

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICO-QUÍMICA

ISOLAMENTO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL POR ESPECTROSCOPIA
DE UM CICLITOL DE CROTON CELTIDIFOLIUS BAILL

TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA
CATARINA PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM
CIÊNCIAS

EDGARDO MANFREDO AXT

OUTUBRO - 1976

ESTA TESE FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO
DO TÍTULO DE

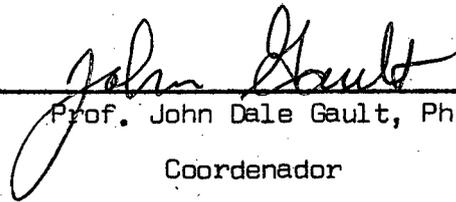
" MESTRE EM CIÊNCIAS "

ESPECIALIDADE: FÍSICO-QUÍMICA, OPÇÃO TERMODINÂMICA
E CINÉTICA QUÍMICA . APROVADA EM SUA FORMA FINAL
PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO



Prof. Rabindranath Mukherjee, Ph.D.

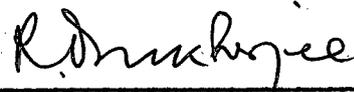
Orientador



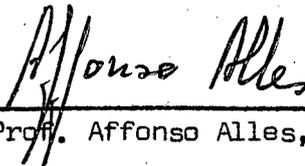
Prof. John Dale Gault, Ph.D.

Coordenador

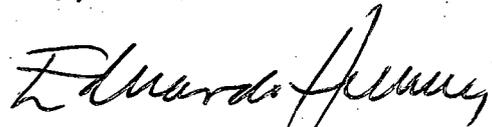
BANCA EXAMINADORA



Prof. Rabindranath Mukherjee, Ph.D.



Prof. Affonso Alles, Ph.D.



Prof. Eduardo Humeres Allende, Ph.D.

À Aidi Gisela

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Rabindranath Mukherjee, pela dedicação e eficiência com que orientou este trabalho.

Ao Dr. B. C. Das, do Institut de Chimie des Substances Naturelles - França, pelo espectro de massa de alta resolução, bem como ao Dr. N. S. Bhacca, Department of Chemistry, Louisiana State University, U.S.A., pelo espectro de alta resolução de R.N.M.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Físico-Química, da Universidade Federal de Santa Catarina, que propiciaram o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Roberto Miguel Klein, diretor do Herbário Barbosa Rodrigues de Itajaí, por ter identificado a planta.

Ao Professor Alceu Natal Longo, ecólogo da Fundação Educacional da Região de Blumenau, por ter colhido a planta, motivo deste estudo.

À Fundação Educacional da Região de Blumenau, onde desenvolveu parte deste trabalho.

SUMÁRIO

	P.
1. - INTRODUÇÃO	1
1.1 - Revisão da literatura	4
1.2 - Classificação e características botânicas	5
2. - PARTE EXPERIMENTAL	6
2.1 - Equipamento e reagentes usados	6
2.2 - Extração	6
2.3 - Isolamento e purificação do ciclitol	6
3. - RESULTADOS	8
3.1 - Análise molecular e estrutural	8
3.2 - Análise percentual	8
3.3 - Espectro do infra-vermelho	8
3.4 - Espectro de ressonância nuclear magnética	11
3.5 - Espectro de massa	12
3.6 - A estrutura do ciclitol	20
4. - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	25
5. - CONCLUSÃO	30
6. - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
7. - APÊNDICE	32

FIGURAS

	P.
FIGURA 1 - Espectro do infra-vermelho do 1L-1-O-metil-my o -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato	10
FIGURA 2 - Espectro de ressonância nuclear magnética do 1L-1-O-metil-my o -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato	14
FIGURA 3 - Espectro de ressonância nuclear magnética do 1L-1-O-metil-my o -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato. <u>I</u> mostra a irradiação seletiva da absorção do par de dupletes a 3,4 ppm e <u>II</u> a irradiação do triplete a 5,7 ppm	16
FIGURA 4 - Espectro de massa do 1L-1-O-metil-my o -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato. O íon molecular ocorre em m/e 404	18
FIGURA 5 - Estereoestrutura do composto 1L-1-O-metil-my o -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato	22
FIGURA 6 - Estereoestrutura do composto 1L-1-O-metil-my o -inositol.	24

T A B E L A S

P.

TABELA 1	-	Dados do espectro de RNM do <u>1L-1-O</u> -metil- <u>myo</u> -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato, obtidos de aparelho Varian XL 100, operando a 100 MHz em $CDCl_3$ com 8 gotas de C_6D_6	27
TABELA 2	-	Dados do espectro de RNM, a 220 MHz, do tetraacetato de pinpollitol	28
TABELA 3	-	Dados do espectro de RNM para os substituintes metóxi e acetóxi do <u>1L-1-O</u> -metil- <u>myo</u> -inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato	29

RESUMO

Das folhas e galhos de Croton celtidifolius Baill., que cresce em abundância na região montanhosa do sul do Brasil e que é conhecido pelos habitantes da região pelas suas qualidades medicinais, foi isolado um monometóxi ciclitol, $C_7H_{14}O_6$, em forma de acetato, $C_{17}H_{24}O_{11}$, p.f. 139,3-139,8°. A fórmula molecular do acetato M^+404 foi confirmada com um espectrômetro de massa de alta resolução, modelo AEI MS-50 operando em 70 eV, a uma temperatura operacional de 180°. O acetato não mostrou nenhuma absorção no ultravioleta e região visível e no infra-vermelho mostrou apenas a função acetóxi e metóxi. A integração e lettrônica do espectro de ressonância nuclear magnética de alta resolução do composto determinou a presença de 24 hidrogênios no acetato. O deslocamento do solvente e a irradiação seletiva das absorções de prótons metínicos, permitiu diferenciar o hidrogênio ligado ao C-1, portador de metóxi, do hidrogênio ligado ao C-2, portador de acetato, estabelecendo a estereoconfiguração de toda a molécula como sendo 2,3,4,5,6 - pentaacetato-1L-1-O-metil-myo-inositol, que possui o metóxi do C-1 em posição equatorial. Dos cinco grupos acetóxi, o do C-2 é axial, enquanto os outros quatro, de C-3 até C-6 são todos equatoriais. Portanto, a estereoestrutura do pentaacetato deve ser como a da FIG. 5 e o ciclitol original presente no Croton celtidifolius como a da FIG. 6 .

ABSTRACT

From the leaves and branches of Croton celtidifolius Baill., which grows abundantly in the southern mountain regions of Brazil and known for its folklore medicinal properties, a monomethoxy cyclitol, $C_7H_{14}O_6$, has been isolated as its acetate, $C_{17}H_{24}O_{11}$, m.p. 139.3-139.8°. The molecular formula of the acetate has been confirmed by high resolution mass spectrometry, M^+ 404, using an AEI MS-50 mass spectrometer operating at 70 eV with an inlet temperature of 180°. The acetate does not have any absorptions in the ultraviolet and visible regions and in the infrared it shows only the acetoxy and methoxy functions. Electronic integration of the high resolution nuclear magnetic resonance spectra of the compound supported the presence of 24 hydrogens in the acetate. Solvent shifts and selective irradiation of absorptions of the methine protons attached to the carbon bearing the methoxy at C-1 and of C-2 of the acetate establish the stereoconfiguration of the entire molecule as 1L-1-O-methyl -myo-inositol pentaacetate having the methoxy at C-1 as equatorial. Of the five acetoxy groups, the one at C-2 is axial while the other four at C-3 to C-6 are all equatorial. Hence the stereostructure of the pentaacetate should be as FIG. 5 and the original cyclitol present in Croton celtidifolius as FIG. 6.

1 - INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização, o homem tentou compreender a natureza e desvendar seus mistérios, para seu próprio benefício. Assim, voltou-se para a natureza, procurando suprir suas necessidades cotidianas e buscar proteção de doenças e sofrimentos causados pela ação maligna de diversas infecções por vírus, bactérias e coccus. A necessidade de sobrevivência levou-o à procura, através de recursos naturais, da assim chamada medicina que poderia aliviá-lo de dores e sofrimentos físicos. Esta procura levou o homem à descoberta de propriedades curativas de várias plantas.

Muitas destas plantas medicinais demonstraram conter alcalóides, ciclítóis, esteróides e terpenos, que possuem propriedades curativas. Inúmeros compostos químicos são benéficos à humanidade por serem de grande valor medicinal. Por esta razão, as plantas despertaram enorme interesse e tem sido largamente examinadas e investigadas por químicos, farmacêuticos e médicos, na tentativa de isolar os constituintes químicos em seu estado puro, seguindo-se um estudo de sua ação farmacodinâmica antes mesmo de ser usado na medicina moderna.

Muitos produtos de plantas são também usados como intermediários para a síntese de alcalóides, hormônios e outros produtos químicos que frequentemente encontram uso na medicina. Este variado uso de produtos das plantas despertou o interesse para uma planta da família Euphorbiaceae, do gênero Croton. Esta família possui um vasto número de compostos que possuem propriedades medicinais e atividade fisiológica. Dedicou-se o presente estudo ao Croton celtidifolius Baill, uma árvore de reconhecido poder cicatrizante segundo informações populares sendo largamente utilizada para esta finalidade pelos habitantes da região de Alto Cedro, município de Rio dos Cedros, Santa Catarina, Brasil.

