

NOVAS *N*-BENZOILTIRAMINAS DE *Swinglea glutinosa* (Rutaceae)<sup>#</sup>

Cristovam do Nascimento Cerqueira, Djalma A. P. dos Santos, Karla da Silva Malaquias, Murilo Marinho de Castro Lima, Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva\*, João Batista Fernandes e Paulo Cezar Vieira

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, CP 676, 13560-970 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 30/4/12; aceite em 17/9/12; publicado na web em 26/10/12

NOVELS *N*-BENZOYLTYRAMINES OF *Swinglea glutinosa* (Rutaceae). Phytochemical studies of the leaves and fruits have led to the identification of the known amides (*E*)-*N*-methyl-cinnamamide, *N*-benzoyltyramine, *N*-benzoyl-*O*-geranyltyramine, *N*-benzoyl-*O*-(4-acetoxyl)-geranyltyramine, in addition to the new *N*-{2-[4-(butoxyl-3-one)phenyl]ethyl}benzamide, *N*-{2-[4-(2,3-dihydroxy-2-methyl-butoxylanal)phenyl]ethyl}benzamide, *N*-{2-[4-(2,3-dihydroxy-2-methyl-butoxyl-6,7-epoxy)phenyl]ethyl}benzamide, *N*-benzoyl-*O*-(4-acetoxyl-6,7-epoxy)-geranyltyramine, *N*-benzoyl-*O*-(4-acetoxyl-6,7-dihydroxy)-geranyltyramine and *N*-benzoyl-*O*-(6-acetoxyl-4,7-dihydroxy)-geranyltyramine. The isolated compounds clearly point to *Swinglea* phytochemical affinities with other Aurantioideae species.

Keywords: *Swinglea glutinosa*; *N*-benzoyltyramine; chemosystematics.

## INTRODUÇÃO

*Swinglea glutinosa* Merr., gênero monotípico, é uma planta arbustiva originária da Ásia, muito utilizada como ornamental na forma de cercas vivas e como quebra ventos em plantações.<sup>1</sup> Como toda planta pertencente à família Rutaceae, é caracterizada por alcaloides acridônicos, cumarinas e amidas.<sup>1-3</sup> Segundo o sistema de classificação de Engler (1931) o gênero *Swinglea* encontra-se classificado na subfamília Aurantioideae, tribo Citreae, subtribo, Balsamocitrinae.<sup>4</sup> Esta subfamília é considerada de caráter natural pelos vários sistemas de classificação, ou seja, sua constituição em tribos, subtribos e gêneros não tem sido questionada.<sup>5</sup> Um levantamento da literatura mostrou que as folhas de *S. glutinosa* ainda não tinham sido estudadas, assim, visando contribuir para a homogeneidade sistemática da subfamília Aurantioideae, estas foram coletadas e estudos fitoquímicos foram realizados. Este trabalho relata o primeiro estudo químico das folhas de *S. glutinosa*, o qual levou à identificação de cinco amidas (1-5), sendo três novas (3-5). Os frutos de *S. glutinosa* já foram estudados por outros grupos fora do Brasil. Contudo, no trabalho atual a análise de algumas frações por RMN <sup>1</sup>H mostrou a presença de amidas não isoladas anteriormente, assim, estas frações foram reestudadas e levaram ao isolamento de outras cinco amidas (6-10), sendo três novas (8-10) e uma citada como natural pela primeira vez (6).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C (uni e bidimensionais) foram obtidos em espectrômetro Bruker DRX 400 MHz, utilizando-se CDCl<sub>3</sub> e CD<sub>3</sub>OD como solventes e TMS como padrão interno. As separações cromatográficas foram realizadas em colunas utilizando-se gel de sílica 60, 70-230, 230-400 mesh e Sephadex LH-20. Separações feitas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas no aparelho SCL10A *vp* Shimadzu, com válvula de injeção Rheodyne 7725i, bomba LC 6AD Shimadzu e detector de ultravioleta modelo SPD 10AV *vp* Shimadzu em dois comprimentos de onda simultaneamente,

365 e 254 nm. O modo de separação foi normal, eluição isocrática utilizando coluna propil-diol (10 μm; 30,0 x 0,78 mm) e mistura de etanol e hexano como fase móvel. As análises por cromatografia gasosa foram obtidas no aparelho Shimadzu QP 5000. O espectrômetro de massas foi operado no modo SIM (monitoramento seletivo de íons) com impacto de elétrons (70 eV). A separação cromatográfica foi realizada através de coluna ATM-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), utilizando-se hélio como gás de arraste. O injetor foi operado a 280 °C, no modo *split*, razão 1:30. A programação do forno foi a seguinte: temperatura inicial de 200 °C (4 min), seguido de aumento de 10 °C/min até 280 °C (10 min). As análises por espectrometria de massas foram realizadas no equipamento Applied Bio System MS (triplo quadrupolo) equipado com fonte ESI/APCI, modelo Agilent 1200, no modo positivo de ionização. As análises por espectrometria de massas de alta resolução foram realizadas no equipamento Bruker Daltonics, Billerica, modelo UltraTOF<sub>Q</sub>-ESI-TOF no modo positivo de ionização.

