

CDU 582.29: 54

Professor Ed Paschoal Carrazzoni
UNICAP

O Autor isolou da *Cladonia verticillaris* o ácido 2,4-dimetoxi-6-metilbenzóico, estrutura monocíclica de depsídeos e depsidonas, além do ácido evérnico, já descrito na Literatura Química.

Besides isolating from *Cladonia verticillaris* the evernic Acid already described in Chemistry Literature, the Author also isolated the 2,4-dimetoxi-6-methylbenzoic acid, monocyclic structure of Depsides and Depsidones.

INTRODUÇÃO

A química de Produtos Naturais visa, além dos objetivos de ordem econômica, a objetivos científicos, como, por exemplo, o esclarecimento de seqüências biossintéticas, a descrição de tipos estruturais e a determinação de relações quimiotaxonômicas. Em todas as épocas, serviu como incentivo ao desenvolvimento da Química Orgânica.

Um estudo sistemático de Líquens almeja estes objetivos, como demonstra, em parte, o presente trabalho, que se refere ao estudo químico da *Cladonia verticillaris*.

É sabido que de Líquens são isolados depsídeos e depsidonas. Entretanto, a maioria dos trabalhos publicados foram realizados em época anterior à década de 1950, o que significa dizer que os processos modernos de separações cromatográficas e os métodos físicos para interpretação das estruturas não estavam difundidos, e alguns eram inclusive desconhecidos na época. É perfeitamente possível que, em muitos casos, produtos monocíclicos menores se tenham perdido durante os processos de recristalização.

No trabalho, de que dá conta o presente relatório, o Autor conseguiu isolar uma destas estruturas monocíclicas, o ácido 2,4-dimetoxi-6-metilbenzóico, além do ácido evérnico, já descrito na literatura.

Isolamento dos constituintes utilizando processos químicos

Cladonia verticillaris (180 g) foi extraída com benzeno em aparelho tipo Soxhlet. A solução benzênica obtida foi concentrada em banho-maria e a vácuo. Colocada no refrigerador durante uma noite não houve deposição de material sólido. Extraíu-se com uma solução de bicarbonato de sódio a 5%. A solução aquosa obtida, foi esfriada a 5°C e acidificada com uma solução de ácido clorídrico a 1% até pH 6, sendo em seguida, extraída com clorofórmio. Evaporação da solução clorofórmica à secura forneceu um resíduo (2 mg) cuja cromatoplaça em sílica gel G indicou se tratar de uma mistura de duas substâncias.

A solução benzênica foi tratada com uma solução de carbonato de sódio a 5%. Depois de esfriada a 5°C a solução aquosa obtida, acidificou-se com ácido clorídrico a 1% sendo imediatamente extraída com clorofórmio. Evaporação da solução clorofórmica à secura e tratamento com hexano, permitiu obter cristais incolores de uma substância cromatograficamente pura (placa de sílica gel G, desenvolvimento com benzeno-metanol 4:1 e revelação com sulfato cérico), e que foi denominado de CV1.

Evaporação da solução benzênica à secura não forneceu resíduo.

O insolúvel da extração com benzeno, foi extraído com éter etílico. A solução etérea resultante foi concentrada à temperatura ambiente e colocada na geladeira durante 48 horas, havendo formação de um precipitado. Filtração e recristalização do precipitado formado, forneceu CV1.

O insolúvel da extração com éter etílico, foi extraído com metanol. A solução metanólica obtida foi evaporada à secura. O extrato metanólico foi desprezado em virtude da pequena quantidade obtida estar constituída de uma mistura de quatro substâncias (3 mg).

Isolamento dos constituintes utilizando processos físicos

A fim de obter maior quantidade de CV1 por um processo que diminuísse a possibilidade de cisão de um depsídio e para obtermos uma quantidade razoável de material que permitisse o seu isolamento e posterior identificação, fizemos nova extração das substâncias líquênicas, evitando utilizar métodos que pudessem acarretar reações.

Cladonia verticillaris (1394 g) foi extraído com hexano em soxhlet, durante 56 horas. A solução hexânica foi concentrada em banho-maria e sob pressão a um terço do seu volume original havendo formação de um precipitado que foi separado por filtração. Recristalização dos cristais obtidos em clorofórmio forneceu CV2.

O insolúvel da extração com hexano foi extraído com benzeno e a solução benzênica obtida foi evaporada à secura em banho-maria e a vácuo. Cromatografia em camada fina do extrato benzênico indicou a presença de duas substâncias. Cromatografia em coluna de sílica gel permitiu separá-las, e seus espectros I.V. indicaram que numa delas se tratava de CV2 (0,1296 g) e CV1 (0,2982 g).

