UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Dissertação de Mestrado

FLAVONOLIGNÓIDES DE *Iryanthera grandis*

Dulce Helena Siqueira Silva

Orientador: Prof. Dr. Massayoshi Yoshida

São Paulo
junho - 1993

FLAVONOLIGNOIDES DE IRYANTHERA GRANDIS

DULCE HELENA SIQUEIRA SILVA

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Quimica da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - Area: Química Orgânica.

Aprovada por:

Prof. Dr. Massayoshi Yoshida
IQ-USP
(Orientador e Presidente)

Profa. Dra. Lúcia Maria Xavier Lopes
IQ - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. Aderbal Farias Magalhães
IQ-UNICAMP

SAO PAULO, SP
25 DE JUNHO DE 1993

O presente trabalho foi realizado sob a orientação do
Prof. Dr. MASSAYOSHI YOSHIDA

Agradecimentos Especiais

Aos meus pais Oscar e Dulce, pelo amor e estímulo incondicionais.

Às minhas irmãs Elisa e Cecília, queridas amigas.

À vó Didi, pelo exemplo de vida.

Ao meu marido Luiz, pelo carinho e apoio demonstrados.

Ao Gabriel, melhor razão da minha vida.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Massayoshi Yoshida, pela dedicação, estímulo e confiança.

Aos Professores e Funcionários do Laboratório de Produtos Naturais, pela colaboração desinteressada e amizade.

Aos funcionários da Central Analítica, pela obtenção de todos os espectros.

À Profa. Dra. Sílvia B. M. Barros, pelos ensaios farmacológicos.

Ao Alberto, pela ajuda no uso do HPLC.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais: Ana Luísa, Cláudia, Clara, Fátima , Celcione, Fred, Gilberto, Cris, Jorge, Juceni, Dirceu, Luciana, Mariana, Nazareth, Norberto, Renata, Roberto, Sérgio e Walmir, pela ajuda e amizade.

À Angela, pela amizade.

À CAPES, pela bolsa concedida.

"Adventure on, for from the
littlest clue
Has come whatever worth
man ever knew."

John Masefield

Índice Geral

Índice de Esquemas ii
Índice de Figuras ii
Índice de Tabelas iii
Abreviaturas e Símbolos v
Resumo vii
Abstract viii
Introdução 01
Parte Experimental 05
1- Especificação dos Instrumentos, Materiais e Métodos 05
2- Obtenção dos Extratos 06
3- Isolamento dos Constituintes Químicos 07
3.1- Extrato Hexânico 07
3.2- Extrato Etanólico 12
4- Reações de Acetilação 22
5- Dados Físicos e Espectroscópicos das Substâncias Isoladas 23
Resultados e Discussão 26
1- Constituintes Químicos isolados de *Iryanthera grandis* 26
2- Identificação e Determinação Estrutural das Substâncias Isoladas 27
2.1- Identificação de Ig-1 27
2.2- Identificação de Ig-2 30
2.3- Identificação de Ig-3 e Ig-4 32
2.4- Considerações Gerais sobre as Iryantherinas G, H, I e J (Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8) 35
2.5- Elucidação Estrutural de Ig-5 Ac 37
2.6- Elucidação Estrutural de Ig-6 Ac 45
2.7- Estudo Estereoquímico de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac 47
2.8- Elucidação Estrutural de Ig-7 Ac e Ig-8 Ac 52
2.9- Estudo Estereoquímico de Ig-7 Ac e Ig-8 Ac por comparação com Ig-5 Ac e Ig-6 Ac 57
3- Considerações Finais 59
4- Espectros de RMN 60
Bibliografia 85

ÍNDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1 Fracionamento da Solução Hexânica das Amêndoas de *Iryanthera grandis*. 08
ESQUEMA 2: Fracionamento do Extrato Etanólico das Amêndoas de *Iryanthera grandis*. 15
ESQUEMA 3: Fragmentações observadas no Espectro de Massas de Ig-2. 31
ESQUEMA 4: Fragmentações observadas no Espectro de Massas de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac. 38
ESQUEMA 5: Fragmentações observadas no Espectro de Massas de Ig-7 Ac e Ig-8 Ac. 53

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-1. 61
FIGURA 2: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200MHz, $CDCl_3$) de Ig-1. 62
FIGURA 3: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-2. 63
FIGURA 4: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-2. 64
FIGURA 5: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-3. 65
FIGURA 6: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-4. 66
FIGURA 7: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-3. 67
FIGURA 8: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac. 68
FIGURA 9: Espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac. 69
FIGURA 10: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135° (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac. 70
FIGURA 11: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac. 71

FIGURA 12: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-6 Ac. 72
FIGURA 13: Espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) da mistura de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac. 73
FIGURA 14: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135º (50 MHz, $CDCl_3$) da mistura de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac. 74
FIGURA 15: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-6 Ac. 75
FIGURA 16: Espectro de NOE - diff (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac. 76
FIGURA 17: Espectro de NOE - diff (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-6 Ac. 77
FIGURA 18: Estruturas representativas de Ig-5 Ac e de Ig-6 Ac. 51
FIGURA 19: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-7 Ac. 78
FIGURA 20: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-7 Ac. 79
FIGURA 21: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac. 80
FIGURA 22: Espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac. 81
FIGURA 23: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135º (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac. 82
FIGURA 24: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac. 83
FIGURA 25: Estruturas representativas de Ig-7 Ac e de Ig-8 Ac. 58

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1: Fracionamento da fase hidroalcoólica do extrato hexânico de A. 09
TABELA 2: Fracionamento da fase hidroalcoólica do extrato hexânico de B. 11
TABELA 3: Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico de A (1ª CC). 13
TABELA 4: Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico de A (2ª CC) 19
TABELA 5: Fracionamento do extrato etanólico acetilado de B. 20
TABELA 6: Fracionamento de EB7 por CCDP. 21

TABELA 7: Correlacões obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-1. 29
TABELA 8: Correlacões obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H de Ig-2. 31
TABELA 9: Dados de RMN de ^{1}H (δ (ppm); mult.; J (Hz)) de Ig-3 e Ig-4 com as respectivas interpretações. 33
TABELA 10: Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-3. 34
TABELA 11: Dados de RMN de ^{1}H (δ (ppm); mult; J (Hz)) da parte flavonoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-7 Ac, Ig-8-Ac e iryantherina B Ac. 39
TABELA 12: Dados de RMN de ^{1}H (δ (ppm); mult.; J (Hz)) da parte lignoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-7 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac. 40
TABELA 13: Dados de RMN de ^{13}C da parte flavonoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac. 41
TABELA 14: Dados de RMN de ^{13}C da parte lignoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac. 42
TABELA 15: Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-5 acetilado. 44
TABELA 16: Íons e abundâncias relativas obtidos do espectro de massas de Ig-6 Ac. 45
TABELA 17: Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-6 acetilado. 46
TABELA 18: Proteção exercida pelos anéis aromáticos A, B e C sobre os grupos metila Me-9' e Me-9" das estruturas (1), (2), (5) e (6). 49
TABELA 19: Deslocamentos químicos de RMN de ^{1}H e de ^{13}C dos grupos metila Me-9'e Me-9". 49
TABELA 20: Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-7 acetilado. 54
TABELA 21: Íons e abundâncias relativas obtidos do espectro de massas de Ig-8 Ac. 55
TABELA 22: Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-8 acetilado 56

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ac	Acetilado
AcO	Acetoxila
AcOEt	Acetato de etila
AcOH	Ácido acético
CC	Cromatografia em coluna
CCDC	Cromatografia em camada delgada comparativa
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CG/EM	Cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
HOMOCOSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EM	Espectro de massas
EtOH	Etanol
Fig.	Figura
intens. rel.	Intensidade relativa
J	Constante de acoplamento
M	Pico do íon molecular
m	Multipleto
Me	Metila
MeOH	Metanol
m/z	Massa/carga
mult.	Multiplicidade
nm	Nanômetro
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOE diff	NOE diferencial
p.	Página
pir.	Piridina
RMN de ^{1}H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ^{13}C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
RMN-2D	Ressonância Magnética Nuclear Bidimensional

s	Singleto
sl	Singleto largo
t	Tripleto
UV	Ultravioleta
δ	Deslocamento químico
λ	Comprimento de onda de absorção

RESUMO

Este trabalho estabelece uma comparação entre amêndoas de *Iryanthera grandis* Ducke (Myristicaceae) atacadas por insetos e amêndoas inteiras através do isolamento, identificação e determinação estrutural de alguns de seus constituintes químicos.

Os extratos hexânicos foram fracionados por técnicas cromatográficas e forneceram a neolignana (8R,7'S,8'S)-2,3-dimetil-4-(p-hidroxifenil)-6-hidroxitetralina e a lactona (2S,3S,4S)-2-(heptadecil-17'-fenil)-3-hidroxi-4-metilbutanolido, além de dois tocotrienóis: 2,8-dimetil-2-(4,8,12-trimetil-3,7,11-tridecatrienil)-6-cromanol e 2,8-dimetil-2-(4,12-dimetil-8-carbóxi-3,7,11-tridecatrienil)-6-cromanol, sendo o primeiro encontrado apenas nas amêndoas atacadas por insetos e o segundo, apenas nas amêndoas inteiras. Estas 4 substâncias já haviam sido isoladas de *I. grandis* em trabalho anterior. Um estudo quantitativo revelou a presença de 25% em massa a mais de metabólitos especiais nas amêndoas atacadas por insetos, quando comparadas às amêndoas inteiras, (provavelmente devido a uma maior concentração de triglicerídeos nas amêndoas inteiras).

A investigação fitoquímica dos extratos etanólicos forneceu, após partição com solventes e fracionamentos cromatográficos, incluindo o uso de cromatografia líquida de alta eficiência, 4 flavonolignóides inéditos designados de iryantherinas G, H, I e J.

A biossíntese de flavonolignóides envolve provavelmente o ataque eletrofílico de álcool cinamílico ao anel floroglucinólico de uma diidrochalcona. No caso destas iryantherinas, o álcool cinamílico é representado pela unidade 1,4-diaril-2,3-dimetilbutílica.

As propostas estruturais das substâncias isoladas foram baseadas no exame de espectros dos produtos naturais e/ou dos derivados acetilados. As técnicas espectrométricas utilizadas foram EM, RMN de ^{1}H e de ^{13}C, RMN bidimensional HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H, experimentos de DEPT 135° e para a observação do Efeito Nuclear Overhauser.

ABSTRACT

This work describes the comparison between unspoiled fruits of *Iryanthera grandis* (Ducke) and fruits which had been attacked by insects by means of isolation, identification and structural elucidation of some of its chemical constituents.

Hexanic extracts submitted to chromatographic techniques afforded neolignan (8R,7'S,8'S)-2,3-dimethyl-4-(p-hydroxyphenil)-6-hydroxytetraline and lactone (2S,3S,4R)-2-(heptadecyl-17'-phenyl)-3-hydroxy-4-methyl'butanolide, besides two tocotrienols: 2,8-dimethyl-2-(4,8,12-trimethyl-3,7,11-tridecatrienyl)-6-cromanol and 2,8-dimethyl-2-(4,12-dimethyl-8-carboxyl-3,7,11-tridecatrienyl)-6-cromanol

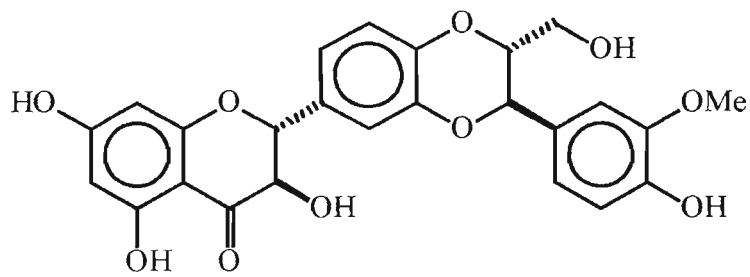
Ethanolic extracts submitted to partition and chromatografic analysis including HPLC techniques afforded 4 new flavonolignoids, iryantherins G, H, I and J.

Biosynthesis of flavonolignoids results from eletrophyllic attack of cinnamyl alcohol to the phloroglucinolic ring of a dihydrochalcone. In this work, the cinnamyl alcohol is represented by the 1,4-diaryl-2,3-dimethyl unit.

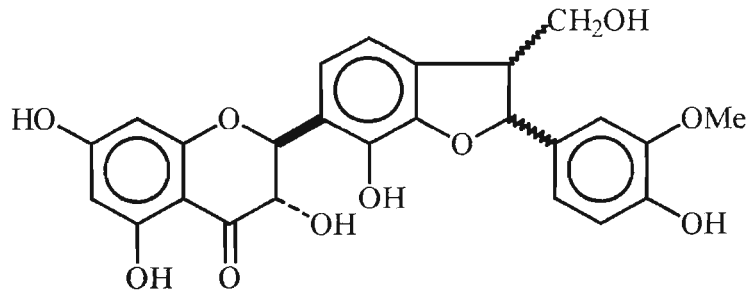
Structural proposals of isolated compounds were based on MS, ^{1}H and ^{13}C NMR, bidimensional HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H, DEPT 135° and NOE experiments.

INTRODUÇÃO

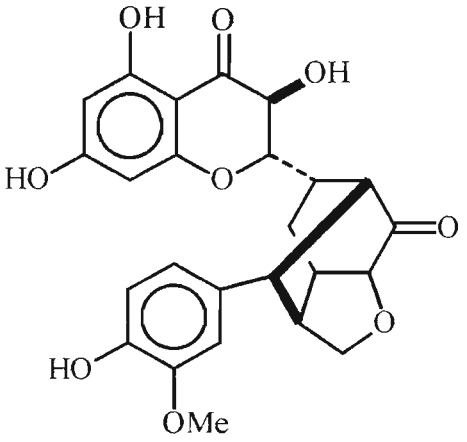
A classe de flavonolignóides é caracterizada pela incidência de substâncias farmacologicamente ativas, podendo-se citar os primeiros representantes desta classe, isolados de *Sylibum marianum* (Asteraceae), como a silibina (**1**), silicristina (**2**) e silidianina (**3**), com potente atividade anti-hepatotóxica [1] e de síntese proteica [2], além de agirem sinergisticamente quando associados ao α-tocoferol, protegendo células animais de processos oxidativos que levam ao envelhecimento [3].



1

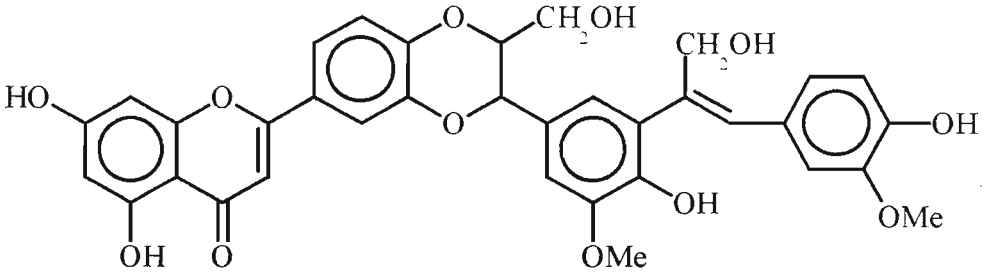


2

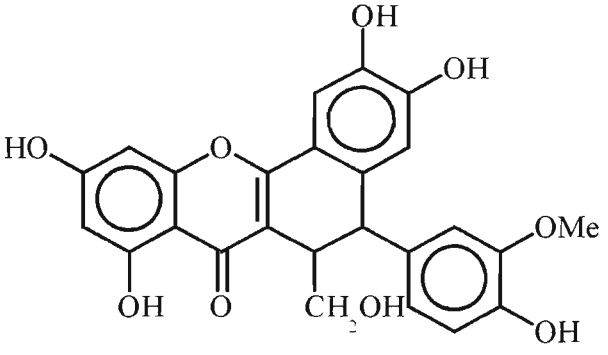


3

Posteriormente foram isolados os flavonolignóides hydnowightina (4) e neohydnocarpina (5) de *Hydnocarpus wightiana* (Flacourtiaceae), espécie usada tradicionalmente no tratamento da lepra [4].

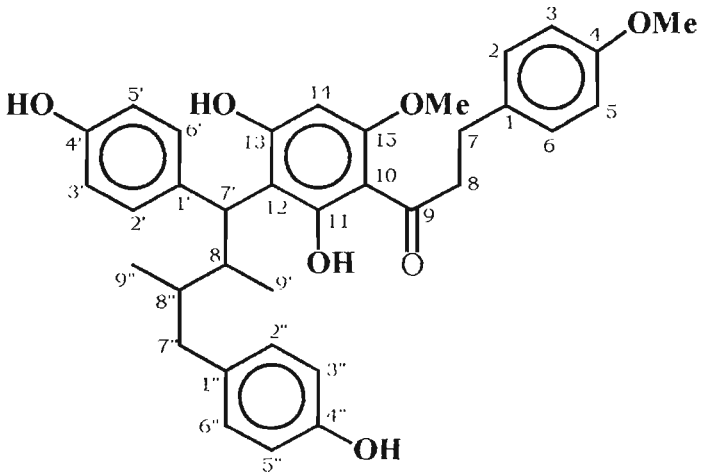


4

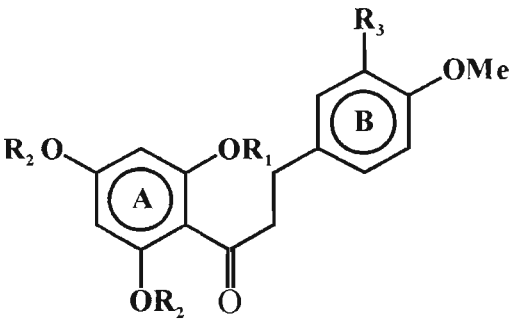


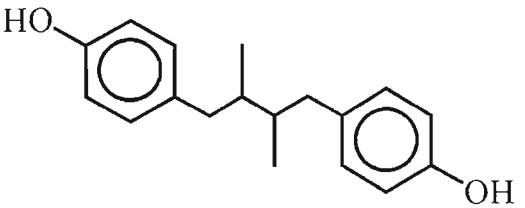
5

A biossíntese da iryantherina B, isolada de *Iryanthera laevis* e de *I. ulei* [5] e representada por **6**. envolve o acoplamento de uma diidrochalcona com uma neolignana do tipo 8.8'.



6





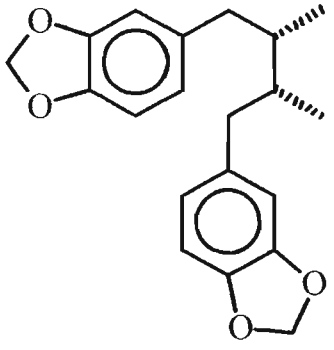
8

7.1 (R_1=Me; R_2=R_3=H)
7.2 (R_1=Me; R_2=Ac; R_3=H)
7.3 (R_1=R_2=R_3=H)
7.4 (R_1=Me; R_2=H; R_3=OMe)

A diidrochalcona **7.1**, anteriormente isolada da madeira do tronco [6], dos frutos [7] e da casca [9] de *Iryanthera laevis* e da casca do tronco de *I. ulei* e *I. paraensis* [5], teve sua estrutura determinada através das análises dos seus espectros de RMN, de massas, UV e IV [9, 10].

O conocarpol (**8**), que representa a porção lignoídica da iryantherina B, foi originalmente isolado de *Conocarpus erectus* (Combretaceae) [8] e teve sua estrutura elucidada através dos dados de RMN de ^{1}H e da Espectrometria de Massas.

A determinação da estereoquímica da machilina A (**9**), substância isolada originalmente de *Machilus thumbergii* (Lauraceae) [12] e análoga ao conocarpol (**8**) foi realizada por uma sequência de transformações químicas que levaram à identificação do produto reacional com o ácido NOR-diidroguaiarético através de CG e ponto de fusão de mistura com amostra autêntica.



9

Objetiva-se no presente trabalho o isolamento,identificação e determinação estrutural dos constituintes químicos de amêndoas de *Iryanthera grandis* atacadas por insetos, estabelecendo possíveis comparações com as substâncias isoladas de amêndoas inteiras [13, 14] e enriquecendo a literatura fitoquímica sobre o gênero *Iryanthera*.

PARTE EXPERIMENTAL

1 - ESPECIFICAÇÃO DOS INSTRUMENTOS, MATERIAIS E MÉTODOS

- nas separações por cromatografia em coluna, utilizou-se sílica-gel 60 (0,063-0,200 mm), da Merck;
- nas cromatografias em coluna sob pressão utilizou-se sílica-gel 60H Merck, com pressão de 2 kgf/cm de nitrogênio;
- as cromatografias em camada delgada analítica e preparativa foram efetuadas utilizando-se, respectivamente,sílica-gel 60G e PF254, ambas da Merck. A suspensão de sílica em água destilada foi distribuída sobre placas de vidro através de espalhador "Quickfit". A espessura para as placas comparativas foi de 0,25mm e para as placas preparativas, de 1,00 mm;
- as placas cromatográficas preparativas foram reveladas com irradiação de luz ultravioleta (254 e 366 nm) e as placas comparativas, por imersão em cubas com vapores de iodo;
- a recuperação das amostras, após CCDP, foi efetuada através de lavagens da sílica com solventes orgânicos e filtração em placa porosa;
- o critério de pureza adotado foi a observação de apenas uma mancha em CCDC, variando-se o sistema de solvente e/ou a observação de apenas um pico no cromatograma obtido por CLAE;
- os solventes e reagentes utilizados foram das marcas Merck, Reagen e B. Herzog, todos grau P.A., com exceção dos utilizados na CLAE, de grau Lichrosolv;
- a concentração das soluções contendo substâncias ou extratos foi realizada sob pressão reduzida, utilizando evaporador rotativo tipo Büchler;
- os espectros de RMN das substâncias isoladas foram registrados em espectrômetros da Bruker AC-200 operando a 200 MHz para ^{1}H e 50 MHz para ^{13}C. Os espectros foram obtidos em deuterocloroformio e os referenciais internos utilizados foram os picos do clorofórmio ou do tetrametilsilano para ^{1}H e do deuterocloroformio para ^{13}C;
- os espectros de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H e NOE diff foram registrados em espectrômetro Bruker AC-200 operando a 200 MHz;

- os experimentos de DEPT 135º foram realizados em espectrômetro Bruker AC-200 operando a 50 MHz;
- os espectros de massas foram registrados em espectrômetros Hewlett-Packard, modelo 5988-A, de baixa resolução, munido de cromatógrafo à gás Hewlett-Packard modelo 5890. Os espectros foram obtidos através de ionização por impacto de elétrons (EI);
- nas análises cromatográficas realizadas por CLAE foram utilizados os cromatógrafos Perkin-Elmer series 3B com integrador Hewlett-Packard modelo 3396-A e Perkin-Elmer series 4 com sistema de detecção de luz ultravioleta operando a 260 nm. Além dos solventes orgânicos grau Lichrosolv, utilizou-se água Milli-Q.

2 - OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As amêndoas de *Iryanthera grandis* utilizadas neste trabalho foram coletadas na Amazônia em 1979 e estavam acondicionadas em sacos plásticos. Estes foram perfurados por insetos que atacaram as amêndoas, resultando numa mistura de amêndoas inteiras e pedaços de amêndoas atacadas por insetos. Esta mistura foi separada manualmente em duas porções:

A: amêndoas inteiras (302 g)
B: pó e pedaços de amêndoas atacadas por insetos (170 g)

Após moagem da porção A, submeteram-se 170 g de A e de B separadamente, à extração a quente; primeiro com hexano e depois com etanol. Após precipitação da graxa (30 g de A e 59 g de B), as soluções foram filtradas e concentradas em rotaevaporador, fornecendo 32 g de extrato hexânico de A; 15 g de extrato hexânico de B; 14 g de extrato etanólico de A e 6 g de extrato etanólico de B.

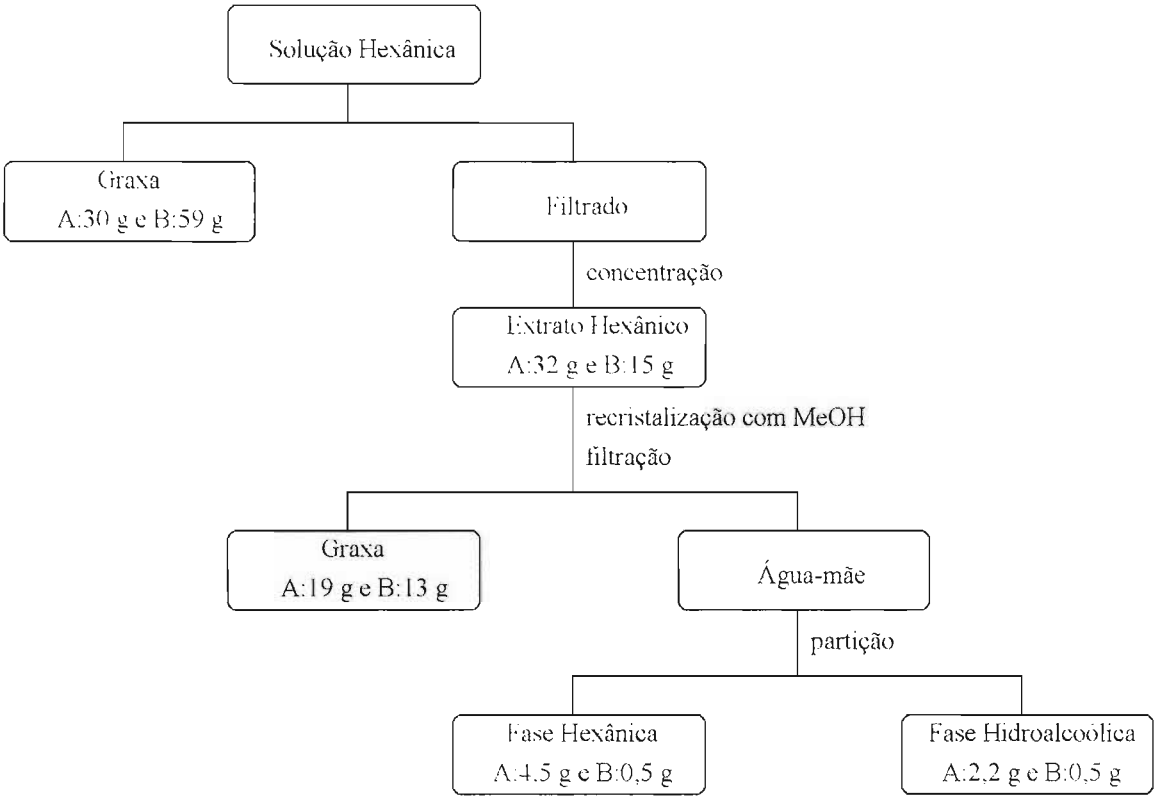
3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

3.1 - Extrato Hexânico

Os extratos hexânicos de A (32 g) e de B (15 g) foram recristalizados com metanol e filtrados, fornecendo 19 g de graxa de A e 13 g de graxa de B. (Esquema 1, p. 8). As soluções resultantes (água-mãe) desta recristalização foram submetidas à partição com hexano/(metanol/ água 9:1) fornecendo soluções que, após concentradas, resultaram em:

fração hexânica de A : (4,5 g)
fração hexânica de B : (0,5 g)
fração hidroalcoólica de A : (2,2 g)
fração hidroalcoólica de B : (0,5 g)

ESQUEMA 1 : Fracionamento da solução hexânica das amêndoas de *Iryanthera grandis*.



