"	61,65	CH <sub>2</sub>
2',6'	128,77	CH	6"	14,13	CH <sub>3</sub>

### Hidrólise de 6-benziloxi-2-fenoxiacetato benzaldeído:

A mistura de 0,280 g de 6-benziloxi-2-fenoxiacetato benzaldeído e de 5,6 ml de NaOH 2N foi aquecida, sob refluxo, por 30 minutos. Sob resfriamento, o sal de sódio cristalizado foi filtrado, e a seguir dissolvido em um mínimo de H<sub>2</sub>O e acidificado com HCl 1N. Os cristais formados (amarelos) foram filtrados e lavados com H<sub>2</sub>O, deixados no dessecador a vácuo, fornecendo 0,131 g do ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacético benzaldeído (49,64%).

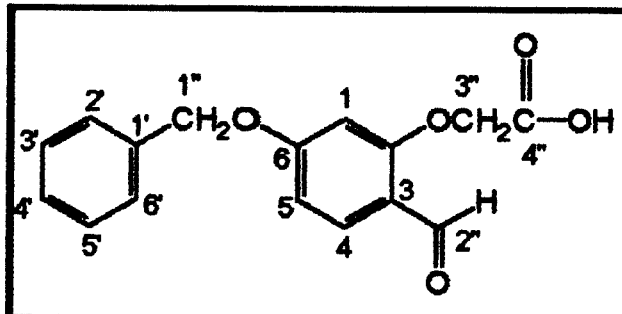
PF: 118-121 °C (Lit.: 147,0-148,0 °C)<sup>27</sup>

Espectro de massa de ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacético benzaldeído (**122**) (E.11): M<sup>+</sup>: 286 (5), m/z (%), 91 (100).

Espectro de U.V. de **122** (E.12): λ<sub>max</sub><sup>CHCl<sub>3</sub></sup> (log ε) nm: 303,8 (4,12), 273,5 (4,33).

Espectro de I.V. de **122** (E.13): ν<sub>max</sub><sup>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></sup> (cm<sup>-1</sup>): 1710,7 (C=O), 1676,5 (C=O), 1600,9 (C=C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 122 (CDCl<sub>3</sub>, E. 14):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,48	d	$J_{1-5} = 2,15$
4	7,76	d	$J_{4-5} = 8,6$
5	6,75	dd	$J_{5-4} = 8,6, J_{5-1} = 2,15$
Fenil	7,39	m	
1''	5,18	s	
2''	10,38	s	
3''	4,71	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de 122 (E. 15):

C	$\delta$ (ppm)		C	$\delta$ (ppm)	
1	101,40	CH	2',6'	128,91	CH
2	165,44	C	4'	128,83	CH
3	119,54	C	3',5'	128,63	CH
4	134,55	CH	1''	70,65	CH <sub>2</sub>
5	108,30	CH	2''	189,68	CHO
6	160,67	C	3''	66,10	CH <sub>2</sub>
1'	135,60	C	4''	170,07	C=O

### Ciclização/Descarboxilação de ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacético-benzaldeído:

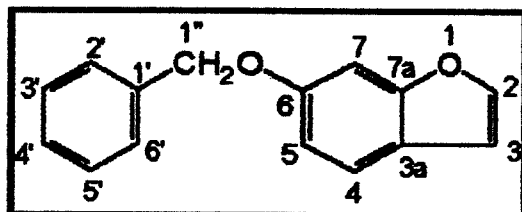
Ao ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacético-benzaldeído (0,131 g) foi adicionado 0,40 g de NaOAc anidro e 5,0 ml de anidrido acético recém destilado. A mistura foi aquecida e mantida sob refluxo (em banho de óleo) e agitação por 1 hora. Após resfriamento, a mistura foi vertida em H<sub>2</sub>O (10 ml), o produto extraído com Et<sub>2</sub>O e o extrato foi agitado com H<sub>2</sub>O. À fase aquosa foi adicionado NH<sub>3</sub> aquoso. O sal de amônio foi separado e filtrado e a seguir acidificado com HCl 10%, fornecendo 0,018 g de um produto cristalino que mostrou ser o ácido 6-benziloxicumarona-2-carboxílico (14,55%). A solução etérea foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, concentrada sob pressão reduzida e o resíduo submetido à C.C.P. (eluição com hexano/acetato de etila 30%) e obteve-se a 6-benziloxicumarona (39,0 mg - 37,28%).

Espectro de massa de 6-benziloxicumarona **123** (E.16): M<sup>+</sup> 224 (21), m/z (%), 91 (100).

Espectro de U.V. de **123** (E.17):  $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 287,0 (3,77), 247,3 (4,11).

Espectro de I.V. de **123** (E.18):  $\nu_{\max}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$  (cm<sup>-1</sup>): 1623,3, 1489,5 (C=C), 1154,2 (C-O-C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **123** (CDCl<sub>3</sub>, E.19):



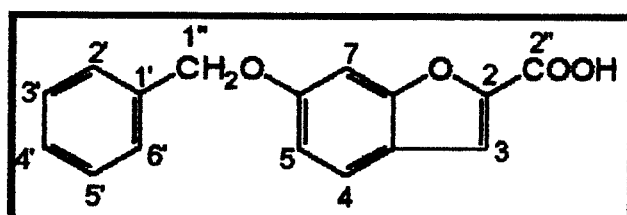
H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
4	7,45	d	$J_{4-5} = 8,4$
5	6,96	dd	$J_{5-4} = 8,4, J_{5-7} = 2,2$
7	7,10	d	$J_{7-5} = 2,2$
Fenil	7,36	m	
2	7,51	d	$J_{2-3} = 2,2$
3	6,67	dd	$J_{3-2} = 2,2, J_{3-7} = 1,02$
1"	5,08	s	



Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **123** (CDCl<sub>3</sub>, E.20):

C	δ (ppm)			C	δ (ppm)	
2	144,23	CH		3a	120,98	C
3	106,35	CH		7a	157,17	C
4	121,24	CH		1'	137,03	C
5	112,65	CH		2',6'	128,65	CH
6	155,92	C		4'	128,05	CH
7	97,24	CH		3',5'	127,56	CH
				1"	70,54	CH

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de ácido 6-benziloxicumarona-α-carboxílico (**131**) (CDCl<sub>3</sub>, E.21):



H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
4	7,55	d	J <sub>4-5</sub> = 8,7
5	7,12	dd	J <sub>5-4</sub> = 8,7, J <sub>5-7</sub> = 2,1
7	7,03	d	J <sub>7-5</sub> = 2,1
Fenil	7,39	m	
3	7,53	d	J <sub>3-7</sub> = 0,8
1"	5,12	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **131** (CDCl<sub>3</sub>, E.22):

C	δ (ppm)		C	δ (ppm)	
2	162,90	C	7a	159,70	C
3	115,05	CH	1'	136,39	C
4	123,25	CH	2',6'	128,70	CH
5	114,73	CH	4'	128,60	CH
6	157,23	C	3',5'	127,55	CH
7	97,03	CH	1''	70,56	CH <sub>2</sub>
3a	120,56	C	2''	174,44	C=O

### Redução de 6-benziloxicumarona:

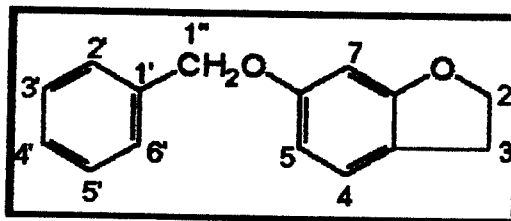
6-benziloxicumarona (0,039 g) foi dissolvida em 10 ml de acetato de etila, e em seguida adicionou-se Pt/C (0,03 g, 10%). O frasco foi agitado em atmosfera de H<sub>2</sub>, a temperatura e pressão ambientes por 2 horas. A mistura reacional foi filtrada em coluna de celite (para reter o carvão); a solução em acetato de etila foi concentrada e purificada por C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com hexano/acetato de etila 15%). Isolou-se o 6-benziloxicumarano (0,0164 g - 41,68%).

Espectro de massa de 6-benziloxicumarano (**132**) (E.23): M<sup>+</sup>. 226 (29), m/z (%), 91 (100).

Espectro de U.V. de **132** (E.24): λ<sub>max</sub><sup>CHCl<sub>3</sub></sup> (log ε) nm: 288 (3,99), 240,8 (3,83).

Espectro de I.V. de **132** (E.25): ν<sub>max</sub><sup>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></sup> (cm<sup>-1</sup>): 1621,2, 1595,6 (C=C), 1182,0 (C-O-C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **132** (CDCl<sub>3</sub>, E.26):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
4	7,05	d	$J_{4-5} = 8,91$
5	6,47	m	
7	6,47	m	
Fenil	7,37	m	
2	4,57	t	$J_{2-3} = 8,78$
3	3,13	t	$J_{3-2} = 8,78$
1"	5,02	s	

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de 132 ( $\text{CDCl}_3$ , E.27):

C	$\delta$ (ppm)			C	$\delta$ (ppm)	
2	72,00	$\text{CH}_2$		7a	161,25	C
3	29,06	$\text{CH}_2$		1'	137,08	C
4	124,75	CH		2',6'	128,52	CH
5	106,75	CH		4'	127,86	CH
6	159,40	C		3',5'	127,41	CH
7	97,17	CH		1"	70,25	$\text{CH}_2$
3a	119,09	C				

### Obtenção de 5-formil-6-hidroxycumarano (88)

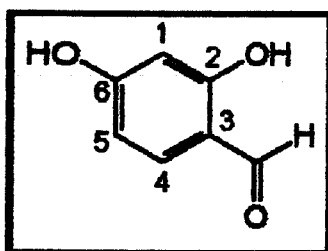
#### Formilação de resorcinol

Em um balão de 500 ml contendo 15 g de resorcinol foi adicionado 150 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  recém destilado e 17,0 ml de formilida. Sob agitação acrescentou-se 13,0 ml de  $\text{POCl}_3$ . A seguir, aqueceu-se a mistura a 40 °C por 5 horas. Com a ajuda de um funil de adição foi adicionado uma solução de NaOH 10% ( $\equiv$  70,0 ml), durante 3 horas, a 50 °C e sob agitação. Após resfriamento, a reação foi

neutralizada com solução de  $H_2SO_4$  a 10%. Separou-se a fase orgânica e extraiu-se a fase aquosa com  $CH_2Cl_2$ . Os dois extratos em  $CH_2Cl_2$  foram agrupados, secos com  $Na_2SO_4$  anidro e concentrados. Obteve-se 17,0 g de produto bruto (90%). Tentou-se obter o 2,6-dihidroxibenzaldeído através da recristalização em éter etílico/éter de petróleo 1:1. Os cristais precipitados foram filtrados e secos em dessecador à vácuo. O sobrenadante foi concentrado e tentou-se recristalizá-lo em éter etílico/éter de petróleo 1:1. Obteve-se cristais juntamente com um óleo. Tanto os cristais (3,5 g) como o sobrenadante (10,0 g), continuam o mesmo óleo. Através da C.C.P. (elução com  $CHCl_3/MeOH$  2%) do produto bruto (0,10 g) e identificação por métodos espectroscópicos, a mistura reacional mostrou-se constituída por 2,6-dihidroxibenzaldeído e formililida.

Espectro de I.V. de 2,6-dihidroxibenzaldeído (**95**) (E.28):  $\nu_{max}^{KBr}$  ( $cm^{-1}$ ): 3400-3100 (O-H), 1633,0 (C=O), 1581,0, 1497,9 (C=C).

Espectro de RMN- $^1H$  de **95** ( $CDCl_3$ , E.29):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
1	6,39	d	$J_{1-5} = 2,2$
4	7,42	d	$J_{4-5} = 8,5$
5	6,49	dd	$J_{5-4} = 8,5, J_{5-1} = 2,2$
H(ald)	9,70	s	
OH(pte)	11,43	s	

### **Benzilação de 2,6-dihidroxibenzaldeído**

Ao 2,6-dihidroxibenzaldeído em mistura com a formilida (3,35 g) foram adicionados 1,67 g de  $K_2CO_3$  anidro e 30 ml de acetona anidra. Sob agitação e banho de gelo, acrescentou-se 1,4 ml de brometo de benzila, ficando durante 2 horas sob agitação e em seguida em refluxo por 4 horas. O produto da reação foi extraído com  $Et_2O$ , seco com  $Na_2SO_4$  anidro e concentrado, fornecendo 2,50 g de produto benzilado bruto (45,21%), que foi submetido à próxima reação sem qualquer tratamento.

### **Eterificação de 6-benziloxi-2-hidroxibenzaldeído**

Ao produto benzilado (2,5 g) em mistura com 1,95 g de  $K_2CO_3$  anidro e 30 ml de acetona anidra foi adicionado, sob agitação e banho de gelo, bromoacetato de etila (1,0 ml). Após 1 hora de refluxo, o produto foi extraído com  $Et_2O$ , seco com  $Na_2SO_4$  anidro e concentrado, obtendo-se 1,186 g de produto bruto. Após purificação por C.C.P. (eluição com  $CHCl_3$ ), isolou-se 1,140 g de produto puro, identificado como 6-benziloxi-2-fenoxiacetatobenzaldeído ( $\cong$  33%).

### **Hidrólise do 6-benziloxi-2-fenoxiacetatobenzaldeído**

A solução de 20 ml de NaOH 2N foi adicionada a um balão de 50 ml contendo 1,14 g de 6-benziloxi-2-fenoxiacetatobenzaldeído e foi mantida sob agitação e refluxo por 1 hora. Após resfriamento, os cristais formados foram filtrados e a seguir acidificados com HCl 10%. O produto na forma de cristais amarelos foi filtrado a vácuo e seco em dessecador a vácuo, fornecendo 0,820 g de ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacéticobenzaldeído (78,97%).

### **Ciclização do ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacéticobenzaldeído**

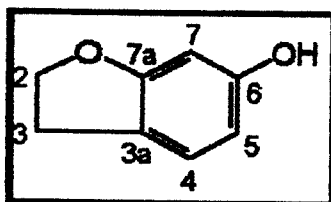
A mistura de 0,810 g de ácido 6-benziloxi-2-fenoxiacéticobenzaldeído, NaOAc (2,50 g) e anidrido acético recém destilado (15 ml) foi deixada em refluxo e agitação por 1 hora. Após destilação do excesso de anidrido, foi adicionado  $H_2O$  à reação. A extração foi feita com  $CHCl_3$ , seguida pela

secagem com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentração. Após purificação por C.C.P. (elução com  $\text{CHCl}_3$ ), obteve-se 0,435 g de 6-benziloxicumarona (68,57%)

### Redução de 6-benziloxicumarona

Em um frasco conendo MeOH (10,0 ml) foi adicionado 6-benziloxicumarona (0,435 g) e um excesso de catalisador Pd/C. Sob temperatura ambiente e pressão de 20 psi e em atmosfera de  $\text{H}_2$ , durante 40 minutos, obteve-se a mistura de 2 produtos. A solução metanólica foi filtrada em coluna empacotada com Celite. O filtrado foi concentrado sob pressão reduzida e o resíduo purificado por C.C.P. (elução com  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  3%). A fração apolar foi identificada como sendo o 6-hidroxicumarano (0,235 g - 88,9%) e a polar como 6-hidroxi-5-metanohidroxicumarano (0,025 g - 9,47%).

Espectro de RMN- $^1\text{H}$  de 6-hidroxicumarano **134** ( $\text{CDCl}_3$ , E.30):

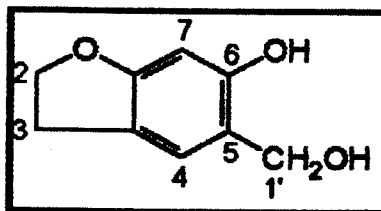


H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	4,55	t	$J_{2-3} = 8,0$
3	3,07	t	$J_{3-2} = 8,0$
4	6,96	d	$J_{4-5} = 8,6$
5	6,38	dd	$J_{5-4} = 8,6, J_{5-2} = 2,0$
7	6,96	d	$J_{7-5} = 2,0$
O-H	6,20	sl	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de 134 (CDCl<sub>3</sub>, E.31):

C	δ (ppm)	
2	72,11	CH <sub>2</sub>
3	28,89	CH <sub>2</sub>
4	125,13	CH
5	107,38	CH
6	161,17	C
7	97,71	CH
3	118,76	C
7a	156,25	C

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 6-hidroxi-5-metanohidroxycumarano 135 (CDCl<sub>3</sub>, E.32):



H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	4,56	t	$J_{\alpha-\beta} = 8,7$
3	3,10	t	$J_{\beta-\alpha} = 8,7$
4	6,85	s	
7	6,38	s	
1'	4,76	s	
O-H	1,61	sl	

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de 135 ( $\text{CDCl}_3$ , E.33):

C	$\delta$ (ppm)	
2	71,98	$\text{CH}_2$
3	28,87	$\text{CH}_2$
4	123,91	CH
5	118,91	C
6	161,49	C
7	98,55	CH
3	116,83	C
7a	156,70	C
1'	64,37	$\text{CH}_2$

### Formilação de 6-hidroxicumarano

Em 20 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  recém destilado foi dissolvido 0,235 g de 6-hidroxicumarano. Sob agitação constante foram adicionados formanilida (0,2 ml) e  $\text{POCl}_3$  (0,2 ml). A mistura reacional foi deixada em refluxo por 4 horas. Em seguida foi adicionada durante 3 horas, com o auxílio de um funil de adição,  $\text{NaOH}$  10% ( $\cong$  10,0 ml), a 50 °C. Após o esfriamento, a reação foi neutralizada com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10%. A camada orgânica ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) foi separada e a fase aquosa extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . As fases orgânicas foram reunidas, secas com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, concentradas e o resíduo submetido à C.C.P. (eluição contínua por 2 horas com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Foi purificado e identificado o 5-formil-6-hidroxicumarano (0,0752 g 26,57%).

PF: 92,0-94,0 °C

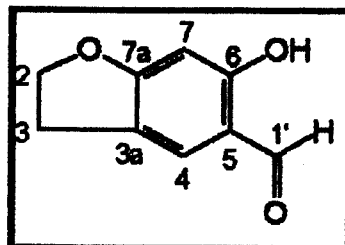
Espectro de massa de 5-formil-6-hidroxicumarano (88) (E.34):  $\text{M}^+$  164 (89),  $m/z$  (%), 163 (100).

Espectro de U.V. de 88 (E.35):  $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 328,6 (3,77), 285,2 (3,98), 246,0 (3,97).

Espectro de I.V. de 88 (E.36):  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3422,2-2744,4 (O-H), 1640,1 (C=O), 1580,2, 1484,9 (C=C).



Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **88** (CDCl<sub>3</sub>, E.37):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2	4,68	t	$J_{2-3} = 8,7$
3	3,18	t	$J_{3-2} = 8,7$
4	7,29	s	
7	6,36	s	
1'	9,65	s	
O-H(pte)	11,72	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de **88** (CDCl<sub>3</sub>, E.38):

C	$\delta$ (ppm)	
2	73,24	CH <sub>2</sub>
3	29,77	CH <sub>2</sub>
4	129,80	CH
5	120,13	C
6	168,11	C
7	98,16	CH
3a	114,32	C
7a	165,38	C
1'	194,16	CHO

## Obtenção de 2,4,5-trimetóxfenilglicidato de sódio (127)

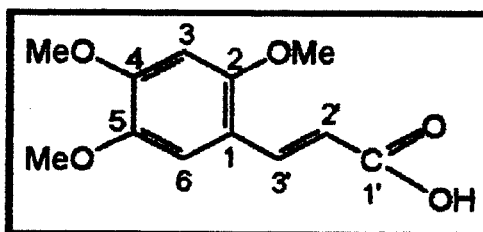
### Tentativas de condensação aldólica de 2,4,5-trimetóxiacetofenona

(A) A mistura de 2,4,5-trimetóxiacetofenona (0,10 g) e brometo de etila (0,1 ml) foram adicionadas em um balão que continha EtONa (0,027 g Na/1ml EtOH anidro), sob argônio e a temperatura de aproximadamente 0 °C, com agitação constante, durante 10 minutos. A reação foi mantida a 0-2,0 °C, durante 2 horas e mais 14 horas à temperatura ambiente, sempre com agitação constante. À mistura reacional foram adicionados H<sub>2</sub>O gelada (20,0 ml) e ácido acético (0,15 ml), sendo extraída com Et<sub>2</sub>O e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Após a concentração e purificação por C.C.P. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) o que se obteve foi um derivado de ácido cinâmico e não o epóxiester desejado.

Espectro de U.V. de ácido 2,4,5-trimetóxicinâmico (136) (E.39):  $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 406,8 (3,89), 275,0 (3,69), 240,5 (3,69).

Espectro de I.V. de 136 (E.40):  $\nu_{\max}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$  (cm<sup>-1</sup>): 3444,4 (O-H), 1722,2, 1639 (C=O), 1600,2 e 1512,0 (C=C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 136 (CDCl<sub>3</sub>, E.41):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
3	6,53	s	
6	7,14	s	
3'	8,05	d	$J_{3'-2'} = 16,0$
2'	7,03	d	$J_{2'-3'} = 16,0$
OMe	3,95	s	
OMe	3,91	s	
OMe	3,90	s	

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de **136** ( $\text{CDCl}_3$ , E.42):

C	$\delta$ (ppm)	
1	115,72	C
2	154,31	C
3	96,98	CH
4	152,30	C
5	143,36	C
6	111,04	CH
3'	137,53	CH
2'	124,04	CH
1'	189,68	C=O
OMe	56,46	$\text{CH}_3$
OMe	56,34	$\text{CH}_3$
OMe	56,12	$\text{CH}_3$

(B) A mistura de 2,4,5-trimetóxi-benzaldeído (0,5 g) e de bromoacetato de etila foi adicionada durante 15 minutos ao EtONa (0,135 g Na/5 ml EtOH anidro), a  $-10\text{ }^\circ\text{C}$ , sob argônio e mantida sob agitação por 2 horas a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  e por mais 2 horas a  $20\text{ }^\circ\text{C}$ . A mistura reacional foi tratada com a solução de ácido acético em

água gelada. (0,5 ml ácido/20 ml H<sub>2</sub>O), extraída com Et<sub>2</sub>O, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Não houve formação de produtos.

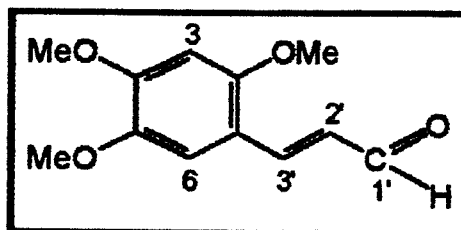
(C) A adição de 2,4,5-trimetóxi-benzaldeído (0,10 g) e de cloroacetato de metila recém destilado (0,08 ml) durante 15 minutos, a -10 °C e sob agitação, ao balão contendo MeONa (0,027 g Na/1 ml de MeOH anidro) formou uma mistura branca pastosa. A reação ficou sob agitação a -5 °C por 2 horas. A seguir foi agitada a T.A. por 22 horas, a 45 °C por 4 horas e em refluxo por 2 horas. O tratamento foi feito com ácido acético em água gelada (0,2 ml de ácido/20 ml H<sub>2</sub>O) e a extração foi feita com Et<sub>2</sub>O e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. O material após a concentração sob pressão reduzida e purificação por C.C.D. (CHCl<sub>3</sub>) forneceu um derivado do aldeído cinâmico (10,0 mg, 8,83%).

Espectro de massa de aldeído 2,4,5-trimetóxicinâmico **138** (E.43): M<sup>+</sup>. 222 (77), m/z (%), 207 (20), 196 (69), 191 (82), 181 (40), 149 (44), 97 (23), 91 (23), 71 (44), 69 (55), 43 (100).

Espectro de U.V. de **138** (E.44):  $\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$  (log  $\epsilon$ ) nm: 368,3 (3,93), 299,0 (3,78), 254,5 (3,67), 245,0 (3,69).

Espectro de I.V. de **138** (E.45):  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 1665,8 (C=O), 1600,4, 1513,1 (C=C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **138** (CDCl<sub>3</sub>, E.46):



H	$\delta$ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
3	6,52	s	
6	7,04	s	
3'	7,82	d	$J_{3'-2'} = 15,9$
2'	6,66	dd	$J_{2'-1'} = 15,9, J_{2'-1'} = 7,93$
1'	9,65	d	$J_{1'-2'} = 7,93$
OMe	3,96	s	
OMe	3,91	s	
OMe	3,88	s	

Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  de **138** ( $\text{CDCl}_3$ , E.47):

C	$\delta$ (ppm)	
1	114,62	C
2	154,20	C
3	96,61	CH
4	153,32	C
5	143,47	C
6	110,57	CH
3'	147,70	CH
2'	126,55	CH
1'	194,30	CHO
OMe	56,46	$\text{CH}_3$
OMe	56,34	$\text{CH}_3$
OMe	56,12	$\text{CH}_3$

(D) Cloroacetato de metila (0,1 ml) foi adicionado a um balão contendo tBuOK (0,030 g K/2 ml tBuOH anidro), a  $-5^\circ\text{C}$  e sob atmosfera de argônio e agitação. Após 15 minutos acrescentou-se 2,4,5-

trimetóxi-benzaldeído (0,10 g/1ml tBuOH anidro) e a reação ficou sob agitação constante por 18 horas. Não reagiu.

(E) Numa tentativa de se conseguir as condições ideais para se obter o epóxiéster foi utilizado o reagente menos substituído - benzaldeído (0,1 g). Este aldeído juntamente com cloroacetato de metila recém destilado (0,1 ml) foi adicionado a um balão contendo MeONa durante 15 minutos, sob atmosfera de argônio e a -5 °C. A reação ficou sob agitação constante por 2 horas a 0 °C, a 20 °C por 2 horas e por mais 18 horas a T.A.. A mistura reacional foi tratada com ácido acético/H<sub>2</sub>O gelada e a seguir extraída com Et<sub>2</sub>O e seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. A análise da C.C.F. mostrou que não houve formação de produto.

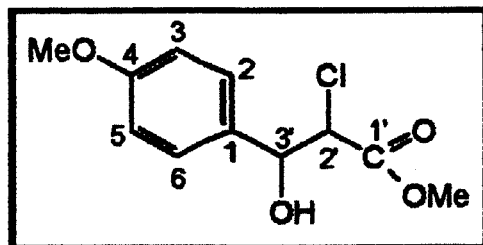
(F) Nesta outra tentativa foi utilizado o 4-metoxibenzaldeído (0,1 g), que juntamente com o cloroacetato de metila (0,1 ml) foram solubilizados em Et<sub>2</sub>O anidro (20 ml) e adicionados a um balão que continha MeONa (0,045 g Na/1,5 ml MeOH anidro), durante 15 minutos a -5 °C e sob atmosfera de argônio e agitação constante. Durante 2 horas a 0 °C, seguida por mais 2 horas a 20 °C foi mantida a agitação. Após tratamento da reação e concentração do material verificou-se que não houve formação de nenhum produto.

(G) Fêz-se novamente a reação utilizando 4-metoxibenzaldeído mais bromoacetato de etila e EtONa, e com agitação por 48 horas a T.A., mas não houve formação de produtos.

(H) Nesta nova tentativa, a mistura de 4-metoxibenzaldeído (0,12 g  $\equiv$  0,1 ml) e cloroacetato de metila (0,1 ml) dissolvida em THF anidro (recém destilado) foi adicionada durante 15 minutos, sob agitação e nitrogênio, a um balão contendo tBuOK (0,170 g). Agitação por 1 hora a 10 °C e a T.A. por 18 horas, seguida por tratamento já descrito anteriormente forneceu uma mistura de produtos. Após a purificação por C.C.P. contínua (CHCl<sub>3</sub> por 4 horas), isolou-se o 2-cloro-3-hidroxi-3-(4-metoxifenil)propionato de metila (0,0255 g, 11,07%).

Espectro de I.V. de 2-cloro-3-hidroxi-(4-metóxi-fenil)propionato de metila 141 (E.48):  
 $\nu_{\max}^{\text{CH}_2\text{Cl}_2}$  (cm<sup>-1</sup>): 3422,8 (O-H), 1743,0 (C=O), 1612,0, 1514,3 (C=C).

Espectro de RMN-<sup>1</sup>H de **141** (CDCl<sub>3</sub>, E.49):



H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2,6	7,44	d	$J_{2-3}$ e $J_{6-5} = 8,79$
3,5	6,99	d	$J_{3-2}$ e $J_{5-6} = 8,79$
3'	5,15	d	$J_{3'-2'} = 12,45$
2'	4,40	d	$J_{2'-3'} = 12,45$
OMe	3,98	s	
OMe	3,48	s	

H	δ (ppm)	multiplicidade	J (Hz)
2,6	7,34	d	$J_{2-3}$ e $J_{6-5} = 8,7$
3,5	6,90	d	$J_{3-2}$ e $J_{5-6} = 8,7$
3'	4,85	d	$J_{3'-2'} = 2,30$
2'	4,25	d	$J_{2'-3'} = 2,30$
OMe	3,84	s	
OMe	3,81	s	

Espectro de RMN-<sup>13</sup>C de 141 (CDCl<sub>3</sub>, E.50):

C	δ (ppm)	
1	125,97	C
2,6	129,16	CH
4	168,68	C
3,5	114,90	CH
3'	85,79	CH
2'	59,78	CH
1'	186,33	C=O
4-OMe	56,21	CH <sub>3</sub>
1'-OMe	50,33	CH <sub>3</sub>

C	δ (ppm)	
1	132,13	C
2,6	127,61	CH
4	160,99	C
3,5	113,91	CH
3'	74,77	CH
2'	74,10	CH
1'	186,33	C=O
4-OMe	55,33	CH <sub>3</sub>
1'-OMe	55,22	CH <sub>3</sub>



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: Fitoquímica

1. Heywood, V. H. (1971). The Leguminosae - A Systemic Purview. *In*: Harborne, J. B.; Boulter, D.; Turner, B. L. (Ed.) *Chemotaxonomy of the Leguminosae*. Cap. 1, Academic Express, London.
2. Hutchinson, J. (1967). *The Genera of Flowering Plants*, v. 1. Oxford Univ. Press, London.
3. Ingham, J. L. (1983). Naturally occurring isoflavonoids. *In*: Zeichmeister, L. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, v. 43, Cap. 1 Springer-Verlag, Wien.
4. Dewick, P. M. (1988). Isoflavonoids. *In*: Harborne, J. B. *The Flavonoids*, Cap. 5 Chapman and Hall, London.
5. Harborne, J. B. (1971). Distribution of flavonoids in the Leguminosae. *In*: Harborne, J. B.; Boulter, D.; Turner, B. L. (Ed.) *Chemotaxonomy of the Leguminosae*, Cap. 2 Academic Press, London.
6. Halbrock, K. & Grisebach, H. (1975). Biosynthesis of flavonoids. *In*: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. (Ed.) *The Flavonoids*, Cap. 15. Chapman and Hall, London.
7. Wong, E. (1970). Structural and biogenetic relationship of isoflavonoids. *In*: Zeichmeister, L. (Ed.) *Progress in the chemistry of Organic Natural Products*, v. 28. Springer-Verlag, Wien.
8. Geissman, T. A. & Crout, D. G. (1969). *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*. Freeman & CO, San Francisco.
9. Hanson, J. R. (1972). Biosynthesis of terpenoid compounds: C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub> compounds. *In*: Geissman, T. A. *Biosynthesis; a specialist periodical report*, v. 1. The Chemical Society, London.
10. Crombie, L.; Freeman, P. W.; Whiting, D. A. (1973). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*: 1277.
11. Crombie, L.; Dewick, P. M.; Whiting, D. A. (1973). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*: 1285.
12. Crombie, L.; Holden, I.; Kilbee, G. W.; Whiting, D. A. (1982) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*: 789.
13. Sorensen, M. (1988). *Nord. J. Bot.* 8: 167-192.
14. Sorensen, M. (1990). *Observations on distribution, ecology and cultivation of the tuber-bearing legumegenus Pachyrhizus Rich. ex DC.* Agricultural University Wageningen, The Netherlands.
15. Lackey, J. A. (1977) *Botanical Journal of Linnean Society*, 74: 163-178.

16. Grum, M. (1990). *Breeding Pachyrhizus Rich. ex DC: A review of Goals and Methods*. Te Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen.
17. Norton, L. B. & Hansberry, R. (1945). *J. Am. Chem. Soc.*, 67: 1609-1614.
18. Bickel, H. & Schmid, H. (1953), *Helv. Chim. Acta*, 36: 664-677.
19. Simonitsch, E.; Frei, H. & Schmid, H. (1957). *Monat. Chem.* 88: 541-59.
20. Eisenbeiss, J. & Schmid, H. (1959). *Helv. Chim. Acta*, 42: 61-66.
21. Krishnamurti, M.; Sambhy, Y. R.; Seshadri, T. R. (1970). *Tetrahedron*, 26: 3023-3027.
22. Kalra, A. J.; Krishnamurti, M.; Nath, M. (1977). *Indian J. Chem.*, 15B: 1084-1086.
23. Ingham, J. L. (1979). *Z. Naturf., C. Biosciences*, 34C (9 e 10): 683-688.
24. Magalhães, A. F.; Sales, B. H. L. N.; Magalhães, E. G.; Valio, F. M. (1992). *Phytochemistry*, 31 (5): 1831-1832.
25. Ingham, J. L. (1990). *Bioch. Syst. Ecol.*, 18 (5): 329-343.
26. Oberholzer, M. E.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G. (1974). *Tetrahedron Lett.*, 2211-2214.
27. Oberholzer, M. E.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G. (1976). *Phytochemistry* 15: 1283-1284.
28. Oberholzer, M. E.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G. (1977). *Tetrahedron Lett.*, 1165-1168.
29. Brink, A. J.; Rall, G. J. H.; Breytenbach, J. C. (1977). *Phytochemistry*, 16: 273-276.
30. Breytenbach, J. C. & Rall, G. J. H. (1980). *Tetrahedron Lett.*, 21: 4535-4538.
31. Oberholzer, M. E.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G. (1980). *Phytochemistry*, 19: 2503-2504.
32. Breytenbach, J. C.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G.; Hull, W. E. (1982). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*: 1157-1162.
33. Breytenbach, J. C. & Rall, G. J. H. (1980). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*: 1804-1809.
34. Van Duuren, B. L. (1961). *J. Chem. Soc.*, 5013-5019.
35. Brink, C. van der, Dekker, J. J.; Hanekon, E. C.; Meiring, D. H.; Rall, G. J. H. (1965). *J. South African Chem. Inst.*, 18 (1): 21-27. Apud *C.A.* 64: 14834.
36. Rall, G. J. H.; Engelbrecht, J. P.; Brink, A. J. (1970). *Tetraedron* 26: 5007-5012.
37. Brink, A. J.; Rall, G. J. H.; Engelbrecht, J. P. (1974). *Phytochemistry*, 13: 1581-1585.
38. Brink, A. J.; Rall, G. J. H.; Engelbrecht, J. P. (1974). *Tetrahedron* 30: 311-314.
39. Brink, M.; Nel W.; Rall, G. J. H. (1966). *J. Sot Afr. Chem. Inst.*, 24: 56-60. *Chem. Abst.* 65: 13676.
40. Bouwer, D.; Brink, C. v. d. M.; Engelbrecht, J. P.; Rall, G. J. H. (1968). *J. Souh Afr. Chem. Inst.*, 70: 77837 f.
41. Rall, G. J. H.; Engelbrecht, J. P.; Brink, A. J. (1971). *J. South Afr. Chem. Inst.*, 24: 56-60. *Chem. Abst.*, 75: 45669.
42. Puyvelde, L. V.; DeKimpe, N.; Mudaheraniva, J-P.; Gasiga, A.; Schamp, N.; Declercq, J-P.; Van Meerssche, M. (1987). *J. Nat. Prod.*, 50: 349-356.
43. Crombie, L. & Whiting, D. A. (1962). *Tetraedron Lett.* 801-804.

44. Crombie, L. & Whiting, D. A. (1963). *J. Chem. Soc.*, 1569-1579.
45. Jackman, L. M. (1965). Some application of NMR spectroscopy in natural products chemistry. *In: Zeichmeister, L. (Ed.). Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, v. 23. Springer-Verlag, Wien.
46. Mabry, T. J.; Markham, K. R.; Thomas, M. B. (1970). *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin.
47. Markham, K. R. & Mabry, T. J. (1975). Ultraviolet-visible and proton magnetic resonance spectroscopy of flavonoids. *In: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. The Flavonoids*. Chapman and Hall, London.
48. Agrawal, P. K. & Rastogi, R. P. (1981). *Heterocycles*, 16: 2181.
49. Agrawal, P. K. (1989). *Carbon-13 NMR of Flavonoids*. Elsevier, Amsterdam.
50. Crombie, L. & Lown, J. W. (1962). *J. Chem. Soc.*, 775-81.
51. Krupadanam, G. L.D.; Sharma, P. N.; rao, N. V. S. (1977). *Tetrahedron Lett.*, 2125.
52. Li, L.; Wang, H.-K.; Cang, J.-J.; McPhail, A.; MacPhail, D. R.; Terada, H.; Konoshima, T.; Kokumai, M.; Kosuka, M.; Estes, J. R.; Lee, K. H. (1993). *J. Nat. Prod.*, 56 (5): 690-98.
53. Crombie, L.; Kilbee, G. N.; Whiting, D. A. (1975). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1497-99.
54. Silverstein, R. M.; Bassler, C. G.; Morrill, T. C. (1974). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley and Sons, New York.
55. Uchiyama, M. & Shimotori H. (1973). *Agric. Biol. Chem.*; 37 (5): 1227-28.
56. Oberholzer, M. E.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G. (1977). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 423-26.
57. Mabry, T. J. & Markham, K. R. (1975). Mass Spectrometry of Flavonoids. *In: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. (Eds.) The Flavonoids*, v. 1, Cap. 3. Academic Press, New York.
58. Herz, W.; Govindam, S. V.; Reiss-Maurer, I.; Wagner, H.; Farkas, L.; Strelisky, J. (1980) *Phytochemistry*, 669.
59. Smalberger, T. M.; Van den Berg, A. J.; Vleggaar, A. J. (1973). *Tetrahedron*, 29: 3099.
60. Vleggaar, R.; Kruger, G. J.; Smalberger, T. M.; Van den Berg, A. J. (1978). *Tetrahedron*, 34: 1405.
61. Woodward, M. D. (1980). *Phytochemistry*, 19: 921-27.
62. Fukui, K.; Nakayama, M.; Harano, T. (1969). *Bull. Chem. Soc. Japan*, 42: 1693-1697.
63. Pelter, A.; Ward, R. S.; Gray, T. I. (1976). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2475-83.
64. Wenkert, E. & Gottlieb, H. E. (1977). *Phytochemistry*, 16: 1811-16.
65. Murthy, M. S. R.; Rao, E. V.; Ward, R. S. (1986). *Magn. Res. Chem.*, 24: 225-30.

66. Nakanishi, K. (1977). *Infrared Absorption Spectroscopy*. Holden-Day, San Francisco.
67. Harano, T. (1970). *Bull. Chem. Soc. Japan*, 43: 1560-63.
68. Fukui, K.; Nakayama, M.; Tanaka, A.; Sasatani, S. (1965). *Bull. Chem. Soc. Japan*, 38: 845-47.
69. Eguchi, S.; Haze, M.; Nakayama, M. & Hayashi, S. (1977). *Org. Mass Spectrom.*, 12 (1): 51-52.
70. Liepa, A. J. (1984). *Aust. J. Chem.*, 37: 2545-58.
71. Hoog, A. J. de (1974). *Org. Magn. Res.*, 6: 233-35.
72. Delle Monache, G.; Mello, J. F. de; Delle Monache, F.; Marini-Bettolo, G. B.; Lima, O. G.; Coelho, J. S. de B. (1974). *Gazz. Chim. Ital.*, 104: 861-65.
73. Bhalla, V. K.; Nayak, U. R.; Dev, D. (1968). *Tetrahedron Lett.*, 2401-6.
74. Acenbach, H.; Utz, W.; Usubillaga, A.; Rodrigues, H. A. (1991). *Phytochemistry*, 30 (11): 3753-57.
75. Martin, M. & Dewick, P. M. (1979). *Phytochemistry*, 18: 1309-17.
76. Meyer, M.; Deschamps, C.; Molho, D. (1991). *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 127: 91-99.
77. Nomura, T. (1988). Phenolic compounds of the Mulberry Tree and Related Plants. In: Zeichmeister, L. (Ed.) *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. v. 53, Cap. 1. Springer-Verlag, Wien.
78. Vilain, C. & Jadot, J. (1976). *Bull. Soc. Roy. Sc. Liège*, 45 (9-10): 468-75.
79. Willis, W. V. (1991). *Laboratory Experiments in Liquid Chromatography*. CRC Press.
80. Dolan, J. W. (1990). *LC-GC*, 8 (11): 842-44.

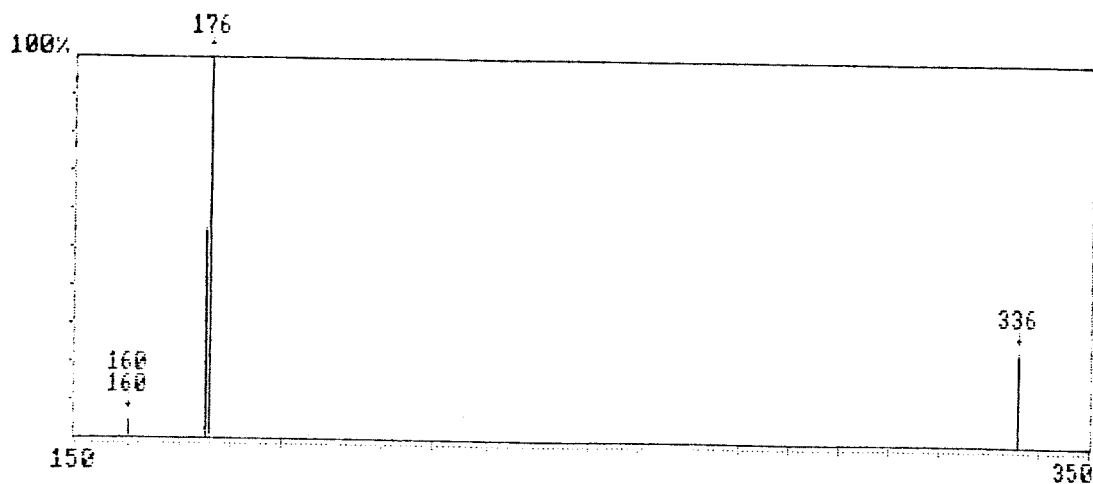
## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS: Síntese

1. Ingham, J. L. (1983). Naturally occurring isoflavonoids. *In: Zeichmeister, L. (Ed.) Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, V 43, Cap. 1. Springer-Verlag, Wien.
2. Wong, E. (1975). The isoflavonoids. *In: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. (Ed.) The Flavonoids*, v. 2. Chapman and Hall, London.
3. Mclure, J. W. (1975). Physiology and functions of flavonoids. *In: Harborne, J. B.; Mabry, T. J.; Mabry, H. The Flavonoids*, v. 2. Chapman and Hall, London.
4. Rizzini, C. T. & Mors, W. B. (1976). *Botânica Econômica Brasileira*, p. 96-99. Ed. da Univ. de São Paulo, São Paulo.
5. Murray, R. D. H.; Mendez, J.; Brown, S. T. (1982). *The Natural Coumarins: Occurrence, Chemistry and Biochemistry*, Caps. 7 e 8. John Wiley & Sons, Chichester.
6. Arnoldi, A.; Farina, G.; Galli, R.; Merlini, L.; Parrimo, M. G. (1986). *J. Agric. Food Chem.* 34: 185-188.
7. Sales, B. H. L. N.; Magalhães, E. G.; Riveros, R. (1989). *Síntese de 3-fenilcumarinas*; Jornada Brasileira de Iniciação Científica - ABQ - São Paulo.
8. Donnelly, D. M. X. & Kavanagh, P. J. (1974). *Phytochemistry*, 13: 2587-2591.
9. Hendrickson, J. B.; Cram, D. J.; Hammond, G. S. (1970). *Organic Chemistry*, Cap. 16. McGraw-Hill. Kogakusha, Tokyo.
10. Rajagopalan, P. & Kosak, A. I. (1959). *Tetrahedron Lett.*, 21, 5-6.
11. Buu-Hoi, N. P.; Saint-Ruf, G.; Lobert, B. (1969). *J. Chem. Soc. (C)*, 2069-70.
12. Walter, R.; Zimmer, H.; Purcell, T. C. (1966). *J. Org. Chem.* 31: 3854-57.
13. Rao, R. P. & Srimannayama, G. (1981). *Synthesis*, 887.
14. Kessar, S. V.; Nadir, U. K.; Gupta, Y. P.; Singh, P. (1981). *Indian J. Chem.* 20B: 1.
15. Deschamps-Vallet, C.; Ilotose, J. P.; Meyer-Dayana, M. (1983). *Tetrahedron Lett.* 24: 3993.
16. Liepa, A. J. (1984). *Aust. J. Chem.* 37: 2545-58.
17. Murray, R. D. H. (1991). Naturally occurring plant coumarins. *In: Zeichmeister L. (Ed.) Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Vol 58, Cap. 1. Springer-Verlag, Wien.
18. Uchiyama, M. & Simotori, H. (1973). *Agric. Biol. Chem.*, 37 (5): 1227-8.
19. Horning, E. C. & Reisner, D. B. (1948). *J. Am. Chem. Soc.*, 70: 3619-20.
20. Davies, J. S. H.; McCrea, P. A.; Norris, W. L.; Ramage, G. (1950). *J. Chem. Soc. (C)*, 3206-13.

21. Loftfield, R. B. (1950). *J. Am. Chem. Soc.*, 72: 2500.
22. Konda, M.; Shiori, T.; Yamada, S. (1975). *Chem. Pharm. Bull.*, 23: 1025.
23. Silverstein, R. M.; Bassler, C. G.; Morrill, T. C. (1974). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley and Sons, New York.
24. Breitmaier, E. & Voelter, W. (1987). *Carbon-13 NMR Spectroscopy*. VCH Publishers, New York.
25. Puyvelde, L. V.; DeKimpe, N.; Mudaheraniva, J-P.; Gasiga, A.; Schamp, N.; Declercq, J-P.; Van Meerssche, M. (1987). *J. Nat prod.*, 50: 349-56.
26. Wenkert, E.; Buckwalter, B. L.; Burfitt, I. R.; Gasic, M. J.; Gottlieb, H. E.; Heganan, E. W.; Scell, F. M.; Wovkulick, P. M. (1976). Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of naturally occurring substances. In: Levy, G. C. *Topics in Carbon-13 NMR Spectroscopy*, 81. John Wiley & Sons, New York.
27. Oberholzer, M. E.; Rall, G. J. H.; Roux, D. G. (1977). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 420.
28. Narasimhan, N. S. & Paradkar, M. V. (1969). *Ind. J. Chem.*, 7: 1004-5.
29. Newman, M. S. & Magerlein, B. J. (1949). *Organic Reactions*, Vol. 5, p. 413-39. John Wiley & Sons, Nova York.
30. Roux, Schmitt, M. -C.; Seyden-Penne, J.; Wolfe, S. (1972). *Tetrahedron*, 28: 4965-79.
31. Werli, F. W. & Wirthlin, T. (1976). *Interpretation of Carbon-13 NMR Spectra*. Heydon, London.
32. Olstein, R & Stephenson, E. F. M. (1979). *Aust. J. Chem.*, 32: 681-6.
33. Ban, Y. & Oishi, T. (1958). *Chem. Pharm. Bull.*, 6: 574-6.
34. Ballester, M. (1955). *Chem. Rev.*, 55: 283-99.
35. Roux-Schmidt, M. C., Roux, A.; Seyden-Penne, J. (1970). *Tetrahedron*, 26: 2657-62.
36. Cabon O.; Larcheveque, M.; Buisson, D.; Azerad, A. (1992). *Tetrahedron Lett.*, 33: 7337-40.
37. Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; Perrin, D. R. (1982). *Purification of Laboratory Chemicals*. Pergamon Press, Oxford.

# **APÊNDICE**

## **Espectros e Figuras**



### Espectro de Massas

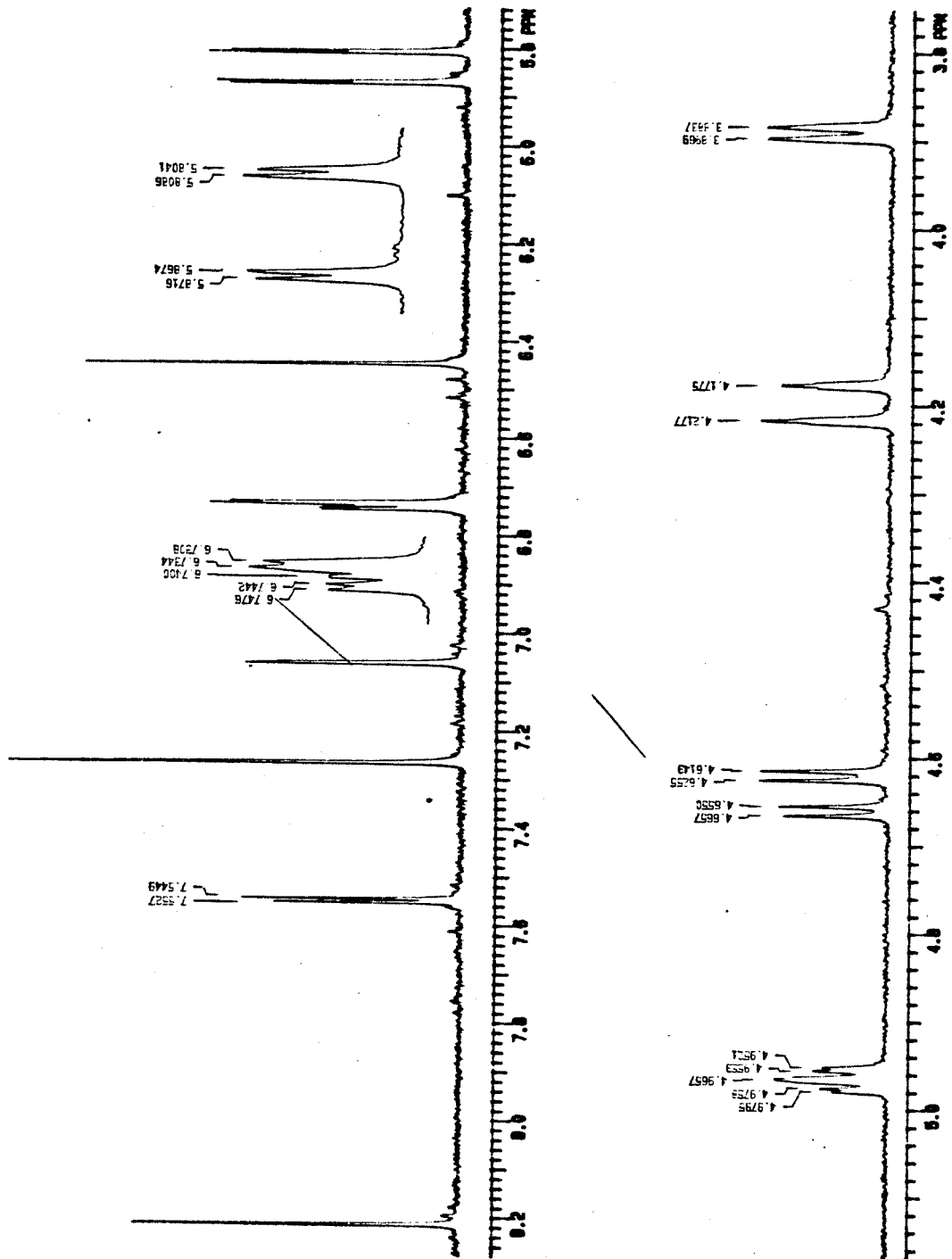
Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
336.00	336.0	29.00	175.00	175.0	55.00			
176.00	176.0	100.00	160.00	160.0	5.00			

**Espectro 1 - E.M. (70 eV) de dolineona (1)**

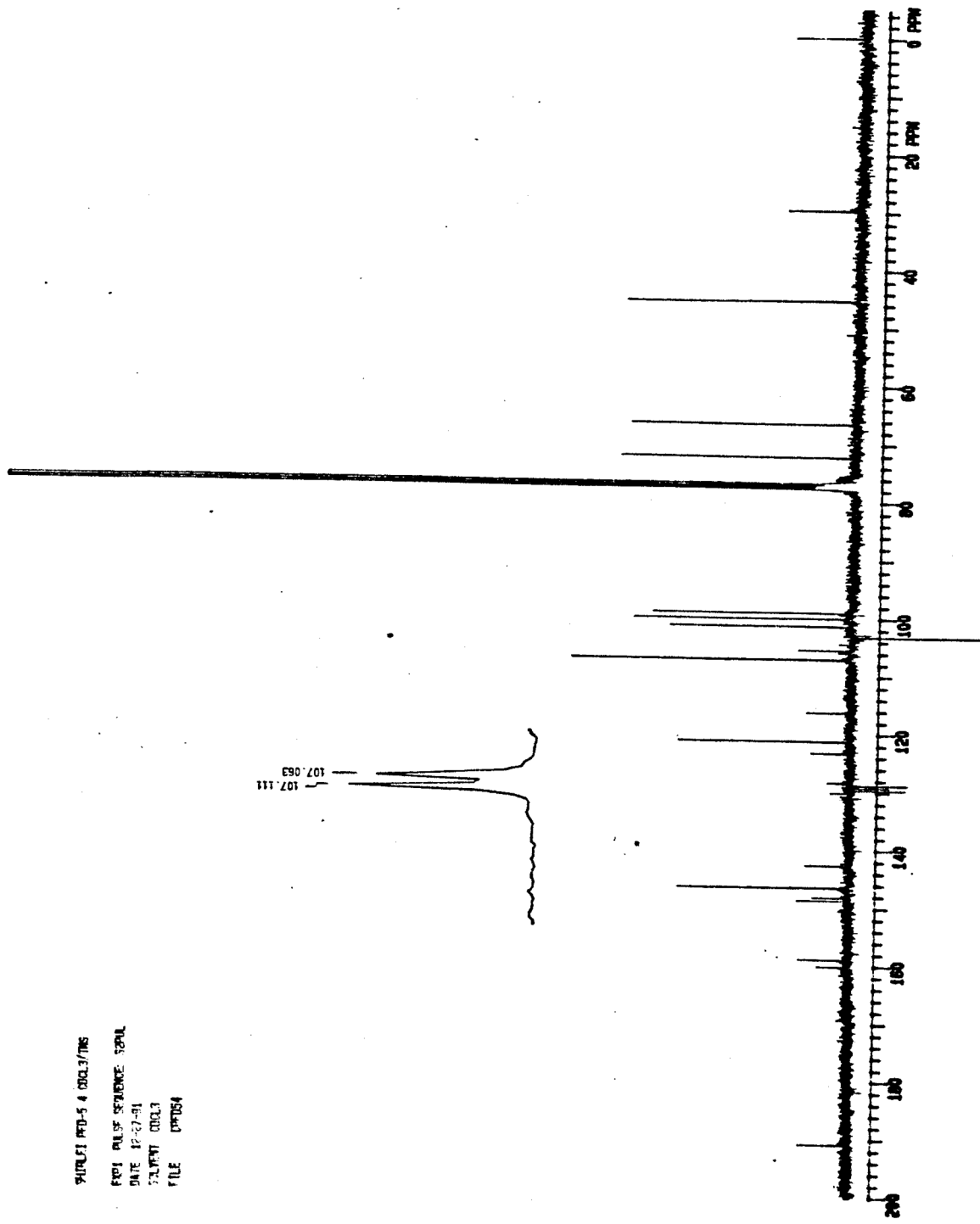






Expansões do espectro E.2 de 1

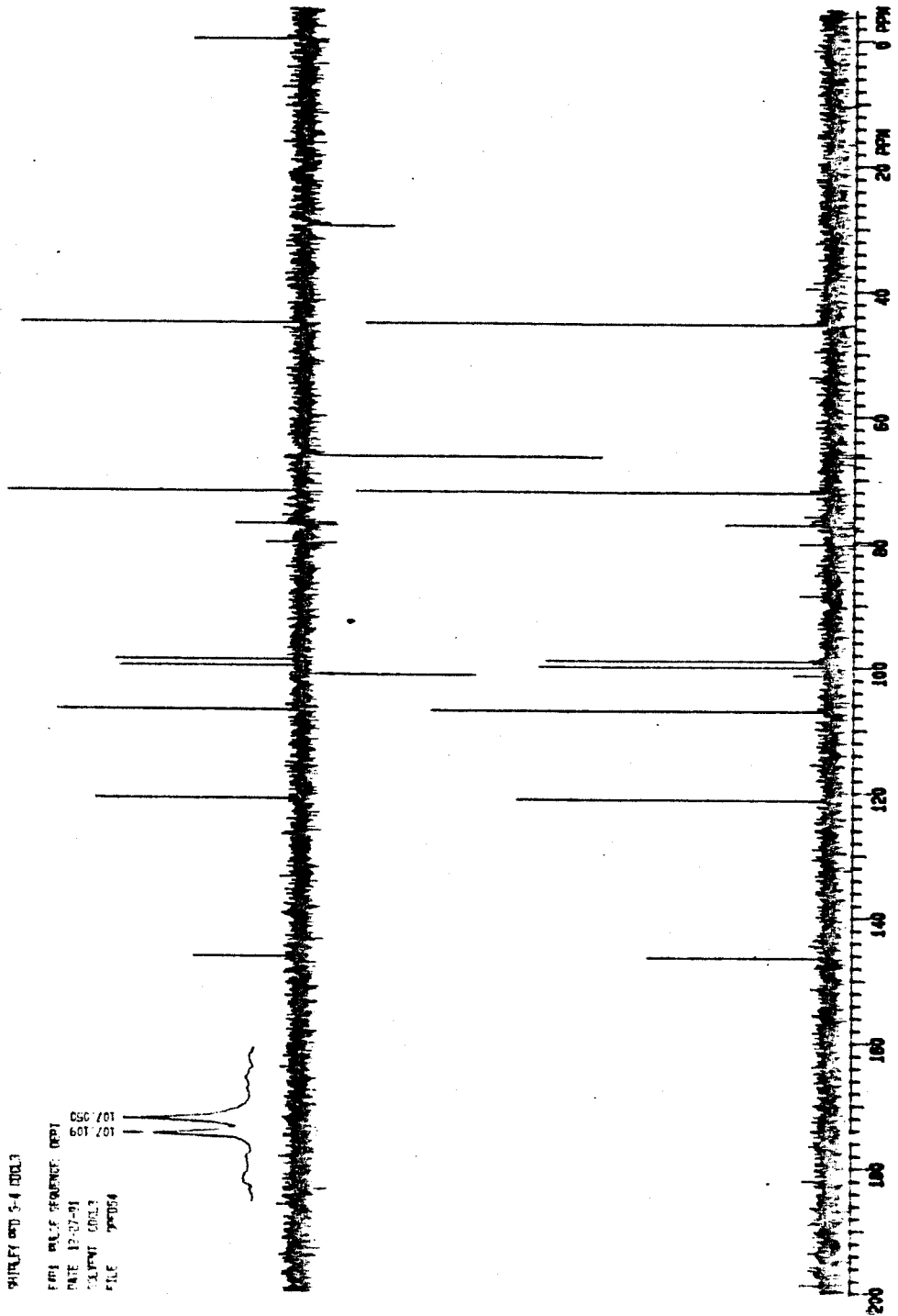
940611 PFD-5 4 000.3/TMS  
PROJ. NAME: SERVICIO. SPAL  
DATE: 12-27-91  
SOLVENT: CDCl3  
FILE: 097054



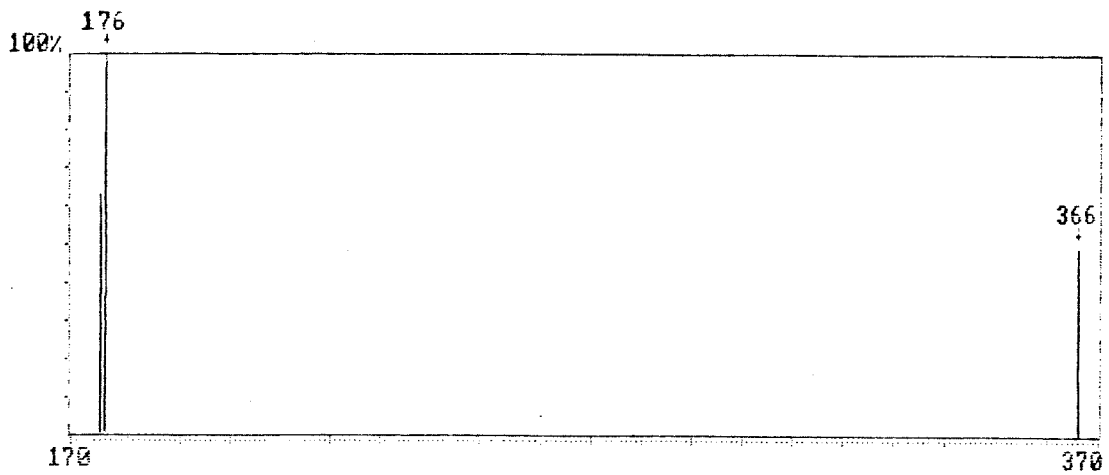
Espectro 3 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de dolineona (1)

SHIRLEY AND S-4 (001).3

F010 PULSE PROGRAM: DEPT  
DATE 12-07-91  
CALCULATED LINES: 601  
FILE 000054



Espectro 3 - Espectro de DEPT de doineona (1)

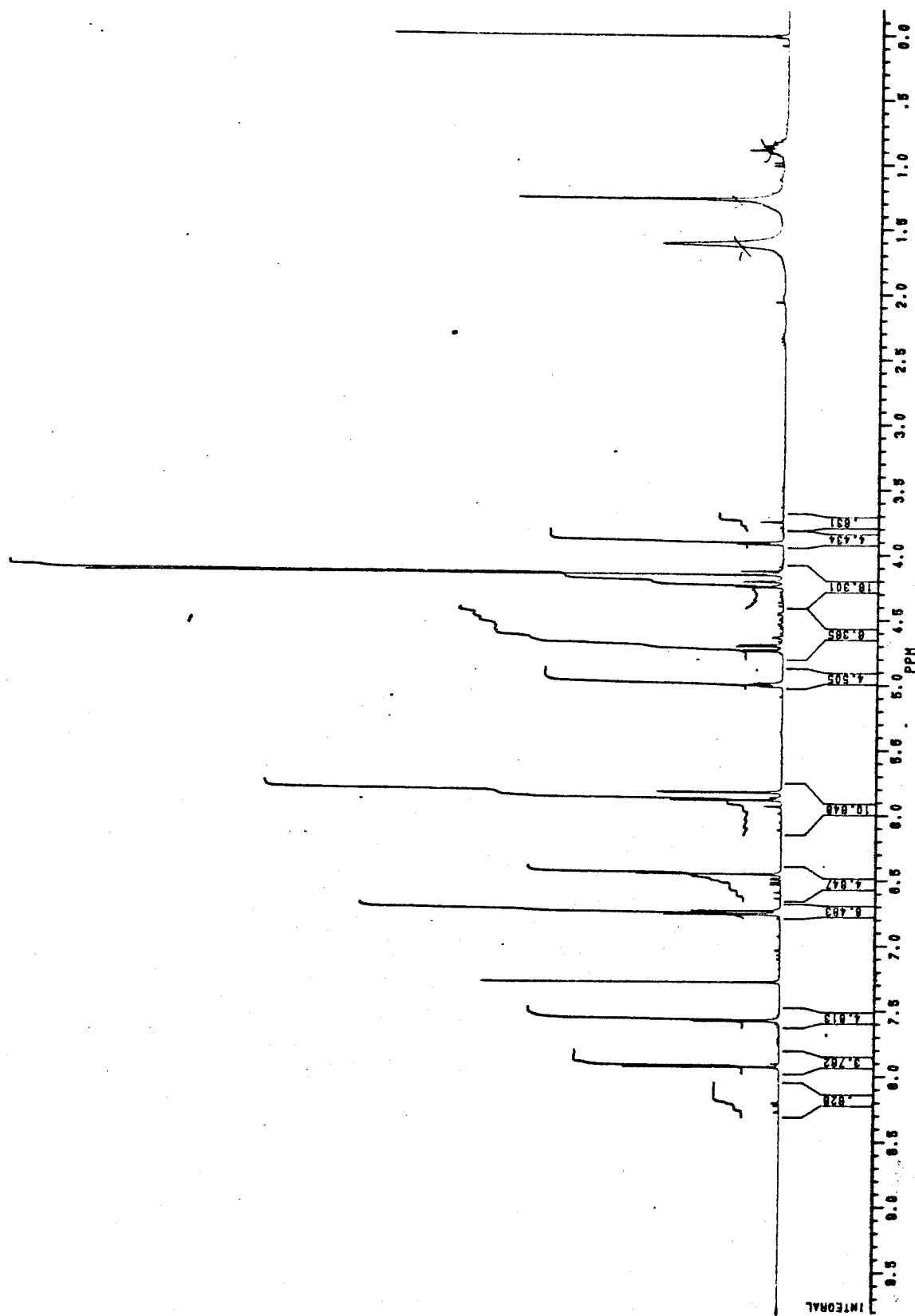


### Espectro de Massas

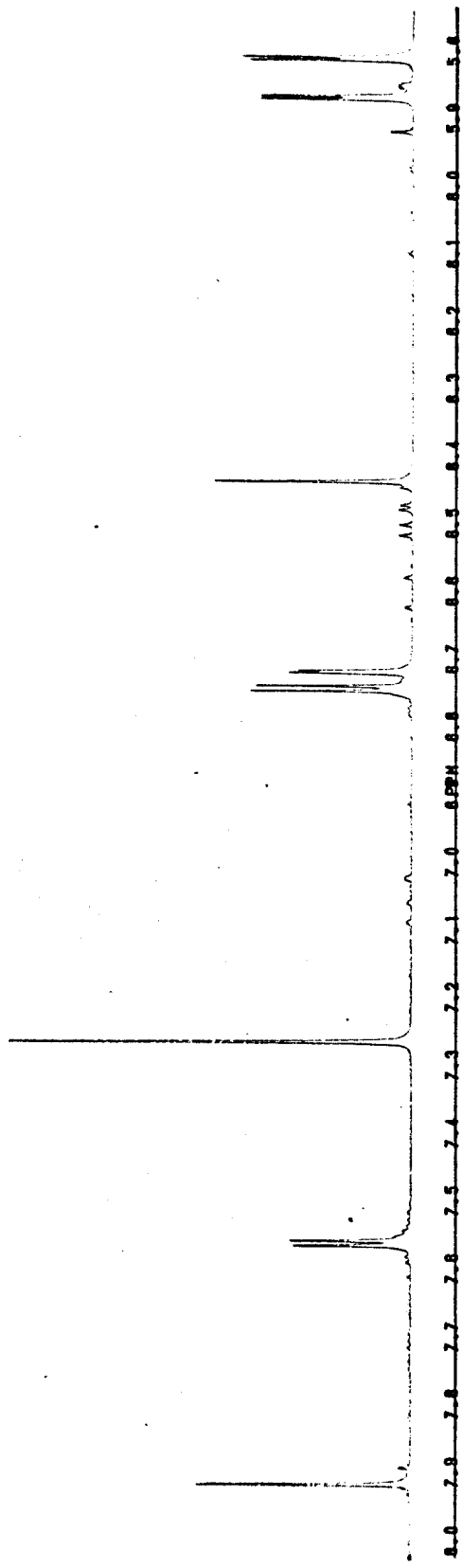
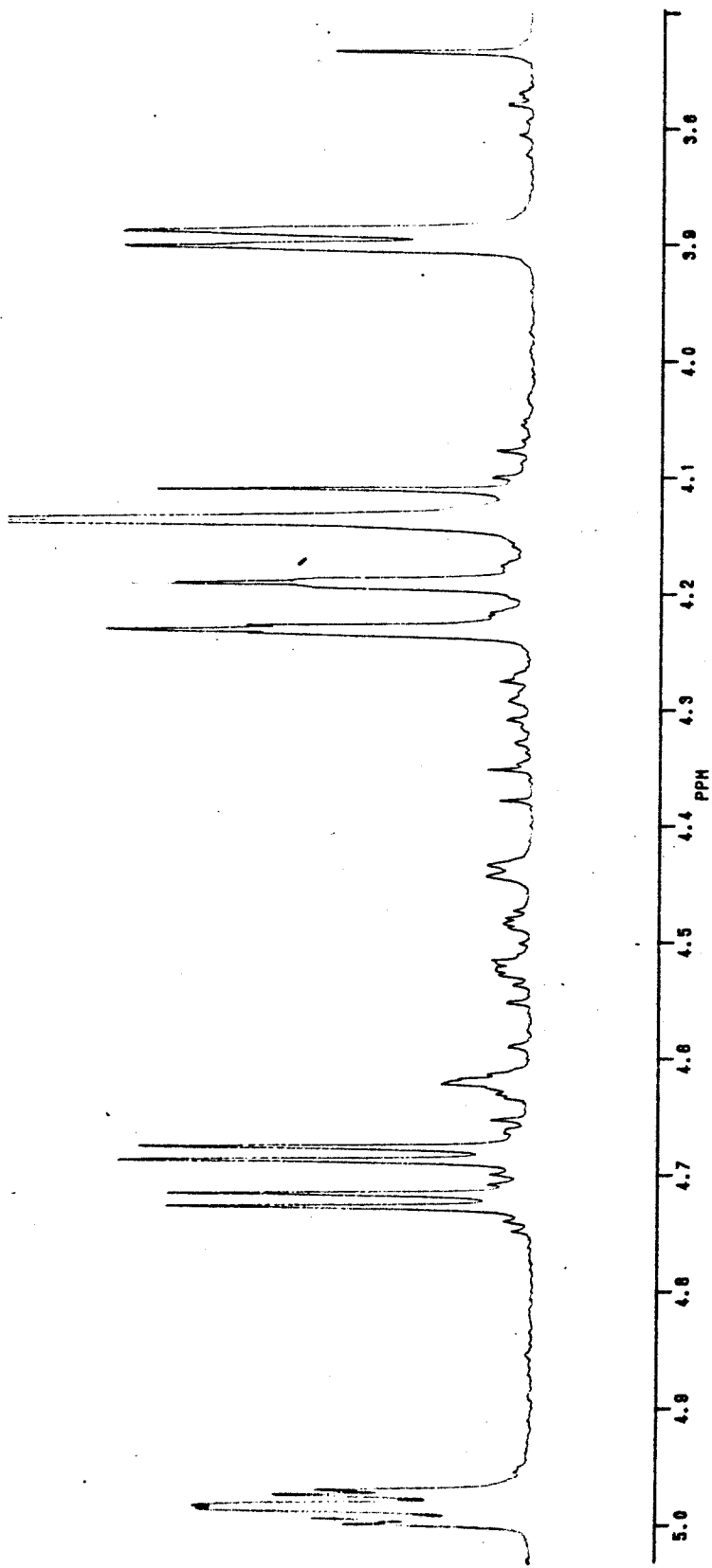
Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
366.00	366.0	49.00	176.00	176.0	100.00	175.00	175.0	65.00