### Material vegetal

As folhas e frutos de *S. glutinosa* foram coletadas no Instituto Agrônomo de Campinas, Fazenda Santa Elisa, Campinas, SP, Brasil. A planta foi identificada pela Prof. Dra. M. I. Salgado e a exsiccata da espécie encontra-se depositada no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos (HUUFSCar) sob o número 7110.

### Preparação dos extratos

As folhas secas e moídas de *S. glutinosa* foram submetidas à extração com etanol, sob agito contínuo com o aparelho Ika Ultra Turrax (T 25) por 5 min, 13.000 rpm e concentrados sob vácuo em rotaevaporadores a 35 °C. O extrato etanólico obtido foi congelado em nitrogênio líquido e, em seguida, liofilizado para remoção dos traços de água, rendendo 90 g de extrato. O extrato etanólico, em seguida, foi submetido a uma partição líquido-líquido, sendo suspenso em uma solução hidroalcoólica de água destilada e metanol 25% (v/v) e vertido em funil de separação de 1 L. A partição foi realizada em ordem crescente de polaridade, utilizando hexano, acetato de etila e *n*-butanol, levando a três extratos após serem concentrados sob vácuo em rotaevaporadores a 35 °C.

\*e-mail: dmfs@ufscar.br

<sup>#</sup>Artigo em homenagem ao Prof. Otto R. Gottlieb (31/8/1920-19/6/2011)

Os frutos frescos de *S. glutinosa* foram cortados em pedaços pequenos e submetidos à maceração com metanol, à temperatura ambiente, por 3 dias. Após este período o solvente foi concentrado sob vácuo em rotaevaporador a 35 °C, obtendo-se 27,9 g de extrato. Análise deste extrato em cromatoplasas de sílica gel (CCD) mostrou resolução diferente em diclorometano e acetato de etila. Com isto, este foi submetido a uma partição líquido-líquido como acima, utilizando diclorometano e acetato de etila, levando a dois extratos após serem concentrados sob vácuo em rotaevaporadores a 35 °C. A análise destes por RMN <sup>1</sup>H (200 MHz) mostrou que eram similares quanto aos compostos de interesse quimiosistemático, sendo reunidos em um único, o qual foi estudado posteriormente.

### Isolamento dos constituintes químicos de *S. glutinosa*

Inicialmente, a fração hexânica (5,0 g) obtida das folhas foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 45,0 x 4,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: hexano 100%, hexano/diclorometano 50%, diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 50%, acetato de etila 100%, acetato de etila/acetona 50%, acetona 100%, metanol 100%, obtendo-se 17 frações. A fração 11 (597,0 mg) foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 45,0 x 4,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 0 - 100%, acetato de etila/acetona 0 - 100%, acetona/metanol 0 - 100%, obtendo-se a substância **3** (23,3 mg).

A fração 8 (334,0 mg) foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 45,0 x 4,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 0 - 100%, acetato de etila/acetona 0 - 100%, acetona/metanol 0 - 100%, fornecendo outras subfrações. A subfração 8-2 foi purificada em CLAE, coluna Propil-diol, vazão de 2,5 mL min<sup>-1</sup>, injeção de 200 μL, concentração de 20 mg mL<sup>-1</sup>, sistema isocrático de eluição: hexano/etanol 9:1 (v/v), obtendo-se a substância **2** (3,6 mg).

A fração 3 (126,0 mg) foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 45,0 x 4,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 0 - 100%, acetato de etila/acetona 0 - 100%, acetona/metanol 0 - 100%, obtendo-se a friedelina (7,3 mg).

A fração 4 (305,7 mg) foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 45,0 x 4,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 0 - 100%, acetato de etila/acetona 0 - 100%, acetona/metanol 0 - 100%, obtendo-se o 3α-hidroxi-7-metoxiflavanona (56,1 mg).

