

ATRIBUIÇÃO INEQUÍVOCA DE DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DE RMN DE ^1H E ^{13}C DE PLUMIERÍDEO ISOLADO DA *ALLAMANDA CATHARTICA*

Angela Malheiros, Ivânia T. A. Schuquel e Gentil José Vidotti

Departamento de Química - Universidade Estadual de Maringá - 87020-900 - Maringá - PR

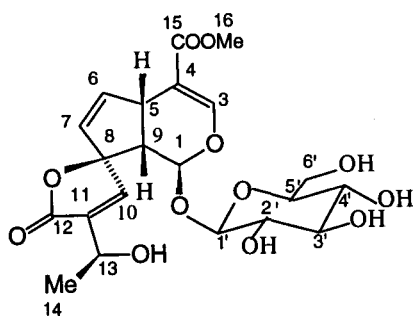
Recebido em 24/6/96; aceito em 20/2/96

COMPLETE ASSIGNMENTS OF CHEMICAL SHIFTS OF THE HYDROGEN AND CARBON-13 ATOMS OF PLUMIERIDE ISOLATED FROM *Allamanda cathartica*. There are NMR data of ^1H and ^{13}C of the iridoid plumieride, but controversy related to the assignments of the protons H-3 or H-10 and carbons C-6 or C-7 and C-3 or C-10 are described in the literature. There are a little discussion regarding to the resonance assignment of protons of the glycoside unity. Analysis based on 2D shift correlated NMR spectra (COSY, HETCOR, HETCORLR) and NOE difference ^1H NMR spectra allowed to assign unambiguously the chemical shift of ^1H and ^{13}C of plumieride which has been found in the literature with non coincident values.

Keywords: plumieride; *Allamanda*; NMR bidimensional.

INTRODUÇÃO

O plumierídeo (1), um iridóide (monoterpenóide pirano-ciclopentano), isolado da *Allamanda cathartica*, possui grande interesse devido a vasta atividade biológica apresentada por sua classe de compostos. Estudos mostraram que o plumierídeo apresenta atividade fungicida¹ e inibidora de crescimento de planta^{2,3}. Sua estrutura foi estabelecida por Schmid e Halpern em 1958⁴ e Schmid e Albers-Schonberg em 1961⁵, desde então vários artigos citam seu isolamento nos gêneros *Plumeria* e *Allamanda*.



(1)

Existem na literatura dados de RMN de ^1H e ^{13}C para plumierídeo, porém há dificuldades e, conseqüentemente, divergências quanto às atribuições das absorções entre os hidrogênios H-3 e H-10, com base somente em espectros unidimensionais já que os deslocamentos químicos e constantes de acoplamento [δ 7,39 (d, $J = 1,9$ Hz) e 7,25 (d, $J = 1,5$ Hz)] revelaram valores próximos (Tabela 1). Situação análoga envolve os carbonos C-6 e C-7 bem como C-3 e C-10 (Tabela 2). Além disto, encontra-se pouca discussão envolvendo as atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios da unidade glicosídica. Através da aplicação de técnicas bidimensionais de RMN (COSY, HETCOR, HETCORLR) e experimentos de NOE por subtração de espectros (^1H -NOE), foi possível fazer a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C do plumierídeo (1) que aparecem com valores divergentes na literatura⁷⁻¹⁰.

PARTE EXPERIMENTAL

Os espectros de RMN de ^1H (300 MHz) e de ^{13}C (75,5 MHz) em CD_3OD foram obtidos em espectrômetro Varian, modelo Gemini-2000, tendo como referência interna o sinal do TMS. Os espectros de RMN-2D foram obtidos pelas sequências de pulsos contidas nos programas: RELAYH para as correlações $^1\text{H} \times ^1\text{H}$; HETCOR para as correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ a uma ligação ($^1J = 140$ Hz); HETCORLR para as correlações $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ a duas e três ligações ($^2J = 4$ a 11 Hz) e NOEDIF para os experimentos de NOE por subtração de espectros (irradiação em δ 5,40 e em δ 6,36).

A planta foi identificada pelo prof. Dr. Armando Carlos Levi da Universidade Federal do Paraná, uma excisata (n^o 382) foi depositada no herbário do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá.

Os caules e folhas da *Allamanda cathartica* (1,97 kg), coletados no campus da Universidade Estadual de Maringá, foram secos ao ar, triturados e submetidos a extração por maceração com etanol 95%.

O extrato bruto (66 g) foi adsorvido em sílica-gel e submetido a uma separação preliminar em coluna cromatográfica utilizando hexano, clorofórmio e etanol. A fração clorofórmio:etanol 1:1 (15,2 g) foi recromatografada em coluna de sílica-gel eluindo-se com misturas de clorofórmio e etanol em ordem crescente de polaridade. O progresso da separação foi acompanhado por c.c.d. (revelação com $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{MeOH}$ 1:1 e aquecimento apresentou coloração azul escuro que é característica de iridóide⁶). A fração clorofórmio:etanol 7:3 forneceu o plumierídeo, (1) (2,6 g).