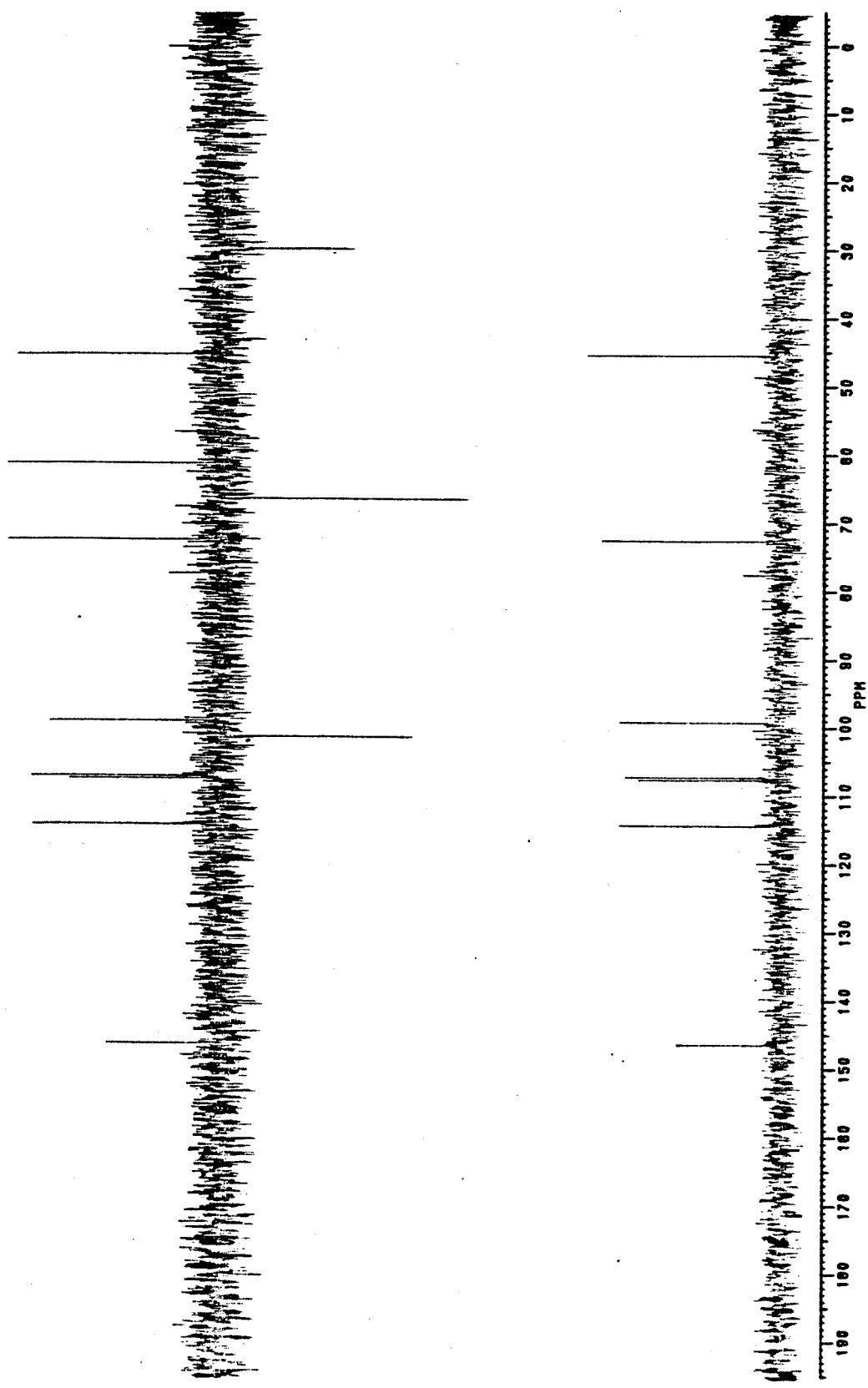
Espectro 4 - E.M (70 eV) de pachyrhizona (2)



Espectro 5 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de pachyrhizona (2)

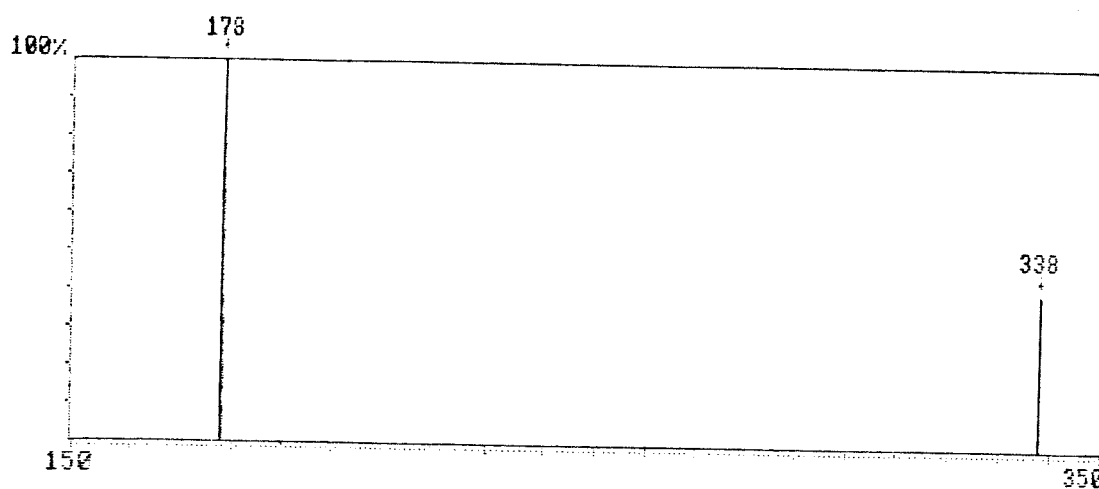


Expansões do espectro E.5 de 2



Espectro 6 - Espectro de DEPT de pachyrhizona (2)





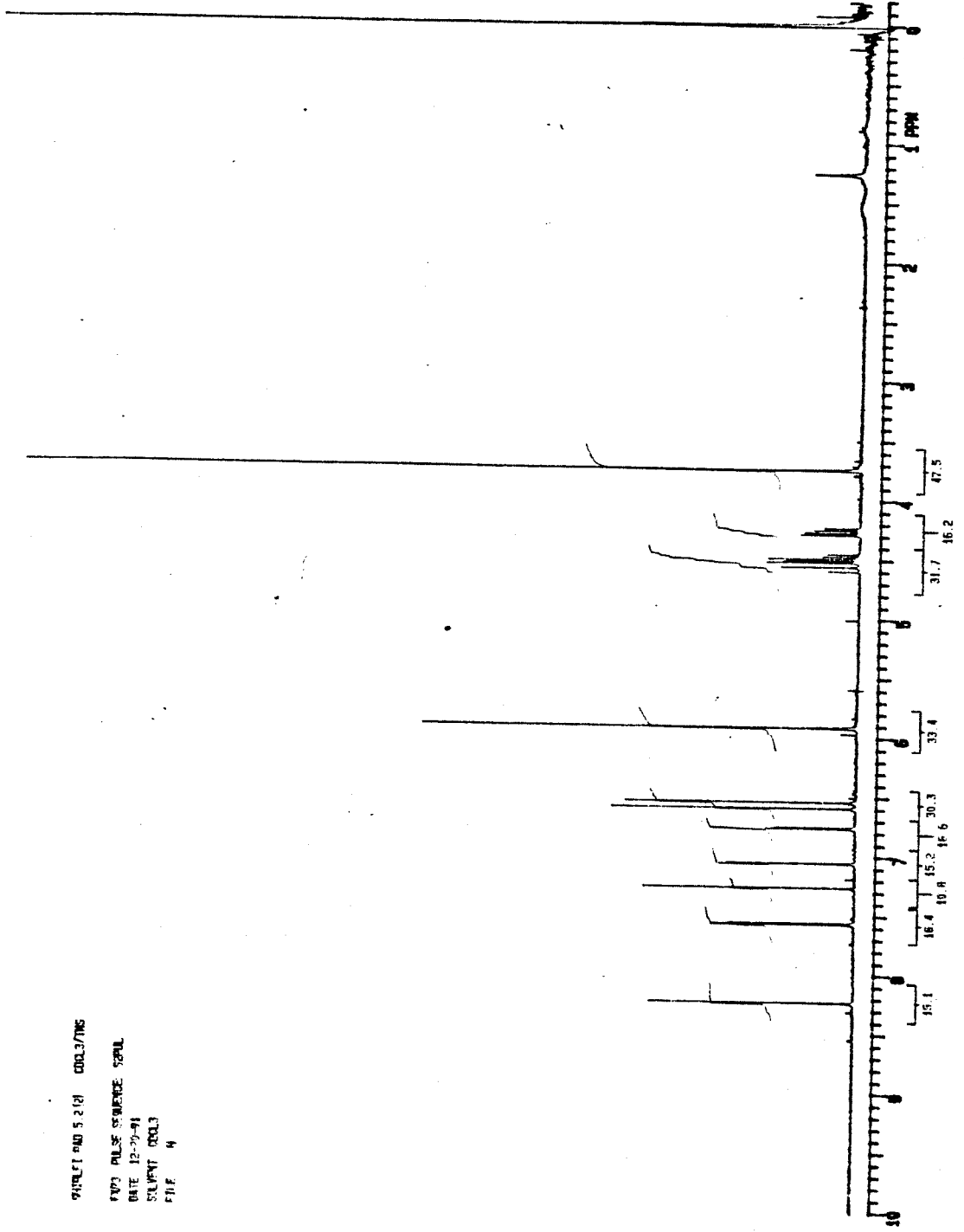
### Espectro de Massas

Relaçao dos picos

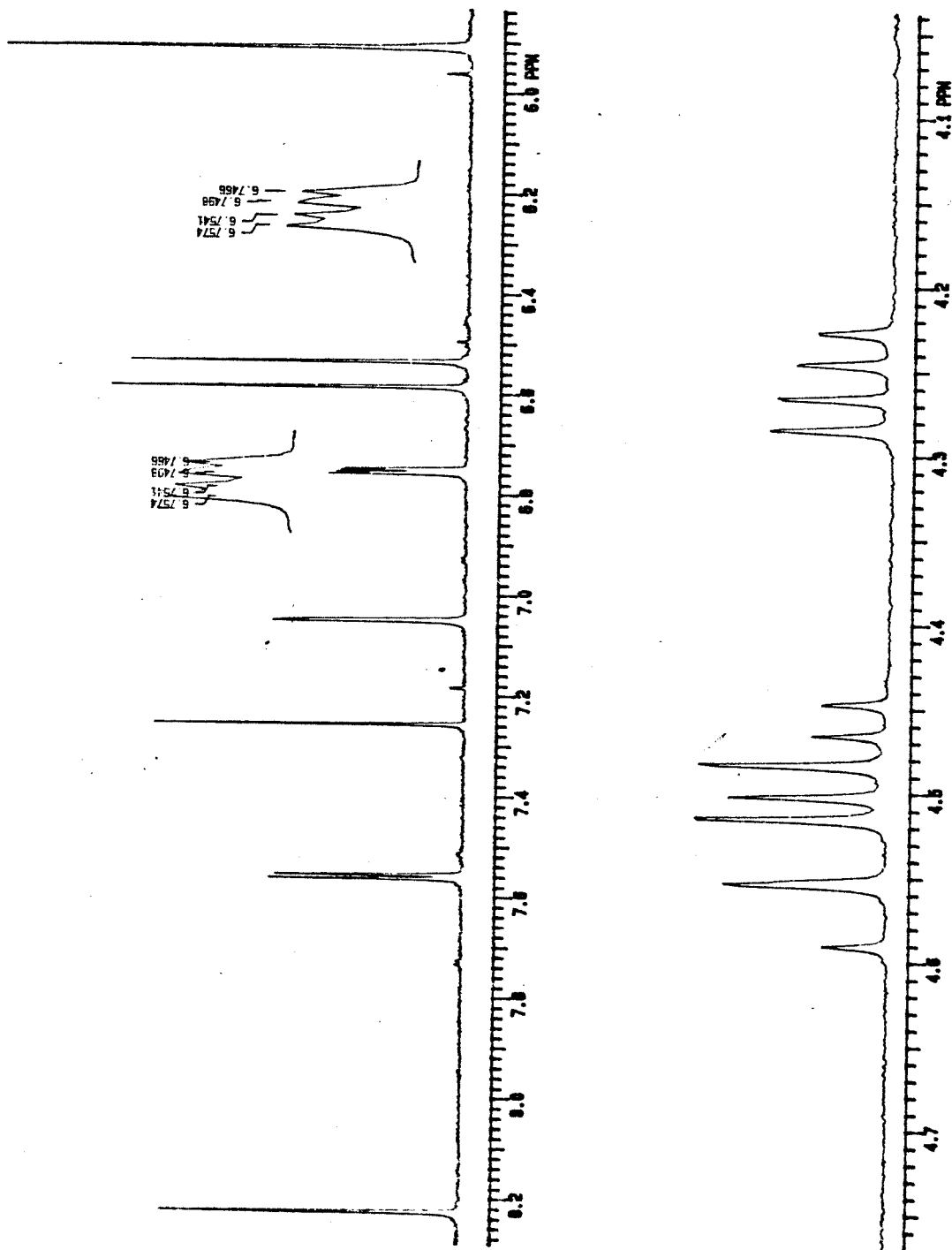
m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)
338.00	338.0	41.00	178.00	178.0	100.00			

Espectro 7 - E.M. (70 eV) de neotenona (3)

94061 040 5 2101 CDCL3/TMS  
F703 PULSE SEQUENCE SPUL  
DATE 12-29-91  
SOLVENT CDCL3  
FILE M

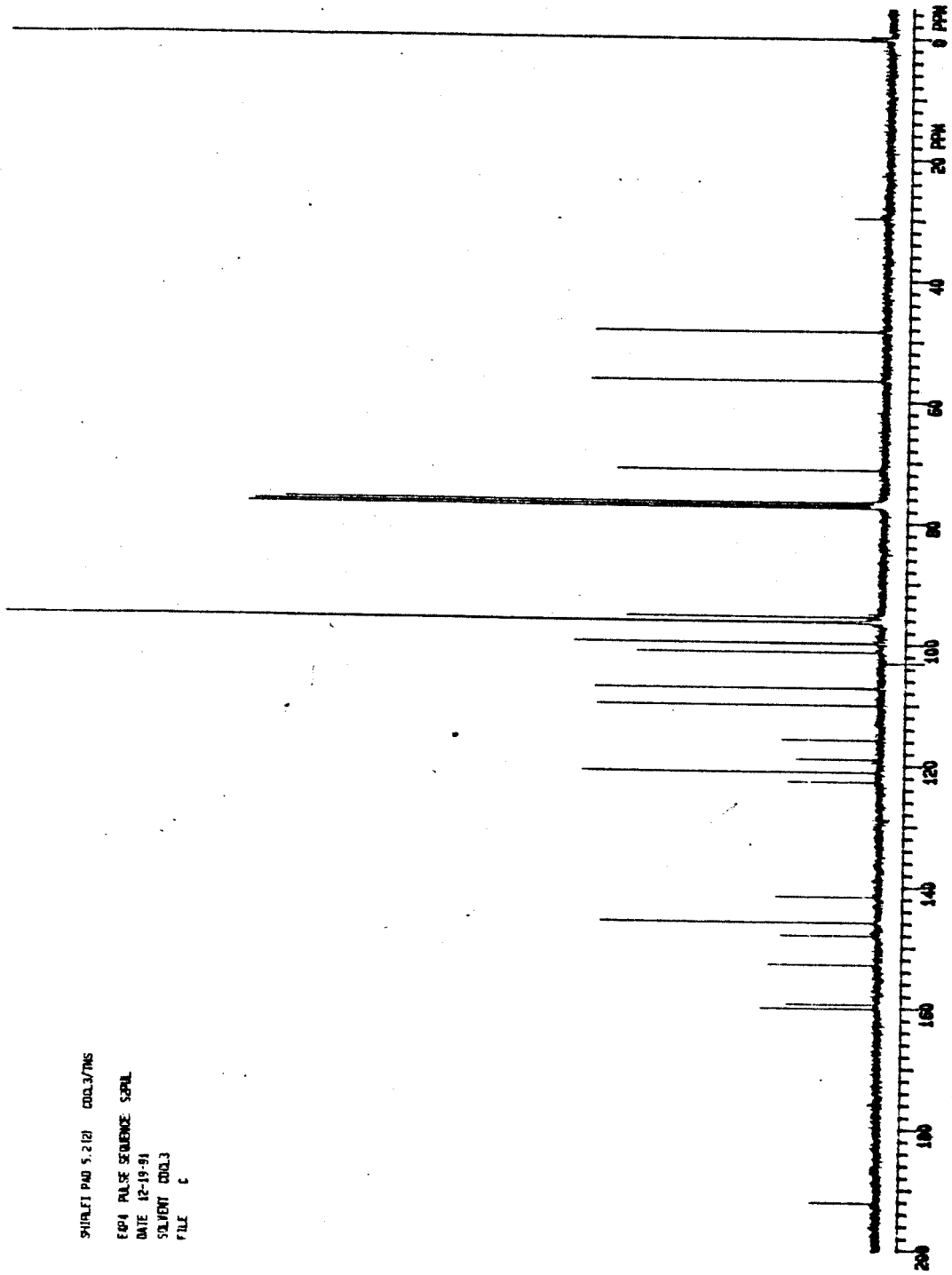


Espectro 8 - RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de neotenona (3)



Expansões do espectro E. 8 de 3

SHIMADZU P40 5.2 (2) 00037115  
EPA PULSE SEQUENCE SUPPL  
DATE 12-19-91  
SOLVENT CDCL3  
FILE C



Espectro 9 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de neotenona (3)

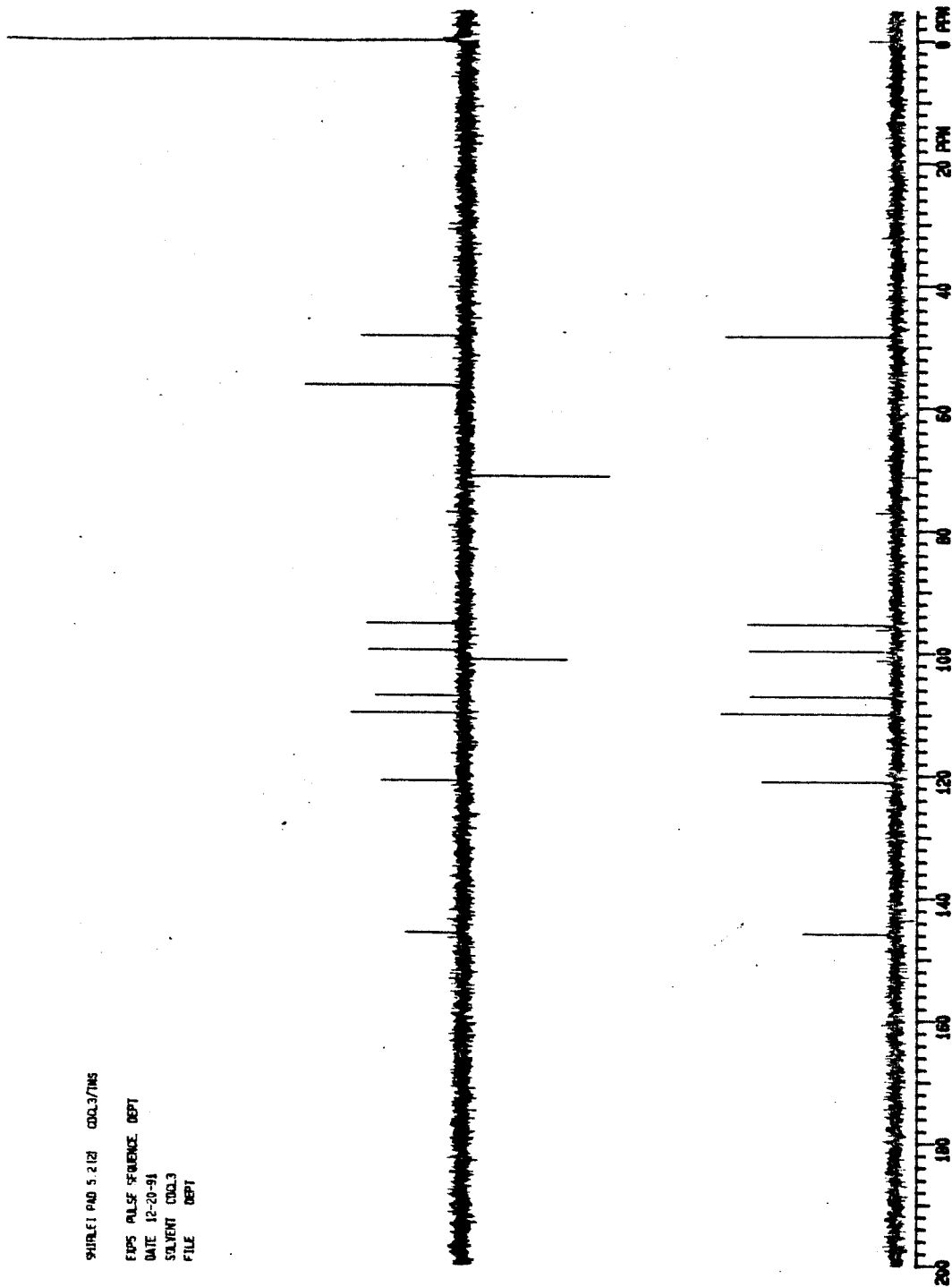
SHURET PAD 5.2121 C010.3/71NS

EPS PULSE PROGRAM: DEPT

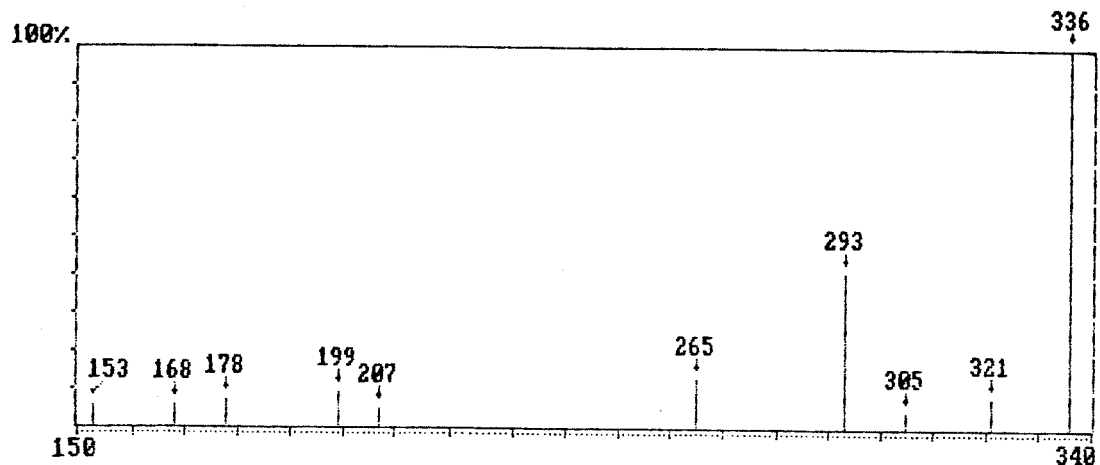
DATE 12-20-91

SOLVENT C010.3

FILE DEPT



Espectro 9 - Espectro de DEPT de neotenoona (3)

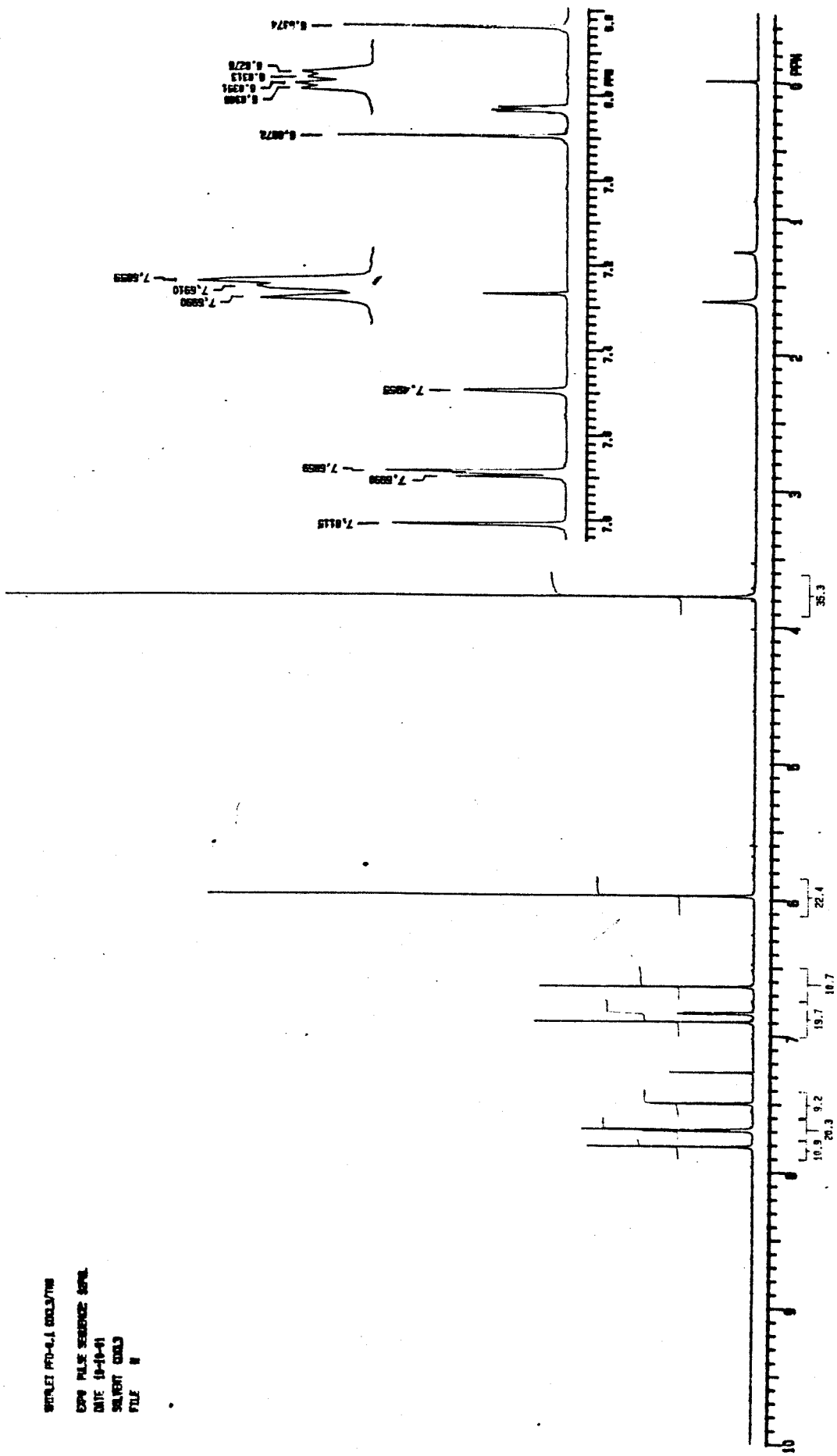


### Espectro de Massas

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
153.00	153.0	6.00	207.00	207.0	5.00	321.00	321.0	8.00
168.00	168.0	6.00	265.00	265.0	13.00	336.00	336.0	100.00
178.00	178.0	7.00	293.00	293.0	41.00			
199.00	199.0	9.00	305.00	305.0	4.00			

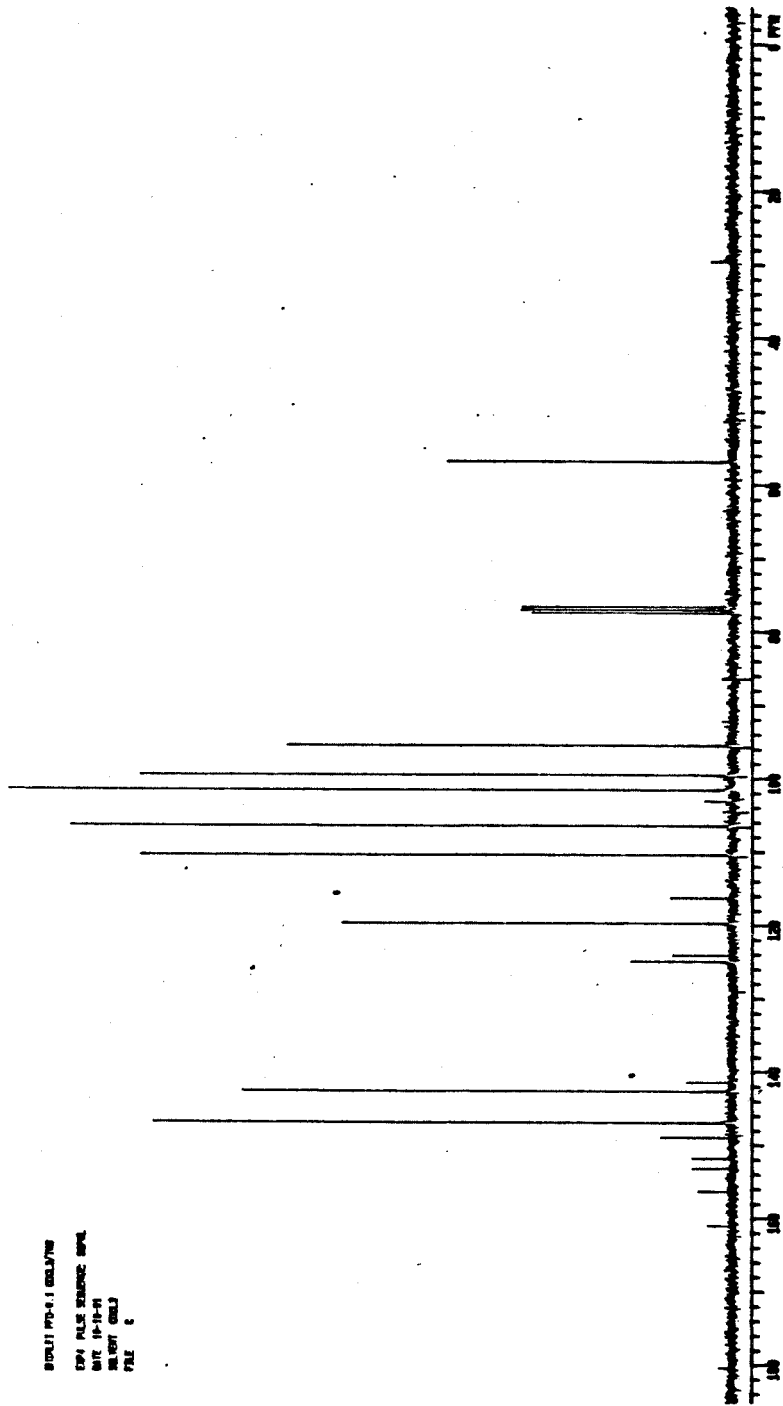
Espectro 10 - E.M. ( 70 eV) de pachyrhizina (4)

WETLEY 170-0.1 00031716  
CPY PULS SEQUENCE 80V  
DATE 10-10-91  
SOLVENT CDCl3  
FILE #



Espectro 11 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de pachyrhizina (4)

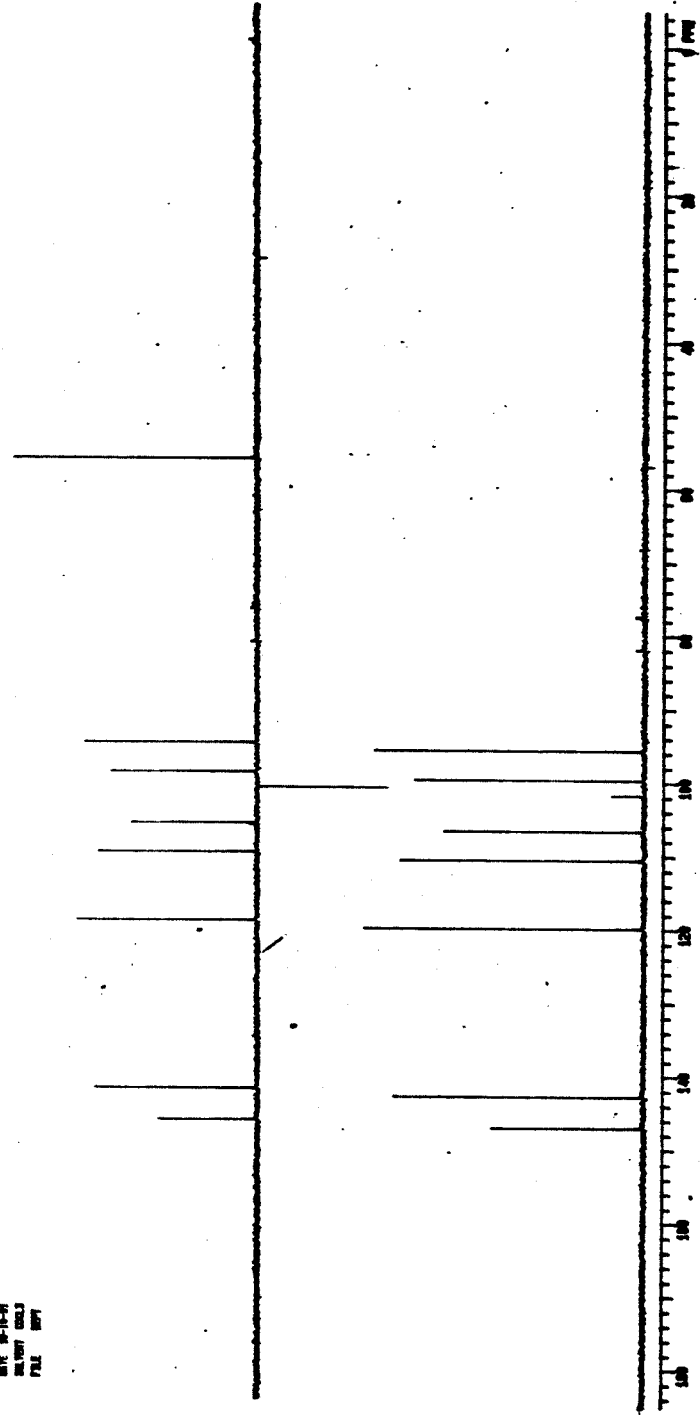
80011 10-11-81 0011/70  
1291 PULS 200000 0011  
MTC 10-11-81  
MUSEY 0011  
FILE 2



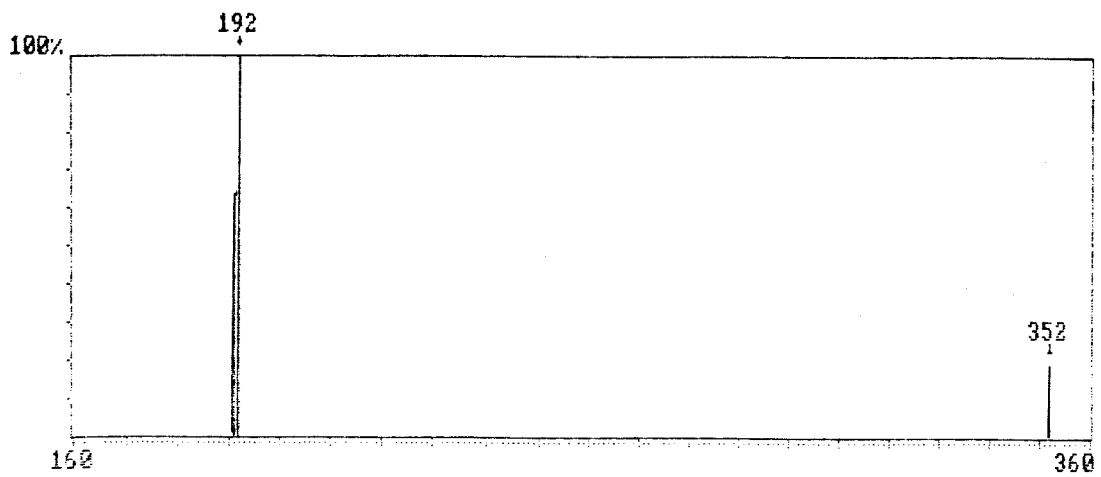
Espectro 12 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de pachyrhizina (4)



INSTRUMENT: FT-20B  
DATE: 10-10-91  
ANALYST: GSK  
FILE: 1071



Espectro 12 - Espectro de DEPT de pachyrhizina (4)



## Espectro de Massas

Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
352.00	352.0	15.00	192.00	192.0	100.00	191.00	191.0	63.00

Espectro 13 - E.M. (70 eV) de 12a-hidróxidoloneona (5)





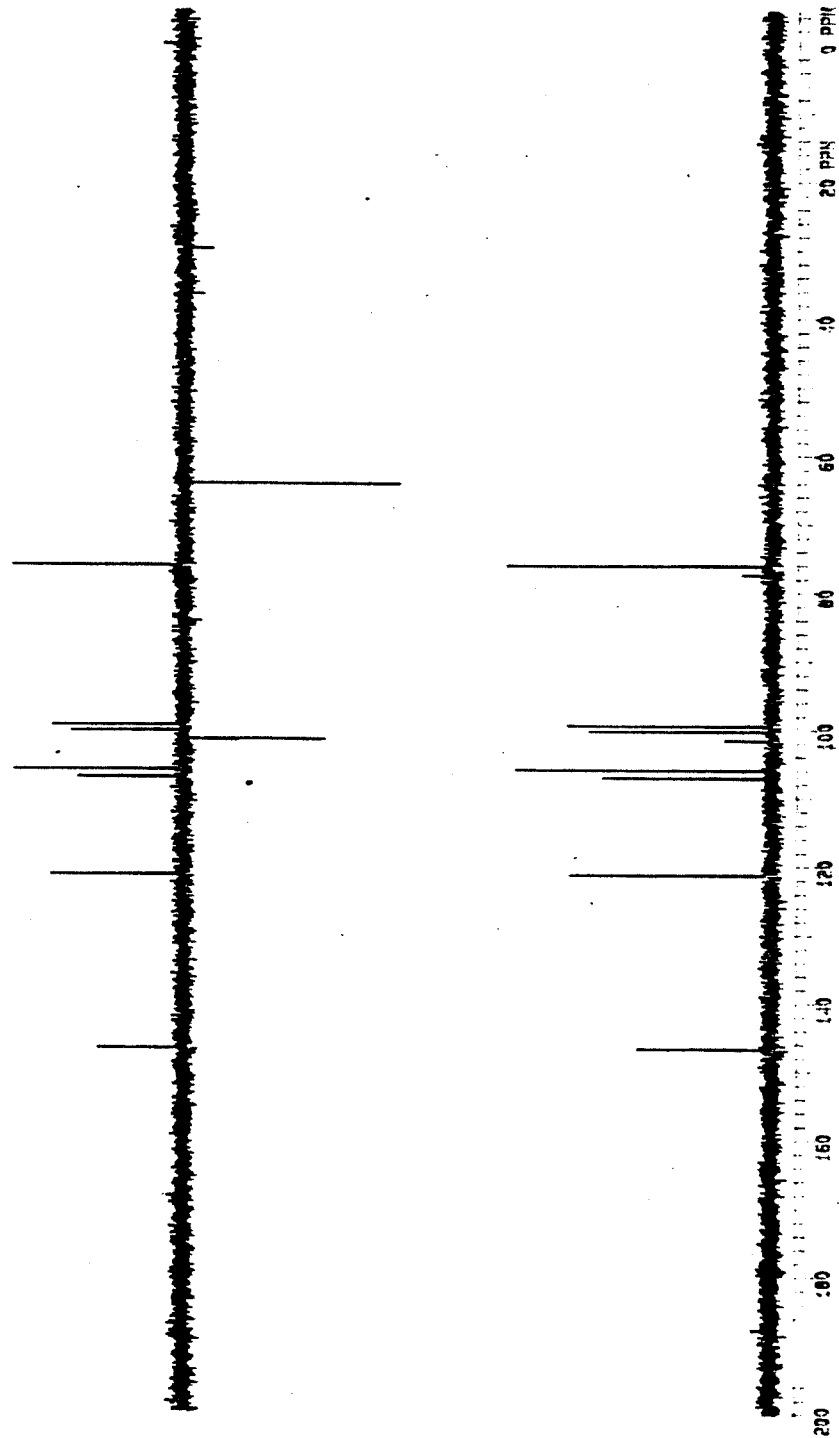
SHIET 20-10 0003/MS

EXP. NO. 20-10-03

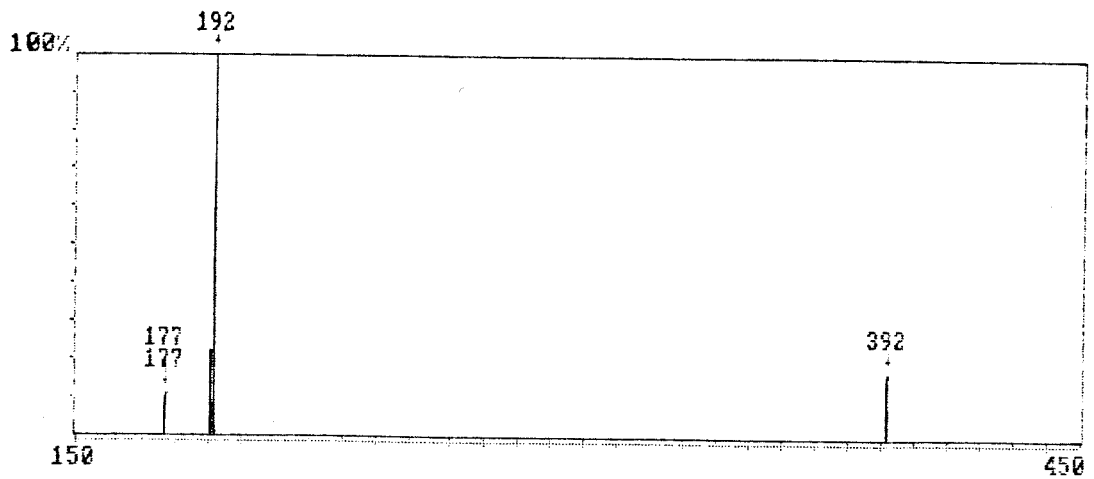
DATE 20-10-91

TIME 08.00

FILE 001



Espectro 15 - Espectro de DEPT de 12a-hidroxidolonea (5)

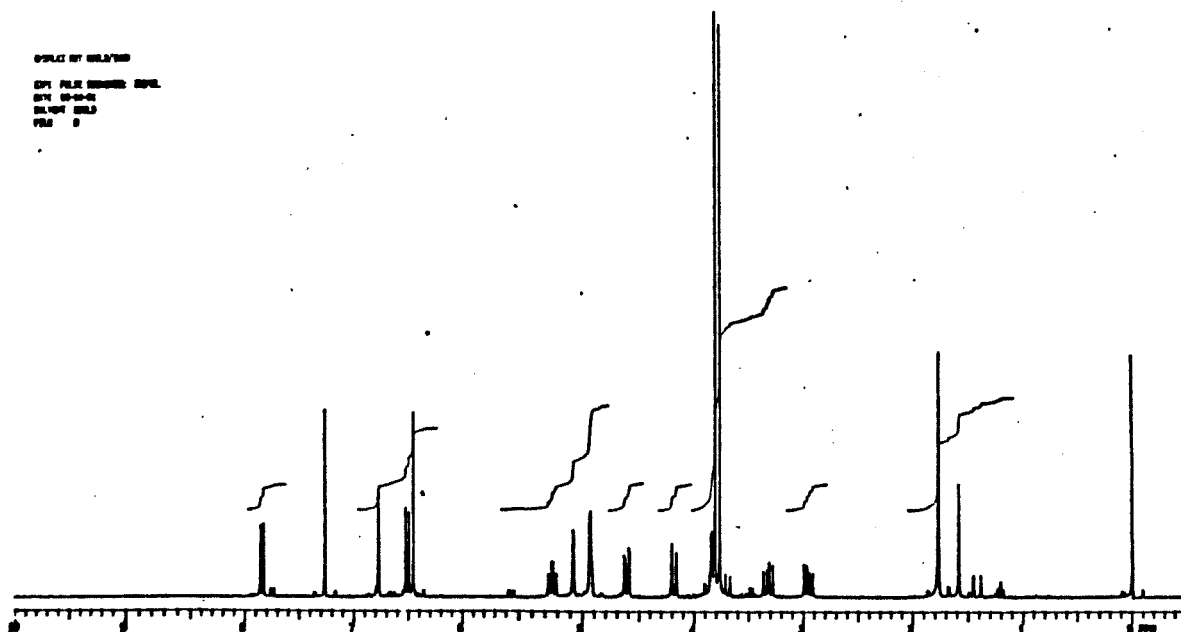


### Espectro de Massas

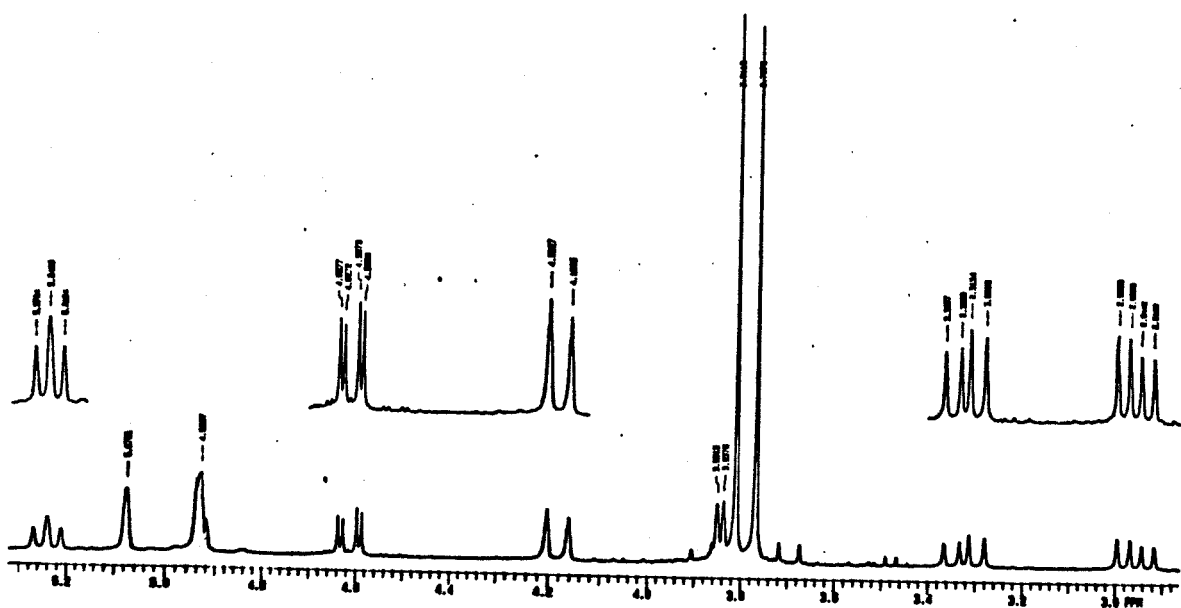
Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)
392.00	392.0	17.00	191.00	191.0	22.00			
192.00	192.0	100.00	177.00	177.0	11.00			

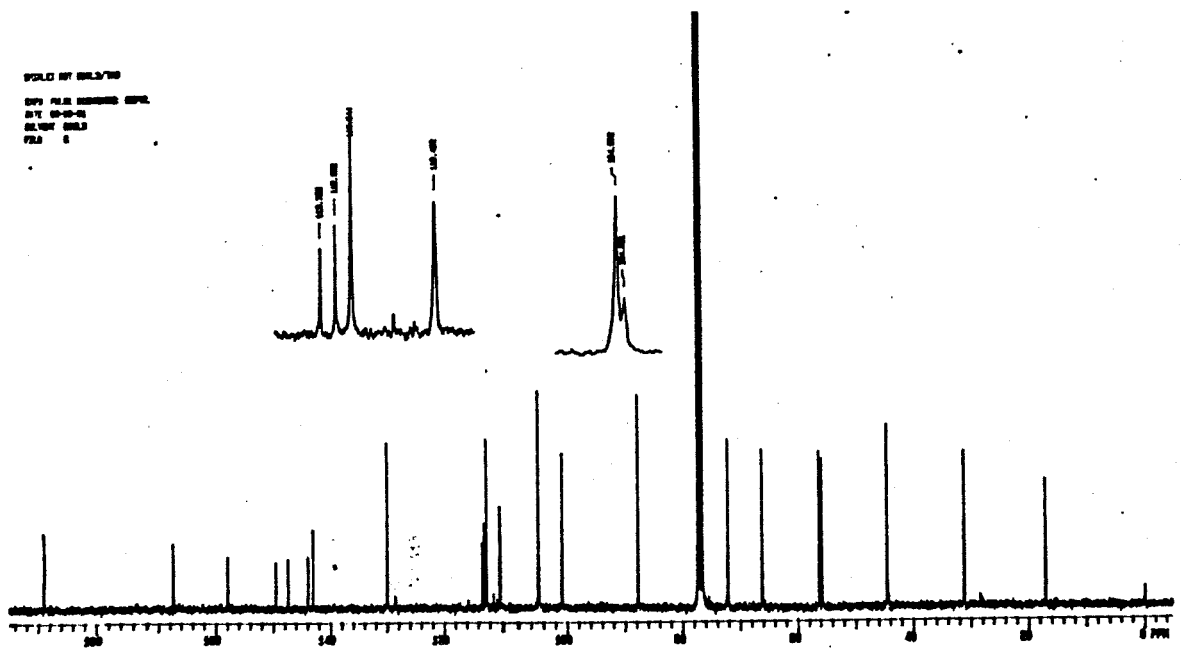
Espectro 16 - E.M. (70 eV) de rotenona (6)



Espectro 17- RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de rotenona (6)

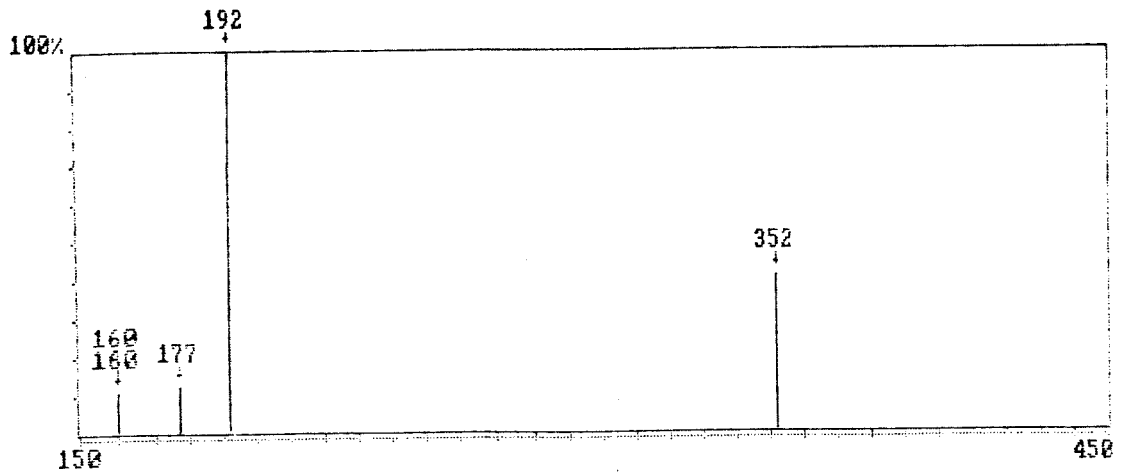


Expansões do espectro E.17 de 6



Espectro 18 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de rotenona (6)





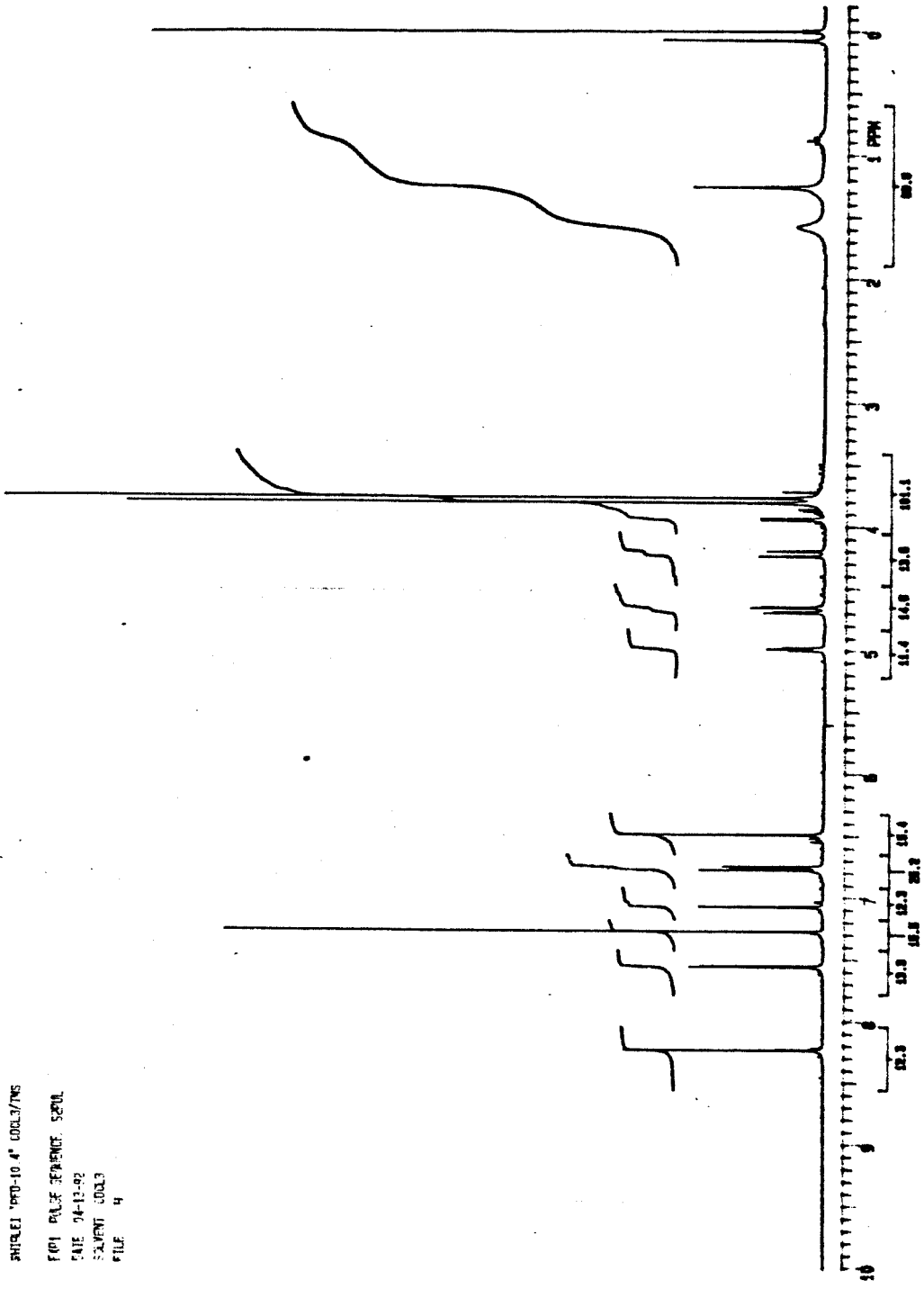
## Espectro de Massas

Relação dos picos

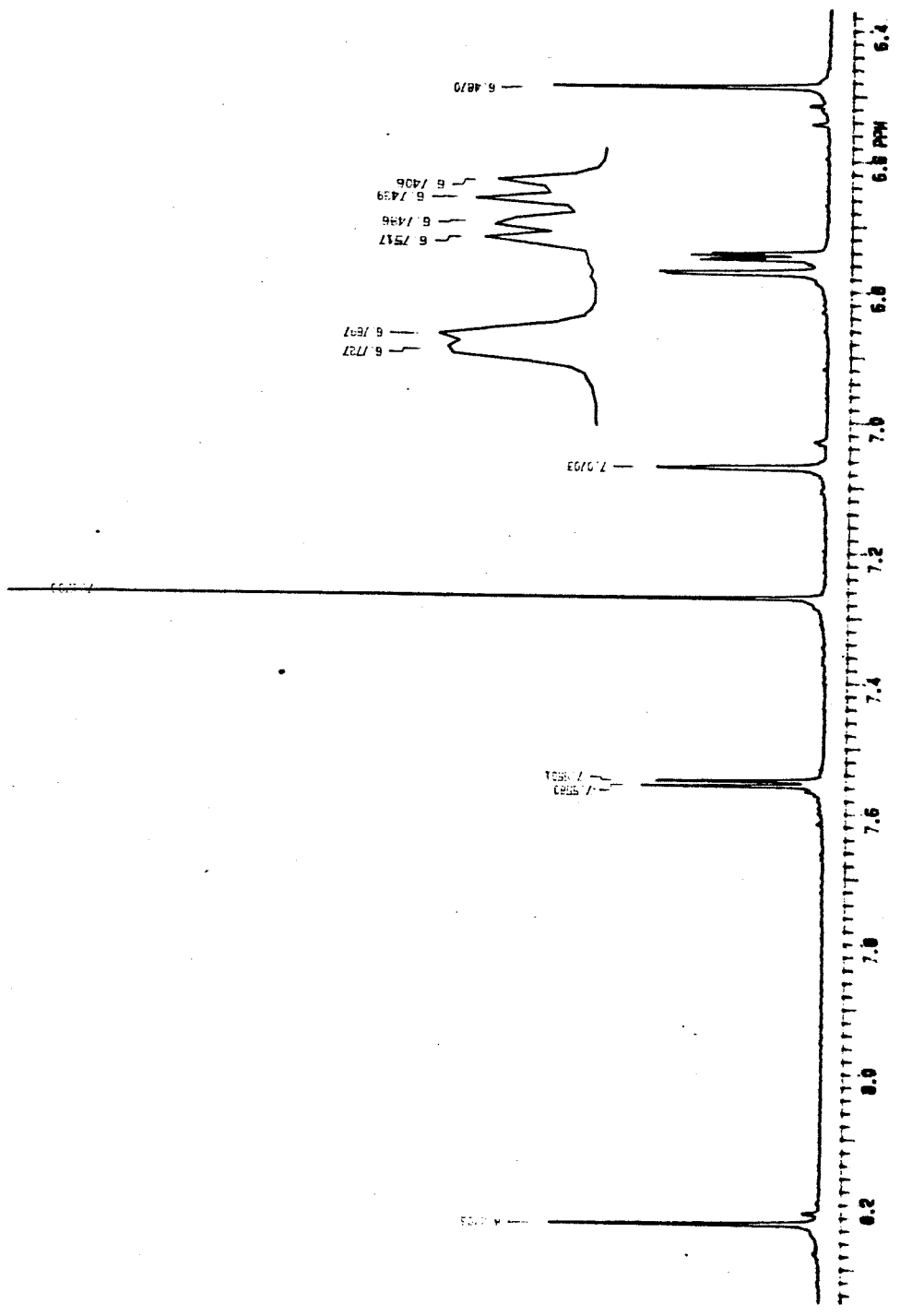
m/z	m/z	Intensidade(en %)	m/z	m/z	Intensidade(en %)	m/z	m/z	Intensidade(en %)
352.00	352.0	41.00	177.00	177.0	12.00			
192.00	192.0	100.00	160.00	160.0	11.00			

Espectro 19 - E.M. (70 eV) de erosona (7)

BRUCEI 'PFD-10 4' 000317MS  
F001 PALF SEBENCIF S200  
DATE 04-12-92  
SOLVENT 0003  
FILE 4

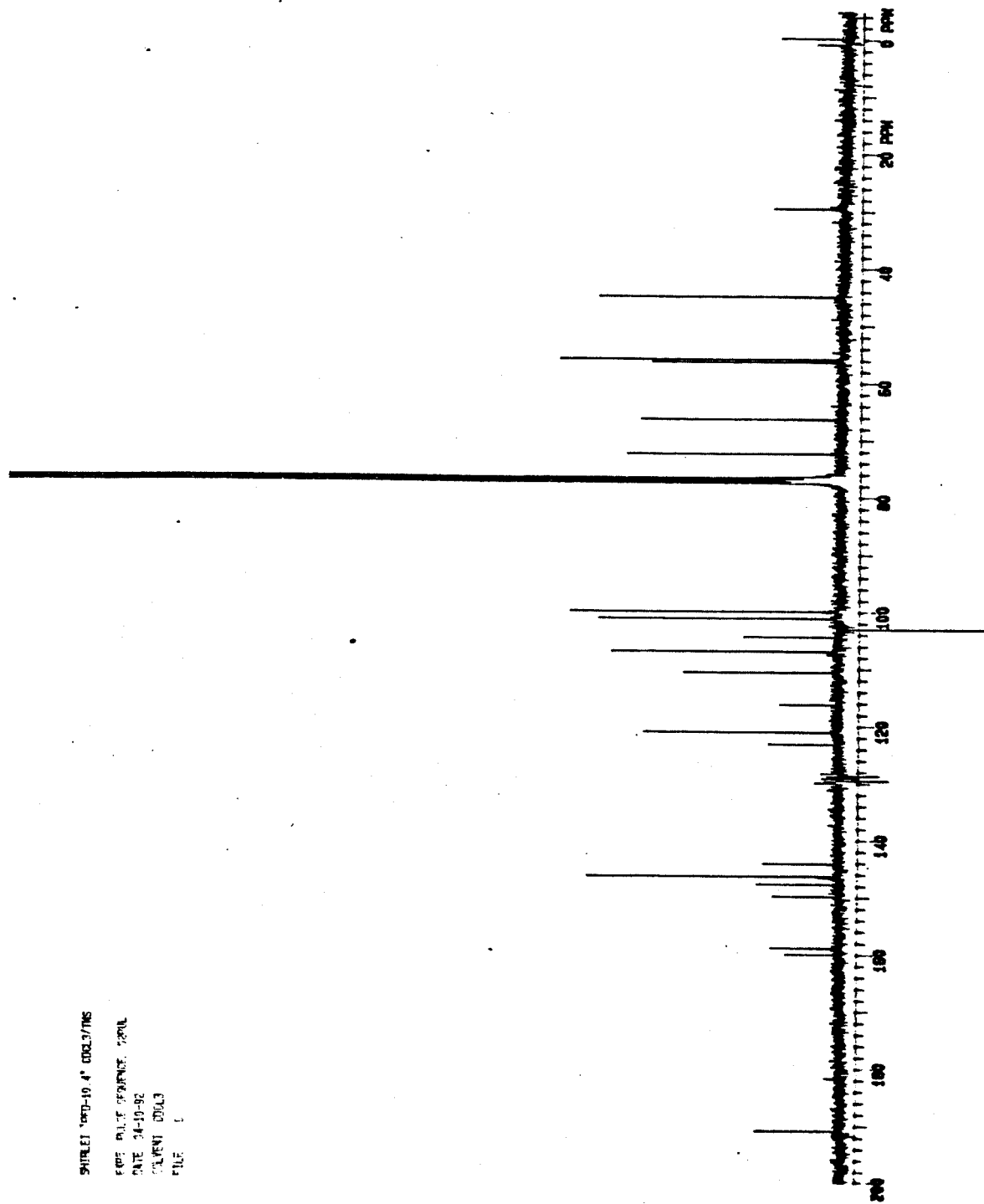


Espectro 20 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de erosona (7)



Expansões do espectro E.20 de 7

SAMPLE 1970-10-4" CDCL3/MS  
FMS PULP DEBRIDE 220L  
DATE 24-10-92  
SOLVENT CDCL3  
FILE C



Espectro 21 - RMN-<sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de erosona (7)