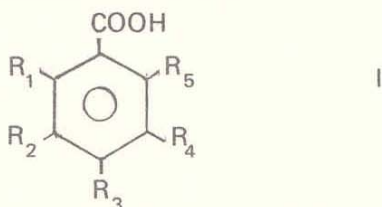
O insolúvel da extração com benzeno foi extraído com metanol e a solução metanólica obtida foi evaporada à secura, sendo o resíduo cromatografado em coluna de sílica gel, fornecendo CV1 (0,7435 g), CV2 (0,1212 g), CV3 (0,4268 g), CV4 (0,4371 g) e CV5 (0,2600 g).

Ácido 2,4-dimetoxi-6-metilbenzóico (CV1)

O espectro no I.V. sugeriu para a substância CV1 caráter aromático, evidenciado por bandas de absorção em 1600 e 1500 cm^{-1} , bem como a existência de grupos éter (1270 e 1040 cm^{-1}) e carboxila (1710 cm^{-1}).

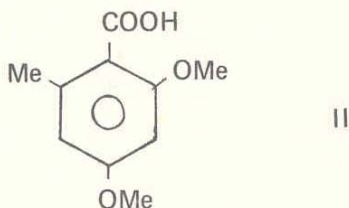
O espectro no U.V. apresentou um máximo de absorção em 263 nm indicando que CV1 não pode ser um depsídeo nem uma depsidona (6). Os espectros obtidos após adição de acetato de sódio mais ácido bórico e cloreto de alumínio foram superponíveis àquele em meio neutro, indicando, portanto, que a estrutura não possuía um sistema orto-diidroxilado ou hidroxila quelatogênica. Os espectros varridos em presença de hidróxido de sódio ou acetato de sódio deslocaram o máximo de absorção, indicando haver prótons ácidos na estrutura. Ao adicionar ácido clorídrico à solução alcalina, reproduziu-se o espectro em meio neutro (5).

A partir destes dados, e sabendo-se da solubilidade de CV1 em bicarbonato de sódio, foi possível estabelecer a estrutura parcial (I).



Análise elementar de CV1 indicou uma fórmula mínima $\text{C}_5\text{H}_6\text{O}_2$, e, portanto, pelas conclusões tiradas anteriormente, não poderia corresponder à fórmula molecular do composto: sua fórmula molecular, deveria ser, pelo menos, o duplo da fórmula mínima, ou seja, $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Esta fórmula molecular forneceu um peso molecular coincidente com aquele indicado pelo espectro de massa de 196 unidades de massa.

O ponto de fusão, espectro U.V. e o peso molecular do composto conferem com os dados da literatura para a estrutura do ácido 2,4-dimetoxi-6-metilbenzóico (II).



Cristais brancos; p.f. $140-141^\circ\text{C}$ (clorofórmio-hexano 9:1); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ (nm): 263 (0,74); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH}}$ (nm): 278 (0,92); $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{NaOH} + \text{HCl}}$: regenerou a curva em EtOH; $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AcONa}}$, $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AcONa} + \text{H}_3\text{BO}_4}$, $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH} + \text{AlCl}_3}$: não houve alteração da curva; $\tilde{\nu}_{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3350 (m), 2900 (i), 1625 (i), 1600 max

(i), 1500 (m), 1460 (i), 1440 (i), 1420 (i), 1370 (m), 1310 (i), 1270 (i), 1200 (m), 1160 (m), 1110 (i), 1040 (m), 1000 (m), 950 (m), 830 (m), 800 (i), 725 (m); E.M.: M^+ 196 (54%), m/e (considerando apenas os valores acima de 14%) 165 (31), 164 (74), 163 (28), 141 (23), 137 (16), 136 (77), 135 (59), 121 (15), 109 (45), 108 (48), 107 (59), 93 (15), 92 (16), 90 (38), 89 (19), 88 (20), 83 (28), 81 (32), 80 (48), 79 (81), 78 (49), 77 (84), 75 (15), 69 (30), 68 (18), 67 (54), 66 (37), 65 (57), 64 (21), 63 (44), 62 (22), 59 (38), 55 (88), 54 (18), 53 (100), 52 (25), 51 (58), 50 (39); Análise elementar: 60,60% de C, 6,80% de H, 32,6% de O (calc. para $C_{10}H_{12}O_4$: 61,22% de C, 6,12% de H, 32,66% de O).

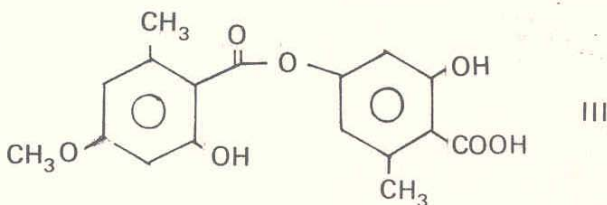
Ácido evérnico (CV2)

O espectro de absorção no ultravioleta mostrou máximo em 285 e 230 nm, correspondente a um depsídeo (6). A adição de hidróxido de sódio provocou um deslocamento batocrômico dos dois máximos de absorção assinalados em meio neutro, indicando a presença, de uma hidroxila fenólica; entretanto o espectro infravermelho não absorveu na região das hidroxilas o que nos permitiu supor a existência de uma hidroxila quelatogênica.