A fração hidroalcoólica de A (600 mg) foi submetida à CC sob pressão utilizando 30 g de sílica e eluindo-se com a mistura hexano/acetato de etila em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 76 subfrações de 13 ml que, após análise por CCDC, foram reagrupadas em 11 frações (Tabela 1, p.9).

A análise dos espectros de RMN de ^{1}H das frações FA1, FA2 e FA3 indicou a presença majoritária de ácidos graxos e triglicerídeos e /ou terpenóides de difícil separação por métodos cromatográficos usuais.

A fração FA4 (72 mg) foi aplicada em três placas cromatográficas preparativas eluídas três vezes com o sistema de solventes hexano/AcOEt (9:1). Foram obtidas duas subfrações em quantidades insuficientes para análise e a subfração FA4-4 (58 mg) constituída principalmente de ácidos graxos e triglicerídeos.

TABELA 1 : Fracionamento da fase hidroalcoólica do extrato hexânico de A.

Hexano/AcOEt	Subfrações	Frações	Massa (mg)
93:07 (01-08)	03 a 07	FA1	14
80:20 (09-26)	08 a 10	FA2	83
	11 a 13	FA3	131
	14 a 20	FA4	72
70:30 (27-39)	21 a 31	FA5	61
	32 a 35	FA6	19
	36 a 38	FA7	12
50:50 (40-50)	39 a 46	FA8	15
	47 a 50	FA9	8
25:75 (51-61)	51 e 52	FA10	5
AcOEt puro(62-76)	53 a 76	FA11	24

A fração FA5 (29 mg) foi analisada por CCDP, eluindo-se quatro vezes com a mistura hexano/AcOEt (8:2). A análise dos espectros de RMN de ^{1}H das subfrações obtidas permitiu identificar as substâncias Ig-1 e Ig-2.

A análise de FA6 (19 mg) por CCDP efetuando-se a eluição duas vezes com o sistema hexano/AcOEt/AcOH (69,5:29,5:1) resultou no isolamento de Ig-1 novamente.

A análise dos espectros de RMN de ^{1}H de FA7 (12 mg) e FA8 (15 mg) permitiu a identificação da substância Ig-4 como constituinte majoritário destas duas frações.

As frações FA9, FA10 e FA11 foram reunidas em FA9 (37 mg) e aplicadas em duas placas para CCDP, eluídas com o sistema de solventes Hexano/AcOEt (9:1). A análise do espectro de RMN de ^{1}H da subfração FA9-3 permitiu detectar a presença das substâncias Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8 em mistura. A fração FA9-3 forneceu a substância Ig-1.

A fração hidroalcoólica de B (500 mg) foi submetida à CC sob pressão utilizando-se 30g de sílica e eluindo-se com a mistura de solventes hexano/acetato de etila em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 90 subfrações de 13 ml que, após análise por CCDC, foram reagrupadas em 12 frações (Tabela 2, p.11).

TABELA 2 : Fracionamento da fase hidroalcoólica do extrato hexânico de B.

Hexano/AcOEt	Subfrações	Frações	Massa (mg)
Hexano 100% (01-03)	01 e 02	FB1	09
90:10 (04-08)	03 a 06	FB2	12
80:20 (09-28)	07 a 09	FB3	09
	10 e 11	FB4	64
	12 a 14	FB5	67
	15 a 24	FB6	124
	25 a 29	FB7	61
70:30 (29-37)	30 a 38	FB8	54
50:50 (38-50)	39 a 42	FB9	11
	43 a 52	FB10	08
33:67 (51-62)	53 a 69	FB11	12
AcOEt 100% (63-90)	70 a 90	FB12	19

A análise dos espectros de RMN de ^{1}H das frações FB1 a FB3 indicaram a presença de ácidos graxos e triglicerídeos como constituintes principais.

A fração FB4 (64 mg) foi aplicada em três placas para CCDP eluídas com o sistema de solventes hexano/AcOEt/AcOH (69,5:39,5:1), resultando no isolamento da substância Ig-3.

A fração FB5 (67 mg) foi aplicada em três placas para CCDP e eluídas em hexano/AcOEt/AcOH (69,5:39,5:1). A análise dos espectros de RMN de ^{1}H das subfrações obtidas, assim como da fração FB6, indicou a predominância de ácidos graxos e triglicerídeos.

A fração FB7 (61 mg) foi aplicada em três placas para CCDP eluídas em hexano/AcOEt/AcOH (79,5:29,5:1) resultando em quatro subfrações. A análise do espectrode RMN de ^{1}H de FB7-4 indicou a presença das substâncias Ig-1 e Ig-2 nesta subfração, cuja separação não foi efetuada, pois ambas foram obtidas em estado puro a partir do extrato hexânico de A.

A fração FB8 (54 mg) foi aplicada em duas placas para CCDP eluídas em hexano/AcOEt/AcOH (79,5:29,5:1) resultando em 9 subfrações. A análise do espectro de RMN de ^{1}H de FB8-5 (6 mg) indicou a presença das substâncias Ig-1 e Ig-3, cuja separação não foi efetuada, pois ambas já haviam sido obtidas em estado puro. As subfrações FB8-6 a FB8-9 mostraram-se contaminadas com dietilenoglicol, conforme mostraram seus espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C.

As frações FB9 a FB12 foram reunidas em FB9 (50 mg), aplicadas em duas placas para CCDP e eluídas com hexano/AcOEt/AcOH (69,5:39,5:1), resultando em cinco subfrações. A análise de FB9-1 (7 mg) por RMN de ^{1}H indicou a presença dos flavonolignóides Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8 nesta subfração.

3.2 - Extrato Etanólico

Os extratos etanólicos de A (2 g) e de B (2 g) foram dissolvidos em metanol/ água (9:1) e submetidos à partição com hexano, clorofórmio e acetato de etila, resultando nas frações:

1) hexânica : FHA (288 mg) e FHB (161 mg);
2) clorofórmica : FCA (802 mg) e FCB (540 mg);
3) acetato de etila : FACA (51 mg) e FACB (263 mg);
4) metanólica : FMA (19 mg) e FMB (17 mg)

Os espectros de RMN de ^1H de FHA e de FHB mostraram-se muito semelhantes aos espectros das frações hidroalcoólicas dos extratos hexânicos, além de exibir sinais característicos de ácidos graxos e triglicerídeos bastante intensos, razões pelas quais FHA e FHB não foram investigadas quimicamente.

A análise dos espectros de RMN de ^1H de FCA e FCB revelou a presença de substâncias aromáticas e praticamente a ausência de triglicerídeos. Submeteu-se então FCA (802 mg) à CC sob pressão utilizando 100 g de silica e eluindo-se com a mistura clorofórmio/acetato de etila/metanol (49,5:49,5:1). Foram coletadas 80 subfrações de 13 ml que, após análise por CCDC, foram reagrupadas em 11 frações (Tabela 3, p.13).

TABELA 3 : Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico de A (1ª CC).

$CHCl_3$/AcOEt/MeOH	Subfrações	Frações	Massa (mg)
49,5:49,5:1,0	01 a 03	FCA1	11
	04 a 09	FCA2	94
	10 a 14	FCA3	178
	15 a 19	FCA4	102
	20 a 27	FCA5	218
	28 a 32	FCA6	50
	33 a 35	FCA7	13
	36 a 44	FCA8	23
	45 a 49	FCA9	06
	50 a 73	FCA10	53
	74 a 80	FCA11	09

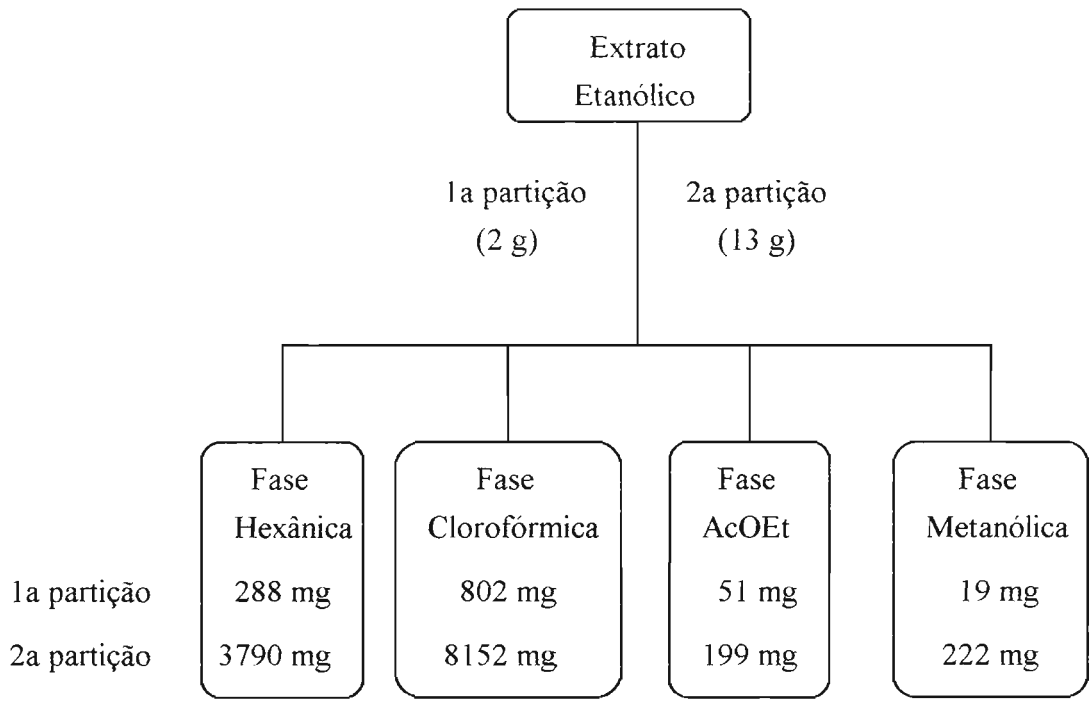
A fração FCA6 foi acetilada (item 4, p. 18) e seus constituintes, separados por CLAE. Esta separação foi efetuada em duas etapas: a primeira, em fase normal, utilizando-se a coluna Si-60 (250x22 mm), fluxo de 20 ml/min e sistema de solventes diclorometano/isopropanol (99,4:0,6), resultando nas frações FCA6/2 e FCA6/3, constituídas pela mistura de duas substâncias cada uma; na segunda etapa foi utilizada a coluna em fase reversa C-18 Whatman RAC-II ODS-3 100x4,6 mm (5 μm), fluxo de 1,0 ml/min e sistema de solventes acetonitrila/água (53:47), fornecendo as substâncias Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8 em estado puro (Esquema 2, p. 15).

Como as quantidades obtidas destas substâncias foram insuficientes para a sua determinação estrutural através de técnicas espectrométricas, repetiu-se o procedimento de fracionamento do extrato etanólico de A, iniciando com a partição de EEA (13 g) com hexano, clorofórmio e acetato de etila, o que forneceu as frações:

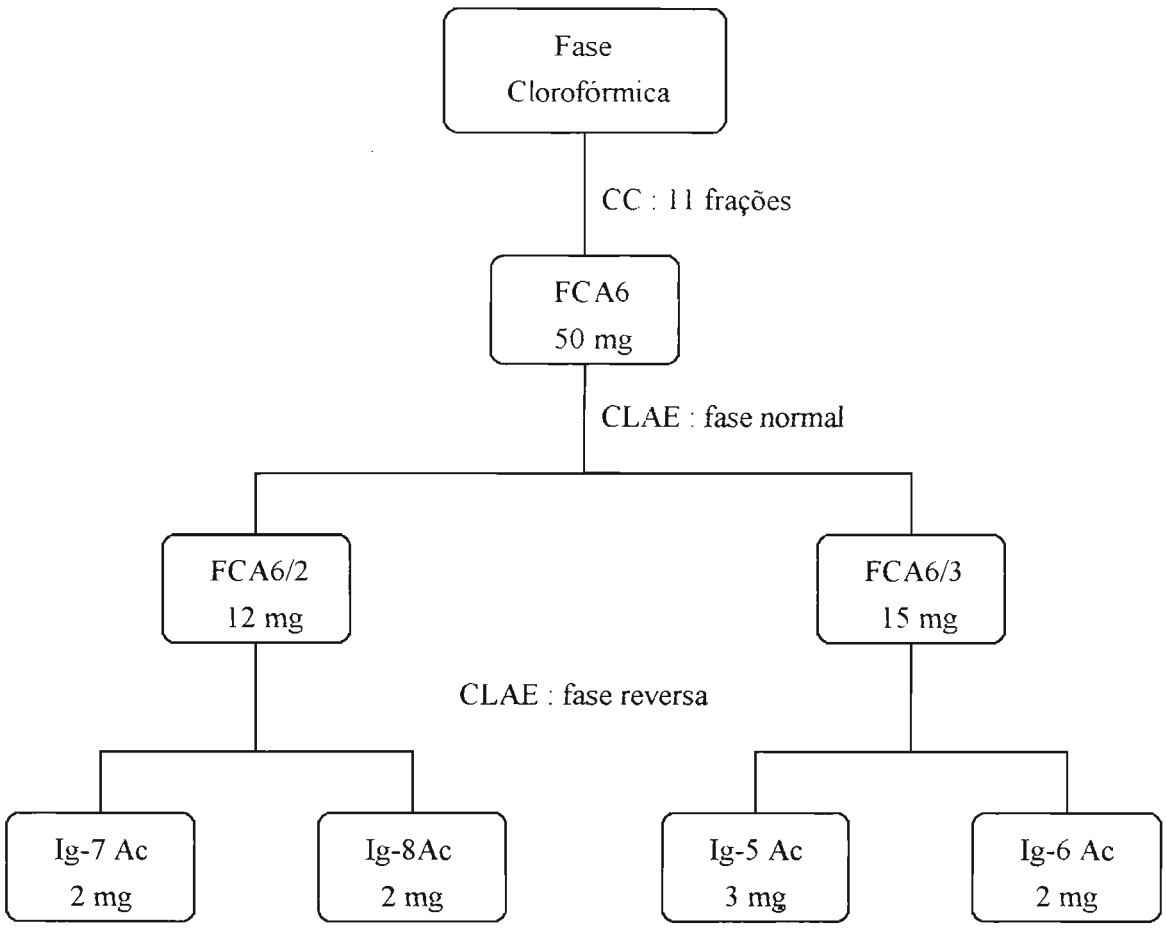
1) hexânica : FHA (3790 mg);
2) clorofórmica : FCA (8152 mg);
3) acetato de etila : FACA (199 mg);
4) metanólica : FMA (222 mg).

ESQUEMA 2 : Fracionamento do extrato etanólico das amêndoas de *Iryanthera grandis*.

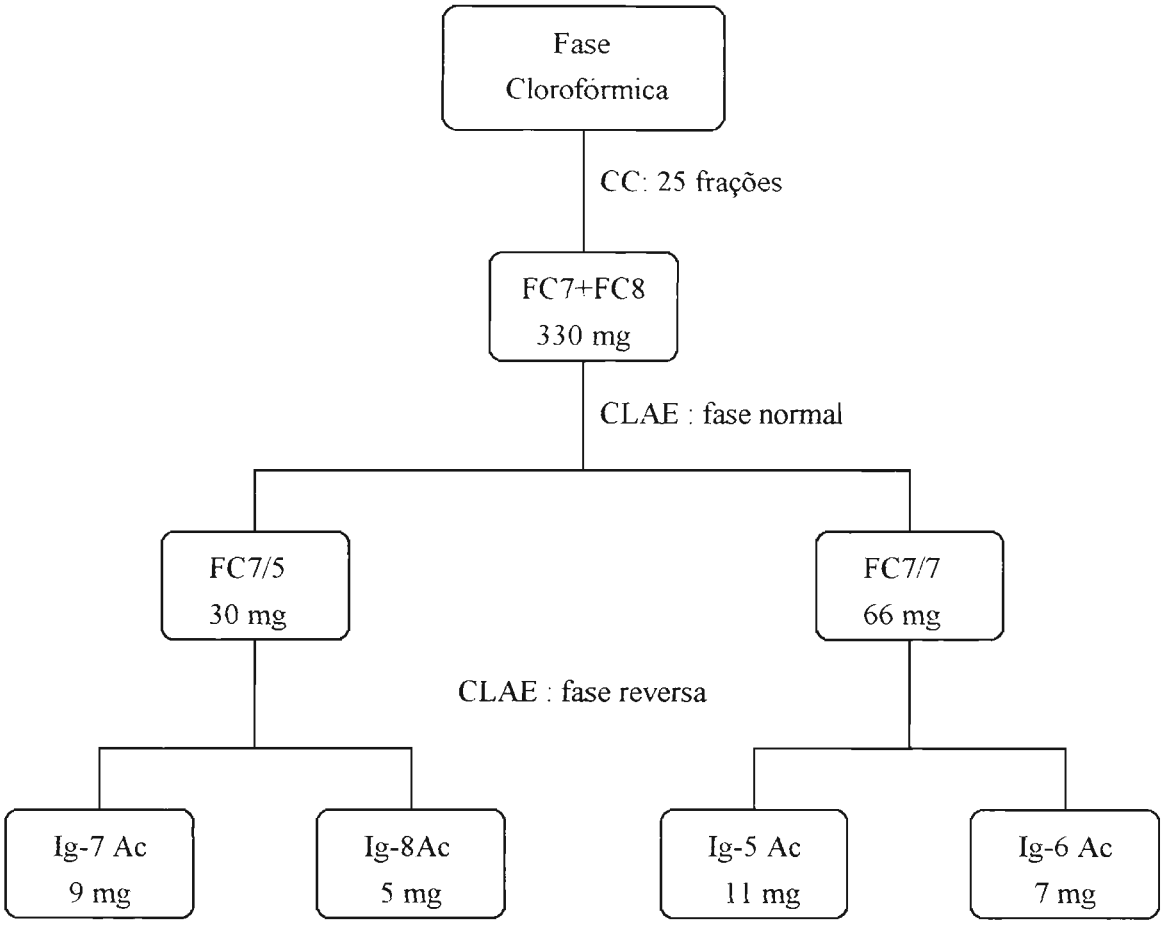
(a)extrato etanólico: 1ª e 2ª partições



(b) Fase Clorofórmica da 1ª partição: CC e CLAE



(c) Fase Clorofórmica da 2ª partição: CC e CLAE



A fase clorofórmica (4 g) foi submetida à CC a vácuo com 100g de sílica, eluindo-se com a mistura clorofórmio/acetato de etila/ metanol em polaridade crescente. Foram coletadas 25 frações e a análise por CCDC e dos espectros de RMN de ^{1}H sugeriu a presença das substâncias de interesse nas frações FC6, FC7, FC8 e FC9 (Tabela 4, p.19).

As frações FC7 e FC8 foram acetiladas (item 4, p. 18) e seus constituintes separados por CLAE. Esta separação foi realizada em duas etapas: a primeira em fase normal, utilizando-se a coluna Si-60 (250x22 mm), fluxo de 20 ml/min e sistema de solventes hexano/diclorometano/isopropanol (15:84,49:0,51), resultando nas frações FC7/5 e FC7/7, cada uma constituída pela mistura de pelo menos duas substâncias; na segunda etapa foi empregada a coluna em fase reversa C-8 Whatman 100x4,6mm (5 μm), utilizando-se fluxo de 1,0 ml/min e sistema de solventes acetonitrila/água (60:40), fornecendo as mesmas quatro substâncias obtidas no fracionamento anterior. Estas substâncias foram ainda submetidas a uma nova etapa de purificação por CLAE, utilizando-se a coluna analítica C8 Whatman 100x4,6mm (5 μm), fluxo de 1,0 ml/min e sistema de solventes acetonitrila/água (60:40), o que resultou no isolamento dos flavonolignóides Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8 acetilados (Esquema 2, p. 15).

TABELA 4 : Fracionamento da fase clorofórmica do extrato etanólico de A (2ª CC).

$CHCl_3$/AcOEt/MeOH	Frações	Massa (mg)
69.5:29.5:1.0 (01-06)	FC1	254
	FC2	1079
	FC3	431
	FC4	171
	FC5	391
59.5:39.5:1.0 (07-09)	FC6	557
	FC7	200
	FC8	130
	FC9	224
49.5:49.5:1.0 (10-16)	FC10	45
	FC11	16
	FC12	04
	FC13	30
	FC14	23
	FC15	14
	FC16	10
39.5:59.5:1.0 (17)	FC17	15
29.5:69.5:1.0 (18)	FC18	12
AcOEt 100% (19-24)	FC19	12
	FC20	24
	FC21	16
	FC22	98
	FC23	36
	FC24	27
MeOH 100% (25)	FC25	22

A análise dos espectros de RMN de ^1H das frações FCA3, FCA4, FCA5, FCA7 e FCA8 da primeira CC de EEA (Tabela 3, p. 13) revelou a presença das substâncias Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8, isoladas da fração FCA6. Estas frações foram acetiladas e tentou-se obter as substâncias em estado puro diretamente, através de recristalização, a partir das frações FCA3, 4, 5, 7 e 8 acetiladas, porém o resultado foi negativo, provavelmente por estas frações serem constituídas de misturas complexas.

O extrato etanólico de B (1200 mg) foi acetilado e submetido à CC a vácuo contendo 40 g de sílica e eluindo-se com a mistura hexano/AcOEt em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas 30 subfrações que, após análise por CCDC, foram reagrupadas em 12 frações (Tabela 5, p. 20).

TABELA 5 : Fracionamento do extrato etanólico de B acetilado.

Hexano/AcOEt	Subfrações	Frações	Massa (mg)
95:05 (01-03)	01 e 02	EB1	25
90:10 (04-06)	03 a 05	EB2	200
	06	EB3	50
80:20 (07-10)	07 a 09	EB4	65
70:30 (11-14)	10 a 12	EB5	79
60:40 (15-18)	13 a 15	EB6	206
50:50 (19-27)	16 a 21	EB7	302
	17	EB8	31
	22	EB9	64
	23 a 26	EB10	27
AcOEt 100% (28-30)	27 a 29	EB11	50
	30	EB12	152

A análise dos espectros de RMN de ^{1}H das frações EB3 a EB7 mostrou muita semelhança destes com os espectros das frações FCA3 a FCA8 do extrato etanólico de A.

A fração EB7 (50 mg) foi aplicada em duas placas para CCDP eluídas duas vezes com o sistema hexano/acetato de etila/ácido acético (49,5:49,5:1). Foram obtidas seis frações (Tabela 6,p. 21) e a análise do espectro de RMN de ^{1}H de EB7/4 (12 mg) revelou a presença dos flavonolignóides Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8 em mistura nesta fração.

TABELA 6 : Fracionamento de EB7 por CCDP.

Subfrações	Massa (mg)
EB7/1	02
EB7/2	03
EB7/3	04
EB7/3	12
EB7/4	04
EB7/5	04

4 - REAÇÕES DE ACETILAÇÃO

As reações de acetilação foram feitas dissolvendo-se as amostras em piridina e anidrido acético (quantidades especificadas abaixo) e deixando em repouso por 24 horas a temperatura ambiente. A mistura foi, em seguida, vertida sobre água gelada e submetida à extração com clorofórmio e solução aquosa com ácido clorídrico a 10% para eliminar a piridina. A solução clorofórmica foi tratada com sulfato de sódio para eliminar a água e filtrada a vácuo em filtro de placa porosa. O solvente foi evaporado a pressão reduzida.

Amostra	Massa (mg)	$(CH_3CO)_2O$ (ml)	C_5H_5N (ml)	Produto	Massa (mg)
FCA3 (1ª CC)	178	6	3	FCA3 Ac	212
FCA4 (1ª CC)	103	4	2	FCA4 Ac	125
FCA5(1ª CC)	218	6	3	FCA5 Ac	278
FCA6(1ª CC)	50	2	1	FCA6 Ac	48
FCA7(1ª CC)	36	2	1	FCA7 Ac	35
FC7 (2ª CC).	210	6	3	FC7 Ac	165
EEB	1200	20	10	EEB Ac	1540

5 - DADOS FÍSICOS E ESPECTROSCÓPICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DE *I. grandis*.

