

DITERPENOS ISOLADOS DE *GUAREA CARINATA*

Orlando L. Pereira Jr., Wilson Wolter Filho

Coordenadoria de Pesquisas em Produtos Naturais, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 69083 – Manaus – AM – Brasil.

Arnaldo F. I. da Rocha

Departamento de Química, Fundação Universidade do Amazonas, 69000 – Manaus – AM – Brasil.

Mário G. de Carvalho e Raimundo Braz Filho

Departamento de Química da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Cx. Postal 74541, 23851 – Seropédica – RJ – Brasil.

From the hexanic extracts of bark and leaves from *Guarea carinata* were isolated three diterpenes including a new ester derivative. The structures were elucidated by spectroscopic analysis.

INTRODUÇÃO

O gênero *Guarea*, com cerca de 60 espécies, está incluído entre os cinco gêneros da família Meliaceae encontrados na Região Amazônica¹. O uso de plantas da família Meliaceae na medicina popular tem despertado o interesse por estudos farmacológicos. Duas espécies do gênero *Guarea* (*G. spiciflora* e *G. trichilioides*) revelaram atividade antitumor². Este trabalho descreve pela primeira vez a investigação fitoquímica dos extratos hexânicos da casca da madeira e das folhas de um espécime de *Guarea carinata*, envolvendo o isolamento e elucidação estrutural de três diterpenos (1, 2, 3), sendo um ester inédito (1) e dois labdanóides conhecidos (2, 3). As estruturas destas substâncias foram deduzidas com base na análise de dados espectrais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro IV de 1 mostrou absorção de carbonila de éster em 1740 cm⁻¹. A comparação dos espectros de RMN ¹³C desacoplado e RMN ¹³C-DEPT³ permitiu reconhecer dois sinais de átomos de carbono sp² não protonados [δ 174,00 (C-1'), 142,40 ppm (C-3)], um sp² metínico [δ 118,15 ppm (C-2)] e três sp³ monoprotônicos [δ 32,67, 32,79 (C-7, C-11) e 27,97 ppm (C-15)], dezoito sp³ diprotônicos [sendo um ligado a átomo de oxigênio: δ 61,19 (C-1); em δ 25,03 (C-5 e C-3') e 22,79 a 31,91 (C-4' a C-15'); Tabela 1] e seis sp³ triprotônicos (Tabela 1). Esta análise aliada com a interpretação dos dados fornecidos pelo espectro de RMN ¹H (Tabela 1), que pela integração forneceu o número de átomos de hidrogênio (Tabela 1), permitiu deduzir a fórmula (COOCH₂) (C=CH) (CH)₃ (CH₂)₂₃ (CH₃)₆ = C₃₆H₇₀O₂ (fórmula molecular). A interpretação do espectro de RMN ¹H foi facilitada por espectro bidimensional de correlação homonuclear (2D-¹H x ¹H-HOMOCOSY) demonstrando a interação spin-spin dos núcleos de hidrogênio³. O número de insuficiência (2) de hidrogênio (4) revelou-se atendido pelo grupo carbonila e pela ligação dupla olefínica trissubstituída e, conseqüentemente, classificou-se esta substância natural como acíclica. A presença de trinta e seis átomos de carbono (C₃₆) e de grupo éster (ν_{max} 1740 cm⁻¹; δ 174,00 ppm) e os deslocamentos químicos dos átomos de carbono C-1 (δ 61,19 ppm) e de hidrogênio (δ 4,70 (d, J = 7 Hz, 2H-1) forneceram con-