A fração 6 (2,122 g) foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 45,0 x 4,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: hexano/diclorometano 0 - 100%, diclorometano/acetato de etila 0 - 100%, acetato de etila/acetona 0 - 100%, acetona/metanol 0 - 100%, obtendo-se a mistura dos esteroides sitosterol e estigmasterol (identificados por CG-EM) e mais 8 subfrações. A subfração 6-3 (151,3 mg) foi fracionada em coluna cromatográfica, usando Sephadex LH-20, e eluída em sistema isocrático com metanol 100%, obtendo-se mais três subfrações. A subfração 6-3-3 (3,7 mg) foi purificada em CLAE, usando coluna Propil-diol, vazão de 2,5 mL min<sup>-1</sup>, injeção de 200 μL, concentração de 6,3 mg mL<sup>-1</sup>, sistema isocrático de eluição: hexano/etanol 9:1 (v/v), obtendo-se a substância **1** (1,6 mg) e 5-hidroxi-7-metoxiflavanona (pinostrobin) (1,7 mg).

O extrato acetato de etila mostrou perfil químico em RMN <sup>1</sup>H muito similar ao hexânico e, por isto, não foi trabalhado. O extrato n-butanol mostrou a presença de açúcares, os quais não eram de interesse quimiosistemático, assim este também não foi estudado.

Inicialmente a fração diclorometano/acetato de etila obtida (42 g)

dos frutos foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 50,0 x 5,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: hexano 100%, hexano/diclorometano 50%, diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 50%, acetato de etila 100%, acetato de etila/metanol 50%, metanol 100%, obtendo-se 9 frações.

A fração 2 foi submetida à cromatografia por adsorção em coluna de vidro (φ x h = 3 x 45 cm), utilizando como fase estacionária gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema isocrático hexano/diclorometano 4:1, que levou a 2 subfrações obtidas após reunião daquelas que mostraram R<sub>f</sub> similares em cromatoplasas de sílica gel (CCD). A subfração 2-1 foi recromatografada como acima, usando-se hexano/acetona 3:1, fornecendo a substância **6** (12 mg). A subfração 2-2 foi novamente submetida à cromatografia como acima e posteriormente via CLAE semipreparativa. Foi utilizada uma coluna C-18 Phenomenex<sup>®</sup> Luna (250 x 4,6 mm d.i.; 10 μm) e eluição com MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (7:3), fornecendo as substâncias **7** (8 mg) e **8** (5,9 mg). A fração 3 foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 50,0 x 5,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: hexano 100%, hexano/diclorometano 50%, diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 50%, acetato de etila 100%, acetato de etila/metanol 50%, metanol 100%, obtendo-se 3 subfrações. A subfração 3-2 foi submetida à cromatografia via CLAE semipreparativa, utilizando-se uma coluna C-18 Phenomenex<sup>®</sup> Luna (250 x 4,6 mm d.i.; 10 μm) e eluição com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, fornecendo as substâncias **9** (13 mg) e **10** (9,2 mg). A fração 4 foi submetida à cromatografia em coluna (h x Φ = 50,0 x 5,0 cm) de gel de sílica (230-400 mesh) e eluída em sistema gradiente de polaridade: diclorometano 100%, diclorometano/acetato de etila 50%, acetato de etila 100%, acetato de etila/metanol 50%, metanol 100%, obtendo-se a substância **2** (5 mg).

Os extratos estudados apresentaram melhores resoluções, nos diferentes tipos de cromatografia citados acima, quando foi utilizado o eluente diclorometano. Contudo, os autores atualmente evitam o uso deste solvente devido aos seus problemas à saúde humana e ao meio ambiente.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo fitoquímico dos extratos das folhas de *S. glutinosa* levou ao isolamento do flavonoide 5-hidroxi-7-metoxiflavanona (pinostrobin), dos triterpenos 3α-hidroxi-glutin-5-eno e friedelina e das amidas (*E*)-*N*-metil-cinamamida [(*E*)-*N*-metil-fenilacrilamida] (**1**) e *N*-benzoiltiramina (**2**), os quais são conhecidos na literatura.<sup>2,6-9</sup> Uma interessante benzoiltiramina inédita, contendo um *nor*-preniloxil substituinte, também foi obtida neste estudo (**3**) (Figura 1).

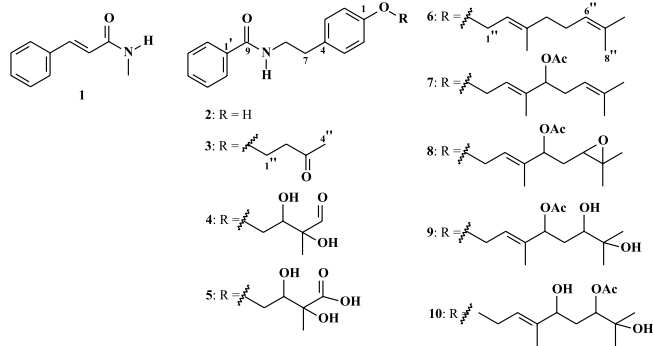


Figura 1. Amidas isoladas de *S. glutinosa*

A substância **1** foi isolada como um sólido branco amorfo e no espectro de RMN <sup>1</sup>H foram observados dois sinais em δ 7,36 (3H, m) e 7,54 (2H, dd, J = 8,4 e 2,0 Hz), típicos de sistema aromático