(8R, 7'S, 8'S)-2,3-dimetil-4-(*p*-hidroxifenil)-6-hidroxitetralina (Ig-1)

sólido amorfo branco
RMN de ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) : p. 27
RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H (200MHz, $CDCl_3$) : Tabela 7, p. 29

(2S, 3S, 4S)-2-(heptadecil-17'-fenil)-3-hidroxi-4-metilbutanolido (Ig-2)

sólido amorfo branco
RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabela 8, p. 31
EM m/z (intens. rel.) : M+ 458 (-), 368 (1), 129 (76), 116 (84), 111 (15), 99 (23), 91 (1), 57 (92), 43 (56).

2, 8-dimetil-2-(4, 8, 12-trimetil-3, 7, 11-tridecatrienil)-6-cromanol (Ig-3)

óleo amarelo claro
RMN de ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabela 9, p. 33
RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabela 10, p. 34

2, 8-dimetil-2-(4, 12-dimetil-8-carboxi-3, 7, 11-tridecatrienil)-6-cromanol (Ig-4)

óleo amarelo claro
RMN de ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabela 9, p. 33

iryantherina G acetilada (Ig-5 Ac)

óleo amarelo
RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 11 e 12, pp. 39 e 40
RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 13 e 14, pp. 41 e 42
RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabela 15, p. 44
EM m/z (intens. rel.) : M^+ 766 (1), 561 (4), 519 (14), 501 (4), 477 (26), 459 (5), 435 (26), 417 (5), 393 (18), 375 (4), 205 (2), 163 (3), 162 (2), 135 (5), 134 (8), 121 (100), 107 (64).

iryantherina H acetilada (Ig-6 Ac)

óleo amarelo
RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 11 e 12, pp. 39 e 40
RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 13 e 14, pp. 41 e 42
RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200 MHz, CDCl3) : Tabela 17, p. 46
EM m/z (intens. rel.) : M^+ 766 (-), 561 (4), 519 (13), 501 (4), 477 (23), 459 (5), 435 (24), 417 (5), 393 (18), 375 (4), 163 (5), 162 (2), 135 (13), 134 (11), 121 (100), 107 (66)

iryantherina I acetilada (Ig-7 Ac)

óleo amarelo
RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 11 e 12, pp. 39 e 40
RMN -2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabela 20, p. 54
EM m/z (intens. rel.) : M^+ 780 (-), 575 (3), 533 (16), 515 (5), 491 (31), 473 (9), 449 (27), 431 (9), 407 (16), 389 (6), 163 (5), 162 (2), 149 (6), 148 (14), 135 (100), 121 (17) 107 (75).

iryantherina J acetilada (Ig-8 Ac)

óleo amarelo

RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 11 e 12, pp.39 e 40

RMN de ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : Tabelas 13 e 14, pp. 41 e 42

RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200MHz, $CDCl_3$) : Tabela 22, p. 56

EM m/z (intens. rel.) : M^+ 780 (-), 575 (3), 533 (18), 515 (7), 491 (31), 473 (12), 449 (28), 431 (14), 407 (16), 389 (7), 163 (7), 162 (2), 149 (8), 148 (13), 135 (100), 121 (17), 107 (74).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - CONSTITUINTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Iryanthera grandis*

Das amêndoas de *I. grandis* foram isoladas as seguintes substâncias:

- (8R, 7'S, 8'S)-2, 3-dimetil-4-(*p*-hidroxifenil)-6-hidroxitetralina (Ig-1)
- (2S, 3S, 4S)-2-(heptadecil-17'-fenil)-3-hidroxi-4-metilbutanolido (Ig-2)
- 2, 8-dimetil-2-(4, 8, 12-trimetil-3, 7, 11-tridecatrienil)-6-cromanol (Ig-3)
- 2, 8-dimetil-2-(4, 12-dimetil-8-carboxi-3, 7, 11-tridecatrienil)-6-cromanol (Ig-4)
- iryantherina G acetilada (Ig-5 Ac)
- iryantherina H acetilada (Ig-6 Ac)
- iryantherina I acetilada (Ig-7 Ac)
- iryantherina J acetilada (Ig-8 Ac)

Nas amêndoas atacadas por insetos não foi detectada a presença do tocotrienol Ig-4, enquanto nas amêndoas não atacadas, o tocotrienol Ig-3 não foi encontrado. As outras substâncias foram encontradas em ambos os casos.

Considerando-se a soma das massas das substâncias Ig-1, Ig-2, Ig-3e Ig-4 para os dois casos, observou-se uma quantidade 25% maior para as amêndoas atacadas por insetos. Isto se deve provavelmente à maior concentração de ácidos graxos e triglicerídeos no caso das amêndoas não atacadas por insetos.

2 - IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Iryanthera grandis*.

As substâncias Ig-1, Ig-2, Ig-3 e Ig-4 já haviam sido isoladas de *I. grandis* e a sua identificação baseou-se nos dados de RMN de ^{1}H e na comparação destes espectros com dados da literatura [13, 14]. Os espectros de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H possibilitaram a confirmação dos deslocamentos químicos de alguns prótons.

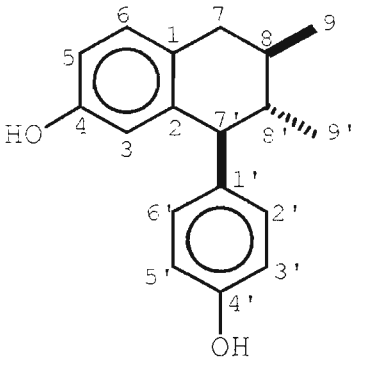
As substâncias Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8 acetiladas tiveram suas estruturas elucidadas através das técnicas espectroscópicas de RMN de ^{1}H, RMN-2D HOMOCOSY, RMN de ^{13}C, DEPT e NOE, por Espectrometria de Massas e pela comparação dos espectros obtidos com dados de substâncias análogas, da literatura.

2.1 - Identificação de Ig-1

O espectro de RMN de ^{1}H de Ig-1 (Fig.1, p. 61) apresenta os sinais listados abaixo com a respectiva interpretação:

a. prótons aromáticos:
   6,98 δ (d, J=8,0 Hz);
   6,94 δ (d, J=7,7 Hz);
   6,76 δ (d, J=8,2 Hz);
   6,57 δ (dd, J=2,3 Hz e J=8,2 Hz);
   6,11 δ (d, J=1,7 Hz);
b. 4,85 δ e 4,52 δ (2 sl) de dois protons hidroxílicos;
c. 3,42 δ (d, J=9,8 Hz), sinal que pode ser atribuído a um próton dibenzílico;
d. 2,77 δ (dd, J=4,4 Hz e J=16,0 Hz), um próton benzílico;
e. 2,56 δ (dd, J=10,7 Hz e J=15,7 Hz), um próton benzílico;
f. 1,8 δ a 1,5 δ (m), dois prótons metínicos;
g. 1,06 δ e 0,85 δ (d, J=6,1 Hz), seis prótons referentes a dois grupos metila ligados a carbonos que sustentam um próton cada um.

A comparação deste dados com informações obtidas da literatura [13, 14] levou à identificação de Ig-1 com a neolignana representada abaixo:



Ig-1

As correlações observadas no espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (Tabela 7, p. 29 e Fig.2, p. 62) permitiram realizar a atribuição inequívoca dos sinais tanto dos prótons alifáticos quanto dos aromáticos. Os prótons metínicos H8' e H8" (1,8 δ a 1,5 δ) tiveram seus deslocamentos químicos definidos através da verificação de seus acoplamentos com os prótons metilênicos H7 (2,77 δ e 2,56 δ) e com o próton dibenzílico H7' (3,42 δ). A verificação dos acoplamentos entre H8, H8' e os grupos metila vizinhos a estes prótons levou à atribuição dos sinais referentes aos grupos metila Me9 (1,06 δ) e Me9' (0,84 δ).

A atribuição dos sinais referentes aos prótons aromáticos foi realizada através da verificação de acoplamentos em *orto*, como nos casos de H2' com H3' e H5' com H6' (6,98 δ para H2' e H6' e 6,76 δ para H3' e H5') e também para H5 com H6 (6,57δ e 6,94 δ ,respectivamente), além do acoplamento em *meta* entre H3 e H5 (6,11 δ e 6,57 δ, respectivamente). Além destes, foram observados acoplamentos a longa distância entre prótons aromáticos e alifáticos, através de quatro ligações, podendo-se citar as correlações observadas entre H6 e os prótons metilênicos H7 e entre H3 e o próton dibenzílico H7'. Foi ainda observado um acoplamento a longa distância através de cinco ligações entre H7 e H7'. Todas estas correlações estão coerentes com a estrutura proposta para Ig-1.

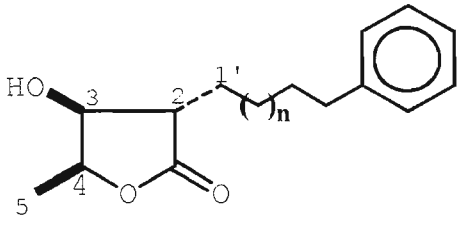
TABELA 7 : Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-1.

Prótons	Sinais (δ)	Sinais de ^{1}H correlacionados (δ)
H2' e H6'	6.98	6.76^{o}.
H6	6.94	2.56^{w}; 2.77^{w}; 6.57^{o}
H3' e H5'	6.76	6.95^{o}.
H5	6.57	6.11^{m}; 6.95^{o}.
H3	6.11	3.42^{w}; 6.57^{m}.
H7'	3.42	1.7-1.5; 2.77^{w+}; 2.56^{w+}; 6.11^{w}.
H7a	2.77	1.8-1.6; 3.42^{w+}; 6.95^{w}.
H7b	2.56	1.8-1.6; 3.42^{w+}; 6.95^{w}.
H8	1.8-1.6	1.06; 2.77; 2.56.
H8'	1.7-1.5	0.84; 3.42.
Me9	1.06	1.8-1.6.
Me9'	0.84	1.7-1.5.

w: acoplamento a longa distância através de quatro ligações
w+: acoplamento a longa distância através de cinco ligações
o: acoplamento em *orto*
m: acoplamento em ***meta***

2.2 - Identificação de Ig-2

Os sinais observados no espectro de RMN de ^1H de Ig-2 (Fig. 3, p. 63) juntamente com informações obtidas do espectro de massas e da literatura [13, 14], permitiram identificar Ig-2 com a lactona representada abaixo:



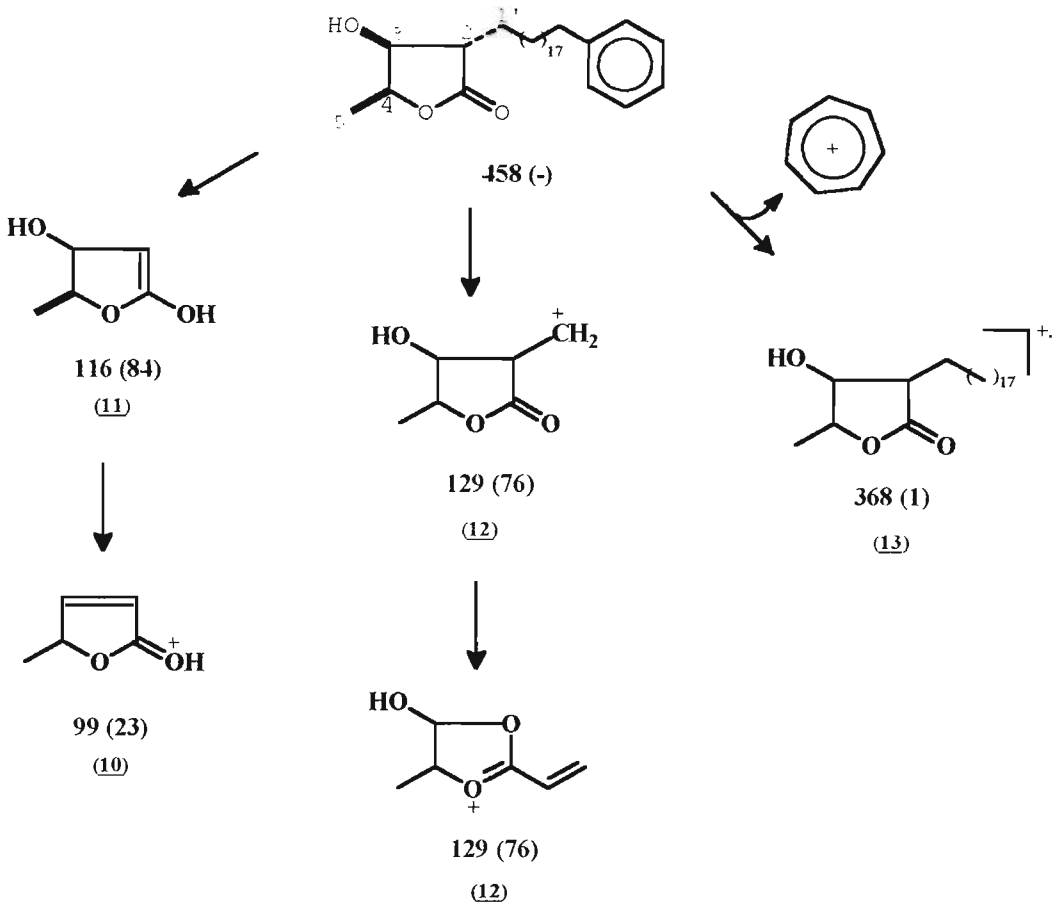
n=16

Ig-2

O espectro de massas não mostrou o íon molecular, mas íons fragmentários com m/z 99 (23) (**10**), m/z 116 (84) (**11**) e m/z 129 (76) (**12**), resultantes de rearranjos no fragmento que contém o anel lactônico; além do íon radical com m/z 368 (1) (**13**) proveniente da perda do ion tropílio e que corresponde ao fragmento contendo o anel lactônico ligado a uma cadeia metilênica com 18 átomos de C.

A análise dos dados de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H (Tabela 8, p. 31 e Fig. 4, p. 64) permitiu realizar a atribuição inequívoca dos sinais observados, aos prótons da estrutura proposta. A sobreposição parcial dos sinais em torno de 2,6 δ dificulta a sua interpretação para a atribuição dos deslocamentos químicos referentes aos prótons benzílicos e ao próton vizinho à carboxila lactônica (H2). A verificação do acoplamento do sinal em 2,6 a 2,4 δ com o sinal referente a H3 (4,18 δ) no espectro bidimensional permite separar o multipleto atribuído a H2 (2,6 a 2,4 δ) do tripleto atribuído aos prótons benzílicos (2,6 δ).

O sinal referente aos prótons metilênicos H1' (1,7 a 1,5 δ), de difícil vizualização, é também atribuído graças à verificação de seu acoplamento com o sinal da cadeia metilênica (1,26 δ), além do acoplamento com o sinal de H2. Os acoplamentos restantes fornecidos pelo espectro bidimensional estão coerentes com a estrutura proposta para Ig-2.



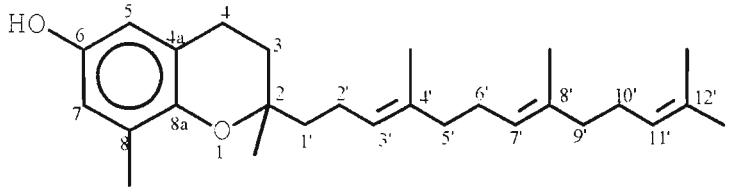
ESQUEMA 3: Fragmentações observadas no Espectro de Massas de Ig-2.

TABELA 8 : Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H de Ig-2.

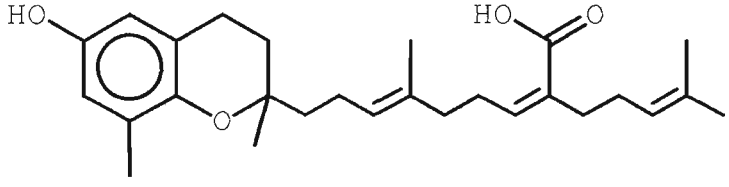
Prótons	Sinais (δ)	Sinais de ^1H correlacionados (δ)
H4	4,63	1,40; 4,18
H3	4,18	2,60; 4,63
H2	2,6-2,4	1,7-1,5; 4,18
H1'	1,7-1,5	1,26; 2,6-2,4
Me5	1,40	4,63
Cadeia Metilênica	1,26	1,7-1,5

2.3 - Identificação de Ig-3 e Ig-4

Os espectros de RMN de ^1H de Ig-3 (Fig. 5, p. 65) e de Ig-4 (Fig. 6, p. 66) são praticamente idênticos em função da grande semelhança estrutural destas substâncias. A análise destes espectros e a comparação com dados da literatura levaram à identificação de Ig-3 e Ig-4 com os tocotrienóis representados abaixo.



Ig-3



Ig-4

As diferenças entre os dados de RMN de ^1H (Tabela 9, p. 33) são decorrentes da presença de um grupo carboxila na cadeia isoprênica de Ig-4 e se resumem a:

- o tripleto em 5,97 δ no espectro de Ig-4, ausente no espectro de Ig-3.Este sinal é atribuído ao próton olefínico ligado ao carbono β do sistema enônico de Ig-4;

- na região dos prótons olefínicos (cerca de 5,0 δ), o sinal de Ig-3 integra para três prótons, enquanto o de Ig-4 integra para dois prótons;

- na região dos prótons benzílicos, os sinais integram para dois prótons no caso de Ig-3, enquanto para Ig-4 estes sinais integram para quatro prótons. Isto se deve ao fato dos prótons ligados ao carbono γ do sistema enônico formado pela ligação dupla conjugada com a carboxila absorverem em campo muito próximo ao dos prótons benzílicos;

- ausência de um grupo metila em Ig-4, que foi substituído pelo grupo carboxila, resultando na integração para nove prótons do sinal em 1,59 δ de Ig-3 e para seis prótons do sinal em 1,58 δ de Ig-4.

TABELA 9 - Dados de RMN de ^1H de Ig-3 e de Ig-4 com as respectivas interpretações.

^1H	**Ig-3** δ; **mult.; J (Hz)**	**Ig-4** δ; **mult.; J (Hz)**
H5a e H7a	6.47; d; (2.5)	6.45; d; (2.5)
H5b e H7b	6.37; d; (2.5)	6.38; d; (2.5)
H7'	-	5.97; t; (6.7)
Ig-3: H3', H7'e H11' Ig-4:H3' e H11'	5,2-5,0; m	5,3-4,9; m
Ig-3: H4 Ig-4: H4 e H6'	2.69; t; (6.7)	2,7-2,4; m
protons alílicos	2,2-1,9; m	2,3-2,0; m
Me 8	2,12; s	2,11; s
H3	1.8-1.6; m	1.8-1,6; m
Me 12'	1,65; s	1,66; s
Ig-3: Me4', Me8' e Me12' Ig-4: Me4' e Me12'	1,59; s	1,58; s
Me2	1,24; s	1,24; s

A análise do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-3 (Tabela 10, p. 34 e Fig. 7, p. 67) levara à definição do deslocamento químico dos prótons homobenzílicos (1,8 a 1,6 δ) pela observação de seu acoplamento com os prótons benzílicos (2,69 δ). Em vista da semelhança entre as estruturas, pode-se atribuir também o sinal referente aos prótons homobenzílicos de Ig-4. As outras correlações observadas confirmam as estruturas propostas para Ig-3 e Ig-4.

TABELA 10 - Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H de Ig-3.

Prótons	**Sinais (δ)**	**Sinais de ^{1}H correlacionados (δ)**
aromáticos	6,47	2,12^{w}; 6,37
	6,37	6,47
olefínicos	5,2-5,0	1,59^{w}; 1,65^{w}; 2,2-1,9
benzílicos	2,69	1,8-1,6
alílicos	2,2-1,9	1,59^{w}; 1,65^{w}; 5,2-5,0
homobenzílicos	1,8-1,6	2,69
metílicos	2,12	6,47^{w}
	1,65	2,2-1,9; 5,2-5,0
	1,59	2,2-1,9; 5,2-5,0

w: acoplamento a longa distância.

2.4 - Considerações gerais sobre as Iryantherinas G, H, I e J (Ig-5, Ig-6, Ig-7 e Ig-8)

As iryantherinas isoladas neste trabalho são constituídas por uma unidade flavonoídica e duas unidades arilpropanoídicas. Tanto a parte flavonoídica como a parte lignoídica de cada iryantherina apresentam semelhanças e assim procurou-se descrever um comentário geral introdutório com as suas características.

A unidade flavonoídica é do tipo diidrochalcona e os espectros de RMN de ^1H (Tabelas 11 e 12, pp. 39 e 40) mostram absorções referentes a prótons alifáticos de um sistema $-COCH_2CH_2Ar$ e de prótons aromáticos pertencentes a anéis *para*-dissubstituídos no caso das iryantherinas G e H e trissubstituídos para as iryantherinas I e J. Todas as iryantherinas isoladas apresentam um anel pentassubstituído. Observam-se ainda sinais referentes a prótons metoxílicos ou metilenodioxílicos.

Os picos observados nos espectros de massas (Esquemas 4 e 5, pp. 38 e 53) sugerem os caminhos de fragmentação a, b e c. A presença dos íons resultantes define o grupo *para*-metoxifenílico no caso das iryantherinas G e H e o grupo 3,4-metilenodioxifenílico das iryantherinas I e J, localizados no anel proveniente da via do chiquimato da unidade diidrochalcônica.

A comparação dos dados espectrométricos das iryantherinas com os da diidrochalcona **7.1** evidenciam a presença de uma unidade diidrochalcônica do tipo 4,11,13,15-tetraoxigenado para as iryantherinas G e H e do tipo 3,4,11,13,15-pentaoxigenado para as iryantherinas I e J.

Os carbonos metínicos aromáticos do anel 11,13,15-trioxigenado de uma unidade diidrochalcônica entre duas posições hidroxiladas absorvem em torno de 96 δ como nos C12 das diidrochalconas **7.1** (97,0 δ) [5, 6, 7 e 9] e **7.4** (97,1 δ) [15], e nos C12 e C14 de **7.3** (95,9 δ) [7]. Entretanto, no caso dos derivados acetoxilados, esperar-se-iam sinais em campo mais baixo, ao redor de 115 δ, como no caso do derivado triacetilado de **7.3** (115,7 δ) [7]. Tal situação está coerente com o deslocamento químico dos C14 de Ig-5 Ac (116 δ), Ig-6 Ac (115,5 δ) e Ig-8 Ac (115,5 δ).

A parte lignoídica das iryantherinas é resultante do acoplamento oxidativo 8.8' de duas unidades arilpropanoídicas e os espectros de RMN de ^{1}H (Tabelas 11 e 12, pp. 39 e 40) mostram absorções referentes a grupos metílicos ligados a carbonos metínicos e de prótons aromáticos de anéis *para*-dissubstituídos, além de sinais de prótons metínicos, benzílicos e de um próton metínico dibenzílico.

Os espectros de massas (Esquemas 4 e 5, pp. 38 e 53) mostram o íon resultante da fragmentação d. A presença deste íon define o grupo *para*-acetoxifenílico localizado no anel B das iryantherinas G e H.

Os carbonos aromáticos *p*-hidroxissubstituídos absorvem em torno de 156 δ como os C4' e C4" da iryantherina B (156,0 δ e 155,9 δ, respectivamente). Entretanto, nos derivados acetilados, estes carbonos absorvem em campo bem mais alto, ao redor de 149 δ, como nos C4' e C4" de Ig-5 Ac (149,0 δ e 149,1 δ), Ig-6 Ac (149,0 δ e 149,7 δ) e Ig-8 Ac (148,8 δ e 149,7 δ).

A análise dos dados espectrais mostra que as diferenças entre as iryantherinas G e H e entre as iryantherinas I e J resumem-se a aspectos estereoquímicos.

As características peculiares de cada iryantherina serão discutidas em suas repectivas elucidações estruturais, seguidas de comentários comparativos sobre a estereoquímica destas substâncias.

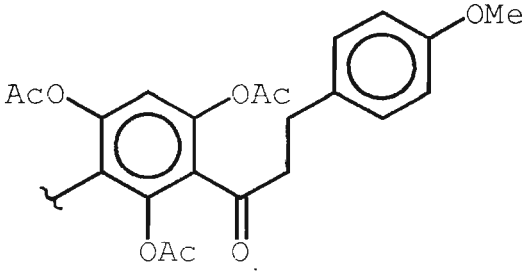
Nas elucidações estruturais são mencionadas tabelas de RMN de ^{1}H e de ^{13}C que estão desmembradas em tabelas 11 e 13 para as partes flavonoídicas e tabelas 12 e 14 para as arilpropanoídicas.

2.5 - Elucidação estrutural de Ig-5 Ac

O espectro de massas de Ig-5Ac (Esquema 4, p. 38) apresenta pico do íon molecular de massa 766 (1). Este dado, juntamente com os números de átomos de ^{1}H (Fig. 8, p. 68) e de ^{13}C (Fig. 9, p. 69) permite deduzir para Ig-5 Ac a fórmula molecular $C_{44}H_{46}O_{11}$. O espectro de RMN de ^{13}C (Tabela 13, p. 41) apresenta sinais de uma carbonila (200,0 δ) e um grupo metoxílico (55,2 δ) e o espectro de massas (Esquema 4, p. 38) mostra tratar-se de um derivado pentaacetilado. Estas informações permitem expandir a fórmula molecular para $C_{32}H_{28}CO(OAc)_5(OMe)$.

No espectro de massas de Ig-5 Ac observam-se os fragmentos m/z 121 (100) e m/z 135 (5) correspondentes a íons tropílio substituídos e o fragmento m/z 107 (64), resultante de ruptura da ligação γ-carbonílica, que definem o grupo metoxila em posição *para* no anel D do núcleo diidrochalcônico.