dições para caracterizar a unidade álcool como tetraisoprênica (C₂₀) e a ácida como oriunda do ácido palmítico (C₁₆). Esta dedução também se apoiou nos números de grupos metino (3) e metila [4 ligados a carbono sp³: δ 0,86 (d, J = 6,4 Hz, CH₃-15 e CH₃-16), 0,84 (d, J = 6,0, CH₃-7a e CH₃-11a); e um a carbono sp²: δ 1,67 (s1, CH₃-3a)] como representantes da unidade diterpênica (C₂₀). Quando o grupo hidroxila do átomo de carbono C-1 não se encontra esterificado, este átomo de carbono absorve em torno de δ 58 ppm e os seus átomos de hidrogênio em torno δ 4,20 (d, J = 7 Hz)⁴. A comparação dos deslocamentos químicos dos átomos de carbono de 1 com as substâncias modelo 4⁵, 5, 6⁶ e 7⁷ confirmou a estrutura deste novo produto natural, garantindo-se inclusive a configuração *trans* para a ligação dupla localizada entre os átomos de carbono 2 e 3 com base nos deslocamentos químicos dos carbonos 3a e 4 (Tabela 1). O efeito γ exercido pelo carbono metilênico carbinólico (C-1) responde pelo menor deslocamento químico do CH₃-3a (δ 16,36 ppm) *cis* (1,5). Quando este grupo está *trans* em relação ao C-1 absorve em δ 23,50 (6) e o CH₂-4 recebe o efeito γ [CH₂-4: Δ 39,86 (1), 39,50 (5), 31,30 (6)]. A atribuição correta do deslocamento químico deste grupo metila (CH₃-3a) foi confirmada por NOE (1) e pelo espectro bidimensional de correlação heteronuclear de átomos de hidrogênio e carbono (2D-¹H x ¹³C-HETECOSY)³ modulado com constante de acoplamento (J) para uma ligação (¹J_{CH}). Esta experiência bidimensional (2D) foi usada também em outros assinalamentos (Tabela 1).

A presença dos óxidos de monoila (2) e 13-epimonoila (3) numa mistura foi revelada pela análise dos espectros de RMN ¹³C desacoplado, RMN-¹³C-DEPT (Tabela 2) e RMN ¹H [2: δ 5,78 (dd, J = 10,7 e J = 17,3 Hz, H-14); 3: δ 5,93 (dd, J = 10,7 e J = 17, 3 Hz, H-14)]. As intensidades dos sinais de H-14 demonstraram claramente a predominância de 2. A análise comparativa dos espectros de RMN ¹³C da mistura com dados relatados na literatura⁶ (Tabela 2) para os óxidos de monoila (2) e 13-epimonoila (3) confirmou as estruturas destes dois diterpenos isolados de *Guarea carinata*. Admitindo-se o mesmo tempo de relaxamento longitudinal T₁ e idêntico efeito nuclear Overhauser (NOE) para C-15 (Tabela 2), calcularam-se as percentagens aproximadas de 2 (81,7%) e 3 (18,7%). Para estes cálculos ignorou-se a presença de 1, reconhecida com relativa facilidade pelos sinais correspondentes aos prótons H-1, H-2, CH₂-2' e CH₂-4.

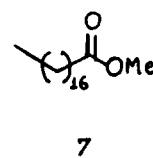
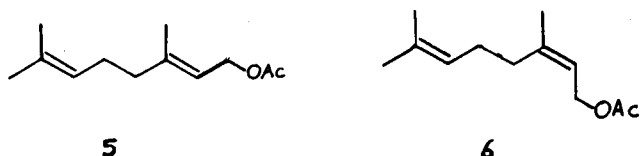
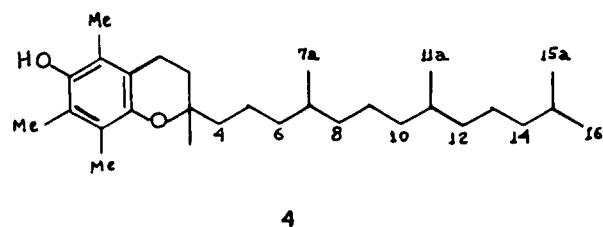
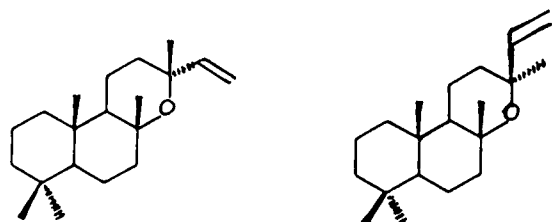
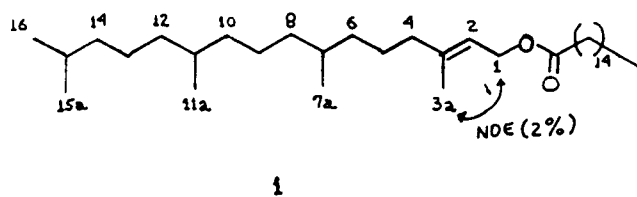


Tabela 1. Dados de RMN ^{13}C de 1 comparados com as substâncias modelo 4-7 e RMN ^1H (J)^a