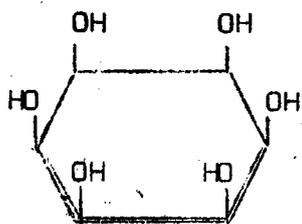
Em 1960 ainda muito pouco era conhecido sobre os compostos contidos nas setecentas (700) espécies conhecidas de Croton. Este campo desenvolveu-se rapidamente, como se pode observar, pois efetuou-se o isolamento de aproximadamente meia centena de alcalóides. Stuart^{41,42,52,53,59,68}, e seus colaboradores elucidaram a estrutura de 26 alcalóides. Nesse sentido, há também uma série de publicações feitas por Haynes^{39,41,42,48} e outros.^{37,43,44,45,47,50,58}

Neste trabalho tratamos do isolamento e determinação estrutural de

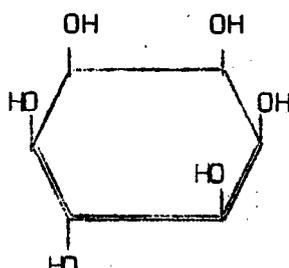
um composto da família dos ciclitois, ainda não relacionado na literatura como pertencente ao Croton celtidifolius Baill.

Ciclitois são cicloalcanos contendo um grupo hidroxila em cada um dos carbonos de anéis de três ou mais átomos.

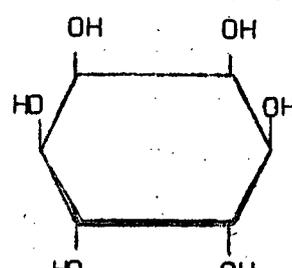
Em 1850, Scherer isolou um isômero opticamente inativo do ciclohexano hexol, denominando-o inositol. O mesmo nome foi aplicado a outros isômeros na medida em que foram sendo descobertos, transformando-se em nome genérico. Foi demonstrado por Bouveault² em 1894, que existem nove inositois, sete meso e um par DL. Possuem estereofórmulas conforme (1), (2), (3), (4), (5), (6), distinguindo-se entre si pelos prefixos configuracionais.



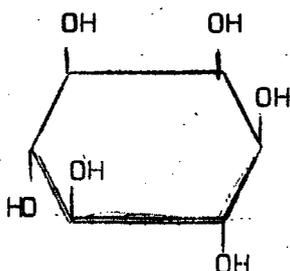
cis
(1)



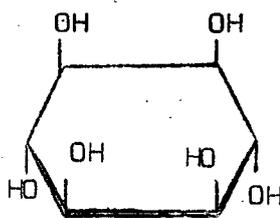
epi
(2)



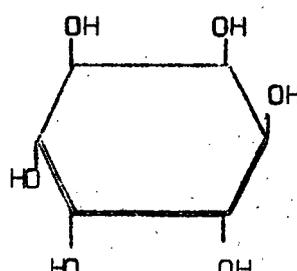
allo
(3)



myo
(4)



muco
(5)



neo
(6)

Os inositois incluem também os derivados resultantes da substituição em oxigênios e carbonos, por substituintes monovalentes. Os ciclitois de plantas abrangem os éteres metílicos de inositois. Dos seis compostos mono-O-metil-myoinositois que ocorrem na natureza, quatro são conhecidos e inclusive sintetizados. São encontrados nas suas várias formas em plantas e tecidos animais.

Alguns estudos interessantes foram feitos sobre a função de inositois na nutrição de organismos vivos. Apesar de muitos organismos não precisarem de uma fonte externa de myoinositol, está claro que este composto é um éter essencial² na vida da maioria das células. Uma das suas maiores funções é

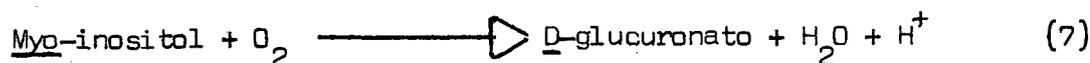
a de servir de precursor de moléculas mais complexas, como fosfoinositídeos e fitatos. Mais definitivo parece ser a influência de myo-inositol no sentido de ajudar no crescimento de plantas e animais, sendo que sua ausência, entretanto, nem sempre compromete este crescimento.

Estudos recentes da ação das várias formas de myo-inositol forneceram dados importantes sobre o papel fisiológico destas substâncias. Os inositolídeos fosfatídílicos, a exemplo dos fosfolipídios, são componentes da estrutura de membranas celulares, sendo usados para funcionar no transporte de íons, amino-ácidos e outros metabólitos. Os fitatos servem nitidamente como depósitos de fosfato. Está sendo estudada² a possibilidade de que uma porção desse fosfato tenha um ΔG^0 de hidrólise suficientemente alto para agir diretamente como fonte de energia em metabolismo.

Considerável progresso foi feito na década de 1960 na elucidação de reações metabólicas dos inositolídeos. Ficou demonstrado que a biossíntese de myo-inositol envolve a ciclização de D-glucose com a cadeia intacta. Isto foi mostrado experimentalmente em plantas usando D-glucose portador de deutério.²

Provou-se que o myo-inositol é precursor de outros inositolídeos e dos metil éteres dos inositolídeos encontrados nas plantas.² A metilação direta de myo-inositol, catalizada por enzimas específicas, resultou ser a forma de sintetizar os éteres metílicos 5-O-metil-myo-inositol e 1D-4-O-metil-myo-inositol. Por outro lado, o myo-inositol não é intermediário na biossíntese de qualquer um dos ciclitóis menores ou de C-metil inositolídeos.

Em algumas bactérias a degradação de myo-inositol se inicia pela des-hidrogenação de um grupo carbinol, sendo que na espécie Acetobacter suboxydans, a ação se limita apenas a esta etapa. Plantas mais elevadas e mamíferos fazem a oxigenase² do inositol que resulta na clivagem entre C-1 e C-6, de acordo com (7).



A metade do oxigênio consumido é incorporado no grupo carboxila do D-glucuronato. Este composto é então convertido em D-treo-pentulose e pela sequência de reações da pentose fosfatada, em intermediários glicosídicos. Desta maneira myo-inositol é adicionado ao fluxo do metabolismo de carboidratos.

1.1.- Revisão da Literatura

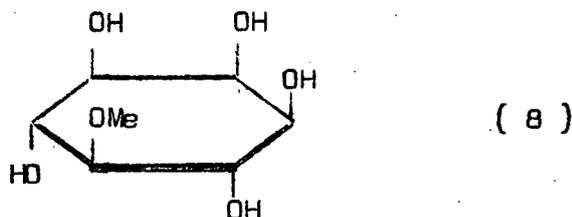
De acordo com as regras de nomenclatura IUPAC/IUB¹, o nome do composto isolado neste trabalho é 1L-1-O-metil-myco-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato, que passa a ser denominado composto (a), e o composto que lhe deu origem, de fórmula $C_{7}H_{14}O_6$, é o 1L-1-O-metil-myco-inositol.

Nada consta na literatura sobre o estudo de Croton celtidifolius Baill., nem sobre a determinação estrutural por métodos espectrométricos do peracetato (a), isolado desta árvore.

No apêndice deste trabalho encontra-se um levantamento do Chemical Abstracts, onde se relacionam os trabalhos feitos no gênero Croton.

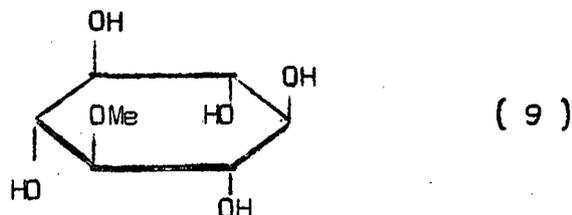
Um estudo análogo a este foi feito por Angyal¹⁰ recentemente, isolando de Pinus radiata um ciclitol chamado 1,4-di-O-metil-D-chiro-inositol, também denominado pinpollitol. A estrutura do pinpollitol foi elucidada transformando o composto em tetraacetato e analisando os espectros do R.N.M., de 220MHz, bem como seu espectro de massa.

Angyal e Gilham⁵ obtiveram o 5-O-metil-rac-inositol e outros, por epoxidação de inositol. Sintetizaram também 5-O-metil-myco-inositol (8) por epoxidação de (+)-1,2-Anidroinositol. Seu peracetato tem p.f. 200-201,5^o C.



A síntese de 5-O-metil-myco-inositol foi feita por Nakajima¹³, aquecendo 1,2-Anidro-neo-inositol com metanol misturado com borohidreto de sódio pulverizado.

Ueno⁶ e colaboradores isolaram de Phaselous vidissimus o composto 1-O-metil-scyllo-inositol (9), elucidando a estrutura do composto peracetilado, de p.f. 192-193^oC, por métodos espectroscópicos.



O composto estudado neste trabalho, 1L-1-O-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato, é bastante raro na natureza, encontrado até agora em Apocynaceae, e determinado apenas agora em Euphorbiaceae.

1.2.- Classificação e Características Botânicas

A árvore foi classificada como sendo pertencente à família Euphorbiaceae, do gênero Croton e da espécie celtidifolius Baill.

Trata-se de uma árvore mediana de seis a dez metros de altura, muito semelhante às de espécies de Croton macrobothrys e Croton urucurana. Distingue-se de macrobothrys principalmente pelas suas folhas de base rombiforme-ovada, ápice longo-acuminado e face inferior das folhas densamente pubescente, uma vez que Croton macrobothrys apresenta folhas ovado-lanceoladas, curtamente acuminadas no ápice e raramente pubescente na face inferior.