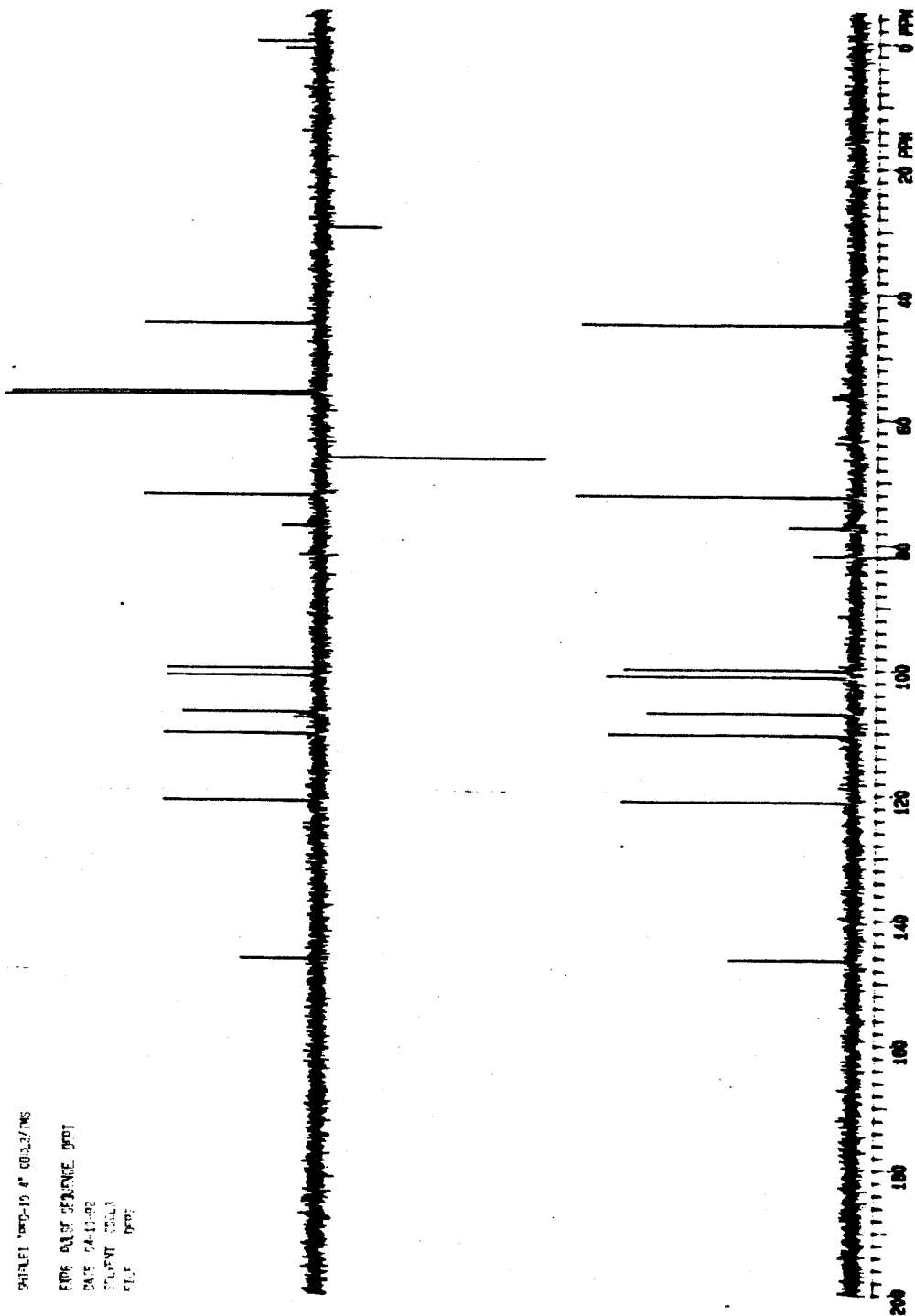
SHRUTI WED-10 4' 00.37/MS

FILED 01/01 DEPT

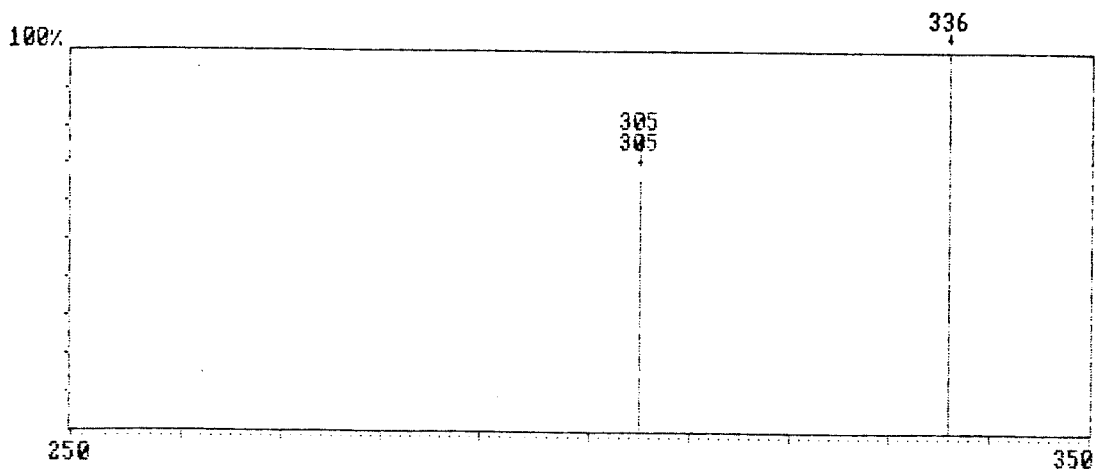
DATE 04-10-92

PLANT 00003

FILE 0000



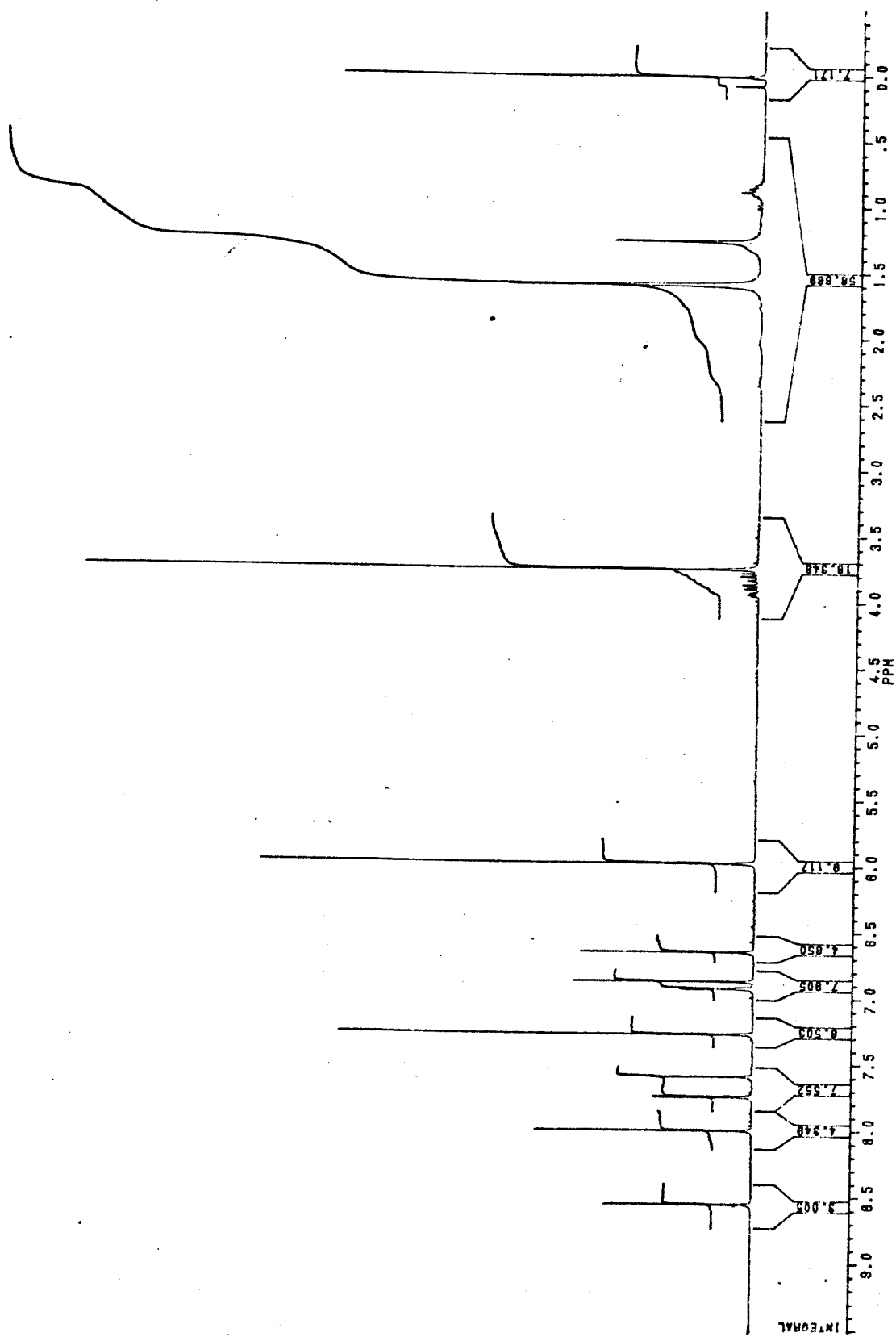
Espectro 21 - Espectro de DEPT de erosona (7)



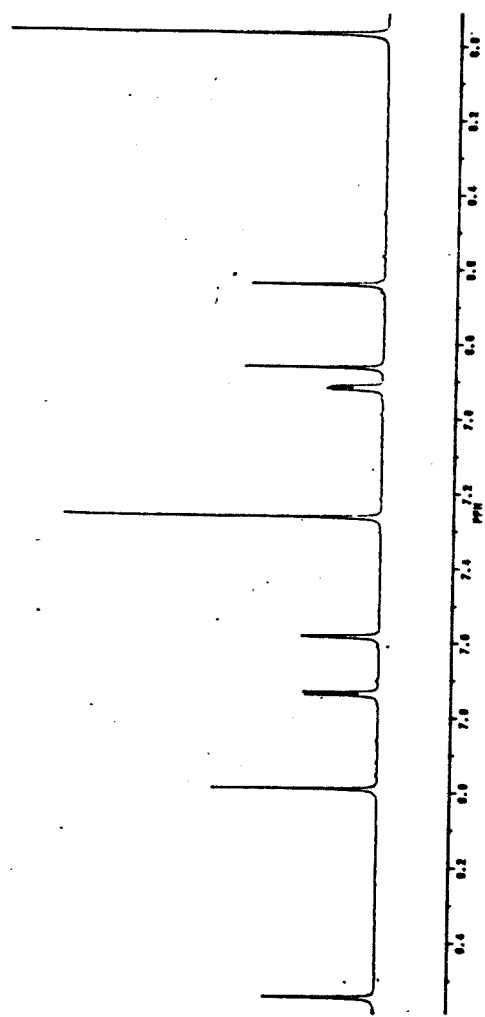
### Espectro de Massas

Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
336.00	336.0	100.00	305.00	305.0	67.00			

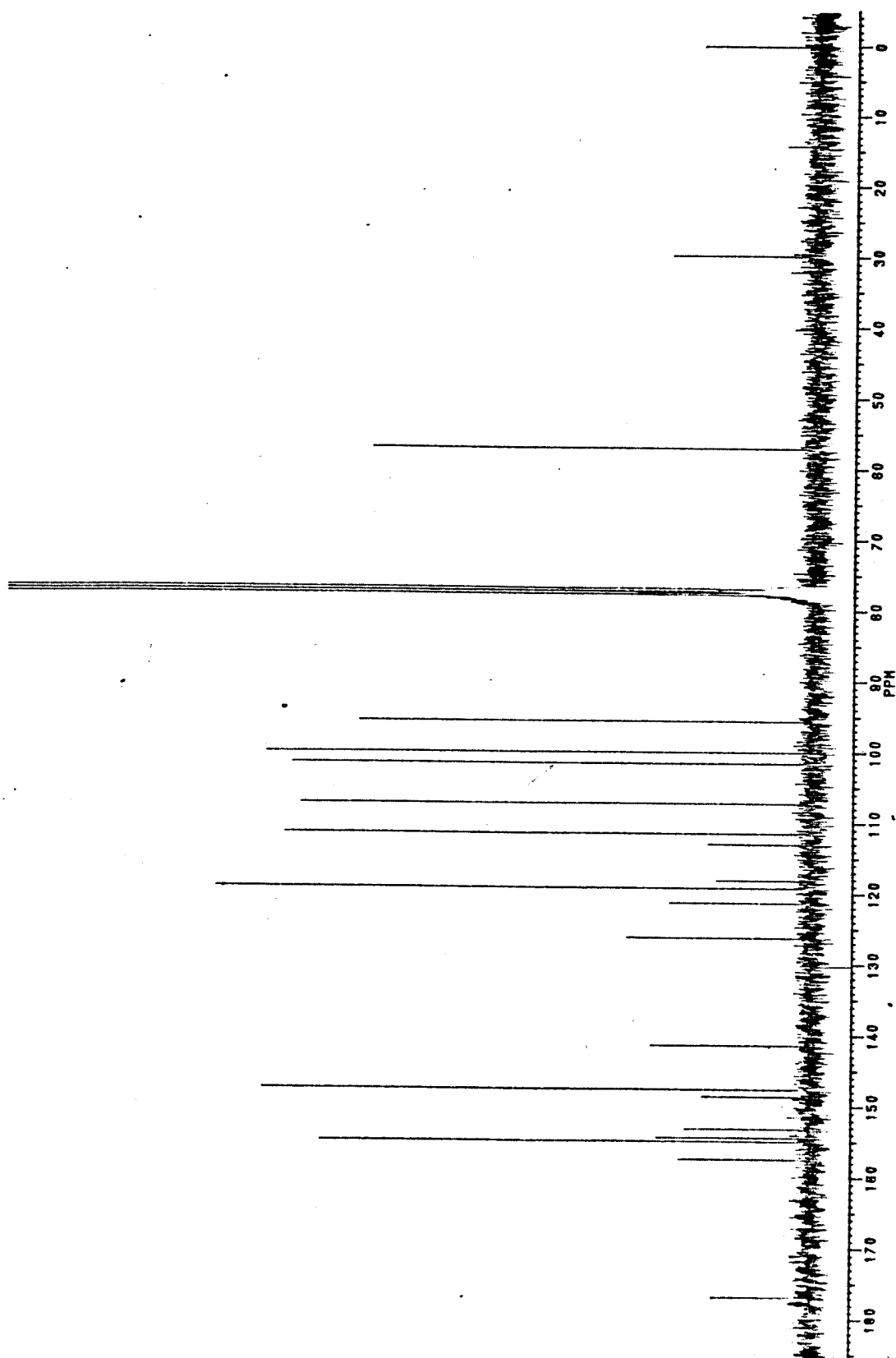


Espectro 23 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de deidroneotenona (8)

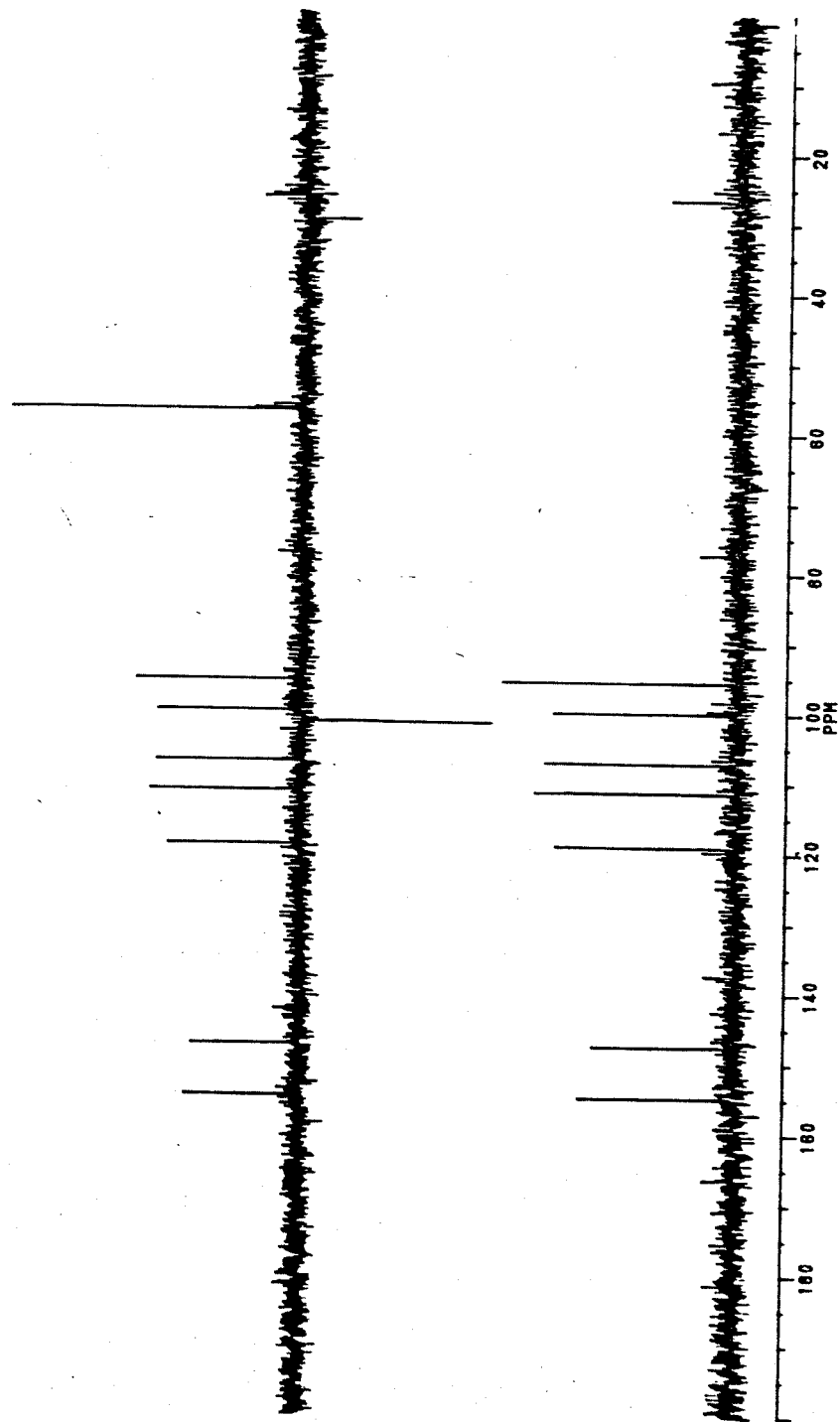


Expansões do espectro E.23 de 8

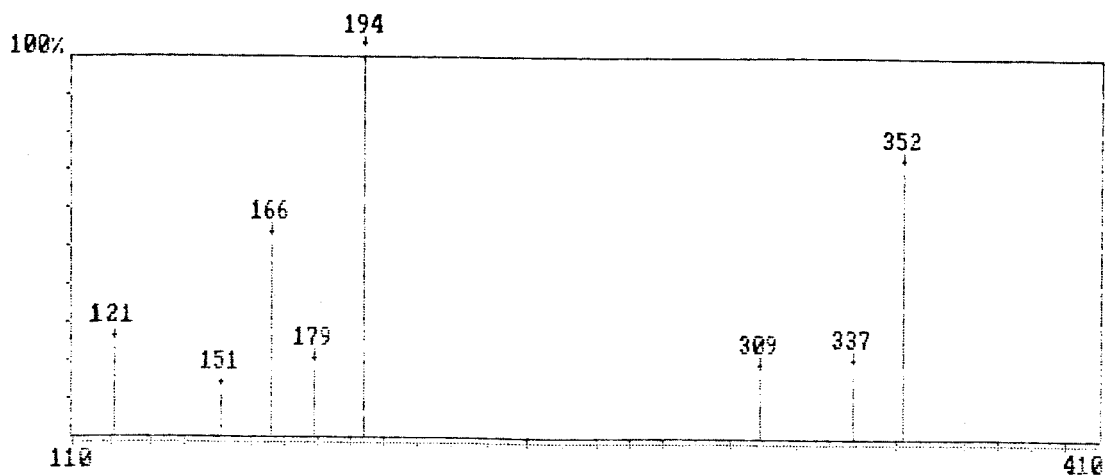




Espectro 24 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de deidroneotona (8)



Espectro 24 - Espectro de DEPT de deidroneotona (8)

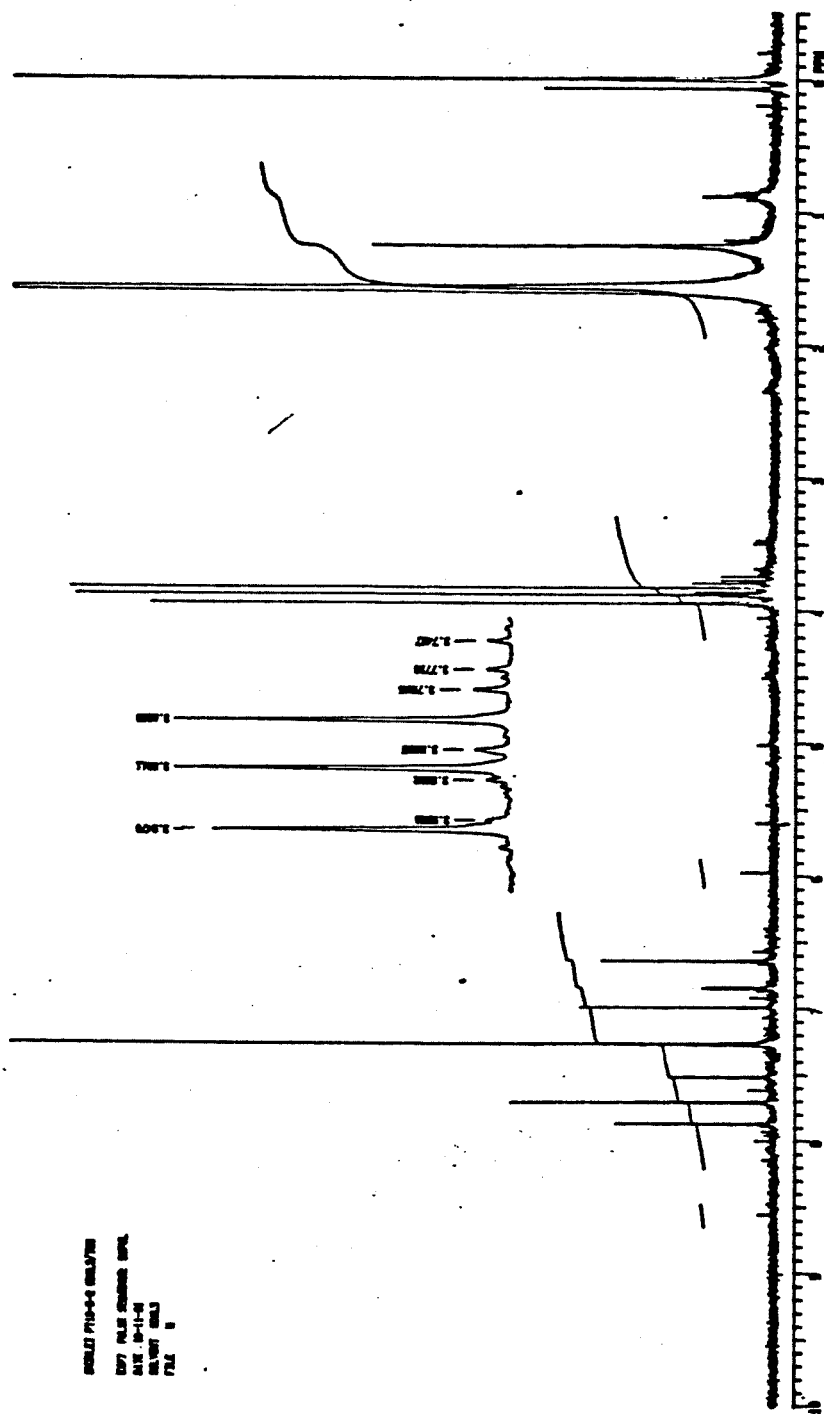


### Espectro de Massas

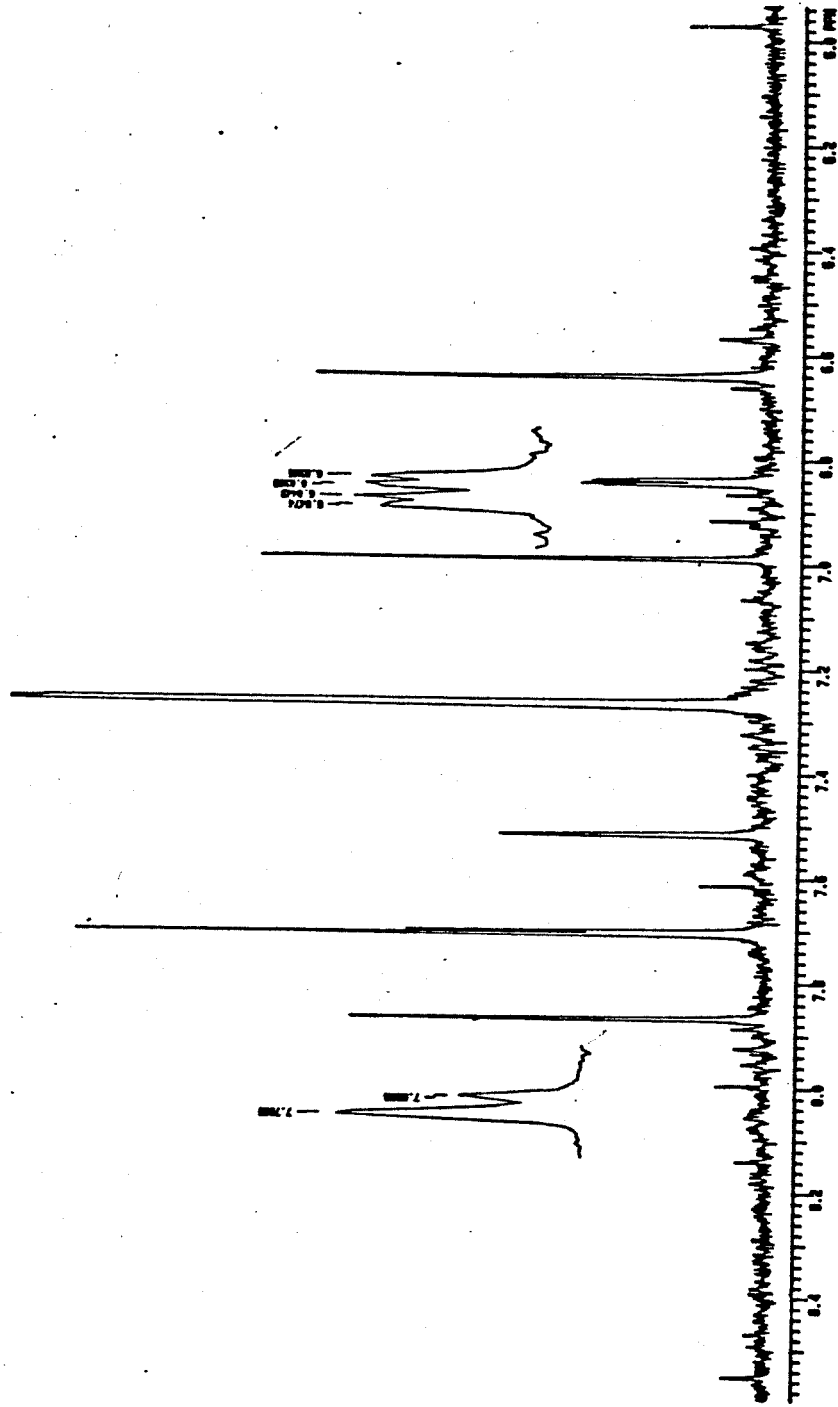
Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)
352.00	352.0	69.00	154.00	194.0	100.00	151.00	151.0	11.00
337.00	337.0	17.00	179.00	179.0	17.00	121.00	121.0	23.00
309.00	309.0	18.00	166.00	166.0	50.00			

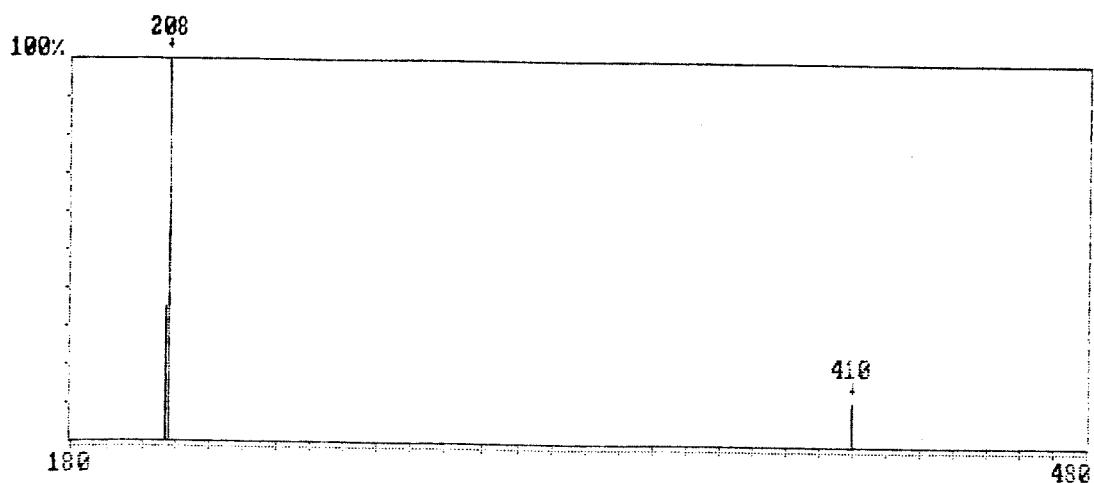
Espectro 25 - E.M (70 eV) de 7H-Furo[3,2g][1]benzopir-7-ona, 6-(2,4,5-trimetóxi)fenil (9)



Espectro 26 - RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 7H-Furo[3,2-g][1]benzopir-7-ona, 6-(2,4,5-trimetóxfenil) (2)



Expansões do espectro E.26 de 2

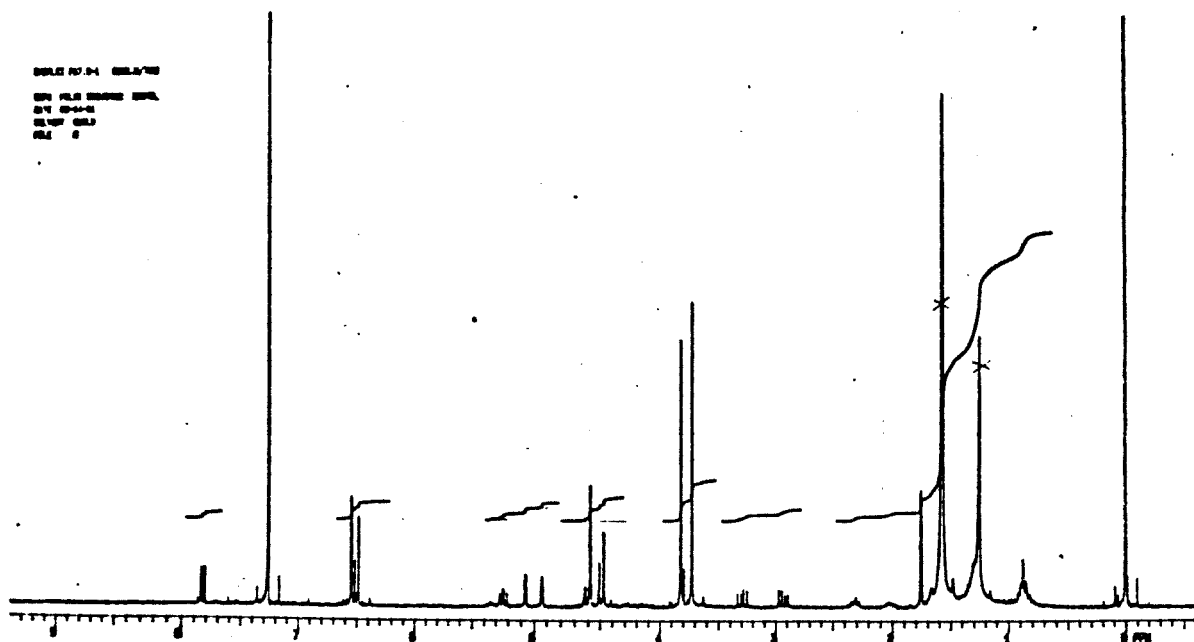


## Espectro de Massas

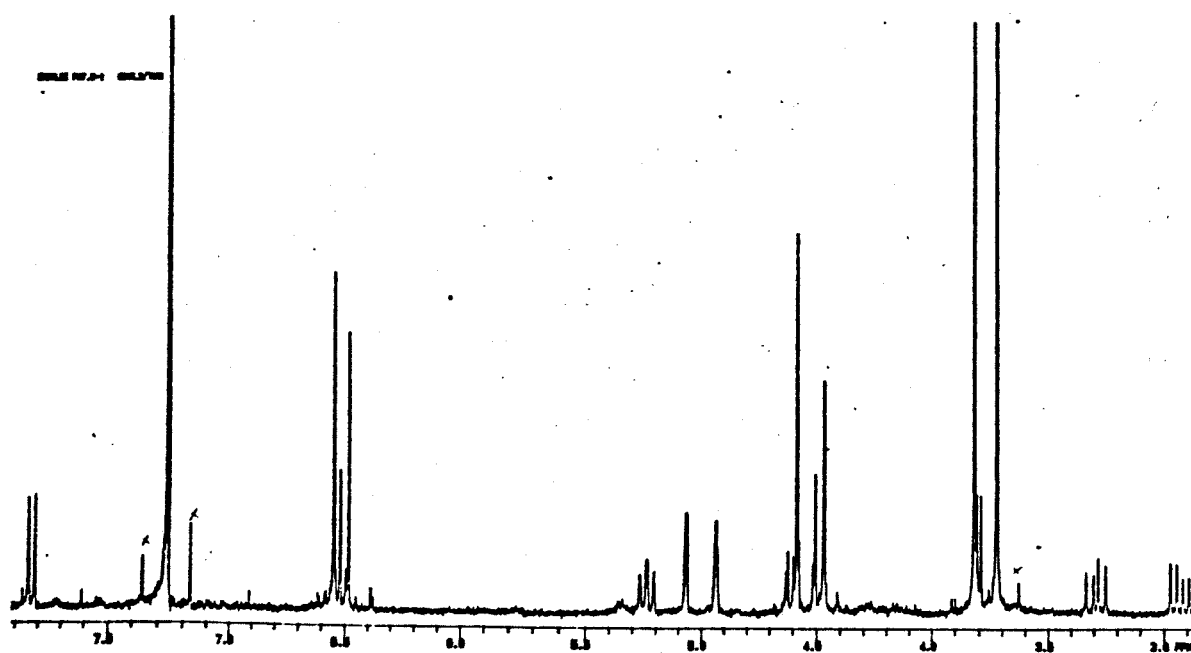
Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(en %)	m/z	m/z	Intensidade(en %)	m/z	m/z	Intensidade(en %)
410.00	410.0	11.50	208.00	208.0	100.00	207.00	207.0	35.00

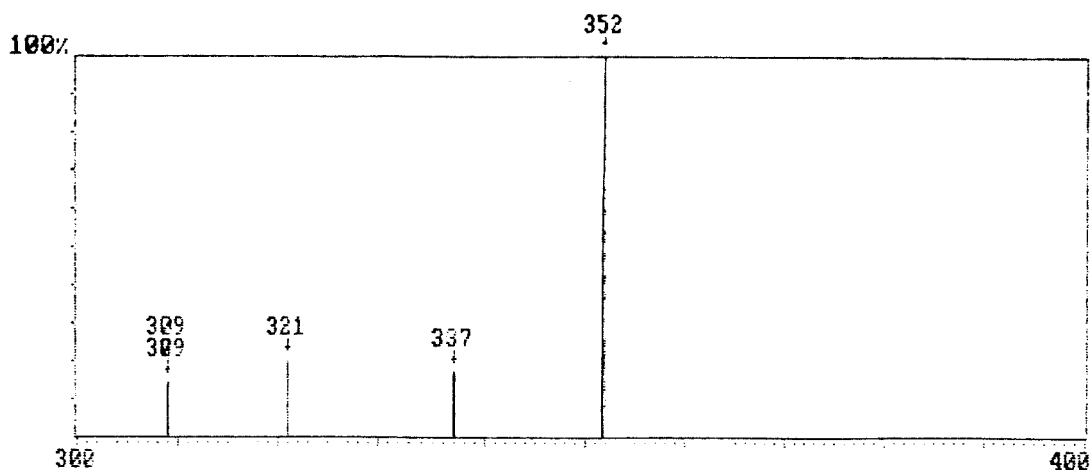
Espectro 27 - E.M. (70 eV) de 12a-hidróxirotenona (10)



Espectro 28 - RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 12a-hidróxirottenona (**10**)



Expansões do espectro E.28 de **10**

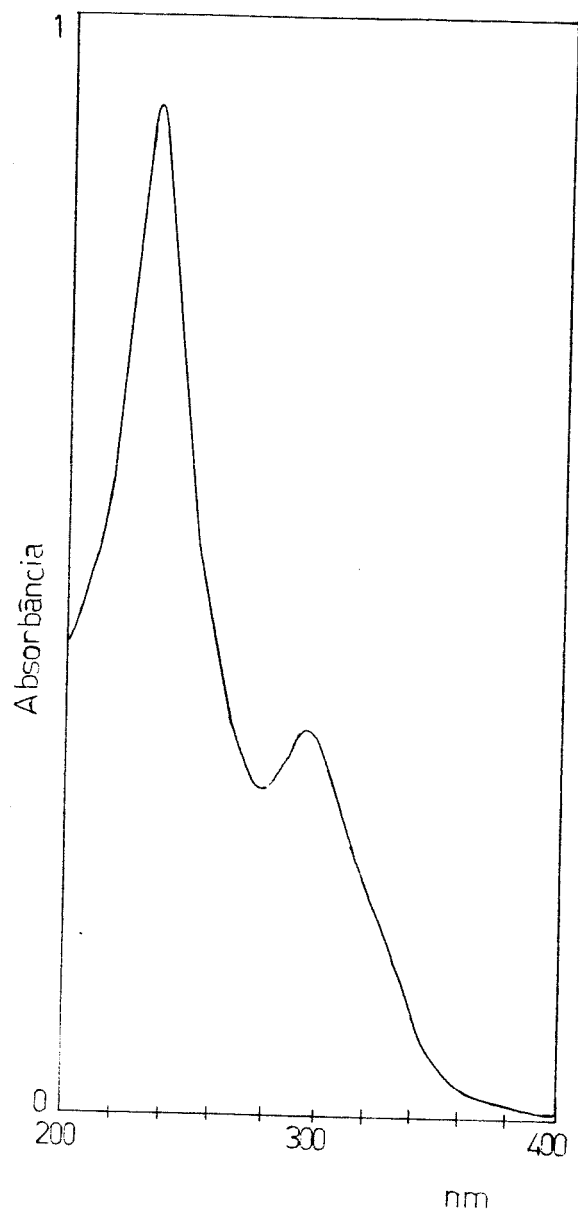


### Espectro de Massas

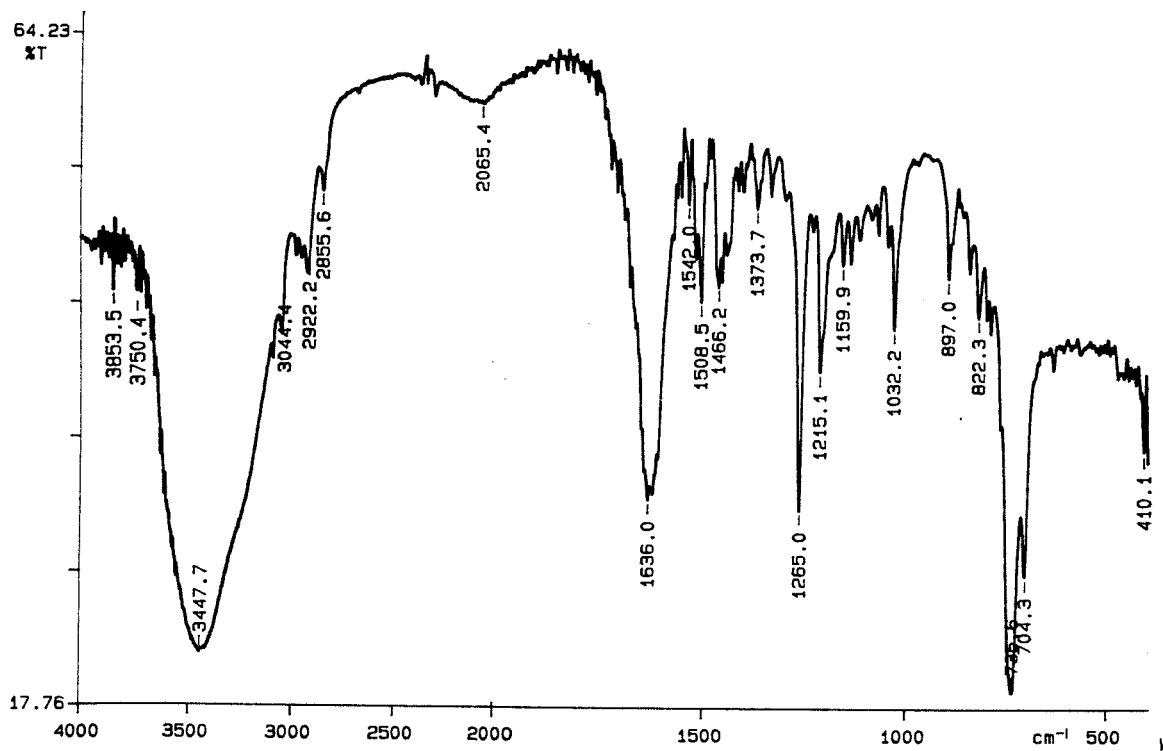
Relacao dos picos

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
352.00	352.0	100.00	321.00	321.0	21.00			
337.00	337.0	17.00	309.00	309.0	14.00			





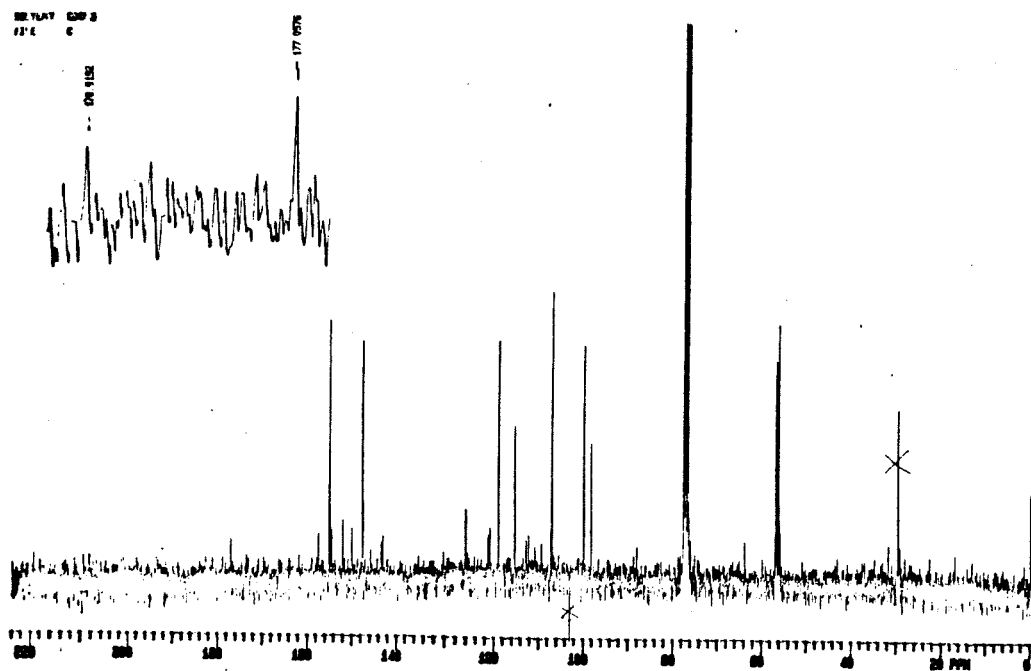
Espectro 30 - U.V. ( $\text{CHCl}_3$ ) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopir-5-ona, 6-(2,4,5-trimetóxfenil)  
**(11)**



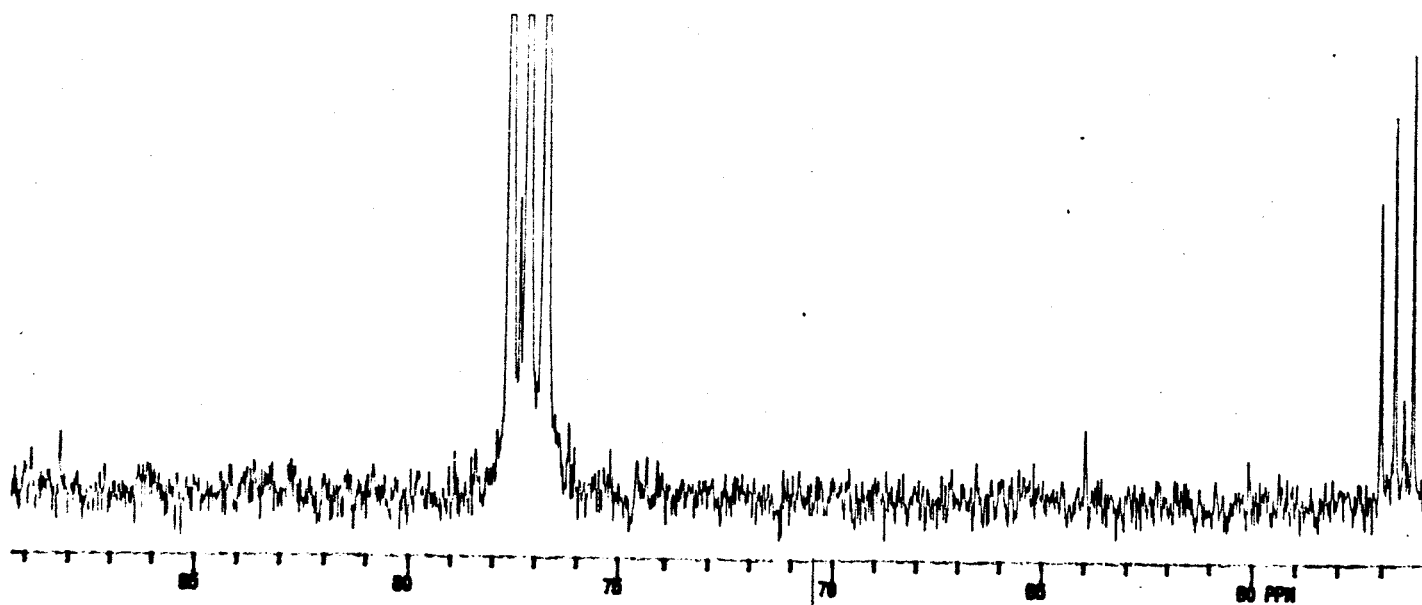
Espectro 31 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopir-5-ona, 6-(2,4,5-trimetóxicenil)

(11)



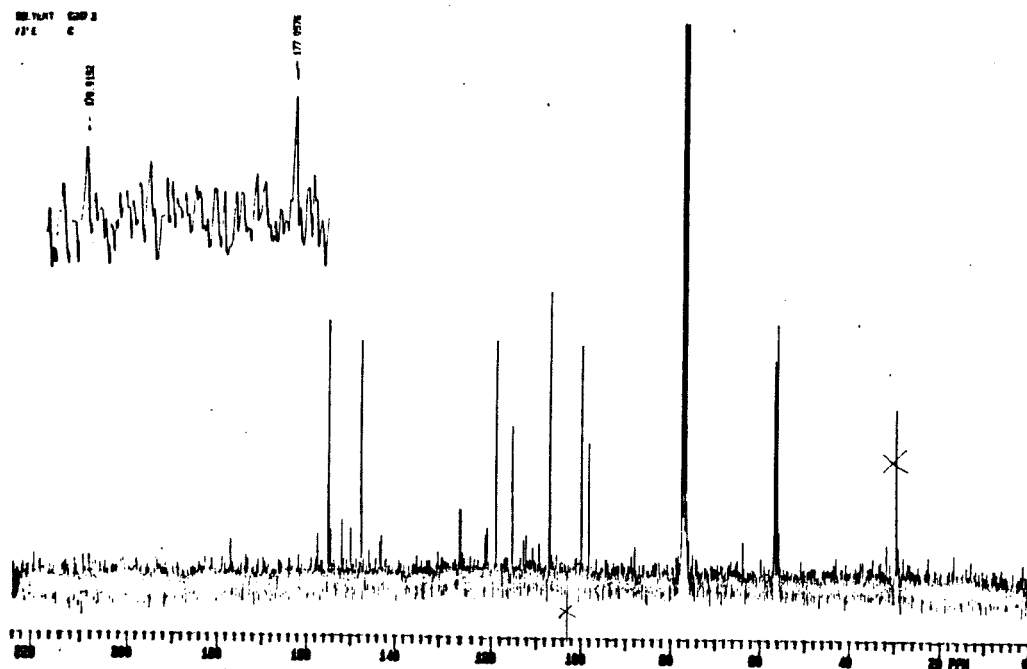


Espectro 33 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopir-5-ona, 6-(2,4,5-trimetóxi)fenil (11)

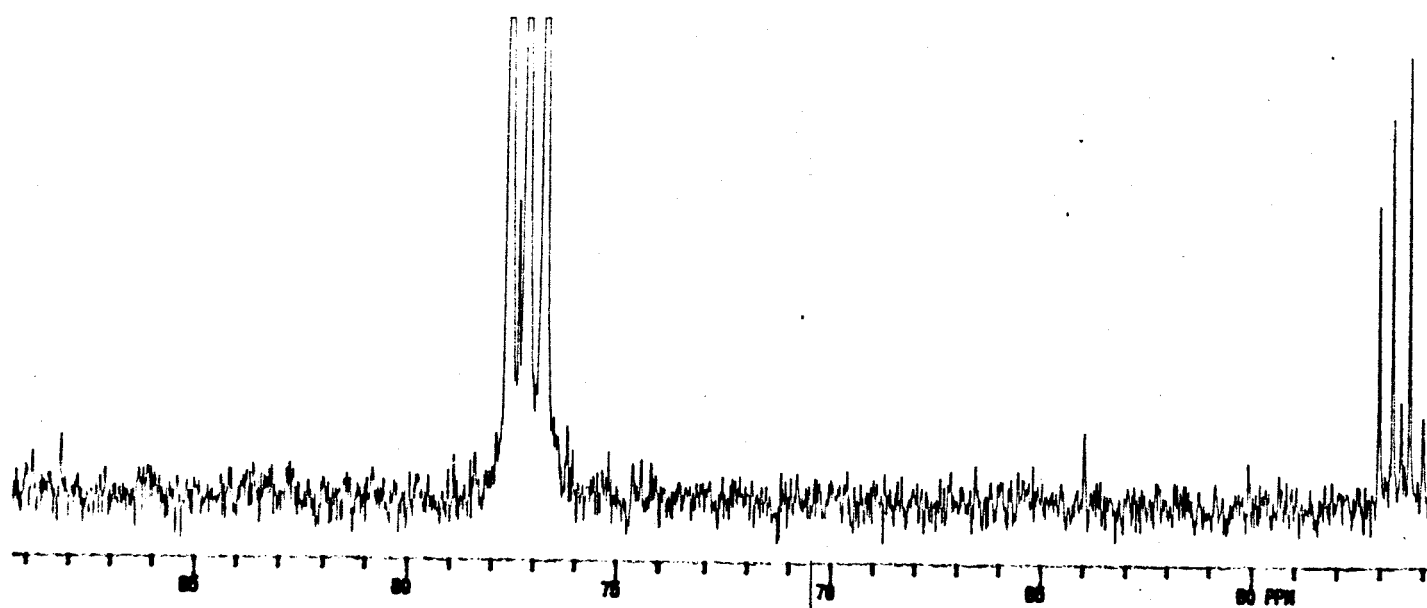


Expansão do espectro E.33 de 11

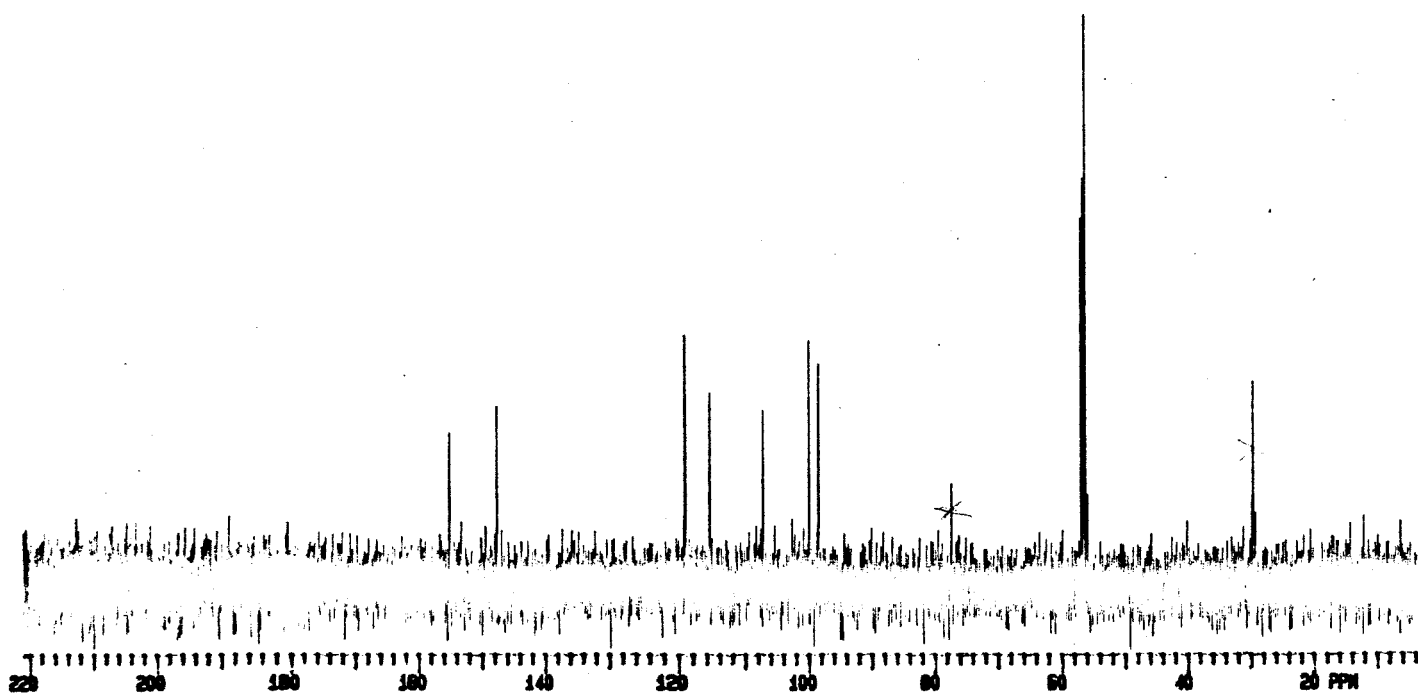




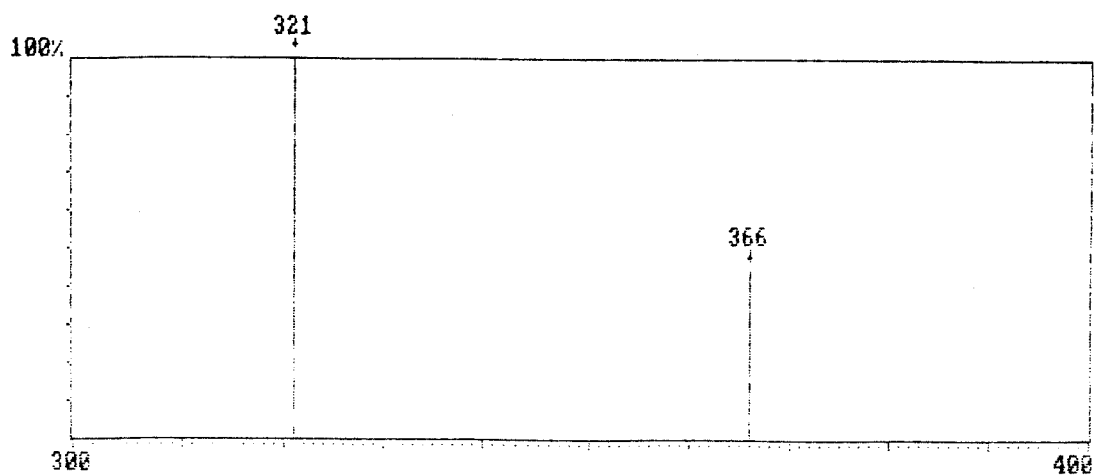
Espectro 33 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopir-5-ona, 6-(2,4,5-trimetóxfenil) (**11**)



Expansão do espectro E.33 de **11**



**Espectro 33 - Espectro de DEPT de 11**



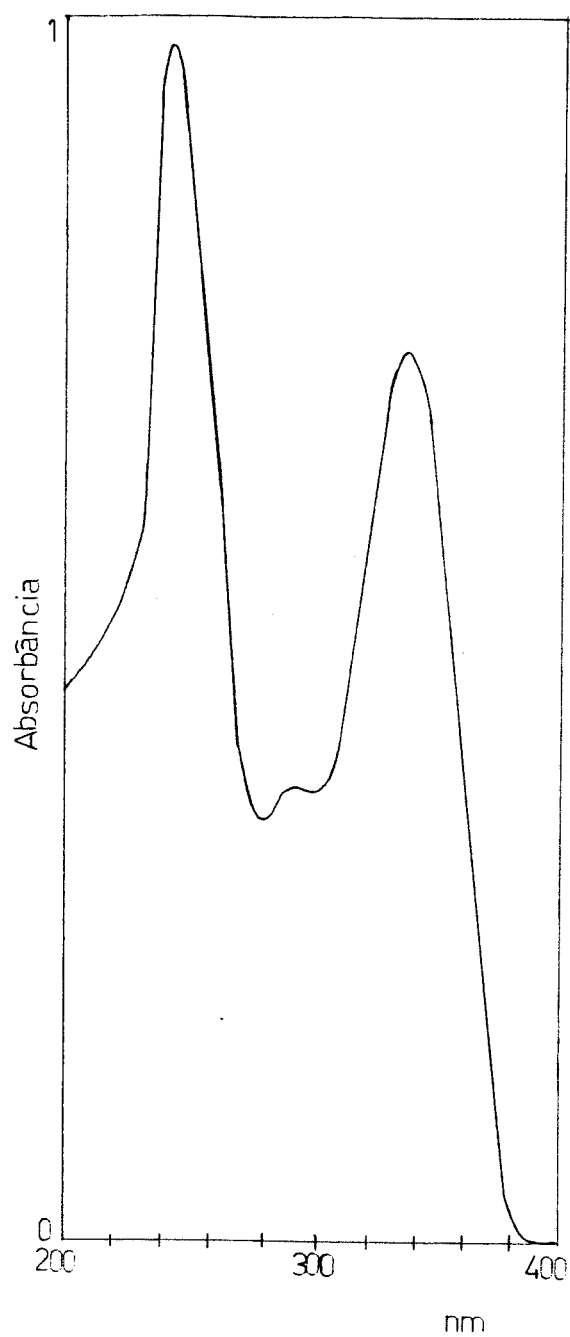
### Espectro de Massas

Relação dos picos

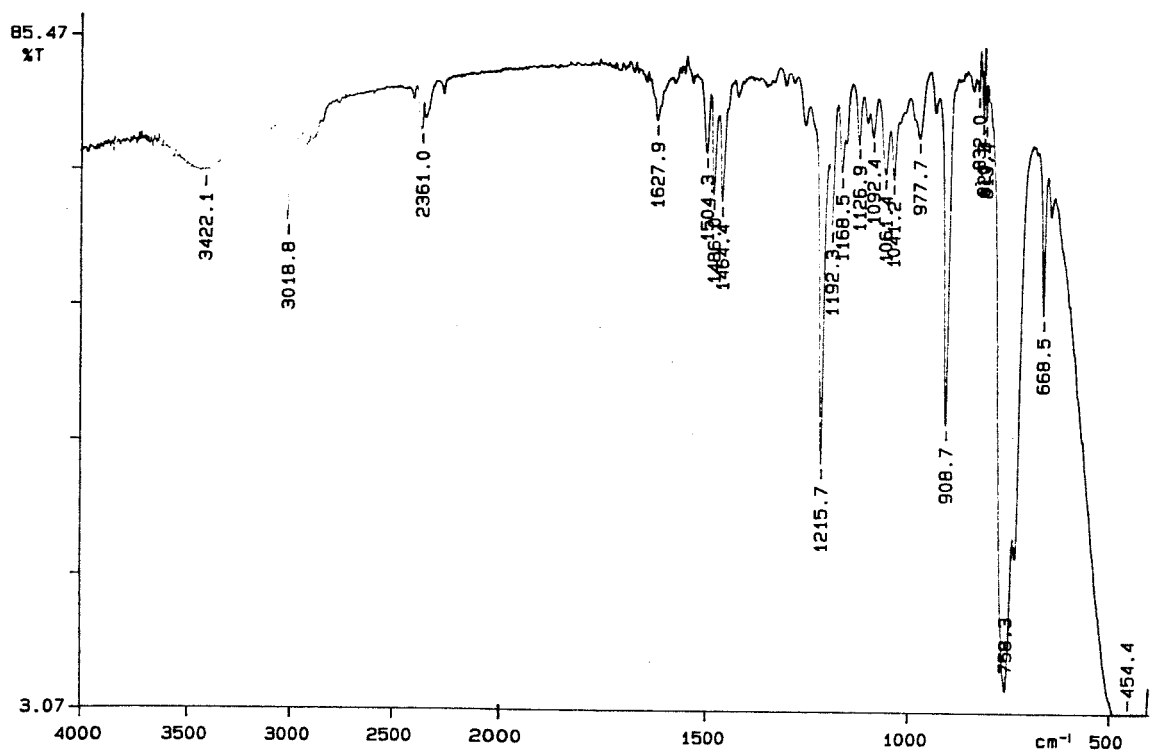
m/z	m/z	Intensidade(en %)	m/z	m/z	Intensidade(en %)	m/z	m/z	Intensidade(en %)
366.00	366.0	44.00	321.00	321.0	100.00			

**Espectro 34 - E.M. (70 eV) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopirano, 5,6-deidro-6-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)-7-etóxi (12)**

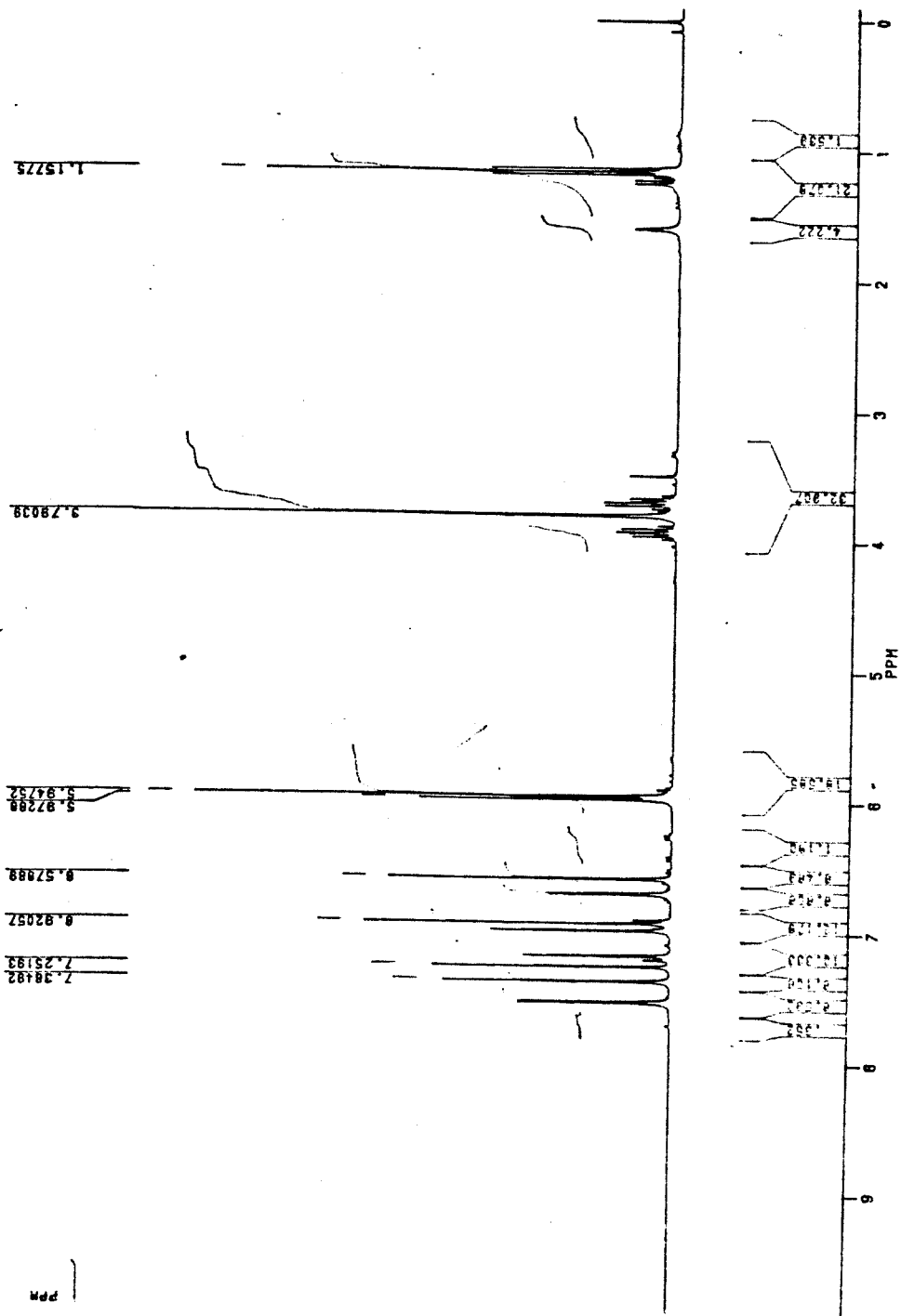




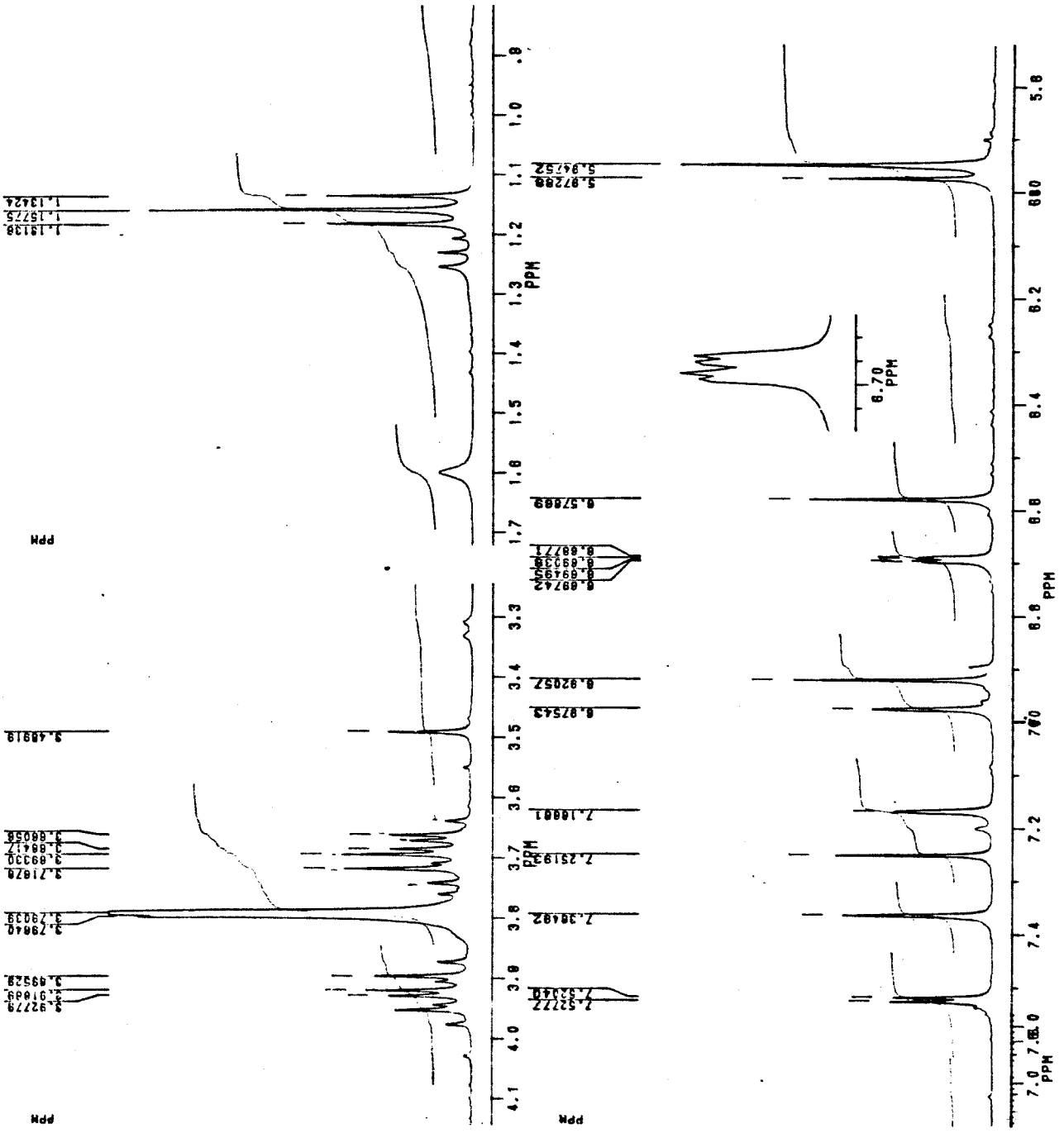
**Espectro 35 - U.V. ( $\text{CHCl}_3$ ) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopirano, 5,6-deidro-6-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)-7-etóxi (12)**



Espectro 36 - I.V. (KBr) de 5H-Furo[3,2g][1]benzopirano, 5,6-deidro-6-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)-7-etóxi (**12**)