C	δC					δH
	1	4	5	6	7	1
1	61,19		61,30	61,00		4,70 (<i>d</i> , J=7)
2	118,15		118,90	119,70		5,30 (<i>t</i> , J=7)
3	142,40		141,80	142,10		-
4	39,86		39,50	31,30		2,00 (<i>t</i> , J=7,8)
5	25,03	21,00				1,3-0,9 (<i>m</i>)
6	37,43 ^b	37,50				1,3-0,9 (<i>m</i>)
7	32,67 ^c	31,70				1,7-1,3 (<i>m</i>)
8	37,34 ^b	37,50				1,3-0,9 (<i>m</i>)
9	24,45	24,50				1,3-0,9 (<i>m</i>)
10	37,28 ^b	37,50				1,3-0,9 (<i>m</i>)
11	32,79 ^c	32,70				1,7-1,3 (<i>m</i>)
12	36,61	37,50				1,3-0,9 (<i>m</i>)
13	24,78	24,80				1,3-0,9 (<i>m</i>)
14	39,37	39,40				1,3-0,9 (<i>m</i>)
15	27,97	28,00				1,7-1,3 (<i>m</i>)
16	22,60	22,60				0,86 (<i>d</i> , J=6,4)
3a	16,36		16,40	23,50	1,67 (<i>sl</i>)	1,67 (<i>sl</i>)
7a	19,70	19,70				0,84 (<i>d</i> , J=6,0)
11a	19,70	19,70				0,84 (<i>d</i> , J=6,0)
15a	22,60	22,60				0,86 (<i>d</i> , J=6,4)
1'	174,00				173,00	-
2'	34,39				34,13	2,29 (<i>t</i> , J=7,6)
3'	25,03				25,01	1,7-1,3 (<i>m</i>)
4'	29,15				29,21	
5'	29,27				29,31	
6'	29,48				29,50	1,3-0,9 (<i>m</i>)
7'-12'	29,69				29,64-29,77	
13'	29,36				29,41	
14'	31,91				31,97	
15'	22,70				22,73	
16'	14,11				14,10	0,9 (<i>t</i> , J=6,1)

^a A multiplicidade dos sinais de 1 foi determinada por RMN ^{13}C -DEPT; utilizou-se CDCl_3 como solvente e TMS como referência; os deslocamentos químicos foram anotados em δ (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz; interações spin-spin de núcleos de hidrogênio foram revelados por espectro bidimensional de correlação homonuclear ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -HOMOCOSY); experiência bidimensional de correlação heteronuclear (2D- $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -HETECOSY) foi usado ($^1\text{J}_{\text{CH}}$) na interpretação destes dados espectrais.

^{b,c} Os valores indicados com a mesma letra podem ser trocados.

Tabela 2. Dados de RMN ^{13}C da mistura de substâncias 2 e 3 comparados com óxido de monoila (2) e óxido de 13-epimonoila (3)^a

C	2	2 + 3	3	Óxido de monoila	Óxido de 13-epimonoila
1	38,12		38,46	39,00	39,40
2	17,67		17,75	18,60	18,70
3	41,22		41,31	42,10	42,20
4		32,37		33,20	33,40
5		55,53		56,20	56,50
6		19,08		19,90	19,90
7	42,31		42,13	43,20	43,10
8	74,15		76,58	74,80	76,10
9	54,80		57,59	55,70	58,50
10	36,06		38,46	36,90	39,60
11	14,45		15,01	15,40	15,90
12	34,89		33,94	35,80	34,90
13	72,27		72,36	73,00	73,30
14	146,92		146,71	147,80	147,80
15	109,35		108,60	110,10	109,50
16	27,61		31,79	28,50	32,70
17		32,49		33,4	33,3
18	20,48		20,39	21,3	21,3
19	14,57		15,01	15,3	15,9
20	24,60		23,03	25,5	24,0

^a A multiplicidade dos sinais dos átomos de carbono de 2 e 3 foi deduzida por experiências DEPT.

EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais. Os espectros infravermelho (IV) foram obtidos em espectrômetro 1420 da Perkin-Elmer, em pastilhas de KBr. Um espectrômetro AC-200 da Bruker (^1H : 200 MHz; ^{13}C : 50,3 MHz) foi utilizado para obtenção dos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C , inclusive experiências com DEPT (RMN ^{13}C -DEPT), usando $\theta = 90^\circ$ (somente sinais de CH) E $\theta = 135^\circ$ (sinais CH e CH_3 em fase

oposta aos de CH₂); usou-se CDCl₃ como solvente e TMS como referência interna. Para cromatografia em coluna e em camada delgada usou-se sílica gel apropriada da Merck.

Material da planta. Casca da madeira e folhas de um espécime de *Guarea carinata*, família Meliaceae, foram coletados na Estrada Costa Marques, no município de Presidente Médici - Rondônia, por Wilson Wolter Filho e Dionísio Fernandes Coelho. A espécie foi identificada pelo Dr. William Rodrigues, botânico do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), Manaus, AM, Brasil. Uma Exsicata (n^o 135.615) encontra-se depositada no Herbário do INPA.

Extração e isolamento dos constituintes. Após secagem, a casca da madeira foi convertida em pó (2,8 kg) e extraída em aparelho Soxhlet com hexano. A solução hexânica foi concentrada em evaporador rotativo, sob pressão reduzida, e forneceu 6,22 g de um resíduo pastoso. Este resíduo foi cromatografado em coluna de sílica, usando-se como eluentes benzeno, benzeno-CH₂Cl₂ (95:5, 9:1, 8:2), CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH para eluição das frações 1-15, 17-70, 71-120, 121-207, 208-207, 208-263 e 264-286, respectivamente; o material oriundo da reunião das frações 47 a 278, após análise por cromatografia em camada delgada, foi recromatografado em coluna de sílica para fornecer 53 mg de uma substância triterpênica. A caracterização definitiva da estrutura desta substância requer dados adicionais.

Aplicou-se o mesmo procedimento acima descrito na extração das folhas secas e moídas (1,06 kg) e obtiveram-se 29,38 g de um resíduo pastoso. Este material foi tratado com acetona e por decantação separou-se um sólido amorfo e um resíduo. Este resíduo (10 g) foi submetido a fracionamento cromatográfico em coluna de sílica, utilizando-se como eluentes hexano, benzeno, benzeno-AcOEt (9:1 e 8:2) para eluição das frações 1-12, 13-19, 20-30 e 34-57, respectivamente; as frações 8 a 13 foram reunidas após análise por cromatografia em camada delgada de sílica gel e purificadas por cromatogra-

fia em camada delgada preparativa (CCDP), obtendo-se 1 (42 mg); CCPD (benzeno) da fração 14 a 35 forneceu uma mistura de 2 e 3.

Palmitato de 3, 7, 11, 15-tetrametilhexadec-2-en-ol (palmitato de fitila, 1). Óleo. I.V. (KBr) 1740 cm⁻¹. RMN ¹H (200 MHz) e ¹³C (50 MHz): Tabela 1.

Mistura dos óxidos de monoila (2) e 13-epimonoila (3). Óleo (Lit.⁸: 2, p.f. 29°C; 3, p.f. 97°C). RMN ¹³C comparado com dados da literatura⁶: Tabela 2.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à FAPERJ as bolsas de pesquisa (CNPq) e os auxílios (CNPq e FAPERJ), e à CAPES pelos auxílios concedidos através do PADCT. Agradecem também a Osmar Goulart Cunha e Luciano Lourenço pelos serviços datilográficos.

REFERÊNCIAS

1. da Silva, M. F.; Lisboa, P. L. B.; Lisboa, R. G. L.; *Nomes Vulgares de Plantas Amazônicas*, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brasília, Brasil, 1977.
2. Hartwell, J. L.; *J. Nat. Prod.* (1970), **33**, 97.
3. Breitmair, E.; Voelter, W.; *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry* (3^a edição), VCH, Weinheim (1987).
4. Braz Filho, R.; de Carvalho, M. G.; Gottlieb, O. R.; *Planta Médica* (1984), **53**.
5. Matsuo, M.; Urano, S.; *Tetrahedron* (1976), **32**, 229.
6. Wehrli, F. W.; Nishida, T.; *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* (1979), **36**, 1.
7. Tulloch, A. P.; Bergter, L.; *LIPIDS* (1979), **14**, 996.
8. Devon, T. K.; Scott, A. I.; *Handbook of Naturally Occurring Compounds*, vol. II, Academic Press, New York (1972).