monossustituído com livre rotação, sendo estes sinais referentes aos 2H-*meta*, H-*para* e 2H-*orto*, respectivamente. Além desses sinais, foi observada a presença de dois dubletos em  $\delta$  7,51 (1H, *d*,  $J = 16,0$  Hz) e 6,57 (1H, *d*,  $J = 16,0$  Hz), referentes a hidrogênios olefínicos em relação *trans*. O sinal em  $\delta$  7,51 sugeriu uma ligação dupla conjugada à carboxila, característica de derivados do ácido cinâmico, permitindo atribuir os sinais acima:  $\delta$  7,36 (H-6,7,8), 7,54 (H-5,9), 7,51 (H-3) e 6,57 (H-2). Constatou-se também um sinal em  $\delta$  2,84 (3H, *s*) referente a uma metila ligada a heteroátomo. Dados de EM forneceram o pico do pseudoíon molecular  $m/z$  de 162  $[M+1]^+$ , compatível com a fórmula molecular  $C_{10}H_{11}NO$ , permitindo a identificação da amida (*E*)-*N*-metil-cinamamida (**1**). Esta amida foi isolada anteriormente nas folhas de *Clausena lansium*.<sup>8</sup>

A substância **2** foi isolada como um sólido branco amorfo e no espectro de RMN <sup>1</sup>H foram observados dois dubletos integrando para dois hidrogênios cada em  $\delta$  7,10 (2H, *d*,  $J = 8,5$  Hz) e 6,60 (2H, *d*,  $J = 8,5$  Hz), com acoplamento *orto* característicos de anel aromático *para*-dissustituído, e foram atribuídos aos H-2/6 e H-3/5, respectivamente. Os sinais em  $\delta$  7,68 (2H, *d*,  $J = 6,8$  Hz), 7,48 (1H, *m*) e 7,40 (2H, *d*,  $J = 7,4$  Hz) sugeriram a presença de um segundo anel aromático, porém, monossustituído, permitindo atribuir estes sinais, respectivamente, aos H-2'/6', H-4' e H-3'/5'. O espectro de RMN <sup>1</sup>H ainda mostrou um tripleto, integrando para dois hidrogênios em  $\delta$  2,87 (2H, *t*,  $J = 6,8$  Hz), e um quadrupletto integrando para dois hidrogênios, em  $\delta$  3,69 (2H, *q*,  $J = 6,8$  Hz). O espectro de massas obtido por CG-EM mostrou o pico do íon molecular  $m/z$  241 (Figura 2) e os fragmentos em  $m/z$  134 ( $C_8H_8NO$ ), e 105 ( $C_7H_5O$ ), sugerindo a presença de uma unidade benzamida e permitindo propor a fórmula molecular  $C_{15}H_{15}NO_2$ . O espectro de RMN <sup>1</sup>H também mostrou dois singletos largos em  $\delta$  6,10 (1H, *sl*) e 5,00 (1H, *sl*), os quais foram atribuídos a N-H e O-H, respectivamente, permitindo posicionar esta hidroxila em um anel fenila. Na posição *para* a esta hidroxila foi posicionado um grupo etila, ao qual foram associados os sinais

em  $\delta$  2,87 e 3,69 discutidos acima. Assim, a substância **2** foi definida como a *N*-benzoiltiramina (**2**), a qual foi isolada anteriormente dos frutos de *Limonia acidissima*.<sup>2,9</sup>