Distingue-se de Croton urucurana, por esta apresentar seus limbos foliares cordados na base, forma de limbo cordado-ovado, ápice curto e pronunciadamente acuminado, bem como pelo fato de ter um pecíolo relativamente muito comprido, do tamanho do limbo foliar ou até um pouco maior.

Ecologicamente, Croton celtidifolius Baill. é a espécie arbórea mais comum deste gênero em todo o planalto de Santa Catarina, ocorrendo principalmente em capoeirões, situados em solos úmidos ou ao longo de rios e regatos, onde pode tornar-se bastante freqüente.

Croton macrobothrys parece ser bastante rara em Santa Catarina. Até o momento apenas foi encontrada na localidade de Pilões, município de Santo Amaro da Imperatriz, zona da mata pluvial da encosta atlântica, onde ocorre em capoeirões bem desenvolvidos.

Croton urucurana, igualmente, é bastante rara e segundo tudo indica é exclusiva dos capoeirões da zona das matas latifoliadas do extremo oeste dos Estados de Santa Catarina e Paraná.

Popularmente a árvore é conhecida por pau-sangue, sangue-de-dragão e urucurana.

2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1.- Equipamento e reagentes usados.

Todos os reagentes usados foram da marca Merck.

A determinação do ponto de fusão do composto foi feita em placas ao microscópio Carl Zeiss. O espectro de infra-vermelho foi obtido num espectrofotômetro Beckman IR8, sobre KBr. Para obter o espectro de ultra-violeta foi usado um aparelho Cary 14, em etanol a 95 %, livre de aldeído. O espectro de ressonância nuclear magnética obteve-se de um espectrofotômetro Varian XL 100, 100 MHz, de alta resolução, resolvido em CDCl_3 com 8 gotas de C_6D_6 , usando TMS como padrão interno. Este aparelho estava associado a um desacoplador para as experiências de irradiação. Para o espectro de massa, usou-se um espectrômetro de alta resolução AEI MS-50, operando a 70 eV, a uma temperatura de 180°C .

2.2.- Extração.

Foram colhidas folhas e galhos de Croton celtidifolius Baill., secadas a temperatura ambiente e depois, moídas. Na pesquisa foi usado 1,0 Kg do material. A planta assim preparada foi submetida a uma extração inicial com 10 litros de clorofórmio em Soxhlet, durante 24 horas. Depois foi feita uma extração com 10 litros de metanol, em Soxhlet e a quente, durante 24 horas.

O extrato alcoólico da planta foi concentrado por destilação a vácuo, até 500 ml, filtrado e concentrado em banho maria até obter-se 150 ml. Esta fração foi tratada com carvão ativo, filtrada em funil de Büchner e concentrada adiante até resultar uma goma de aspecto avermelhado, que foi deixada em dessecador durante uma noite. O peso da goma obtida foi de 12,8g.

2.3.- Isolamento e purificação do ciclitol.

Da goma de aspecto avermelhado foi tirado um espectro de infra-vermelho, que revelou picos acentuados correspondentes a grupos hidroxilas. Para separar o composto com este tipo de grupo funcional, a goma foi submetida a acetilação, com a finalidade de transformar a goma hidroxilada em acetato, baixando

com isto a polaridade do composto.

Para efetuar a acetilação colocaram-se num balão de fundo redondo 12,8g do óleo avermelhado, 21 ml de anidrido acético e 15 ml de piridina, adaptando-se um condensador de refluxo e um tampão de sulfato de cobre anidro. Aqueceu-se o sistema em banho maria durante três horas, deixando-se depois o balão em repouso no gelo, durante 12 horas. Adicionaram-se então, 100 ml de água. A mistura obtida desta forma foi acidificada com HCl 0,1 N e extraída em pera de decantação com 800 ml de clorofórmio. O extrato foi lavado três vezes com água e sêco com sulfato de sódio anidro, sendo então filtrado. A solução obtida foi concentrada por destilação a vácuo para remover resíduos de piridina e levada a secar. A goma escura resultante foi dissolvida em 50 ml de clorofórmio e 10 ml de metanol, tratada com carvão ativo, filtrada em Büchner e levada novamente a secar, guardando-a em dessecador com cloreto de cálcio anidro. A acetato bruto assim obtido foi submetido a cromatografia de coluna, empacotada com 550g de alumina neutra Merck, atividade I.

Pela sequência foram adicionados os eluentes, i) n-hexano (600 ml); ii) n-hexano : benzeno (450 : 150 ml); iii) n-hexano : benzeno (300 : 300 ml); iv) benzeno (600 ml) ; v) éter (600 ml) e vi) clorofórmio (600 ml) .

Eliminando o solvente em (ii), (iii) e (iv), restaram cristais de aspecto amarelado. Estas três frações foram juntadas e passadas sobre nova coluna de alumina neutra. Repetindo-se a adição e sequência de eluentes, obteve-se um óleo branco. A adição de benzeno e algumas gotas de n-hexano ocasionou a formação de pequenos cristais brancos em forma de agulha. O produto ainda foi purificado adiante, submetido a carvão ativo e recristalização, dando um rendimento de 0,01 % .

O ponto de fusão deste composto é de 139,3-139,8°C.

3 - RESULTADOS

3.1.- Análise molecular e estrutural.

O composto de ponto de fusão 139,3-139,8^o C foi submetido aos métodos de análise espectrométrica, por ultra-violeta, infra-vermelho, ressonância nuclear magnética e massa. O composto também foi submetido a análise percentual. O composto não absorveu no ultra-violeta. Foram de grande valor as informações primeiras obtidas pelo espectro de massa, que junto com os dados da análise percentual, permitiram a fixação do peso molecular do composto. Na elucidação estrutural, os pentaacetatos de metil glucopiranoses serviram para mostrar os tipos de cisões ⁷ que poderiam ocorrer no espectro de massa. Pela ressonância nuclear magnética, determinou-se a conformação da molécula, dando a distribuição axial-equatorial dos grupos substituintes.

3.2.- Análise percentual.

O composto foi submetido a análise percentual de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio. A análise mostra que a composição percentual do composto é a seguinte: 50,51% de carbono, 6,03% de hidrogênio e 43,46% de oxigênio. A fórmula mínima baseada nestes dados é $C_{1,86}H_{2,74}O$. O espectro de massa revelou o peso molecular 404 para este composto, o que fornece a fórmula molecular $C_{17}H_{24}O_{11}$, cujos valores percentuais calculados são: 50,49% de carbono, 5,94% de hidrogênio e 43,57% de oxigênio. Os dados analíticos percentuais permitem concluir que seja esta a fórmula molecular do composto de fusão 139,3-139,8^o C.

3.3.- Espectro do infra-vermelho.

O composto absorve na região característica de 2940 e 2850 cm^{-1} conforme mostra a FIGURA 1, dando dois picos no espectro. A banda correspondente a 2940 cm^{-1} indica estiramento C-H do grupo metila. Na vizinhança observa-se um pico a 2850 cm^{-1} , estreito, característica do grupo metóxi, devido ao estiramento C-H. Na região de 1750 cm^{-1} , há um pico amplo de estiramento C=O de acetato.

FIGURA 1

Espectro do infra-vermelho do 1L-1-O-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato. Mostra estiramento C=O e C-O do acetato em 1750 e 1220 cm^{-1} , respectivamente.

A deformação simétrica de $\text{CH}_3\text{-O}$ ocorre a 1430cm^{-1} e a 1360cm^{-1} ocorre a deformação de metila, pertencente a acetato. O pico na região de 1220cm^{-1} , de estiramento C-O de acetatos, confere com a presença deste grupo. A banda a 1030cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento assimétrico do grupo O-CH_3 . Na região de 910 e 730cm^{-1} , aparecem dois picos, correspondentes às vibrações assimétricas e simétricas do anel de seis membros, respectivamente.

3.4.- Espectro de ressonância nuclear magnética.

O espectro do composto foi obtido operando a 100 MHz , em CDCl_3 com 8 gotas de C_6D_6 para verificar os deslocamentos do solvente. Os picos de ressonância no espectro de energia de 100 MHz , a integração eletrônica de todas as intensidades de ressonância do espectro $^1\text{H NMR}$, bem como as regras de ressonância e previsões de deslocamento químico, levaram à conclusão que os 5 singletes altos em torno de $2,1\text{ ppm}$ e outro singlete alto em $3,4\text{ ppm}$ representam respectivamente os prótons de 5 grupos AcO e um grupo MeO .

Publicações ^{2,9} sobre correlações de deslocamento químico de prótons de grupos acetila, em grande número de carboidratos com disposição conformacional definida, possibilitam o reconhecimento do posicionamento dos grupos acetilas presentes na molécula.

Os 5 singletes em torno de $2,1\text{ ppm}$, correspondem aos prótons de 5 grupos OAc . O singlete localizado em $2,2\text{ ppm}$ corresponde a um grupo acetila axial, enquanto que os outros quatro singletes correspondem a 4 grupos acetila equatoriais.

Os multipletes na região de $4,88$ a $5,78\text{ ppm}$ correspondem a 5 prótons metínicos pertencentes aos átomos de carbono que possuem 5 OAc . O triplete em $5,78\text{ ppm}$ corresponde a H_2 , enquanto os três tripletes nas regiões de $5,75$, $5,42$ e $5,10\text{ ppm}$ correspondem respectivamente a H_4 , H_6 e H_5 . O duplete na região de $4,88\text{ ppm}$ corresponde a H_3 , este também ligado a carbono portador de grupo acetóxi. O par de dupletes em $3,42\text{ ppm}$ com esplitamento estreito de $2,5\text{ Hz}$ corresponde ao proton metínico H_1 , ligado ao carbono que possui o grupo metóxi.

