



FELIPE RIBEIRO SAMPAIO

**SÍNTESE DE BIOMARCADORES 3-n-PROPILERGOSTÂNICOS.
COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL DOS ÁCIDOS 3-n-PROPILERGOSTANÓICOS EM
ÓLEOS DA BACIA DE CAMPOS.**

CAMPINAS

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

FELIPE RIBEIRO SAMPAIO

**SÍNTESE DE BIOMARCADORES 3-n-PROPILERGOSTÂNICOS.
COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL DOS ÁCIDOS 3-n-PROPILERGOSTANÓICOS EM
ÓLEOS DA BACIA DE CAMPOS.**

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO DE ASSIS MACHADO REIS

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA
AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM QUÍMICA NA
ÁREA DE QUÍMICA ORGÂNICA.**

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA
POR FELIPE RIBEIRO SAMPAIO, E ORIENTADA PELO PROF.DR. FRANCISCO DE ASSIS
MACHADO REIS.**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2013

iii

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR DANIELLE DANTAS DE SOUSA -
CRB8/6490 - BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

Sa47s Sampaio, Felipe Ribeiro (1988-).
Síntese de biomarcadores 3-n-propilergostânicos.
Comprovação estrutural dos ácidos 3-n-
propilergostanoicos em óleos da bacia de Campos /
Felipe Ribeiro Sampaio. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientador: Francisco de Assis Machado Reis.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Biomarcadores ácidos. 2. Bacia de Campos. 3. 3-
propilesteranos. I. Reis, Francisco de Assis Machado. II.
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Synthesis of 3-n-propylergostane biomarkers. Structural proof of 3-n-propylergostanoic acids identified in Campos basin oils

Palavras-chave em inglês:

Acid biomarkers
Campos basin
3-propyl steranes

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Mestrado em Química na área de Química Orgânica

Banca examinadora:

Francisco de Assis Machado Reis [Orientador]
Anita Jocelyne Marsaioli
Sidney Gonçalo de Lima

Data de defesa: 29/07/2013

Programa de pós-graduação: Química

AGRADECIMENTOS

Acredito que um dos momentos mais difíceis de um trabalho, quase tão difícil quanto a própria dissertação, é lembrar-se de todas as pessoas que foram importantes para a sua realização. Difícil não no sentido de desgastante, mas sim pelo medo de cometer a injustiça de esquecer alguém.

Começo com meus agradecimentos ao Prof. Dr. Francisco Reis por ter me acolhido e confiado no meu trabalho desde a iniciação científica, no início de 2008, até a minha volta no mestrado. Obrigado pela disponibilidade e dedicação em me ensinar um pouco sobre geoquímica orgânica. Terminei esse mestrado com grande crescimento não só científico, mas também profissional.

Gostaria de agradecer imensamente aos amigos de laboratório, Bruno, Flavia, Glaucia, Gustavo, Nayara e Valquírio por toda ajuda dispensada a mim, amizade e ensinamentos. Sem dúvida alguma esse trabalho só foi possível graças a vocês. Agradeço a Simone pela enorme paciência e destreza em resolver alguns problemas. Gostaria de agradecer também a Prof^a Dr^a Luzia Koike pelo apoio, atenção, amizade e pelos espectros de massas cedidos. Ao Prof Dr Paulo Imamura dedico meus agradecimentos pelos ensinamentos, parceria e apoio.

Seria injusto se eu não dedicasse aqui meus sinceros agradecimentos aos funcionários do Instituto de Química da UNICAMP. Agradeço muito aos funcionários da CPG por toda dedicação e prontidão em resolver problemas burocráticos encontrados durante o mestrado. Agradeço também aos funcionários Sônia, Paula, Gustavo e Anderson do laboratório de RMN pelos espectros fornecidos. Agradeço a todos os funcionários que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Algumas pessoas são tão importantes que agradecimentos se tornam “lugar-comum”. A meus pais, Claudio Pistori Sampaio e Fátima Aparecida Ribeiro Sampaio, eu agradeço por toda renúncia, amor e ensinamentos dedicados a mim durante toda minha vida. A meus irmãos João Pedro e Patrícia pelo carinho e amor. Agradeço a meus tios, Maria Cristina e Luis Humberto e a meus primos, Lucas e Leonardo, pela hospitalidade e companheirismo nesses muitos anos de convivência. A minha querida e linda

namorada, Sara Cristina de Souza, faltariam linhas para agradecer o quanto você me faz bem. A sua companhia e seu sorriso cativante são responsáveis por diminuir qualquer problema cotidiano.

Por fim, agradeço ao Instituto de Química pela infraestrutura, ao CNPq pela bolsa concedida e a Petrobras pelo financiamento do projeto.

CURRICULUM VITAE

FELIPE RIBEIRO SAMPAIO

Rua Dr. Antônio Augusto de Almeida, 1022 – Cidade universitária.

Campinas – SP – 13083-755

felipersampaio@gmail.com

FORMAÇÃO

Pós-graduação:

Mestrado em Química Orgânica – Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP.

Ano de obtenção: 2013.

Graduação:

Bacharelado em Química com Atribuições Tecnológicas – Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP.

Ano de conclusão: 2011.

EVENTOS

Participação no XVII Congresso Interno de Iniciação Científica-UNICAMP (2009).

RESUMO

SÍNTESE DE BIOMARCADORES 3-*n*-PROPILERGOSTÂNICOS. COMPROVAÇÃO ESTRUTURAL DOS ÁCIDOS 3-*n*-PROPILERGOSTANÓICOS EM ÓLEOS DA BACIA DE CAMPOS.