A substância **3** foi isolada como um sólido branco amorfo e nos espectros de RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C mostrou um padrão de sinais semelhantes à amida **2**, sugerindo tratar-se de um derivado com o núcleo *N*-benzoiltiramida. Entretanto, o espectro de RMN <sup>1</sup>H (Tabela 1) também mostrou dois tripletos em  $\delta$  4,22 (*t*,  $J = 6,3$  Hz) e 2,91 (*t*,  $J = 6,3$  Hz), os quais acoplavam entre si e no HSQC correlacionaram com os sinais em  $\delta$  62,9 e 42,6, respectivamente. No experimento de HMBC o sinal em  $\delta$  4,22 mostrou correlação com o sinal em  $\delta$  157,2. Este sinal  $\delta$  157,2 foi atribuído ao C-1 do núcleo *N*-benzoiltiramina, indicando um grupo etoxila nesta posição. No espectro de RMN <sup>1</sup>H foi observado um singletto típico de metila em  $\delta$  2,24 (3H, *s*). No experimento de HMBC este sinal de metila e os dois referentes a dois metilenos em  $\delta$  4,22 e 2,91 mostraram correlação com um sinal em  $\delta$  206,4 característico de carbonila, sugerindo como substituinte em C-1 um grupo butoxil-3-ona. A análise da substância **3** em CG-EM mostrou o pico do íon molecular em  $m/z$  311 e fragmentos em  $m/z$  296 indicando perda de metila,  $m/z$  268, o qual sugere perda de MeCO, e outro em  $m/z$  240, o qual indica perda da cadeia ( $C_4H_7O$ ;  $m/z$  311-71) ligada ao oxigênio de C-1 (Figura 2), confirmando o substituinte em C-1 como o grupo butoxil-3-ona. O seu espectro de massas de alta resolução forneceu o pseudoíon molecular  $[M+H]^+$  312,1593, calculado para  $C_{19}H_{21}NO_3$ . Portanto, a substância **3** pode ser definida como *N*-{2-[4-(butoxil-3-ona)fenil]etil}benzamida, a qual segundo levantamento na literatura é inédita.

Biogeneticamente, a substância **3** pode ser formada a partir da **2** *O*-prenilada, com posterior formação de epóxido entre C-2'' e C-3'', e abertura deste levando ao diol. A metila da unidade prenila poderia ter sido oxidada a aldeído e, posteriormente, a ácido carboxílico e, em seguida, sofrer uma eliminação descarboxilativa com simultânea eliminação de água (Figura 3).

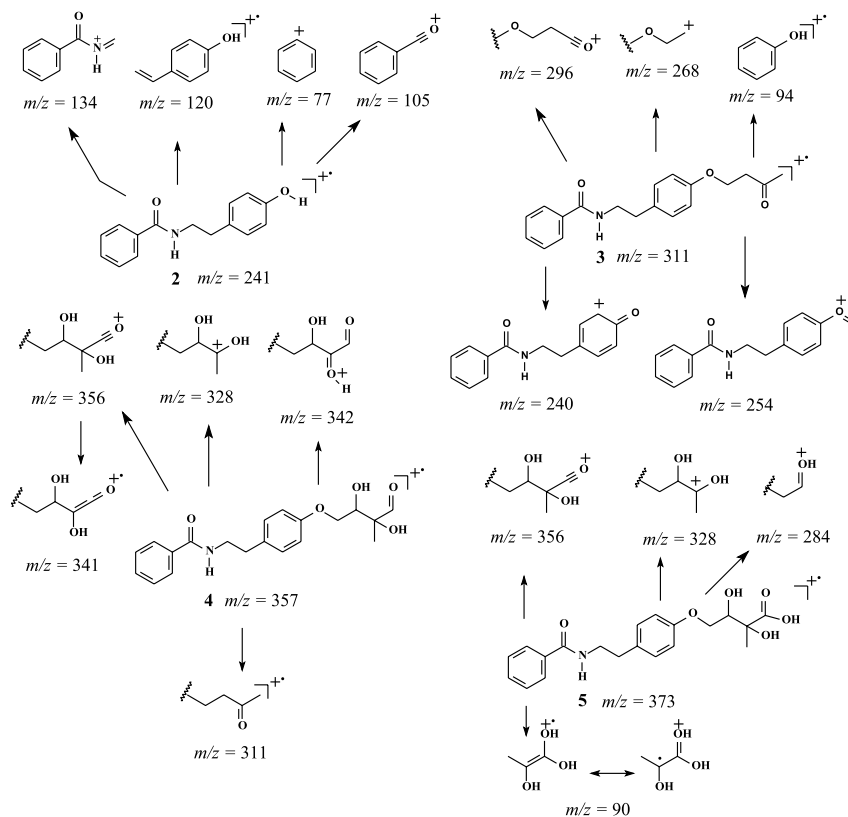
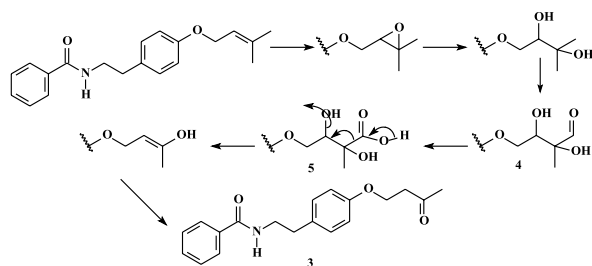


Figura 2. Proposta de fragmentação para os compostos 2-5 com base nos dados de CG/EM