As experiências de desacoplamento de spins permitem classificar os seis prótons metínicos em três grupos:

1ª) Três tripletes, (H4, H6, H5), correspondem aos três prótons de 10 Hz, ocasionados pela interação spin-spin de dois prótons axiais vizinhos.

2ª) Dois pares de dupletes representam prótons axiais (H3, H1), cada par mostrando constantes de acoplamento de 10 e 2,5 Hz, induzidos por vizinhança axial e equatorial.

3ª) Um triplete com dois pequenos esplitamentos de 2,5 Hz, correspondentes a um próton equatorial, (H2), localiza-se na região de baixa energia, em torno de 5,7 ppm.

Os deslocamentos químicos dos prótons estão assinalados no composto da FIGURA 2, destacando-se que todos os dados foram confirmados por irradiações sucessivas seletivas do par de dupletes em 3,4 ppm e do triplete em 5,7 ppm, conforme mostra a FIGURA 3.

3.5.- Espectro de Massa.

O íon molecular ocorre em m/e 404, resultante do composto de fórmula $C_{17}H_{24}O_{11}$.

Conforme costuma acontecer em peracetatos, o maior pico de massa é o m/e 43, correspondente ao grupo acetila, $CH_3CO\cdot$, sendo o pico base do espectro de massa da FIGURA 4.

Outros picos característicos de peracetatos são dos íons diacetil oxônio, m/e 103 e triacetil oxônio, m/e 145, também encontrados no espectro de massa.

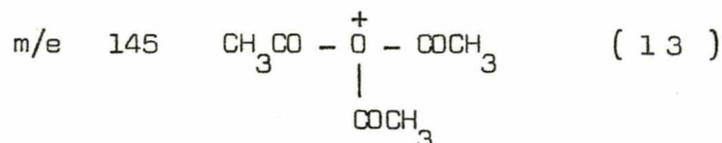
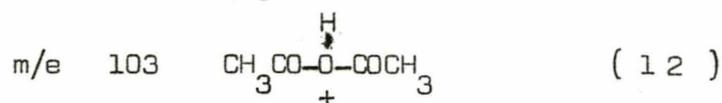
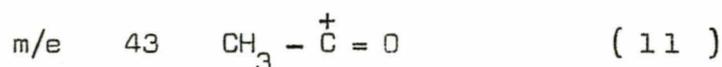
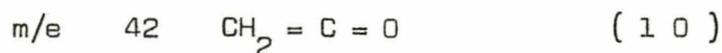


FIGURA 2

Espectro de ressonância nuclear magnética do 1L-1-O-metil--myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato.

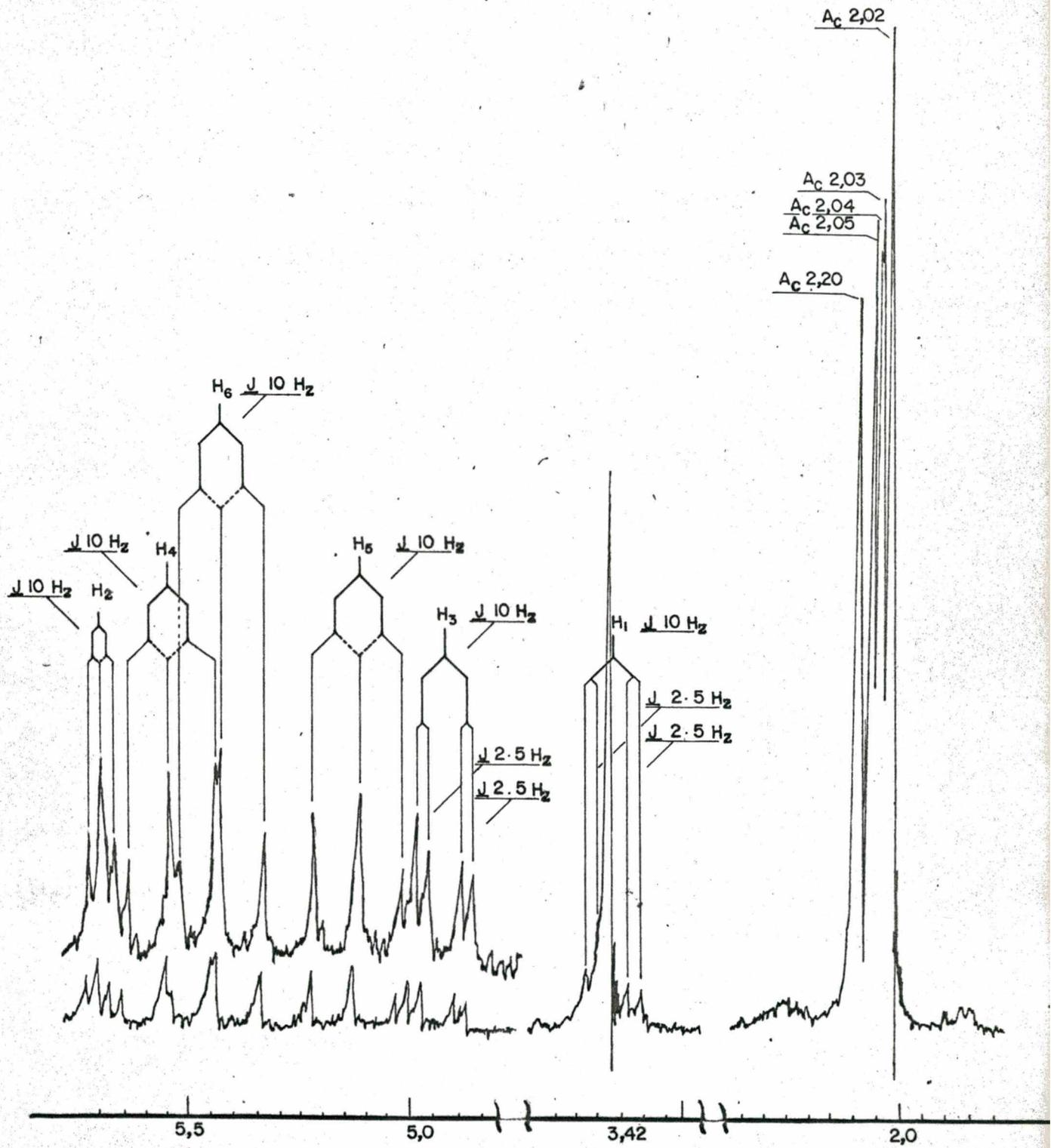


FIGURA 3

Espectro de ressonância nuclear magnética do 1L-1-O-metil--myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato. III mostra a irradiação seletiva das absorções do par de dupletes a 3,4 ppm e IV a irradiação do triplete a 5,7 ppm .