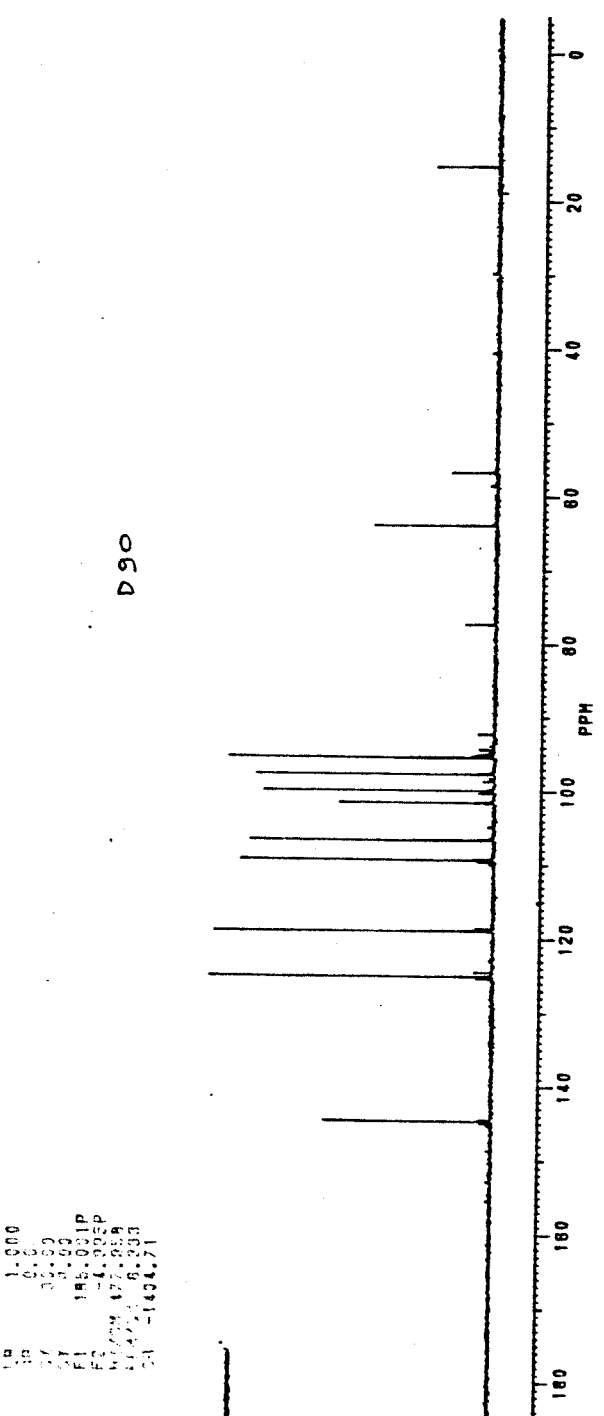
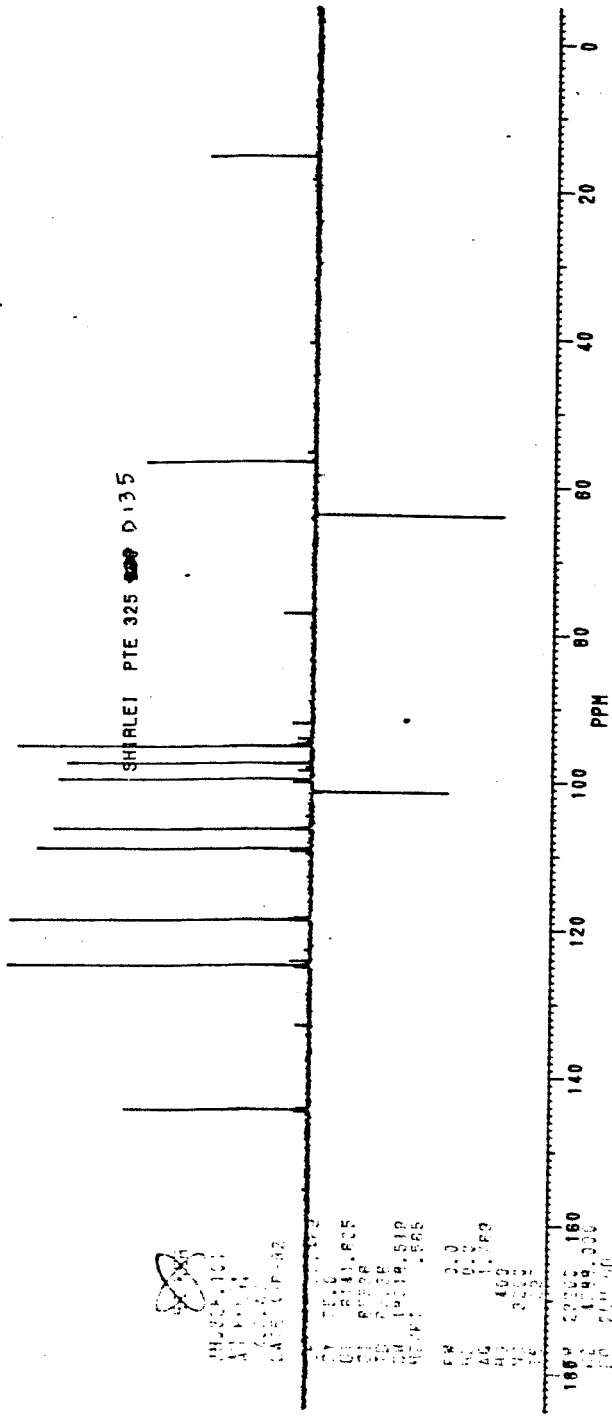


Espectro 37 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 5H-Furo[3,2-g][1]benzopirano, 5,6-deidro-6-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)-7-etóxi (12)

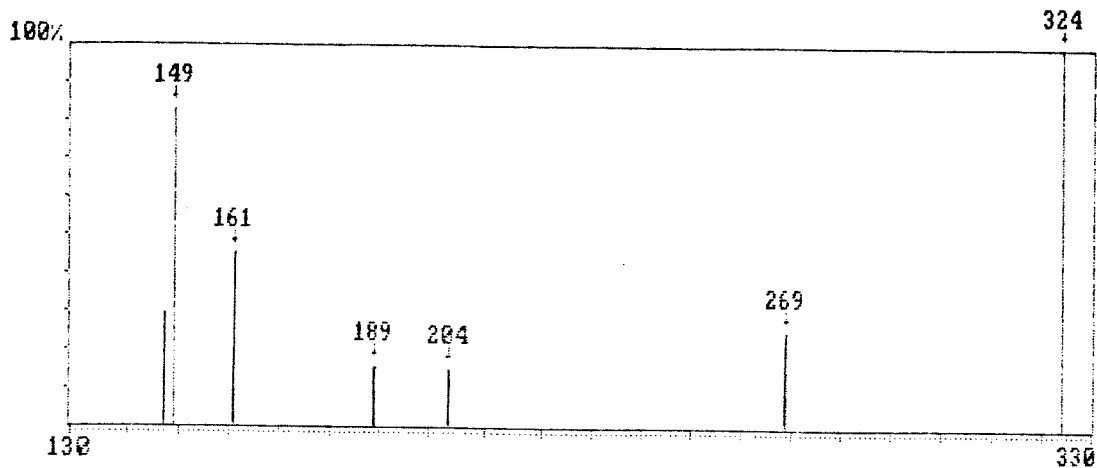


Expansões do espectro E.37 de 12





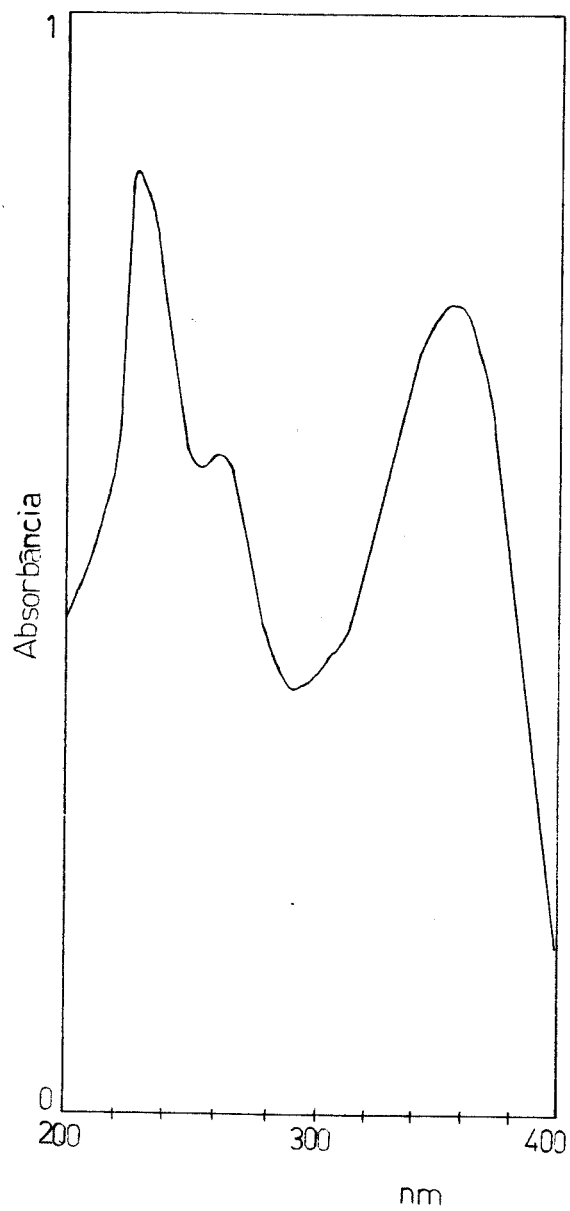
Espectro 38 - Espectro de DEPT de 12



### Espectro de Massas

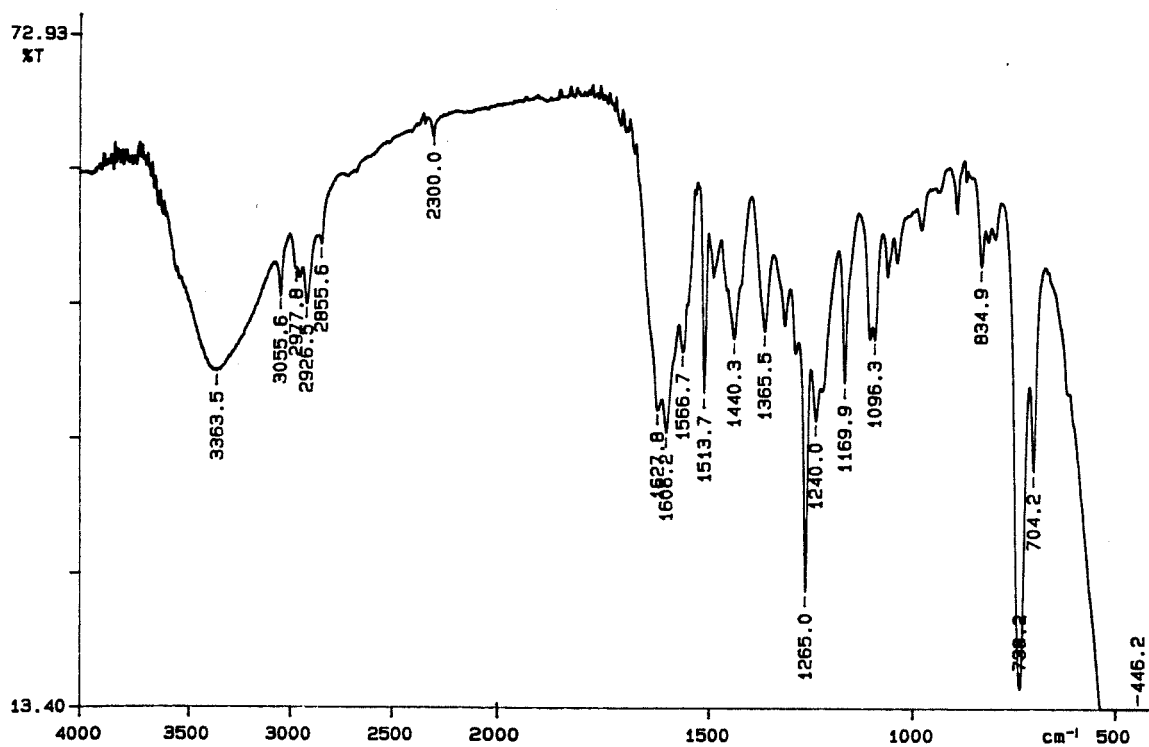
Relacao dos picos

m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
324.00	324.0	100.00	189.00	189.0	18.00	147.00	147.0	28.00
269.00	269.0	25.00	161.00	161.0	45.00			
204.00	204.0	15.00	149.00	149.0	83.00			



**Espectro 40 - U.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de 4-hidróxiisocordolna (13)**





Espectro 41 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de 4-hidróxiisocordoina (13)

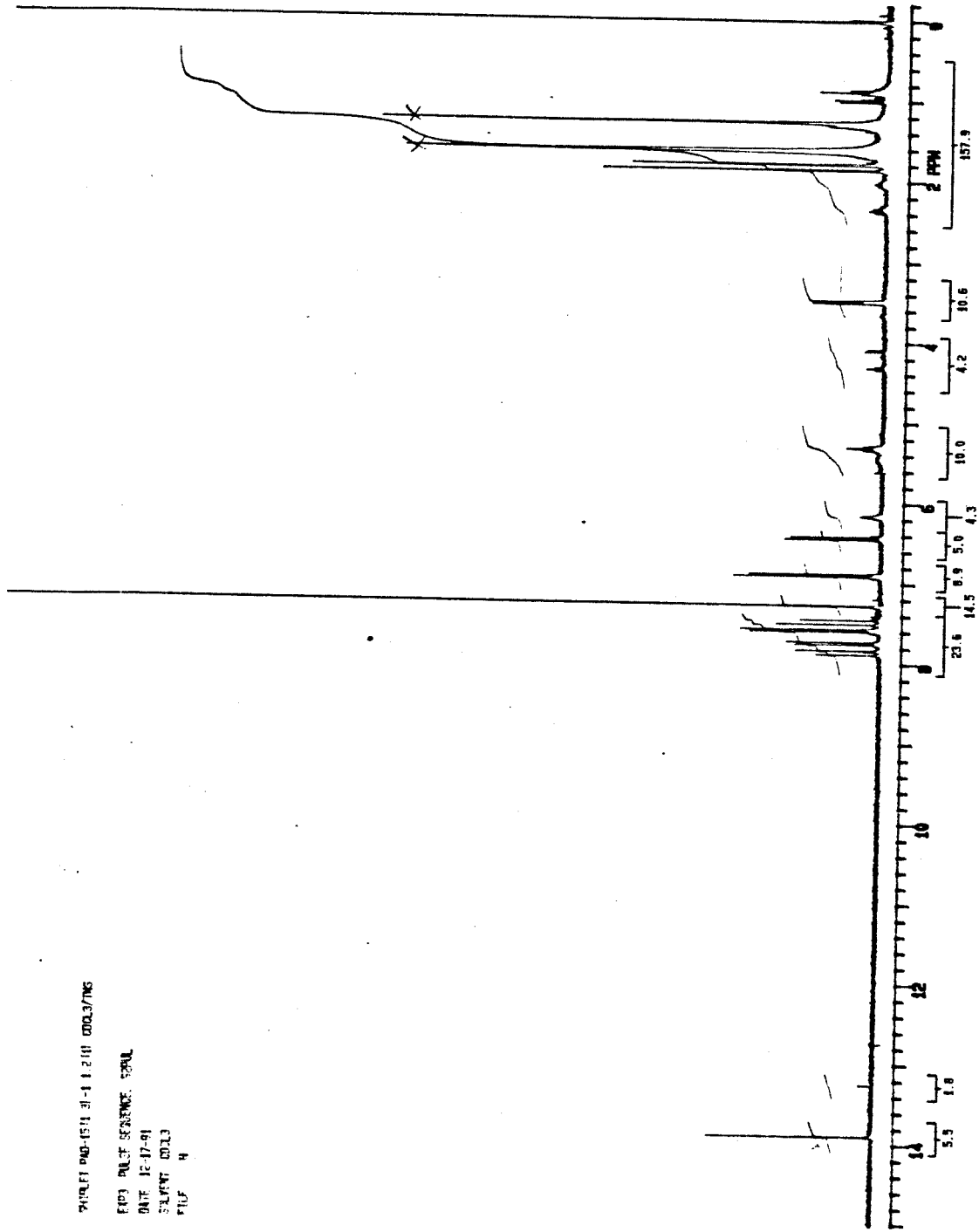
PARLET PMS-1511 31-4 1 2101 0003/786

EPD3 PULF SERENDE SPAL

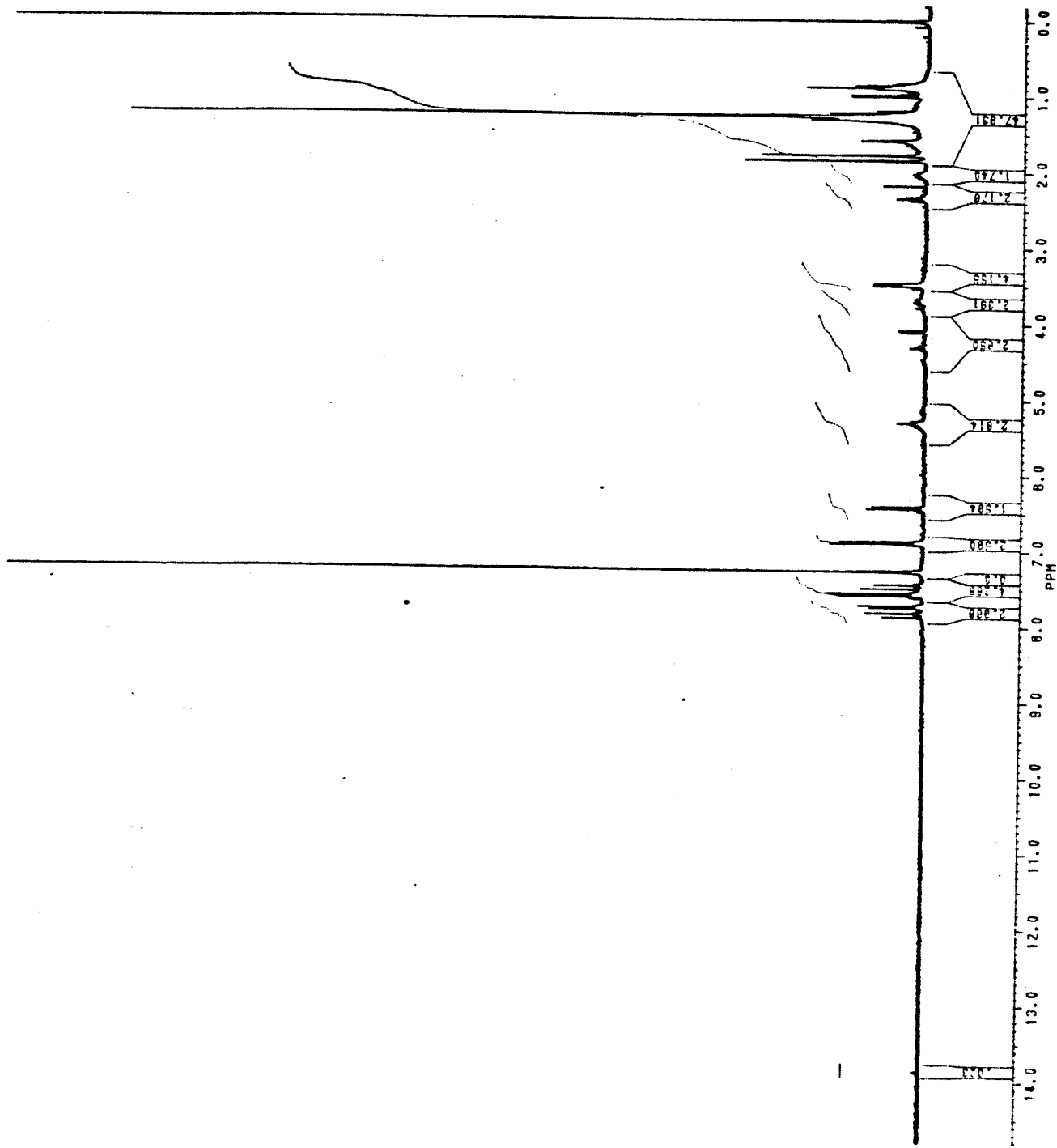
DATE 12-17-91

SOLVENT CDCl<sub>3</sub>

PULF H



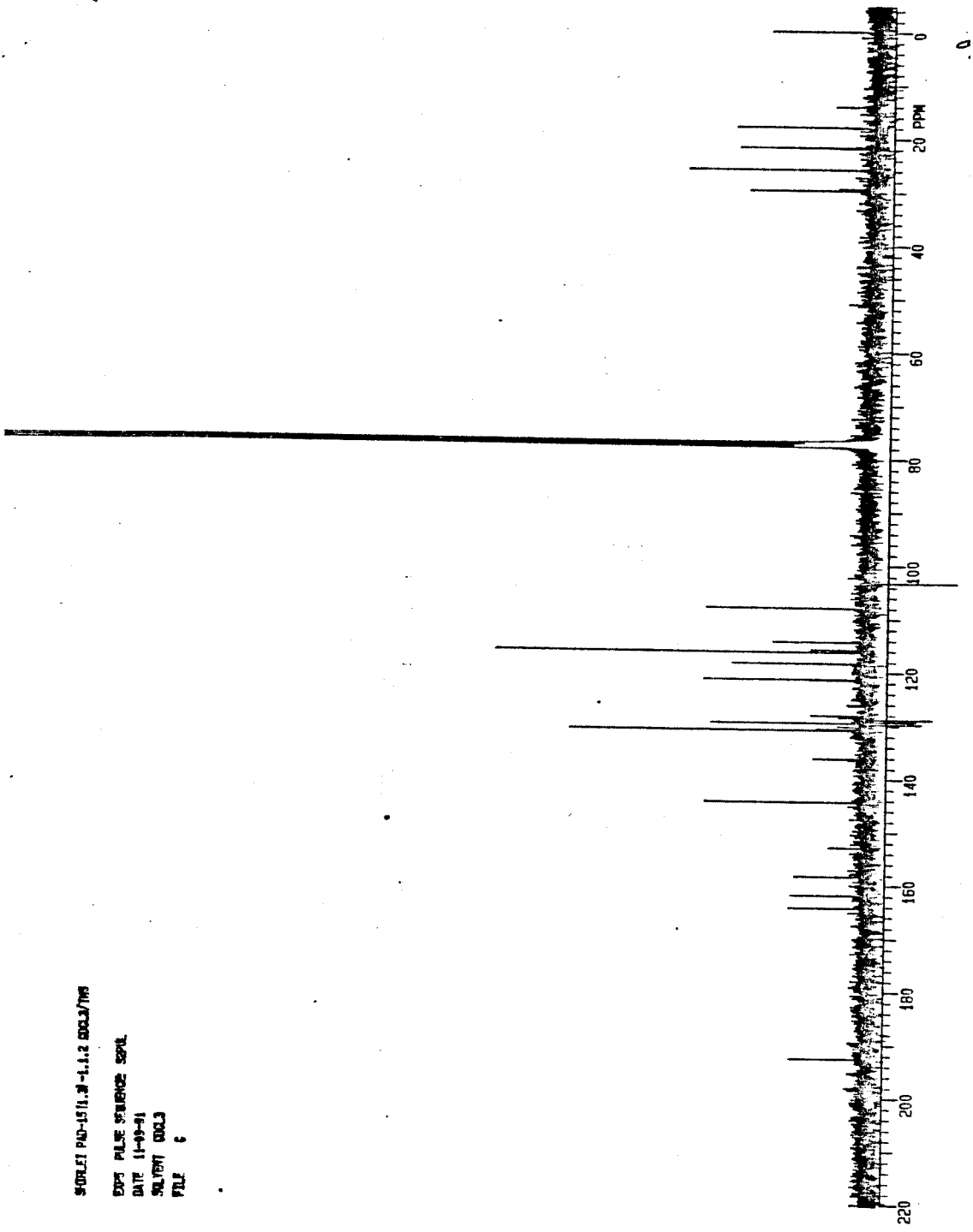
Espectro 42 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 4-hidróxicocortoína (13)



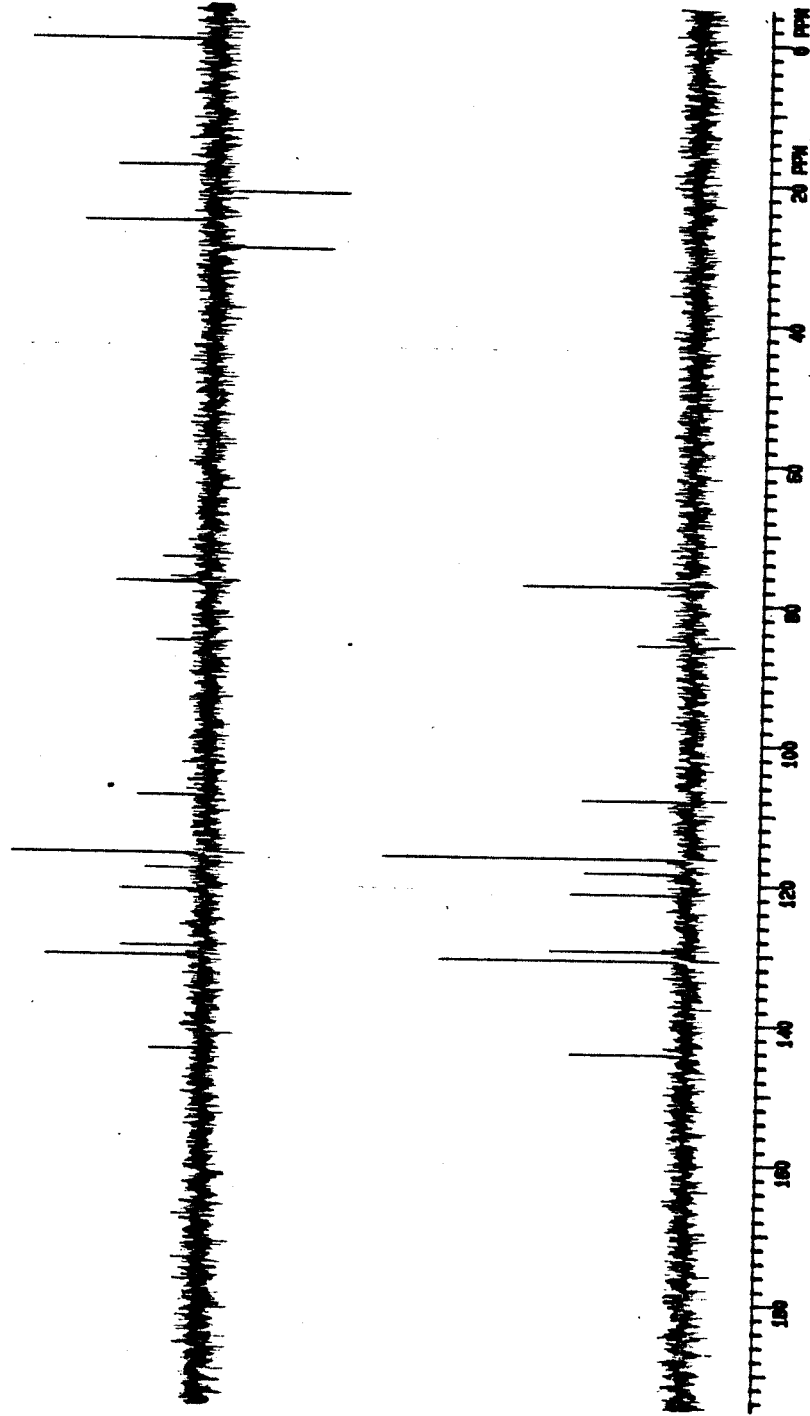
Espectro 42 - RMN-1H (300 MHz,  $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$ ) de 4-hidróxisocordolna (13)



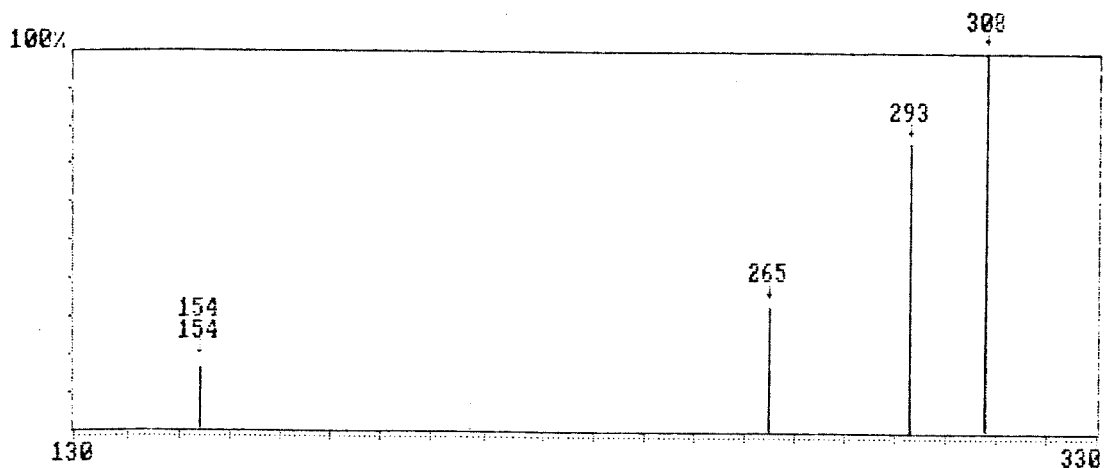
SPURLET PAD-15711.8-1.1.1.2 CDCL3/TMS  
DPS PULSE SEQUENCE SPPXL  
DATE 11-03-91  
SOLVENT CDCL3  
FILE 6



Espectro 43 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 4-hidróxicordofina (13)



Espectro 43 - Espectro de DEPT de 13

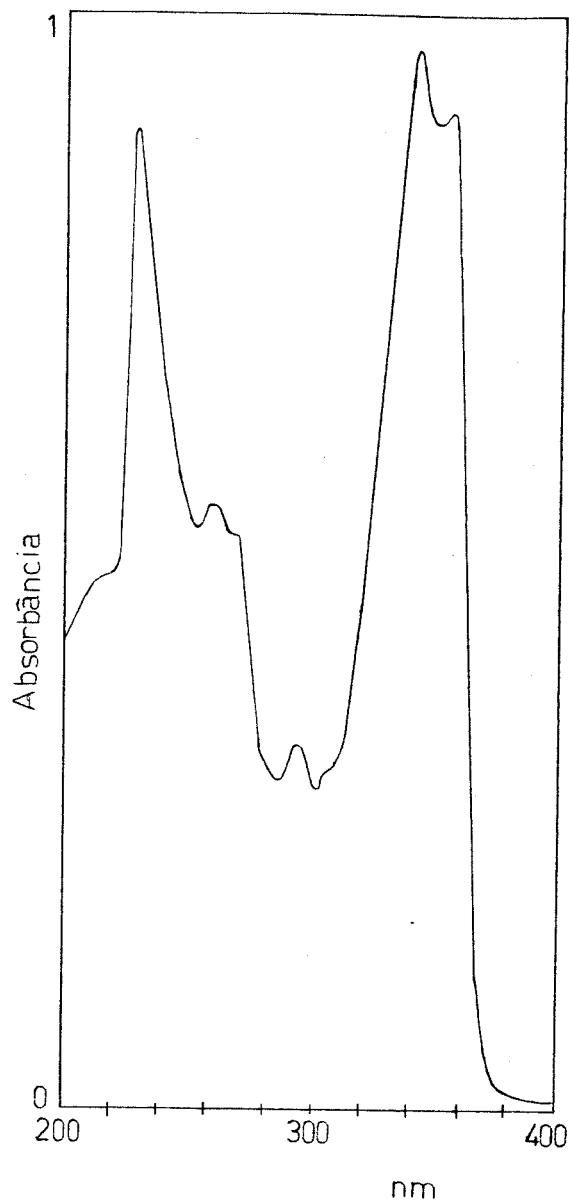


### Espectro de Massas

Relação dos picos

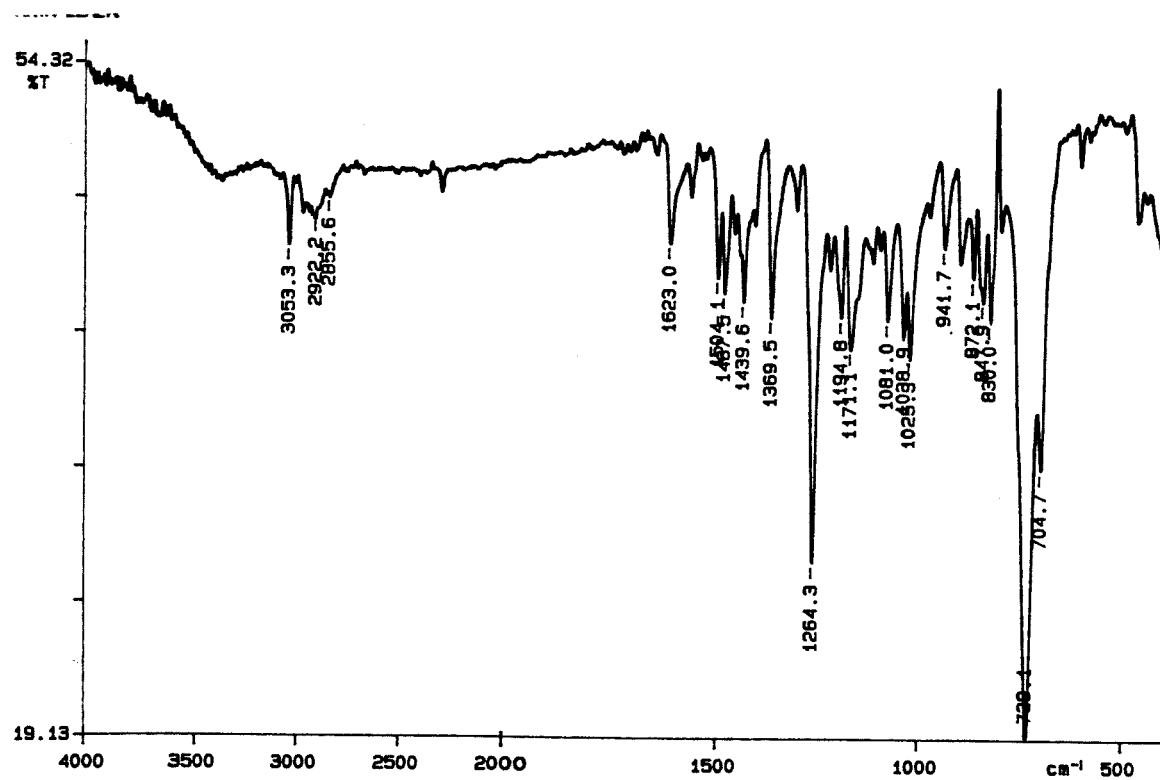
m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)	m/z	m/z	Intensidade(em %)
308.00	308.0	100.00	265.00	265.0	33.00			
293.00	293.0	76.00	154.00	154.0	17.00			

Espectro 44 - E.M. (70 eV) de benzo[1,2,b:5,4b']difurano, 2-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)  
**(14)**



Espectro 45 - U.V. ( $\text{CHCl}_3$ ) de benzo[1,2,b:5,4b']difurano, 2-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)  
**(14)**





Espectro 46 - I.V. (CHCl<sub>3</sub>) de benzo[1,2,b:5,4b']difurano, 2-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl)  
(14)

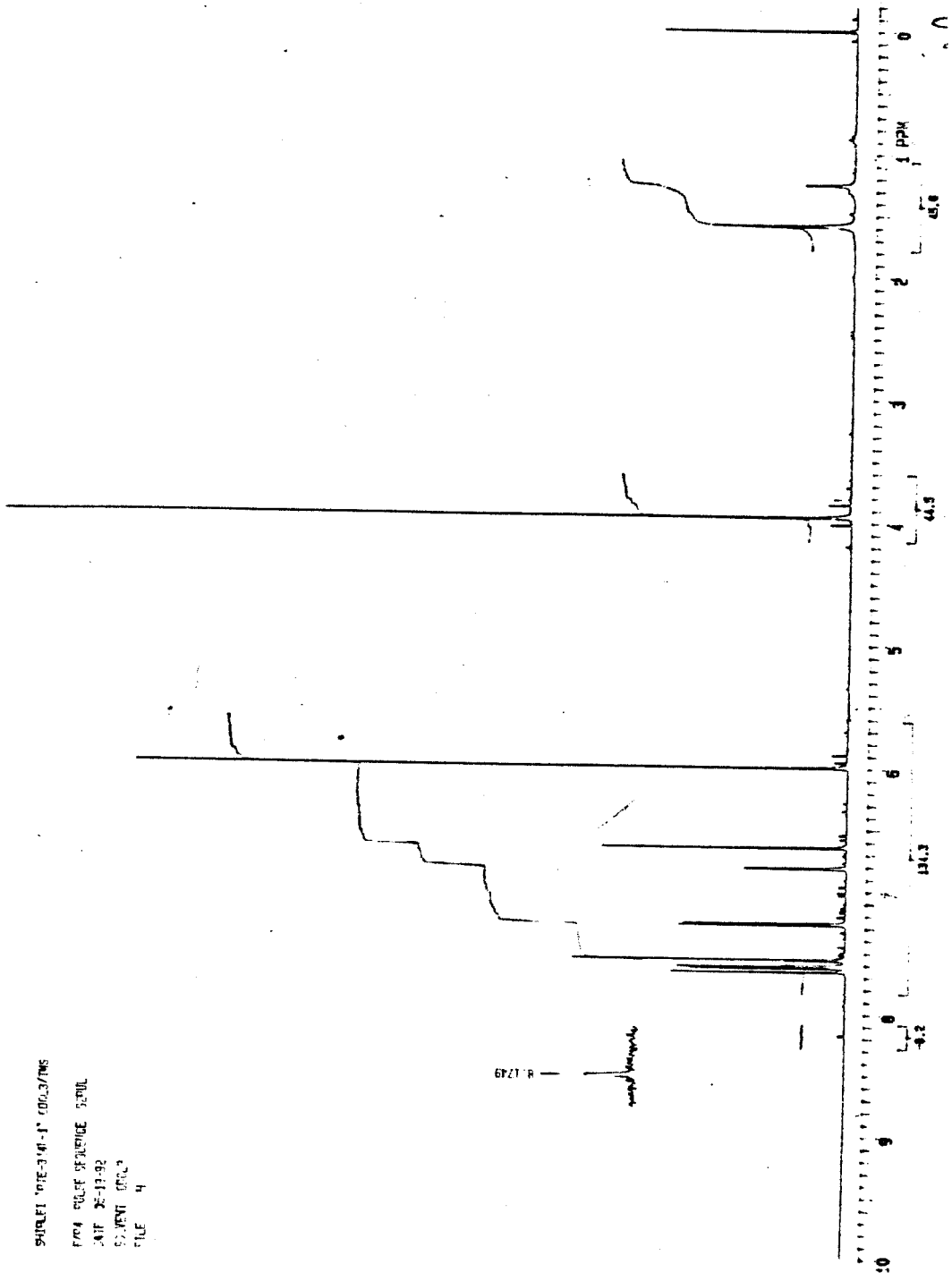
SHOULI '01E-3141-1' (000.37)MS

F704 PULCE DE SCURGE 32PUL

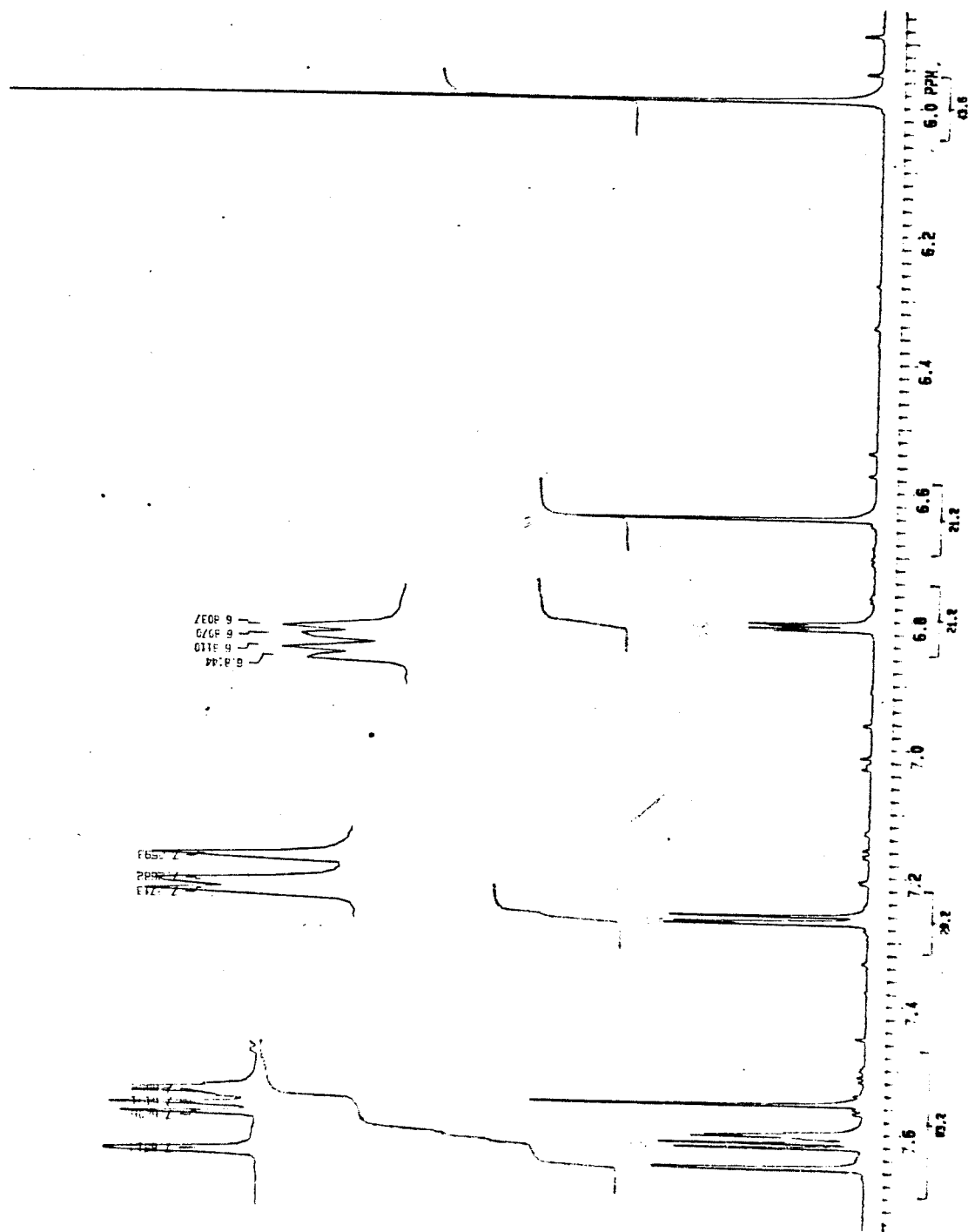
DATE 26-11-92

EXPERIMENT 0003

FILE 4



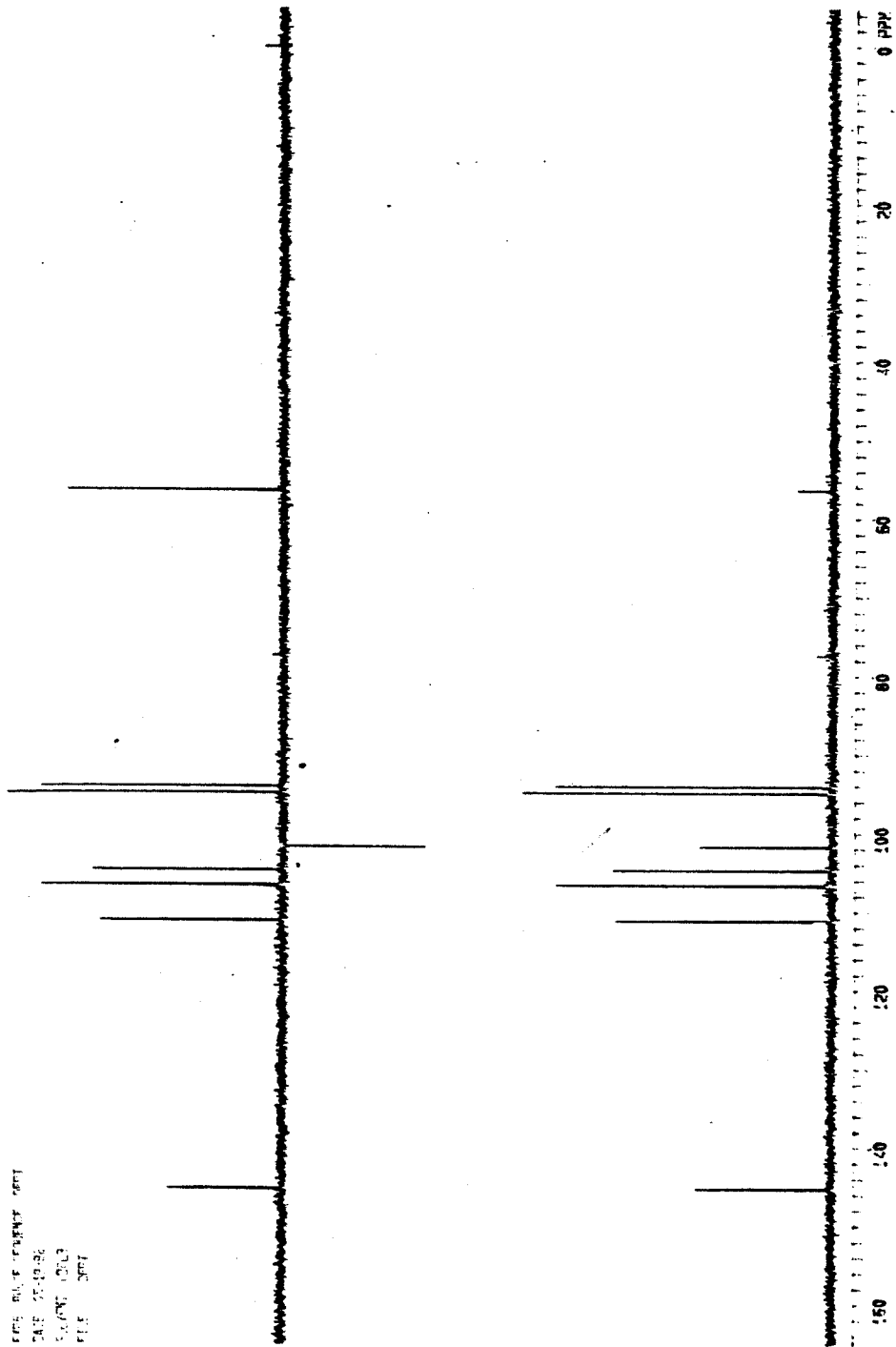
Espectro 47 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de benzo[1,2,b:5,4b']difurano, 2-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl) (14)



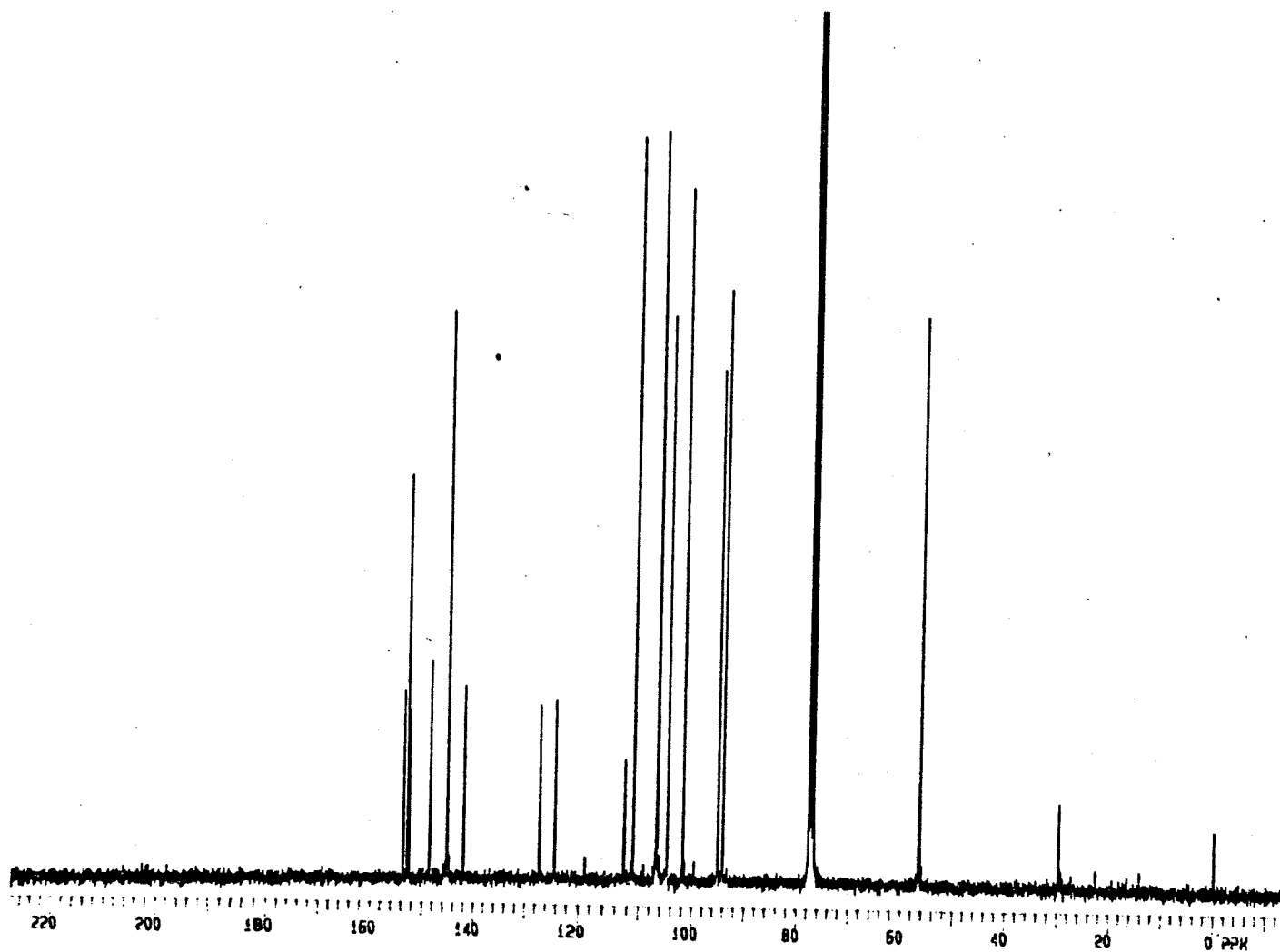
Expansões do espectro E.47 de 14

SUBJECT: NITE-741-11 600L3/TMS

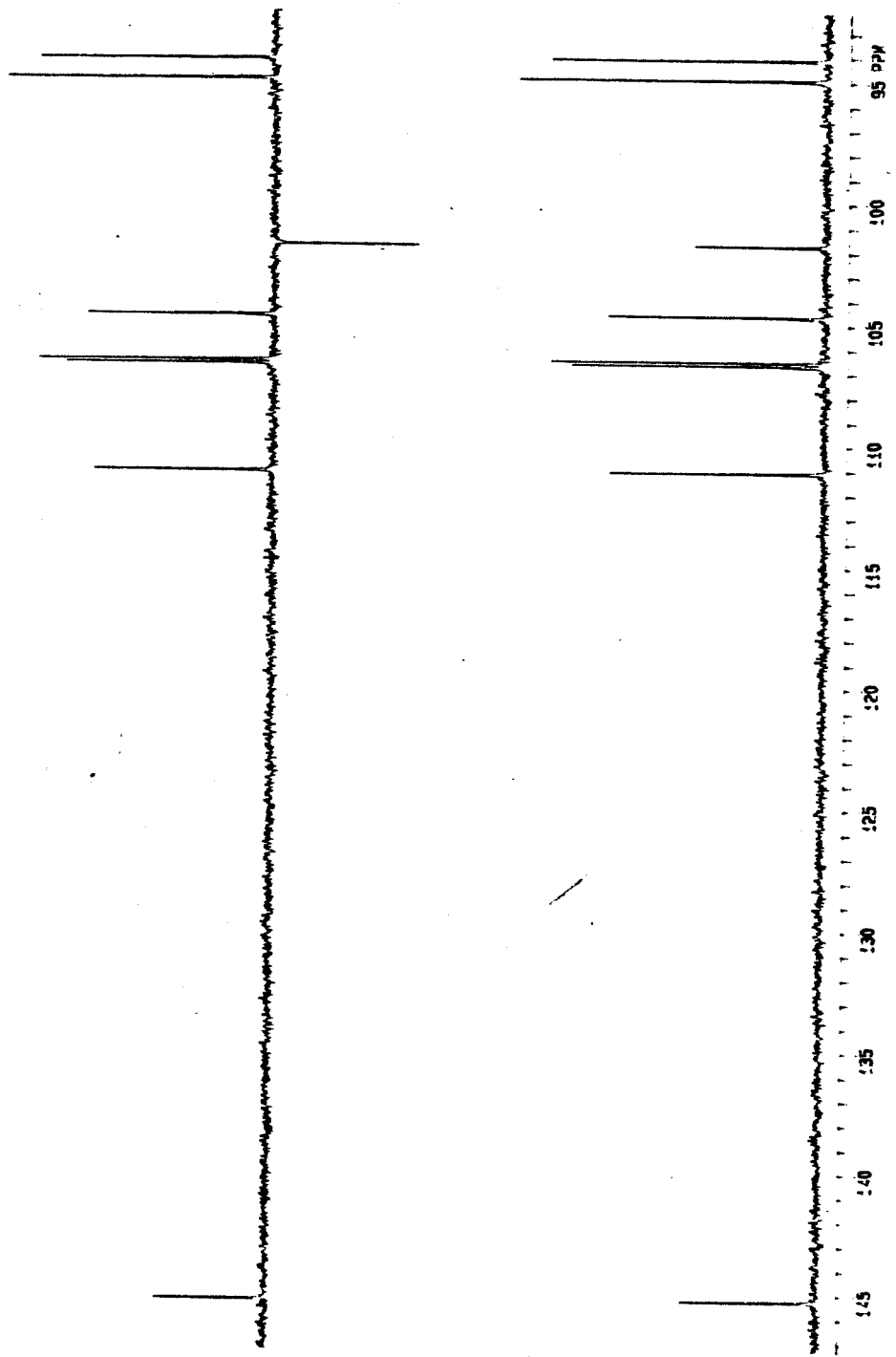
DATE: 01/15/82  
TIME: 12:00 PM  
FILE: 0001



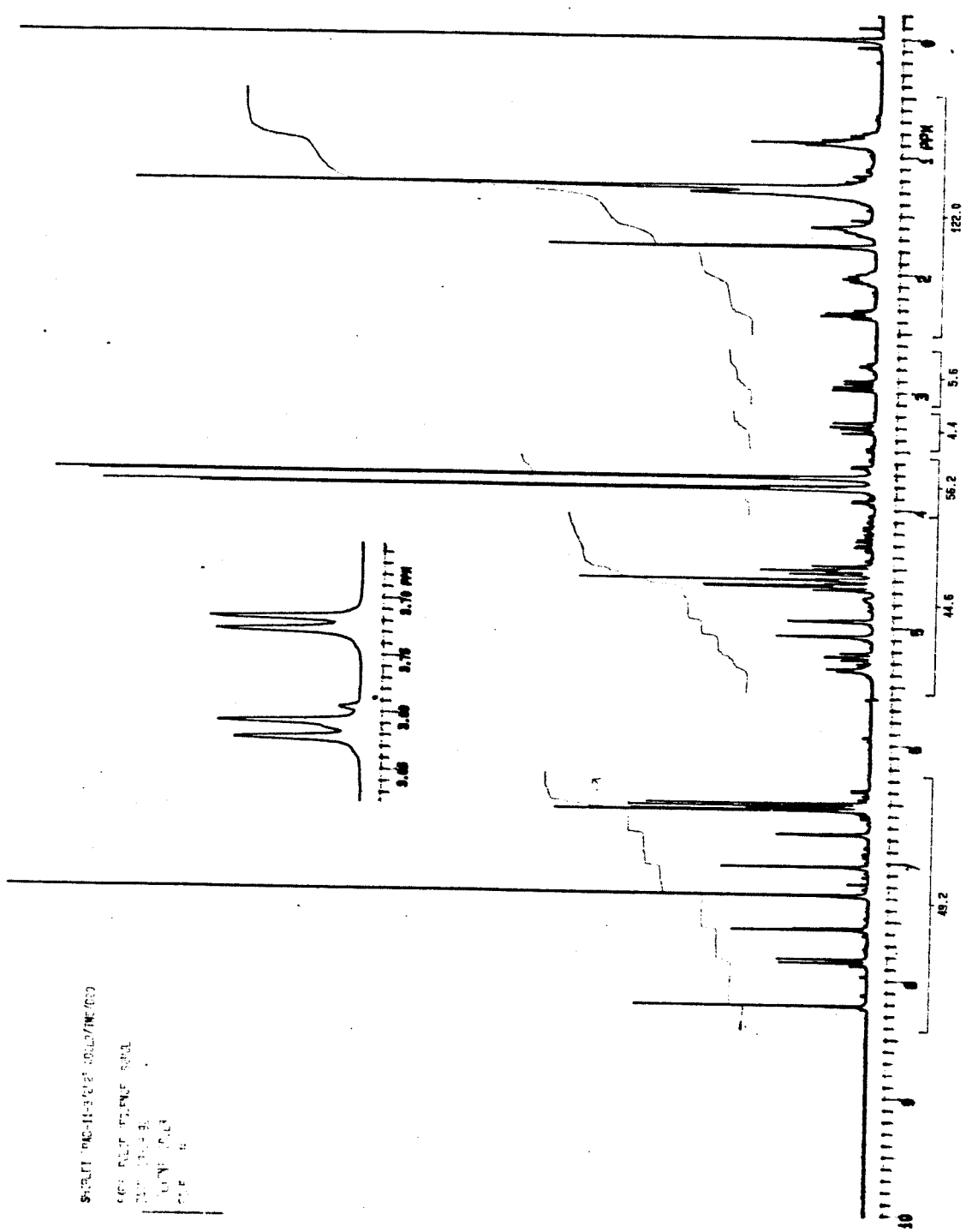
Espectro 48 - Espectro de DEPT de 14



Espectro 48 - RMN- $^{13}\text{C}$  (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de benzo[1,2,b:5,4b']difurano, 2-(6-metóxi-1,3-benzodioxol-5-yl) (14)

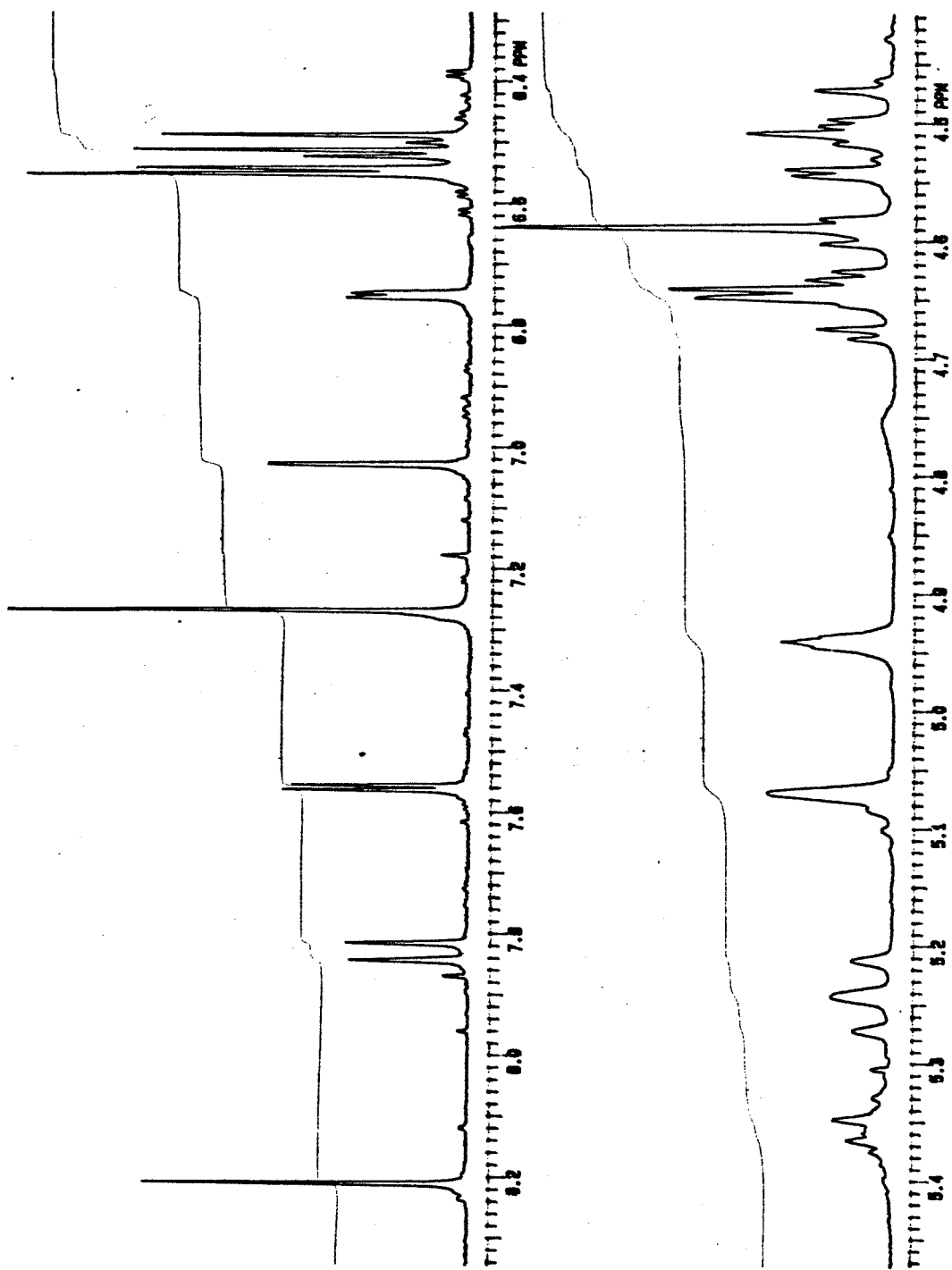


Expansões do espectro de DEPT de **14**



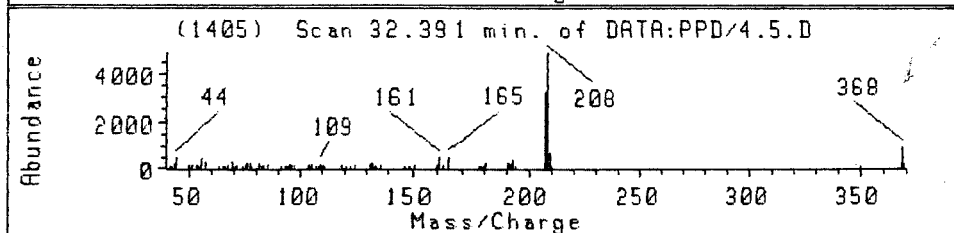
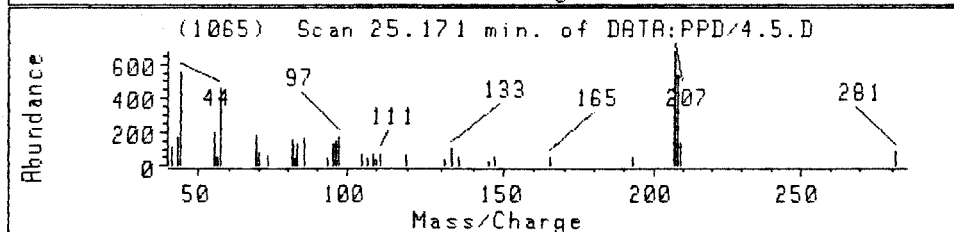
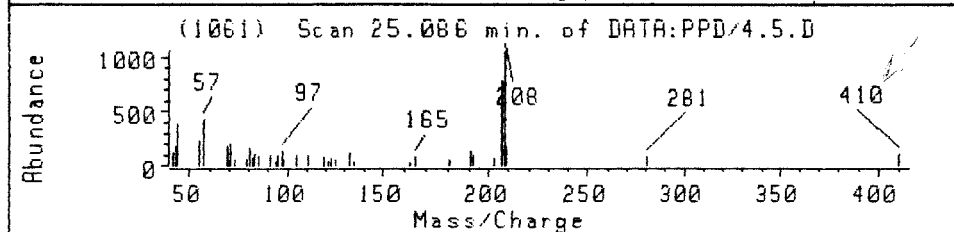
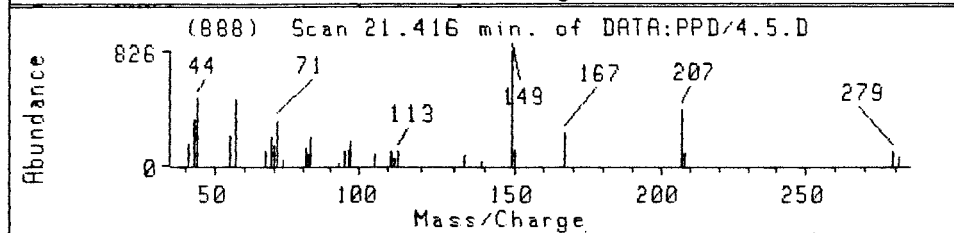
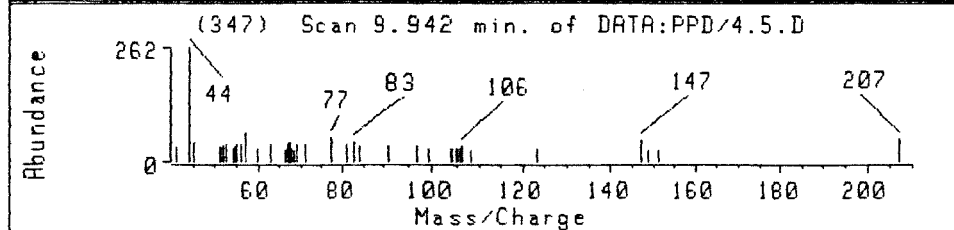
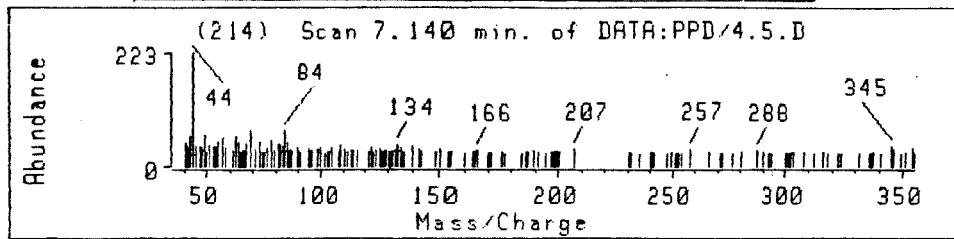
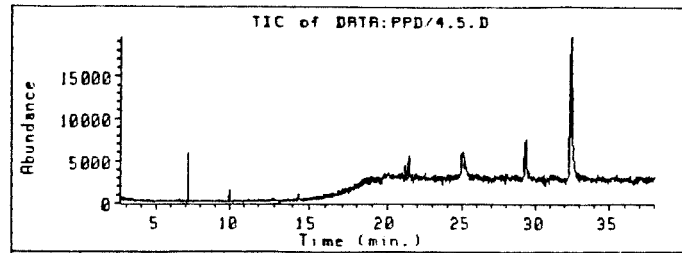
SPECTROSCOPIA DE RMN-1H  
 EM CDCl<sub>3</sub>  
 300 MHz  
 29.03.2015  
 12a-hidroxirosone (15)  
 12a-hidroxirosone (10)

Espectro 49 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 12a-hidróxiosona (15) e 12a-hidróxirotenona (10)