Nesse trabalho foram sintetizados 5 padrões 3-*n*-propil-noresgostanos. Esses compostos são os hidrocarbonetos correspondentes a uma série homóloga de biomarcadores ácidos 3-*n*-propil-ergostanóicos encontrados em óleos de Pampo Sul, Bacia de Campos, os quais estão associados a processos de biodegradação (LIMA, 2010). Considerando-se que a estrutura tridimensional dos biomarcadores é crucial, utilizou-se como material de partida o estigmasterol. A rota sintética consistiu em uma série de reações estereo e regiosseletiva que levaram à formação de compostos com diferentes cadeias laterais ligadas ao C-17. As análises por RMN de ^{13}C e espectrometria de massas confirmaram a estereoquímica 3 β -propil, 5 α (H), 14 α (H), 17 α (H) e 20R. A amostra de óleo foi extraída, obtendo-se a fração ácida. Esta foi derivatizada a hidrocarbonetos para que fosse possível a co-injeção com os padrões sintéticos. A co-injeção dos padrões com a amostra de óleo derivatizada confirmou a presença desses compostos, porém para os picos menos abundantes. Além disso, foi confirmada a presença de um novo biomarcador.

ABSTRACT

SYNTHESIS OF 3-n-PROPYLERGOSTANE BIOMARKERS. STRUCTURAL PROOF OF 3-n-PROPYLERGOSTANOIC ACIDS IDENTIFIED IN CAMPOS BASIN OILS.

In this work, 5 standards 3n(propyl)-norergostanes were synthesized. These compounds are the corresponding hydrocarbons of a homologous series of acid biomarkers 3n-propyl-ergostanoics found in Pampo Sul oils, Campos basin, which are associated with biodegradation processes (LIMA, 2010). Considering that the three-dimensional structure of biomarkers is crucial, stigmasterol was chosen as starting material. The synthetic route consisted in a series of stereo and regioselective reactions leading to the formation of compounds with different side chains attached to C-17. Analysis by ^{13}C NMR and mass spectrometry confirmed the stereochemistry 3β -propyl, $5\alpha(\text{H})$, $14\alpha(\text{H})$, $17\alpha(\text{H})$ e 20R. The oil sample was extracted, obtaining the acidic fraction which was submitted to a derivatization process, obtaining the hydrocarbons derivatives that were used in co-injection with the synthetic standards. The co-injection of the standards with the oil sample confirmed the presence of these compounds, however for the less abundant peaks. In addition, a new biomarker was confirmed.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	xix
LISTA DE FIGURAS.....	xxi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 CONSIDERAÇÕES GERAIS	3
2.1 Condições básicas para a existência de acumulações petrolíferas	3
2.2 Produção da matéria orgânica	4
2.3 Deposição e preservação da matéria orgânica	4
2.4 Migração.....	7
2.5 Importância e origem dos biomarcadores.	8
2.5.1 Biossíntese dos precursores de biomarcadores	9
2.5.2 Grau de evolução térmica	10
2.5.3 Migração	11
2.5.4 Correlações óleo/óleo e óleo/rocha geradora	12
2.5.5 Idade e ambiente deposicional	12
2.5.6 Biodegradação.....	13
2.6 Biomarcadores ácidos	14
2.7 Esteranos	16
2.8 Métodos de análise	20
2.9 Novas classes de biomarcadores da bacia de Campos	22
2.10 Objetivos	23
3 SÍNTESE.....	25

3.1	Metodologia.....	25
3.2	Resultados e discussão.....	26
3.2.1	Obtenção da Estigmastenona.....	26
3.2.2	Obtenção da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona	29
3.2.3	Obtenção do 3-propil-5 α (H)-estigmast-22-en-3-ol	31
3.2.4	Obtenção do hidróxi-aldeído:.....	33
3.2.5	Reações de alquilação em C-22	33
3.2.6	Desidratação dos álcoois	38
3.2.7	Hidrogenação dos alcenos.....	40
3.2.8	Síntese do padrão (16)	45
4	CO-INJEÇÕES	47
4.1	Metodologia.....	47
4.2	Resultados e discussão.....	49
4.2.1	Análises da amostra de óleo	49
4.2.2	Análises das co-injeções.....	52
5	CONCLUSÃO	65
6	PARTE EXPERIMENTAL	67
6.1	Materiais, reagentes e aparelhos	67
6.2	Métodos espectroscópicos	67
6.2.1	Espectrometria no infravermelho (IV).....	67
6.2.2	Ressonância Magnética Nuclear	68
6.3	Análises cromatográficas	68
6.4	Obtenção da fração ácida	69
6.4.1	Purificação da fração ácida.....	70
6.5	Esterificação da fração ácida	70

6.6	Redução dos ésteres a álcoois	71
6.7	Mesilação do álcoois	72
6.8	Redução dos compostos mesilados com LiAlH_4	73
6.9	Oxidação de Oppenauer do Estigmasterol.....	74
6.10	Redução de Birch da Estigmastenona	75
6.11	Alquilação da $5\alpha(\text{H})$ -estigmastanona	76
6.12	Ozonólise da mistura de álcoois	77
6.13	Reações de alquilação em C-22	78
6.13.1	Composto (24):	78
6.13.2	Composto (25):	79
6.13.3	Composto (23):	79
6.13.4	Composto (26):	80
6.14	Desidratação dos álcoois	80
6.15	Hidrogenação dos alcenos.....	81
6.15.1	Composto (11):	81
6.15.2	Composto (12):	82
6.15.3	Composto (13):	82
6.15.4	Composto (14):	83
6.15.5	Composto (16):	83
7	REFERÊNCIAS	85
8	APÊNDICE.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Reações de alquilação realizadas a partir do synthon (21).	35
Tabela 2: Desidratação dos álcoois com $\text{CuSO}_4 \cdot \text{SiO}_2$	39
Tabela 3: Hidrogenação das misturas de alcenos e obtenção dos padrões de biomarcadores.	41
Tabela 4: Principais íons presentes nos espectros de massas para os padrões $5\alpha(\text{H})$ -esteranos.	43
Tabela 5: Atribuição dos picos presentes no MRM da amostra de óleo.	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Equação simplificada da fotossíntese, com a formação de uma molécula de glicose.....	4
Figura 2: Ciclo do carbono.....	5
Figura 3: Diferentes fases do processo de transformação da MO para geração de óleo e gás (TISSOT, 1978).....	6
Figura 4: Alguns biomarcadores importantes encontrados no petróleo (KILLOPS, 2005).....	8
Figura 5: Comparação entre as rotas de biossíntese de compostos isoprenóides nos diferentes seres vivos.....	10
Figura 6: Transformação do Bacteriohopanotetrol para biomarcadores hopanos durante a diagênese.....	11
Figura 7: Classes de esteranos predominantes em sedimentos e óleos.....	16
Figura 8: Transformação do colesterol durante a diagênese: equilíbrio de estereoisômeros de colestanos.....	17
Figura 9: a) Estrutura do esteranos C_{21} - C_{22} (5α , 14α , 17α); b) estrutura dos esteranos C_{21} - C_{22} termodinamicamente mais estáveis (5α , 14β , 17β); c) estrutura dos diasteranos de cadeia curta (C_{21} - C_{22}).	18
Figura 10: Estrutura dos esteranos C_{26} encontrados em óleos e extratos de rochas.	19
Figura 11: Representação de um sistema GC/MS-MS.....	21
Figura 12: Estrutura dos ácidos 3- <i>n</i> -propilergostanóicos.....	23
Figura 13: Hidrocarbonetos derivados dos ácidos 3- <i>n</i> -propil ergostanóicos.....	24
Figura 14: Oxidação de Oppenauer do Estigmasterol 15.	27
Figura 15: Mecanismo da oxidação de Oppenauer do estigmasterol.	27