IV $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} 3338, 1776, 1713, 1649, 1449, 1384, 1298, 1234, 1189, 1082, 1043, 1008, 953. **EM** [70 eV, m/z (%)] 308 (1,8), 291 (7,4), 273 (12,3), 272 (3,2), 262 (35,2), 230 (35,9), 212 (8,3), 202 (17,0), 185 (8,8), 160 (49,4), 145 (10,3), 139 (12,4), 133 (11,7), 129 (15,2), 115 (12,7), 97 (15,7), 91 (16,7), 87 (20,0), 85 (42,4), 81 (11,1), 77 (12,5), 73 (54,5), 71 (19,9), 69 (39,4), 61 (41,1), 60 (24,7), 59 (16,6), 57 (45,7), 55 (23,5), 53 (17,3), 45 (59,2), 43 (100) 41 (26,2). RMN ^1H e RMN ^{13}C : Tabelas 1 e 2.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas tabelas 1 e 2 estão dispostos os valores de deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C atribuídos ao plumierídeo.

Tabela 1. Dados de RMN de ^1H (300 MHz) em CD_3OD para o composto (1), correlações observadas no espectro de $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY e NOE (%) por subtração de espectros.

H	δ ^1H	mult.	J Hz	Correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ -COSY	IRRADIAÇÕES	
					δ 6,36 (H-6) % de NOE	δ 5,40 (H-7) % de NOE
H-1	5,17	d	4,7	H-9		
H-3	7,39	d	1,9	H-5		
H-5	3,82	m		H-9, H-7, H-6, H-3	7,7	
H-6	6,36	dd	5,5 e 2,4	H-5, H-7		10,9
H-7	5,40	dd	5,5 e 2,1	H-5, H-6	12,9	
H-9	2,82	dd	7,8 e 4,7	H-5, H-1		
H-10	7,25	d	1,5	H-13		3,2
H-13	4,44	qd	6,6 e 1,5	H-14, H-10		
H-14	1,30	d	6,6	H-13		
H-16	3,64	s				
H-1'	4,56	d	8,0	H-2'		
H-2'	3,08	dd	8,0 e 9,0	H-3', H-1'		
H-3'	3,27			H-2', H-4'		
H-4'	3,25			H-5', H-3'		
H-5'	3,21			H-4', H-6'a H-6'b		
H-6'a	3,58	dd	12,0 e 5,1	H-6'b, H-5		
H-6'b	3,78	dd	12,0 e 1,5	H-6'a, H-5		

Tabela 2. Dados de RMN de ^{13}C / DEPT (75,5 MHz) em CD_3OD para o composto (1) e correlações observadas nos espectros de $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (HETCOR) e $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2 e 3, HETCORLR).

C	δ ^{13}C (DEPT)	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^1\text{J}_{\text{CH}}$	$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (n=2 e 3)
		(HETCOR)	(HETCORLR) $^n\text{J}_{\text{CH}}$ (4-11 Hz)
C-1	94,22 (CH)	H-1	H-9, H-5, H-1', H-3
C-3	152,63 (CH)	H-3	H-5, H-1
C-4	111,12 (C)		H-5, H-3
C-5	40,31 (CH)	H-5	H-7, H-6, H-3
C-6	141,53 (CH)	H-6	H-7, H-5
C-7	130,09 (CH)	H-7	H-6, H-5
C-8	97,93 (C)		H-9, H-7, H-6, H-10
C-9	50,52 (CH)	H-9	H-7, H-6
C-10	150,40 (CH)	H-10	H-9, H-13
C-11	138,73 (C)		H-14, H-13, H-10
C-12	172,96 (C)		H-13, H-10
C-13	63,47 (CH)	H-13	H-14, H-10
C-14	22,34 (CH ₃)	H-14	
C-15	168,62 (C)		H-16, H-5, H-3
C-16	51,93 (CH ₃)	H-16	
C-1'	100,10 (CH)	H-1'	H-1
C-2'	74,65 (CH)	H-2'	
C-3'	77,81 (CH)	H-3'	
C-4'	71,28 (CH)	H-4'	
C-5'	78,45 (CH)	H-5'	
C-6'	62,51 (CH ₂)	H-6'a	
C-6'	62,51 (CH ₂)	H-6'b	

Por meio da análise do espectro bidimensional de correlação homonuclear de hidrogênio ($^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY), foi possível superar as dificuldades na atribuição da absorção dos hidrogênios H-3 e H-10, através da observação das interações alílicas do H-5 (δ 3,82) com H-3 (δ 7,39) e do H-13 (δ 4,44) com H-10 (δ 7,25). Esta análise apoiou-se no espectro bidimensional de correlação heteronuclear de hidrogênio e carbono através de uma ligação [$^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$ - COSY - $^1\text{J}_{\text{CH}}$ (HETCOR)], que revelou, como previsto, H-13 (δ 4,44) correlacionado com C-13 (δ 62,51) e H-5 (δ 3,82) com C-5 (δ 40,31). Assim, concluiu-se que a absorção em δ 7,39 pertence a H-3 e em δ 7,25 a H-10.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos C-3 (δ_{C} 152,63) e C-10 (δ_{C} 150,40) foi efetuada pela análise do espectro de HETCOR, após a garantia das posições de absorção dos átomos de hidrogênio H-3 e H-10 através do espectro $^1\text{H} \times ^1\text{H}$ - COSY (*vide supra*).