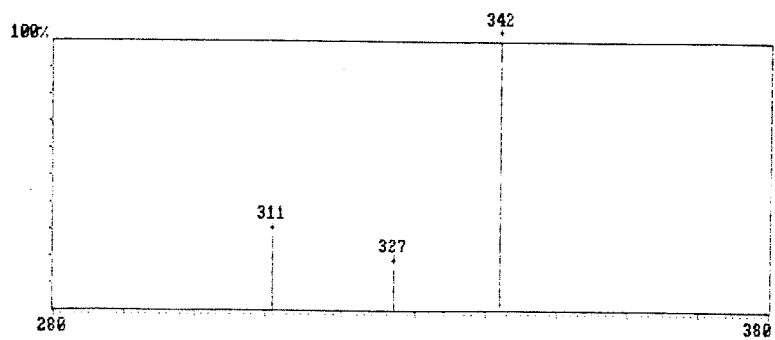


Expansões do espectro E.49 de 15 e 10





**Espectro 50 - CG-E.M. (70 eV) de 12a-hidróxierosona (15) e 12a-hidróxirottenona (10)**



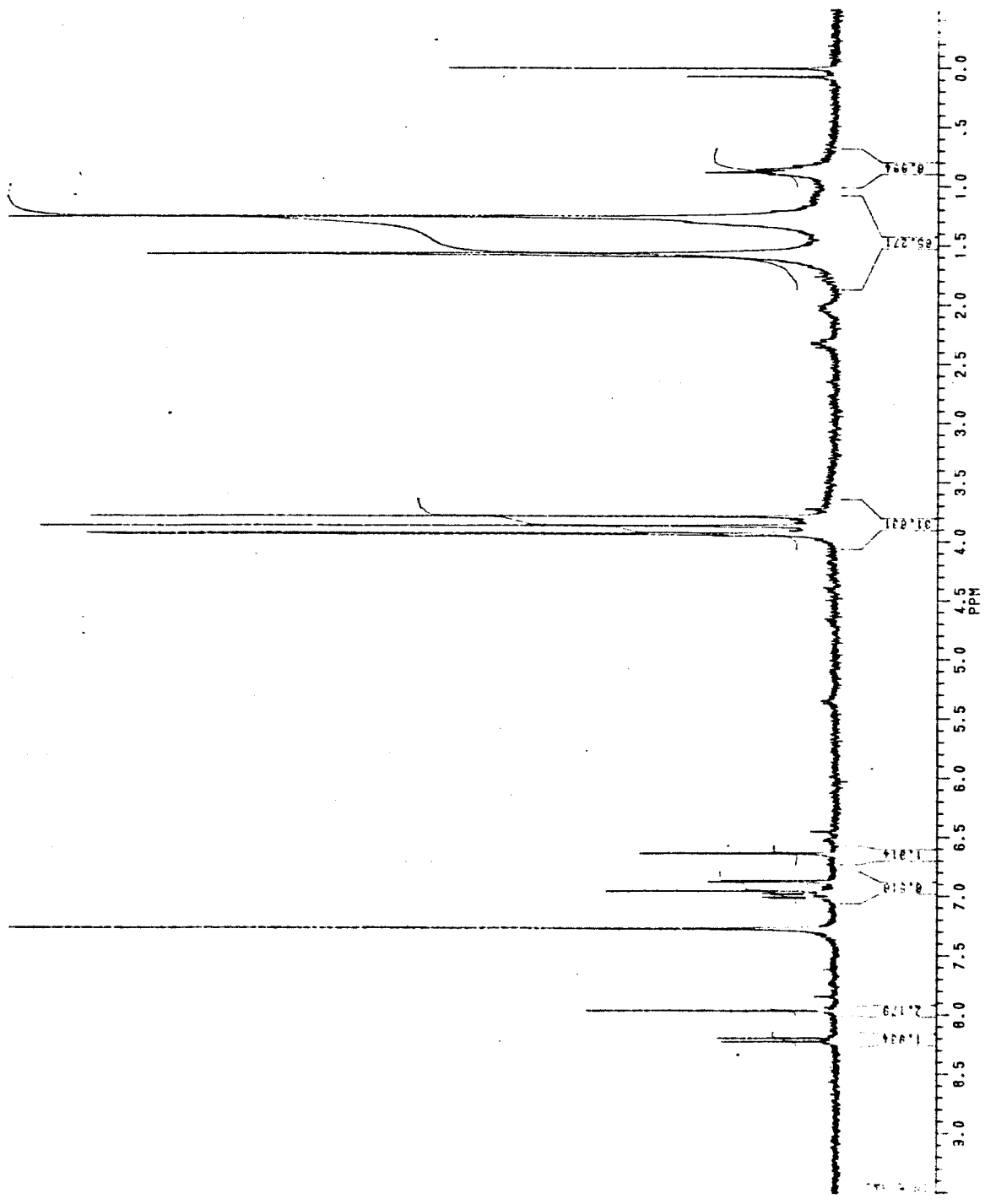
**Espectro de Massas**

Arquivo: avst12

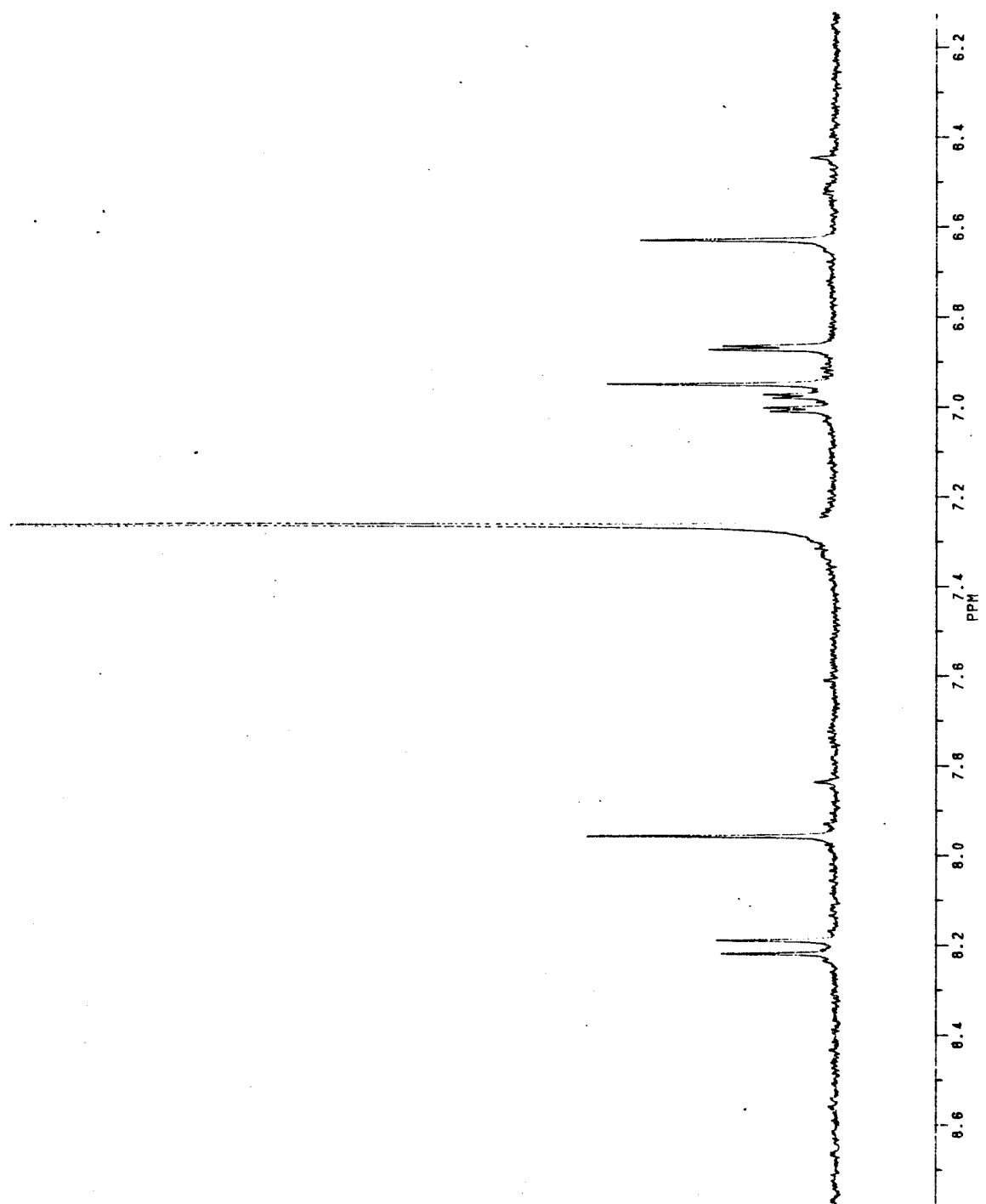
Relação dos picos

m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)	m/z	m/z	Intensidade(%)
342.00	342.0	100.00	327.00	327.0	15.00	311.00	311.0	27.00

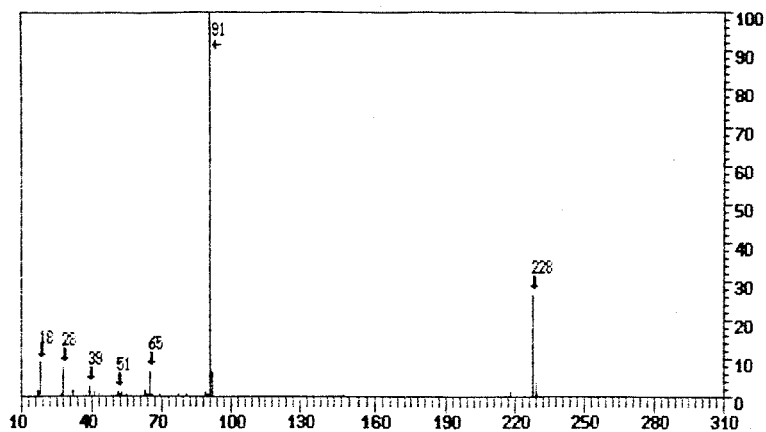
**Espectro 51 - E.M. (70 eV) de 7,2', 4', 5'-tetrametóxiisoflavona (16)**



Espectro 52 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 7,2',4',5'-tetrametóxisoflavona (16)



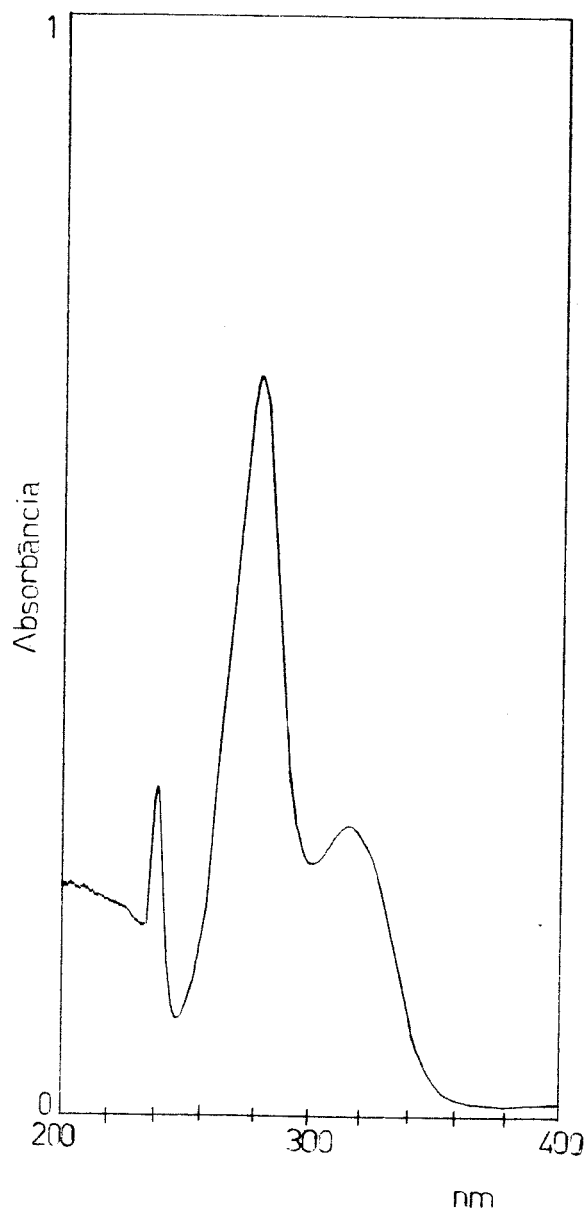
Expansões do espectro E.52 de 16



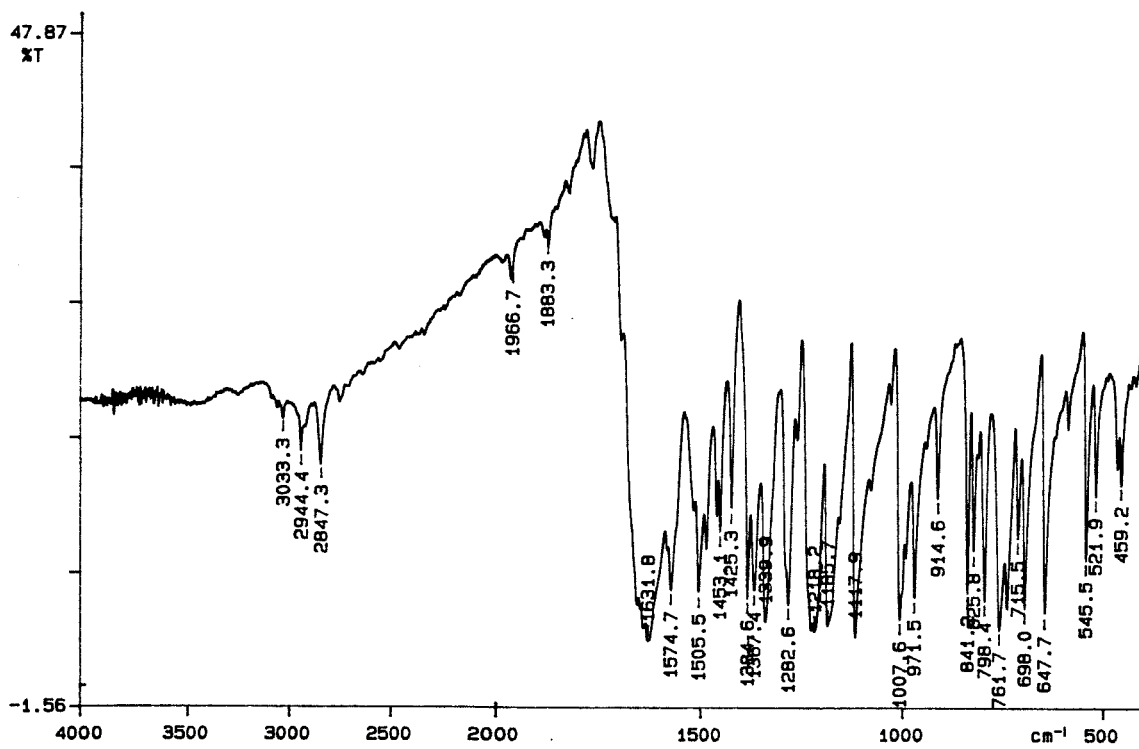
RELACAO DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
17	1.7	18	9.0	27	0.5	28	7.4	32	1.7	39	2.6	41	0.8
43	0.7	51	1.2	52	0.4	53	0.6	55	0.4	63	1.3	64	0.4
65	6.5	66	0.3	69	0.3	77	0.3	81	0.6	89	1.1	90	0.7
91	100.0	92	6.5	149	0.5	218	0.8	226	26.3	229	3.7	230	0.4

Espectro 1 - E.M. (70 eV) de 6-benzilóxi-2-hidróxibenzaldeído (120)



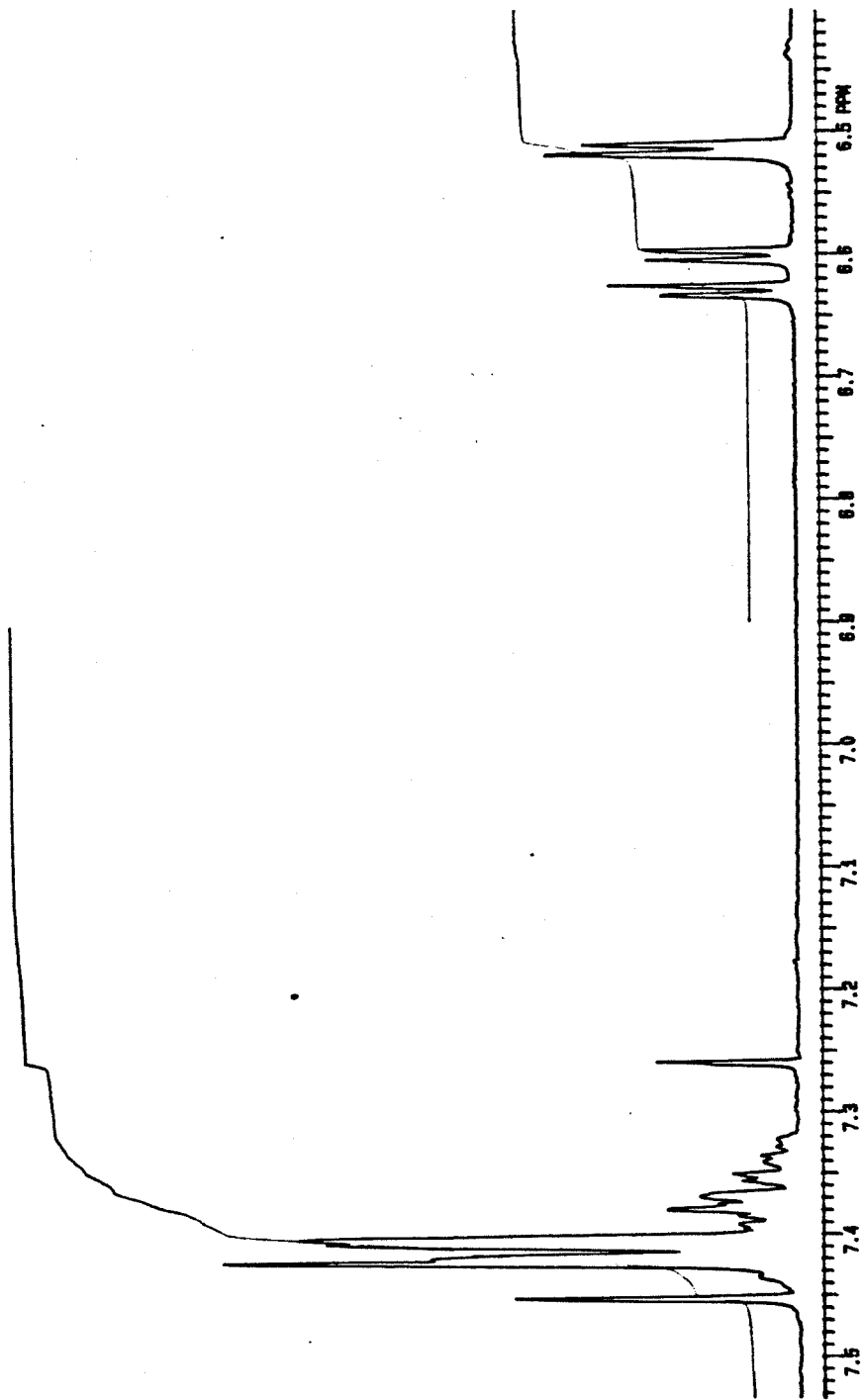
Espectro 2 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxi-2-hidróxibenzaldeído (**120**)



Espectro 3 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de 6-benzilóxi-2-hidróxibenzaldeído (120)

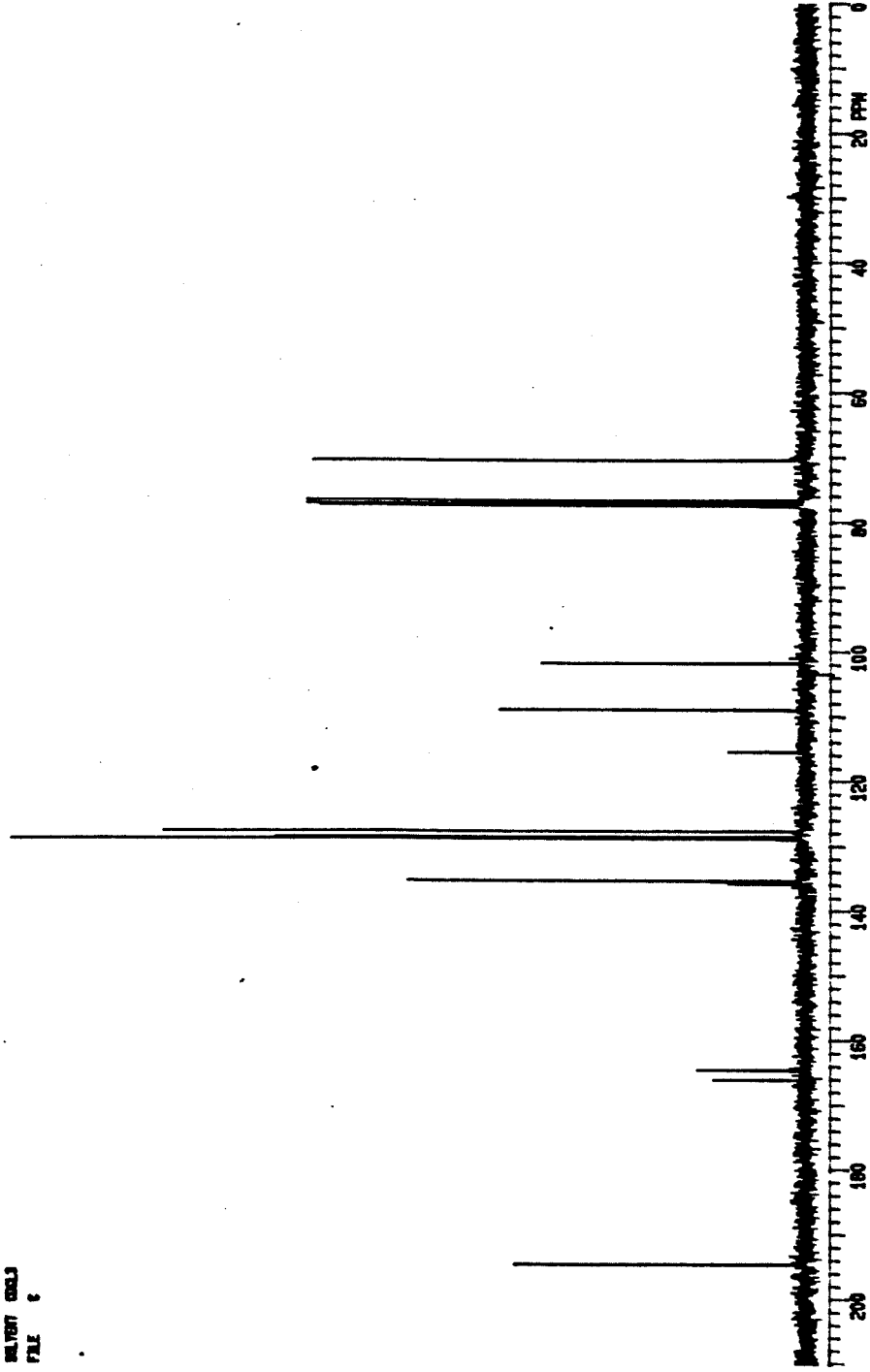




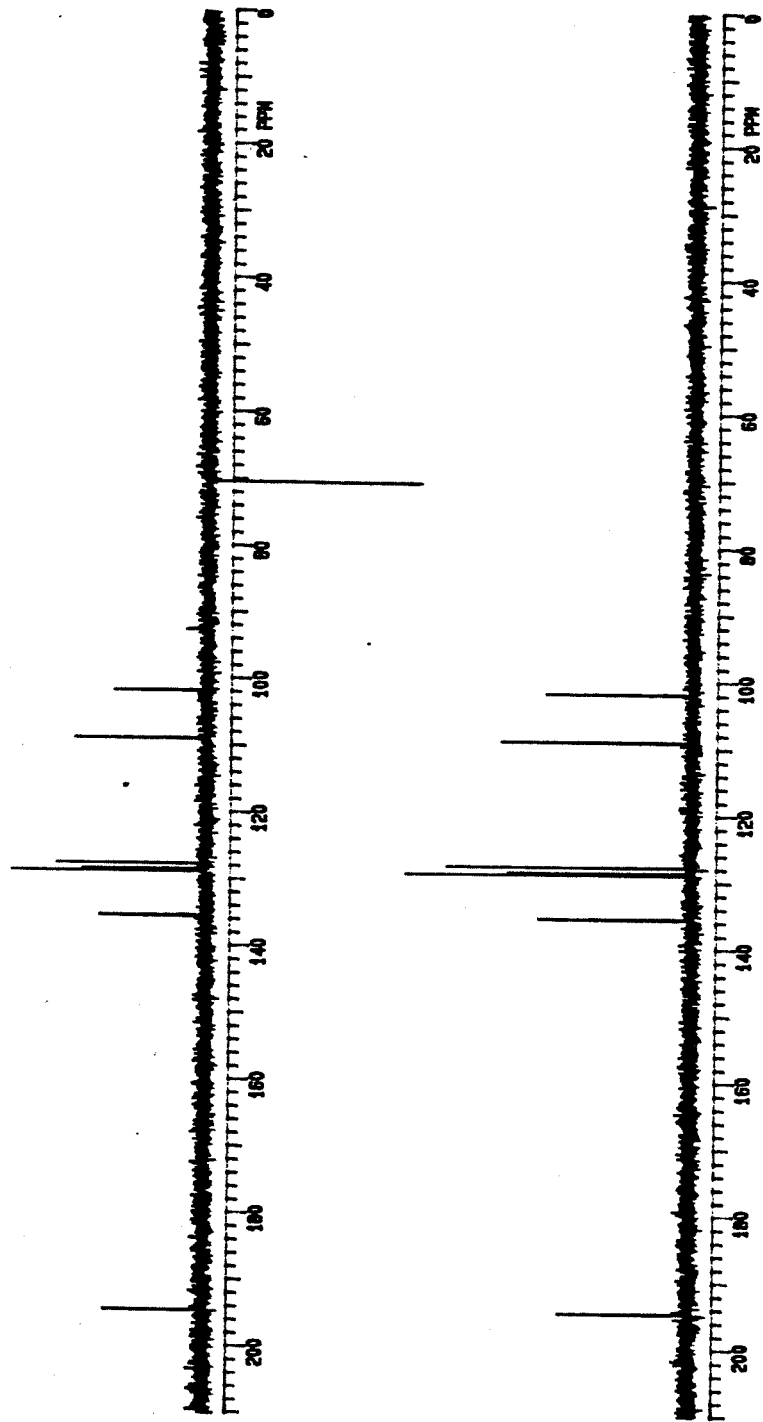


Expansões do espectro E. 4 de 120

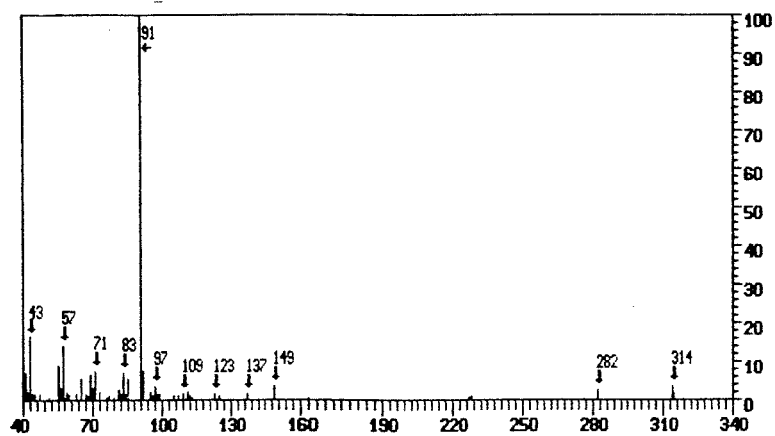
CPM PULS RECORDED 8074  
DATE 02-04-64  
SOLVENT CDCl<sub>3</sub>  
FILE 6



Espectro 5 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz CDCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxi-2-hidróxibenzaldeído (120)



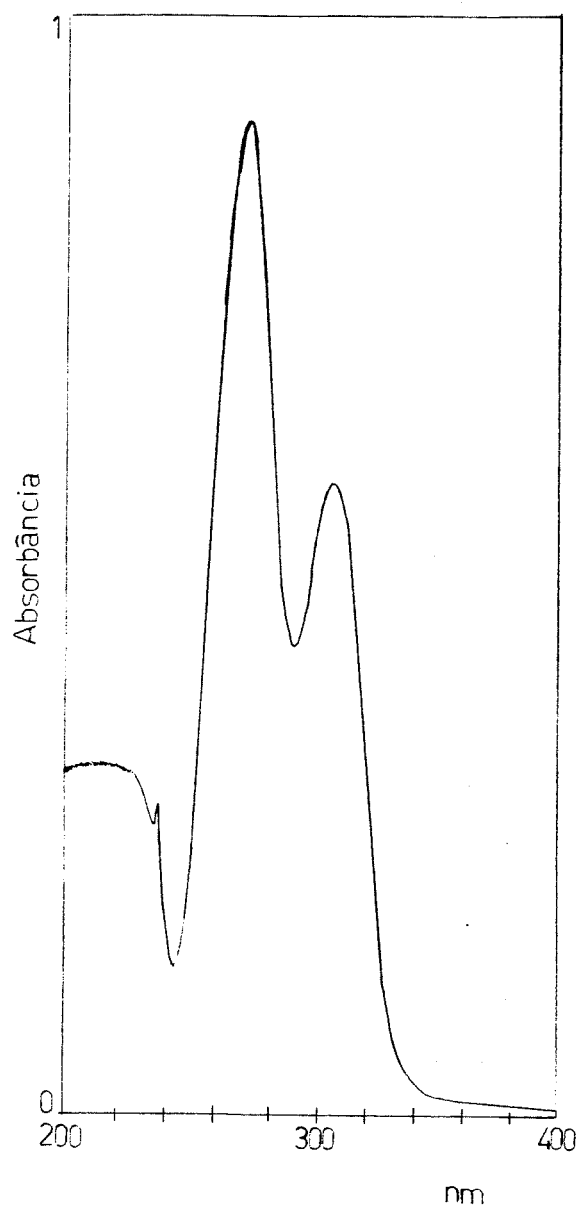
Espectro 5 - Espectro de DEPT do composto 120



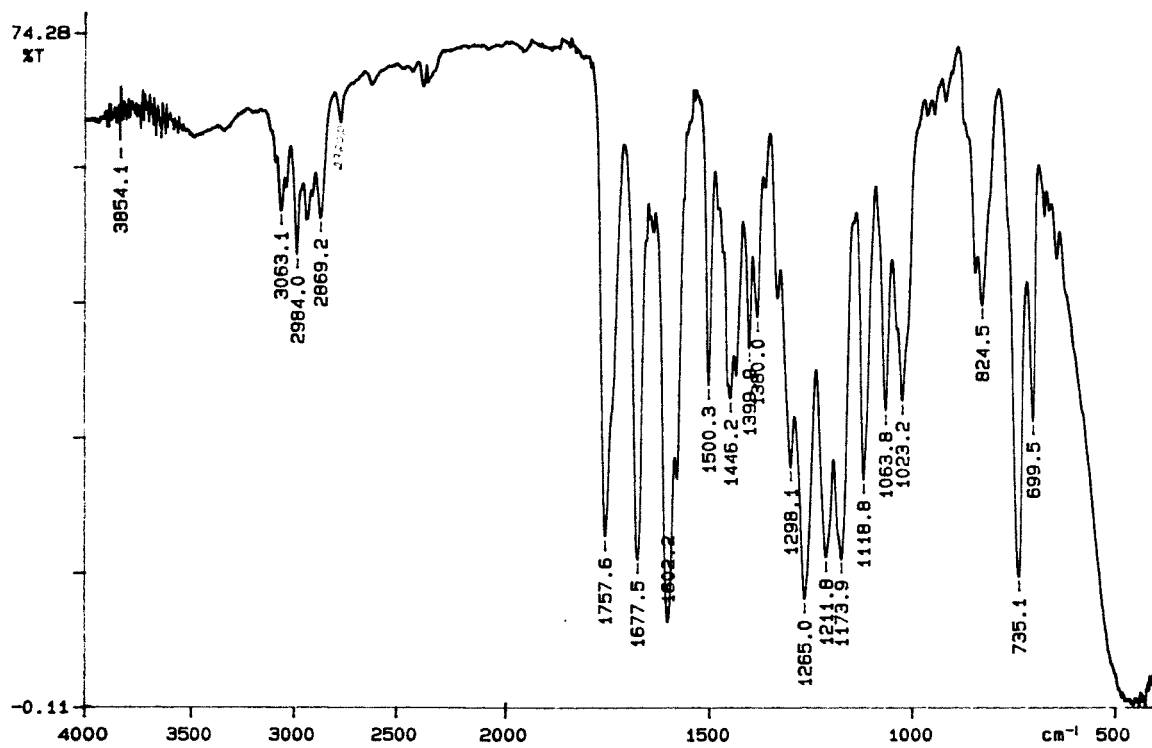
RELACAO DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
41	6.8	42	2.2	43	16.5	44	1.7	45	1.5	47	1.5	51	0.7
55	8.9	56	3.0	57	13.9	58	0.6	59	1.8	60	1.7	63	1.4
65	5.4	67	1.7	68	0.8	69	6.6	70	3.0	71	7.7	73	2.0
76	0.6	77	1.0	79	0.6	81	2.5	82	1.6	83	6.8	84	1.6
85	5.3	91	100.0	92	7.5	95	2.0	96	1.0	97	3.7	96	1.4
99	1.4	105	1.1	107	1.1	109	1.6	111	1.9	112	0.9	113	0.7
123	1.4	125	0.9	137	1.5	149	3.3	163	0.7	227	0.7	228	0.8
282	2.5	314	3.7	315	1.6								

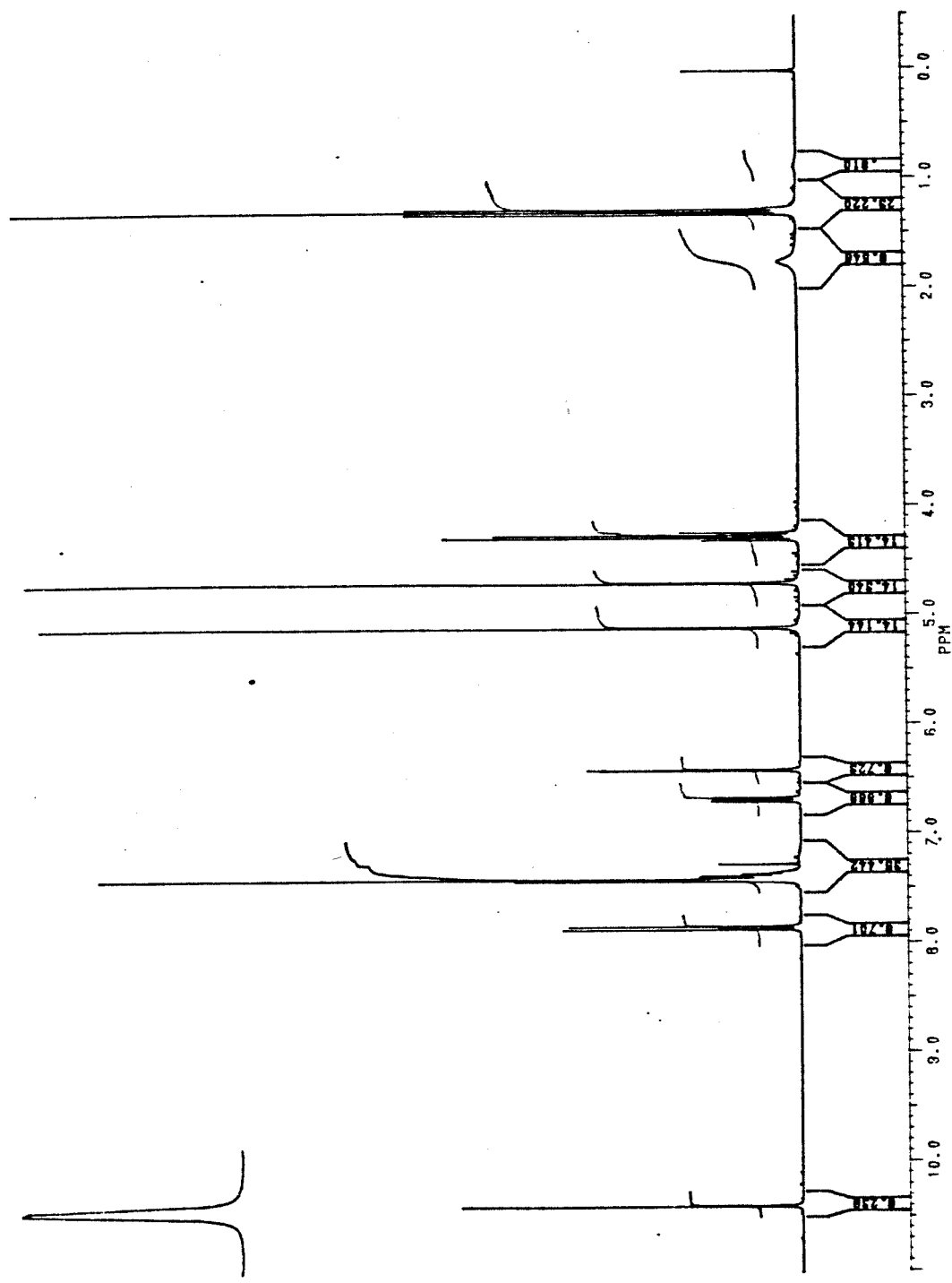
Espectro 6 - E.M. (70 eV) de 6-benzilóxi-2-fenóxiacetatobenzaldeído (121)



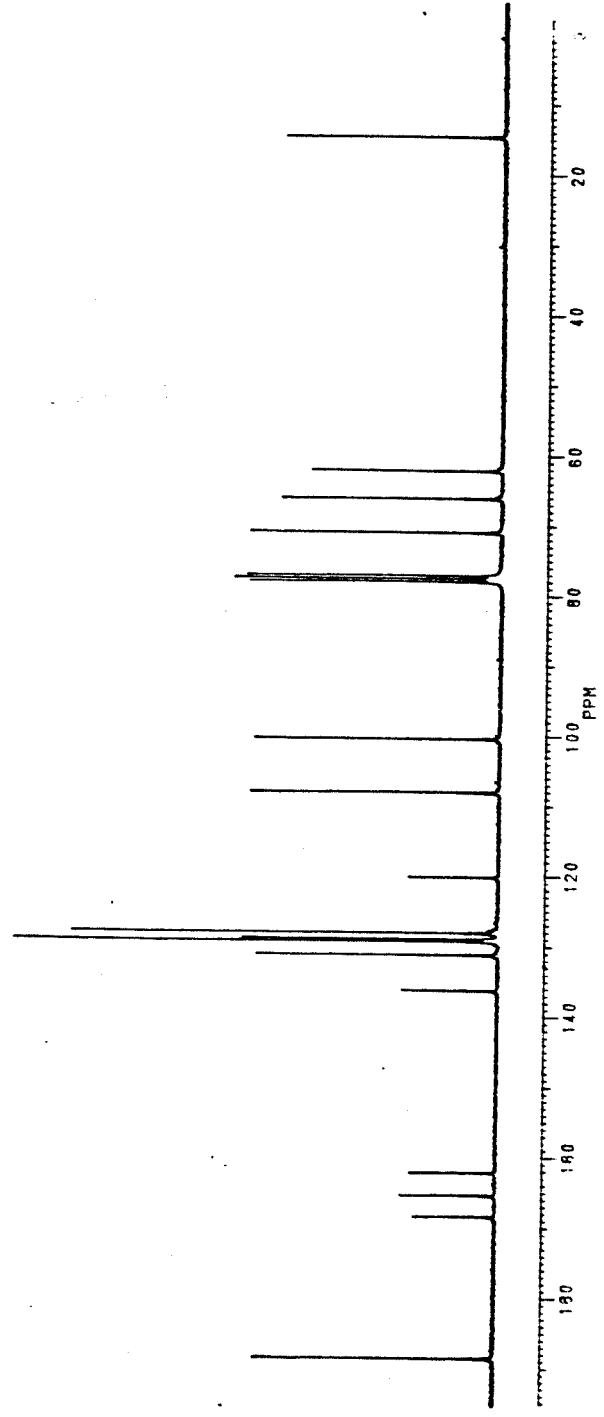
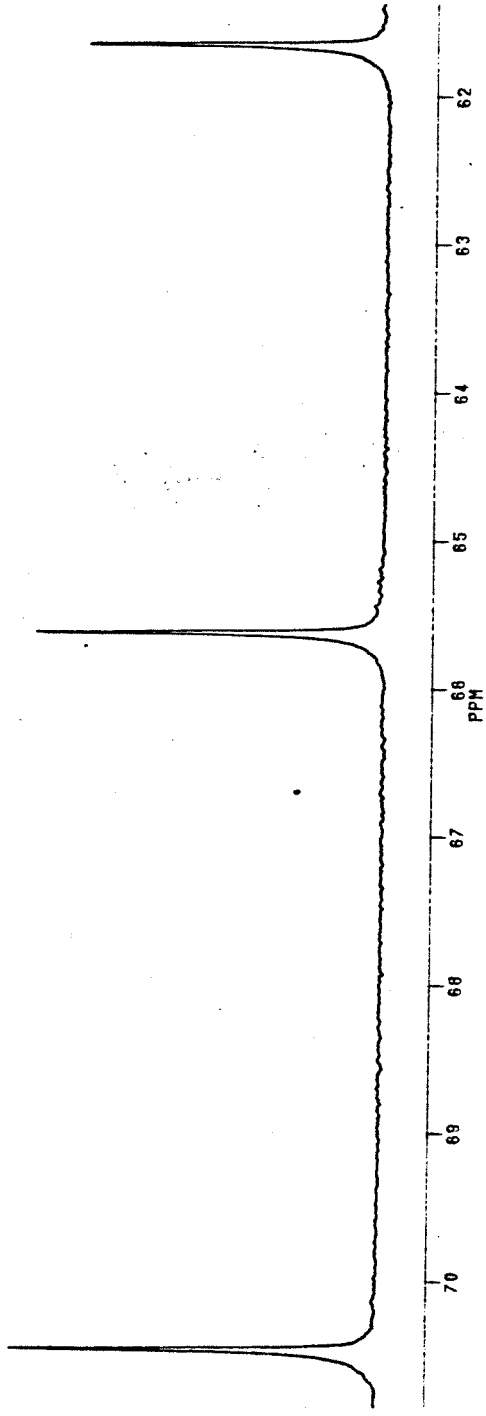
Espectro 7 - U.V. ( $\text{CHCl}_3$ ) de 6-benzilóxi-2-fenóxiacetatobenzaldeído (121)



Espectro 8 - I.V. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) de 6-benzilóxi-2-fenóxiacetatobenzaldeído (121)

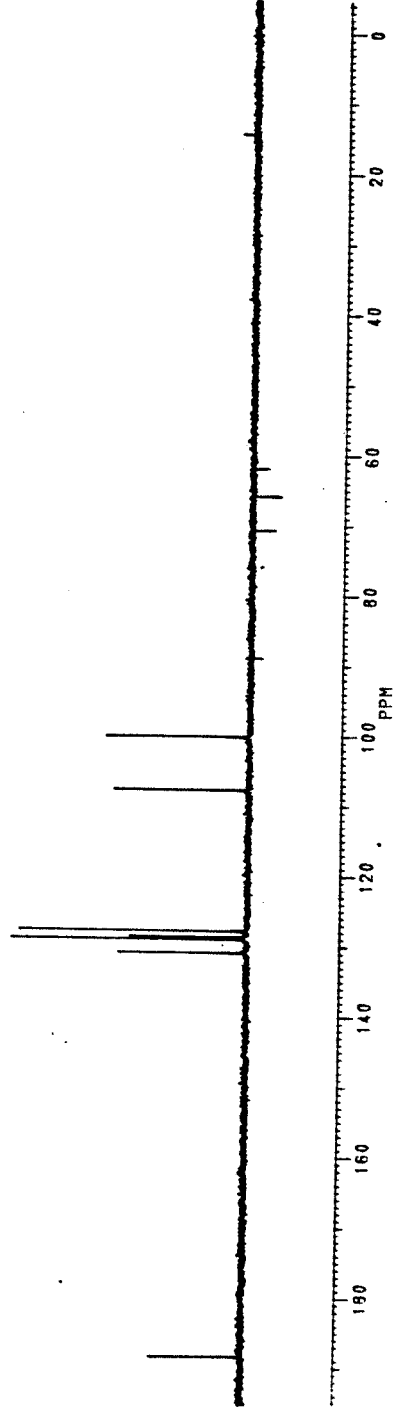
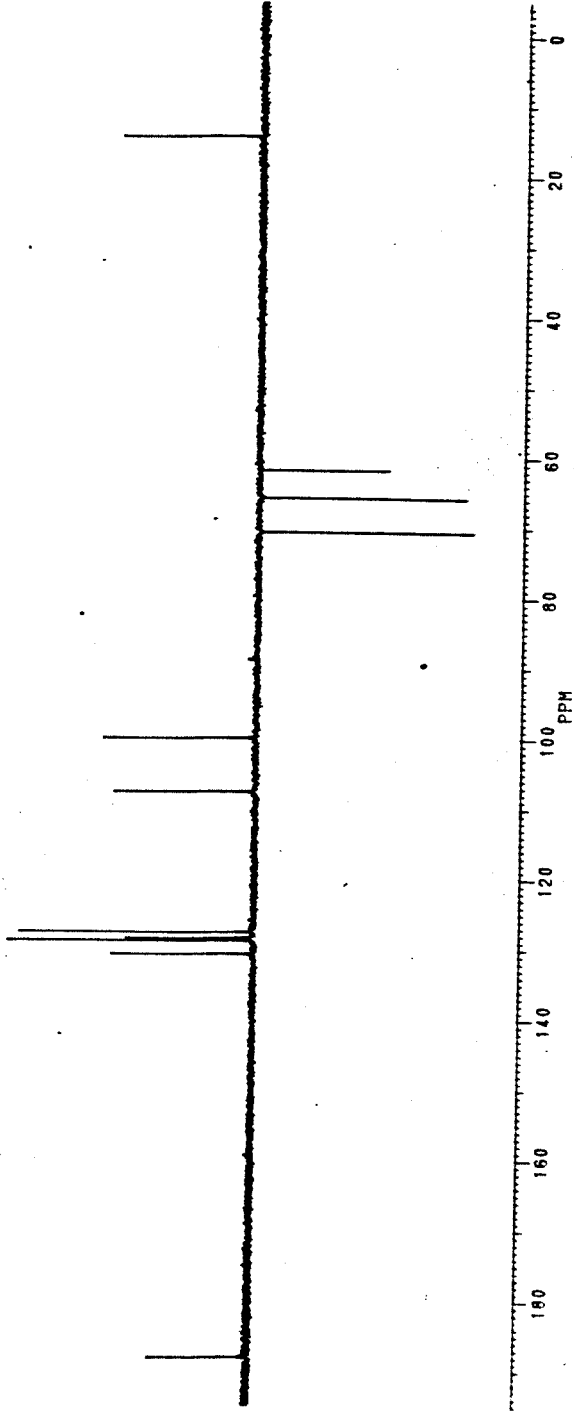


Espectro 9 - RMN-1H (300 MHz CDCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxi-2-fenóxiacetatobenzaldeído (121)



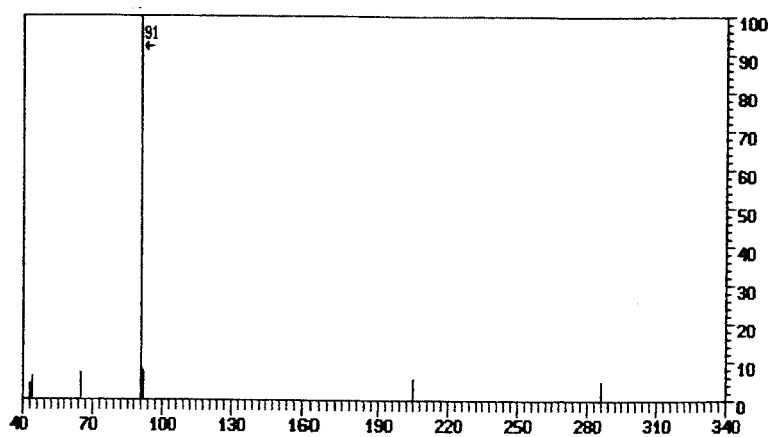
Espectro 10 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz CDCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxi-2-fenóxiacetato benzaldeído (121)





Espectro 10 - Espectro de DEPT do produto 121

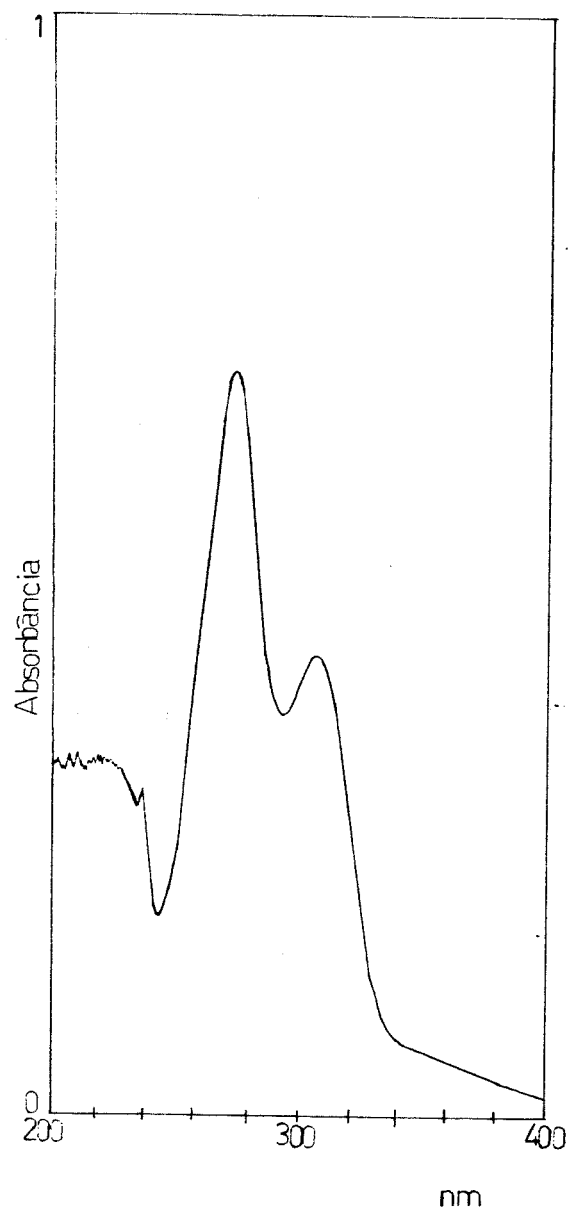




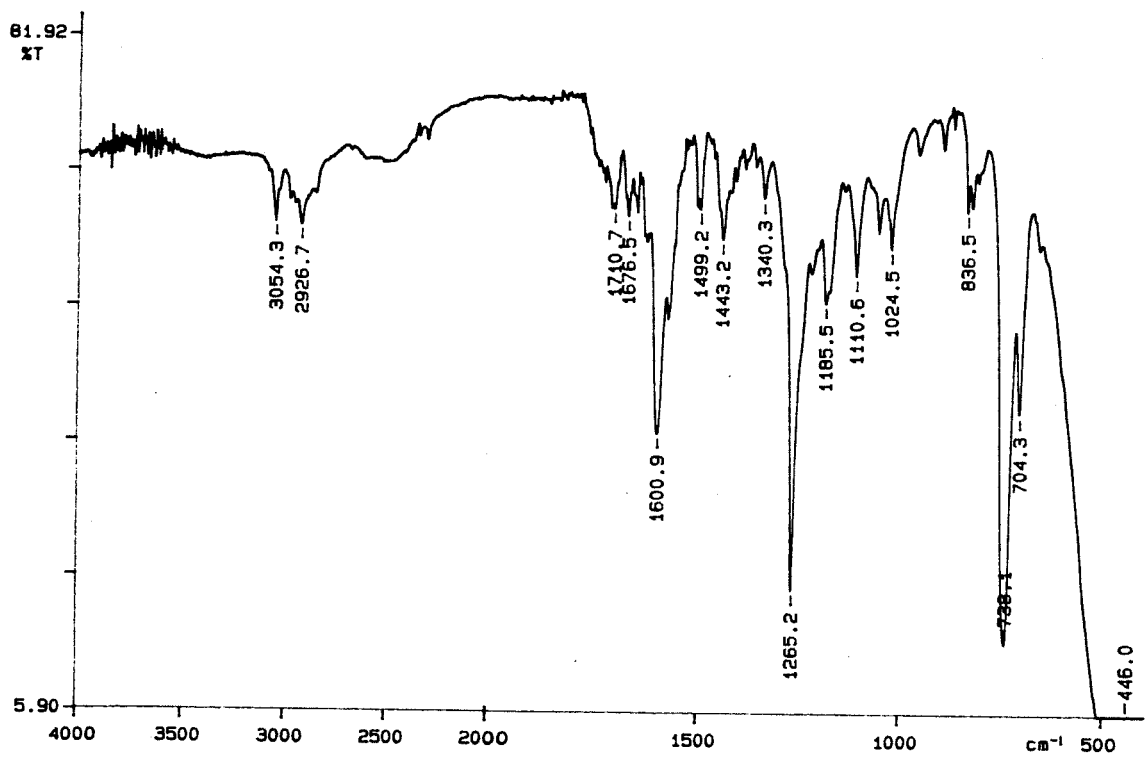
RELACAO DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
43	4.1	44	6.2	65	6.9	91	100.0	92	7.3	205	5.5	286	4.9

Espectro 11 - E.M. (70 eV) de ácido 6-benzilóxi-2-fenóxiacético benzaldeído (122)

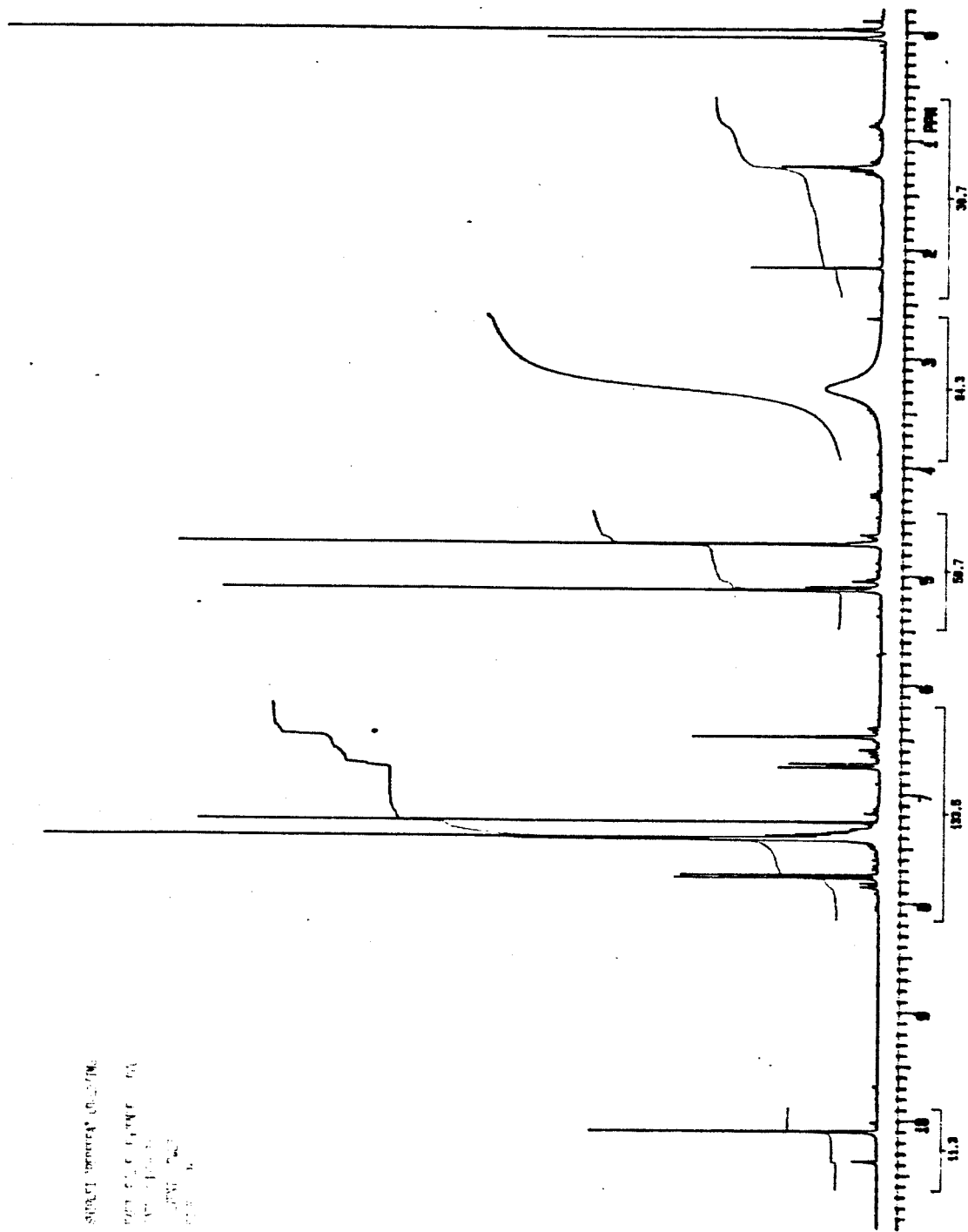


Espectro 12 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de ácido 6-benzilóxi-2-fenóxiacético benzaldeído (122)



Espectro 13 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de ácido 6-benzilóxi-2-fenóxiacético benzaldeído (122)

30031300004 00.00716  
0000 00.00000 00  
0000 00.00000 00  
0000 00.00000 00  
0000 00.00000 00



Espectro 14 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de ácido 6-benzilóxi-2-fenóxiacético benzaldeído (122)

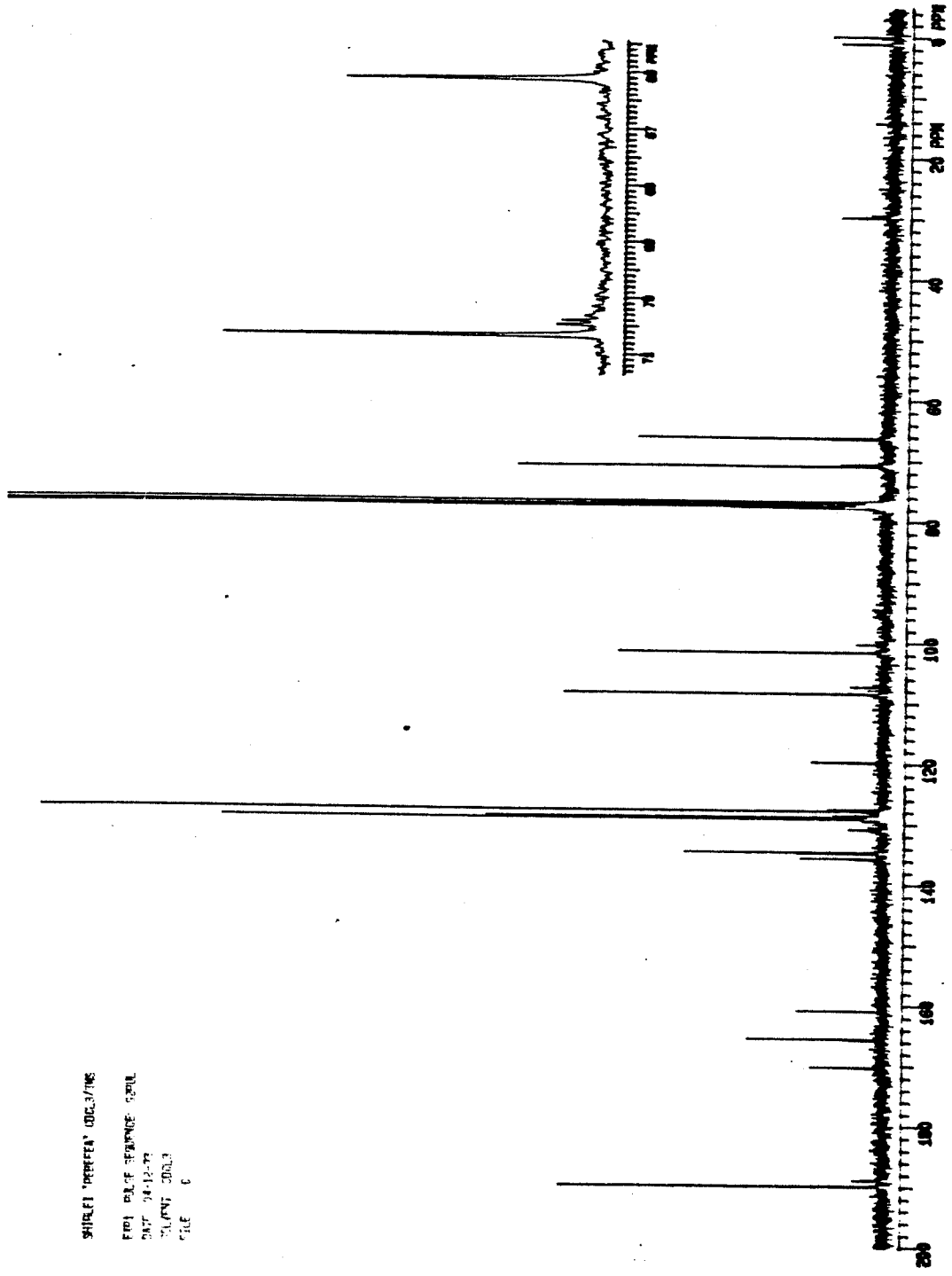
SHIMADZU 'PREFEER' 0003/7MS

F101 P115 F8R00000 0201

DATE 04-12-77

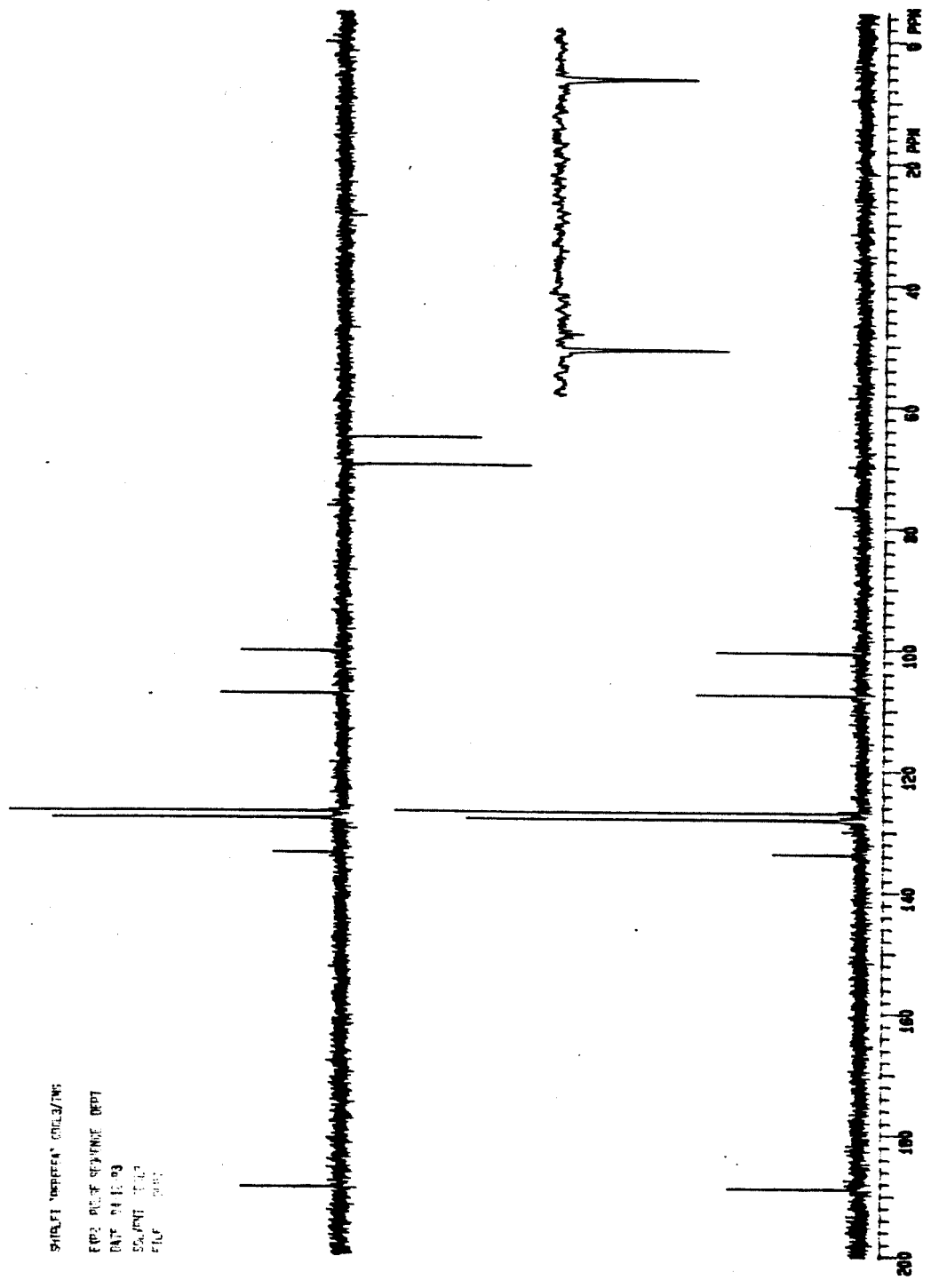
SOLVENT CDCl3

FILE 6



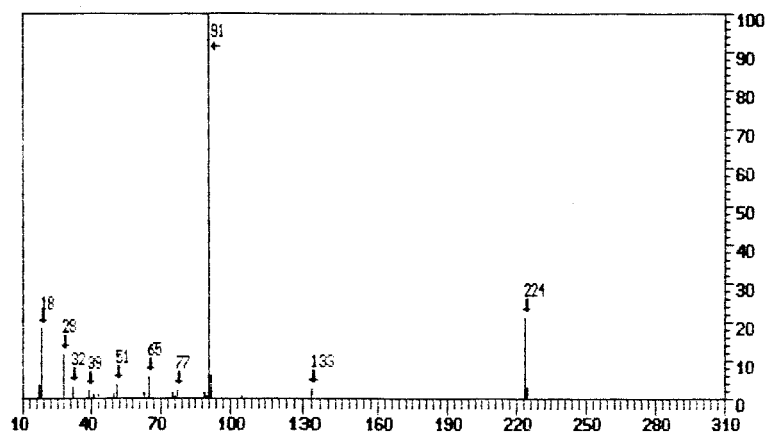
Espectro 15 - RMN-<sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de ácido 6-benzilóxi-2-fenóxiacético benzaldeído (122)

SHIMADZU VERTEX 400/125  
F102 P10CF 06/10/03 DEPT  
DATE 04/10/03  
SOLVENT CDCl<sub>3</sub>  
F10F 0000



Espectro 15 - Espectro de DEPT do produto 122





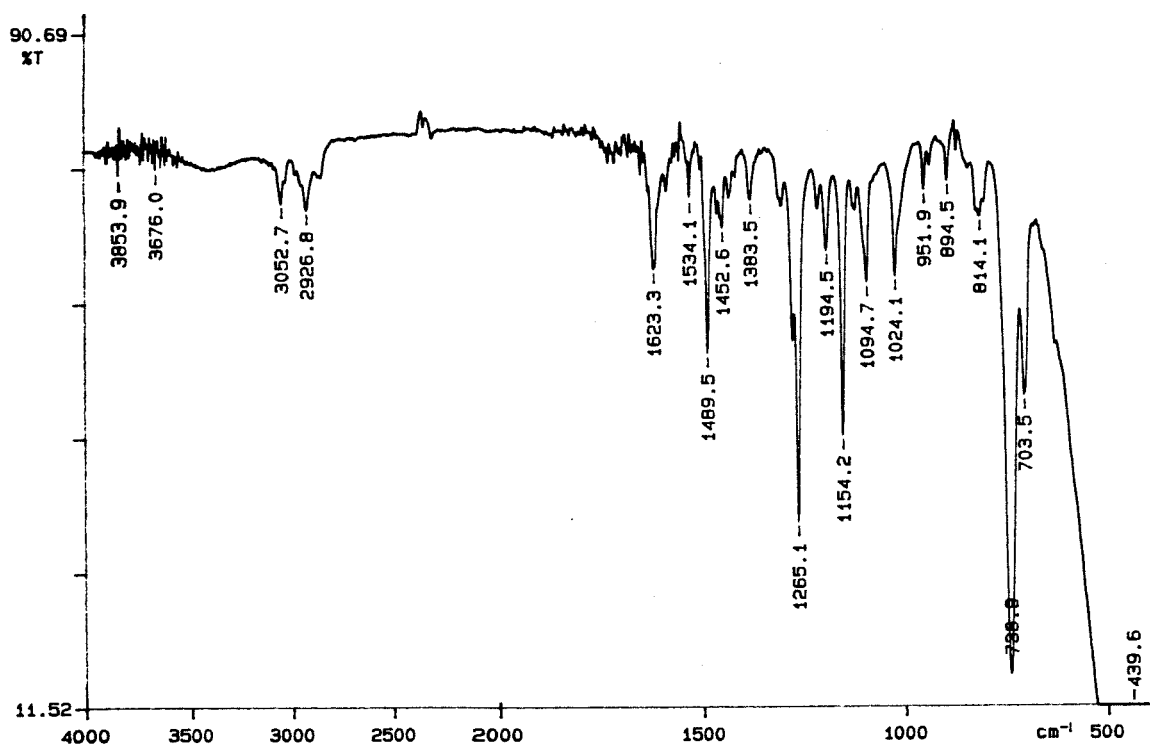
RELACAD DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
17	3.4	18	18.7	28	11.6	32	2.9	39	1.9	41	0.8	43	1.2
50	0.9	51	3.3	63	1.6	65	5.5	75	1.3	76	0.5	77	2.2
85	1.4	90	0.4	91	100.0	92	6.2	105	0.7	133	2.5	224	21.2
225	3.2												

Espectro 16 - E.M. (70 eV) de 6-benzilóxicumarona (123)

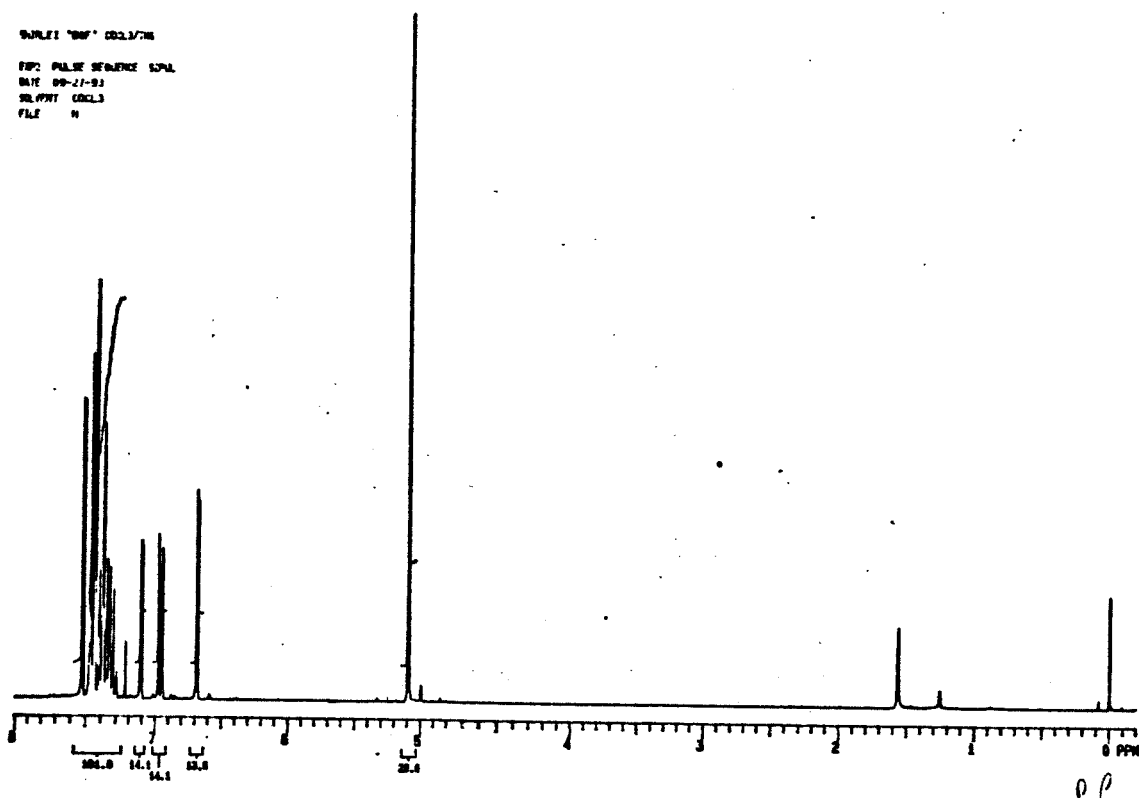


Espectro 17 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxicumarona (123)