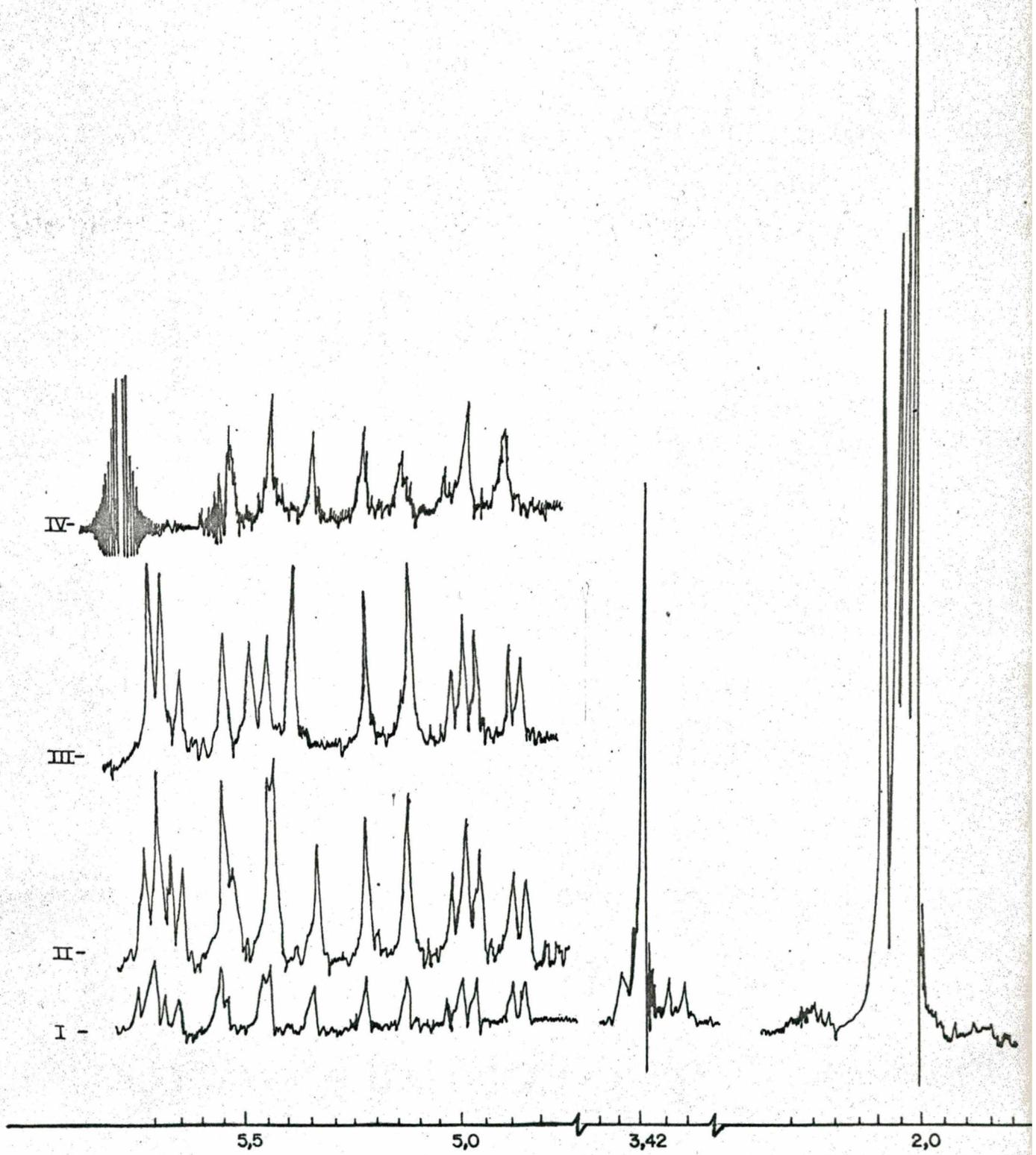
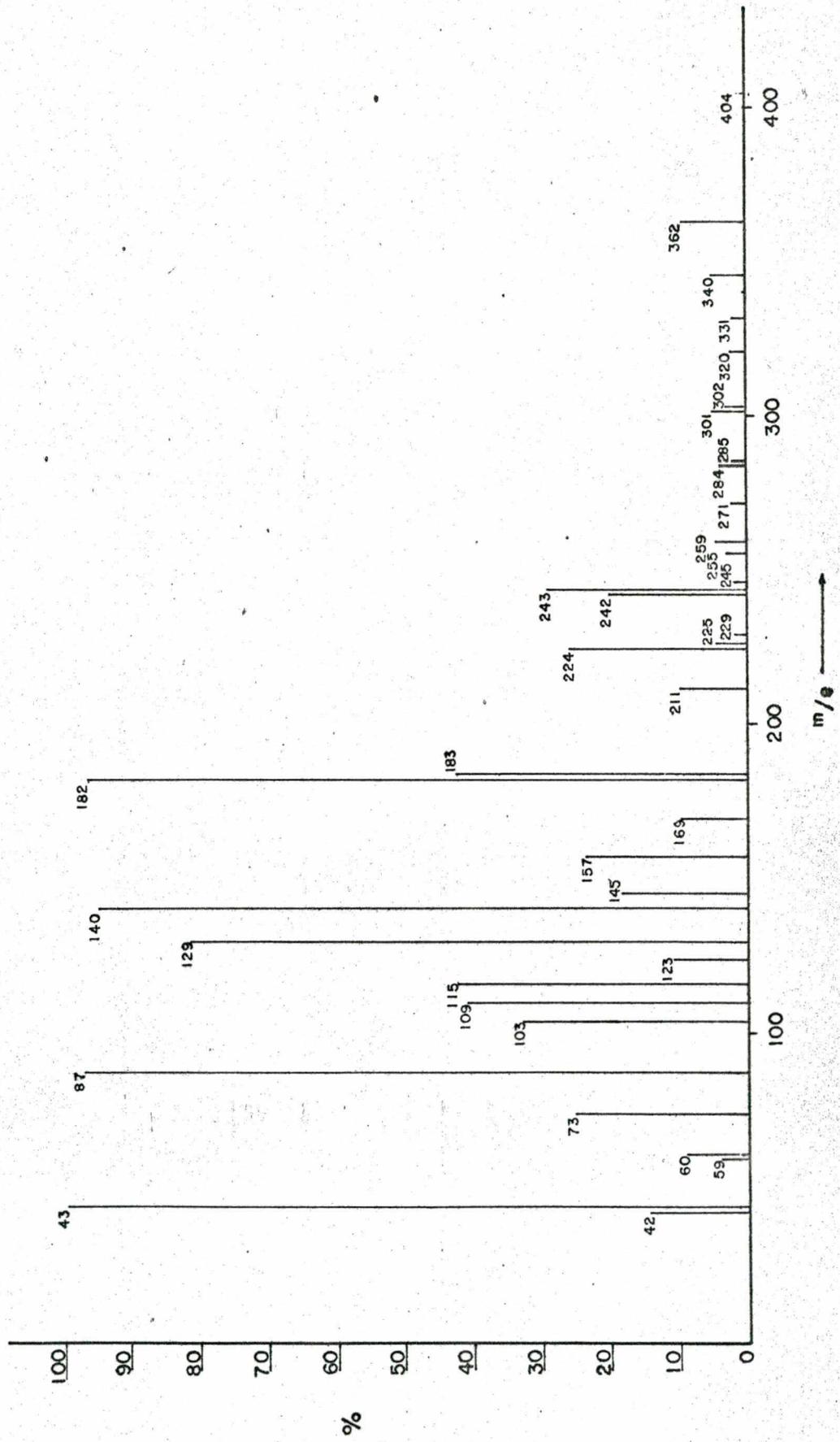
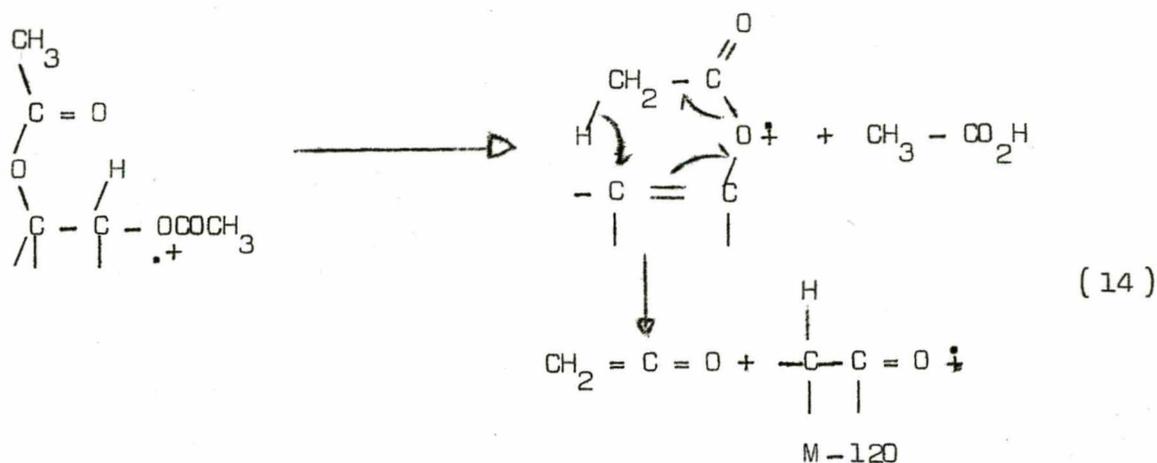


FIGURA 4

Espectro de massa do 1L-1-O-metil-myo-inositol-
2,3,4,5,6-pentaacetato. O íon molecular ocorre
em m/e 404.



Duas cisões importantes envolvem a eliminação de ácido acético e cetena (perda de 60 e 42 unidades de massa, respectivamente), de acordo com o seguinte esquema (14).



O íon molecular, visível em m/e 404, ao eliminar cetena, forma o íon m/e 362. A eliminação de ácido acético, cetena e de duas moléculas de ácido acético, levam aos íons de massa 302 e 284. A decomposição posterior destes picos é de menor importância como por exemplo $302 - 60 = 242$.

O restante dos picos do espectro de massa podem ser atribuídos a cisões características⁷ desta classe de compostos.

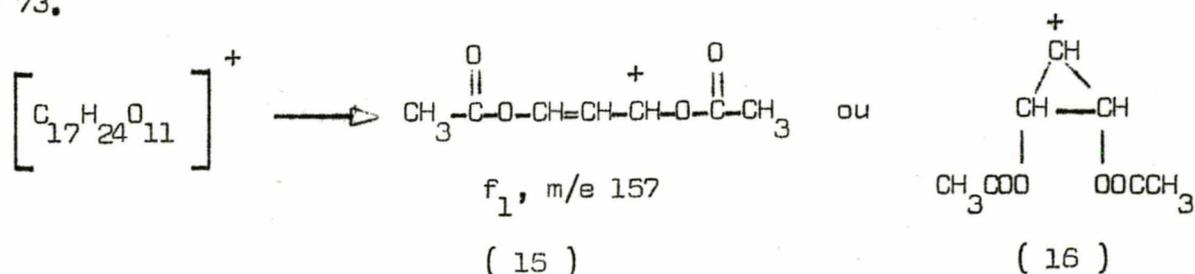
O íon molecular m/e 404 ao perder CH_3COO^+ , de massa 59, forma o íon c_1 , m/e 345. Este íon se decompõe por dois caminhos, conforme mostram os picos fracos do espectro. Há perda de duas moléculas de ácido acético (m/e 225, e_2), seguido de cetena (c_3 m/e 183) ou a perda sequencial de ácido acético (c_4 m/e 285), cetena (c_5 m/e 243) e duas moléculas de ácido acético (c_6 m/e 183) e (c_7 m/e 123).

O íon molecular, ao perder $[\text{COCH}_2^+ + \text{OCH}_3^+]$, m/e 73, dá origem ao íon (d_1 , m/e 331). Este íon perde duas moléculas de ácido acético (d_2 m/e 211) e cetena, (d_3 m/e 169).