Figura 16: Principais fragmentos do espectro de massas da Estigmastenona (70 eV).....	28
Figura 17: Redução de Birch da Estigmastenona e obtenção da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona.....	29
Figura 18: Mecanismo da redução de Birch.	30
Figura 19: Principais fragmentos do espectro de massas da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona (70 eV).	30
Figura 20: Produtos da reação de Grignard a partir da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona.	31
Figura 21: Principais fragmentos encontrados no espectro de massas dos compostos (20) e (21) (70 eV).....	32
Figura 22: Deslocamentos químicos (δ em ppm) de ^{13}C dos álcoois.....	32
Figura 23: Síntese do intermediário (22) a partir dos álcoois (20) e (21).	33
Figura 24: Tautomerização do aldeído e epimerização do centro assimétrico α à carbonila.....	34
Figura 25: Produtos obtidos após as reações de Wittig e Grignard.....	34
Figura 26: Teste de mesilação e substituição com LiAlH_4	35
Figura 27: Principais fragmentos encontrados no espectro de massas (70 eV); a) composto (23); b) composto (24); c) composto (25); d) compostos (26).	37
Figura 28: Principais fragmentos encontrados no espectro de massas (70 eV) a) composto (27); b) composto (28); c) composto (29); d) compostos (30).	40
Figura 29: Hidrogenação da mistura de alcenos e formação dos padrões de biomarcadores.....	41
Figura 30: Principais fragmentos dos padrões de síntese dos esteranos (70 eV).	42
Figura 31: Esquema de fragmentação de alquil-esteranos, levando à formação do íon m/z 148+R.....	43
Figura 32: Esquema de fragmentação de alquil-esteranos, levando à formação do íon m/z 150+R.....	43
Figura 33: Atribuição dos espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz) dos biomarcadores sintetizados (δ em ppm).....	44

Figura 34: Projeção de Newman mostrando interações gauche dependentes da estereoquímica do substituinte em C-3.	44
Figura 35: Cromatogramas de GC-FID das frações neutras dos óleos A, B e C (LIMA, 2010).	47
Figura 36: RIC (<i>m/z</i> 259), SIM (<i>m/z</i> 259) e MRM dos hidrocarbonetos derivados de ácido (HHA) do óleo C.	50
Figura 37: MRM da fração ácida derivatizada (íons precursores: <i>m/z</i> 358; 372; 386; 400 e 428. Íon fragmento: <i>m/z</i> 259).	51
Figura 38: Co-injeção do óleo com o padrão (11) e confirmação da presença do ácido (3).	53
Figura 39: Co-injeção do óleo com o padrão (12) e confirmação da presença do ácido (4).	54
Figura 40: Co-injeção do óleo com o padrão (13) e confirmação da presença do ácido (5).	55
Figura 41: Co-injeção do óleo com o padrão (14) e confirmação da presença do ácido (6).	56
Figura 42: Co-injeção do óleo com o padrão (16) e confirmação da presença do ácido (8).	57
Figura 43: SCAN da amostra de óleo e RIC's dos íons característicos de cada classe de compostos (<i>m/z</i> 85 – <i>n</i> -alcanos; 191 – terpanos; 217 - esteranos e 259 – 3-propil esteranos).	58
Figura 44: Co-injeção da amostra de óleo com o padrão racêmico (14) (20R + S).	59
Figura 45: Espectro de massas do pico a, correspondente ao composto (3) com estereoquímica $\alpha\alpha\beta$ (20R ou S).	60
Figura 46: Espectro de massas do pico e, correspondente ao composto (6) com estereoquímica $\alpha\alpha\beta$ (20R ou S).	60
Figura 47: Espectro de massas do pico g, correspondente ao composto (8) com estereoquímica $\alpha\alpha\beta$ (20R ou S).	61
Figura 48: Espectro de massas de isômeros 2-metil-5 α (H)-colestano (fornecido pela Prof ^a Dr ^a Luzia Koike).	62

Figura 49: Espectro de massas do composto 3-metil-5 α (H)-colestano (LOPES, 1995).....	62
Figura 50: Espectro de massas do padrão 4-metil-5 α (H)-colestano (fornecido pela Prof ^a Dr ^a Luzia Koike).....	63
Figura 51: Espectro de infravermelho da fração ácida purificada.	70
Figura 52: Espectro de infravermelho dos ésteres.	71
Figura 53: Espectro de infravermelho dos álcoois.	72
Figura 54: Espectro de infravermelho da amostra mesilada.....	73
Figura 55: Espectro de infravermelho dos hidrocarbonetos derivados de ácido – HHA (não purificada).....	74
Figura 56: Espectro de massas do composto (18) (70eV).....	89
Figura 57: Espectro de RMN de ¹ H do composto (18) (500 MHz).	89
Figura 58: Espectro de RMN de ¹³ C do composto (18) (125 MHz).	90
Figura 59: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-135) do composto (18).	91
Figura 60: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-90) do composto (18).	92
Figura 61: Espectro de massas do composto (19) (70 eV).....	92
Figura 62: Espectro de RMN de ¹ H do composto (19) (500 MHz).	93
Figura 63: Espectro de RMN de ¹³ C do composto (19) (125 MHz).	94
Figura 64: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-135) do composto (19).	95
Figura 65: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-90) do composto (19).	96
Figura 66: Espectro de massas do composto (20) (70 eV).....	96
Figura 67: Espectro de RMN de ¹ H do composto (20) (500 MHz).	97
Figura 68: Espectro de RMN de ¹³ C do composto (20) (125 MHz).....	98
Figura 69: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-135) do composto (20).	99
Figura 70: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-90) do composto (20).	100
Figura 71: Espectro de massas do composto (21) (70 eV).....	100
Figura 72: Espectro de RMN de ¹ H do composto (21) (500 MHz).	101
Figura 73: Espectro de RMN de ¹³ C do composto (21) (125 MHz).	102
Figura 74: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-135) do composto (21).	103
Figura 75: Espectro de RMN de ¹³ C (DEPT-90) do composto (21).	104
Figura 76: Espectro de massas do composto (22) (70 eV).....	104