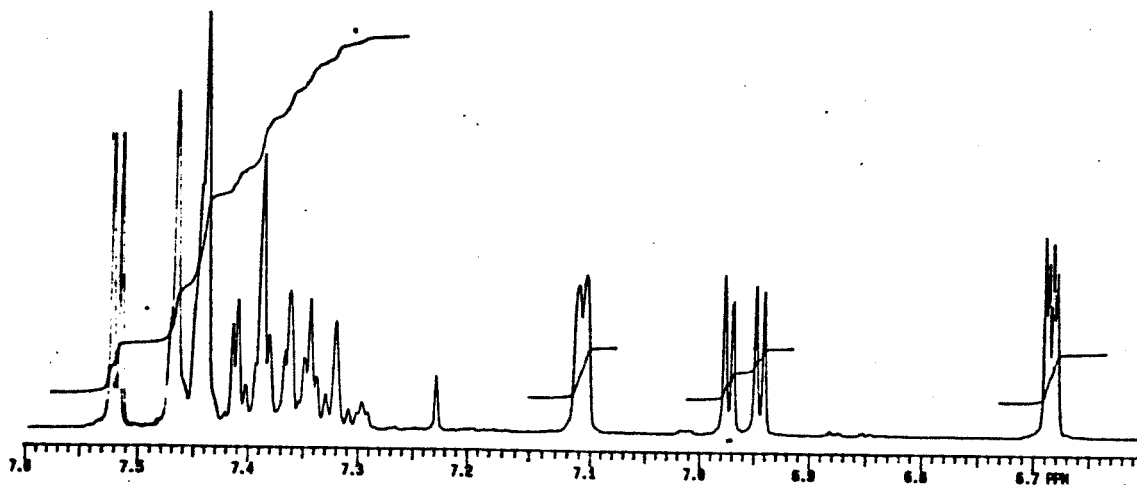


Espectro 18 - I.V. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) de 6-benzilóxicumarona (123)

UNILEI 10001 COL3/76  
PPI: PULSE SEQUENCE 10PA  
DATE 09-21-93  
SOLVENT CDCL3  
FILE 11



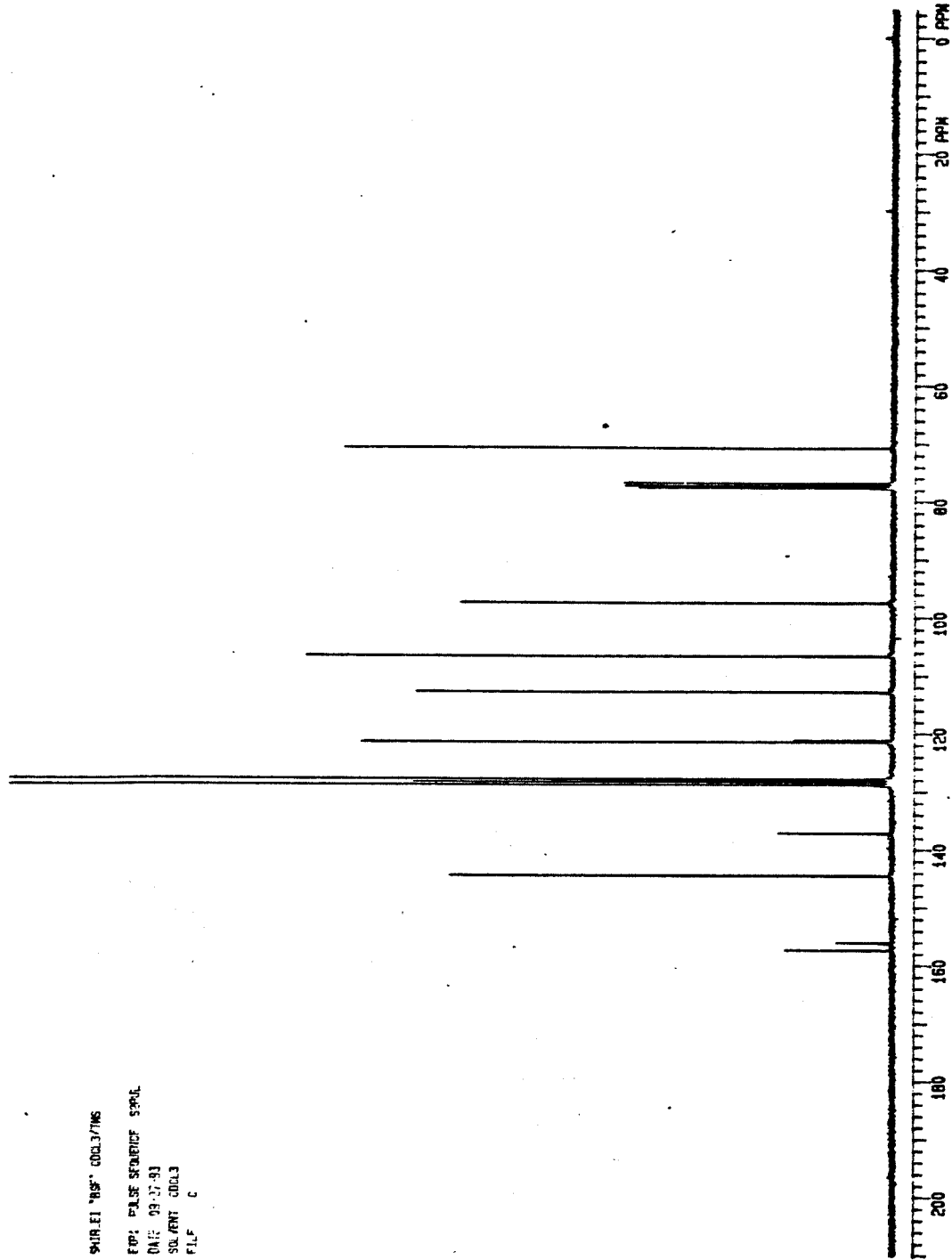
Espectro 19 - RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxicumarona (123)



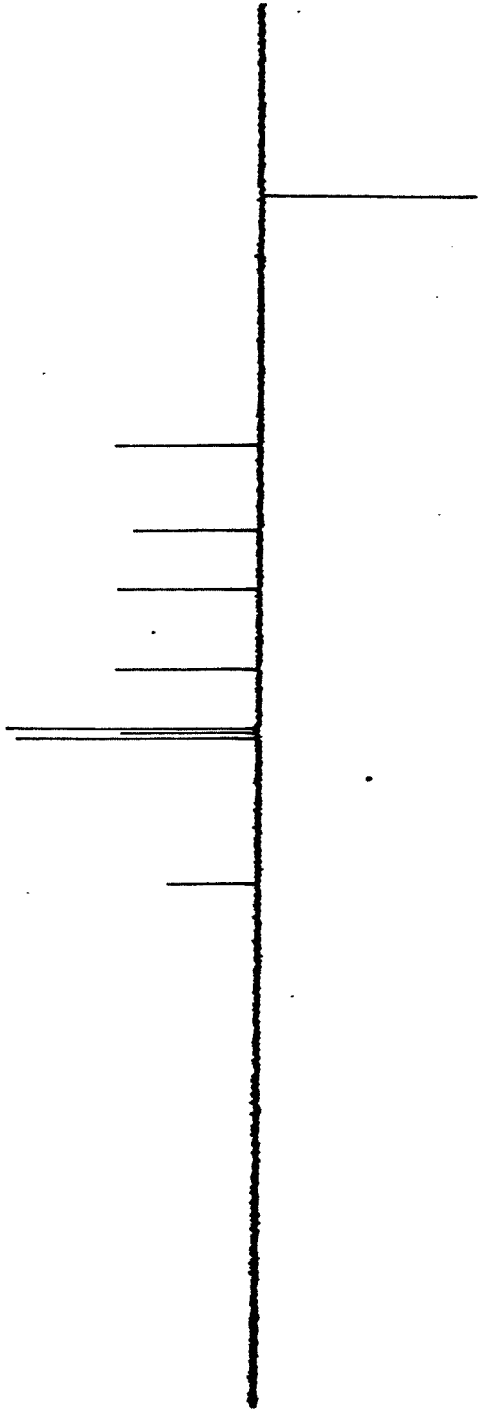
Expansões do espectro E.19 de 123

SMR.EI "B9F" CDCL3/7MS

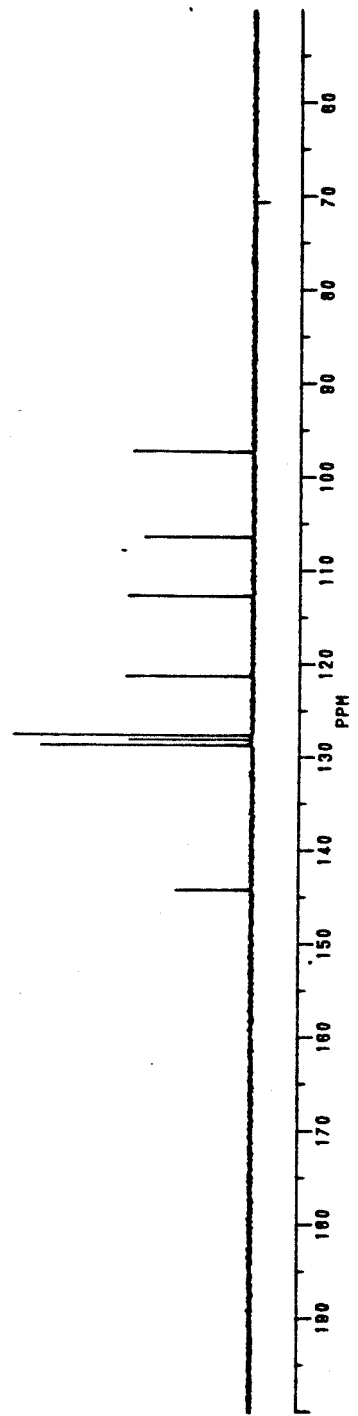
EXP: PULSE SEQUENCE SPUL  
DATE: 09-07-81  
SOLVENT: CDCL3  
FILF: C



Espectro 20 - RMN-<sup>13</sup>C (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxicumarona (123)

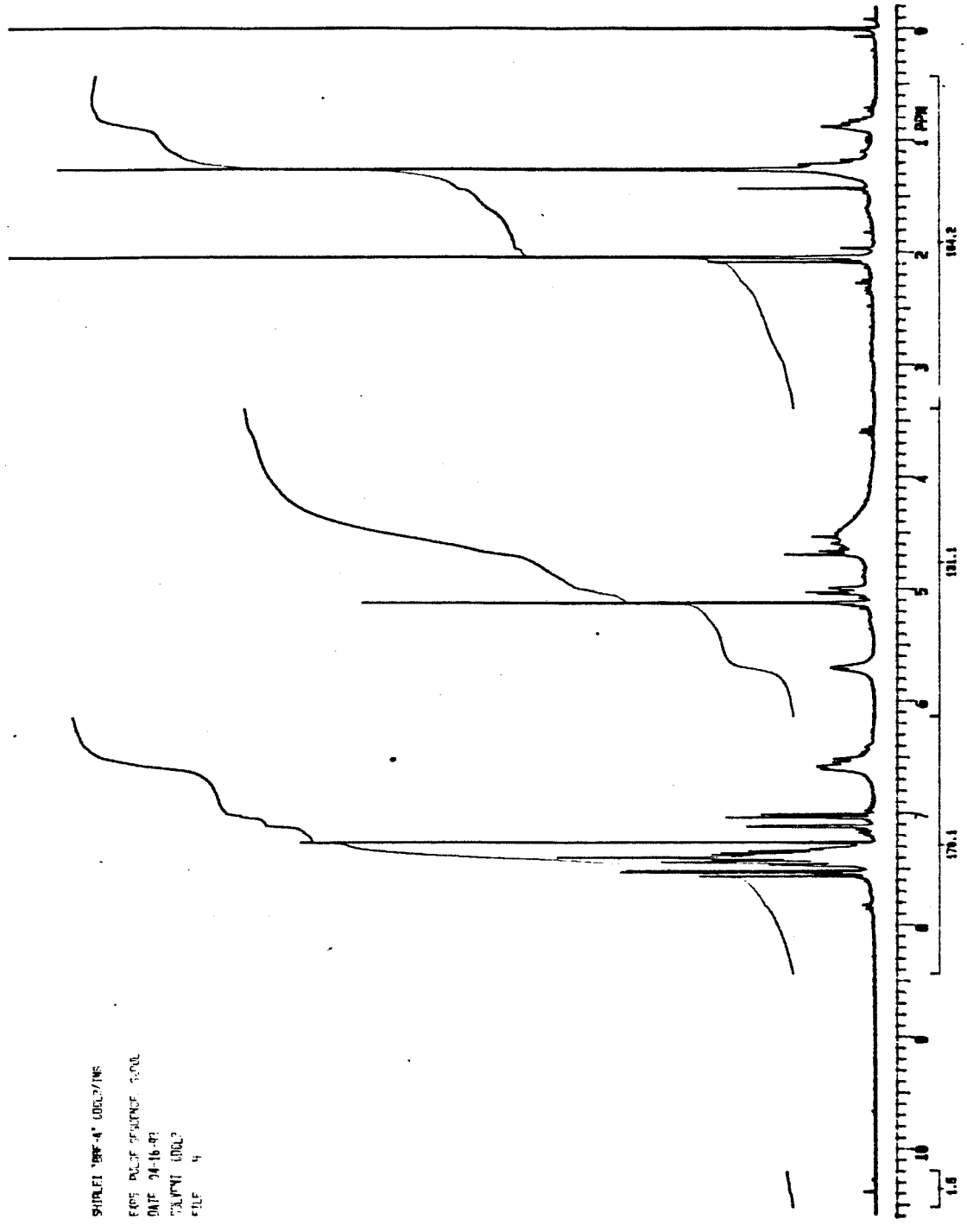


D80

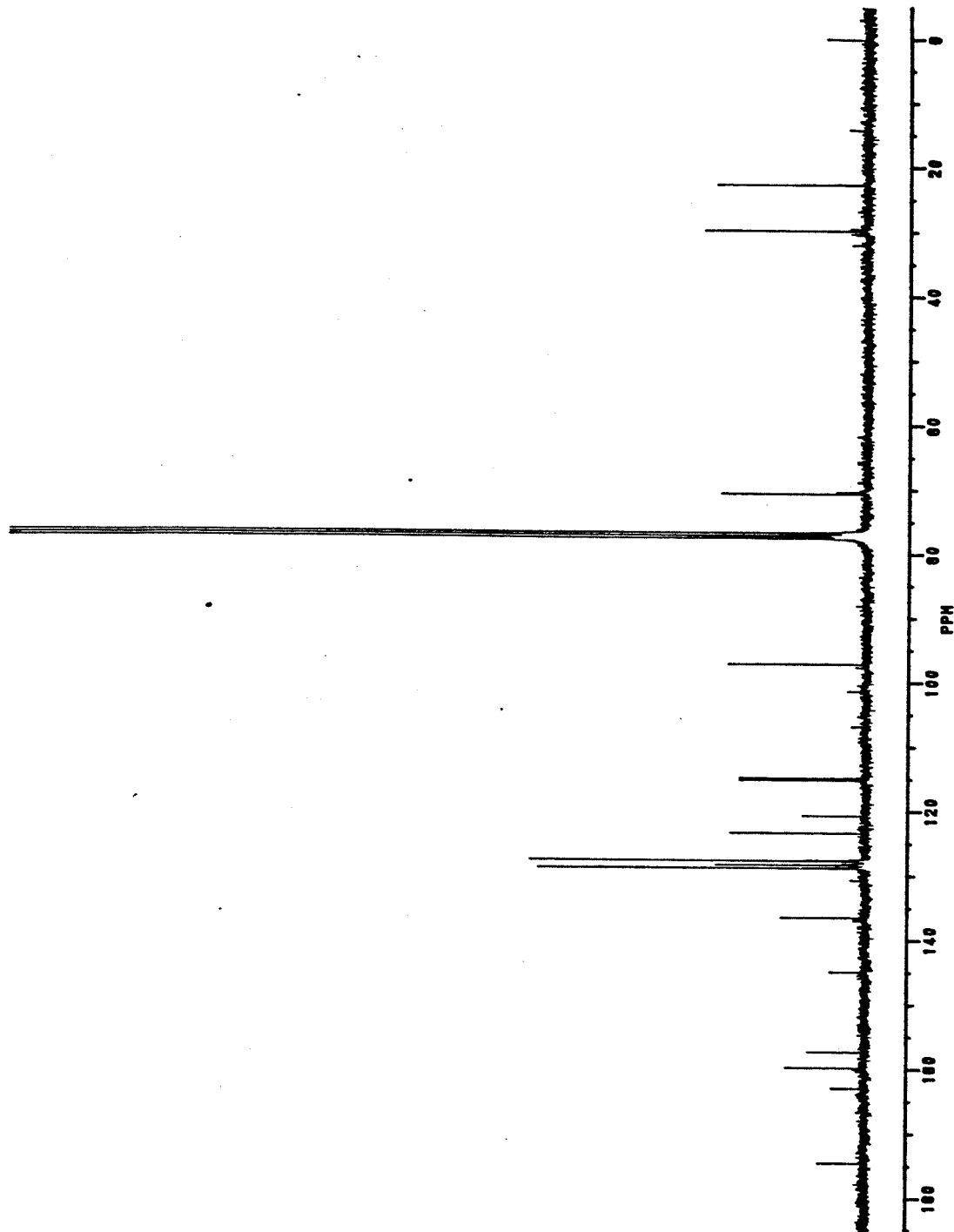


Espectro 20 - Espectro de DEPT do produto 123

SHUREL "BWF-4" 00002718  
F095 PULP OF REFERENCE 5000  
DATE 04-16-81  
CALPNI 00002  
FILE 4

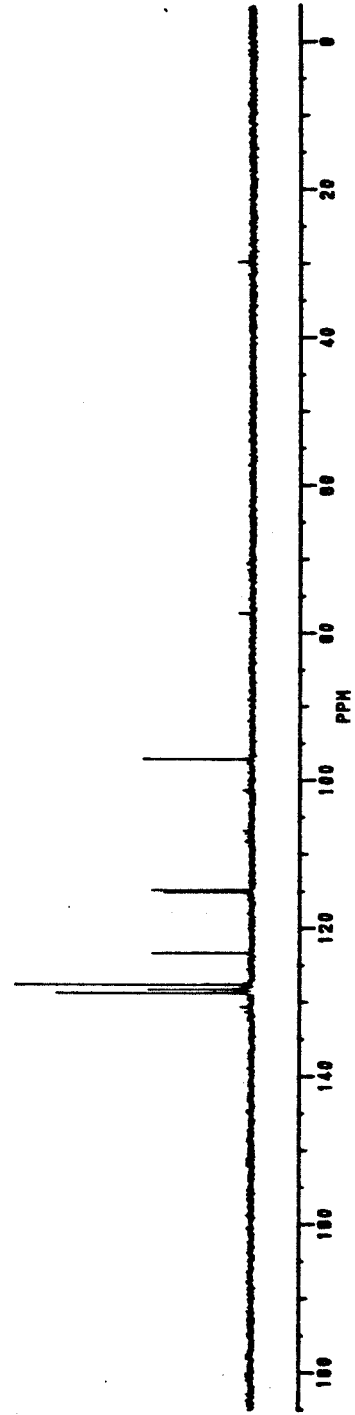
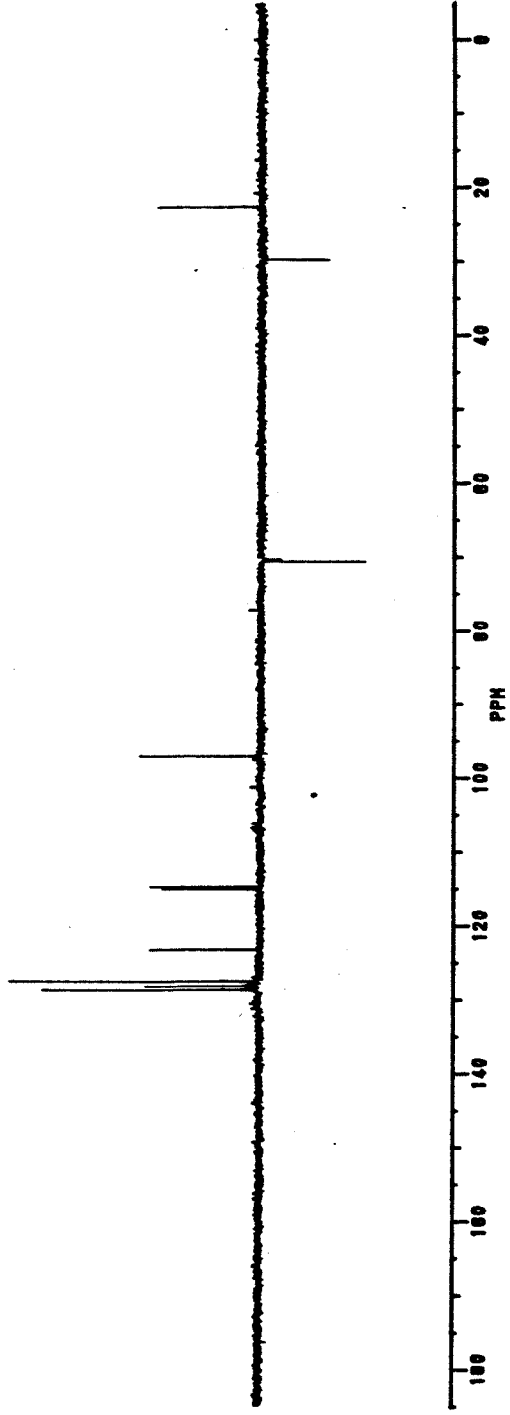


Espectro 21 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de ácido 6-benzilóxicumarona- $\alpha$ -carboxílico (131)

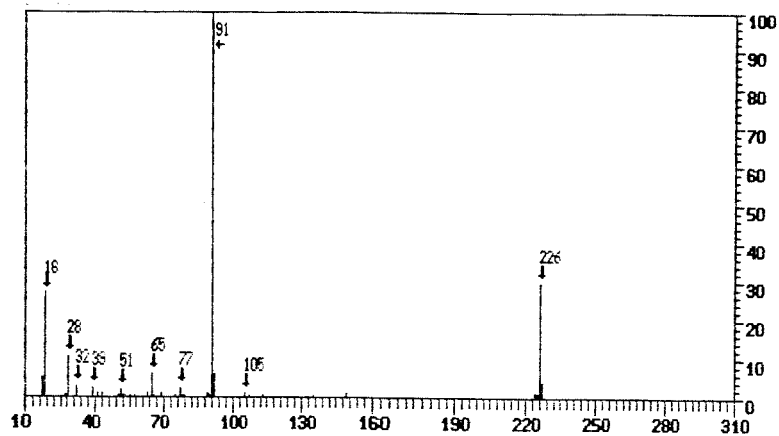


Espectro 22 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de ácido 6-benzilóxicumarona- $\alpha$ -carboxílico (131)





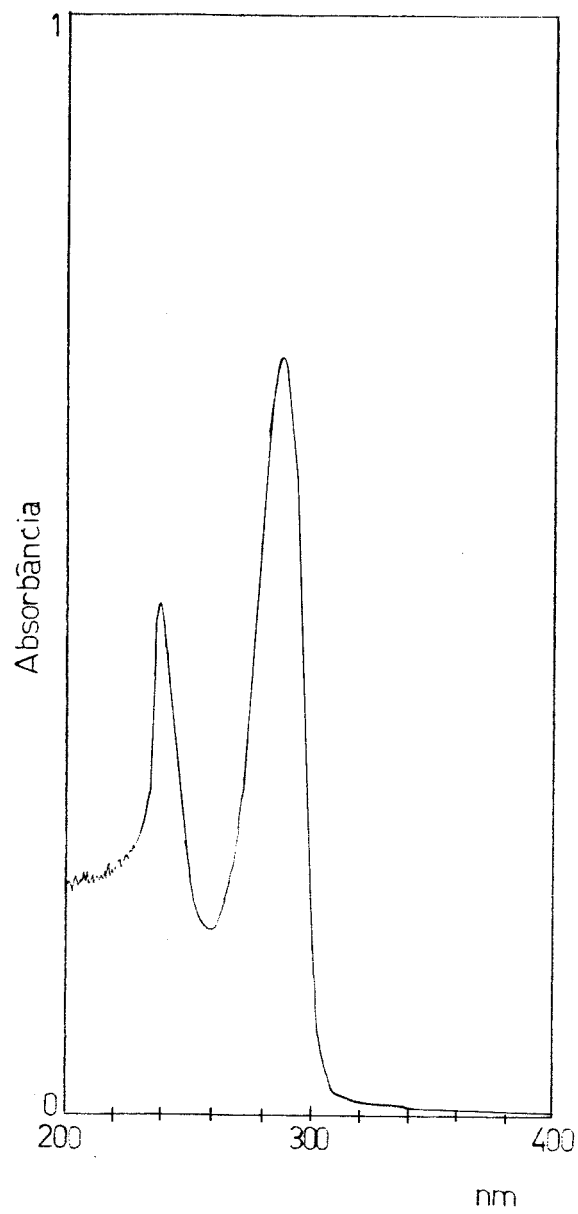
Espectro 22 - Espectro de DEPT do produto 131



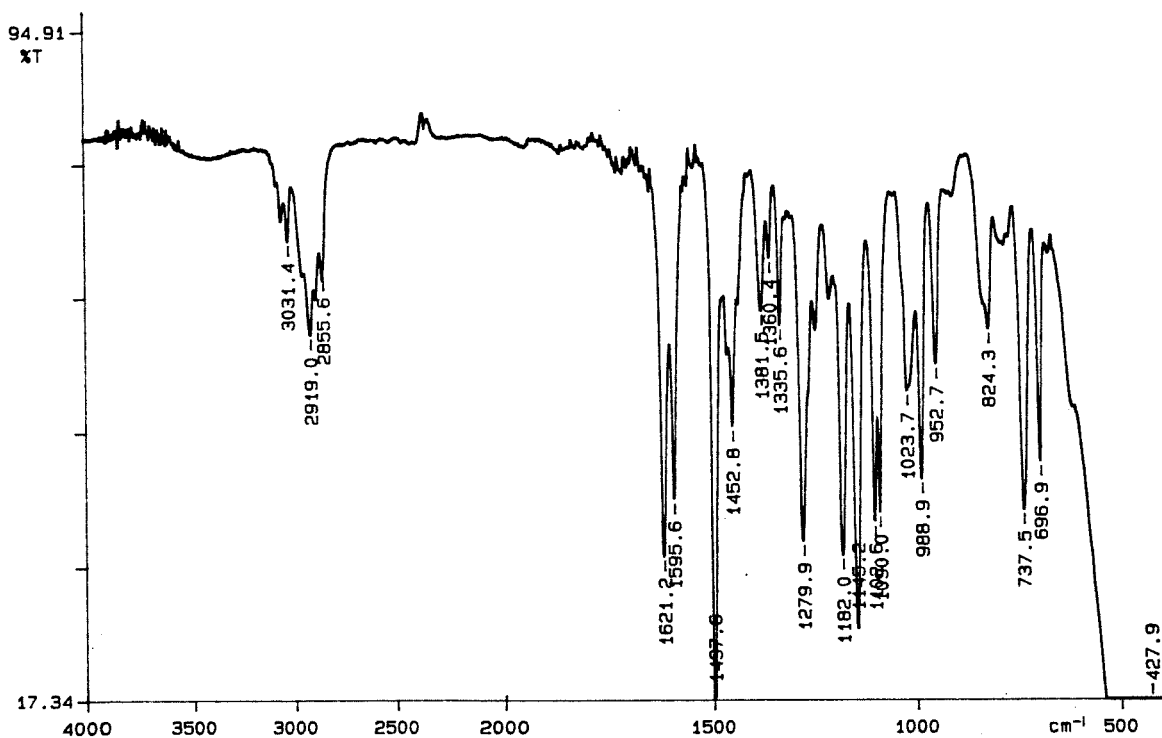
RELACAO DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
17	5.2	18	27.1	27	0.4	28	10.5	32	2.8	39	2.4	41	1.0
43	1.2	50	0.4	51	2.0	52	0.4	53	0.5	55	0.5	57	0.4
63	1.1	65	5.8	66	0.4	69	0.6	75	0.7	77	2.3	79	0.5
79	0.7	89	1.0	90	0.5	91	100.0	92	6.2	105	1.0	107	0.4
113	0.7	135	0.4	149	0.9	224	1.4	225	0.9	226	29.4	227	4.2
228	0.5												

Espectro 23 - E.M. (70 eV) de 6-benzilóxicumarano (132)

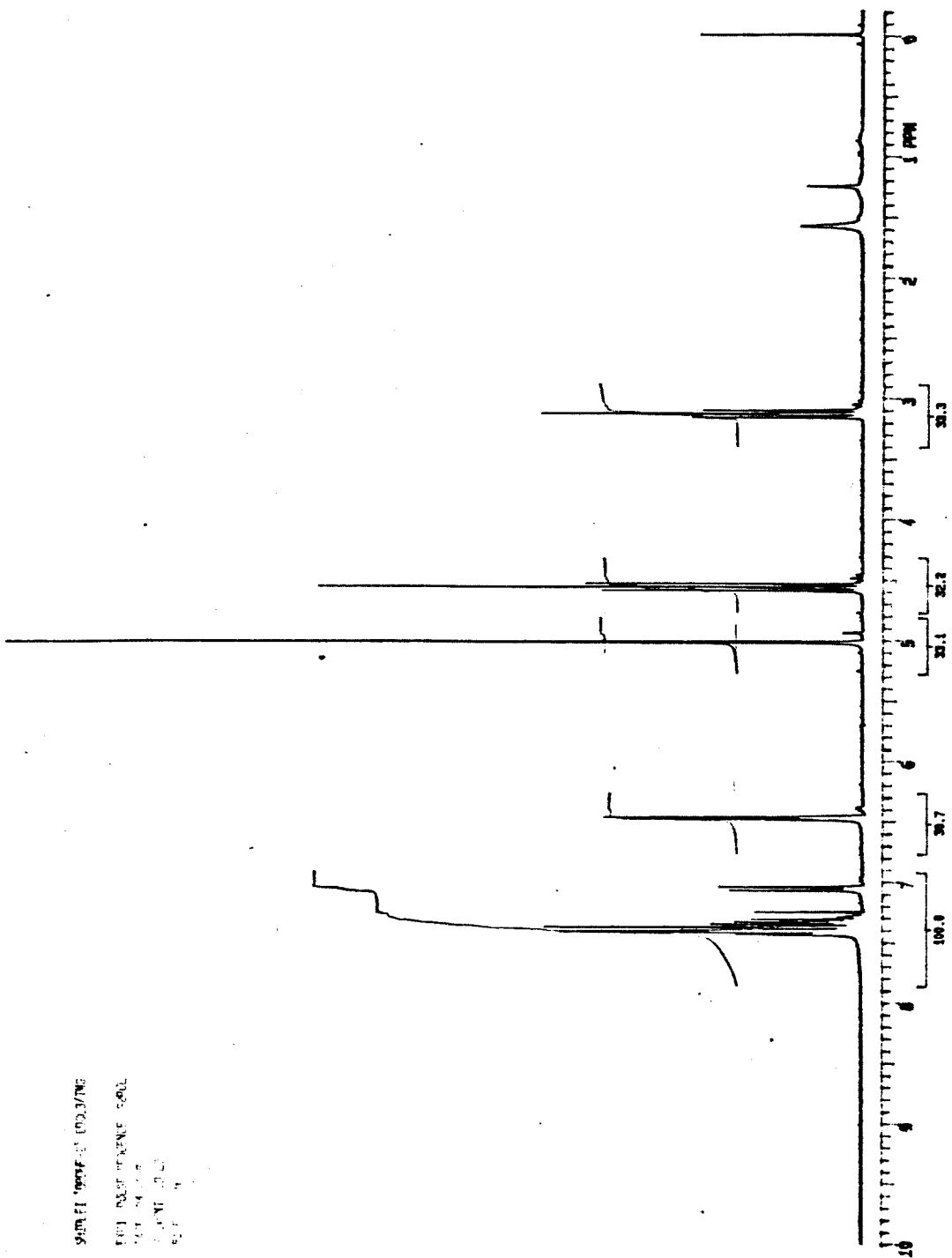


Espectro 24 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxicumarano (**132**)

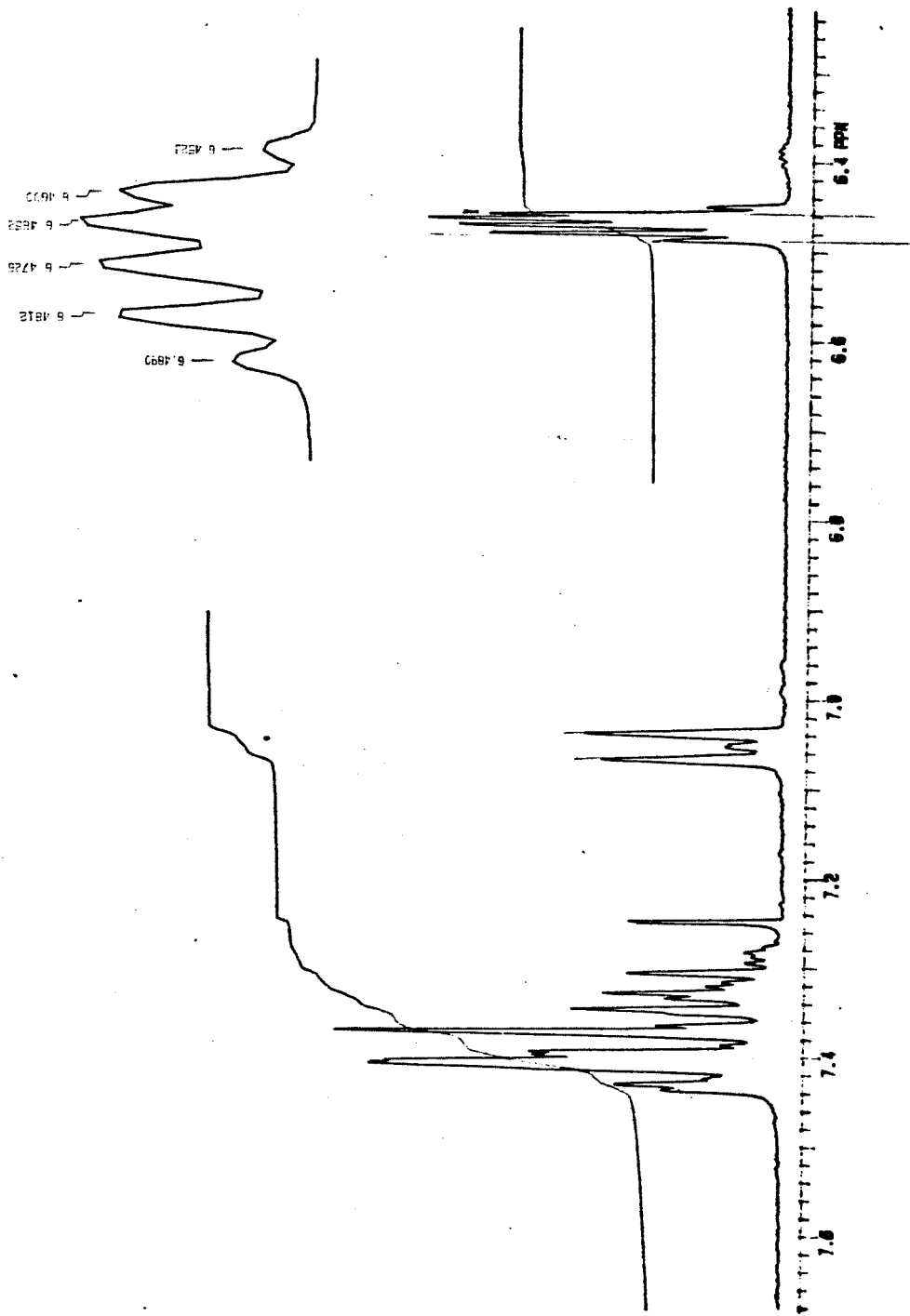


Espectro 25 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de 6-benzilóxicumarano (132)

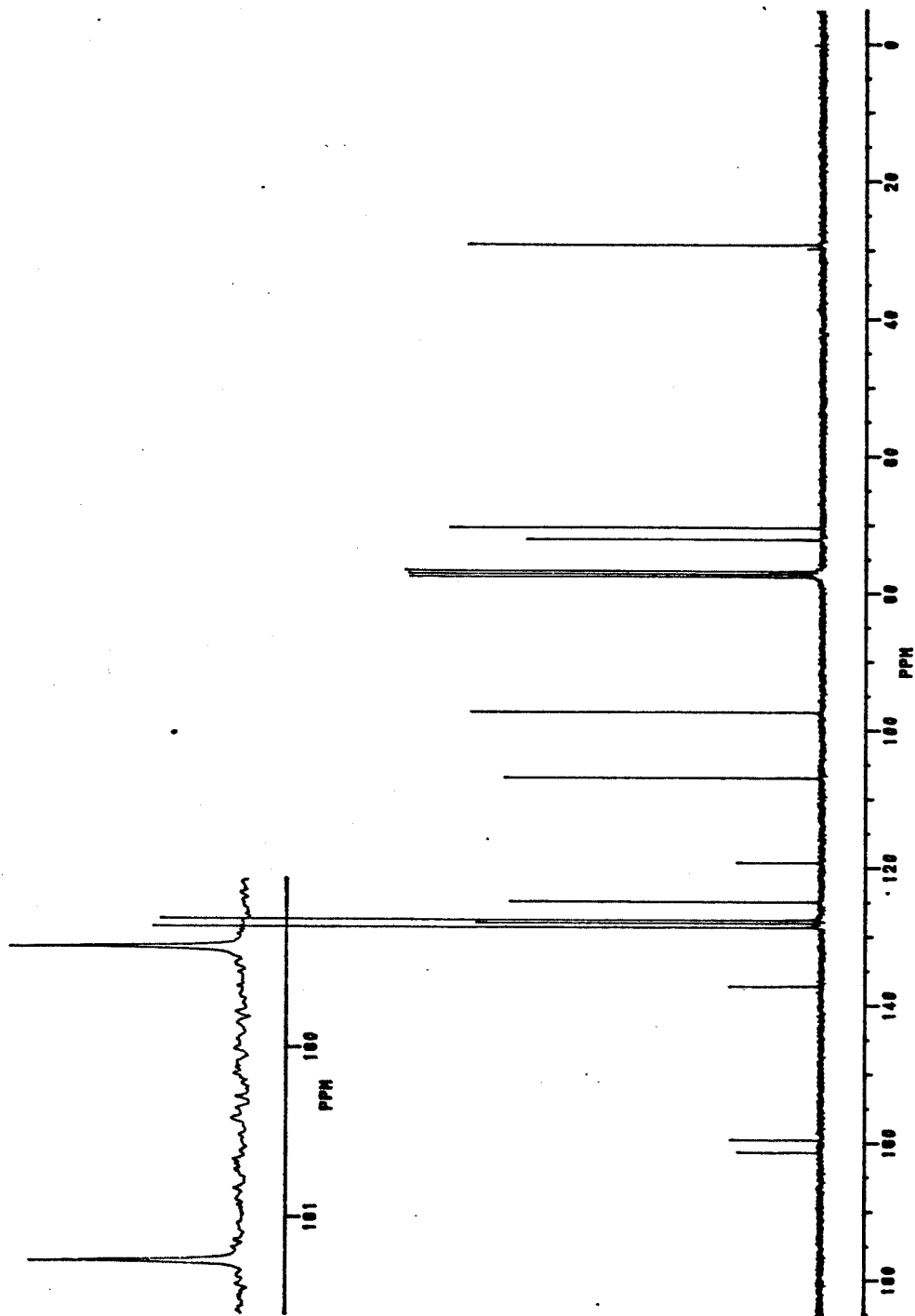
SUBST. IDENTIF. 002.37MG  
EQUI. INSTRUMENTAL: 600L  
RESOLUCION: 100.0  
CONDICIONES: 300.0  
EQUI. INSTRUMENTAL: 600L



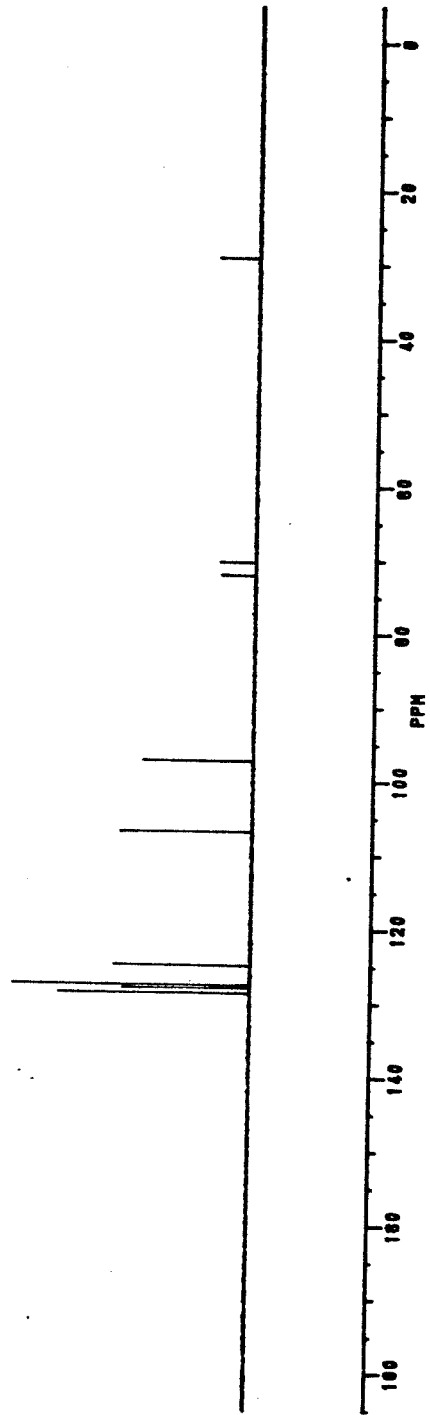
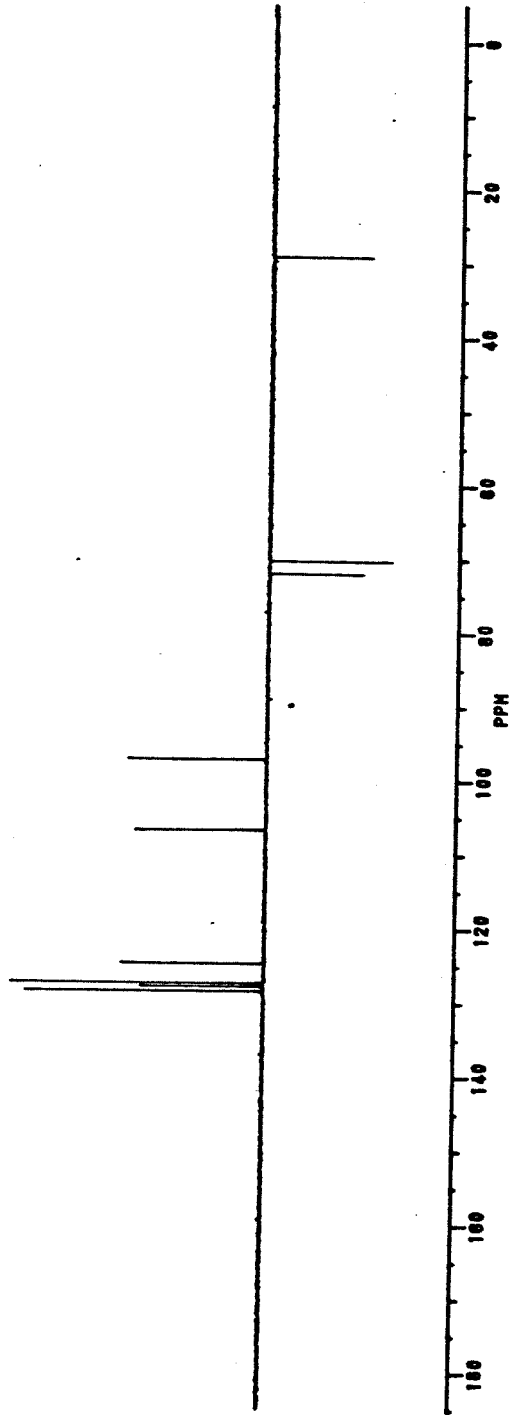
Espectro 26 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-benzilóxicumarano (132)



Expansões do Espectro E.26 de 132

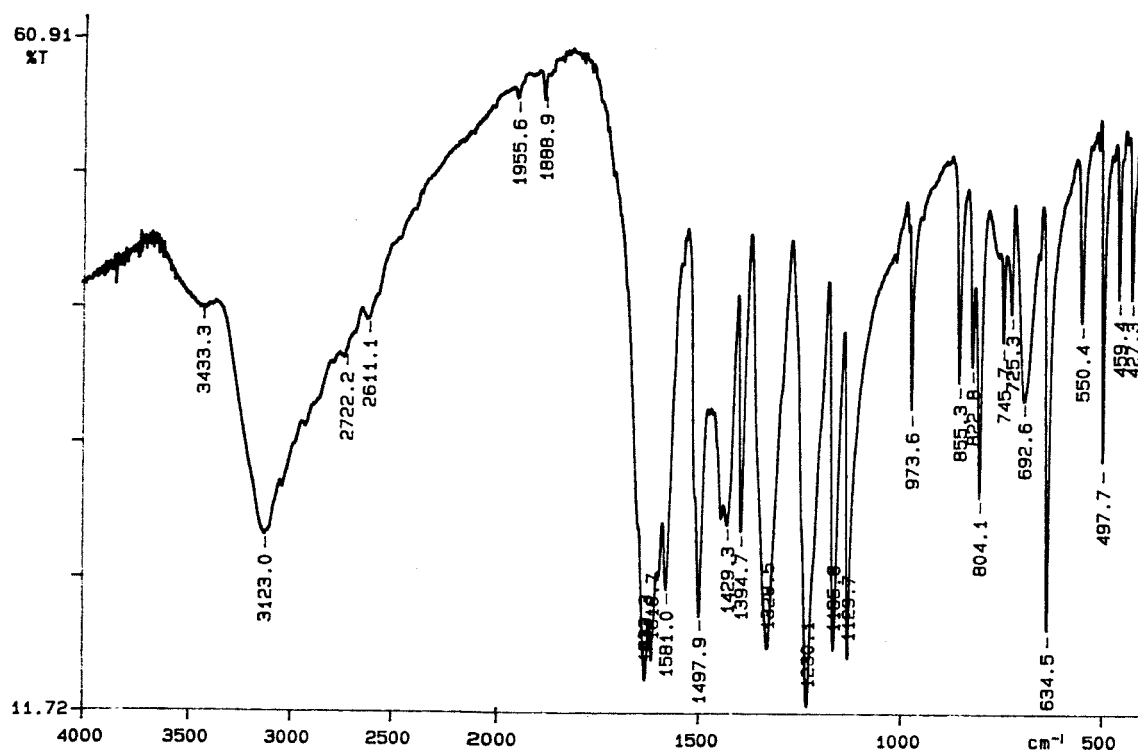


Espectro 27 - RMN- $^{13}\text{C}$  (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 6-benzilóxicoumarano (132)

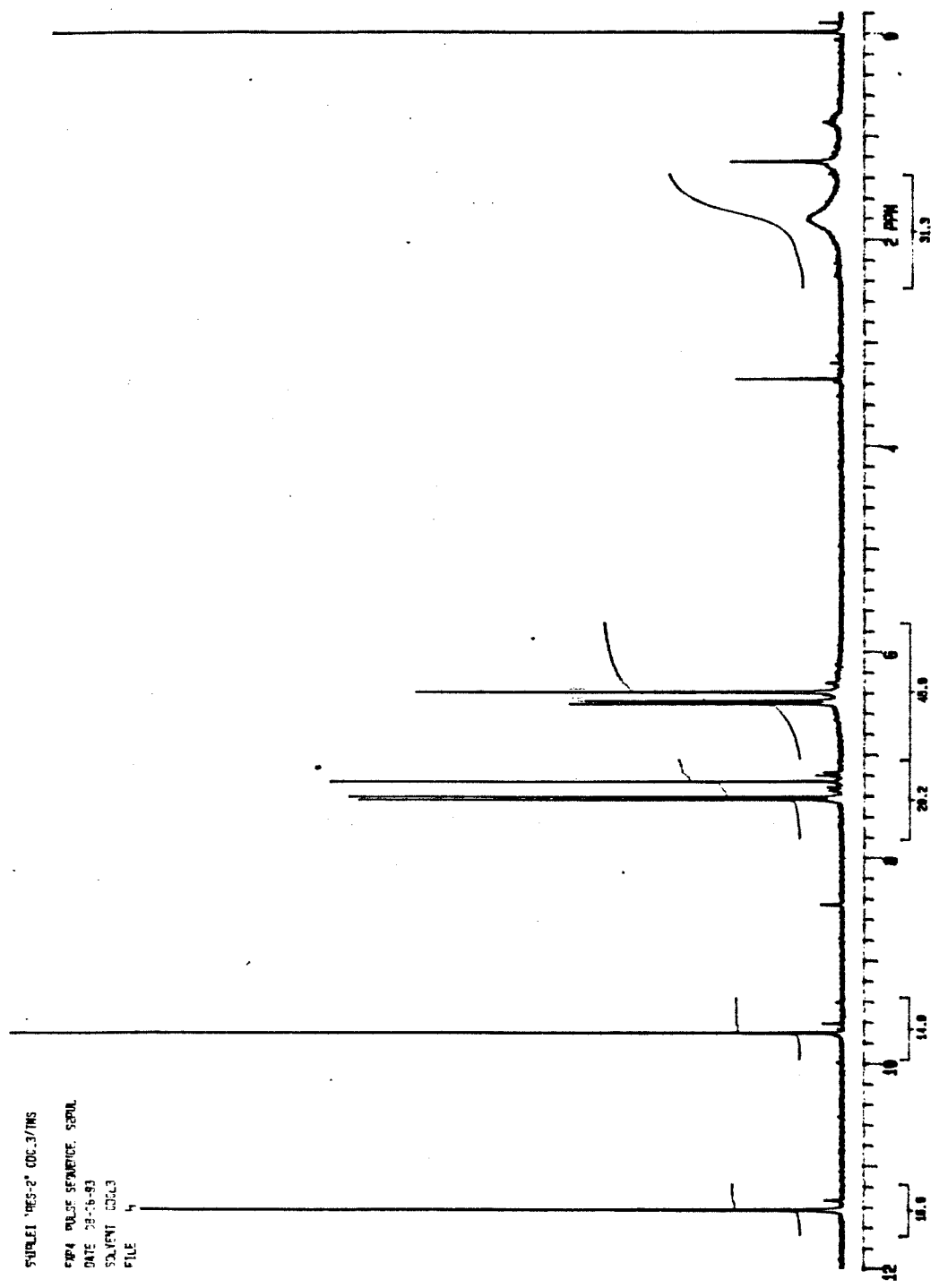


Espectro 27 - Espectro de DEPT do produto 132





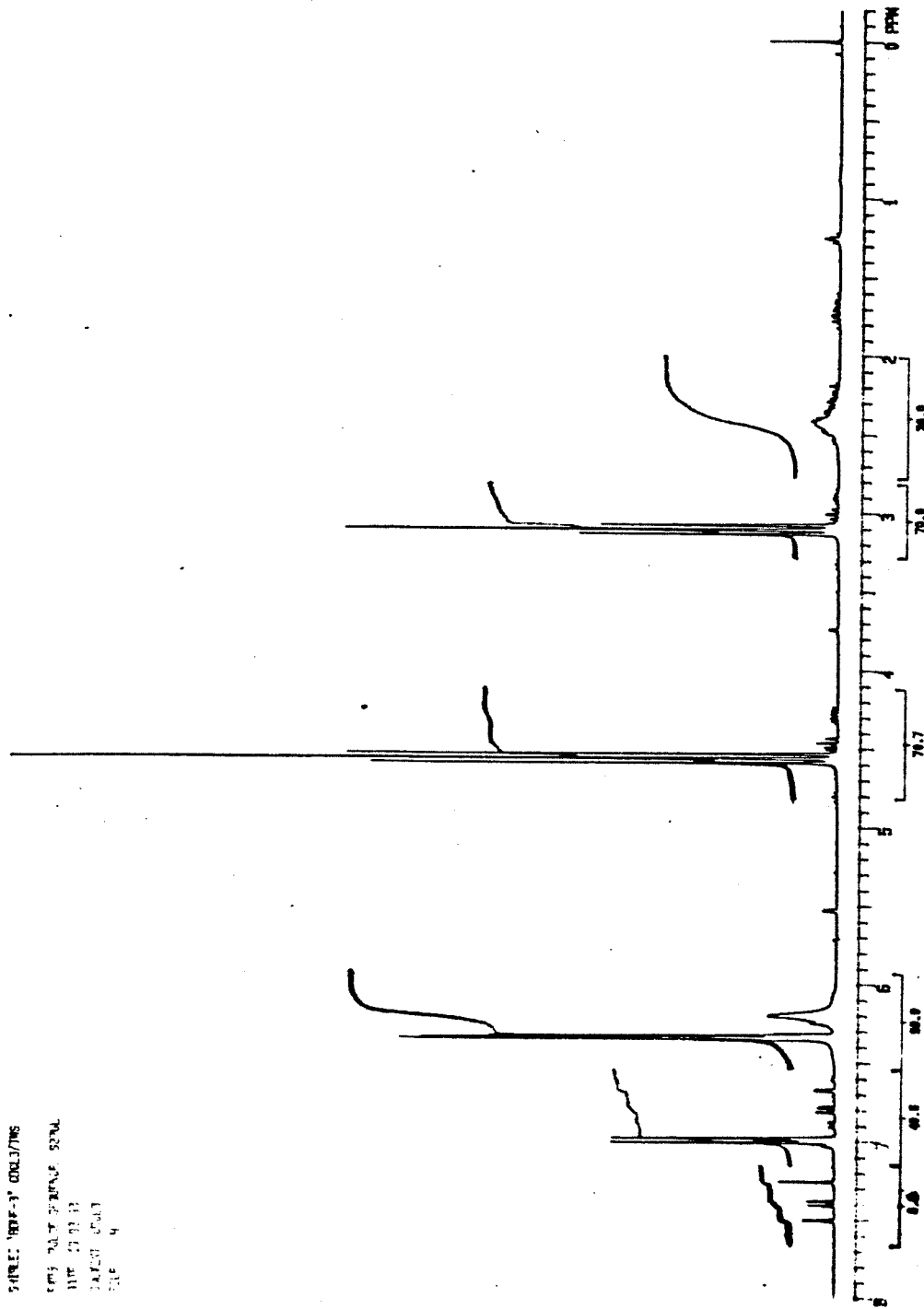
Espectro 28 - I.V. (KBr) de 2,6-dihidróxibenzaldeído (95)



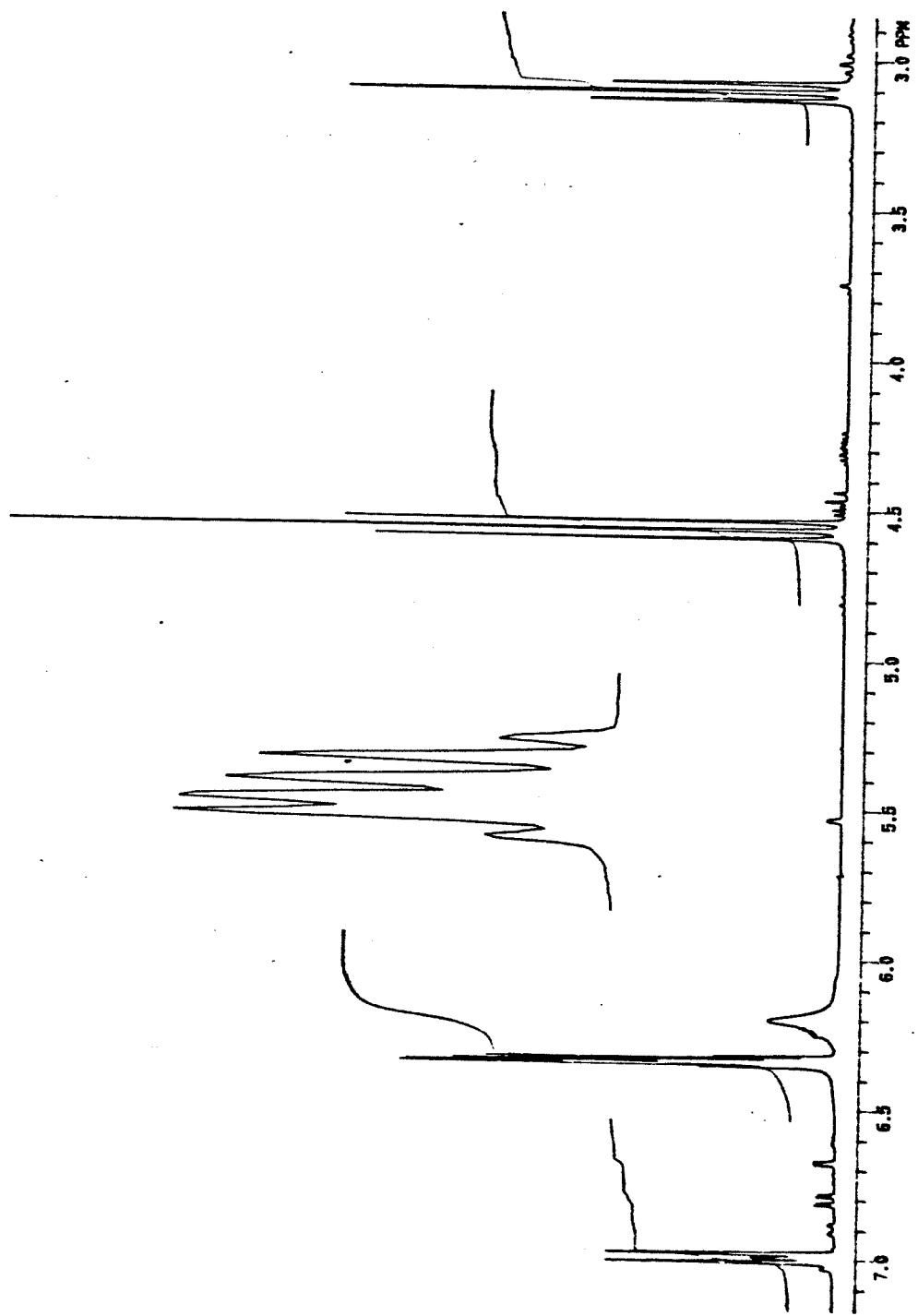
SURLET 'RES-2' CDC.3/MS  
PWA PULSE SEQUENCE: SQRU  
DATE: 28-6-93  
SOLVENT: CDCl3  
FILE: 4

Espectro 29 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 2,6-dihidróxibenzenaldeo (95)

NAME: '1000-1' 0003/716  
DATE: 20/03/03  
TIME: 10:00  
FILE: 4

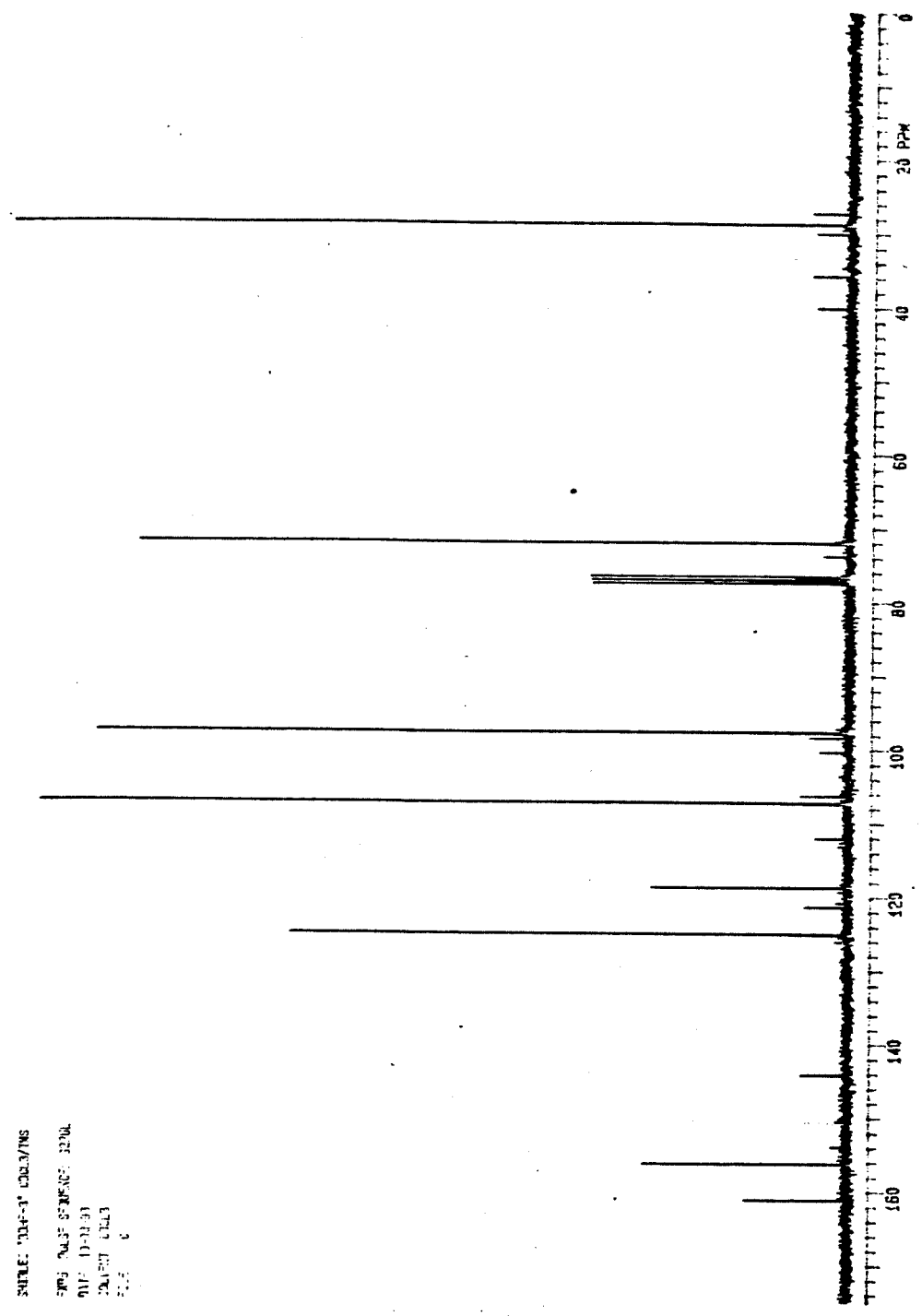


Espectro 30 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-hidróxicumarano (134)



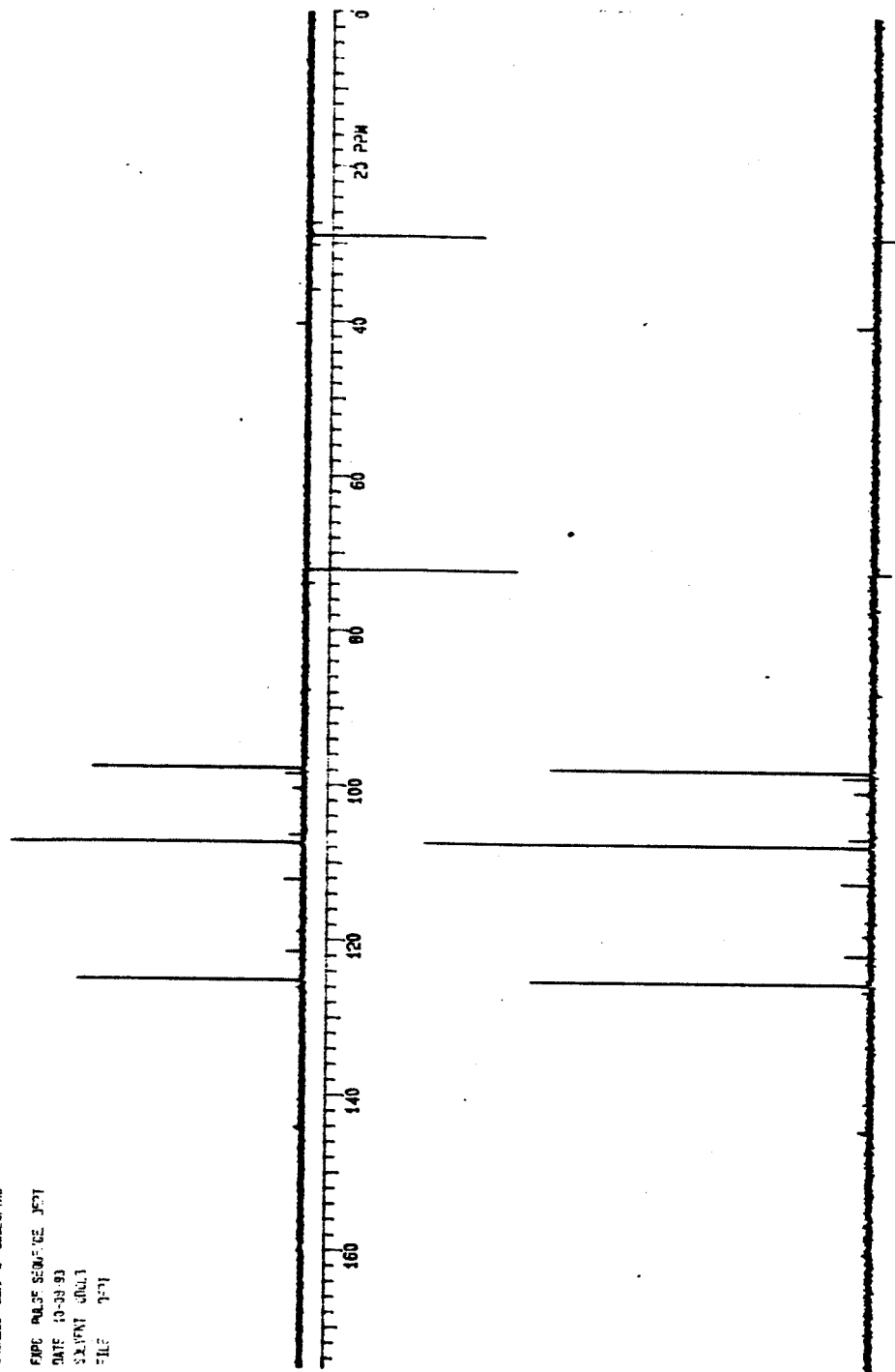
Expansões do Espectro E.30 do produto 134