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios H-6 e H-7, não foi elucidada pela técnica de COSY, pois estes dois hidrogênios possuem acoplamentos entre si e ambos com H-5, não sendo possível fazer a correlação com os respectivos carbonos somente pelo HETCOR. Por meio da técnica de HETCOR a longa distância (HETCORLR), espectros adquiridos com diferentes J_{CH} (4-11 Hz), observou-se correlações entre o C-5 (δ 40,31) com três hidrogênios, em δ 5,40; δ 6,36 e δ 7,39 (H-3) e ainda as correlações entre o C-8 (δ 97,93) com quatro hidrogênios, em δ 2,82 (H-9); δ 5,40; δ 6,36 e δ 7,25 (H-10). Estes fatos evidenciam que ainda persiste a dúvida quanto às atribuições das absorções entre H-7 (δ 5,40) e H-6 (δ 6,36). Esta dificuldade foi superada realizando-se experiências de NOE por subtração de espectros. Irradiações nos hidrogênios em δ 5,40 (H-7) e em δ 6,36 (H-6) mostraram correlação espacial do primeiro com os hidrogênios em δ 6,36 (H-6) e δ 7,25 (H-10) assim como do segundo com os hidrogênios em δ 3,82 (H-5) e δ 5,40 (H-7). Desta forma tem-se a garantia de que H-7 tem δ 5,40 enquanto H-6 tem δ 6,36, o que permite a atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos C-6 (δ 141,53) e C-7 (δ 130,09) pelas correlações apresentadas no HETCOR.

Foi possível também fazer a atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios da unidade glicosídica através do espectro COSY. Pode-se observar a correlação entre as absorções em δ 4,56 (d, $\text{J} = 8,0$ Hz) e δ 3,08 (dd, $\text{J} = 8,0$ e $9,0$ Hz) as quais pertencem a H-1' e H-2' respectivamente (Tabela 1).

Os hidrogênios H-3', H-4' e H-5' possuem deslocamentos químicos muito próximos, os quais foram identificados com o auxílio do espectro de HETCOR. Não foi possível calcular a constante de acoplamento para tais hidrogênios, pois as absorções para estes hidrogênios estão sobrepostas e na mesma região está também a absorção do solvente. Para os dois átomos de hidrogênio 2H-6' observam-se dois sinais no espectro de HETCOR, o que indica que cada hidrogênio do carbono C-6' acopla de maneira diferente com H-5'.

A unidade glicosídica foi confirmada como β -glicopiranosídica através da constante de acoplamento observada para o hidrogênio H-1' ($\text{J} = 8,0$ Hz), o que está de acordo com uma relação *trans*-diaxial entre os hidrogênios H-1' e H-2' ¹¹.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à professora Irenice Silva pelo auxílio na coleta da planta e elaboração de excisato, ao professor Armando Carlos Levi pela identificação botânica da espécie estudada, ao professor Massayoshi Yoshida pelas discussões e à CAPES pela bolsa de estudo.

REFERÊNCIAS

1. Jewers, K.; Coppen, J. J. W.; Manchanda, A. H.; Paisley, H. M.; Castillo, A.; *Pahlavi Med. Journal* **1975**, *6*, 52.
2. Adam, G.; Khor, N. H.; Bergner, C.; Lien, N. T.; *Phytochemistry* **1979**, *18*, 1399.
3. Shen, Y.; Chen, C.; *Journal of the Taiwan Pharmaceutical Association* **1986**, *38*, 203.
4. Halpern, O.; Schmid, H.; *Helv. Chim. Acta* **1958**, *41*, 1109.
5. Albers-Schonberg, G.; Schmid, H.; *Helv. Chim. Acta*, **1961**, *44*, 1447.
6. Bobbitt, J. M.; Segebarty, K. P. In: *Cyclopentanoid terpene derivatives*, Taylor, W. I.; Battersby, A. R., eds.; Maecel Dekker, inc., New York 1969, p 2.
7. Coppen, J. J. W.; *Phytochemistry* **1983**, *22*, 179.
8. Agrawal, P. K.; Sharma, M. P.; *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **1983**, *45*, 246.
9. Yamauchi, T.; Abe, F.; Taki M.; *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 3051.
10. Abe, F.; Mori, T.; Yamauchi, T.; *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 2947.
11. Agrawal, P. K.; *Phytochemistry* **1992**, *31*, 3307.