Figura 77: Espectro de RMN de ^1H do composto (22) (500 MHz).	105
Figura 78: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (22) (125 MHz).	106
Figura 79: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (22).	106
Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (22).	107
Figura 81: Espectro de massas do composto (23) (70 eV).	107
Figura 82: Espectro de RMN de ^1H do composto (23) (500 MHz).	108
Figura 83: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (23) (125 MHz).	109
Figura 84: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (23).	110
Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (23).	111
Figura 86: Espectro de massas do composto (24) (70 eV).	111
Figura 87: Espectro de RMN de ^1H do composto (24) (500 MHz).	112
Figura 88: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (24) (125 MHz).	112
Figura 89: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (24).	113
Figura 90: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (24).	114
Figura 91: Espectro de massas do composto (25) (70 eV).	114
Figura 92: Espectro de RMN de ^1H do composto (25) (500 MHz).	115
Figura 93: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (25) (125 MHz).	116
Figura 94: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (25).	116
Figura 95: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (25).	117
Figura 96: Espectro de massas do composto (26) (70 eV).	117
Figura 97: Espectro de RMN de ^1H do composto (26) (500 MHz).	118
Figura 98: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (26) (125 MHz).	118
Figura 99: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (26).	119
Figura 100: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (26).	119
Figura 101: Espectro de massas do composto (27) (70 eV).	120
Figura 102: Espectro de massas do composto (28) (70 eV).	120
Figura 103: Espectro de massas do composto (29) (70 eV).	121
Figura 104: Espectro de massas do composto (30) (70 eV).	121
Figura 105: Espectro de massas do composto (11) (70 eV).	122
Figura 106: Espectro de RMN de ^1H do composto (11) (500 MHz).	122
Figura 107: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (11) (125 MHz).	123

Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (11).	124
Figura 109: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (11).	125
Figura 110: Espectro de massas do composto (12) (70 eV).....	125
Figura 111: Espectro de RMN de ^1H do composto (12) (500 MHz).	126
Figura 112: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (12) (125 MHz).....	127
Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (12).....	128
Figura 114: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (12).	129
Figura 115: Espectro de massas do composto (13) (70 eV).....	129
Figura 116: Espectro de RMN de ^1H do composto (13) (500 MHz).	130
Figura 117: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (13) (125 MHz).	131
Figura 118: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (13).	132
Figura 119: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (13).	133
Figura 120: Espectro de massas do composto (14) (70 eV).....	133
Figura 121: Espectro de RMN de ^1H do composto (14) (500 MHz).	134
Figura 122: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (14) (125 MHz).....	135
Figura 123: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (14).....	136
Figura 124: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (14).	136
Figura 125: Espectro de massas do composto (16) (70 eV).....	137
Figura 126: Espectro de RMN de ^1H do composto (16) (500 MHz).	137
Figura 127: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (16) (125 MHz).....	138
Figura 128: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (16).....	139
Figura 129: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (16).	140

1 INTRODUÇÃO

A compreensão do processo de formação do petróleo – sua composição, as técnicas de análise e suas mais diversas aplicações – é fundamental para atingir uma visão global de sua importância industrial.

É indiscutível que a principal aplicação do petróleo é na geração de energia, constituindo assim a principal fonte de energia no decorrer deste século (ANP, 2013). No entanto, para que o petróleo possa servir de combustível é necessário que passe por um processo de refinamento, através do qual uma grande variedade de subprodutos é obtida com diferentes aplicações, desde combustíveis até lubrificantes e solventes. Há que se ressaltar também que produtos como, etileno, propeno, butadieno, estireno e outros, abrem o universo da petroquímica, área estratégica e de relevância econômica indiscutível que está presente na maioria dos produtos da nossa vida cotidiana.

A formação do petróleo é o resultado de um processo complexo que envolve desde a deposição da matéria orgânica, as transformações microbianas e termoquímicas pelas quais pode passar (diagênese, catagênese e metagênese), até o deslocamento (migração) do óleo até uma rocha reservatório estruturada na qual será acumulado (TISSOT, 1978).

O segmento de pesquisa denominado geoquímica orgânica tem um papel fundamental na pesquisa do petróleo. Todo o processo desde a origem da matéria orgânica - MO, a geração, a migração e a acumulação pode ser estudado pela pesquisa geoquímica. As variações nas composições relativas dos hidrocarbonetos fornecem informações importantes para tomadas de decisões em todas as fases da vida do aproveitamento dos hidrocarbonetos. Isto envolve a avaliação da bacia, a prospecção, a descoberta e o desenvolvimento da bacia, a produção, a recuperação assistida, etc (KILLOPS, 2005).

A aplicação de técnicas geoquímicas na exploração do petróleo e gás pode fornecer uma melhor compreensão da origem e evolução da MO, do estágio de evolução térmica, dos processos de migração e acumulação dentro de uma bacia antes

da perfuração. Enquanto mais amostras se tornam disponíveis, as técnicas de geoquímica podem desvendar histórias de enchimento da bacia complexa, explicam composições incomuns do óleo e do gás e identificam suas fontes. Quando comparada à perfuração aleatória, a geofísica fornece sozinha uma eficiência da previsão de 28%, enquanto a avaliação conjunta geofísica e geoquímica fornece uma eficiência da previsão de 63%, encontrando hidrocarbonetos durante a exploração, evidenciando que a geoquímica do petróleo é uma ferramenta eficaz e, portanto barata por reduzir o risco da exploração (TISSOT, 1978).