**Tabela 1.** Dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  das amidas **3**, **8-10**

H/C		<b>3</b>		<b>8</b>		<b>9</b>		<b>10</b>
1	-	157,2	-	156,9		157,6		157,2
2	7,14 (d, 8,5)	114,7	6,83 (d, 8,4)	114,5	6,87 (d, 8,4)	114,9	6,87 (d, 7,3)	114,9
3	6,87 (d, 8,5)	129,7	7,12 (d, 8,2)	129,4	7,16 (d, 8,4)	129,7	7,15 (d, 7,8)	129,8
4	-	131,2		128,1		130,7		130,9
5	6,87 (d, 8,5)	129,7	7,12 (d, 8,2)	129,4	7,16 (d, 8,4)	129,7	7,15 (d, 7,8)	129,8
6	7,14 (d, 8,5)	114,7	6,83 (d, 8,4)	114,5	6,87 (d, 8,4)	114,9	6,87 (d, 7,3)	114,9
7	2,87 (t, 6,9)	34,7	2,84 (t, 6,8)	34,4	2,87 (t, 6,8)	34,7	2,87 (t, 6,3)	34,7
8	3,68 (q, 6,9)	41,2	3,62 (q, 6,2)	41,2	3,69 (q, 6,6)	41,2	3,68 (q, 6,0)	41,1
9	-	167,7		167,3		167,5		167,4
1'	-	134,6		134,3		134,4		134,4
2'	7,67 (d, 7,2)	126,7	7,72 (d, 7,2)	126,7	7,70 (d, 7,0)	126,8	7,70 (d, 7,3)	126,7
3'	7,37 (d, 7,2)	128,5	7,38 (m)	128,1	7,41 (m)	128,4	7,42 (m)	128,4
4'	7,46 (m)	131,3	7,45 (m)	131,0	7,48 (m)	131,7	7,48 (m)	131,3
5'	7,37 (d, 7,2)	128,5	7,38 (m)	128,1	7,41 (m)	128,4	7,42 (m)	128,4
6'	7,67 (d, 7,2)	126,7	7,72 (d, 7,2)	126,6	7,70 (d, 7,0)	126,8	7,70 (d, 7,0)	126,7
1''	4,22 (t, 6,3)	62,9	4,55 (d, 6,0)	64,0	4,56 (d, 6,2)	64,3	4,56 (d, 5,8)	64,2
2''	2,91 (t, 6,3)	42,6	5,77 (t, 5,8)	122,7	5,79 (t, 5,5)	122,2	5,77 (m)	120,4
3''	-	206,4		136,7		138,1		141,6
3''-Me			1,74 (s)	12,7	1,76 (s)	13,3	1,74 (s)	12,7
4''	2,24 (s)	30,5	5,36 (t, 6,4)	75,3	5,44 (d, 10,1)	75,3	3,97 (d, 9,8)	73,8
5''			1,91 (m)	32,2		35,5	1,8 (m)	35,6
6''			2,71 (t, 6,0)	60,4	3,33 (d, 10,4)	73,4	4,99 (d, 9,9)	77,2
7''			-	57,6		72,4		71,8
8''			1,25 (s)	18,5	1,16 (s)	23,5	1,22 (s)	25,7
7''-Me			1,26 (s)	24,2	1,23 (s)	26,1	1,22 (s)	25,7
COMe			2,06 (s)	20,8	2,11 (s)	21,1	2,14 (s)	20,9
COMe				169,8		171,3		171,8
N-H	6,09 (sl)							

Dados em parênteses correspondem às multiplicidades e valores de  $J$  em Hz. Atribuições realizadas baseando-se em experimentos HSQC e HMBC.

**Figura 3.** Proposta biogenética para a amida **3**

Considerando esta possibilidade, os intermediários aldeído e ácido carboxílico poderiam estar presentes nos extratos das folhas estudadas. Na tentativa de reforçar esta proposta, estes intermediários foram avaliados usando-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas no modo de análise por monitoramento seletivo de íons (CG/EM-MSI). Foram utilizadas as amidas **2** e **3** como padrão de fragmentação, as quais levaram aos íons  $m/z$  77, 105, 120, 134, 254, 311, os quais caracterizam bem o esqueleto *N*-benzoiltiramina e o substituinte prenioxil em C-1 (Figura 2). Para a detecção dos possíveis intermediários foram analisadas as frações anterior (FH-10) e posterior (F-12) àquela (F-11) de onde foi isolado a amida **3**. A

fração hexânica (FH-10) não havia sido estudada por conter pequena quantidade em massa. Contudo, em análise por CG/EM-MSI mostrou a presença dos íons selecionados em um dos seus picos cromatográficos, o qual levou a um EM (Figura 7S, material suplementar) cujos fragmentos (Figura 2) permitiram propor a estrutura da amida *N*-[2-[4-(2,3-di-hidroxi-2-metil-butoxilanal)fenil]etil]benzamida (**4**). O íon molecular  $m/z$  357 confirmou a massa esperada para a amida **4** e o fragmento  $m/z$  356 [M-1] reforçou a presença da função aldeído na cadeia lateral, pois em substâncias com esta função é comum perder hidrogênio radicalar, resultando em um fragmento [M-1].