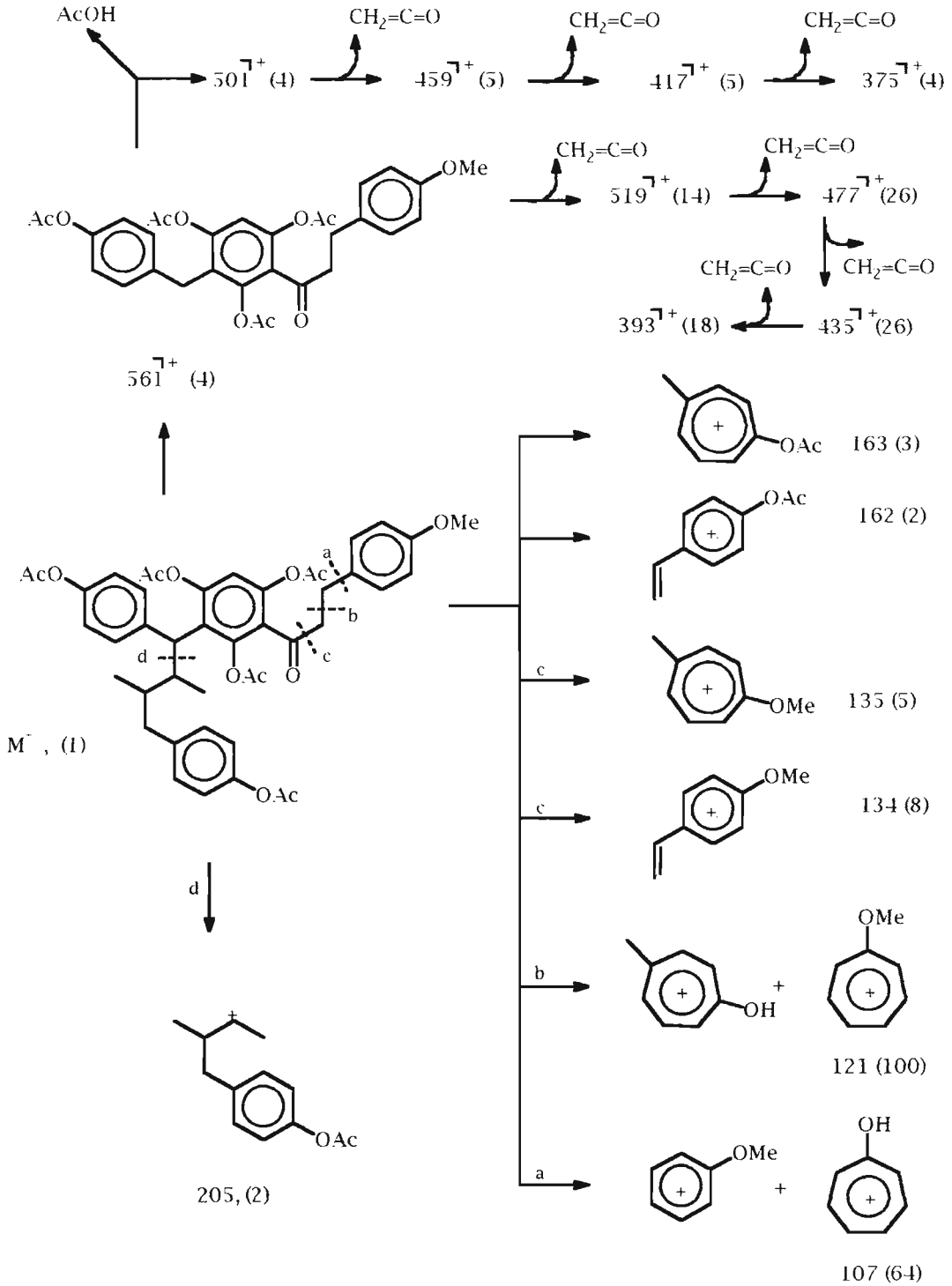
A análise dos dados discutidos até aqui, bem como comparação com os da diidrochalcona **3**, permitem propor a estrutura parcial para a substância Ig-5 Ac:



A subtração dos átomos da estrutura parcial proposta, da fórmula molecular expandida fornece uma fórmula molecular de $C_{18}H_{19}(OAc)_2$ para a complementação da estrutura de Ig-5 Ac.

No espectro de RMN de ^{1}H do derivado acetilado (Fig. 8, p. 68) observam-se absorções referentes a dois grupos metílicos ligados a carbonos metínicos (0,65 δ; d; J=6,8 Hz e 0,85 δ; d; J=6,2 Hz), dois prótons benzílicos (2,6 a 2,5 δ; m) e dois prótons metínicos (2,7 a 2,5 δ; m e 2,1 a 1,9 δ; m). Além destas absorções, observa-se ainda um sinal típico de um próton dibenzílico (4,03 δ; d; J=11,1 Hz) (Tabela 12, p. 40). Adicionalmente, no espectro de RMN de ^{13}C (Tabela 14, p. 42) observam-se sinais para dois anéis aromáticos *p*-acetoxidissubstituídos.

ESQUEMA 4 : Fragmentações observadas no espectro de massas de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac*.



* As abundâncias relativas referem-se a Ig-5 Ac. Os valores correspondentes a Ig-6 Ac encontram-se na Tabela 16, p. 45.

TABELA 11 : Dados de RMN de ^{1}H (δ (ppm); mult.; J (Hz)) da parte flavonoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-7 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac.

H	Ig-5 Ac	Ig-6 Ac	Ig-7 Ac	Ig-8 Ac	Iryantherina B Ac
H2, H6	7,2-6,8; m	7,09; d; (8,4)	-	-	7,3-6,7; m
H14	7,2-6,8; m	6,94; s	7,2-6,6; m	6,95; s	6,46; s
H3, H5	7,2-6,8; m	6,80; d; (8,5)	-	-	7,3-6,7; m
H2, H3 H5	-	-	7,2-6,6; m	6,8-6,6; m	-
$-OCH_2O-$	-	-	5,91; s	5,91; s	-
CH_3O-15	-	-	-	-	3,76; s
CH_3O-4	3,78; s	3,76; s	-	-	3,69; s
H7	3,1-2,9; m	3,0-2,8; m	3,1-2,8; m	3,1-2,7; m	3,1-2,9; m
H8	3,1-2,9; m	3,0-2,8; m	3,1-2,8; m	3,1-2,7; m	3,1-2,9; m

TABELA 12 : Dados de RMN de ^{1}H (δ (ppm); mult.; J (Hz)) da parte lignoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-7 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac.

H	Ig-5 Ac	Ig-6 Ac	Ig-7 Ac	Ig-8 Ac	Iryantherina B Ac
2', 6'	7.2-6.8; m	7.13; d; (8.7)	7.2-6.6; m	7.13; d (8.5)	7.3-6.7; m
2", 6"	7.2-6.8; m	7.12; d; (8.7)	7.2-6.6; m	7.09; d; (8.6)	7.3-6.7; m
3', 5'	7.2-6.8; m	6.95; d; (8.7)	7.2-6.6; m	6.96; d; (8.5)	7.3-6.7; m
3", 5"	7.2-6.8; m	6.90; d; (8.7)	7.2-6.6; m	6.90; d; (8.6)	7.3-6.7; m
7'	4.03; d; (11.1)	4.09; d; (11.2)	4.04; d; (11.2)	4.10; d; (11.2)	4.10; d; (11.3)
8'	2.7-2.5; m	2.7-2.5; m	2.7-2.5; m	2.7-2.6; m	2.2-1.6; m
7"	2.6-2.5; m	2.6-2.4; m	2.7-2.5; m	2.6-2.4; m	2.5-2.1; m
8"	2.1-1.9; m	1.7-1.5; m	2.1-1.8; m	1.7-1.5; m	2.2-1.6; m
Me9'	0.65; d; (6.8)	0.90; d; (6.5)	0.64; d; (6.9)	0.92; d; (6.5)	0.65; d; (6.8)
Me9"	0.85; d; (6.2)	0.74; d; (6.5)	0.85; d; (6.5)	0.76; d; (6.6)	0.84; d; (6.6)

TABELA 13 : Dados de RMN de ^{13}C (δ (ppm)) da parte flavonoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac.

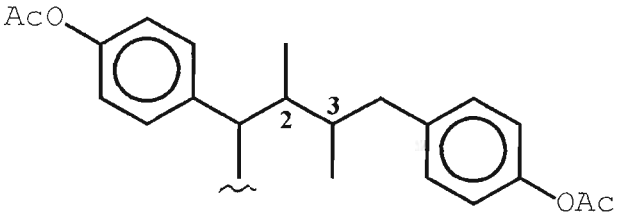
C	Ig-5 Ac	Ig-6 Ac	Ig-8 Ac	Iryantherina B Ac
1	133.0	133.0	134.9	133.6
2, 6	129.5	129.5	108.2/121.2	129.5
3, 5	113.9	115.5	147.6/109.0	113.8
4	158.0	158.0	145.7	157.9
7	28.6	29.7	29.7	28.0
8	45.5	45.2	45.2	45.4
9	200.0	200.1	199,9	201.9
10	129.4	128.2	126.5	122.4
11				
12	127.6	126.6	126.5	122.4
13				
14	116.0	115.5	115.5	105.0
15	145.6	145.7	145.7	155.7
CH_3O-C4	55.2	55.2	-	55.3
CH_3O-C15	-	-	-	55.9
$-OCH_2O-$	-	-	100.8	-

TABELA 14 : Dados de RMN de ^{13}C da parte lignoídica das substâncias Ig-5 Ac, Ig-6 Ac, Ig-8 Ac e iryantherina B Ac.

C	Ig-5 Ac	Ig-6 Ac	Ig-8 Ac	Iryantherina B Ac
1'	138.5a	138.4a	138.2a	138.7
2', 6'	129.4b	129.4b	129.5b	129.5
3', 5'	121.4c	121.3c	121.3c	121.4
4'	149.0d	149.0d	148.8d	148.9
7'	43.8	45.9	45.9	43.5
8'	35.1	35.7	35.7	36.2
9'	10.6	13.4	13.4	10.7
1"	137.9a	138.2a	138.4a	138.7
2", 6"	130.3b	130.1b	130.1b	130.4
3", 5"	121.0c	121.0c	121.1c	120.9
4"	149.1d	149.7d	149.7d	149.2
7"	40.9	41.5	41.5	41.2
8"	32.0	34.3	34.3	32.3
9"	14.0	12.3	12.4	14.0

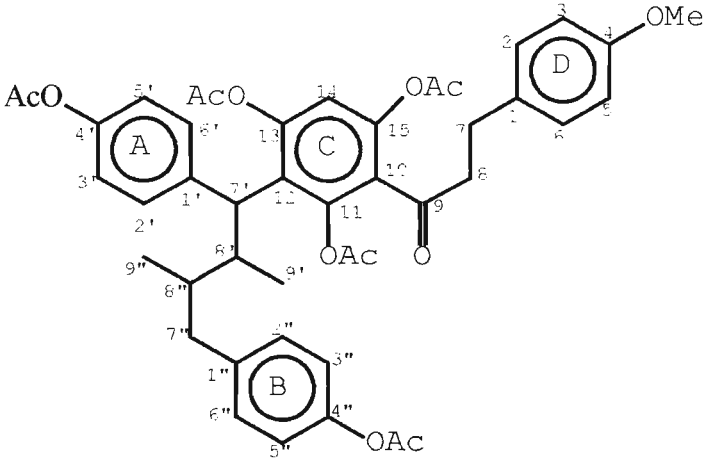
a, b, c, d: os valores podem estar trocados para uma mesma substância.

A análise dos dados espectrais permite sugerir para a parte complementar da molécula de Ig-5 Ac um esqueleto bis-arilpropanoídico do tipo 1,4-diaril-2,3-dimetilbutila:



No espectro de massas observa-se um pico em m/z 205 (2) (Esquema 4, p.38) que sustenta parte desta estrutura parcial.

A junção das duas estruturas parciais permite propor para Ig-5 Ac a seguinte constituição:



Ig-5 Ac

O espectro de massas apresenta ainda, uma série de picos, provenientes do íon em m/z 561 (M-d, 4) por perdas sucessivas de quatro moléculas de ceteno, em m/z 519 (14), m/z 477 (26), m/z 435 (26) e m/z 393 (18) (Esquema 4, p. 38). A presença destes íons confirma esta fórmula constitucional.

A análise do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H de Ig-5 Ac (Fig.11, p. 71 e Tabela 15, p. 44) permitiu a atribuição inequívoca do sinal correspondente ao próton metínico H8' (2,7-2,5 δ) pela verificação de seu acoplamento com o próton dibenzílico H7' (4,03 δ; d; J=11,1 Hz), o que, por sua vez, possibilitou a atribuição dos sinais referentes ao grupo metila Me9' (0,65 δ) e ao próton metínico H8" (2,1-1,9 δ), pela verificação de seus acoplamentos com H8'. Da mesma forma, pode-se atribuir os sinais correspondentes ao grupo metila Me9" (0,85 δ) e aos prótons benzílicos H7" (2,6-2,5 δ) pela observação de seus acoplamentos com H8". A atribuição precisa destes sinais mostrou-se imprescindível para a realização do experimento para a observação do Efeito Nuclear Overhauser, na determinação da estereoquímica relativa de Ig-5 Ac. (item 2.7, p.47).

TABELA 15 : Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H de Ig-5 Ac *.

Prótons	Sinais (δ)	Sinais de ^1H correlacionados (δ)
H7'	4.03	2.6-2.5
H8'	3,1-3,0	3,0-2,8
H7	3.0-2.8	3,1-3,0
H7"	2,6-2,5	2,1-1,9
H8'	2,7	0,65; 2,1-1,9; 4,03
H8"	2,1-1,9	0,85; 2,6-2,5
H9"	0,85	2,1-1,9
H9'	0,65	2,6-2,5

* (200 MHz), $CDCl_3$.

2.6 - Elucidação Estrutural de Ig-6 Ac

A estrutura de Ig-6 Ac foi determinada baseando-se nas considerações feitas para Ig-5 Ac (item 2.5, p. 37) e na semelhança entre os dados obtidos a partir do espectro de RMN de ^{13}C (Fig. 13, p. 73 e Tabela 13, p. 41), do espectro de massas de Ig-6 Ac (Esquema 4, p. 38 e Tabela 16, p. 45) e do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (Fig. 15, p. 75 e Tabela 17, p. 46).

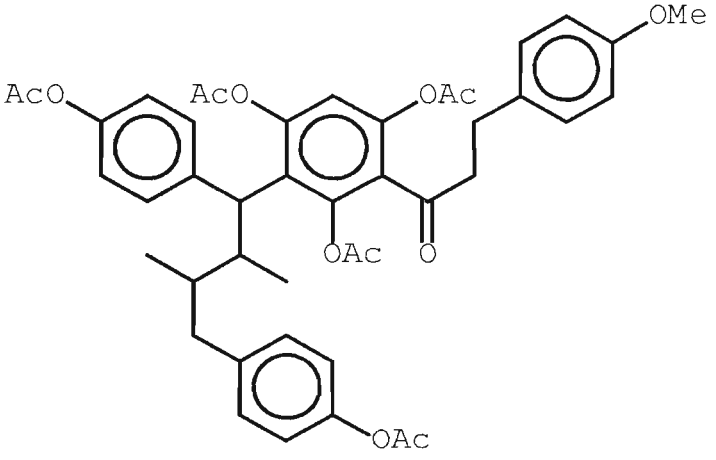
TABELA 16 : Íons e abundâncias relativas obtidos do espectro de massas de Ig-6 Ac.

m/z	%	m/z	%	m/z	%
561	(4)	435	(24)	162	(2)
519	(13)	417	(5)	135	(13)
501	(4)	393	(18)	134	(11)
477	(23)	375	(4)	121	(100)
459	(5)	163	(5)	107	(66)

TABELA 17 : Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H de Ig-6 acetilado.*

Prótons	Sinais (δ)	Sinais de ^1H correlacionados (δ)
H7'	4.09	2.7-2.5
H8	3.1-2.9	2.9-2.8
H7	2.9-2.8	3.1-2.9
H8'	2.7-2.5	0.90; 4.09
H8"	1.6-1.4	0.74
Me9'	0.90	2.7-2.5
Me9"	0.74	1.6-1.4

* ^1H (200 MHz), $CDCl_3$.



Ig-6 Ac

2.7 - Estudo Estereoquímico de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac

As diferenças observadas nos espectros de RMN de ^{1}H e de ^{13}C de Ig-5 Ac e de Ig-6 Ac sugerem a existência de diferentes estereoquímicas nos centros quirais C7', C8' e C8". Este fato requereu a realização de experimentos de Efeito Nuclear Overhauser para estas substâncias para a sua comprovação

Os prótons H7' e H8' mantém uma relação tipo anti-periplanar, de acordo com a equação de Karplus, como evidencia a constante de acoplamento de H7' (J=11,1Hz).

Os espectros de NOE diff (Fig. 16, p. 76 e Fig. 17, p. 77) mostram que, irradiando-se o próton H7', observa-se um aumento de intensidade no sinal do grupo metila Me9", sugerindo a relação tipo syn-periplanar para H7' e Me9". Isto se confirma através da observação do NOE para H7', quando Me9" é irradiado, tanto no caso de Ig-5 Ac, como para Ig-6 Ac. Ao irradiar-se o grupo metila Me9', o sinal referente aos prótons metilênicos H7" é aumentado, sugerindo proximidade espacial destes dois grupos, o que é confirmado pela observação do NOE para o grupo metila Me9', quando os prótons H7" são irradiados.

A existência de três centros quirais implica na existência de, no máximo, oito estereoisômeros (2^n, n=3) para cada uma das estruturas em questão, resultantes das configurações R ou S que cada centro quiral pode ter. Fixando a configuração do centro 7'R para efeito de estudo, teremos as quatro possibilidades seguintes:

(1) - 7'R, 8'R, 8"S
(2) - 7'R, 8'S, 8"R
(3) - 7'R, 8'R, 8"R
(4) - 7'R, 8'S, 8"S

Estabelecida a relação tipo syn-periplanar entre H7' e Me-9", podem ser excluídas as alternativas (3) e (4), já que a proximidade espacial dos prótons metilênicos H7" e do grupo metila Me9' estaria impedida nos casos em que as configurações de C8' e C8" são ambas R ou ambas S. Da mesma forma, ao fixarmos a configuração do centro quiral 7'S, teremos mais quatro possíveis estereoisômeros, dos quais são inviáveis aqueles em que os centros quirais C8' e C8" apresentam mesma configuração simultaneamente, pelos mesmos motivos apresentados acima.

Assim, restam quatro possíveis estereoisômeros para representar as substâncias Ig-5 Ac e Ig-6 Ac, que estão inter-relacionados, formando os seguintes pares:

(1) 7'R, 8'R, 8"S
(2) 7'R, 8'S, 8"R
(5) 7'S, 8'R, 8"S
(6) 7'S, 8'S, 8"R

enantiômeros: (1) e (6); (2) e (5)
diastereômeros: (1) e (2); (1) e (5); (2) e (6); (5) e (6).

A análise dos espectros de NOE diff na região dos prótons aromáticos não auxiliou na distinção entre Ig-5 Ac e Ig-6 Ac, devido à grande semelhança entre estes espectros. Na região dos prótons alifáticos, apesar de não ter sido um instrumento eficiente para a diferenciação das substâncias em questão, a análise dos espectros de NOE diff sugeriu uma definição de conformação e relações espaciais que se mostrou essencial para a continuidade do estudo estereoquímico.

Tentou-se, então, analisar a estereoquímica dos centros quirais C7',C8' e C8" com base nas possibilidades de proteção que os anéis A, B e C exercem sobre os grupos metila Me9' e Me9".

TABELA 18 : Proteção exercida pelos anéis aromáticos A, B e C sobre os grupos metila Me9' e Me9" das estruturas (1), (2), (5) e (6).

Estruturas		Proteção de Anel
(1) e (6)	Me9'	A e B
	Me9"	(C)
(2) e (5)	Me9'	B e (C)
	Me9"	A

TABELA 19 : Deslocamentos químicos de RMN de ^{1}H e de ^{13}C dos grupos metila Me9' e Me9".

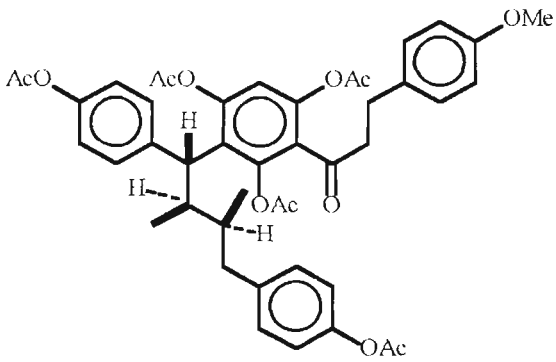
Substâncias		δ (^{13}C; ppm)	δ (^{1}H; ppm)
Ig-5 Ac	Me9'	10.6	0.65
	Me9"	14.0	0.85
Ig-6 Ac	Me9'	13.4	0.90
	Me9"	12.3	0.74

O anel C não exerce proteção efetiva por ter grupos volumosos como substituintes, o que o impede estericamente de adotar conformações que resultassem em proteção aos grupos metila. O grupo metila Me9' de Ig-5 Ac é o mais blindado magneticamente (Tabela 19, p. 49), absorvendo em campo mais alto dentre os quatro metilas analisados, tanto em RMN de ^{13}C (10,6 δ) como em RMN de ^{1}H (0,65 δ). Isto nos leva à proposição das estruturas (1) ou (6) (Fig. 18, p. 51) para representar a substância Ig-5 Ac, já que o grupo Me9' de Ig-5 Ac está sob proteção dos anéis A e B (Tabela 18, p. 49). O fato do grupo metila Me-9" de Ig-5 Ac apresentar absorções em campo mais baixo (Tabela 19, p. 49) em RMN de ^{13}C (14,0 δ) e de ^{1}H (0,85 δ) sugere uma falta de blindagem acentuada, como a oferecida pelo anel C, o que corrobora a proposição feita acima.

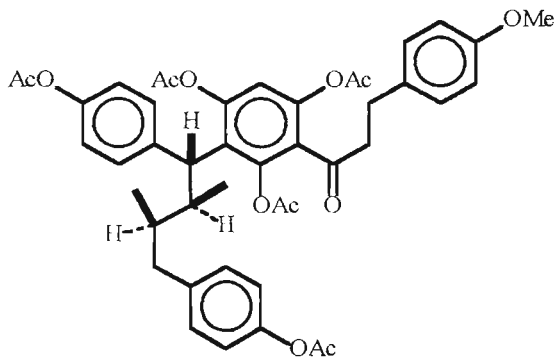
Os grupos metila de Ig-6 Ac têm deslocamentos químicos intermediários aos de Ig-5 Ac (Tabela 19, p. 49) sugerindo a existência de proteção de anel de intensidade também intermediária. Esta é exatamente a situação apresentada pelas estruturas (2) e (5) (Fig. 18, p. 51), levando-nos a propor estas estruturas para representar a substância Ig-6 Ac.

Os dados de RMN de ^{1}H e de ^{13}C são idênticos para enantiômeros; assim ao se sugerir as configurações 7'R, 8'R, 8"S (1) para Ig-5 Ac, está-se automaticamente incluindo a possibilidade 7'S, 8'S, 8"R (6) para esta substância. O mesmo ocorre com Ig-6 Ac, para a qual existem as possibilidades 7'S, 8'R, 8"S (2) e 7'R, 8'S, 8"R (5), ficando estabelecida a configuração relativa destas duas substâncias.

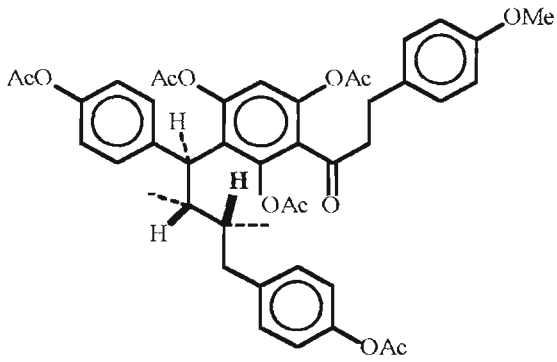
FIGURA 18 : Estruturas representativas de Ig-5 Ac (1) ou (6) e de Ig-6 Ac (2) ou (5).