2 CONSIDERAÇÕES GERAIS

2.1 Condições básicas para a existência de acumulações petrolíferas

Numerosas teorias foram propostas para a origem do petróleo. Essas teorias podem ser classificadas em duas categorias: inorgânicas e orgânicas.

As teorias inorgânicas atribuem ao petróleo uma origem sem a intervenção de organismos vivos de qualquer espécie, a partir de sínteses inorgânicas. Pelas teorias orgânicas o petróleo é formado a partir de produtos bioquímicos incorporados às rochas sedimentares durante a sedimentação. Uma das evidências dessa hipótese é a presença de compostos com atividade óptica. Além disso, acumulações petrolíferas de aproveitamento comercial ocorrem somente em bacias sedimentares. O potencial petrolífero dessas bacias é extremamente variável, de acordo com as condições geológicas e geoquímicas das acumulações petrolíferas. O petróleo está distribuído de forma muito irregular na crosta terrestre.

O petróleo ocupa os poros das rochas porosas e permeáveis, chamadas de rochas reservatório. Na ausência dessas rochas, mesmo que o petróleo tenha sido gerado, a sua exploração comercial não é possível. Os poros das rochas sedimentares situadas abaixo do topo do lençol freático estão saturados pela água. Dessa forma, o petróleo tende a escapar para a superfície, por ser menos denso do que a água. Para que isso não ocorra, as rochas capeadoras ou selantes formam uma barreira impermeável, impedindo o escape do petróleo.

A condição essencial para a existência de acumulações petrolíferas é a presença de rochas geradoras. Essas rochas são de granulação muito fina, além de serem ricas em matéria orgânica adequada à geração de hidrocarbonetos. Os pré-requisitos para a existência de rochas geradoras de petróleo são a produção, acumulação e preservação de matéria orgânica não degradada, composta por moléculas orgânicas direta ou indiretamente derivadas dos organismos. Além disso, a existência de rochas

carreadoras, rochas reservatório, rochas selantes e, sobretudo um sincronismo ou “timing” são também essenciais à existência de acumulações de óleo e gás. (TISSOT, 1978)

2.2 Produção da matéria orgânica

A base para a produção da matéria orgânica é a fotossíntese (Figura 1). Entre 3,7 a 2,5 bilhões de anos atrás, no Pré-cambriano, a fotossíntese, processo que consiste na utilização da energia solar na produção de glicose e oxigênio, começou a ser realizada por bactérias e cianobactérias. O enriquecimento de oxigênio na atmosfera terrestre é uma consequência direta da fotossíntese (KILLOPS, 2005).

A partir da glicose sintetizada, os organismos autotróficos podem metabolizar polissacarídeos, tais como a celulose e o amido, e todos os demais compostos necessários para a própria subsistência. A reação de fotossíntese é dada pela seguinte equação:

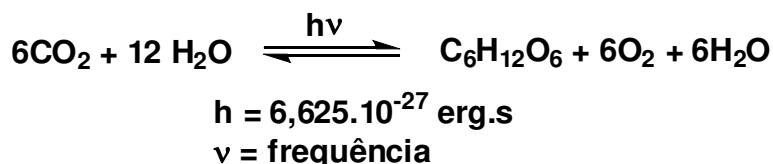


Figura 1: Equação simplificada da fotossíntese, com a formação de uma molécula de glicose.

2.3 Deposição e preservação da matéria orgânica

Para que ocorra a formação do petróleo a matéria orgânica (MO) deve ser preservada. A Figura 2 apresenta um resumo da produção e preservação da MO com a formação de óleo e gás. No Ciclo A, após a produção da MO via fotossíntese e deposição de plantas, animais e vegetais, a MO é sedimentada, ficando exposta à ação de microrganismos e dependendo das condições de sedimentação a mesma pode ser

oxidada a CO_2 . A MO sedimentada que não foi oxidada pode ser convertida através de processos bacterianos e térmicos em um polímero complexo chamado de querogênio (Ciclo B). A preservação da MO nesse estágio estará restrita a eventos tectônicos, podendo ser exposta ao ar atmosférico e à água meteórica, sendo oxidada a CO_2 . Apenas uma pequena parte da MO produzida é convertida em petróleo (SCHLESINGER, 1997).

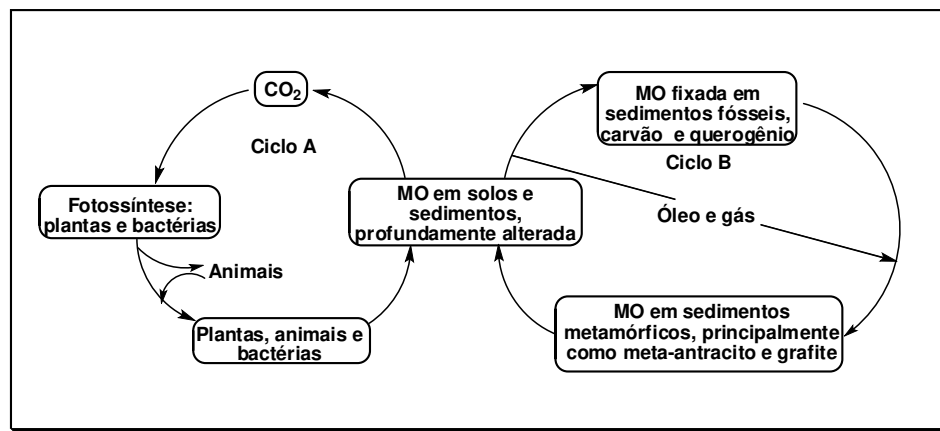


Figura 2: Ciclo do carbono.

Após a deposição e sedimentação da MO em um ambiente apropriado, tem-se o progressivo soterramento da MO e o aumento da pressão e temperatura, iniciando-se um processo de transformação da matéria orgânica que passa pelos seguintes estágios evolutivos: diagênese, catagênese e metagênese (TISSOT, 1978; KILLOPS, 2005).