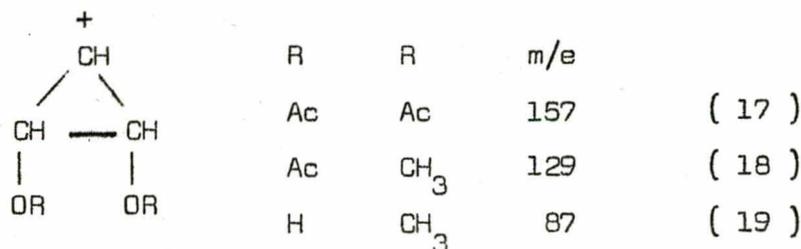
A eliminação de duas moléculas de ácido acético do íon molecular gera o íon e_1 , m/e 284, que se decompõe imediatamente perdendo cetena (e_2 m/e 242), ácido acético (e_3 m/e 182) e cetena (e_4 m/e 140).

Devem ser considerados ainda, os fragmentos de uma série que começa

com o íon de massa 157, de estrutura alílica (15) ou de íon ciclopropila (16). O íon f_1 perde de forma seqüencial dois moles de cetena, dando f_2 m/e 115 e f_3 m/e 73.



Alguns fragmentos importantes resultantes de cisões em anel de ciclohexano, são os seguintes:



3.6.- A estrutura do ciclitol.

A análise percentual encontrou suporte na ressonância nuclear magnética e no espectro de massa. A integração eletrônica do espectro de ressonância nuclear magnética mostrou a presença de 24 hidrogênios no acetato. Pode-se determinar com exatidão a estereoconfiguração do composto, diferenciando as posições axiais e equatoriais dos grupos metóxi e acetóxi. O espectro de massa permitiu a confirmação do peso molecular do composto, dando exatidão a análise percentual.

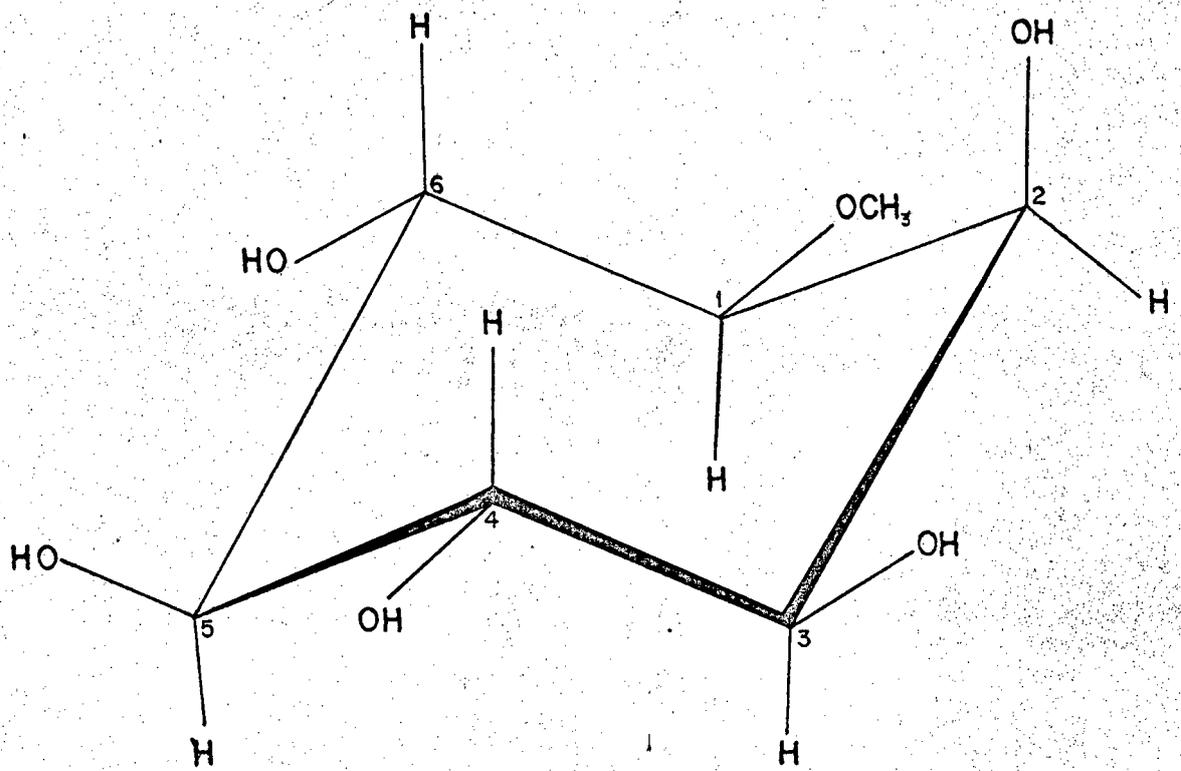
Os dados até aqui avaliados, permitem estabelecer com segurança que a estereoestrutura do composto 1L-1-O-metil-myoinositol-2,3,4,5,6-pentaacetato, de rotação ótica $[\alpha]_D^{20} 11,8^\circ$, corresponde à estrutura da FIGURA 5, enquanto a estereoestrutura do composto que deu origem ao acetato, corresponde à estrutura da FIGURA 6, do 1L-1-O-metil-myoinositol.

FIGURA 5

Estereoestrutura do 1L-1-O-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-
-pentaacetato, de fórmula molecular $C_{17}H_{24}O_{11}$.

FIGURA 6

Estereoestrutura do composto 1L-1-O-metil-myo-inositol,
de fórmula molecular $C_7H_{14}O_6$.

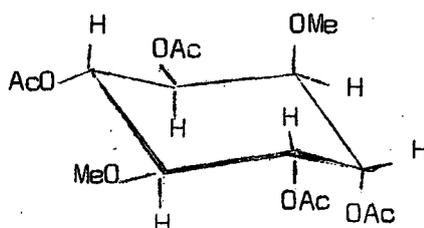


4 - DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No espectro de RNM, as irradiações do par de dupletos a 3,4 ppm e do triplete a 5,7 ppm, permitem confirmar os dados e informações tirados deste espectro.

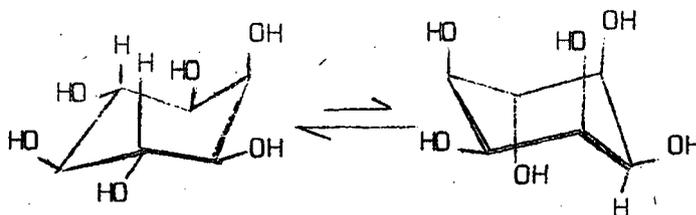
A TABELA 1, mostra os dados do RNM do 1L-1-O-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato. As experiências de desacoplamento de spins, permitem identificar com clareza três tripletes de interação spin-spin de dois prótons axiais vizinhos, dois pares de dupletos de prótons axiais induzidos por vizinhança axial e equatorial e um triplete na região de baixa energia, a 5,7 ppm.

Os resultados obtidos ¹⁰ no estudo do espectro de 220 MHz do tetraacetato de pinpollitol, (20) vem corroborar os dados obtidos para o acetato deste trabalho. A análise dos dados da TABELA 2, permitem posicionar os hidrogênios do anel e dos substituintes acetóxi e metóxi do tetraacetato de pinpollitol.



(20)

A análise conformacional dos ciclitolis com anéis de seis membros mostra que estes compostos, na maioria das situações, se apresentam na conformação cadeira. ¹¹ Quando um ciclitol tem maior número de substituintes axiais em uma das duas conformações cadeira, então haverá preponderância daquela que tiver menor número de substituintes axiais. Os valores dos momentos dipolares, do infravermelho, da RNM, vem a confirmar esta generalização. Por análise de raios-X mostrou-se que o myo-inositol, tem a conformação (21) no cristal ¹², enquanto que (22) está desfavorecida.



A explanação feita, permite afirmar que a estrutura da FIGURA 6 para o 1L-1-0-metil-myo-inositol, bem como a estrutura do seu pentaacetato, se encontram na conformação que apresenta preponderância.

A TABELA 3 mostra os dados de RNM para os substituintes metóxi e acetóxi de 1L-1-0-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato. A curva de integração eletrônica mostra três hidrogênios do grupo metóxi em posição equatorial a 3,4 ppm, três hidrogênios do grupo acetóxi axial a 2,2 ppm e respectivamente a 2,05, 2,04, 2,03, e 2,02 os 12 hidrogênios dos quatro grupos acetóxi, todos equatoriais. Estes últimos dados oferecem uma visão mais ampla do problema de esteoquímica destes compostos, mostrando nitidamente a diferença entre o posicionamento axial e equatorial dos grupos acetóxi.

TABELA 1

Dados do RNM do 1L-1-O-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato, obtidos num aparelho Varian XL 100, operando a 100 MHz em CDCl_3 com 8 gotas de C_6D_6 .

δ	Multipl cidade	J (Hz)	Conformação	Correspon- dência
5,7	t	10	equatorial	H2
5,49	t	10	axial	H4
5,38	t	10	axial	H6
5,10	t	10	axial	H5
4,97	dd	2,5-10	axial	H3
3,40	dd	2,5-10	axial	H1

TABELA 2

Dados do espectro de RNM, a 220 MHz, do tetraacetato de pinpollitol.

δ	Multiplidade	J (Hz)	Conformação	Correspondência
5,48	t	3,5	equatorial	H6
5,40	t	10,0	axial	H3
5,17	dd	3,5-10,0	axial	H5
5,10	dd	3,5-10,0	axial	H2
3,61	t	3,5	equatorial	H1
3,59	t	10,0	axial	H4

TABELA 3

Dados de RNM para os substituintes metóxi e acetóxi do
1L-1-O-metil-myoinositol-2,3,4,5,6-pentaacetato.