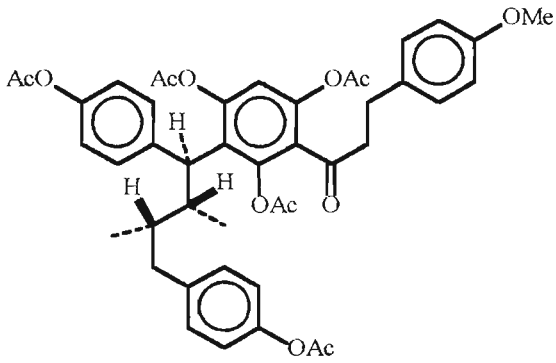
(1)



(2)



(6)

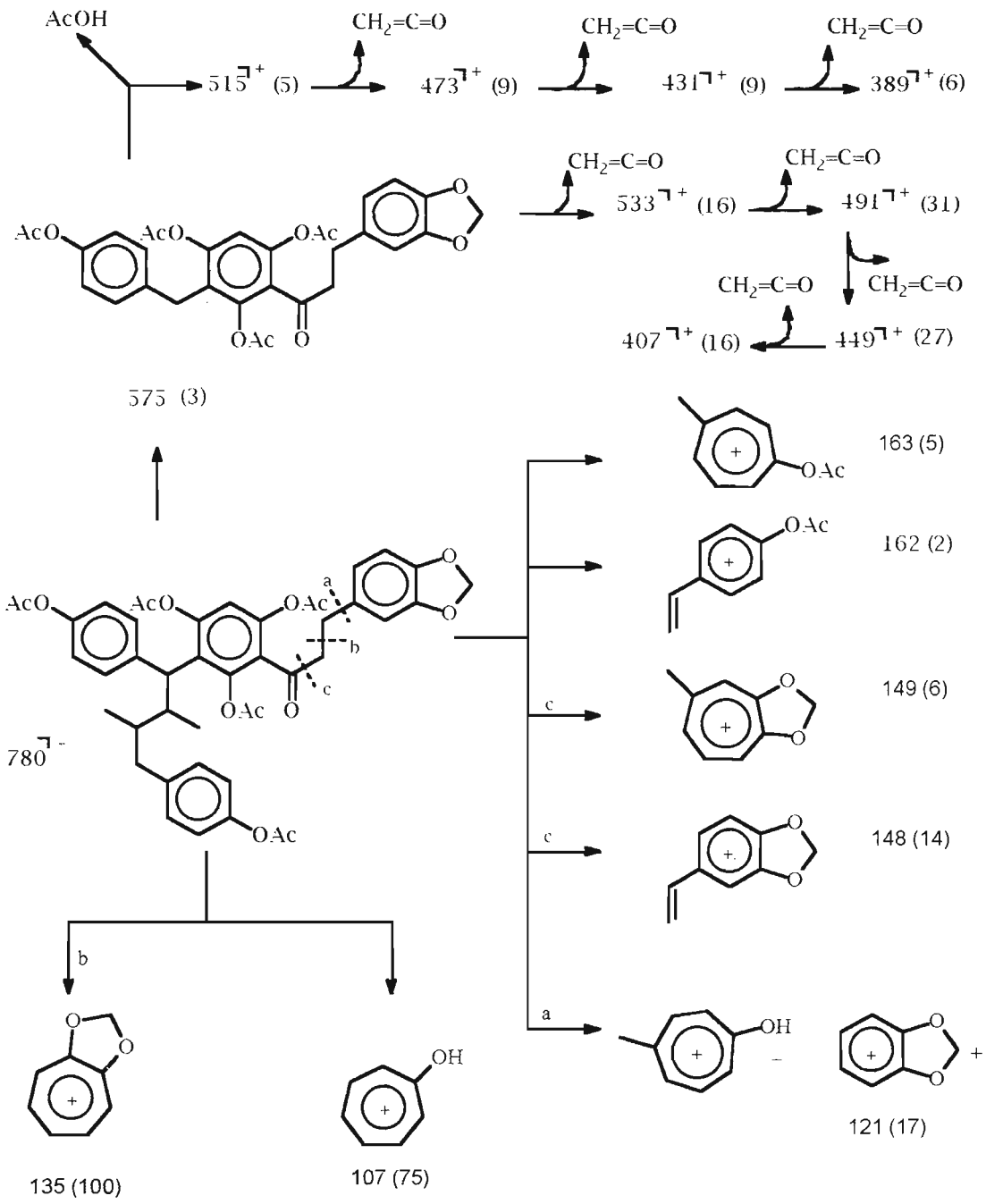


(5)

2.8 - Elucidação Estrutural de Ig-7 Ac e Ig-8 Ac

A determinação estrutural de Ig-7 Ac baseou-se na análise dos seus espectros de RMN de ^{1}H (Fig. 19, p. 78 e Tabela 11, p. 39), RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (Fig. 20, p. 79 e Tabela 20, p. 54) e de massas (Esquema 5, p. 53), bem como na sua comparação com as considerações feitas para Ig-5 Ac (item 2.5, p. 37) em virtude da semelhança dos dados espectrais destas duas substâncias. O flavonolignóide Ig-7 Ac difere de Ig-5 Ac no padrão de substituição do anel D: piperonila em lugar de *p*-metoxifenila, como pode-se constatar pela observação dos picos com m/z 148 (14) e 149 (6) no espectro de massas de Ig-7 Ac.

ESQUEMA 5 : Fragmentações observadas no espectro de massas de Ig-7 Ac e Ig-8 Ac.*



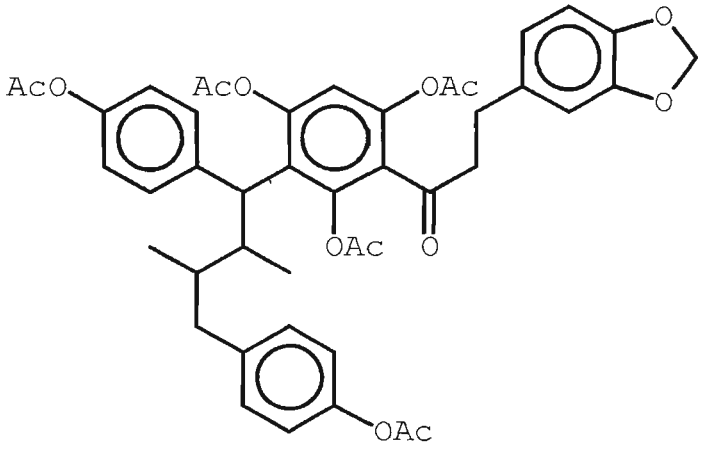
* As abundâncias relativas referem-se a Ig-7 Ac. Os valores correspondentes a Ig-8 Ac encontram-se na Tabela 21, p. 55.

TABELA 20 : Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H de Ig-7 acetilado.*

Prótons	Sinais (δ)	Sinais de ^1H correlacionados (δ)
H7'	4,04	2,7-2,5
H8	3,0-2,9	2,9-2,8
H7	2,9-2,8	3,0-2,9
H7"	2,7-2,5	2,1-1,8
H8'	2,7-2,5	0,64; 2,1-1,8; 4,04
H8"	2,1-1,8	0,85; 2,7-2,5
Me9"	0,85	2,1-1,8
Me9'	0,64	2,7-2,5

* ^1H (200MHz), $CDCl_3$.

Estas informações permitem propor para Ig-7 Ac, a estrutura abaixo:



Ig-7 Ac

Analogamente, a estrutura de Ig-8 Ac foi determinada baseando-se na análise dos seus espectros de RMN de ^{1}H (Fig. 21, p. 80 e Tabelas 11 e 12, pp. 39 e 40), de ^{13}C (Fig. 22 e 23, pp. 81 e 82 e Tabelas 13 e 14, pp. 41 e 42), RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (Fig. 24, p. 83 e Tabela 22, p. 56) e de massas (Tabela 21, p. 55), e também por comparação com a substância Ig-6 Ac (item 2.6, p. 45) em virtude da semelhança dos dados espectrais destas duas substâncias, principalmente no espectro de RMN de ^{1}H, na região dos prótons metínicos e aromáticos, diferindo apenas no substituinte do anel D.

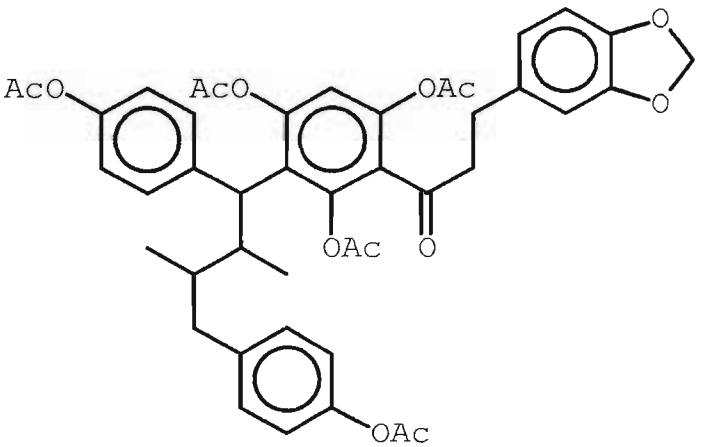
TABELA 21 - Íons e abundâncias relativas obtidos do espectro de massas de Ig-8 Ac.

m/z	%	m/z	%	m/z	%	m/z	%
575	(3)	473	(12)	389	(7)	148	(13)
533	(18)	449	(28)	163	(7)	135	(100)
515	(7)	431	(14)	162	(2)	121	(17)
491	(31)	407	(16)	149	(8)	107	(74)

TABELA 22 : Correlações obtidas do espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^1H-^1H de Ig-8 acetilado.*

Prótons	Sinais (δ)	Sinais de ^1H correlacionados (δ)
H7'	4.10	2.7-2.6
H8	3.0-2.9	2.9-2.8
H7	2.9-2.8	3.0-2.9
H8'	2.7-2.6	0.92; 4.10
H7"	2.6-2.4	1.7-1.5
H8"	1.7-1.5	0.76; 2.6-2.4
Me9'	0.92	2.7-2.6
Me9"	0.76	1.7-1.5

* (200 MHz), $CDCl_3$.



Ig-8 Ac

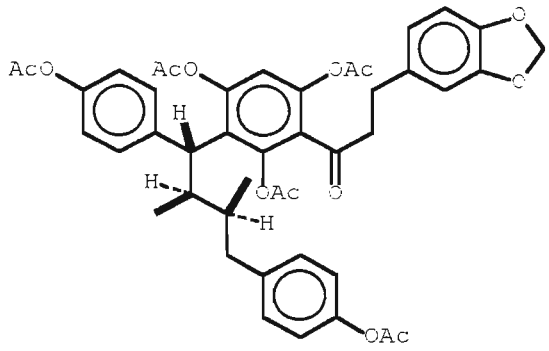
2.9 - Estudo Estereoquímico de Ig-7 Ac e Ig-8 Ac por comparação com Ig-5 Ac e Ig-6 Ac.

É interessante notar que todas as diferenças observadas nos dados espectrométricos de RMN entre os flavonolignóides isolados ocorrem em átomos ligados ou próximos, mas, de alguma maneira envolvidos com os centros quirais C7', C8' e C8", confirmando a tese de que a diferença entre as substâncias Ig-5 Ac e Ig-6 Ac, assim como entre Ig-7 Ac e Ig-8 Ac, reside em alterações nas configurações destes centros de assimetria.

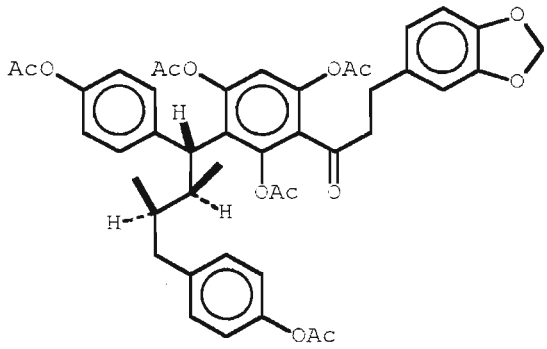
Com base nestas afirmações, pode-se propor para Ig-7 Ac, as mesmas configurações de Ig-5 Ac (Fig. 18, p. 51); e para Ig-8 Ac, configurações iguais às de Ig-6 Ac, ficando determinadas as configurações relativas destas substâncias (Fig, 25, p. 58):

Ig-7 Ac : (1) 7'R, 8'R, 8"S ou (6) 7'S, 8'S, 8"R
Ig-8 Ac : (2) 7'R, 8'S, 8'R ou (5) 7'S, 8'R, 8"S

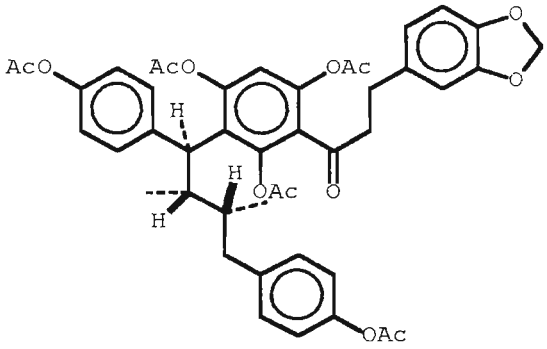
FIGURA 25 : Estruturas representativas de Ig-7 Ac: (1) ou (6) e de Ig-8 Ac: (2) ou (5).



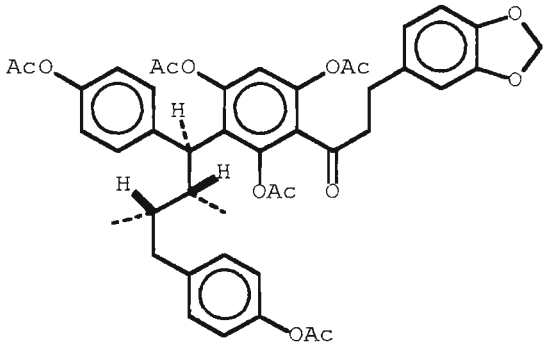
(1)



(2)



(6)



(5)

3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A família Myristicaceae é constituída por 300 espécies [15], sendo que 28 destas, pertencentes na sua maioria aos gêneros *Virola* e *Iryanthera*, já foram estudadas pelo grupo do Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da USP. É interessante observar a limitação da ocorrência de flavonolignóides exclusivamente ao gênero *Iryanthera*. O isolamento das iryantherinas G, H, I e J de *I. grandis* neste trabalho vem corroborar esta observação. Outros flavonolignóides já foram isolados das espécies *I. laevis*, *I. paraensis* e *I. ulei*.

As diferenças entre as amêndoas atacadas por insetos e as amêndoas inteiras foram observadas apenas nos seus extratos hexânicos e referem-se à ocorrência e à quantidade de metabólitos especiais nestes extratos. Nas amêndoas atacadas por insetos não foi detectada a presença do tocotrienol Ig-4, enquanto nas amêndoas inteiras o tocotrienol Ig-3 não foi encontrado. Em relação à soma das massas das substâncias Ig-1, Ig-2, Ig-3 e Ig-4 para os dois casos, observou-se uma quantidade 25% maior para as amêndoas atacadas por insetos. Isto se deve provavelmente, à maior concentração de ácidos graxos e triglicerídeos no caso das amêndoas não atacadas por insetos, não constituindo, no entanto, diferença significativa entre os dois extratos.

O α-tocoferol apresenta intensa atividade anti-oxidante e é, por isso, amplamente utilizado na indústria, principalmente alimentícia. A sua associação com flavonolignóides extraídos de *Sylibum marianum* (Asteraceae) intensifica a sua potência anti-oxidante por provocar a ação sinérgica entre os constituintes da mistura, tendo sido patenteada recentemente [3]. Os tocotrienóis Ig-3 e Ig-4 foram testados em ensaios farmacológicos para medida de atividade anti-oxidante, fornecendo resultados da mesma ordem de grandeza do α-tocoferol. É interessante notar a co-ocorrência destes tocotrienóis com flavonolignóides nas amêndoas de *I. grandis*, cujo alto teor em triglicerídeos e ácidos graxos estaria sujeito a degradação por processos oxidativos mais facilmente na ausência de substâncias protetoras, inibidoras destes processos.

4 - ESPECTROS DE RMN

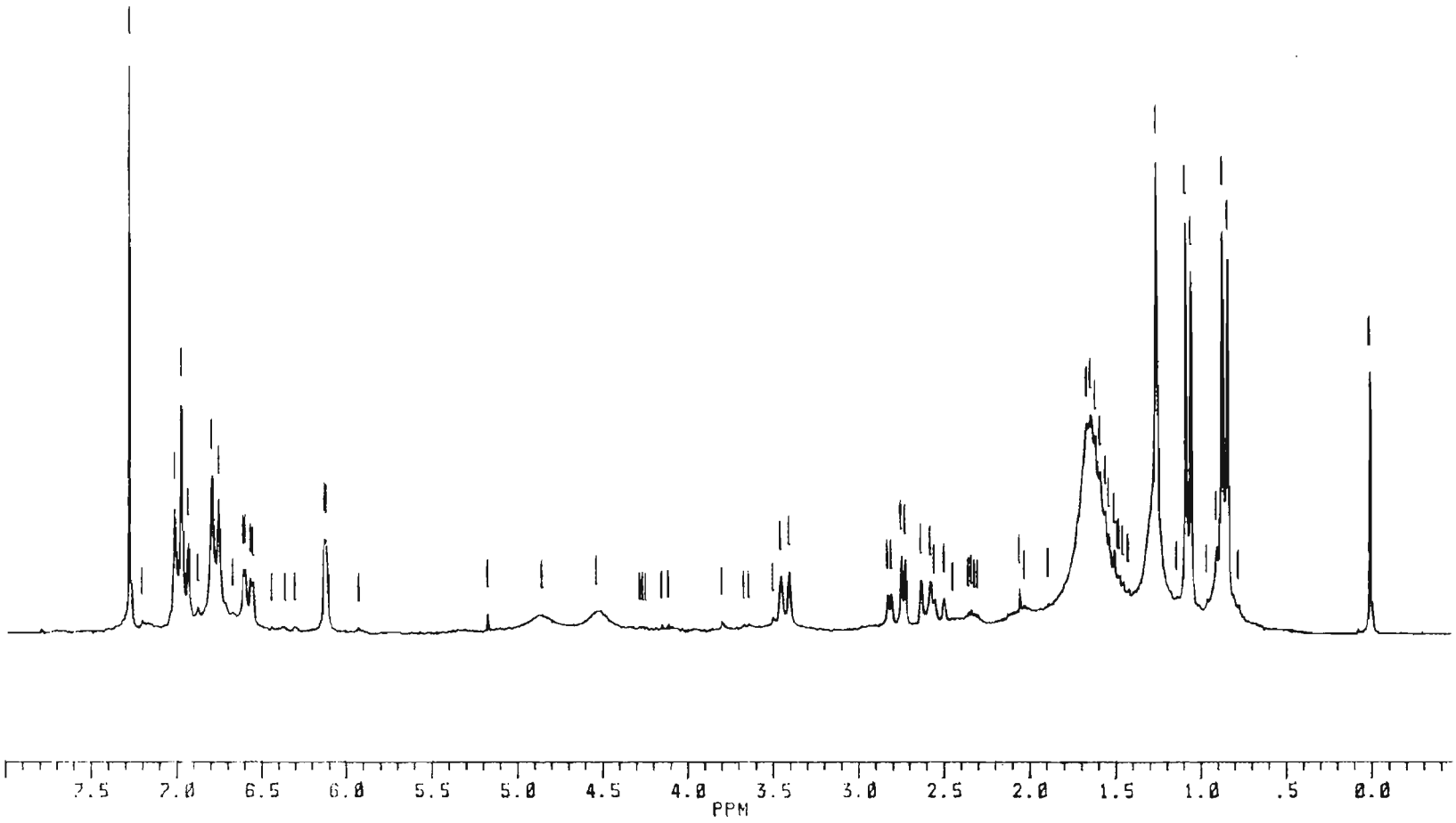


FIGURA 1: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-1.

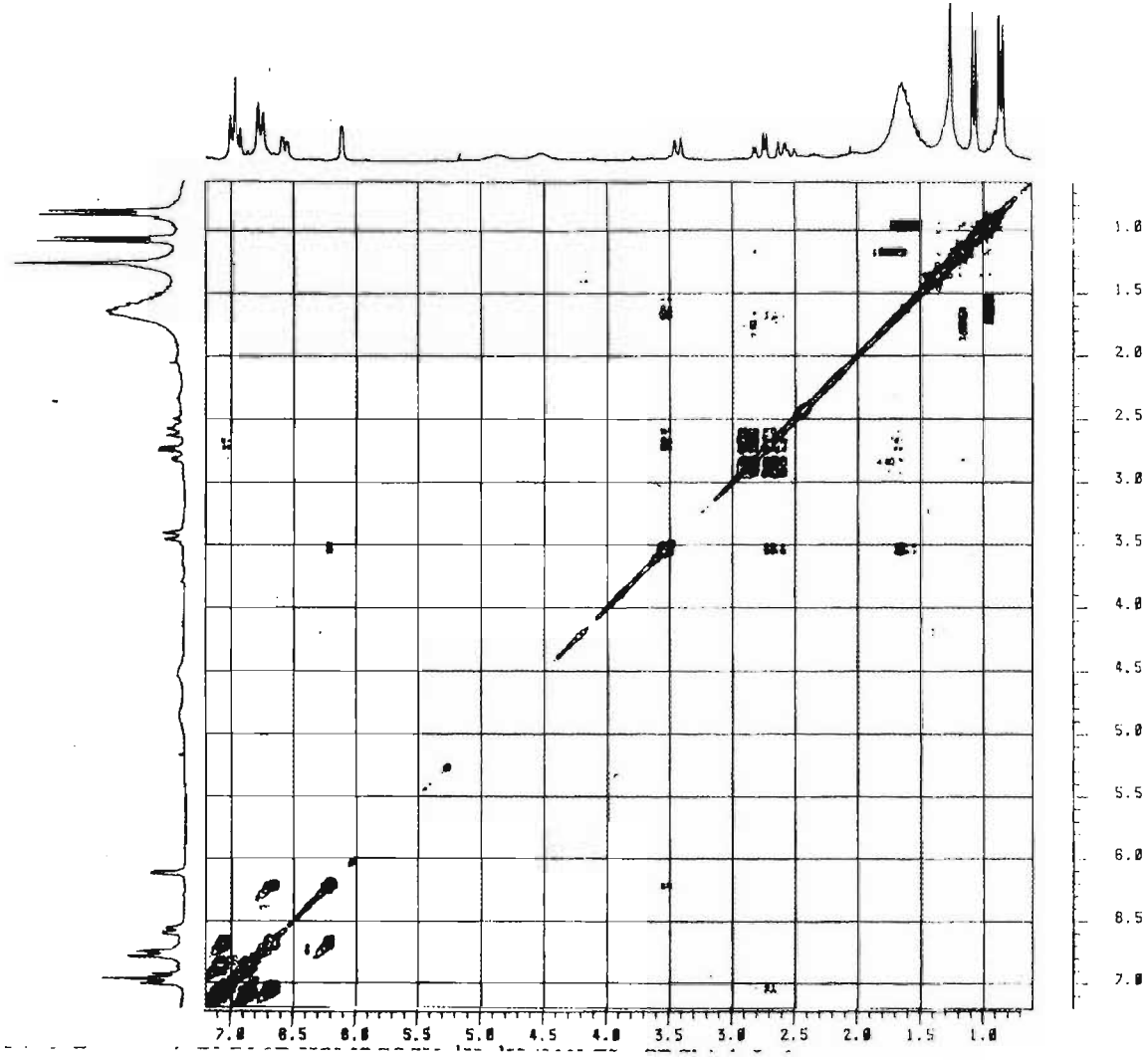


FIGURA 2: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200MHz, $CDCl_3$) de Ig-1.

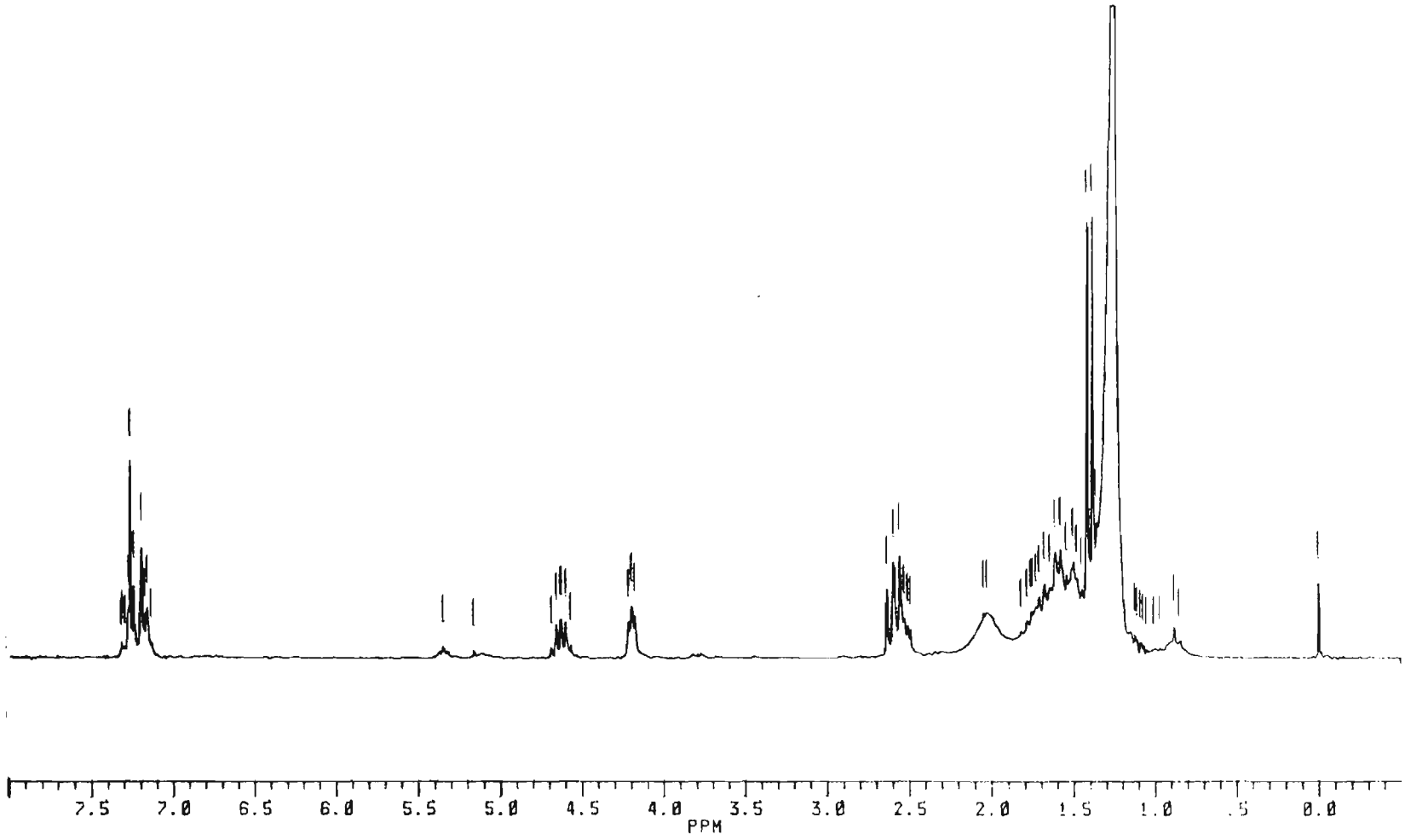


FIGURA 3: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-2.