- A diagênese ocorre em profundidades da ordem de centenas de metros. Nesse intervalo o aumento da pressão e temperatura é pequeno ($\sim 50^\circ\text{C}$) e as transformações da MO ocorrem sob condições brandas. Essa fase tem início nos sedimentos recém-depositados, onde a atividade microbiana é uma dos principais agentes de transformação. Com o soterramento progressivo, ligações heteroatômicas são quebradas e grupos funcionais são eliminados, como H_2O , CO_2 e NH_3 . Ao final da diagênese a matéria orgânica consiste, principalmente, em querogênio. Em termos de exploração de petróleo, as rochas-matrizes são consideradas imaturas nesse estágio.
- A catagênese resulta do aumento da temperatura durante o soterramento nas bacias sedimentares, proporcionando maturidade térmica às rochas-matrizes.

Durante a catagênese o querogênio é transformado em hidrocarbonetos, formando óleo, e, em seguida, aumentando a geração de hidrocarbonetos leves como CH₄ e gases úmidos. No final da catagênese cessa a geração de óleo e gases úmidos e somente CH₄ é gerado. Esse período corresponde ao principal estágio de formação do óleo e gás.

- A última fase, metagênese, só é alcançada a grandes profundidades, onde se tem temperaturas acima de 200°C. Nessa etapa ocorre uma geração pouco significativa de CH₄, formando principalmente CO₂ e compostos metamórficos como o grafite.

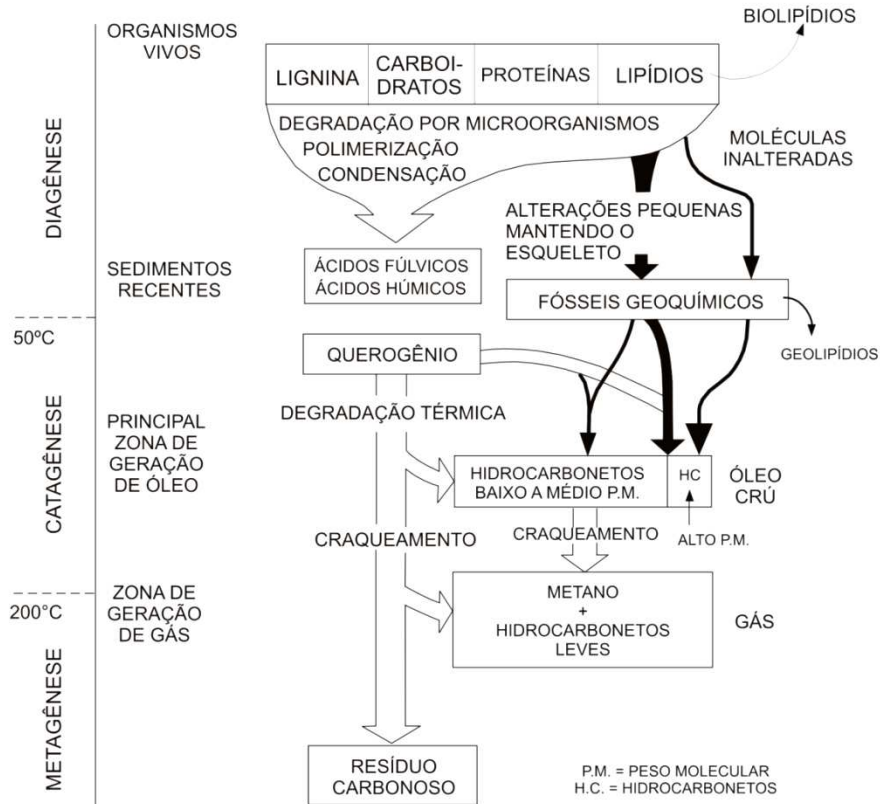


Figura 3: Diferentes fases do processo de transformação da MO para geração de óleo e gás (TISSOT, 1978).

2.4 Migração

Chama-se de migração o deslocamento em meio poroso do petróleo do ponto onde foi formado até onde será acumulado. Após a sua produção, os hidrocarbonetos são expelidos das rochas geradoras por capilaridade devido às altas pressão e temperatura até que seu caminho seja interrompido por alguma armadilha geológica, onde será acumulado (rocha reservatório). O processo de migração pode ser classificado em:

- Migração primária: movimentação dos hidrocarbonetos no interior da rocha geradora.
- Migração secundária: migração que ocorre fora da rocha geradora, nas rochas carreadoras, no caminho até a rocha reservatório.
- Migração terciária: consiste na migração do hidrocarboneto dentro da rocha reservatório. Ocorre a remobilização do hidrocarboneto de uma trapa a outra devido a eventos tectônicos, como dobramento, falhamento ou soerguimento epirogenético.

Uma utilização sistemática do entendimento da geração, migração e acumulação do petróleo reduz a incerteza na predição da ocorrência de acumulações significativas de petróleo. Isto se faz pela identificação de rochas geradoras, pelo potencial de hidrocarbonetos em cada rocha geradora no tempo e no espaço, pelo relacionamento dessas informações com a evolução geológica da bacia e, finalmente, pela definição das vias de migração secundária que permitiram o fluxo do petróleo entre a rocha geradora e o reservatório (TISSOT, 1978).

2.5 Importância e origem dos biomarcadores.

Um dos principais instrumentos da geoquímica orgânica é o estudo dos biomarcadores, também conhecidos como fósseis químicos ou indicadores geoquímicos, os quais são compostos orgânicos que ocorrem como misturas complexas em petróleo, extratos de rochas e sedimentos de modo que suas estruturas podem ser associadas a produtos naturais conhecidos, originados de vegetais superiores, plânctons, fungos e bactérias. Assim, a importância dos biomarcadores na geoquímica orgânica do petróleo se baseia no fato que as estruturas moleculares dos compostos presentes nos organismos, quando incorporados aos sedimentos, sofrem pequenas modificações (principalmente a perda dos heteroátomos N, O e S), preservando seu esqueleto básico e, portanto, podendo ser relacionados com a MO que lhe deu origem (PHILP, 1985; MELLO, 1988; PETERS, 1993).