A fração FH-12 também não havia sido estudada por conter pequena quantidade em massa, contudo, em análise por CG/EM-MSI mostrou a presença dos íons selecionados em um dos seus picos cromatográficos, o qual levou a um EM (Figura 8S, material suplementar) cujos fragmentos (Figura 2) permitiram propor a estrutura da amida *N*-[2-[4-(2,3-di-hidroxi-2-metil-butoxi)fenil]etil]benzamida (**5**). O íon molecular  $m/z$  373 (Figura 2) confirmou a massa esperada para a amida **5** e o pico  $m/z$  90, formado através de um rearranjo McLafferty, forneceu a base para se propor a presença da amida **5** com a carboxila na cadeia lateral.

O estudo fitoquímico dos extratos dos frutos de *S. glutinosa* levou ao isolamento da amida *N*-benzoiltiramina (**2**) e mais cinco (**6-10**)



derivados de **2** com substituintes geraniloxilas em C-1 (Figura 1). O composto **6** mostrou dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  similares à substância **2** e mais três singletos em  $\delta$  1,72, 1,67 e 1,60 referentes a metilas vinílicas, dois multipletos característicos de hidrogênios olefínicos em  $\delta$  5,48 e 5,09, um multipletto integrando para quatro hidrogênios em  $\delta$  2,09 e um dubleto em  $\delta$  4,52 (2H, *d*, *J* = 6,5 Hz). No experimento de HMBC o sinal em  $\delta_{\text{H}}$  4,52, atribuído aos 2H-1'', mostrou correlação com os sinais de  $^{13}\text{C}$  em  $\delta_{\text{C}}$  157,6; 119,5 e 123,8, atribuídos ao C-1, C-2'' e C-3'', respectivamente. O sinal de metila em  $\delta_{\text{H}}$  1,67, atribuído a 3''-Me, estava correlacionado com os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  119,5 e 123,8, atribuídos aos C-2'' e C-3'', respectivamente. O HMBC também mostrou correlações de dois sinais de metila em  $\delta_{\text{H}}$  1,67 e 1,60, atribuídos às 7''-Me e Me-8'', com os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  141,2 e 131,4, atribuídos aos C-6'' e C-7'', respectivamente. Estas correlações permitiram atribuir estes sinais a um grupo O-geranila ligado em C-1. O derivado **6** foi definido como a amida *N*-benzoil-*O*-geraniltiramina, a qual foi citada na literatura como tendo sido preparada a partir de **2**,<sup>10</sup> portanto esta é a primeira vez que esta substância é citada como natural.

A substância **7** mostrou dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  similares à substância **6** e mais um singletto intenso em  $\delta$  2,03, característico de metila de um grupo acetila, e um tripleto em  $\delta$  5,13 (*J* = 6,9 Hz) referente a um hidrogênio acetilcarbinólico. As correlações observadas no HMBC permitiram posicionar a acetoxila no grupo geranila em C-4'' ( $\delta_{\text{H}}$  5,13, H-4''  $\rightarrow$   $\delta_{\text{C}}$  122,8, C-2'', 137,4 C-3'' e 118,8, C-6''). Assim, esta amida foi identificada como *N*-benzoil-*O*-(4-acetoxil)-geraniltiramina, isolada anteriormente também dos frutos desta mesma espécie.<sup>10</sup>

Os outros três derivados (**8-10**) apresentaram dados espectrais muito semelhantes às amidas epóxido-acidissiminol e di-hidroxi-acidissiminol, isoladas anteriormente dos frutos de *Limonia acidissima*.<sup>9</sup> A substância **8** mostrou dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  similares aos da amida epóxido-acidissiminol, porém o sinal do hidrogênio carbinólico se encontrava desblindado em  $\delta$  5,36 (*t*, *J* = 6,4 Hz), sugerindo a presença de um grupo acetila, o qual foi confirmado analisando-se o sinal de um singletto intenso em  $\delta$  2,06 (3H) e de uma carboxila no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$  169,8). O HMBC mostrou o sinal desblindado em  $\delta$  5,36, atribuído ao H-4'', correlacionado aos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  122,7; 136,7 e 60,4, atribuídos aos C-2'', C-3'' e C-6'', respectivamente, permitindo identificar a substância **8** como *N*-benzoil-*O*-(4-acetoxil-6,7-epóxi)-geraniltiramina.