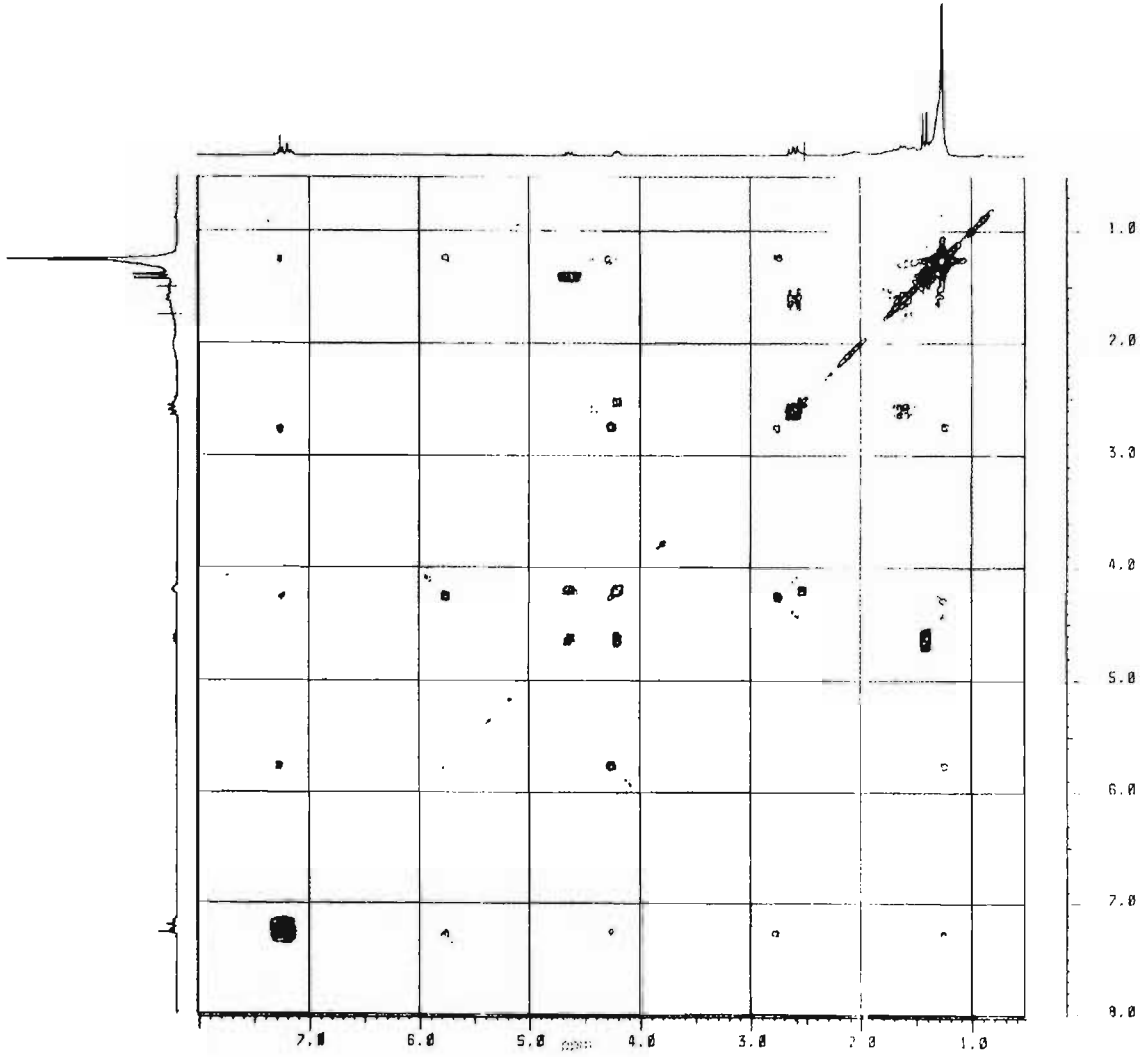


FIGURA 4: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-2.

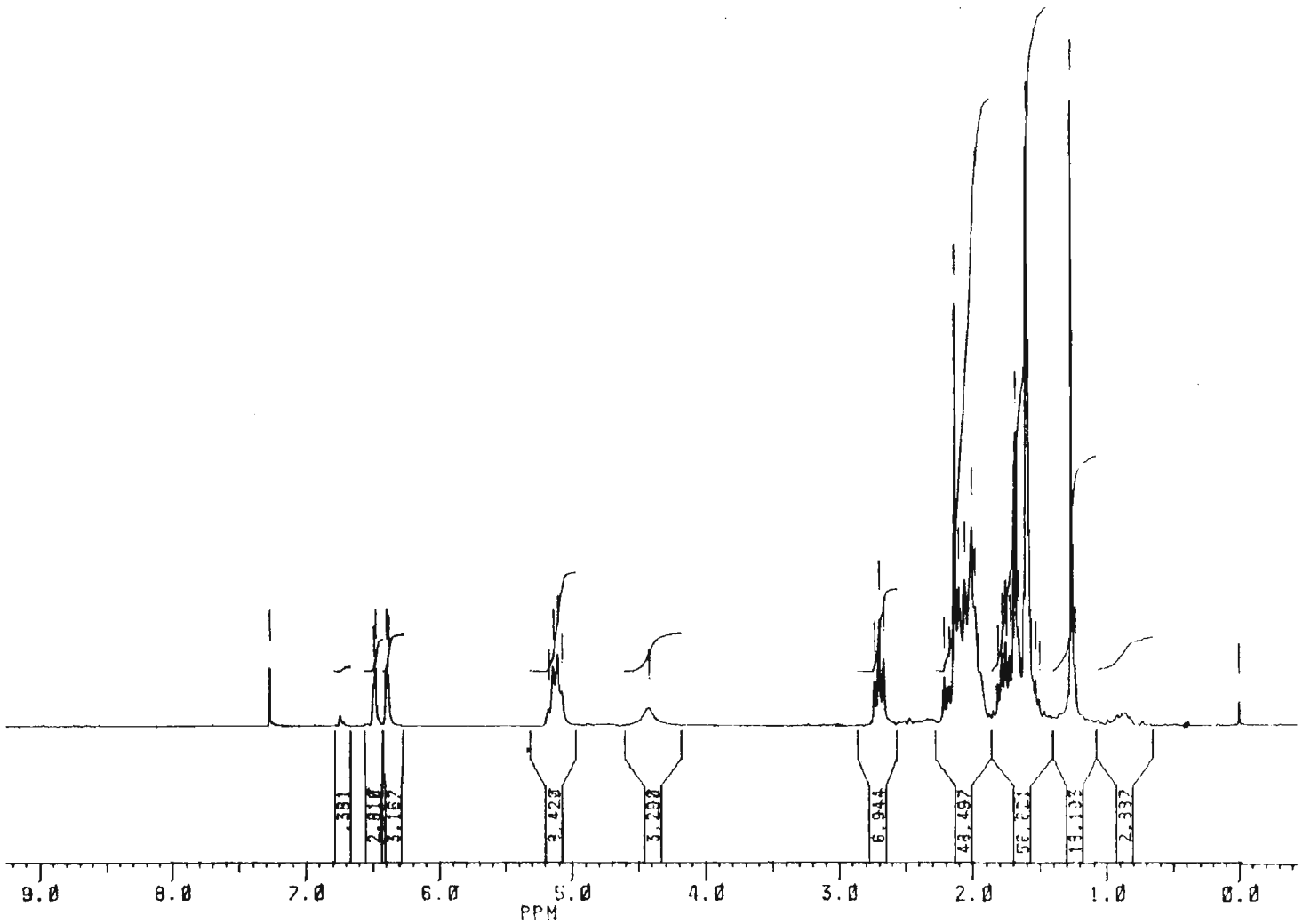


FIGURA 5: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-3.

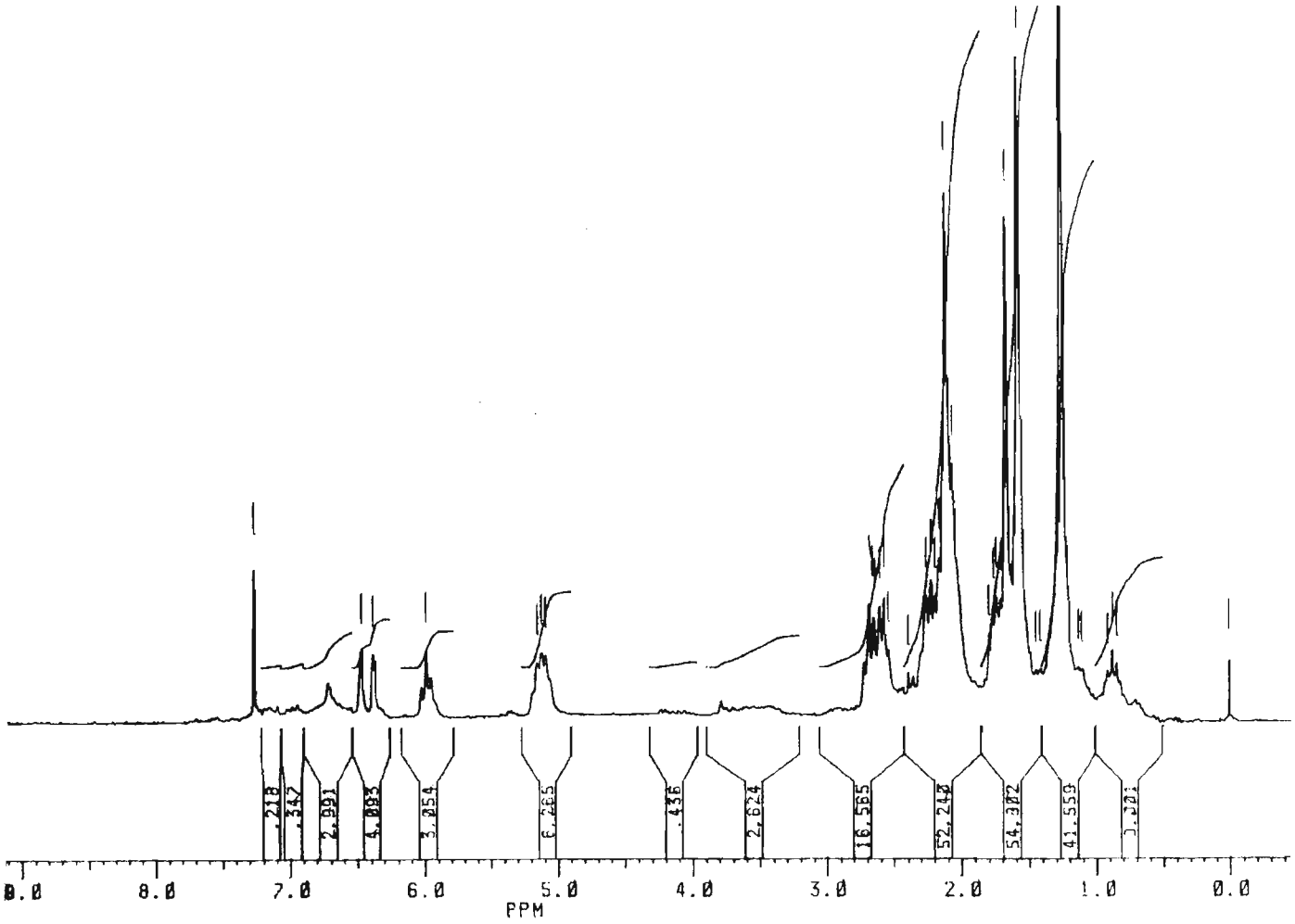


FIGURA 6: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-4.

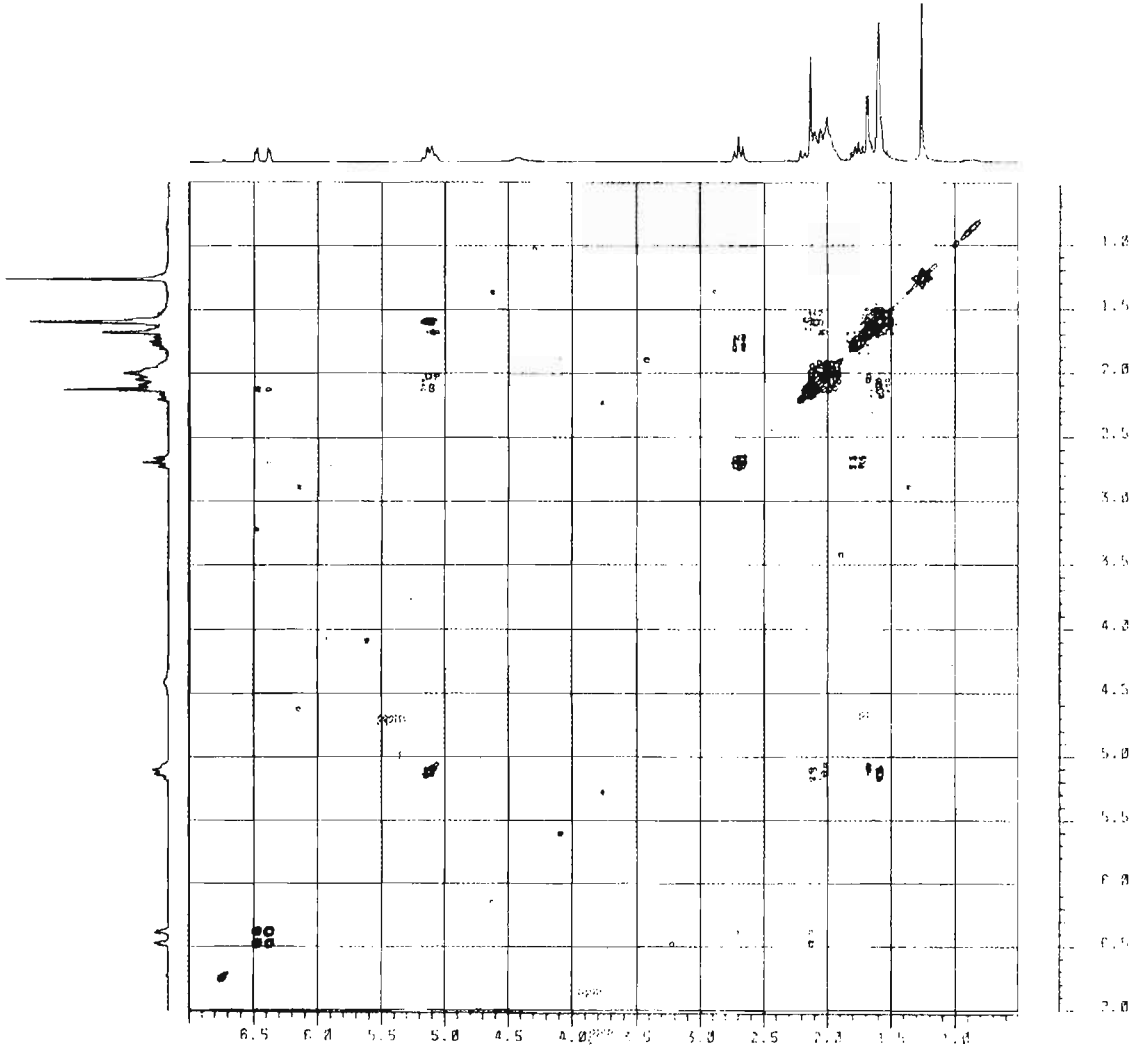


FIGURA 7: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-3.

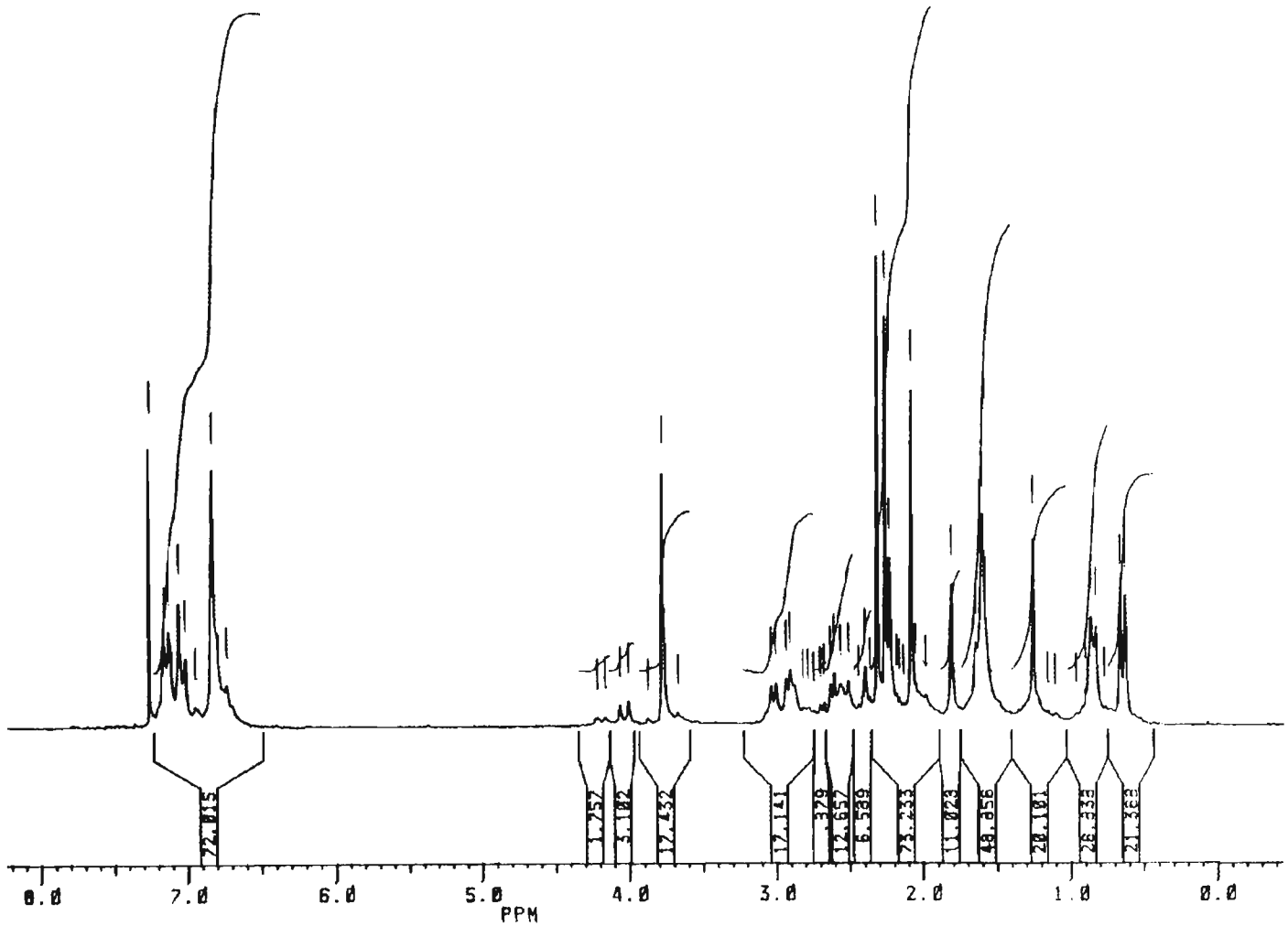


FIGURA 8: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac.

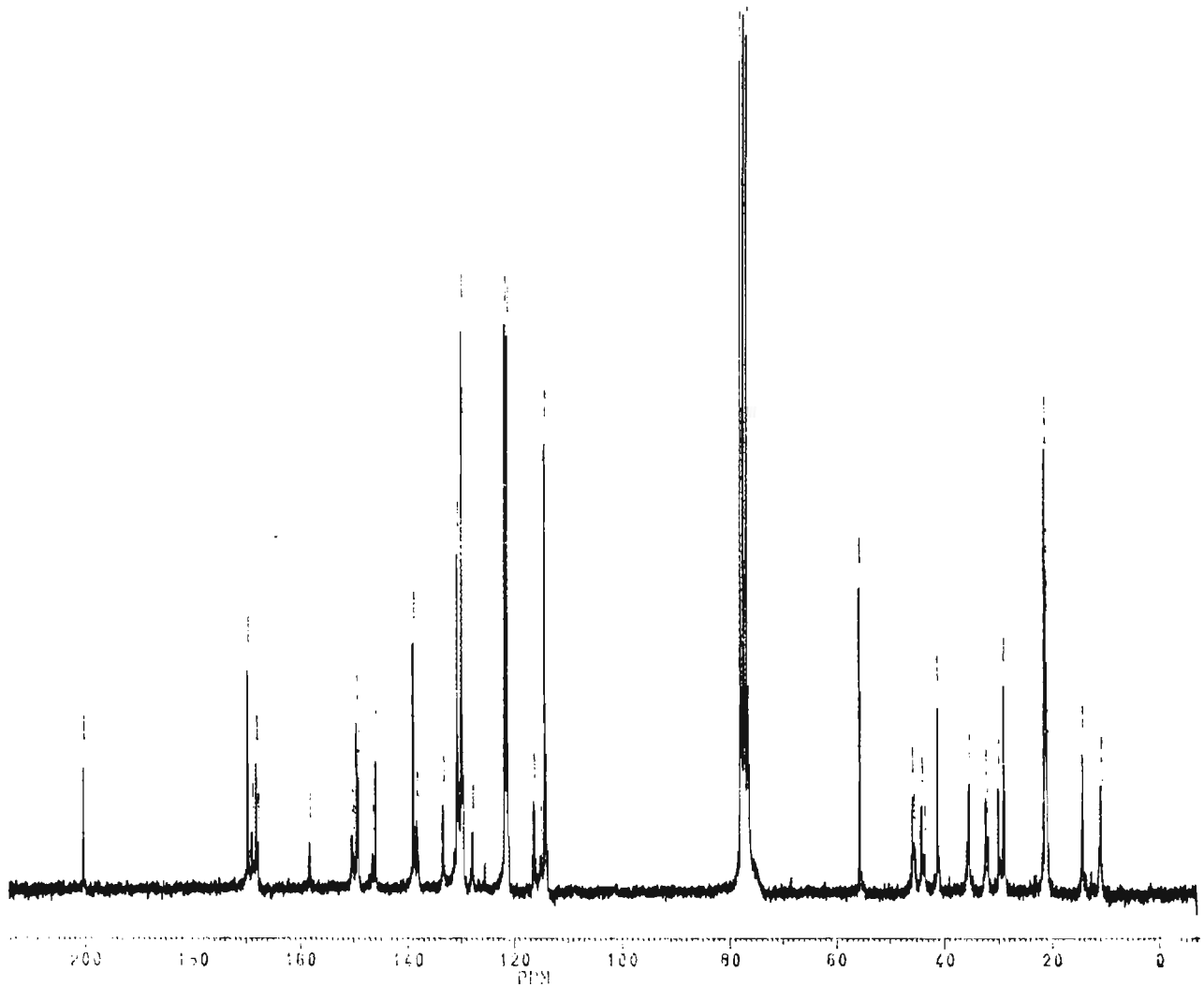


FIGURA 9: Espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac.

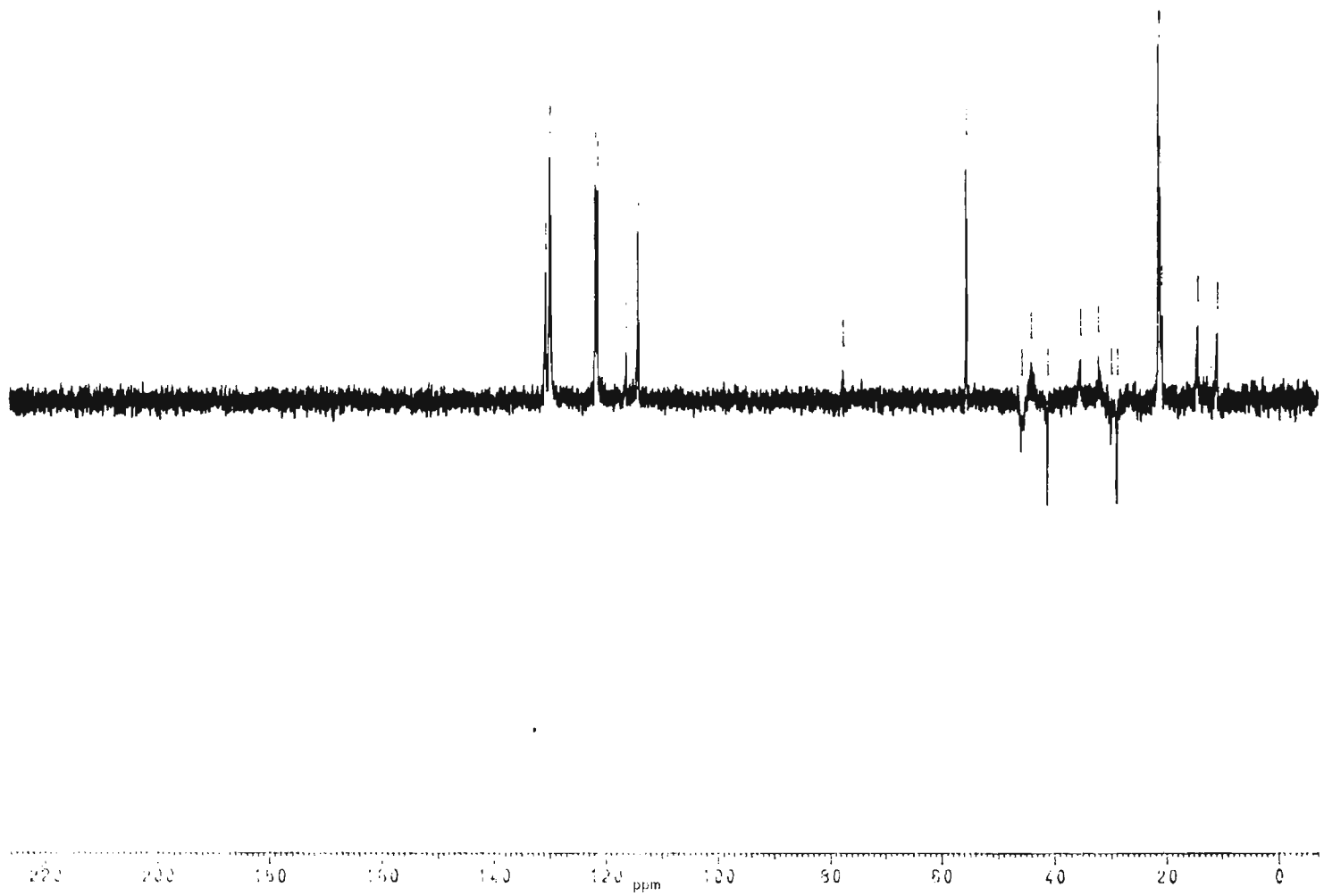


FIGURA 10: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135º (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac.