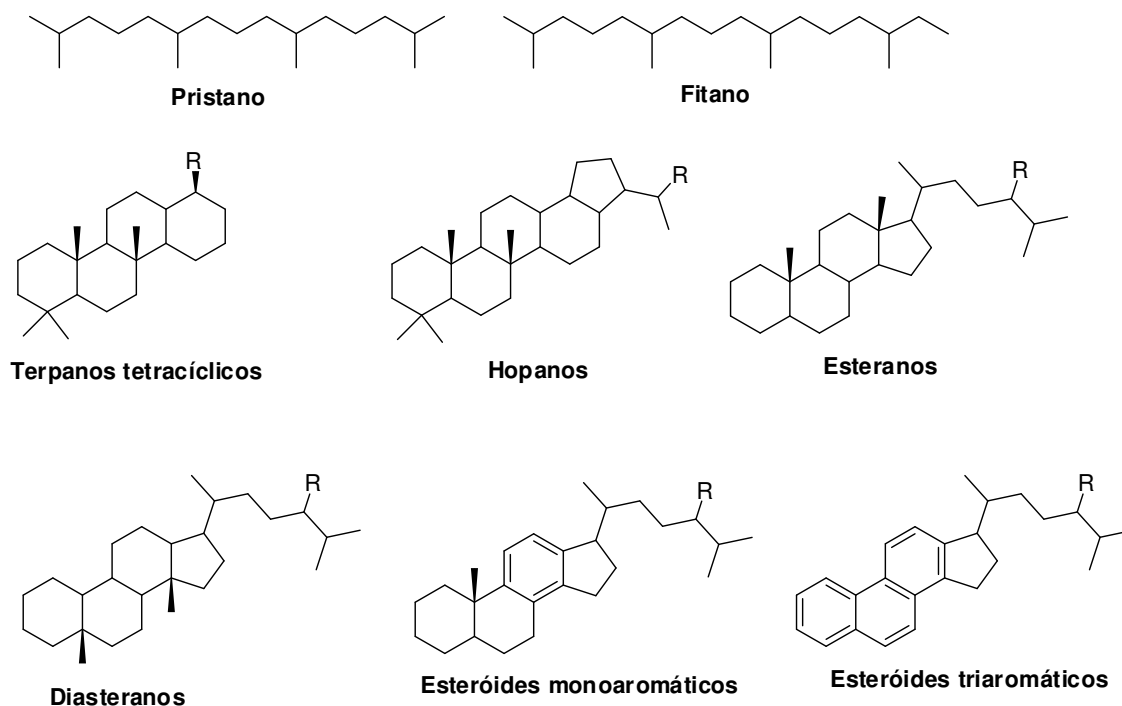


Figura 4: Alguns biomarcadores importantes encontrados no petróleo (KILLOPS, 2005).

Apesar de representarem apenas uma pequena fração do petróleo e da matéria orgânica nos sedimentos, os biomarcadores possuem grande importância na

geoquímica orgânica. Sua utilização na exploração do petróleo tem aumentado em importância e aplicabilidade. A composição química, o conteúdo relativo e a variação na estereoquímica de determinados compostos servem como uma “impressão digital”, fornecendo informações acerca da origem da matéria orgânica, do ambiente deposicional e da paleoecologia, do estágio de evolução térmica, da migração do óleo formado, do nível de biodegradação e de correlações óleo/óleo e óleo/rocha geradora (PETERS, 1993).

2.5.1 Biossíntese dos precursores de biomarcadores

Uma vez que o petróleo é formado a partir da transformação da MO proveniente da sedimentação de fungos, animais e plantas, as estruturas dos compostos estão relacionadas com as dos lipídios precursores sintetizados pelos seres vivos. Assim, é importante conhecer a origem (biossíntese) desses precursores.

O estabelecimento de rotas de biossíntese e metabolismo dos produtos naturais, bem como os mecanismos dessas reações bioquímicas é um campo de estudo fértil com grande número de publicações. O uso de moléculas com marcação radiativa ou isotópica, além do desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas de purificação e elucidação estrutural (por exemplo, RMN 2D), permitiram uma melhor compreensão da biossíntese dos produtos naturais (BROWN, 1998).

A formação de terpenos e esteroides possui duas rotas de biossíntese, dependendo do tipo de organismo presente (Figura 5). A diferença entre as rotas está na síntese do intermediário pirofosfato de isopentenila (IPP). Em seres eucariontes a formação do IPP ocorre a partir da acetil Coenzima A (acetil-CoA), enquanto que nos procariontes ela ocorre partindo do gliceraldeído-3-fosfato.

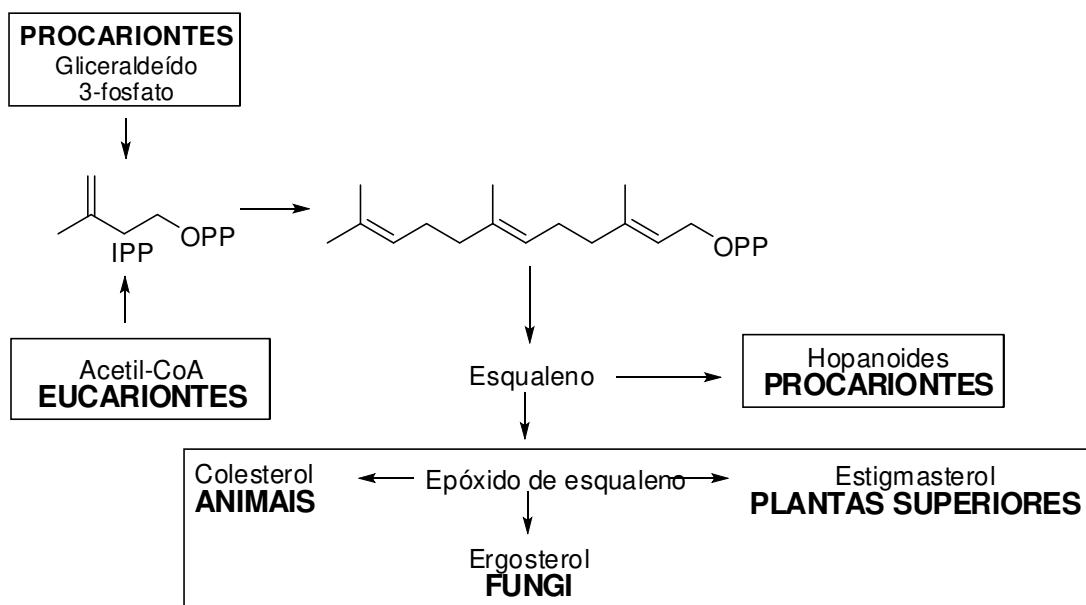


Figura 5: Comparação entre as rotas de biossíntese de compostos isoprenóides nos diferentes seres vivos.