Os espectros obtidos com ácido clorídrico, acetato de sódio, ácido bórico, e cloreto de alumínio, foram superponíveis àquele obtido em meio neutro o que permitiu concluir pela ausência de hidrogênio lábil, de sistema o-di-hidroxilado e hidroxila em orto a uma carbonila aldeídica ou cetônica.

O teste de Gibbs foi positivo apresentando um máximo de absorção em 282 nm, o que sugere no anel aromático uma posição para em relação a um grupo metila não substituído.

Para um ponto de fusão de 169,6-170,1°C, encontramos na literatura apenas uma substância que fosse coerente com as conclusões tiradas, que é a estrutura do ácido evérnico (III).



Cristais brancos em forma de agulhas, p.f. 169,6-170,1°C. Solúvel a frio em clorofórmio, acetato de etila, acetona, piridina; ligeiramente solúvel em metanol e etanol a frio. Solúvel a quente em metanol e etanol. Insolúvel em hexano e benzeno. Reage com Cl_3Fe e KOH desenvolvendo uma coloração rósea. Teste de Gibbs

positivo com λ $\begin{matrix} \text{MeOH} \\ \text{max} \end{matrix}$ 282, 263 UV: λ Etanol (nm) 285,230(DO 1,16, 1,31); λ $\begin{matrix} \text{NaOH} \\ \text{max} \end{matrix}$ 280(DO 1,22); os espectros com ácido clorídrico, acetato de sódio, e clo-

reto de alumínio foram superponíveis àquele em meio neutro. IV: KBr_{max} 3400 (d), 2930 (m), 2859 (m), 1670 (s), 1660 (s), 1630 (m), 1625 (m), 1615 (m), 1580 (m), 1520 (m), 1500 (w), 1470 (m), 1450 (m), 1400 (m), 1375 (w), 1355 (w), 1304 (m), 1280 (s), 1260 (s), 1238 (s), 1185 (w), 1178 (m), 1160 (m), 1135 (s), 1085 (m), 998 (w), 915 (w), 890 (w), 850 (w), 835 (w), 810 (w), 795 (s), 762 (w), 745 (w).

Observações metodológicas

- 1 — Para a separação por cromatografia em coluna, empregou-se Merck Kieselgel 0,05-0,20 mm, e, em camada delgada, Merck Kieselgel G.
- 2 — Os pontos de fusão foram determinados no bloco de Kofler.
- 3 — Os espectros no ultravioleta foram registrados em etanol a 90% no espectrofotômetro Beckman DB-G. Em todos os casos, empregou-se solução a 1 mg%. Como aditivos empregaram-se: duas gotas de solução aquosa de hidróxido de sódio a 10%, duas gotas de ácido clorídrico concentrado, $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em excesso, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em excesso e $\text{NaOAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O} + \text{H}_3\text{BO}_3$. Os comprimentos de onda são dados em manômetros.
- 4 — Os espectros no infravermelho foram registrados em pastilhas de KBr, no espectrofotômetro 137-B da Perkin Elmer Corp. Adotou-se a convenção que se segue: i (banda intensa), m (banda média), f (banda fraca).
- 5 — Os espectros de massa foram registrados no espectrômetro modelo MS-9 da Associated Electrical Industries, existente na Universidade de Sheffield, por cortesia do Prof. W.D.Ollis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – BENDZ, G., SANTESSON, J., WACHTMEISTER, C.A. **Studies on the Chemistry of Lichens**, 21. The isolation and synthesis of methyl 3,5-dichlorolecanorate, a new depside from *Ramalina* sp. *Acta Chem. Scand.* 19, 1188 (1965).
- 2 – CARRAZZONI, E.P. – Estudo Químico da *Parmelia hababiana* e *Cladonia verticillaris*. Tese apresentada para obtenção do título de Docente Livre no campo da Química dos Produtos Naturais, UFPE, 1975.
- 3 –, WANDERLEY, M.M.C. Estudo químico de Líquens – III. *Cladonia verticillata*, In: *Mem.Inst.Bioc. UFPE*, Recife. 1(1), 179 (1974).
- 4 – Estudo químico de Líquens – VII. Sobre os componentes da *Parmelia hababiana*, *Rev. Symposium*, 21(1), 83 (1979).
- 5 – GEISSMAN, T.A. **The chemistry of flavonoid compounds**. Pergamon Press, 1962.
- 6 – HALE, M.E., **Ultraviolet absorption of Lichen Depsides and Depsidones**. *Science*, 123, 671.
- 7 – NAKANISHI, K. **Infrared absorption spectroscopy-practical**. Holden-Day, 1962.