δ	Multipl cidade	Conformação	Correspon dência
3,40	s	equatorial	MeO
2,20	s	axial	AcO
2,05	s	equatorial	AcO
2,04	s	equatorial	AcO
2,03	s	equatorial	AcO
2,02	s	equatorial	AcO

5 - CONCLUSÃO

Análises feitas com raios-X mostraram ² que o myo-inositol possui a conformação absoluta análoga aquela apresentada na FIGURA 5, para o 1L-1-O-metil-myo-inositol-2,3,4,5,6-pentaacetato.

Os dados obtidos neste trabalho, pelo uso da ressonância nuclear magnética, vem a beneficiar o estudo de açúcares que apresentarem semelhança ¹³ com a estrutura molecular aqui estudada, bem como podem ser aplicados em moléculas mais complexas, como na apromicina, o único antibiótico aminociclitol conhecido ¹⁴ ou em antibióticos contendo açúcares.

Tendo em vista que o composto analisado é bastante raro, parece importante que se estude sua bioquímica, principalmente porque alguns isômeros seus, também ciclitoís, têm acentuada influência no crescimento de plantas e na estrutura celular.

Um trabalho interessante e que viria complementar o estudo aqui realizado, seria a desacetilação do composto, seguido da cisão da ligação éter, transformando-o desta forma em inositol e a nova acetilação deste último. Obteriam-se assim mais três compostos, cujos dados espectroscópicos poderiam fornecer um estudo comparativo e bastante completo no campo dos ciclitoís.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - IUPAC - IUB. Nomenclature of Cyclitols (1973 Recommendations). In: Pure Appl. Chem., Vol.37;385-97, 1974.
- 2 - ANDERSON, L. The Cyclitols In: The Carbohydrates. Editora Pigman, W. and Horton, D; 2 ed., Academic Press Inc., 1972. p. 538.
- 3 - POSTERNAK, T. The Cyclitols. Engl. ed. California, Holden-Day, 1965,p.221.
- 4 - ANGYAL, S.J. & McHUGH D.J. The Cyclitols. Chem. Ind., Vol. 54:1147, 1956.
- 5 - ANGYAL, S.J. & GILHAM, P.T. Synthesis of Inositols. J. Chem. Soc. Vol.23:375, 1958.
- 6 - UENO, Y. et al. Isolation of O-methyl-scyllo-inositol from mung bean seeds. Carbohydrate Research, Vol, 29. 29:520, 1973.
- 7 - BUDZIKIEWICZ et al. Structure Elucidation of Natural Products by mass Spectroscopy. Vol. 2. San Francisco, California, Holden-Day, 1964.203-15.
- 8 - AVRAM, M. & MATESCU, G.A. Infrared Spectroscopy, New York, Wiley-Interscience, 1962. 307.
- 9 - LICHTENTHALER, F.W. & EMIG, P. Carbohydrate Research, VI.7:121, 1968.
- 10 - ANGYAL, S.J. et al. The Synthesis of Pinpollitol (1,4-Di-O-methyl-D-chiro-inositol). Anst. J. Chem., Vol.29:219-22, 1976.
- 11 - ANGYAL, S.J. Quart. Rev. London Rev. Vol. 11:212, 1957.
- 12 - RABINOWITZ, I.N. & KRAUT, J. X-ray analysis of inositols. Acta Crystallogr., Vol. 17:159, 1964.
- 13 - NAKAJIMA, M. et al. Synthese der Monomethyläther und Monoäthyläther der Inosite. Chem. Ber., Vol. 95:2708, 1962.
- 14 - L'CONNOR, S. et al. Apramycin, a Unique Aminocyclitol Antibiotic. J. Org. Chem. Vol. 41, Nº 12:2087, 1976.

APÊNDICE

Levantaram-se referências bibliográficas do Chemical Abstracts para destacar que o problema em questão e motivo da pesquisa é significativo e ainda não tratado por outros pesquisadores.

Chamam atenção os estudos efetuados na família Euphorbiaceae, que foram dirigidos na sua grande maioria para os alcalóides. Entretanto, é impossível atribuir a família determinada classe de alcalóides. É comum, isto sim, que os alcalóides identificados como pertencentes a família Euphorbiaceae pertençam a classes diferentes de alcalóides.

Nenhuma referência a estudos de ciclitóis, como o proposto neste trabalho consta na literatura, conforme mostra o levantamento a seguir relacionado, a partir de 1923.

- 1 - GENOT, C.L. Fats oils and waxes in current use in pharmacologiee. J. Pharm Belg., Vol. 5:73, 89, 1973. Apud C.A. 17:1861, 1923.
- 2 - BOEDECKER, F. - Therapeutically active constituents of oils, balsams, resins and extracts. V. S., Vol. 1:479, 1924. Apud C.A. 18:713, 1924.
- 3 - HENKEL, H. - Chronic skin irritation with aniline, benzidine and Croton oil. Centr. Allgem. Path., Vol. 34:553, 1924. Apud C. A. 18:713, 1924.
- 4 - DAVID, L. Quantitative examination of certain compound in croton seeds. Pharm. Ztg., Vol. 72:622, 1927. Apud C. A. 22:2238, 1928.
- 5 - BODE, H. G. The histology of sensitized Röntgen-treated skin. Strahlenthe-rapie, Vol. 40:515, 1931. Apud C. A. 24:4059, 1931.
- 6 - CHERBULIEZ, E. & BERNHARD, K. Croton seed I crotonoside - 2-hydroxy-6-amino-purine-d-ribose. Helv. Chem. Acta, Vol. 15:461, 1932. Apud C. A. 22:2967⁸, 1932.
- 7 - CHERBULIEZ, E. et al. Croton seed II, the vesicant principle. Helv Chem. Acta, Vol. 15:658, 1932. Apud C. A. 26:5779⁶, 1932.
- 8 - CHERBULIEZ, E. et al. Croton seed III. Helv. Chem. Acta, Vol. 15:855, 1932. Apud C. A. 26:5175⁶, 1932.

- 9 - PARK, O. W. - The rate at which honeybees ripentioneey. J. Econ Entomol.,
Vol. 26:188, 1933. Apud C. A. 27:431⁵, 1933.
- 10 - FREISE, F. W. Brazilian cascarilha. Pharm. Zentralhalle, Vol. 76:469, 1935.
Apud C. A. 29:7017², 1935.
- 11 - ADRIAENS, L. Croton tiglium. Chem. Zentr. Vol. I:3491, 1935. Apud C. A.
Vol. 29:7681⁷, 1936.
- 12 - BERENBLUM, I. et al. Tumor metabolism in the presence of anticarcinogenic
substances. Biochem. J. Vol. 30:709, 1936. Apud C.A. 30:5645⁷, 1936.
- 13 - PARKINSON, S. T. The microscopic examination of cattle foods. Some oil -
-containing seeds. J. South-Eastern, Vol. 36:9, 1935. Apud C. A. 28:6876³,
1936.
- 14 - SATO, I. The influence of Japanese and Chinese drugs on bile secretion in
rabbits. Mitt. Med. Tkad., Vol. 13:678, 1935. Apud C.A. 29:6738⁷, 1937.
- 15 - ZASSKI, N. I. The normal cholesterol content of the skin of rabbits. C.A.
Vol. 33:4656⁶, 1939.
- 16 - RANJAN, S. Photochemical action in plants - the respiration of intire
Pistia plants in light. J. Indian Botan. Soc., Vol. 19:30, 1940. Apud C.
A. 35:2929^{2,4,8}, 1941.
- 17 - ANANTAKRISHNAN, S. V. et al. Constituents of the seeds of Croton sparsilo
rus Morung. Proc. Indian Acad. Sci., Vol. 141:609, 1941. Apud C. A. 36:
5040³, 1942.
- 18 - HAAS, H.T.A. Influence of irritants on the histamine content of the skin.
Arch. Path. Pharmakol., Vol. 199:637, 1942. Apud C. A. 36:5561¹, 1942.
- 19 - GOVINDORAJAN, V. S. Iodine value of oils. Comparison of various methods,
J. Indian Chem. Soc. Vol. 142:197, 1940. Apud C. A. 36:4919², 1942.
- 20 - EASTER, S.S. Control of japonese bectles of second army posts. J. Econ.
Entamol., Vol. 40:632, 1947. Apud C.A. 42:1372d, 1948.
- 21 - ROARK, R.C. Promising insecticidal plants. Econ. Botany, Vol. 1: 437, 1947.
Apud C. A. 42:2721b, 1948.