FILE: 134-11-01.DMS/MS  
PULSE PROGRAM: zgpg  
DATE: 11-11-91  
SOLVENT: DMS  
PULPROG: zgpg

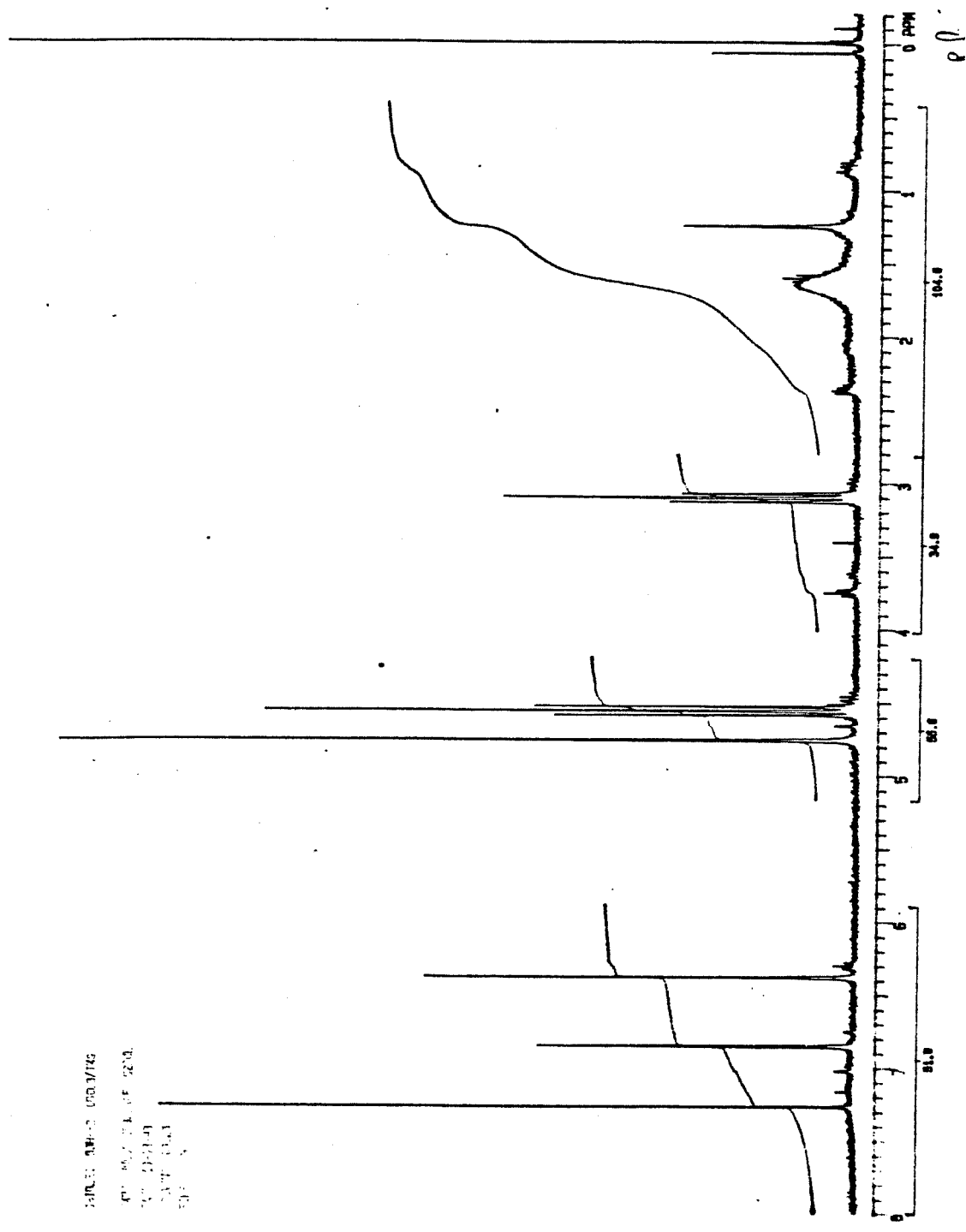


Espectro 31 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-hidróxicumarano (134)

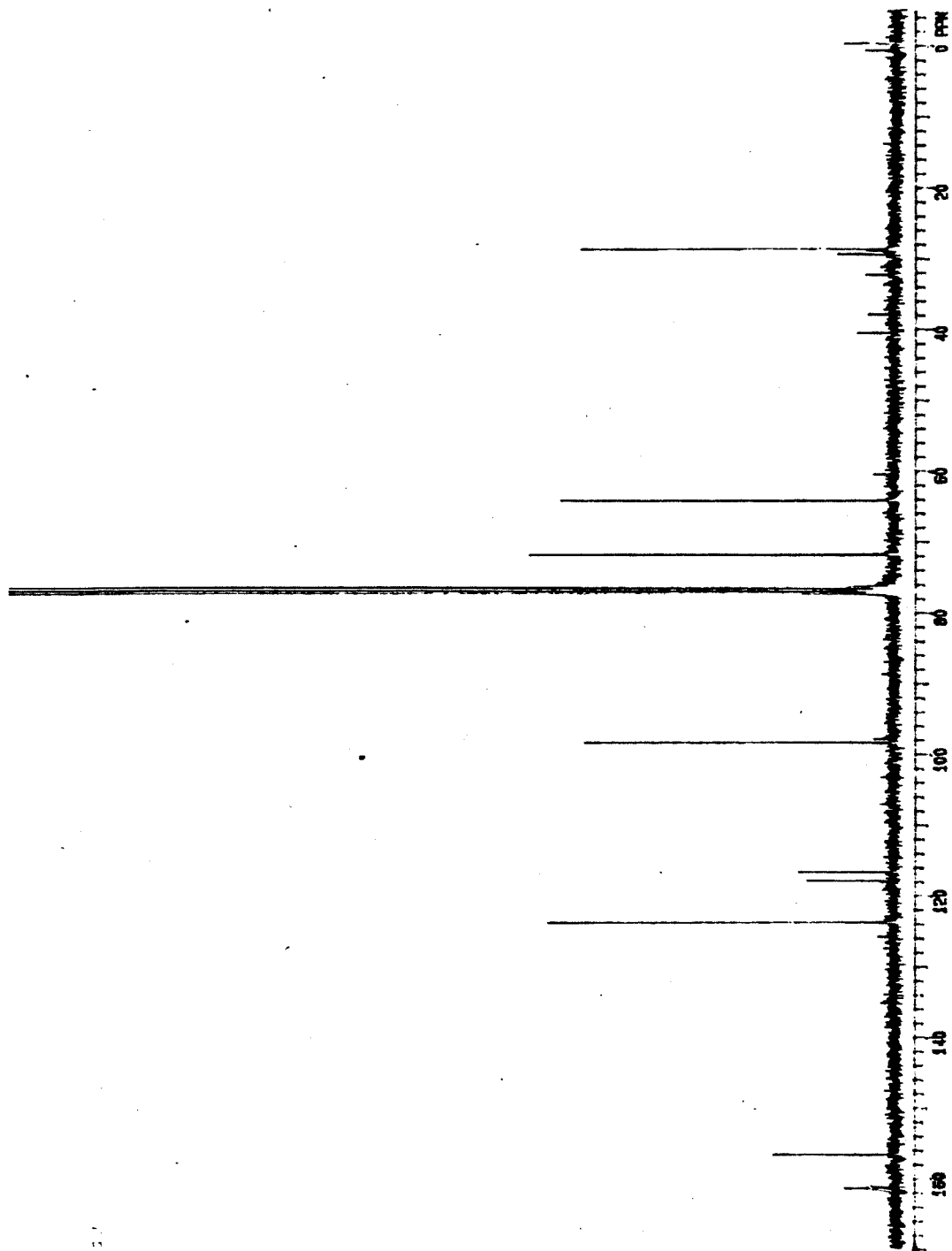
SMILE: 'BMF-3' 0003/TMS  
F1PC PALS' SERVICE JET  
DATE 10-08-93  
SOLVENT CDCL3  
FILE JET



Espectro 31 - Espectro de DEPT do produto 134

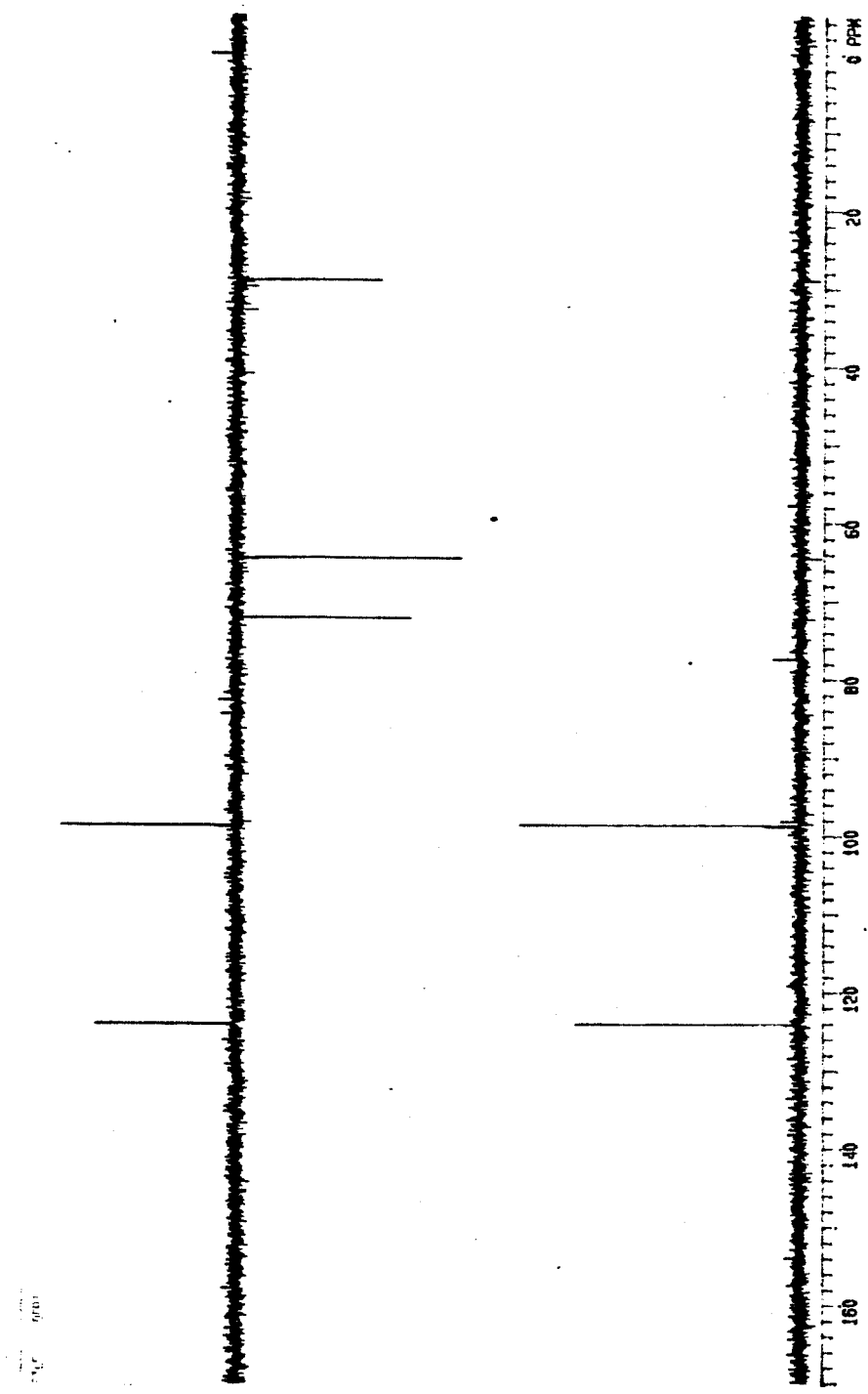


Espectro 32 - RMN-1H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-hidróxi-5-metanohidróxicumarano (135)

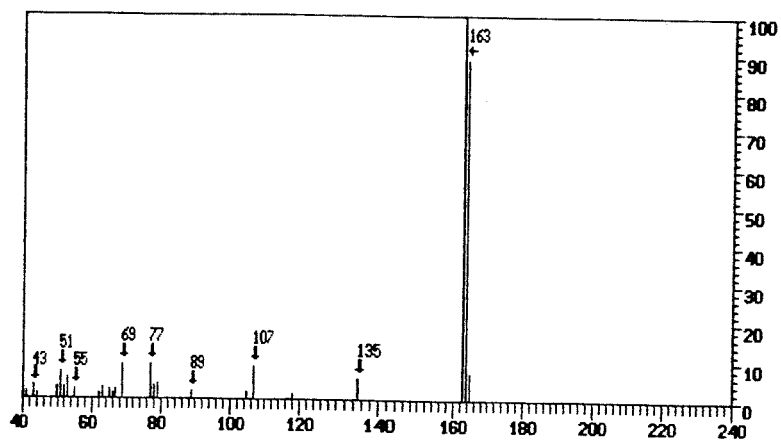


Espectro 33 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 6-hidróxi-5-metanolhidróxicumarano (135)





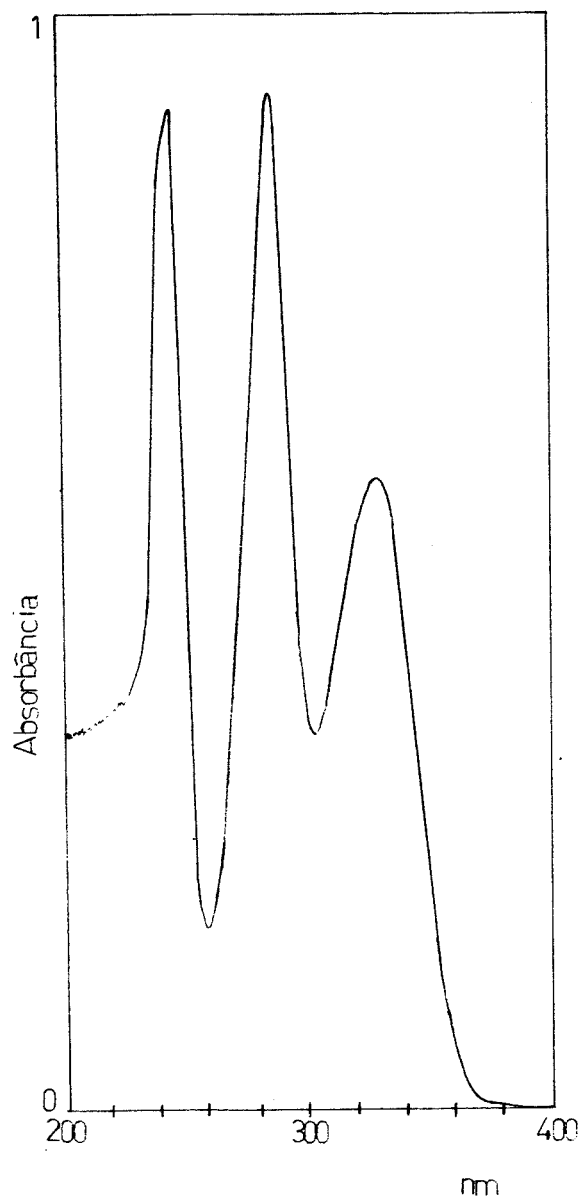
Espectro 33 - Espectro de DEPT do produto 135



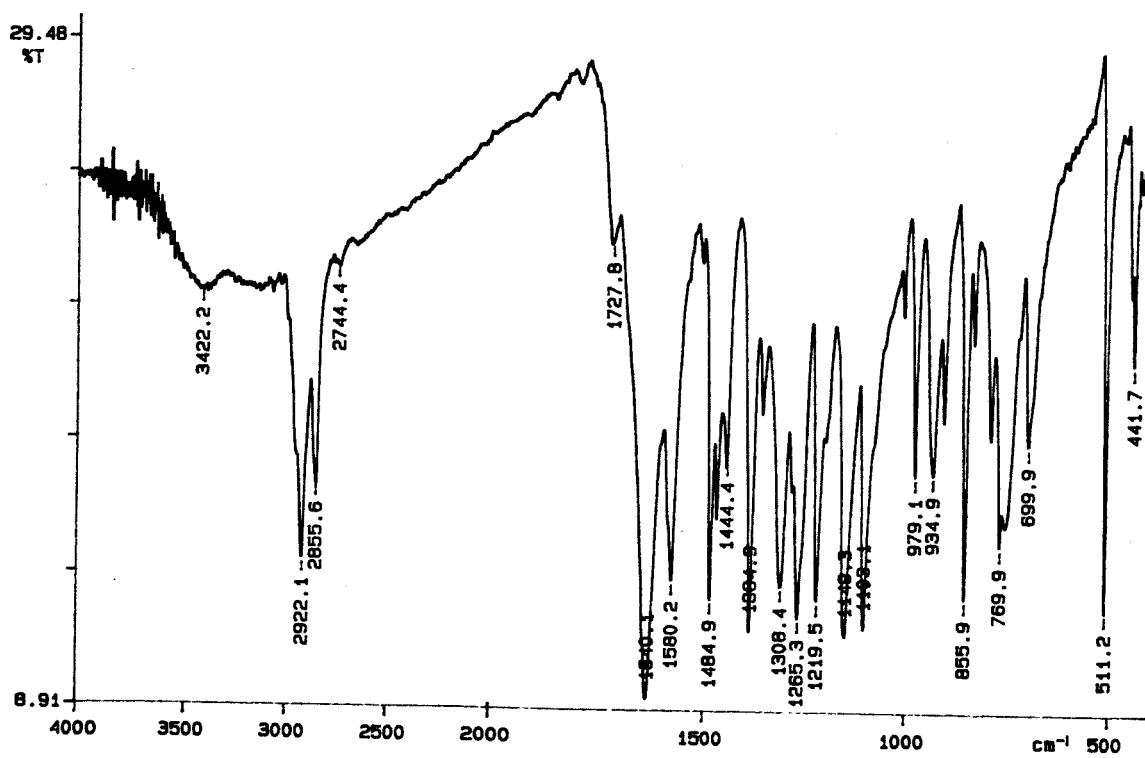
RELACAO DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
41	2.1	43	3.6	44	1.5	50	3.2	51	6.9	52	3.2	53	5.5
55	2.6	62	1.5	63	3.0	65	2.7	66	1.3	67	2.5	69	9.1
77	8.8	78	3.4	79	4.1	89	2.2	105	2.1	107	8.5	118	1.5
135	5.5	163	100.0	164	88.7	165	6.9						

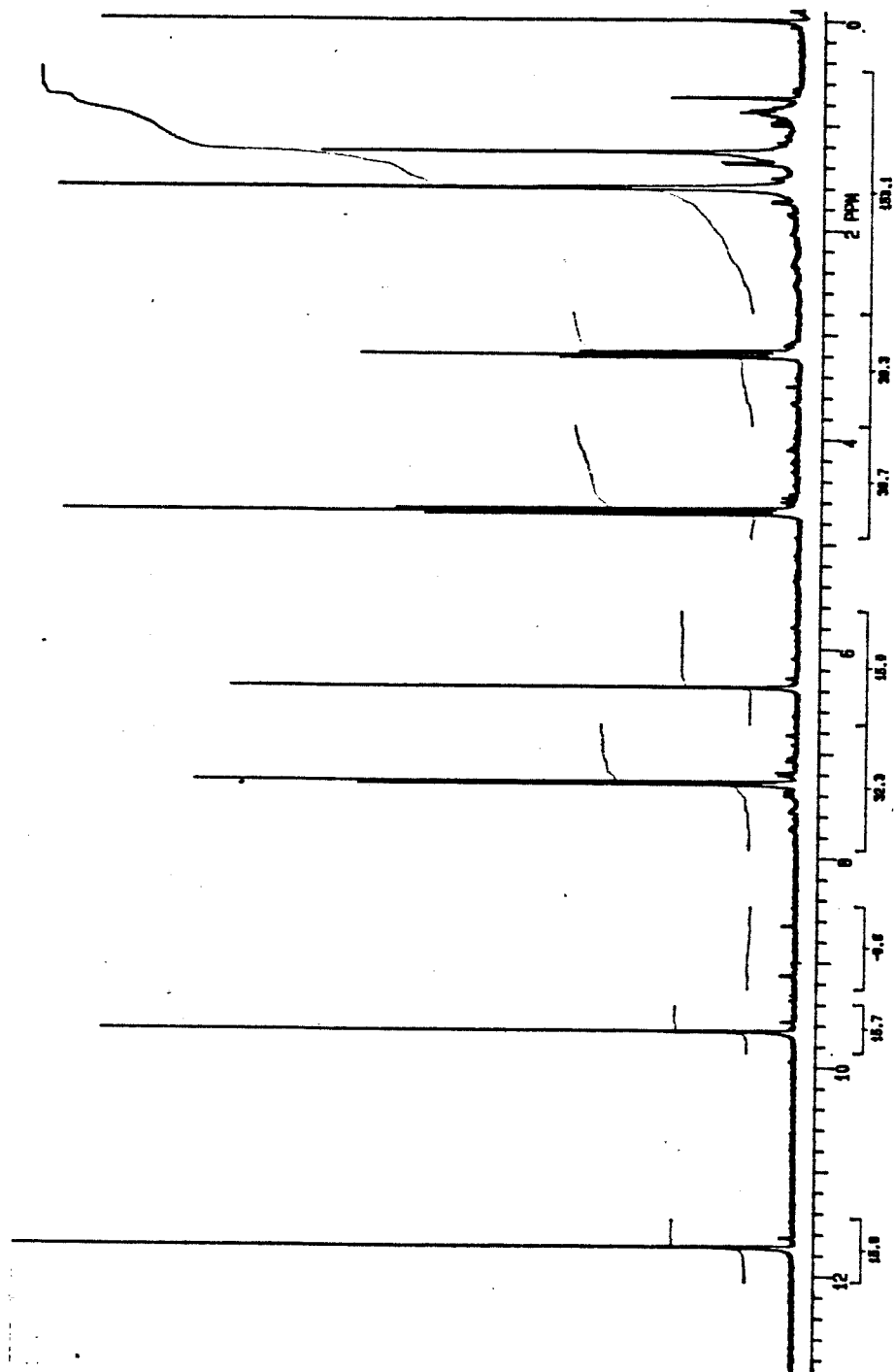
Espectro 34 - E.M. (70 eV) de 5-formil-6-hidróxicumarano (88)



Espectro 35 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de 5-formil-6-hidróxicumarano (88)



Espectro 36 - I.V. (KBr) de 5-formil-6-hidróxicumarano (88)



Espectro 37 - RMN- $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de 5-formil-6-hidróxicumarano (88)

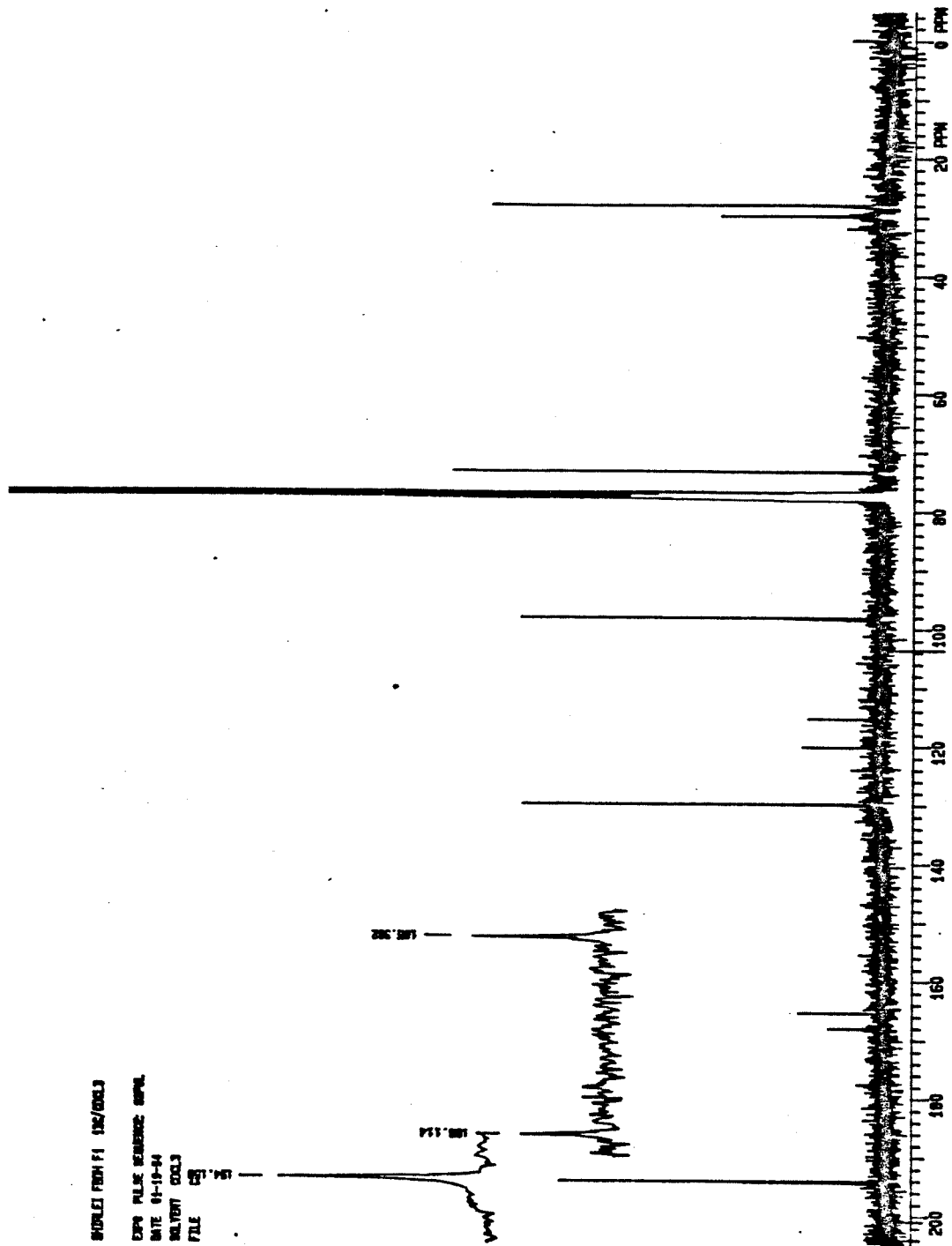
EXPERIMENT 51 13C/CDCL3

EXPERIMENT NUMBER 0001

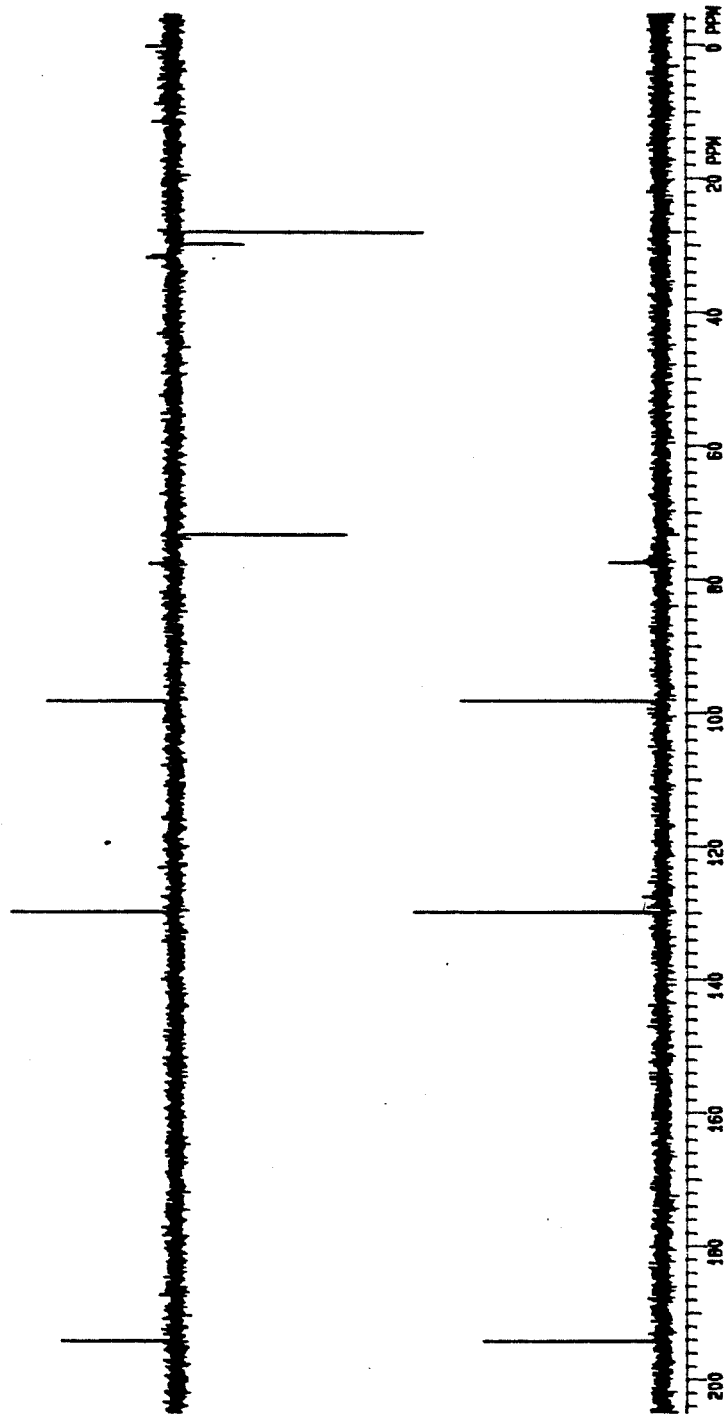
DATE 01-19-84

SOLVENT CDCL3

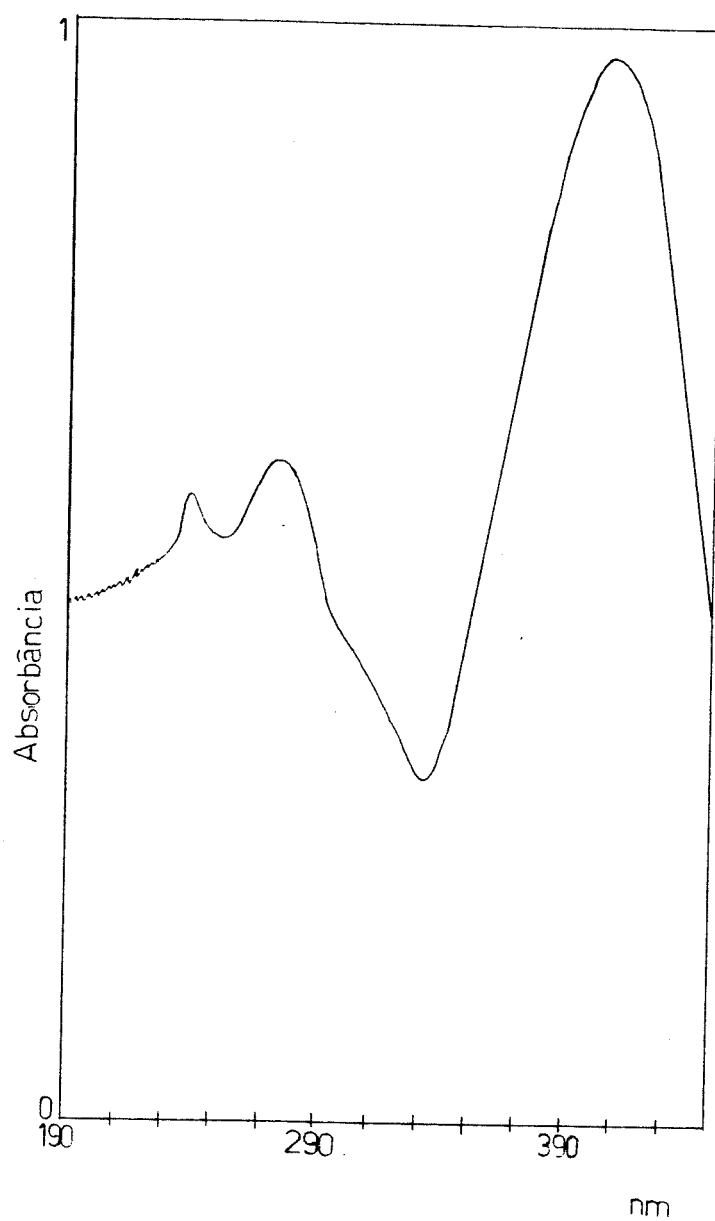
FILE 01 5



Espectro 38 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 5-formil-6-hidróxicumarano (88)

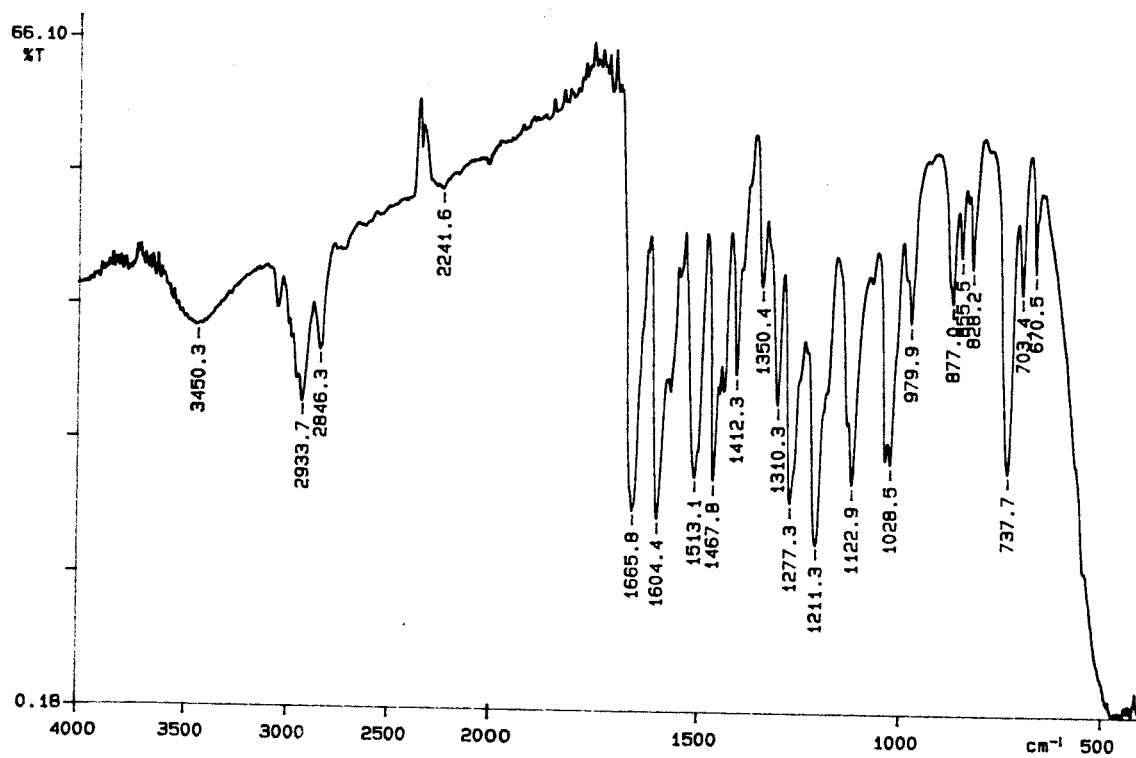


Espectro 38 - Espectro de DEPT do produto 88



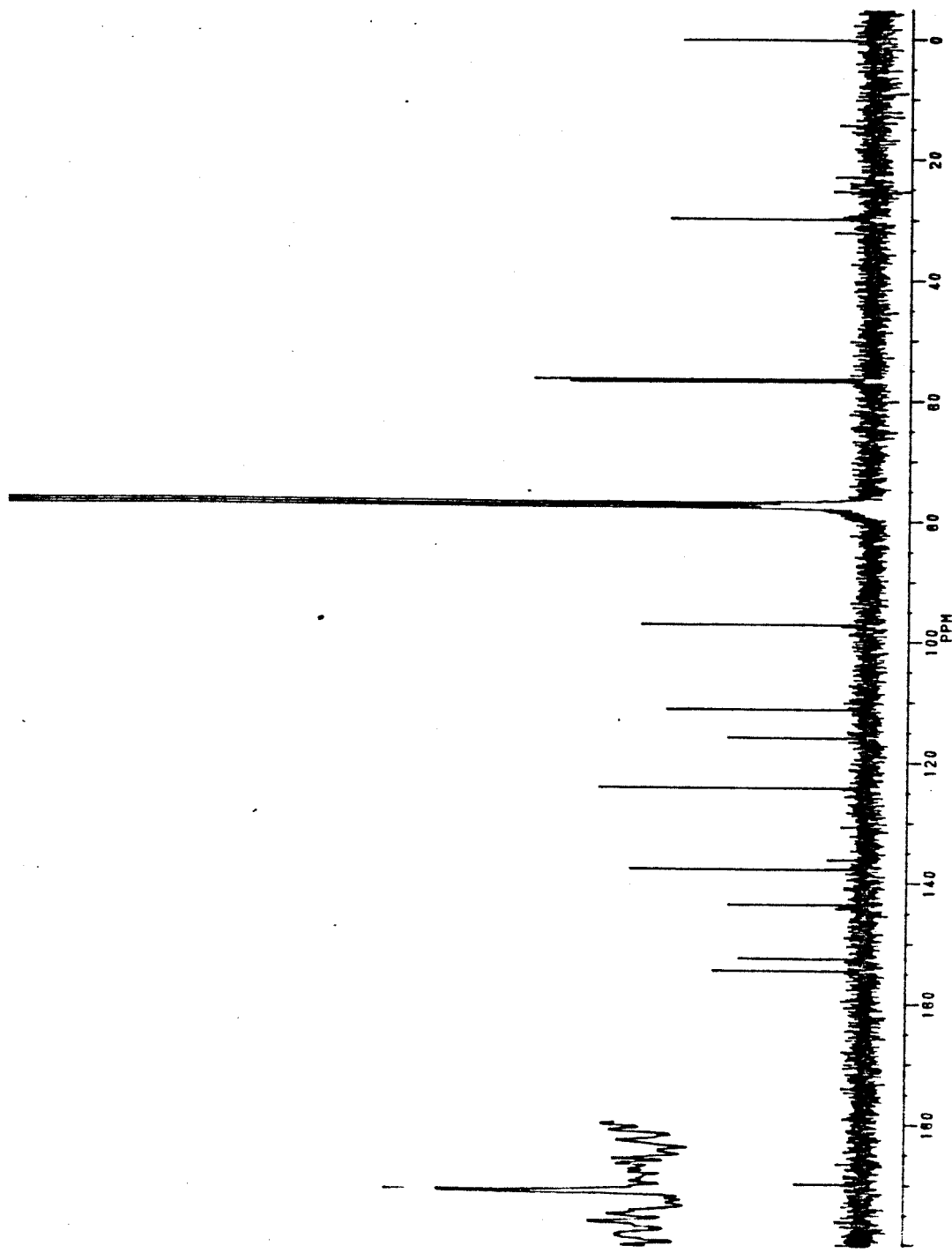
Espectro 39 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de ácido 2,4,5-trimetóxicinâmico (136)



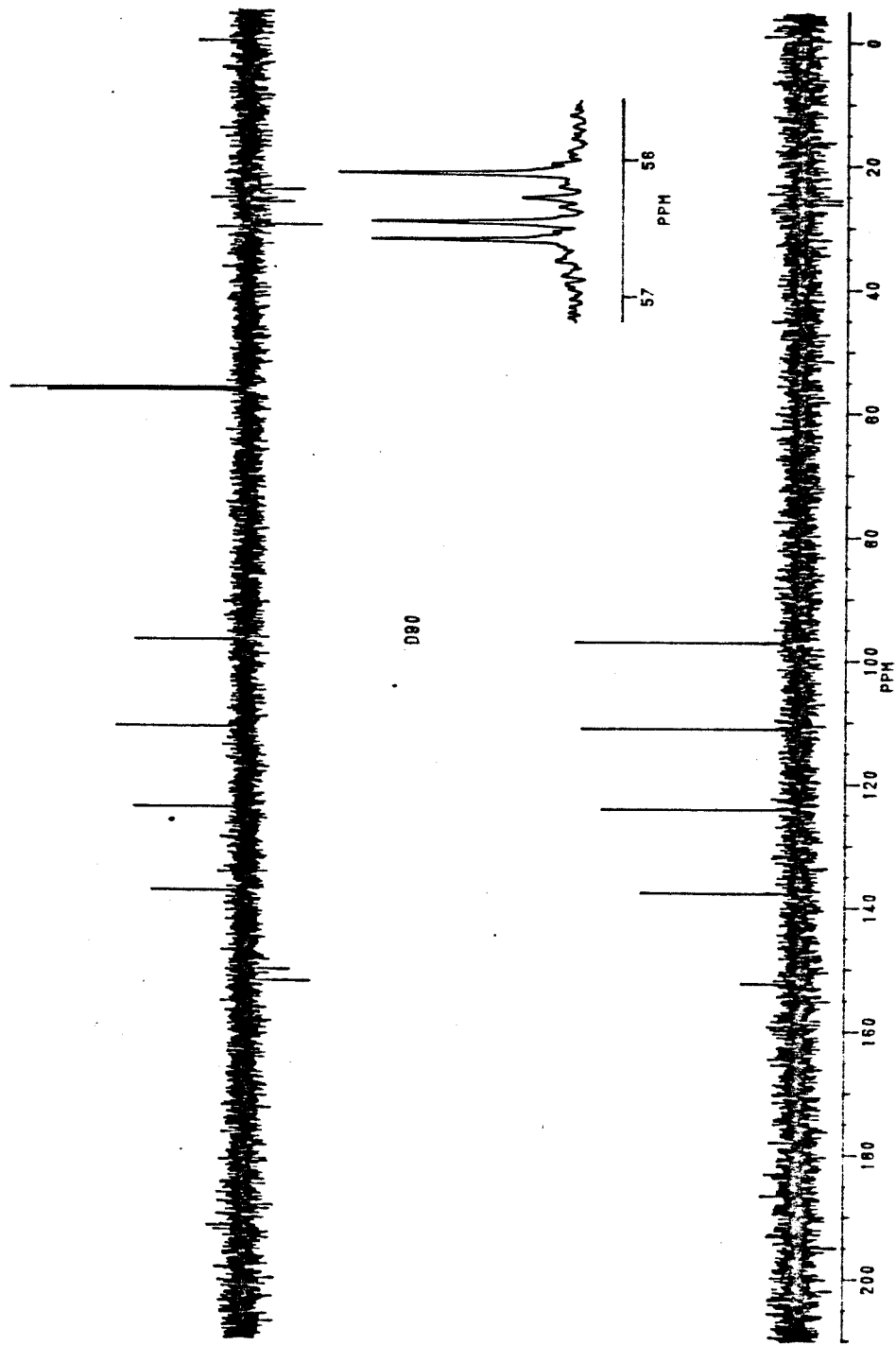


Espectro 40 - I.V. ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) de ácido 2,4,5-trimetóxicinâmico (136)

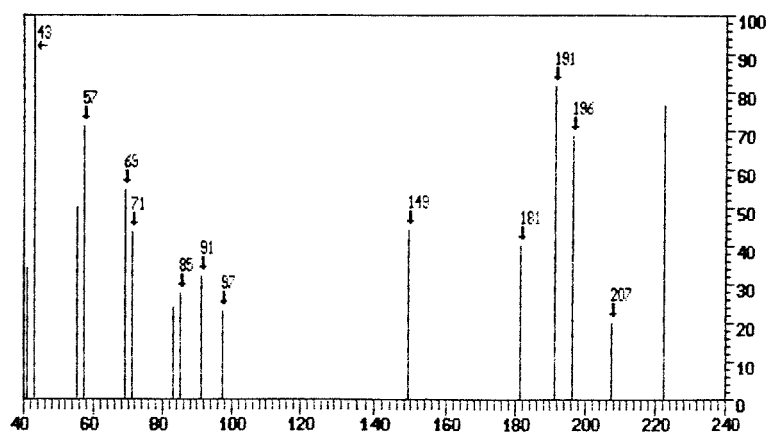




Espectro 42 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de ácido 2,4,5-trimetóxicinámico (136)



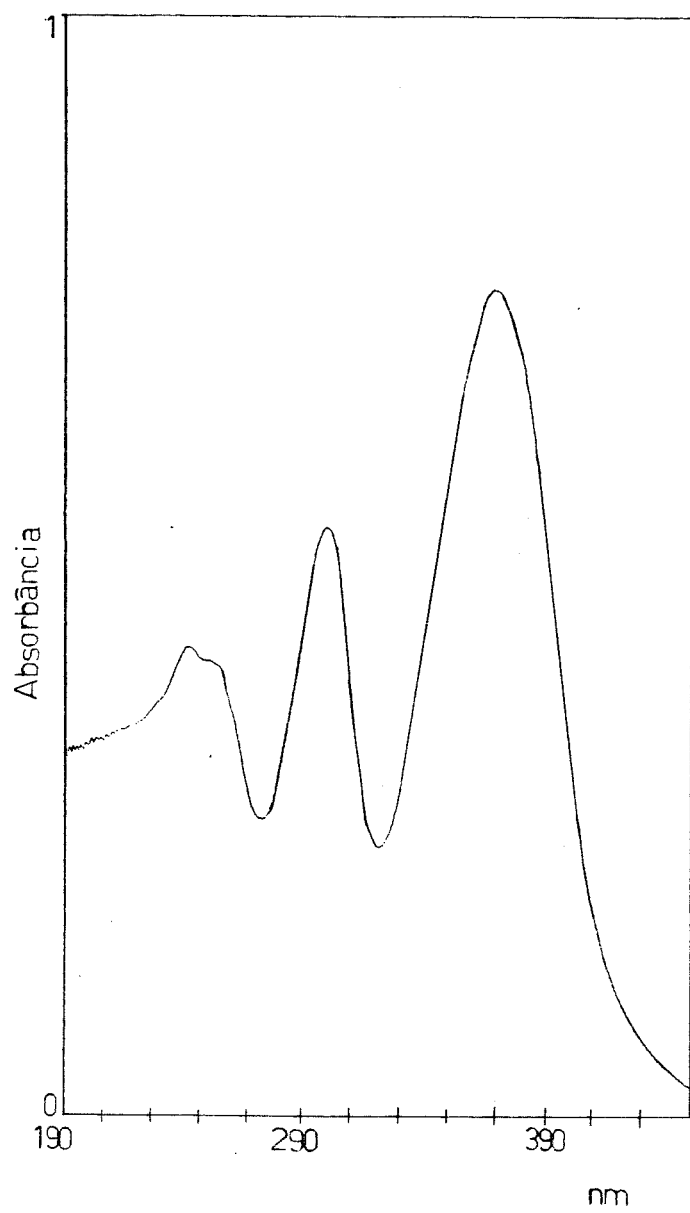
Espectro 42 - Espectro de DEPT do produto 136



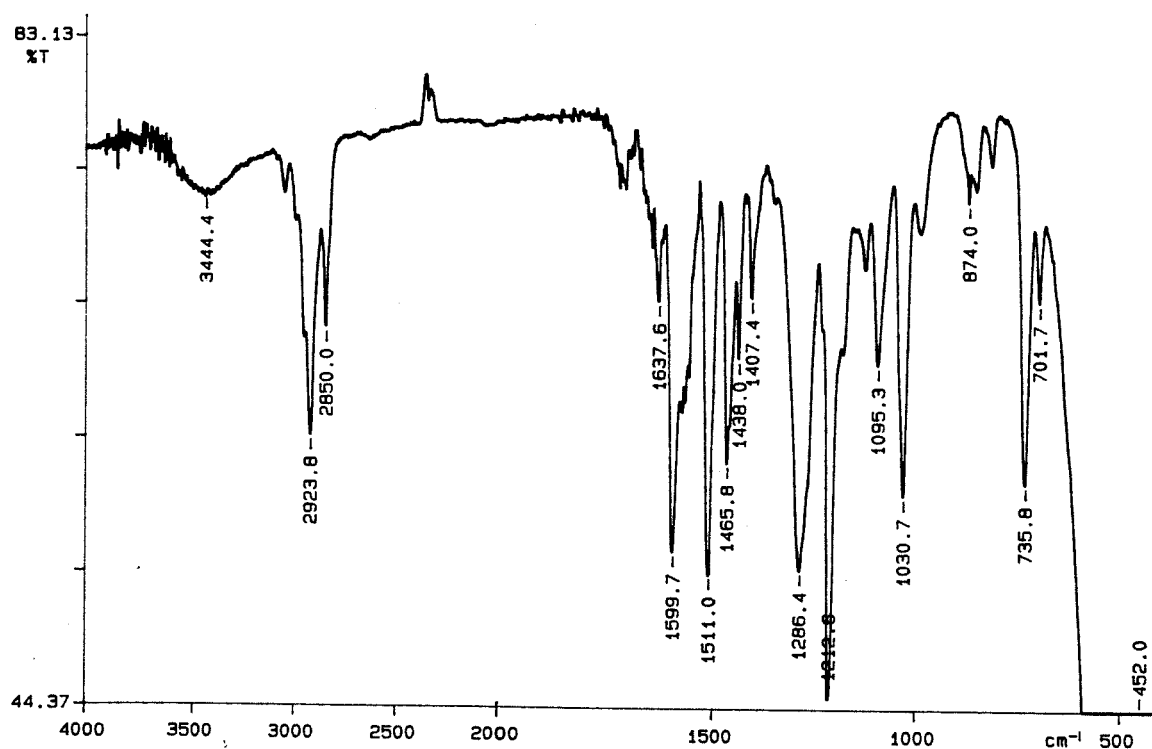
RELACAO DOS PICOS (maiores ou iguais a 0.2%)

m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)	m/z	Int.Rel (%)
41	34.0	43	100.0	55	49.8	57	71.1	69	54.5	71	43.6	83	23.9
85	27.5	91	32.1	97	23.2	149	44.1	181	40.2	191	81.7	196	65.7
207	20.2	222	76.7										

Espectro 43 - E.M. (70 eV) de aldeído 2,4,5-trimetóxicinâmico (138)



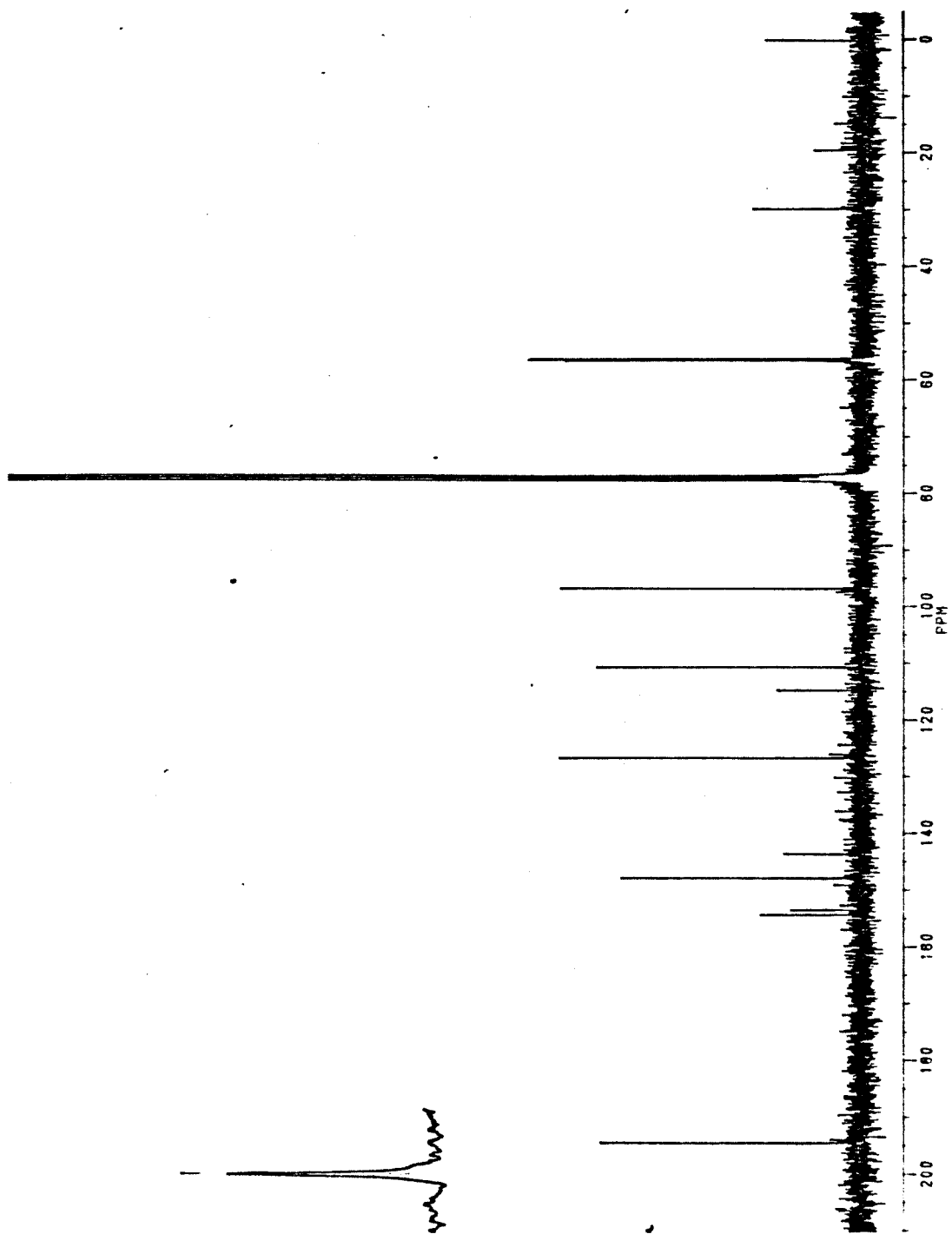
Espectro 44 - U.V. (CHCl<sub>3</sub>) de aldeído 2,4,5-trimetóxicinâmico (**138**)



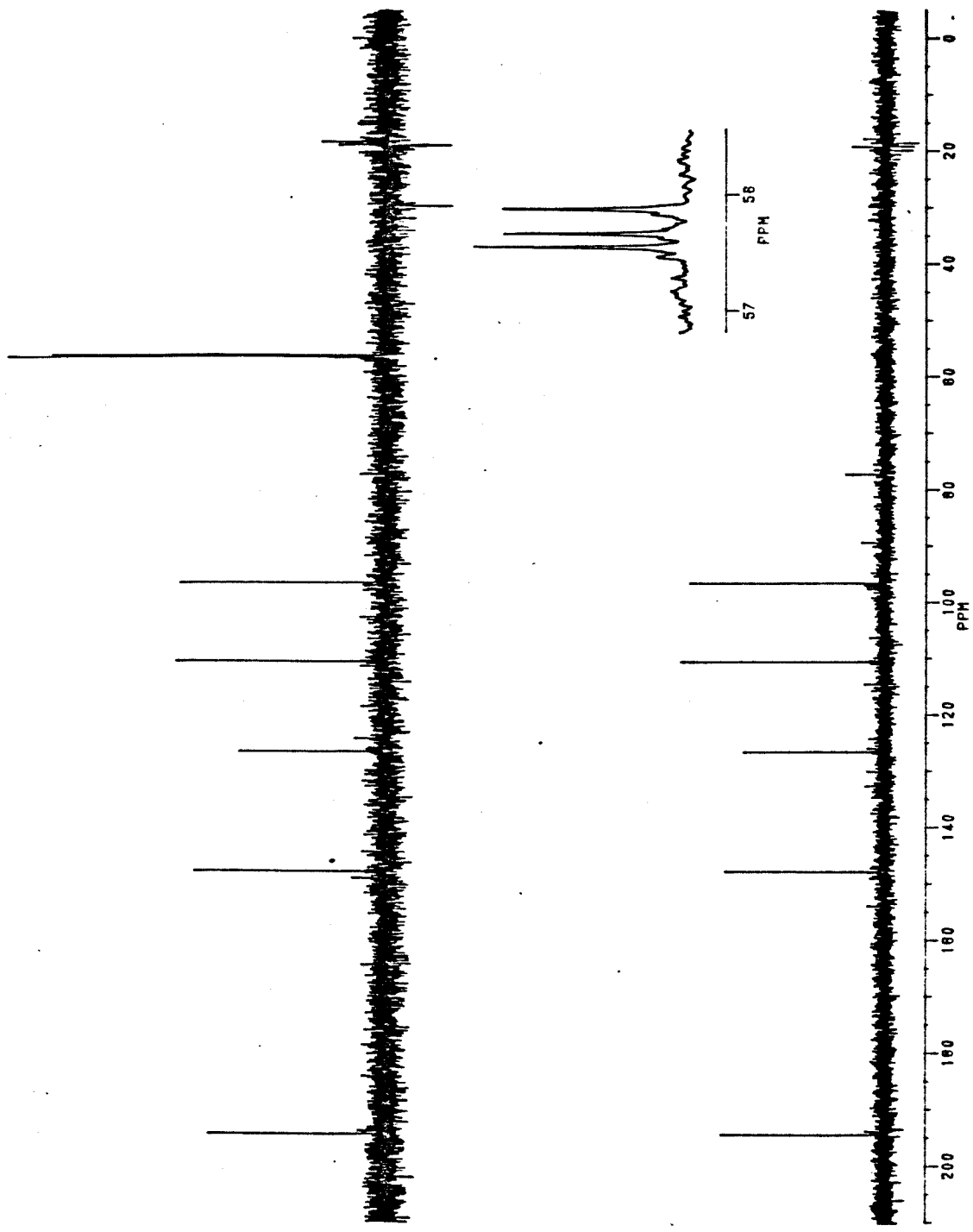
Espectro 45 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de aldeído 2,4,5-trimetóxicinâmico (138)



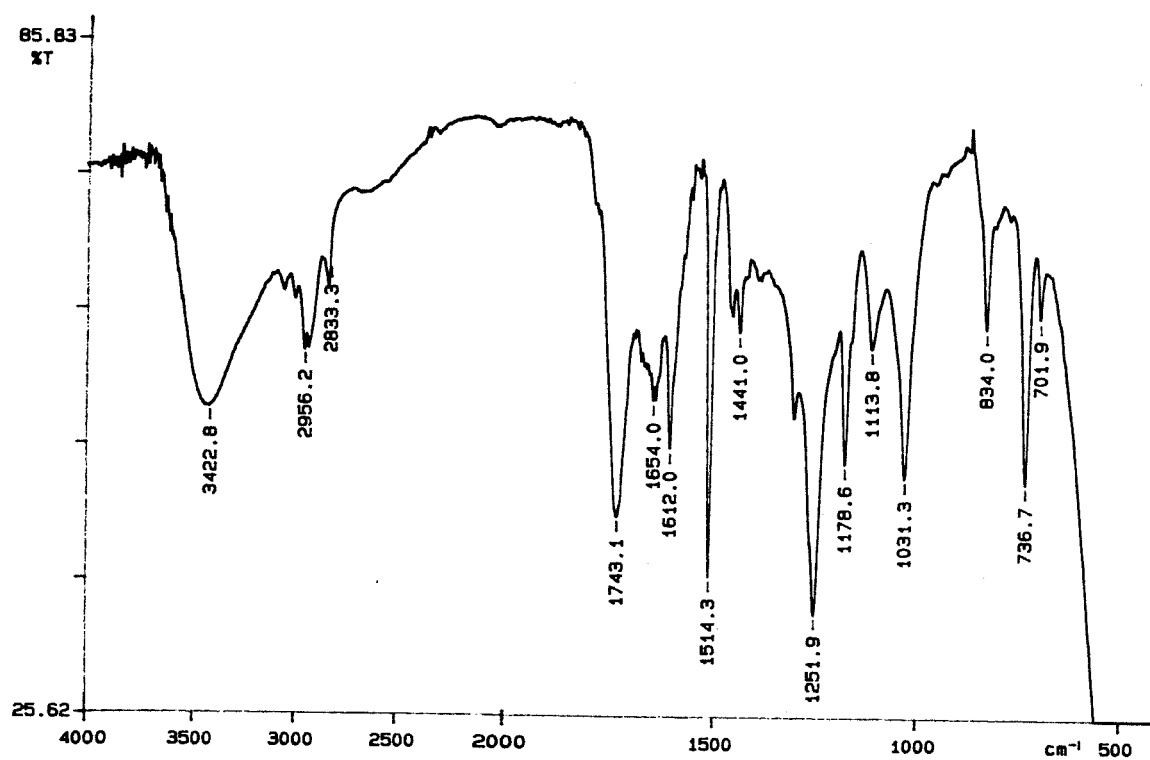




Espectro 47 - RMN- $^{13}\text{C}$  (75,5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de aldeído 2,4,5-trimetóxicinâmico (138)



Espectro 47 - Espectro de DEPT do produto **138**



Espectro 48 - I.V. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de 2-cloro-3-hidroxi-3-(4-metóxi-fenil)-propionato de metila

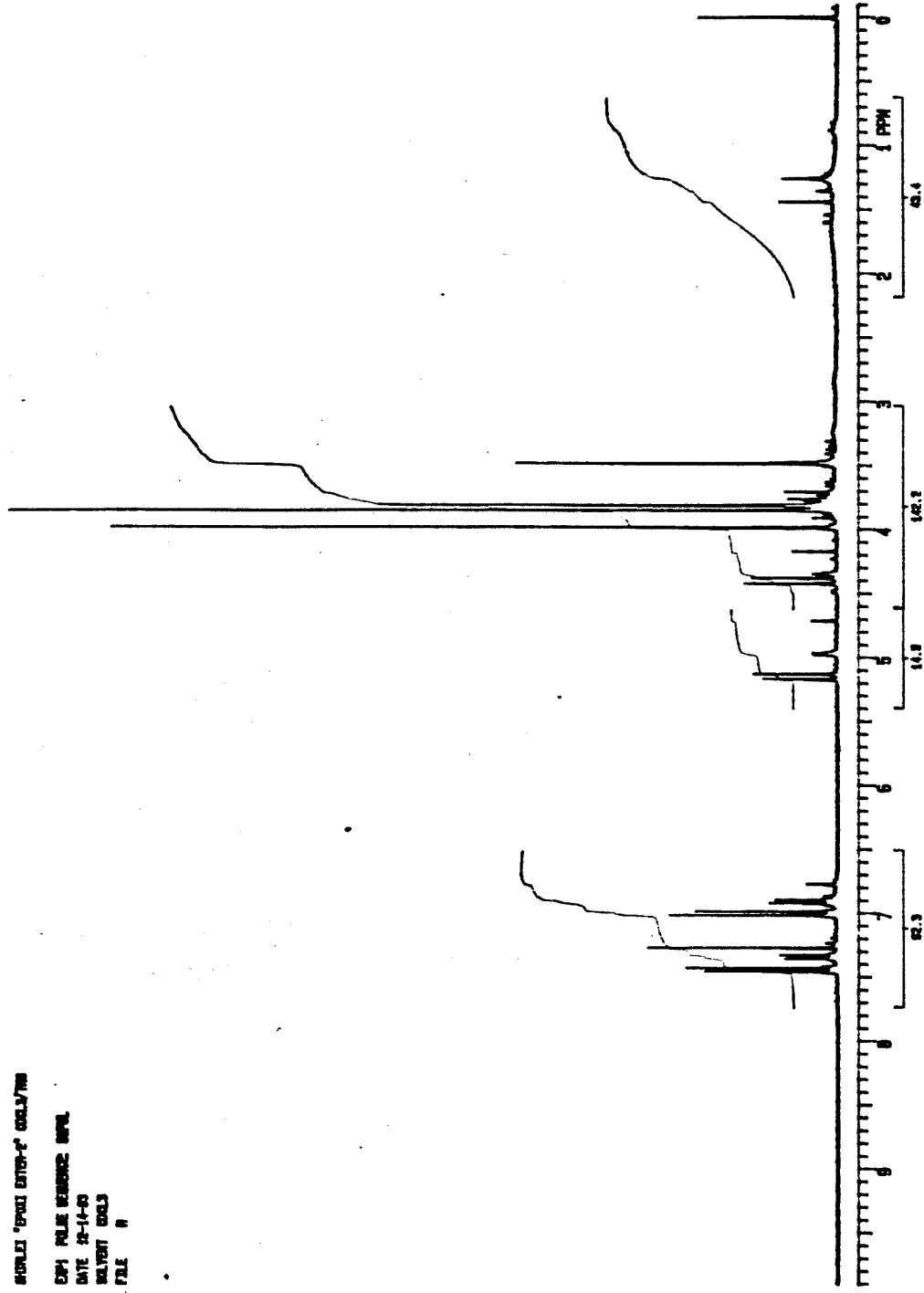
NUMERO 15701 ESTER-4' 08/13/70

CPY FOLK SERVICE INC.

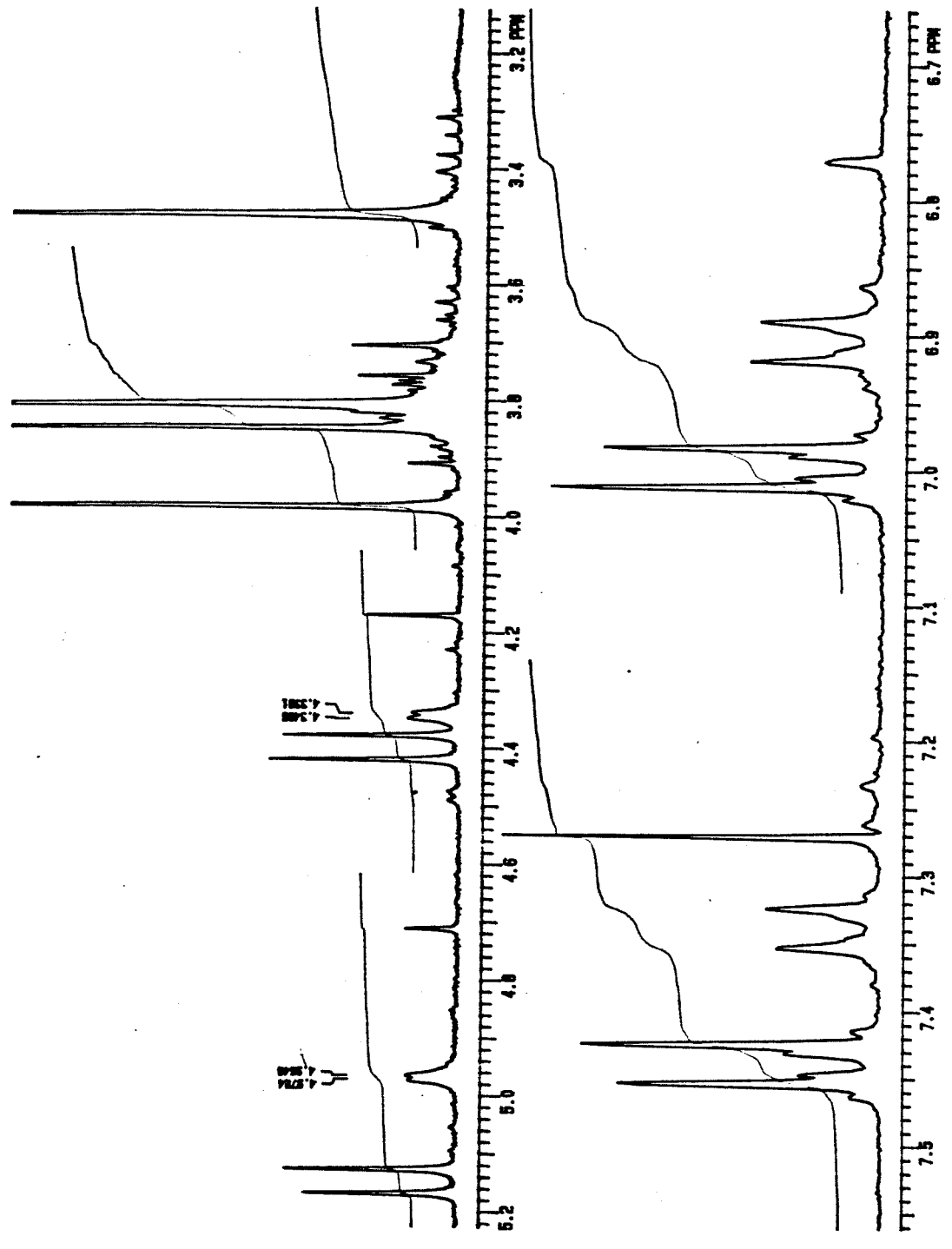
DATE 02-14-70

SOLVENT CDCL<sub>3</sub>

FILE #



Espectro 49 - RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 2-cloro-3-hidróxi-3-(4-metóxi-fenil)-propionato de metila (141)



Expansões do Espectro E.49 de 141

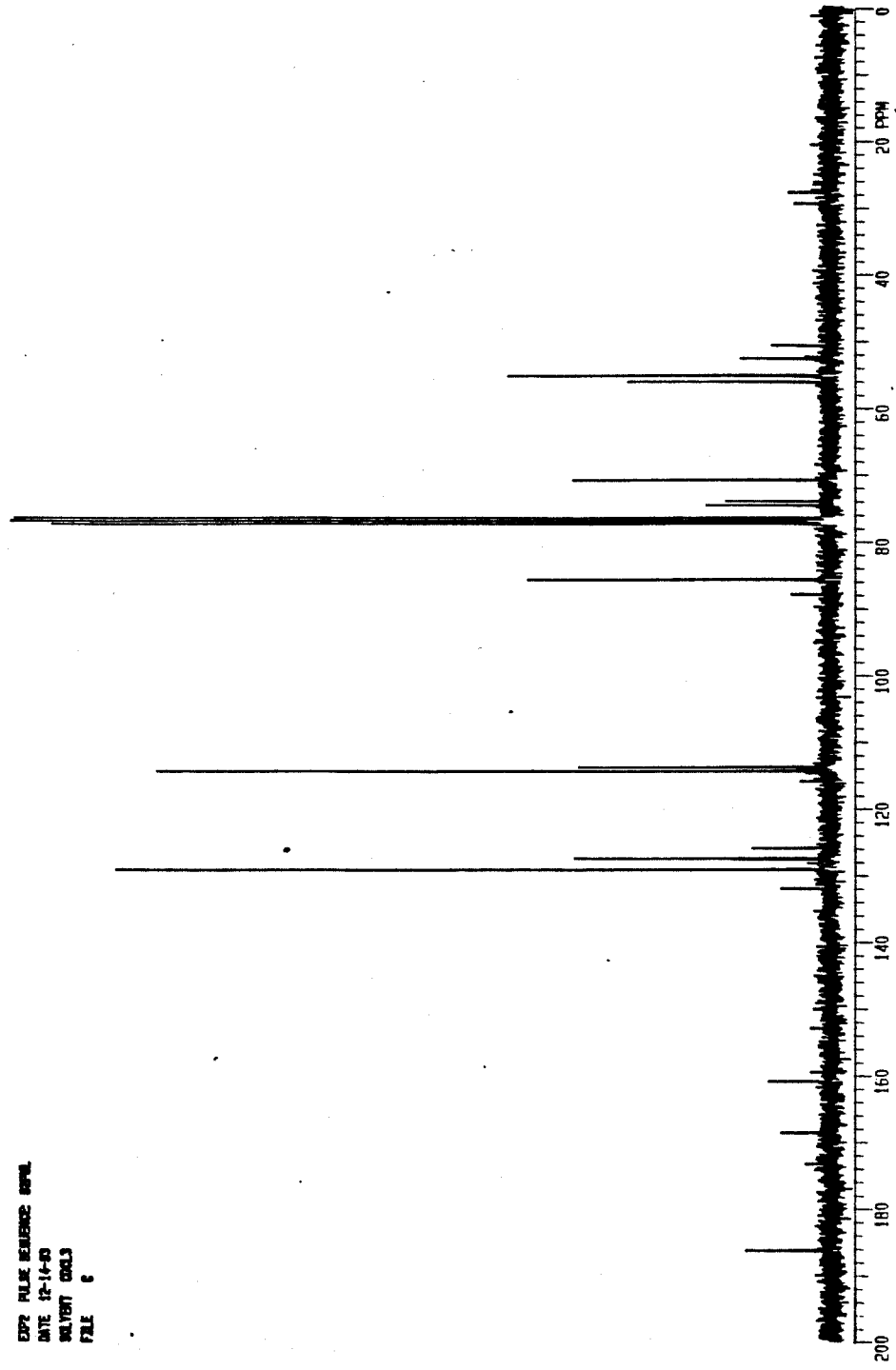
SUBJECT 'EPOXI-ETIPI-2' C001/700.