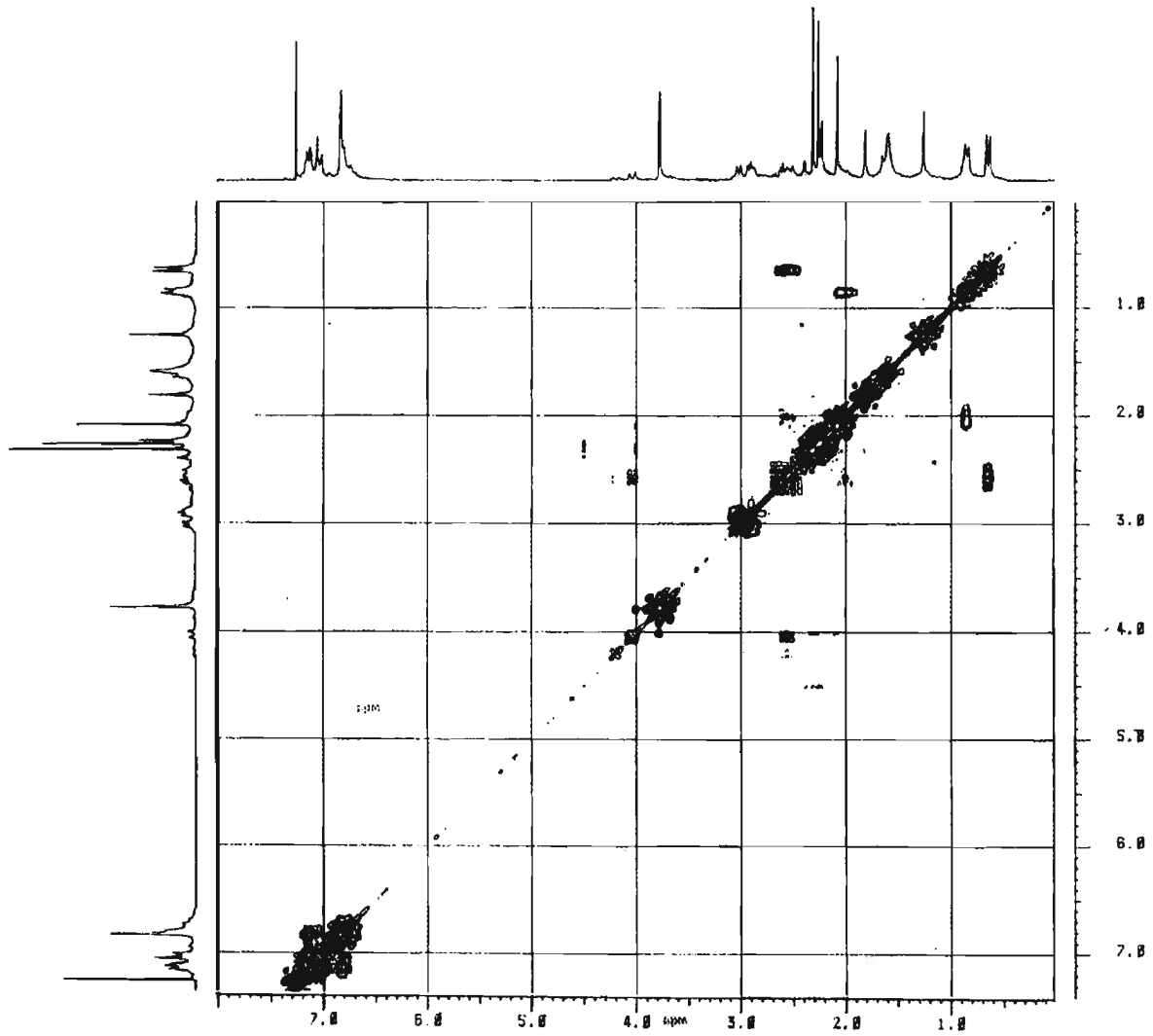


FIGURA 11: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac.

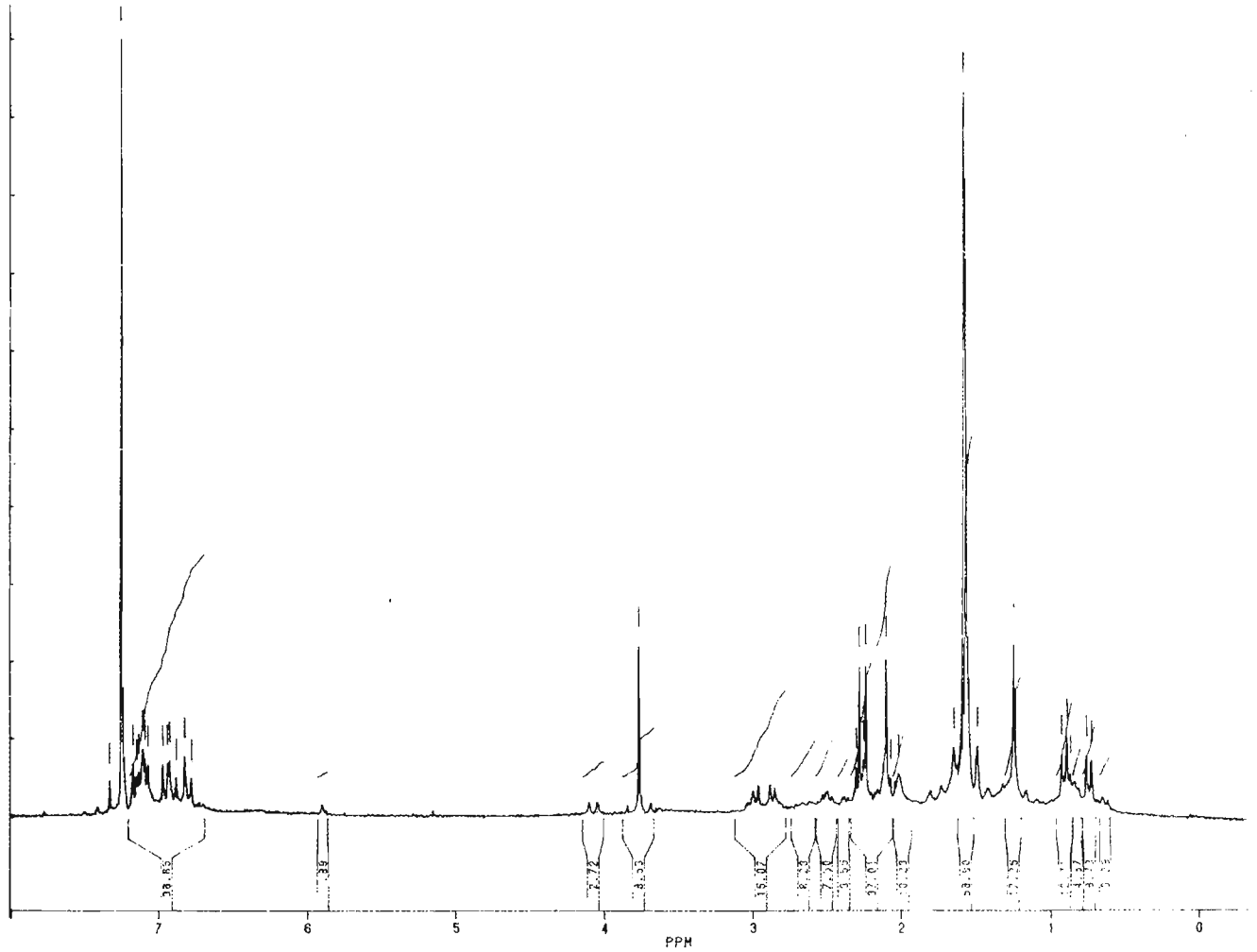


FIGURA 12: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-6 Ac.

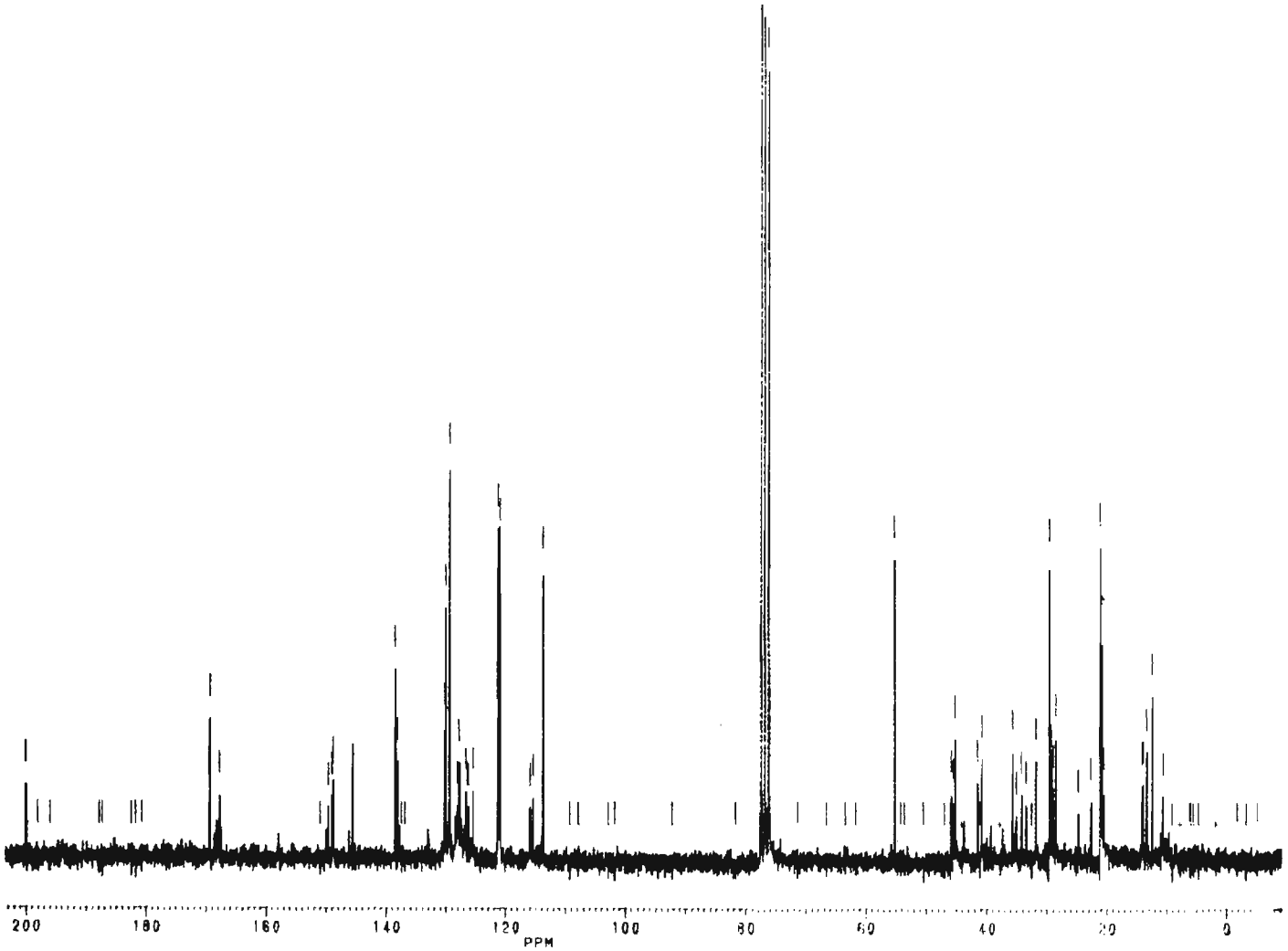


FIGURA 13: Espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) da mistura de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac.

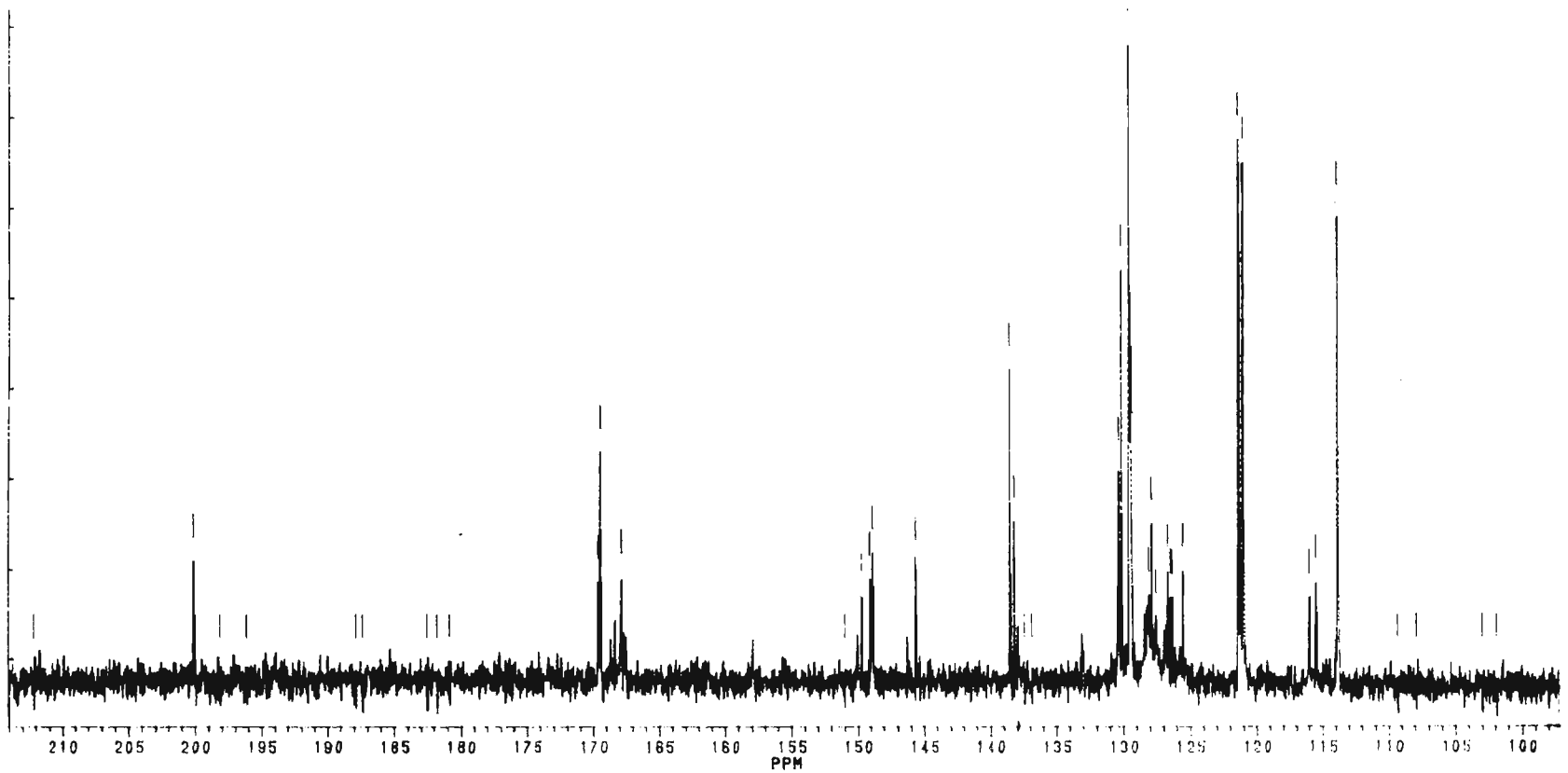


FIGURA 13a: Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) da mistura de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac.

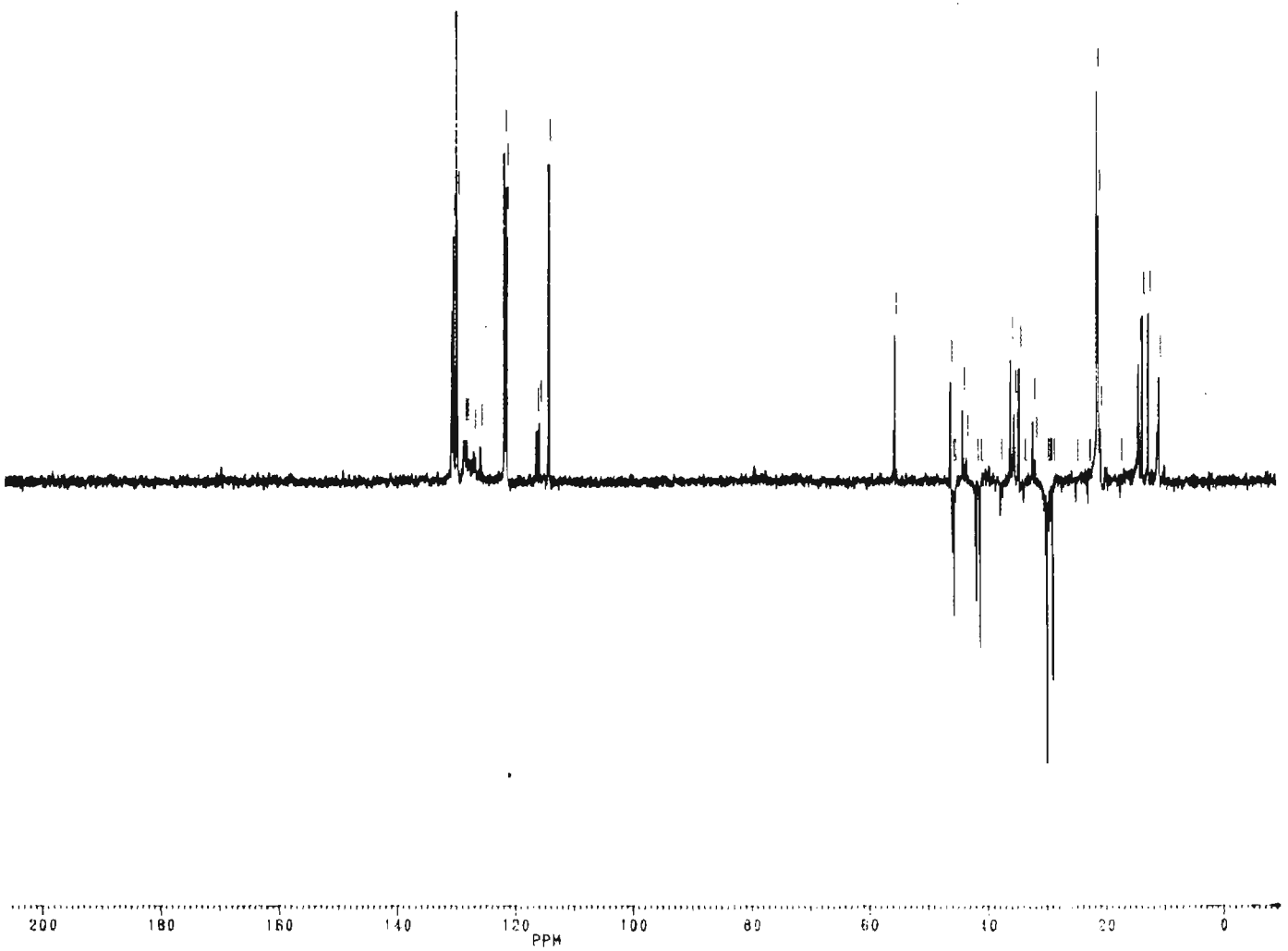


FIGURA 14: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135º (50 MHz,$CDCl_3$) da mistura de Ig-5 Ac e Ig-6 Ac.

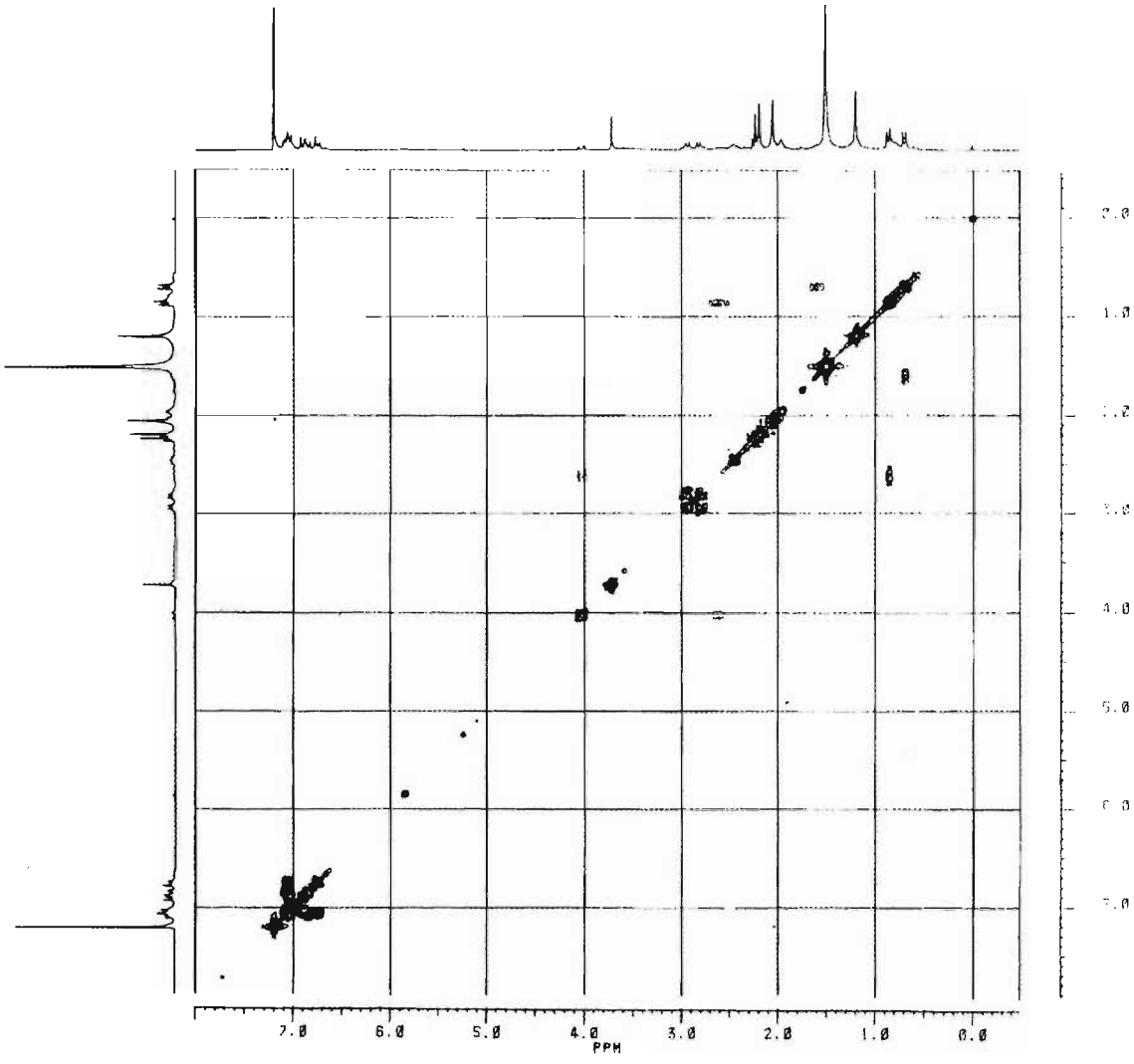


FIGURA 15: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H- ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-6 Ac.