- 22 - SHUBIK, P. The growth potentialities of induced skin tumors in mice. The effect of different methods of chemical carcinogenesis. Cancer Research Vol. 10:713, 1950. Apud C. A. 44: 3133i, 1950.
- 23 - ALLSOPP, C. B. Effects of ultraviolet radiation on 3,4-benzopyrene. Brit. J. Cancer, Vol. 5:273, 1951. Apud C. A. 40:6637⁷, 1952.
- 24 - DUUREN VAN, A. J. Extraction of poisonous substances from the seeds of *Croton tiglium*. Chronica Naturae, Vol. 106:466, 1950. Apud C.A.3217e, 1952. 46:
- 25 - COLLIER W. A. et al. The antibiotic action of leaves of plants in Surinam. Rev. Med. Vet. e Parasitol. Vol. 11:30, 1952. Apud C. A. 48:9452, 1954.
- 26 - CHERBULIEZ, E. et al. Investigation in croton oils. Bul. Galenica, Vol. 16:37, 1953. Apud C. A. 49:7191, 1955.
- 27 - KLEIN, M. Influence of croton oil on skin tumorigenesis in strain C₅₇ brown mice. Acad. Sci., Vol. 16:249. Apud C. A. 49:481f, 1955.
- 28 - KANDUTSCH, A. A. & BAUMANN, C. A. Skin sterols. Effect of carcinogens and of certain hyperplastic agents. Cancer Research, Vol. 15:128, 1955. Apud C. A. 49:162241, 1955.
- 29 - ILJIN, W. S. Sparsiflorus, amino acids in yellow infected leaves. Rev. Fac. Agr. Vol. 1:385, 1955. Apud C. A. 50:2908d, 1956.
- 30 - ROBERTS, R. H. et al. Croton oil cell-proliferation by oils. Science, Vol. 126:206, 1957. Apud C. A. 51:16736, 1957.
- 31 - BERENBLUM, I. et al. Ethyl carbamate irritation of skin cancer. Brit. J. Cancer, Vol. 11:85, Apud C.A. 51:14971, 1955.
- 32 - BRUEMMER, N. C. et al. Croton oil - effect of 3-aminopropionitrile and glycine incorporation into rat fouches. Soc. Exptl. Biol. Med. Vol. 96: 340, 1957. Apud C. A. 52:4012, 1958.
- 33 - ZASSHI, O. I. & SAITO, N. Croton effect on capillary permeability and granulopexy of skin. C.A. Vol. 53:375a, 1959
- 34 - ROE, F. J. C. Effect on neoplasm from 7, 12 dymethylbenz(a) entracene. Brit. J. Cancer, Vol. 13:87, 1959. Apud C. A. 53:15325c., 1959.

- 35 - RASKOVA, H. & VANECEK, J. Croton oil - effect on resistance to bacterial toxins. Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol., Vol. 238:84, 1960. Apud C. A. 54:17707f, 1960.
- 36 - DUTTA, J. & CHAKRABOSKY, H. C. Radioactive fallout in the Calcutta area I. Sci. Cult., Vol. 28:371, 1962. Apud C. A. 56:2106, 1962.
- 37 - ACHARYA, B, K. et al. The antibacterial of the alkaloid of Croton sparsi - florus Morung on some pathogenic organisms. J. Indian Med. Assoc., Vol. 43:592, 1964. Apud C. A. 62:10868g, 1965.
- 38 - HECKER, E. et al. Cocarcinogenic ingredients of croton oil. Fette, Seifen, Austrichmittel, Vol. 67:78, 1965. Apud C. A. 63:3310a, 1965.
- 39 - HAYNES, C. J. et al. Biosynthesis of crotonosine. Chem. Commun. Vol. 8:191, 1965.
- 40 - MORDAL, A. et al. The occurrence of phorbic acid in plants. Acta. Chem. Scand. Vol. 19:1705, 1965. Apud C. A. 64:5441c, 1966.
- 41 - HAYNES, L. J. & STUART, K. L. Isolation of alkaloids from Croton linearis and detection of alkaloids in Croton glabellus, Croton humilis and Croton flavens. J. Chem. Soc. Vol. 65:1784, 1963. Apud C. A. 58:1149d, 1963.
- 42 - HAYNES, L. J. & STUART, K. L. Structure determination of linearisine and crotonosine from Croton linearis. C. A. Vol. 58: 1789, 1963.
- 43 - PANDE, C. S. & TAWARI, J. D. Chemical examination of Croton sparsiflorus. J. Indian. Chem. Soc. Vol. 39:545, 1963. Apud C. A. 58:2106l, 1963.
- 44 - BURNELL, R. H. & DELLA CASA, D. Alkaloids from Croton turumiquirensis. Naturae. Vol. 203:4942, 1965. Apud C. A. 61:11010c, 1965.
- 45 - ARROYO, R. & HOLCOMB, J. Isolation, semisynthesis and structure elucidation of a pure cryst. highly active tumor-enhancing principle from the seed of Croton tiglium. J. Med. Chem. Vol. 8:672, 1965. Apud C. A. 63: 11386e, 1965.
- 46 - DUUREN, B. L. VAN & ORRIS, L. Carcinogens and seed of Croton tiglium. Cancer Res., Vol. 25:1871, 1965. Apud C. A. 64:2548a, 1966.

- 47 - CHAMBERS, C. et al. Norsinoecutine and salutaridine isolated from *Croton balsamifera*. Chem. Commun. Vol. 14:449, 1966. Apud C.A. 65:14093c, 1966.
- 48 - HAYNES, L. J. et al. Alkaloids from *Croton* species - III. The constitution of the proaporphines crotonosine, homolinarisine, base A and dihydroproaporphine linearisine. J. Chem. Soc., C. Org. Vol. 19:1676, 1966. Apud C. A. 65:11419d, 1966.
- 49 - HAYNES, L. J. et al. Alkaloids from *Croton* species-IV. The isolation of a new proaporphine alkaloid from *Croton linearis*. J. Chem. Soc., C. Org. Vol. 19:1680, 1966. Apud C. A. 65:17012h, 1966.
- 50 - SNATSKE, G. & WOLLENBER, G. Configuration of linearisine and circular dichroism of proaporphine-type alkaloids. J. Chem. Soc., C. Org. 19:1681, 1966. Apud C. A. 65:17013b, 1966.
- 51 - EVANS, F. J. & KINGHORN, A. D. Synthesis of glutarimides from *Croton humilis*. J. Chromatogr. Vol. 87:443, 1973. Apud C. A. 80:83572p, 1974.
- 52 - McNEILL, D. & STUART, K. L. Synthesis of 2- [N-(2-methyl-propanoic)-N-phenyl ethyl] glutarimide. Heterocycles. Vol. 1:43, 1973. Apud C. A. 80:83572p, 1974.
- 53 - STUART, K. L. & LASCELVE, G. Alkaloids from *Croton* species-XIV. Alkaloid biosynthesis in *Croton linearis*. Phytochemistry, Vol. 12: . 1967. Apud C. A. 29:89579x, 1973.
- 54 - HOPKINSON, J. M. et al. Lead level in plants. Naturwiss., Vol. 59:421, 1972. Apud C. A. 78:1969v, 1973.
- 55 - PERSINOS, G. J. Antiinflammation composition containing the apine or its acid salts. U.S. Patent, Vol. 3:694, 1973. Apud C. A. 78:7825p, 1973.
- 56 - AIYAR, V. N. & SESHARDI, T. R. Chemical composition of *Croton oblongifolius*. Curr. Sci., Vol. 41:839, 1972. Apud C. A. 78:69212g, 1973.
- 57 - MELO, C. F. M. D. et al. Tropical wood reforestation, cellulose and paper. Inst. Pesqui. Exp. Agropec. Norte Ser. Technol. Vol. 2:75, 1971. Apud C. A. 78:86148z, 1973.
- 58 - AIYAR, V. N. & SESHARDI, T. R. Chemical constituents of *Croton oblongifolius*. Phytochemistry. Vol 11:1473, 1972. Apud C. A. 77:19829p, 1972.

- 59 - STUART, K. L. et al. Isolation and synthesis of glutamine and glutarimide derivatives from *Croton humilis*. Tetrahedron, Vol. 29:4071, 1974. Apud C. A. 81:13772a, 1974.
- 60 - KINZEL, V. et al. Differential sensitivity of monolayer cells compared with suspension cell, cell cultures to treatment with high concentrations of croton oil factor (TPA) and the surfactants Tween 80 and Triton X-100. Biochem. Pharmacol., Vol. 22:3091, 1973, Apud C. A. 81:21708z, 1974.
- 61 - SUESS, R. & SCHUSTER, A. Tumor promoting croton oil factor tetradecanoyl-phorbol-acetate stimulates thymidine incorporation into normal and Con A stimulated lymphocytes. Experientia, Vol. 30:81, 1974. Apud C. A. 81:21722z, 1974.
- 62 - ZUCKER, M. B. & TROLL, W. Tumor promoter ester (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate), a potent aggregating agent for blood platelets. J. Cell. Biol., Vol. 60:325, 1974. Apud C. A. 81:21723a, 1974.
- 63 - SATISH, S. & BHAKUNI, D. S. Constituents of Indian and other plants. Phytochemistry, Vol. 11:2880, 1972. Apud C. A. 77:19829p, 1972.
- 64 - HENNINGS, H. & ELGJO, K. Hydrocortisone, inhibition of DNA synthesis and mitotic rate after local applications to mouse epidermis. Virchows Arch., B, Vol. 8:42, 1971. Apud C. A. 82:39807g, 1975.
- 65 - VERMA, A. K. & MURRAY, A. W. Croton oil AMF skin. Cancer Res. Vol. 34:3408, 1974. Apud C. A. 82:39807g, 1975.
- 66 - VILLALOBOS, J. et al. Acetylcholine and histamine in plants. Cience. Cult., Vol. 26:690, 1974. Apud C. A. 82:82935p, 1975.
- 67 - BHAKNI, S. et al. Biosynthesis of crotosparine, Crotosparimine and Sparsiflorine. Phytochemistry, Vol. 13:2767, 1974. Apud C. A. 82:82935p, 1975.
- 68 - STUART, K. L. & WOO-MING, R. B. Vomifoliol in *Croton Palicourea* species. Phytochemistry, Vol. 14:594, 1975. Apud C. A. 82:149898z, 1975.
- 69 - LIMA, D. P. et al. Antimicrobial substances from higher plants. XLIII. Rev. Inst. Antibiol. Univ. Fed. Pernambuco, Vol. 13:31, 1973. Apud C. A. 82:152174c, 1975.