A substância **9** mostrou o sinal de um dos hidrogênios carbinólicos desblindado em  $\delta$  5,44 (*d*, *J* = 10,1 Hz), sugerindo a presença de um grupo acetoxila. Este sinal, atribuído ao H-4'', no HMBC estava correlacionado aos sinais em  $\delta_{\text{C}}$  122,2; 138,1 e 171,3, atribuídos aos C-2'', C-3'' e a uma carboxila, respectivamente. Estas correlações mostraram a presença de uma acetoxila, permitiu posicionar a acetoxila em C-4'' e, assim, identificar a substância **9** como *N*-benzoil-*O*-(4-acetoxil-6,7-di-hidroxi)-geraniltiramina.

A substância **10** mostrou características espectrais similares às de **9**, contudo, nos experimentos de HMBC o sinal de hidrogênio carbinólico desblindado em  $\delta$  4,99 estava correlacionado com os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  71,8 (carbono quaternário, sem correlação no HSQC) e 171,8, enquanto o mais blindado em  $\delta_{\text{H}}$  3,97 se correlacionava com os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  120,4 e 141,6, atribuídos aos C-2'' e C-3'', respectivamente. Estas correlações permitiram posicionar a hidroxila

em C-4'' e a acetoxila em C-6'', definindo a substância **10** como *N*-benzoil-*O*-(6-acetoxil-4,7-diidroxi)-geraniltiramina.

As amidas **7-10** foram obtidas do extrato metanólico dos frutos após partição com acetato de etila, levando à incerteza se elas seriam naturais ou produtos de reação com o solvente durante o processo de partição. Mesmo considerando que a reação de *O*-acetilação tenha sido eficiente, traços dos compostos com a hidroxila correspondente livre teriam sido isolados. Assim, as amidas **8-10** são inéditas e acredita-se serem naturais.

A co-ocorrência de *N*-benzoiltiraminas em *Swinglea* e *Limonia* (sin. *Feronia*) mostra a afinidade química entre estes gêneros e confirma a homogeneidade sistemática da subfamília Aurantioideae, pois ambos pertencem a esta subfamília e à mesma tribo Balsamocitrinae. *Swinglea* também mostra afinidade química com *Clausena lansium*, gênero da mesma subfamília, mas de outra tribo, Clauseninae, pois ambos compartilham a amida (*E*)-*N*-metil-cinamamida (**1**).<sup>8</sup> A literatura cita a presença de vários alcaloides acridônicos em *Swinglea*,<sup>11,12</sup> os quais também são encontrados em gêneros de Aurantioideae, ou seja, concordando com a homogeneidade da subfamília.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , experimentos de HSQC e HMBC e EM para a substância **3**, e EM para **4** e **5** encontram-se disponíveis em <http://quimicanova.s bq.br>, em arquivos PDF, com acesso livre.

## AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq (INCT, 573742/2008-1) e FAPESP (INCT, 08/57859-5) pelas bolsas e apoios financeiros concedidos.

## REFERÊNCIAS

- Weniger, B.; Um, B.-H.; Valentin, A.; Estrada, A.; Lobstein, A.; Anton, R.; Maillé, M.; Sauvain, M.; *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1221.
- Gosh, P.; Sil, P.; Das, S.; Thakur, S.; *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 1389.
- Purcaro, R.; Schrader, K. K.; Burandt, C.; DellaGreca, M.; Meepagala, K. M.; *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 10632.
- Engler, H. G. A. Em *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*; Engler, H. G. A.; Prantl, K., eds.; Wilhelm Engelmann: Leipzig, 1931, 2 ed., vol. 19a, p. 187-359.
- Silva, M. F. das G. F. da; Gottlieb, O. R.; Ehrendorfer, F.; *Plant Syst. Evol.* **1988**, *161*, 97.
- Vasconcelos, J. M. J.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1421.
- González, A. G.; Ferro, E. A.; Ravelo, A. G.; *Phytochemistry* **1987**, *26*, 2785.
- Li, S.-H.; Wu, S.-L.; Li, W.-S.; *Chin. Pharm. J.* **1996**, *46*, 367.
- Ghosh, P.; Ghosh, M. K.; Thakur, S.; Dan, J.; Akihisa, T.; Tamura, T.; Kimura, Y.; *Phytochemistry* **1994**, *37*, 757.
- Dreyer, D. L.; *Tetrahedron* **1970**, *26*, 5745.
- Santos, D. A. P.; Vieira, P. C.; Silva, M. F. das G. F. da; Fernandes, J. B.; Rattray, L.; Croft, S.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 644.
- Severino, R. P.; Guido, R. V. C.; Marques, E. F.; Brömme, D.; Silva, M. F. das G. F. da; Fernandes, J. B.; Adricopulo, A. D.; Vieira, P. C.; *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 1477.