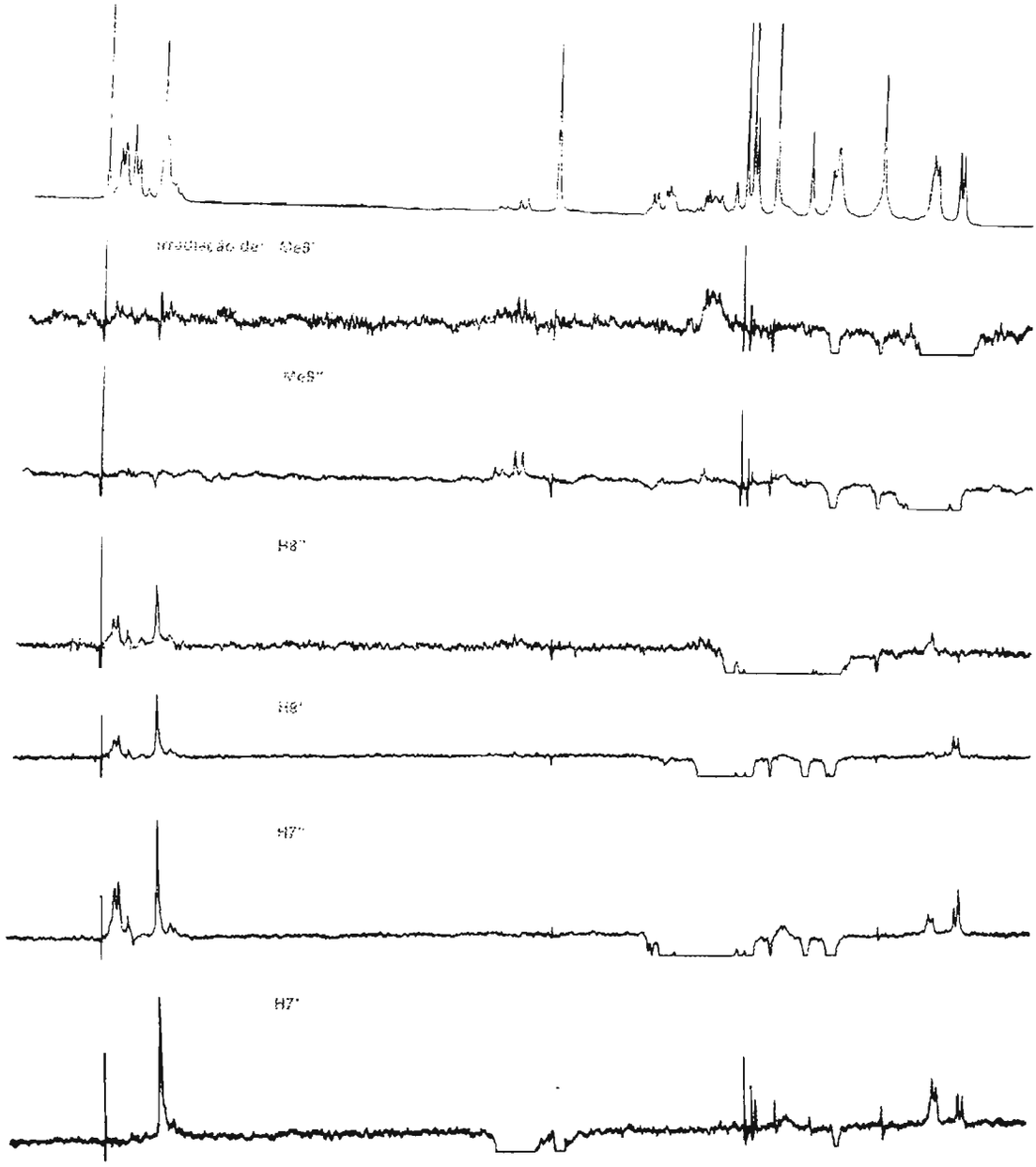


FIGURA 16: Espectro de NOE-diff (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-5 Ac.

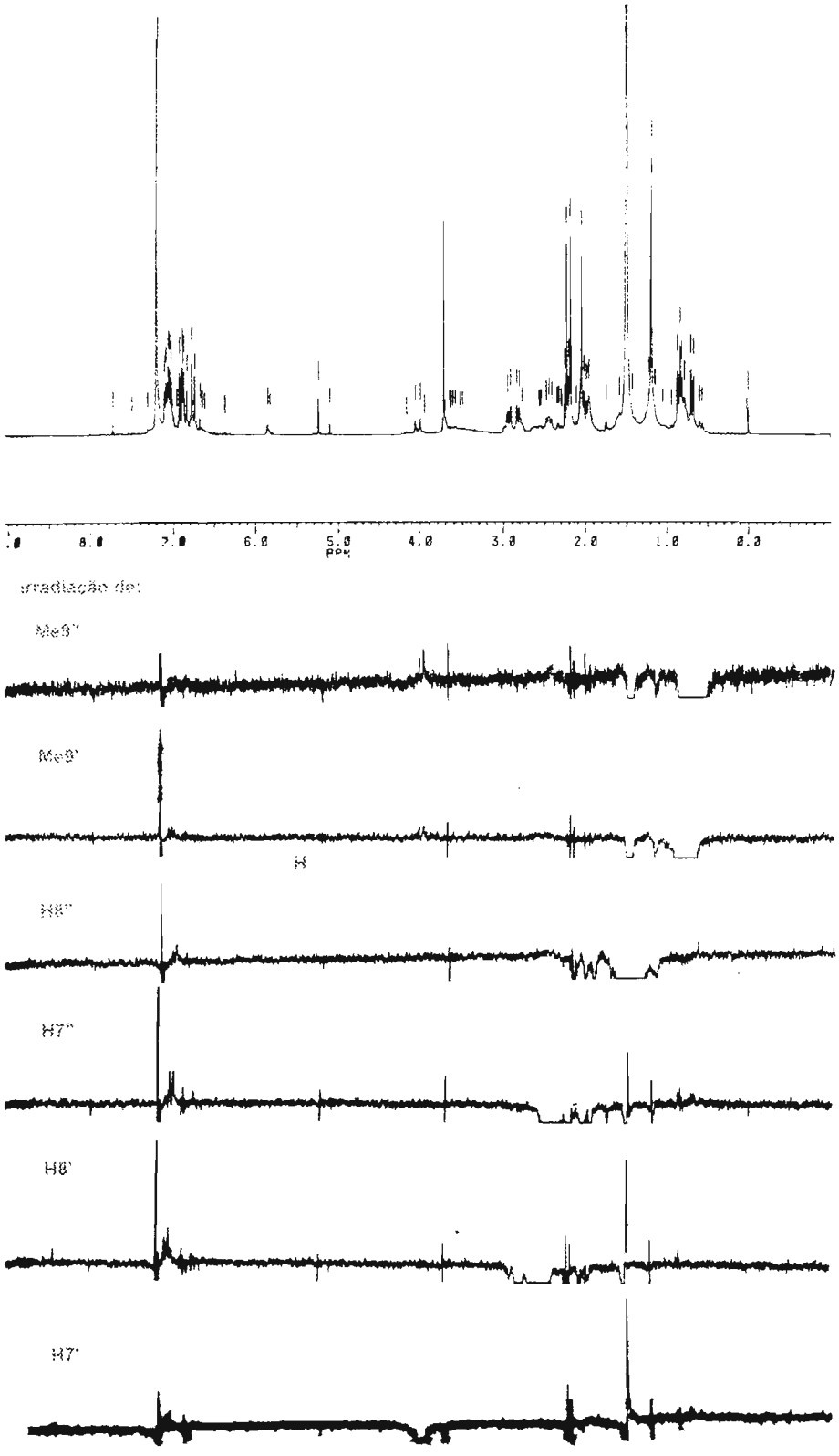


FIGURA 17: Espectro de NOE-diff (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-6 Ac.

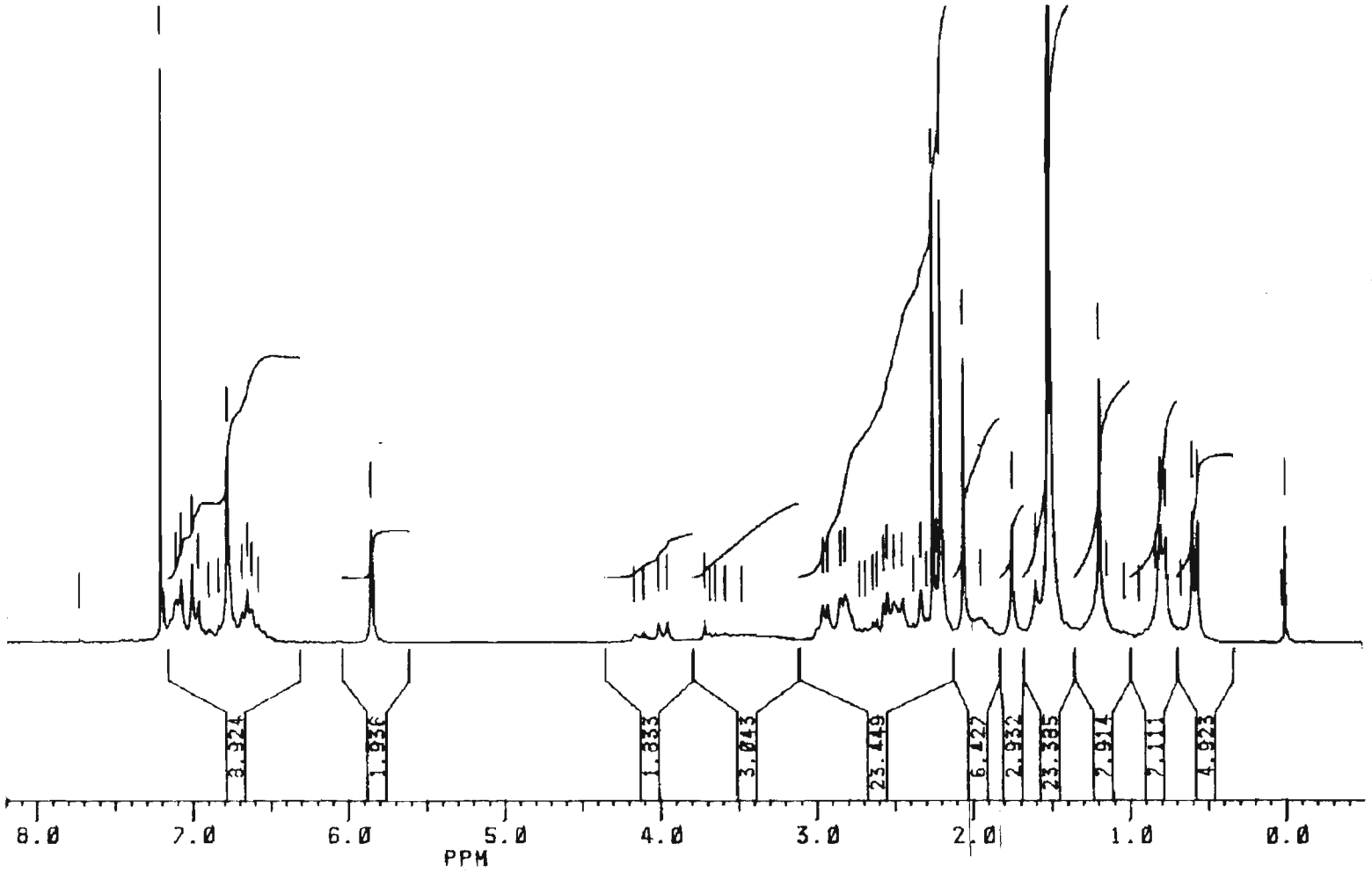


FIGURA 19: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-7 Ac.

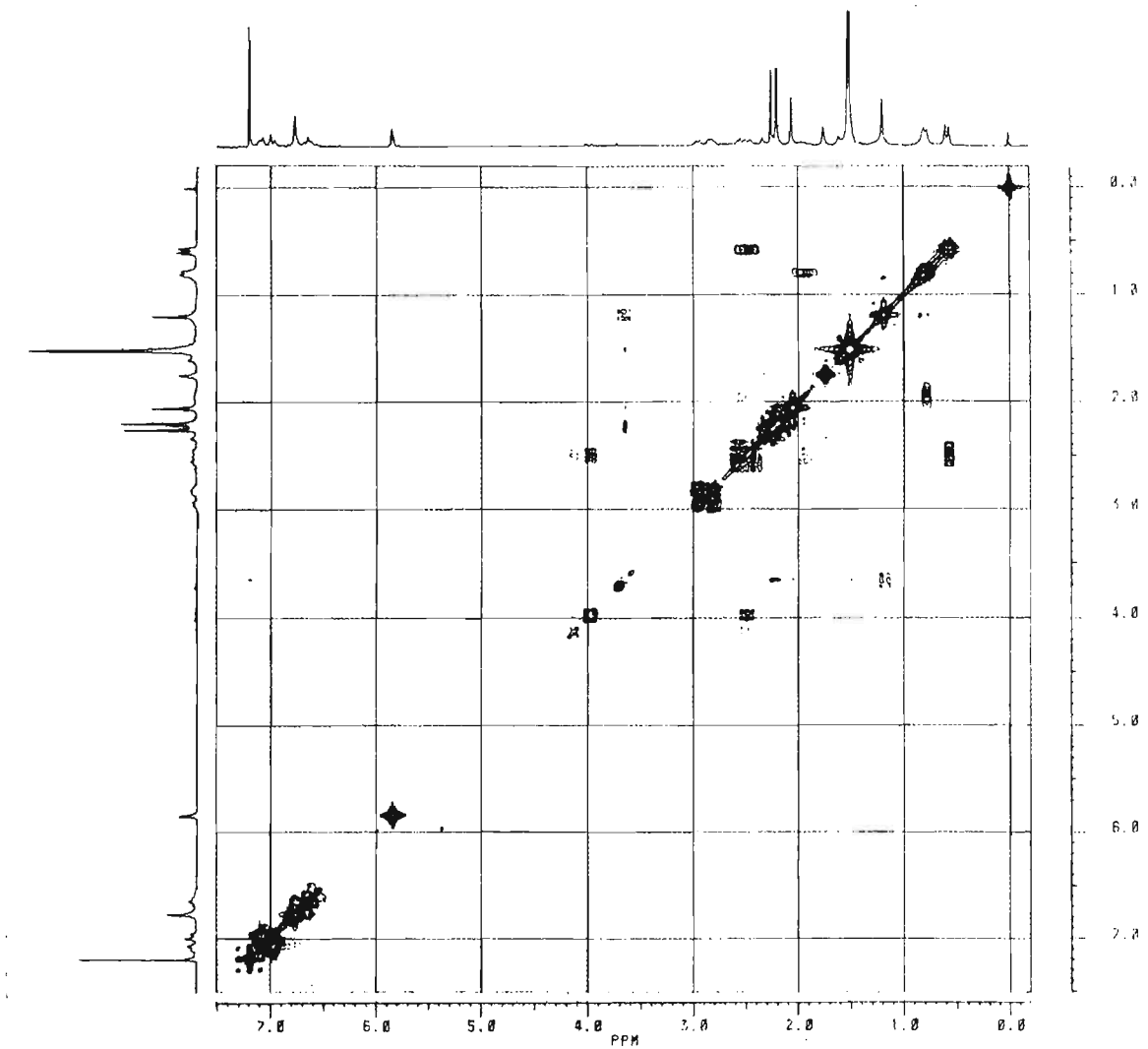


FIGURA 20: Espectro de RMN-2D HOMOCOSY ^{1}H-^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-7 Ac.

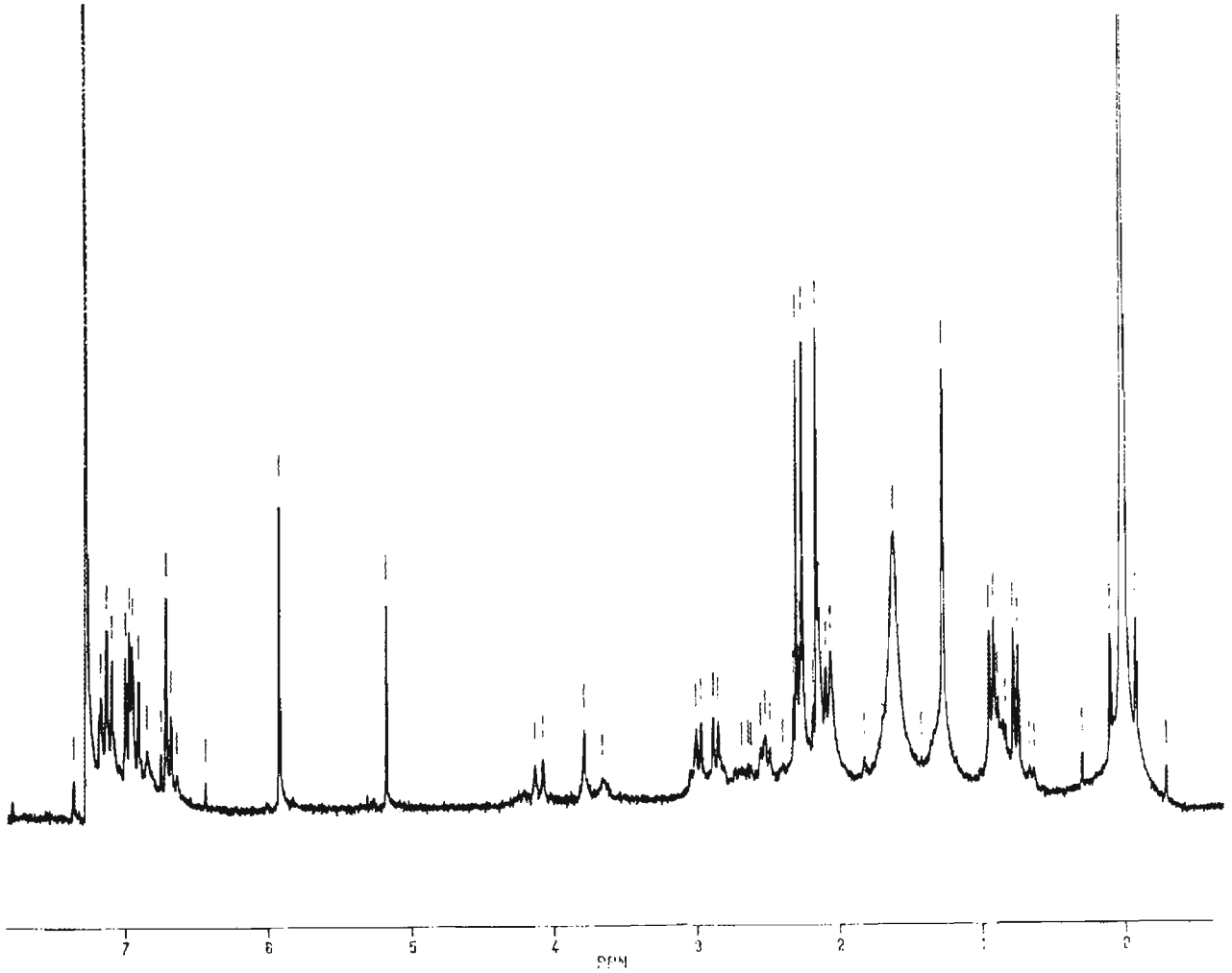


FIGURA 21: Espectro de RMN de ^{1}H (200 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac.

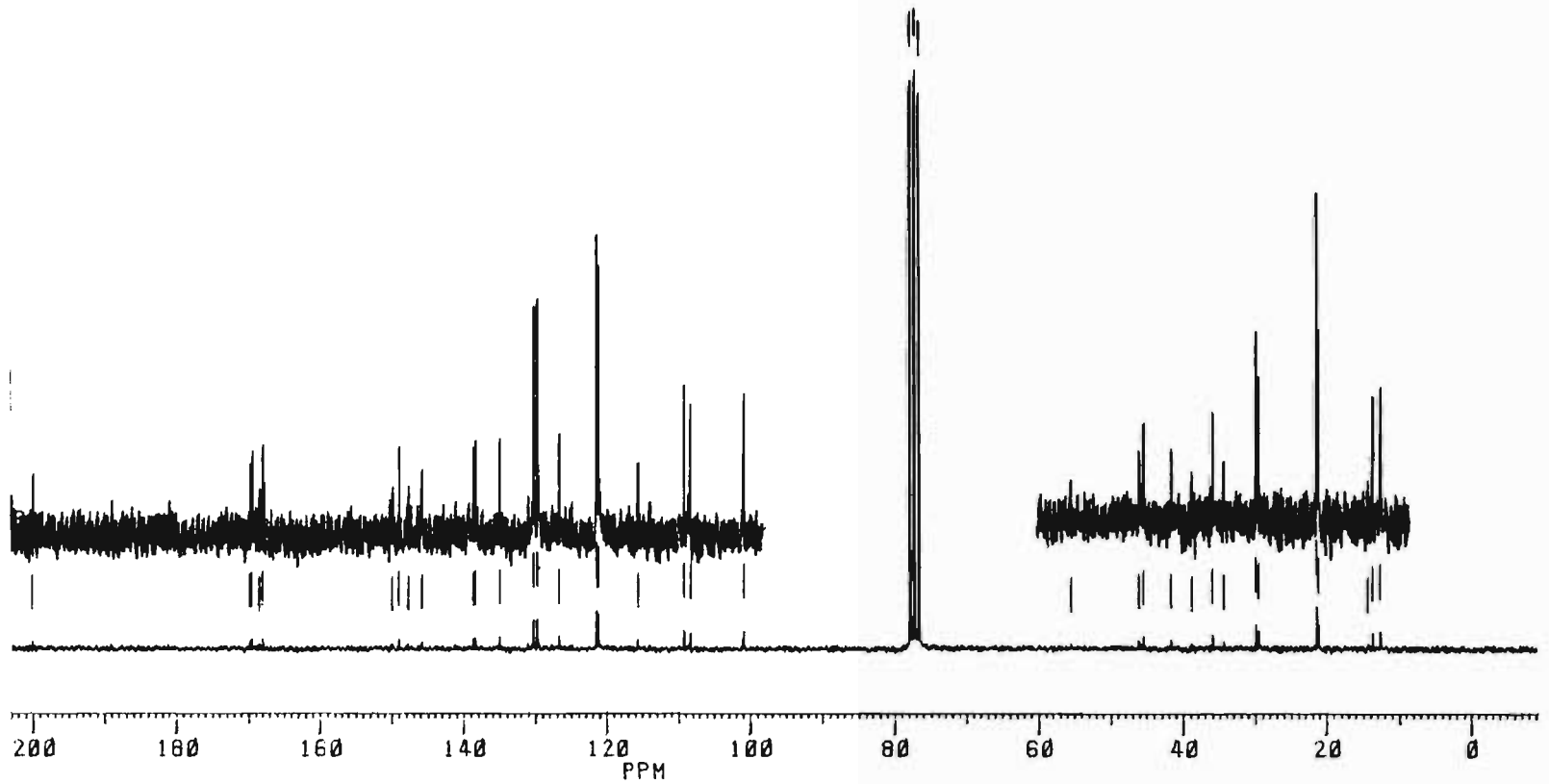


FIGURA 22: Espectro de RMN de ^{13}C - NOISE (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac.

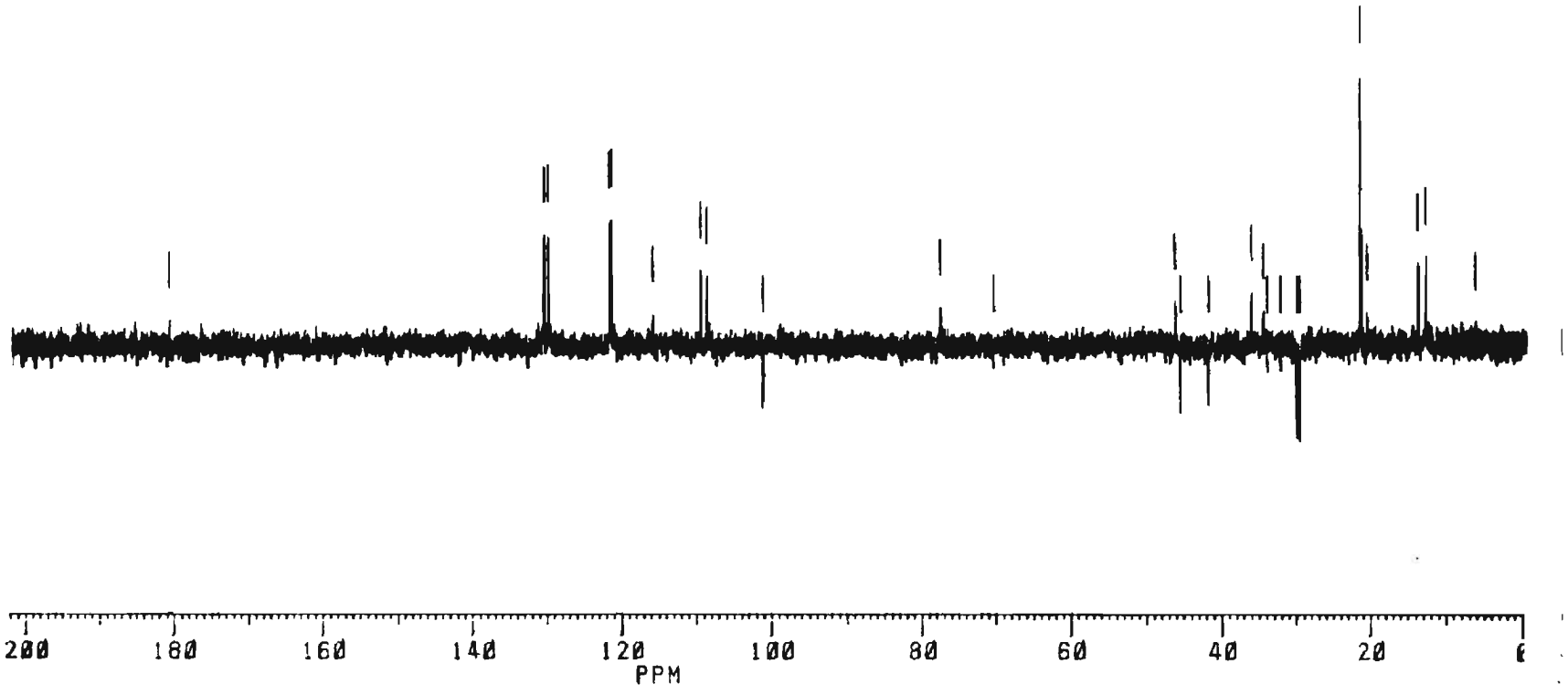


FIGURA 23: Espectro de RMN de ^{13}C - DEPT 135º (50 MHz, $CDCl_3$) de Ig-8 Ac.