EXP? PULSE SEQUENCE 80PM

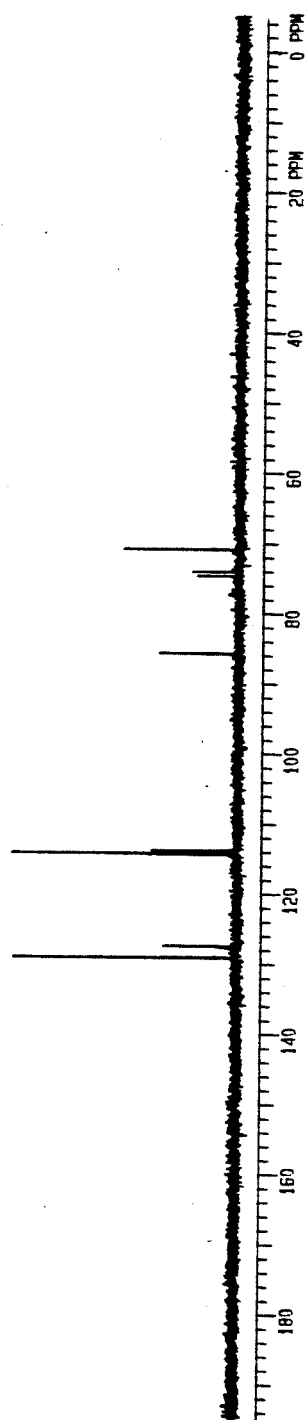
DATE 12-14-80

SOLVENT C0013

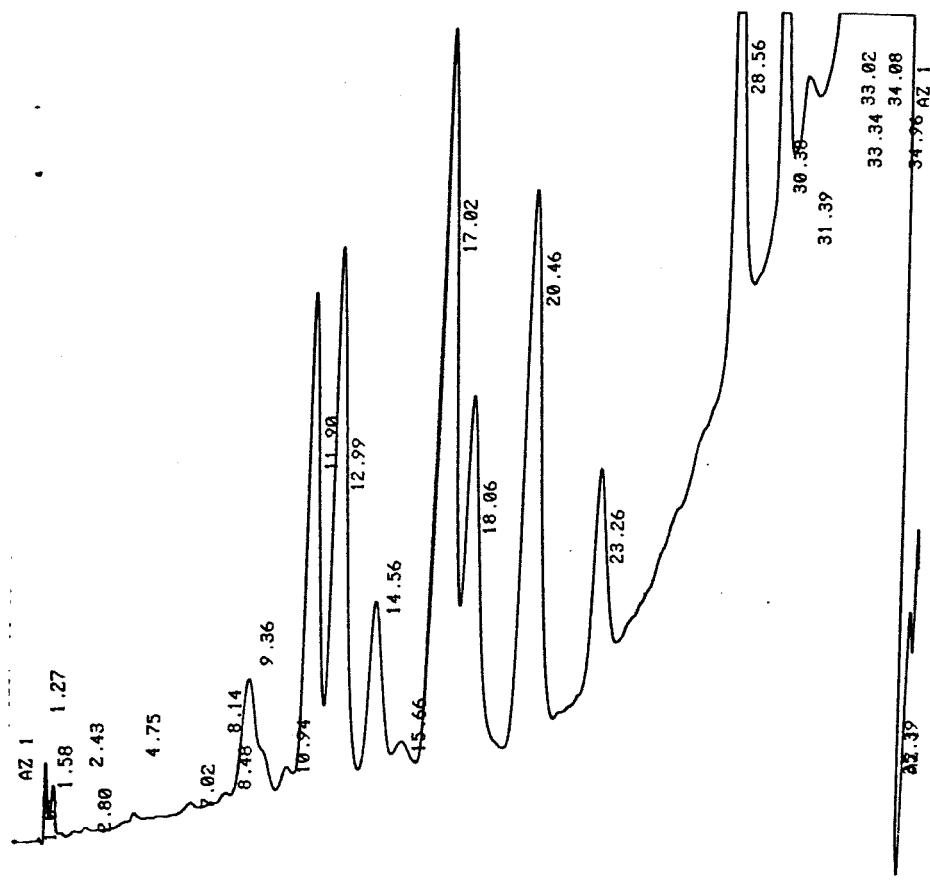
FILE C



Espectro 50 - RMN-<sup>13</sup>C (75,5 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de 2-cloro-3-hidroxi-3-(4-metóxi-fenil)-propionato de metila (141)



Espectro 50 - Espectro de DEPT do produto 141



0/40 18-03-93 18:09:35 CH= 'A' PS= 1.

Figura 2 - Cromatograma do extrato de *P. ferrugineus* eluído com um gradiente de MeOH/H<sub>2</sub>O



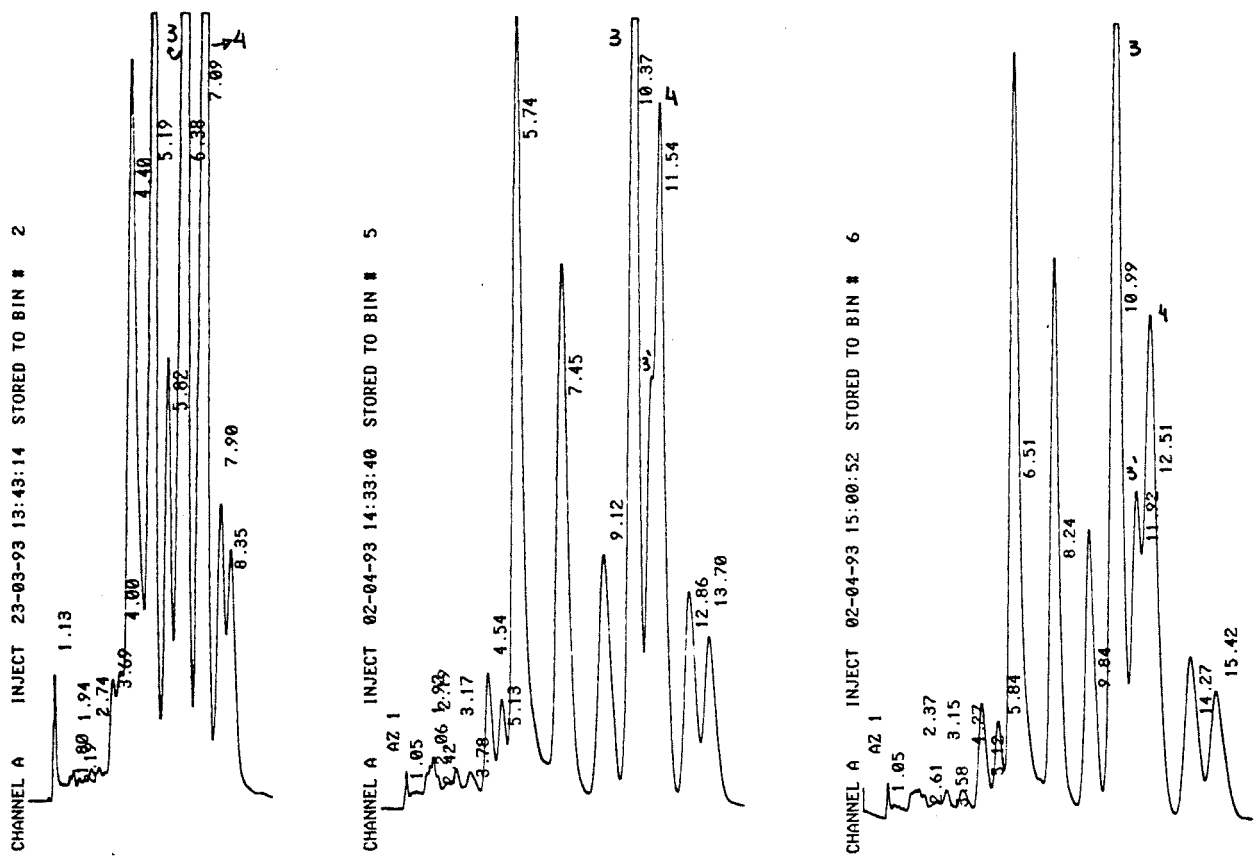


Figura 3 - Cromatogramas do extrato de *P. ferrugineus* obtidos em CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (60:40), CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (45:55) e CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (52:48)

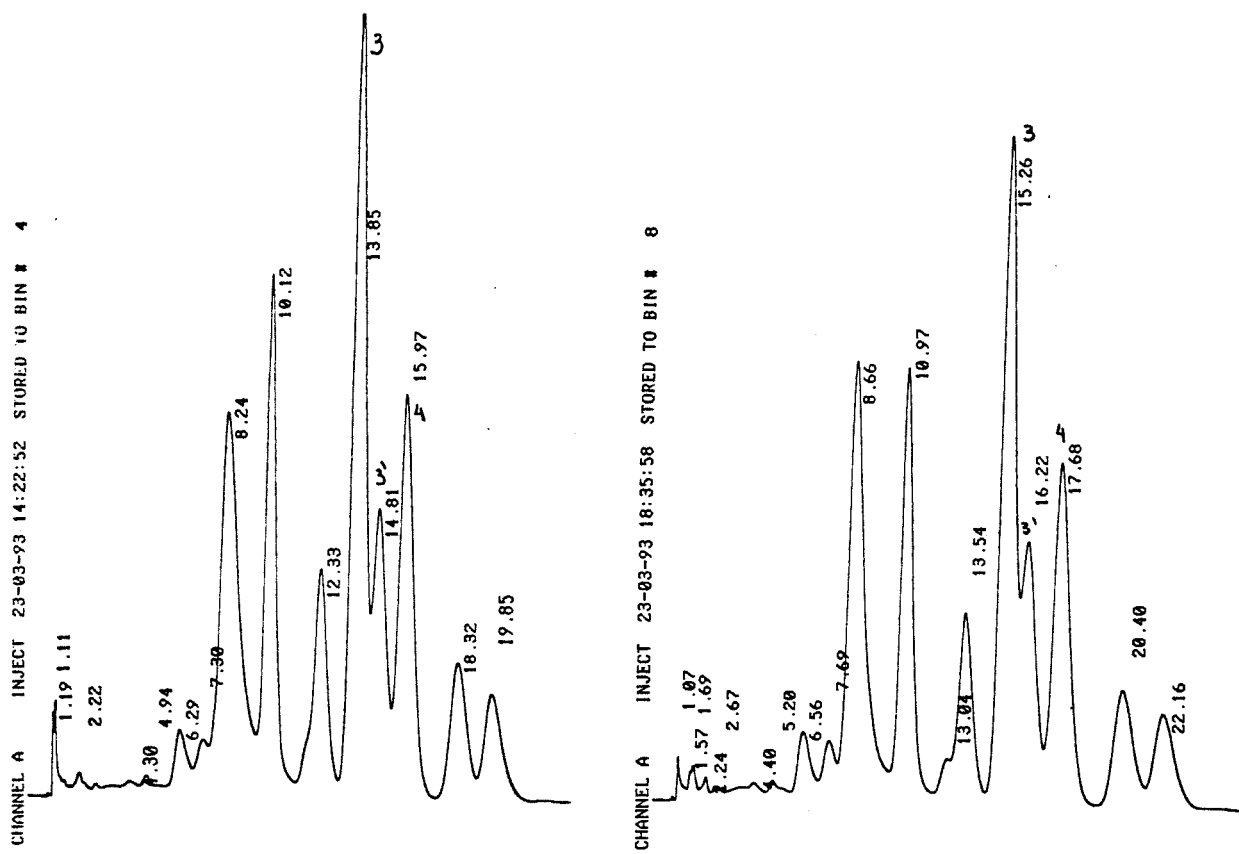


Figura 4 - Cromatograma do extrato de *P. ferrugineus* eluído em CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (50:50) e CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (48:52)

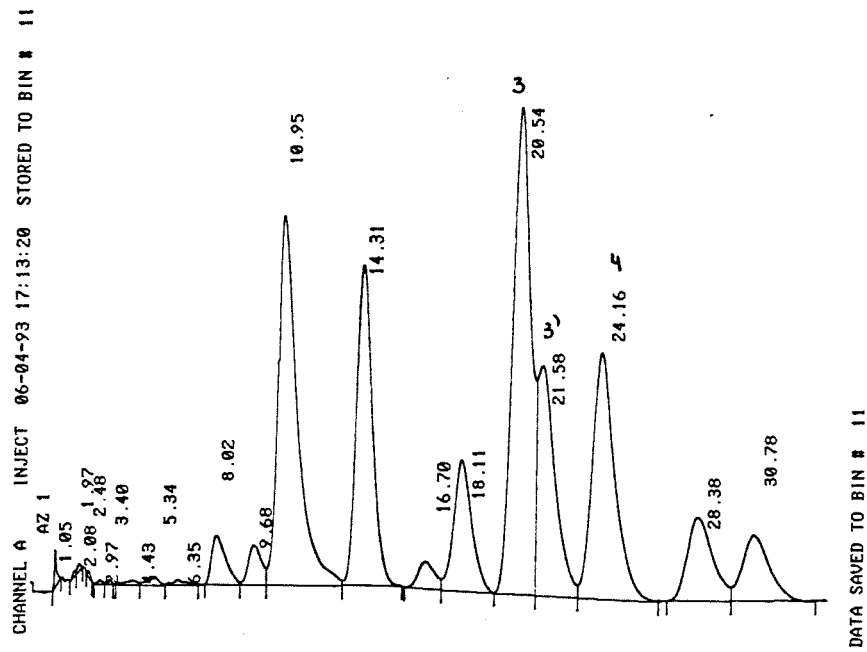


Figura 5 - Cromatograma do extrato de *P. ferrugineus* eluído em  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (45:55)

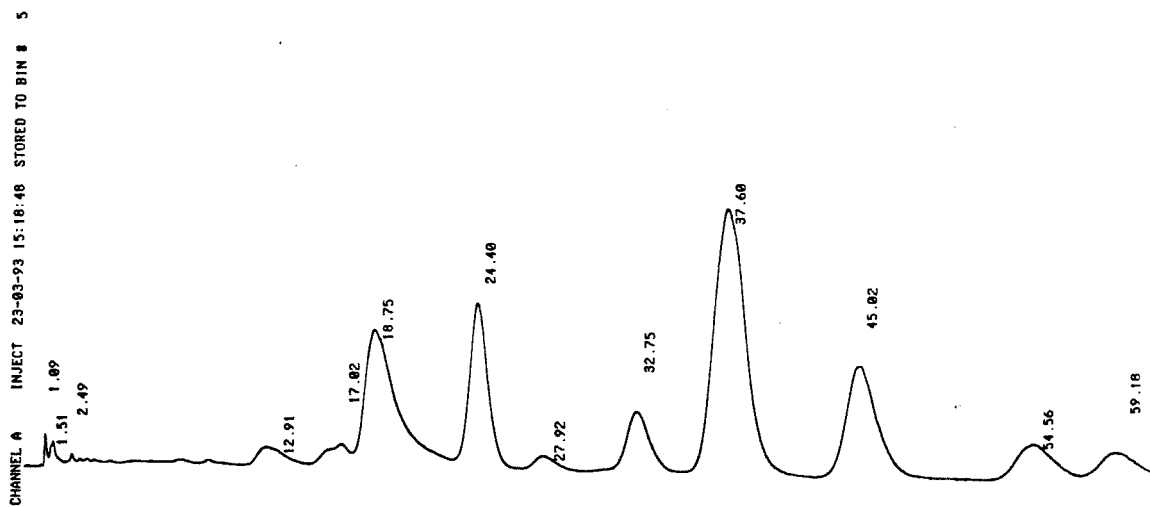


Figura 6 - Cromatograma do extrato de *P. ferrugineus* obtido em  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (40:60)

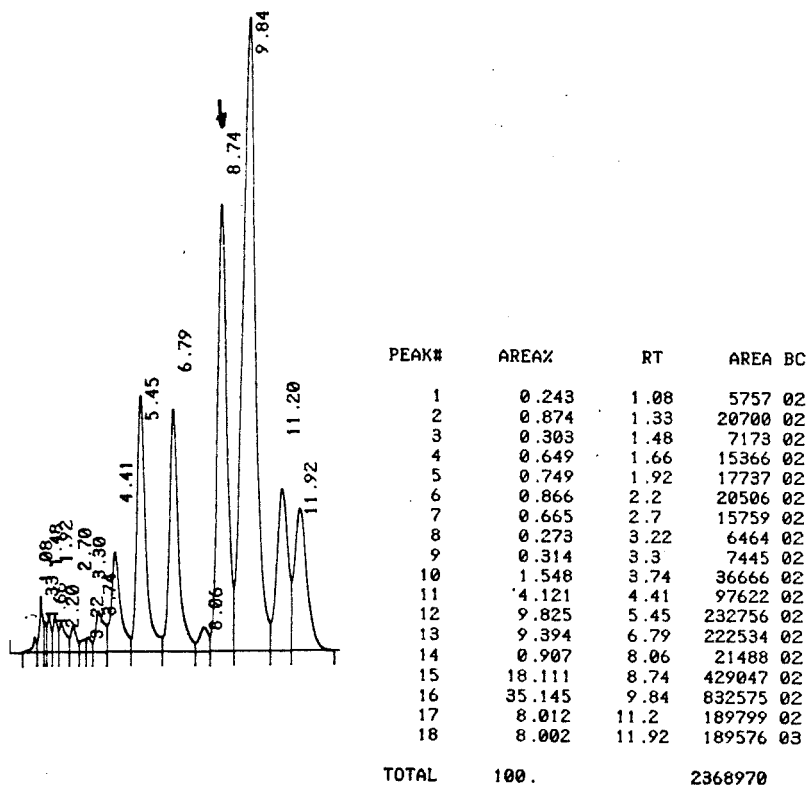
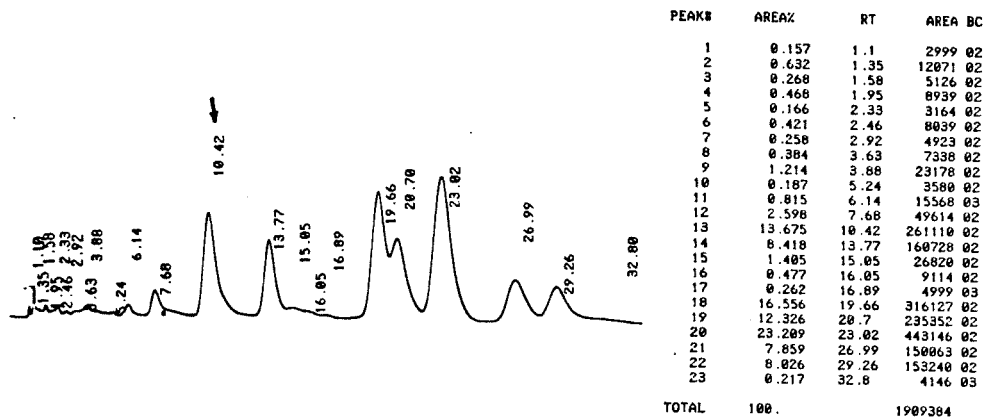
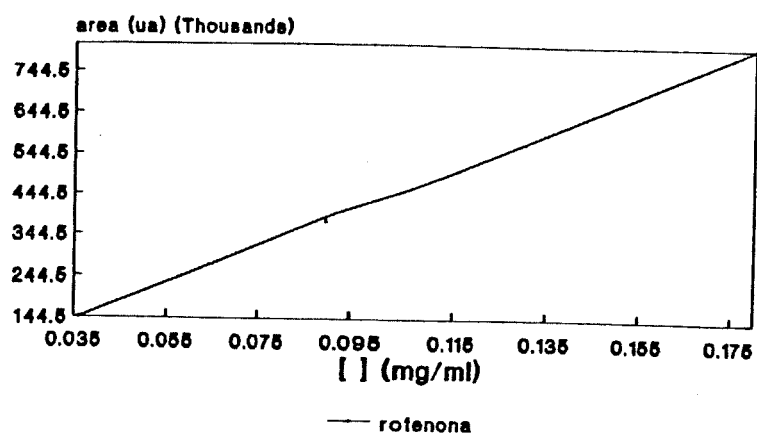


Figura 7 - Cromatogramas das coinjeções do extrato de *P. ahipa* e dos padrões pachyrhizona e neotenenona

## ROTENONA CURVA DE CALIBRACAO



## PACHYRHIZINA CURVA DE CALIBRACAO

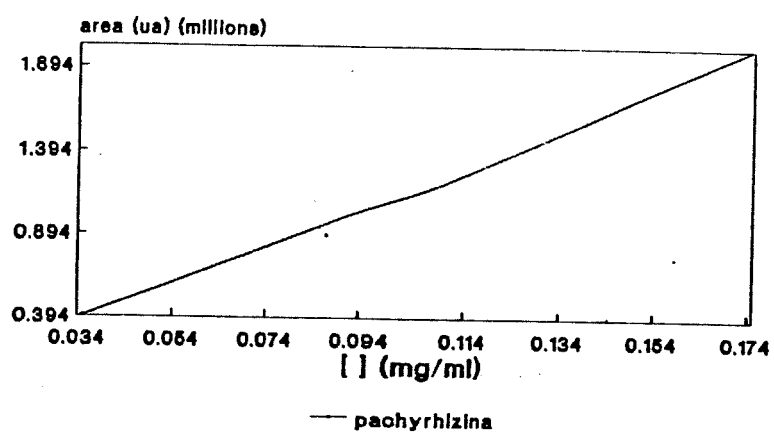
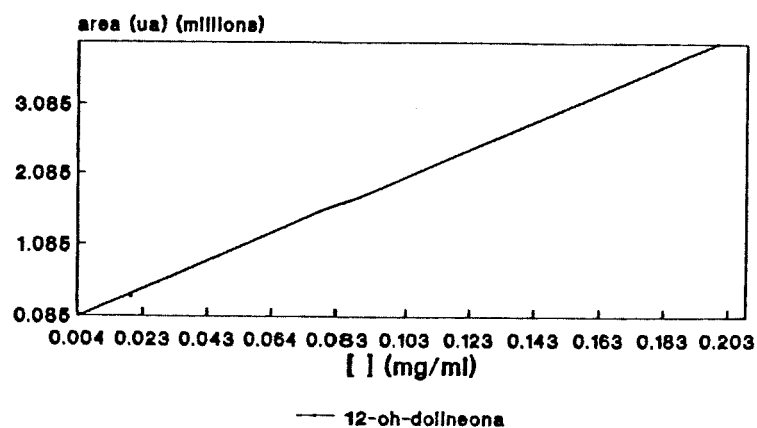


Figura 8 - Curvas de calibração dos padrões rotenona (6) e pachyrhizina (4)

## 12-OH-DOLINEONA CURVA DE CALIBRACAO



## NEOTENONA CURVA DE CALIBRACAO

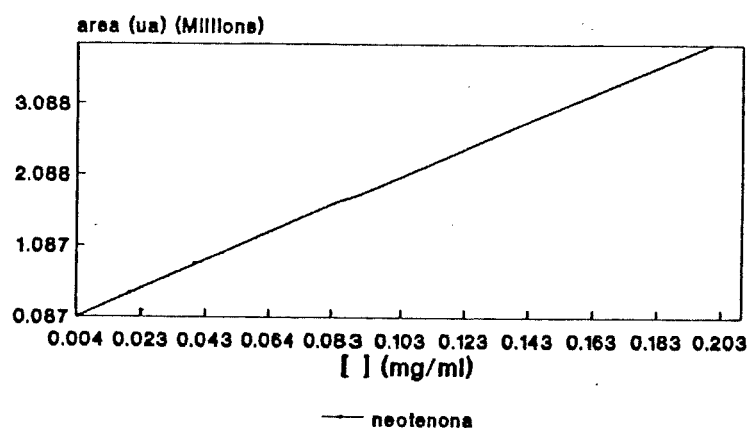
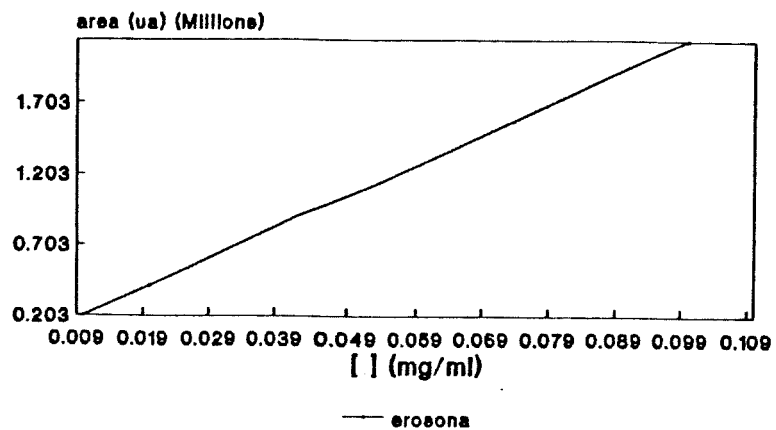


Figura 9 - Curvas de calibraco dos padres 12a-hidridolineona (5) e neotenona (3)

## EROSONA CURVA DE CALIBRACAO



## DOLINEONA CURVA DE CALIBRACAO

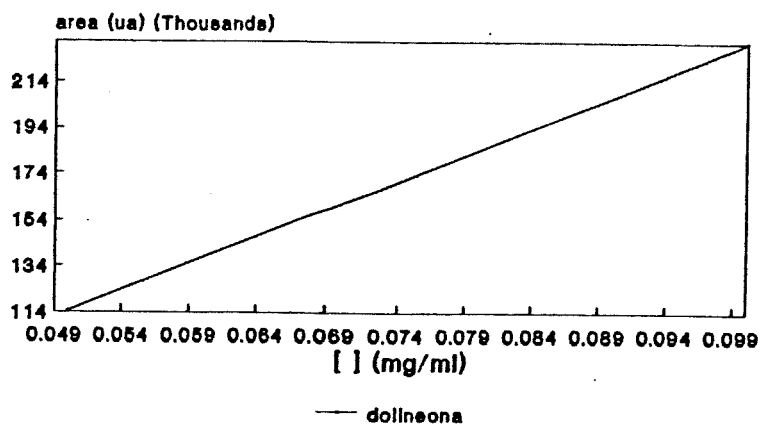
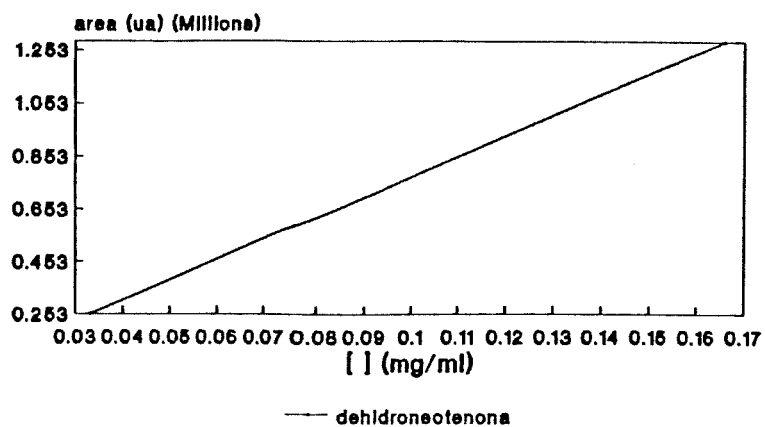


Figura 10 - Curvas de calibração dos padrões erosona (7) e dolineona (1)

## DEHIDRONEOTENONA CURVA DE CALIBRACAO



## 8-OMe-DOLINEONA CURVA DE CALIBRACAO

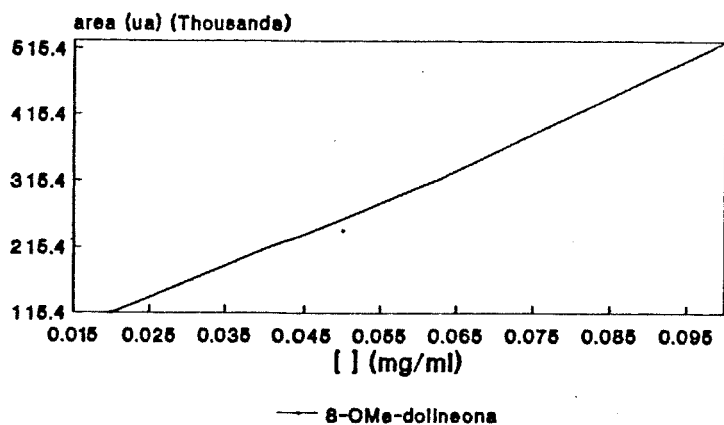
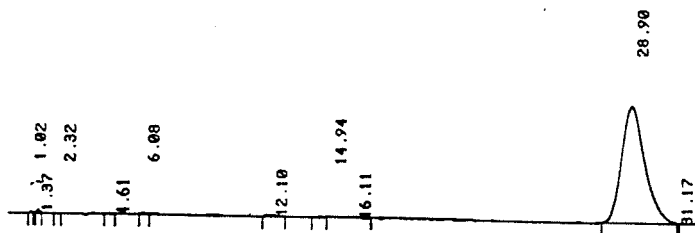


Figura 11 - Curvas de calibrao dos padres deidroneotena (8) e pachyrhizona (ou 8-OMe-dolineona 2)

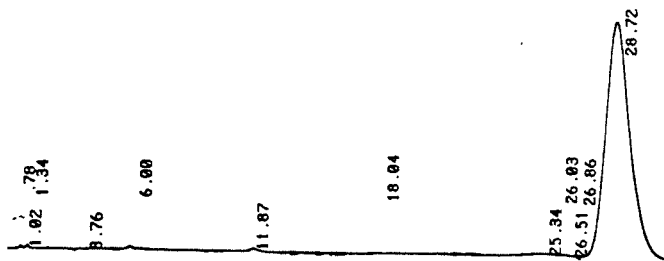




PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.92	0.41	1440 02
2	0.374	1.37	585 02
3	0.852	1.37	1334 03
4	0.163	5.53	255 01
5	0.392	6.22	613 01
6	0.606	8.46	949 01
7	92.372	30.86	144619 02
8	4.322	35.18	6766 03
TOTAL	100.		156561



PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.061	1.02	234 01
2	0.303	1.37	1161 01
3	0.021	2.32	80 01
4	0.056	4.61	215 01
5	0.166	6.08	636 01
6	0.531	12.1	2034 01
7	0.15	14.94	576 02
8	0.651	16.11	2496 03
9	98.04	28.9	375696 02
10	0.02	31.17	77 03
TOTAL	100.		383205



PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.038	0.78	321 02
2	0.141	1.02	1185 02
3	0.29	1.34	2439 03
4	0.389	3.76	3277 01
5	0.28	6.	2359 01
6	0.357	11.87	3009 01
7	0.239	18.04	2011 01
8	1.014	25.34	8541 02
9	0.516	26.03	4347 02
10	0.251	26.51	2110 02
11	0.109	26.86	920 02
12	96.375	28.72	811459 03
TOTAL	100.		841978

Figura 12 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de rotenona (6)

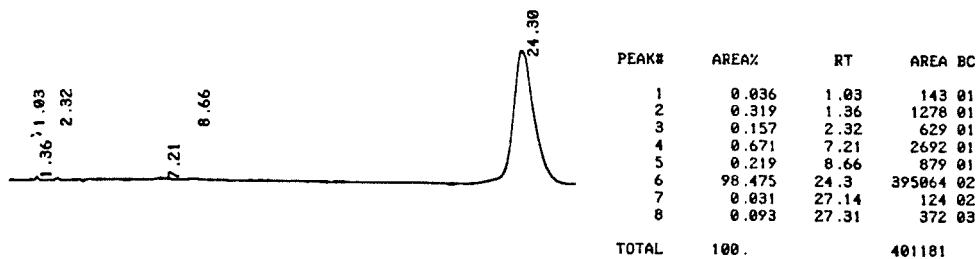
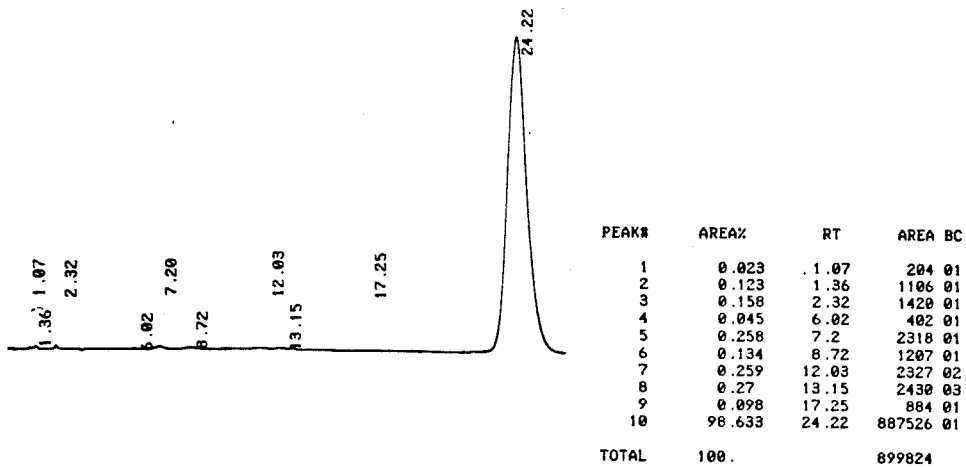
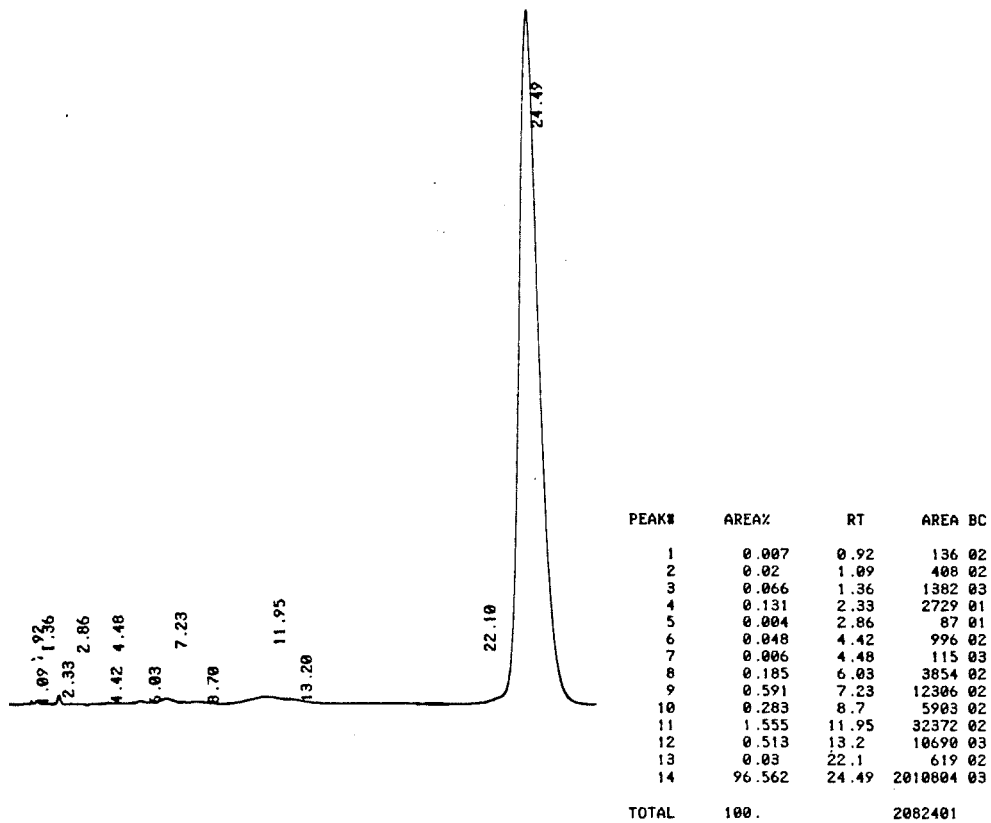


Figura 13 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de pachyrhizina (4)

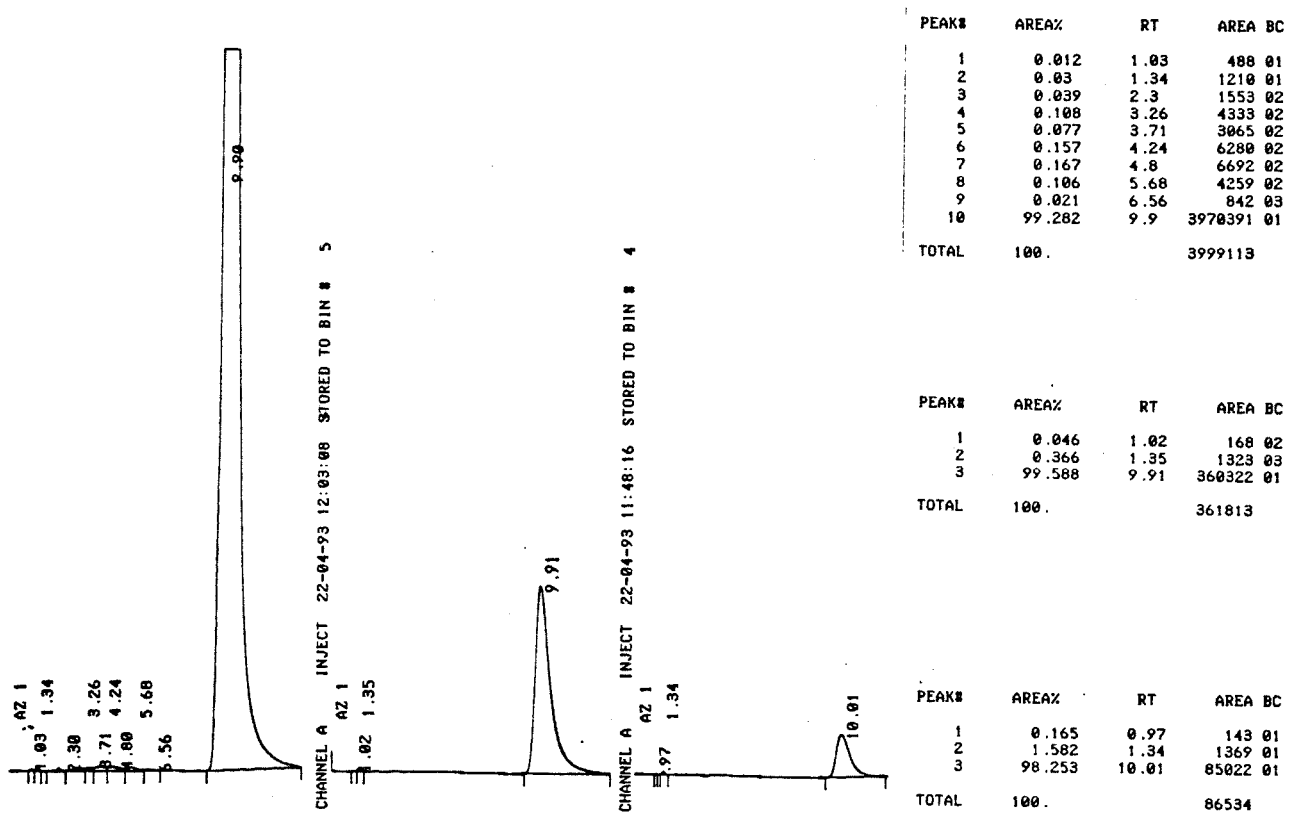


Figura 14 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de 12a-hidróxido lineona (5)

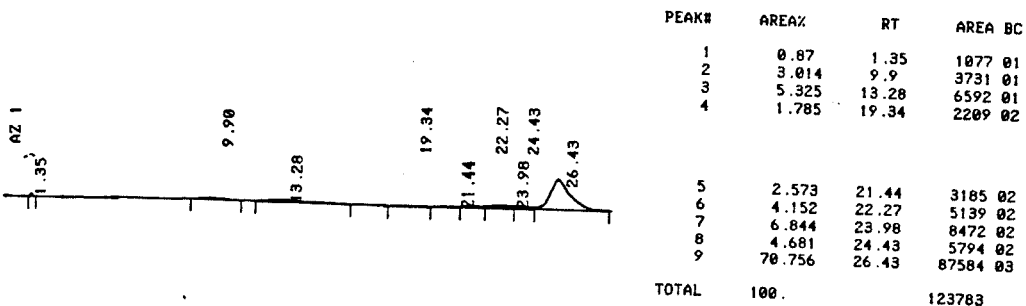
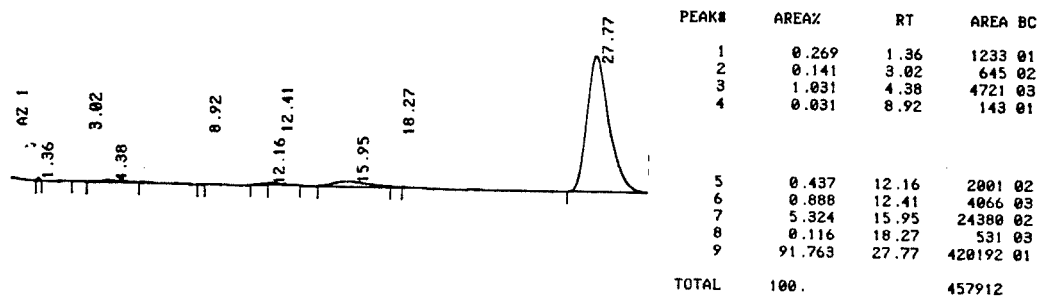
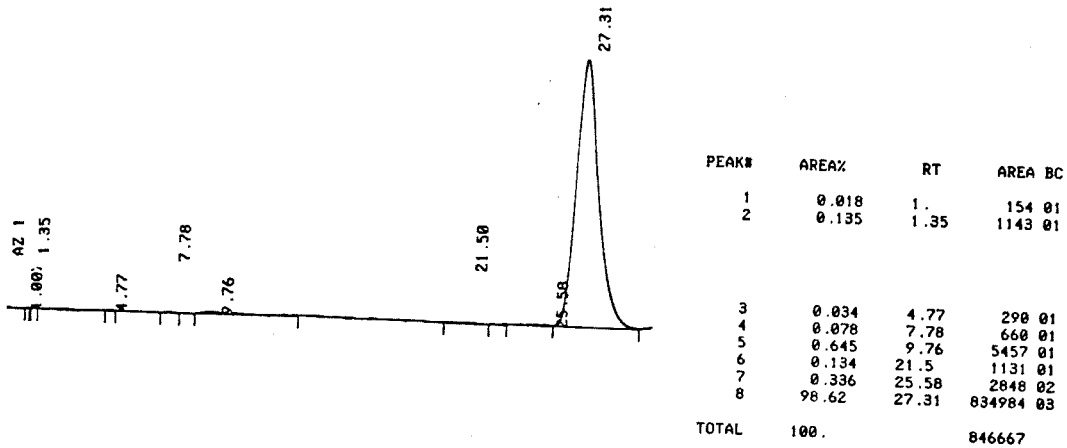
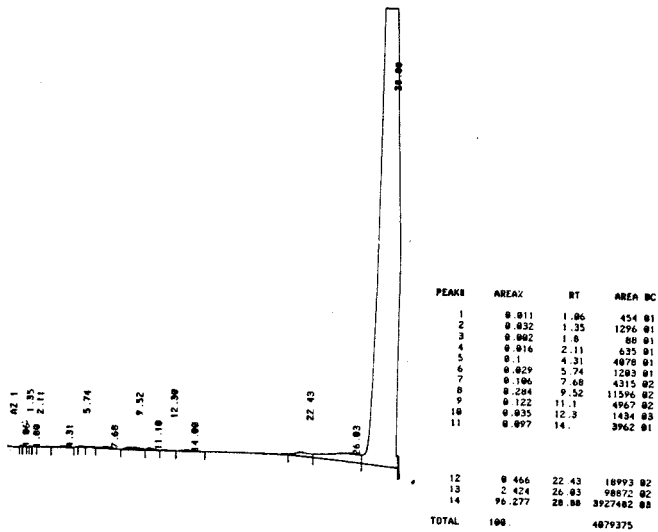


Figura 15 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de neotenona (3)

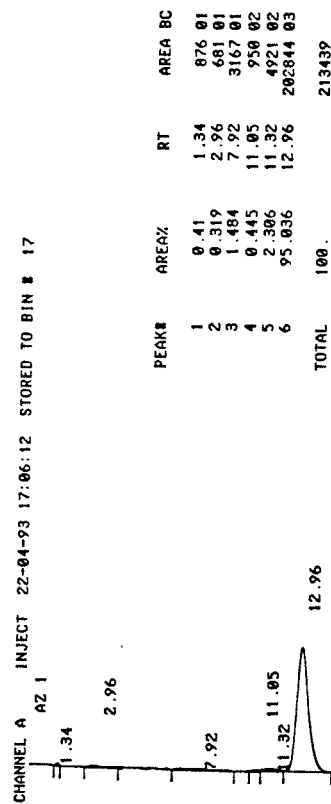
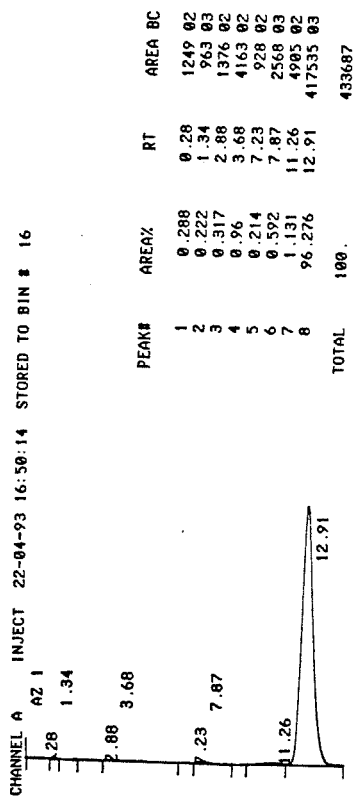
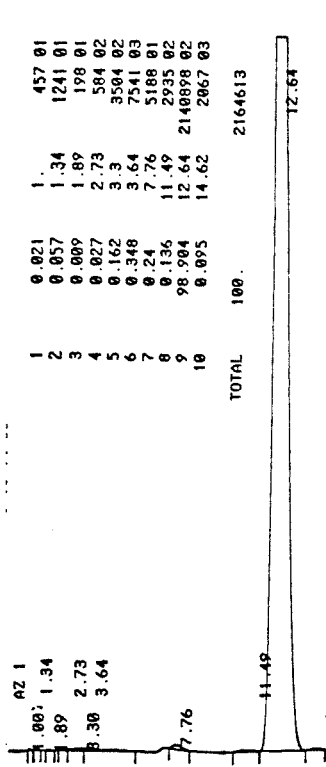


Figura 16 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de erosona (7)

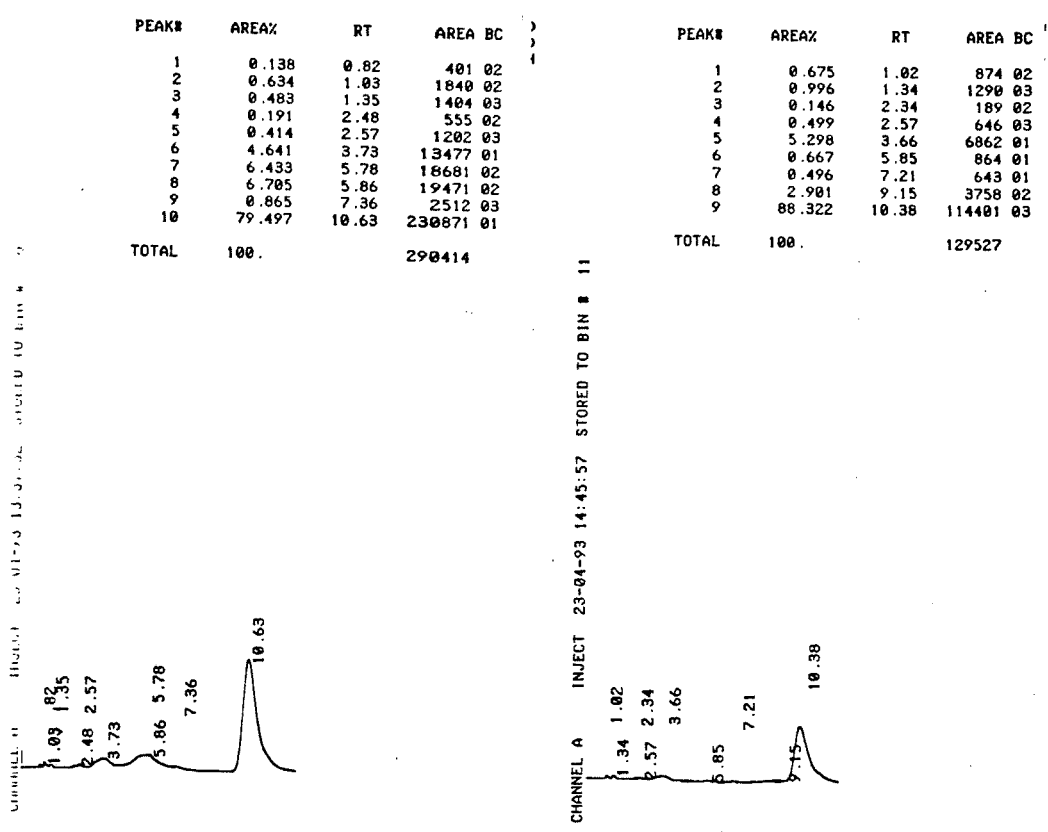
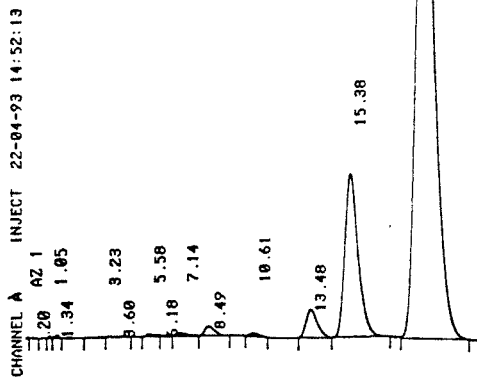


Figura 17 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de dolineona (1)

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.016	0.2	274 01
2	0.03	1.05	504 02
3	0.07	1.34	1166 03
4	0.055	3.23	919 02
5	0.055	3.6	928 03
6	0.202	5.58	3385 02
7	0.047	6.18	787 02
8	0.292	7.14	4892 02
9	0.749	8.49	12539 03
10	0.222	10.61	3714 01
11	2.78	13.48	46535 02
12	18.551	15.38	310484 03
13	76.929	18.83	1287544 01

TOTAL 100. 1673671



PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.032	1.05	116 01
2	0.275	1.35	1003 01
3	0.446	5.55	1627 02
4	0.337	7.1	1230 03
5	0.393	8.44	1436 01
6	0.237	10.7	864 01
7	2.317	13.57	8458 01
8	18.881	15.42	68924 02
9	69.264	18.76	252850 02
10	7.819	21.56	28545 03
TOTAL	100.		365053

CHANNEL A INJECT 22-04-93 15:16:37 STORED TO BIN # 12

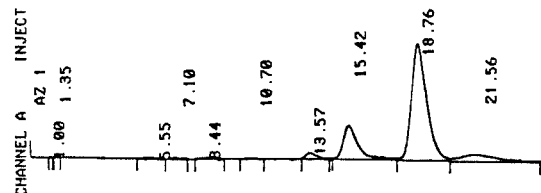
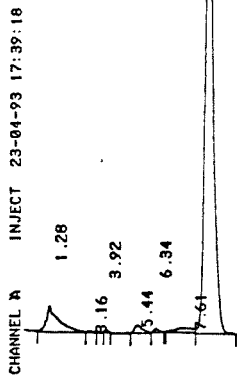
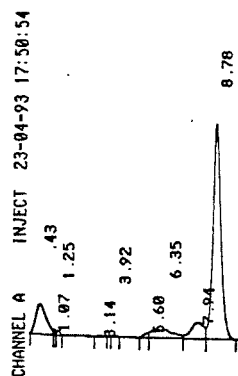


Figura 18 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de deidroneotenona (8)

PEAK#	AREA	RT	AREA BC
1	7.134	1.28	42244 02
2	0.109	3.16	646 03
3	0.204	3.92	1207 01
4	1.406	5.44	8327 02
5	0.365	6.34	2162 03
6	1.829	7.61	10832 02
7	88.952	8.77	526726 03
TOTAL	100.		592144



PEAK#	AREA	RT	AREA BC
1	11.466	0.43	39301 02
2	0.418	1.07	1431 02
3	0.542	1.25	1856 03
4	0.14	3.14	488 01
5	0.184	3.92	632 01
6	0.968	5.6	3317 02
7	7.849	6.35	26202 02
8	8.6	7.94	29478 02
9	69.833	8.78	239354 03
TOTAL	100.		342751



PEAK#	AREA	RT	AREA BC
1	11.235	0.71	16652 02
2	1.466	1.25	2173 03
3	1.945	2.24	2882 02
4	0.471	2.8	698 02
5	0.528	3.26	782 02
6	0.301	3.92	446 03
7	1.219	5.47	1806 02
8	4.922	6.35	7295 02
9	77.914	8.8	115478 03
TOTAL	100.		148212

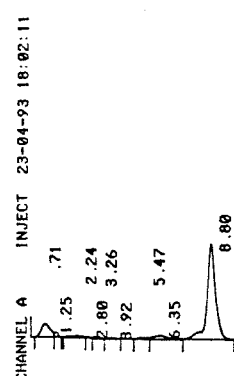
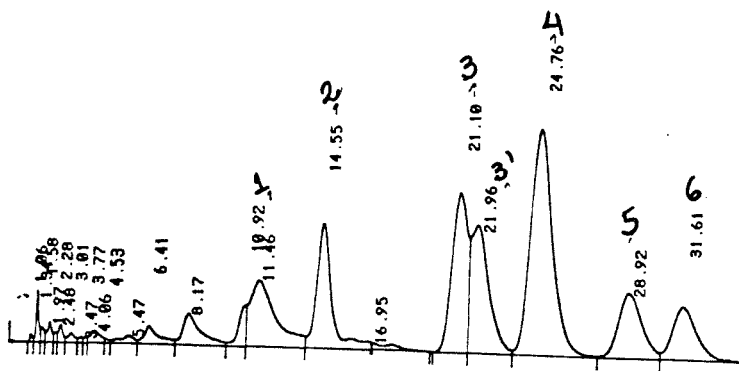
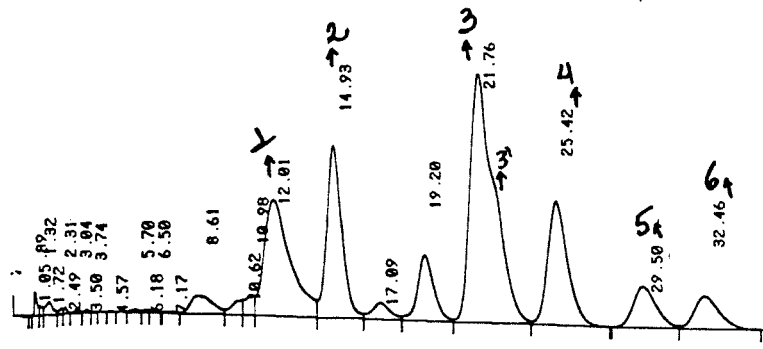


Figura 19 - Cromatogramas obtidos das diluições da solução padrão de pachyrhizona (2)





PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.105	1.06	2645 02
2	0.74	1.34	18641 02
3	0.309	1.58	7779 02
4	0.515	1.97	12971 02
5	0.197	2.28	4969 02
6	0.442	2.48	11128 02
7	0.368	3.01	9272 02
8	0.122	3.47	3079 02
9	0.114	3.77	2859 02
10	0.658	4.06	16573 02
11	0.091	4.53	2298 02
12	0.55	5.47	13838 02
13	1.436	6.41	36174 02
14	3.204	8.17	80695 02
15	1.707	10.92	42989 02
16	9.644	11.46	242859 02
17	11.646	14.55	293280 08
18	0.	16.95	6 05
19	13.232	21.1	333216 02
20	12.524	21.96	315389 02
21	26.469	24.76	666569 02
22	8.555	28.92	215450 02
23	7.37	31.61	185591 03
TOTAL	100.		2518270



PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.002	0.89	54 02
2	0.38	1.05	9700 02
3	0.177	1.32	4520 02
4	0.525	1.72	13409 02
5	0.12	2.31	3056 02
6	0.123	2.49	3130 02
7	0.1	3.04	2546 02
8	0.066	3.5	1697 03
9	0.019	4.57	494 01
10	0.094	5.7	2403 02
11	0.056	6.18	1435 02
12	0.064	6.5	1631 03
13	0.034	7.17	874 02
14	2.03	8.61	51824 02
15	0.869	10.62	22175 02
16	1.009	10.98	25755 02
17	17.15	12.01	43735 02
18	12.912	14.93	329578 02
19	1.562	17.09	39864 02
20	6.032	19.2	153973 02
21	32.978	21.76	841756 02
22	13.718	25.42	350148 03
23	5.398	29.5	137792 02
24	4.58	32.46	116898 03
TOTAL	100.		2552447

Figura 20 - Cromatogramas dos extratos de *P. ahipa* e *P. ferrugineus* (em MeCN/H<sub>2</sub>O [45:55]) obtidos no experimento I

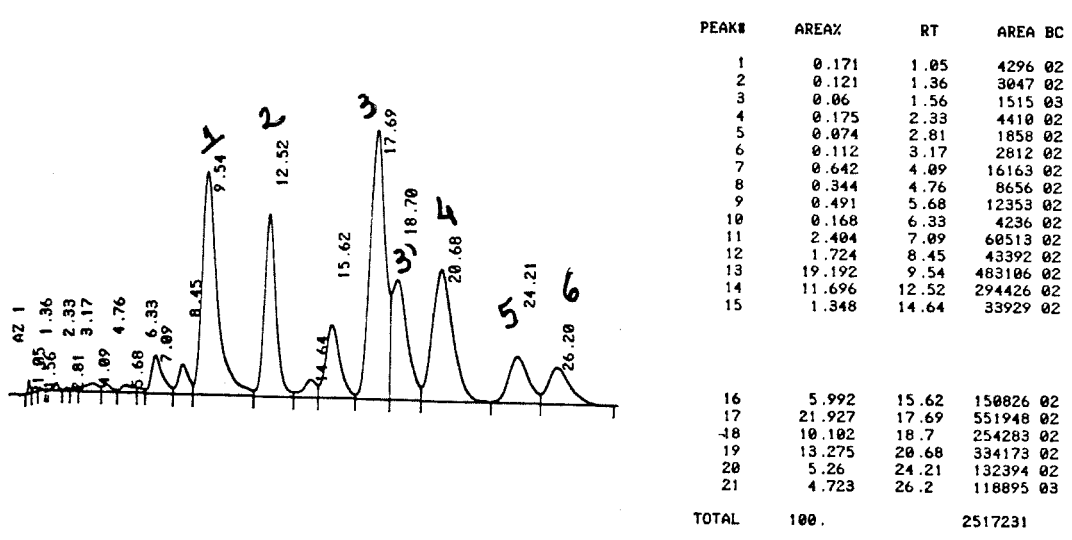
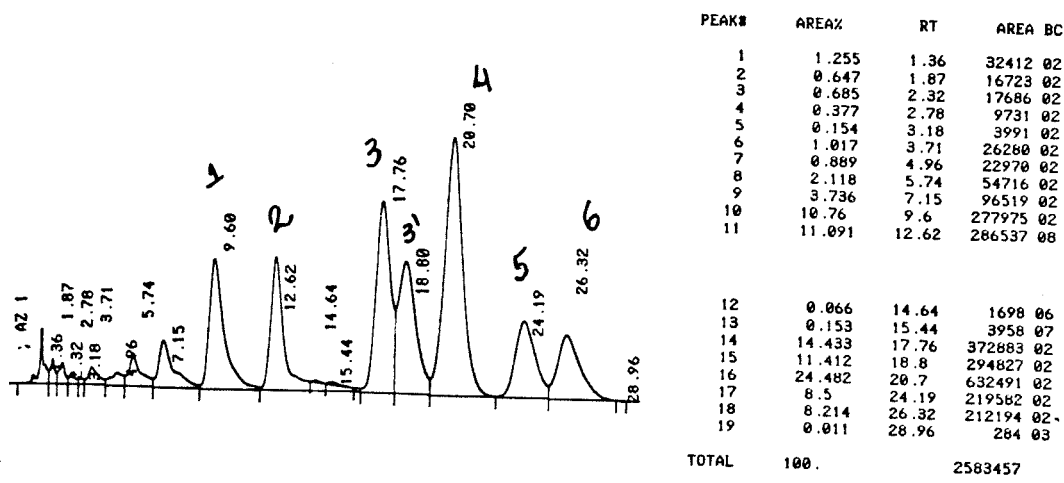


Figura 21 - Cromatogramas dos extratos de *P. ahipa* e *P. ferrugineus* obtidos no experimento II

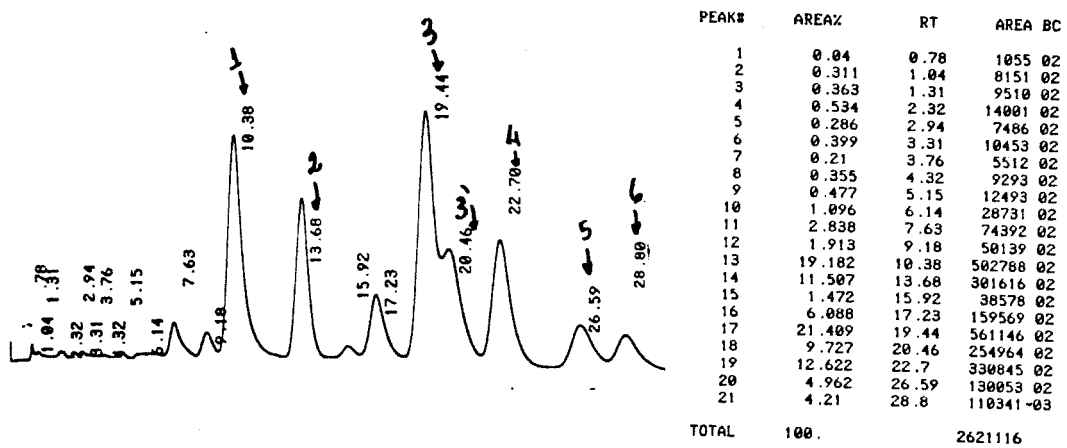
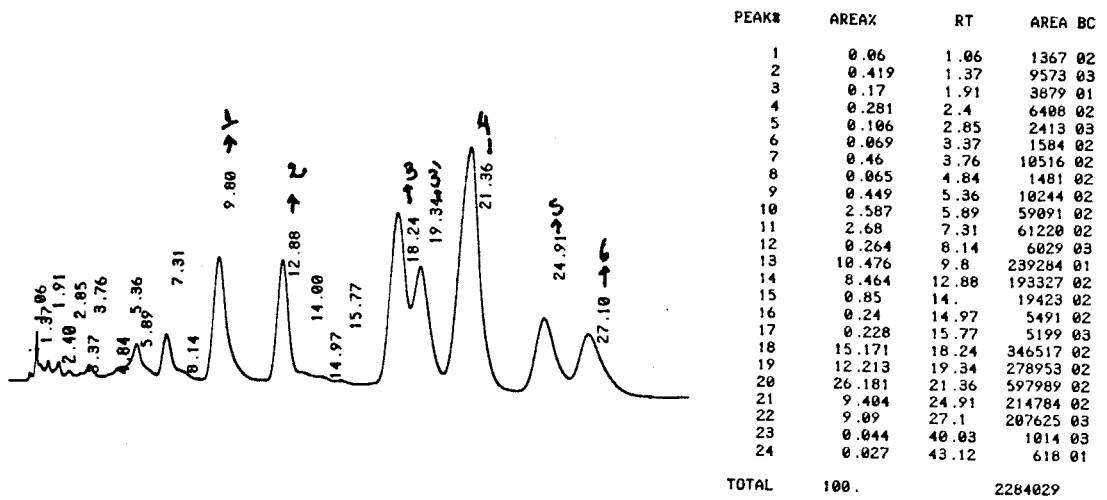
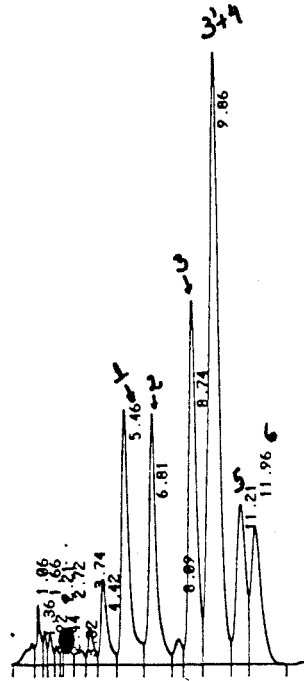
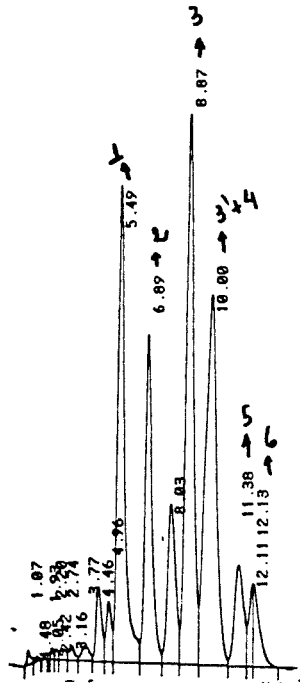


Figura 22 - Cromatogramas dos extratos de *P. ahipa* e *P. ferrugineus* obtidos no experimento III



PEAK#	AREAZ	RT	AREA BC
1	1.015	1.06	26007 02
2	1.262	1.36	32323 02
3	0.59	1.66	15113 02
4	0.696	1.92	17837 02
5	0.383	2.21	9824 02
6	0.191	2.44	4902 02
7	0.832	2.72	21330 02
8	0.615	3.32	15757 02
9	1.325	3.74	33953 02
10	3.322	4.42	85117 02
11	10.831	5.46	277501 02
12	10.704	6.81	274248 02
13	1.07	8.09	27416 02
14	15.343	8.74	393105 02
15	35.06	9.86	898290 02
16	8.556	11.21	219207 02
17	8.205	11.96	210235 03
TOTAL	100.		2562165



PEAK#	AREAZ	RT	AREA BC
1	0.26	1.07	6800 02
2	0.09	1.48	2357 03
3	0.078	1.93	2043 02
4	0.057	2.05	1492 02
5	0.19	2.2	4966 02
6	0.191	2.42	4974 02
7	0.388	2.74	10135 02
8	0.419	3.16	10944 02
9	0.628	3.77	16405 02
10	2.203	4.46	57520 02
11	1.771	4.96	46240 02
12	19.027	5.49	496745 02
13	12.326	6.89	321797 02
14	6.944	8.03	181295 02
15	23.104	8.87	603176 02
16	22.459	10.	586349 02
17	5.052	11.38	131891 02
18	2.002	12.11	52268 02
19	2.809	12.13	73344 03
TOTAL	100.		2610741

Figura 23 - Cromatogramas dos extratos de *P. ahipa* e *P. ferrugineus* (em MeCN/H<sub>2</sub>O [55:45]) obtidos no experimento IV