2.5.2 Grau de evolução térmica

A partir da deposição e sedimentação da MO e o consequente aumento de temperatura e pressão, os materiais biológicos sofrem alterações estruturais já citadas (perda de grupos funcionais, isomerização, rearranjo e aromatização dos compostos).

O estudo dessas transformações bem como das degradações térmicas (compostos menos estáveis termicamente tendem a ser transformados em outros compostos mais estáveis termodinamicamente) permite estabelecer o grau de evolução (maturação) térmica da MO em sedimentos (MILLES, 1989; BROCKS, 2003b; KILLOPS, 2005).

Como exemplo de determinação de maturação térmica, podem-se citar os terpanos, como os hopanos. A configuração biológica desses compostos nas posições C-17, C-21 e C-22 é $17\beta(H)$, $21\beta(H)$ e $22R$, sendo convertidos em estruturas termicamente mais estáveis com configuração (geológica) $17\beta(H)$, $21\alpha(H)$, $22S$ e $17\alpha(H)$, $21\beta(H)$, $22S$ (PETERS, 1993; RODRIGUES, 2000; KILLOPS, 2005). Dessa

forma, o cálculo da razão biológico/geológico dos hopanos encontrados nas amostras de óleo pode ser utilizado como um parâmetro de maturidade (Figura 6).

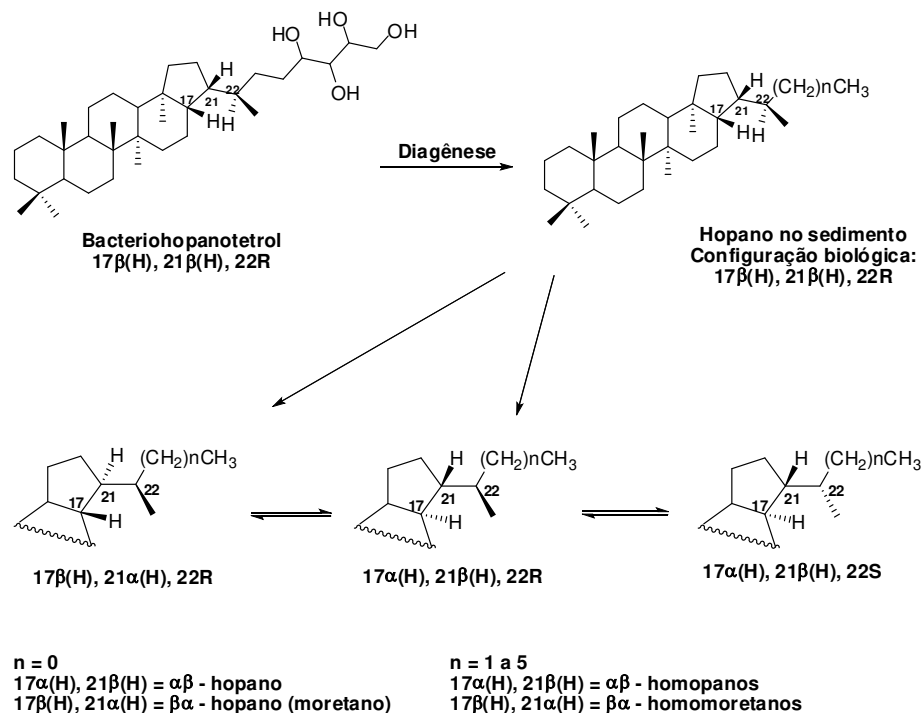


Figura 6: Transformação do Bacteriohopanotetrol para biomarcadores hopanos durante a diagênese.

2.5.3 Migração

Devido ao processo de migração, o petróleo pode ser encontrado nos reservatórios a alguma distância da rocha geradora que podem chegar a centenas de quilômetros (MILLES, 1989; KILLOPS, 2005). No caminho da rocha geradora até a rocha reservatório podem ocorrer algumas mudanças composicionais dos biomarcadores, por causa de efeitos chamados de geocromatografia, perdas em solução e mudanças de fase.

Porém, o uso de biomarcadores integrado aos dados de outras técnicas geoquímicas e geológicas da bacia sedimentar permite determinar as vias de migração, rastreando-se o percurso do óleo, chegando-se a sua rocha geradora. Outra aplicação

consiste na inferência da área de maior probabilidade de conterem depósitos de hidrocarbonetos.

2.5.4 Correlações óleo/óleo e óleo/rocha geradora

Em geoquímica orgânica é possível correlacionar diferentes amostras de óleo de uma mesma bacia ou comparar os constituintes de óleos com o extrato orgânico das rochas geradoras. Isso é possível, pois a diversidade de estruturas dos biomarcadores indica que sedimentos orgânicos diferentes apresentam composição variável para pelo menos um desses grupos de estruturas.

Como exemplo, pode-se citar a maior abundância relativa (máximo cromatográfico) de *n*-alcanos de cadeia longa (C₂₅ a C₃₅) com predominância ímpar/par de carbonos, indicando MO de origem terrestre. Já uma maior abundância de *n*-alcanos de cadeia curta indica MO de origem marinha (PETERS, 1993; FABIANSKA, 2003; SIMONS, 2003; CMIEL, 2004).

Assim, é possível estabelecer um paralelo entre óleos através do estudo dos biomarcadores, resultando ou não em uma rocha geradora comum. Além disso, a correlação óleo/extrato orgânico ajuda na identificação da rocha que gerou uma determinada acumulação de hidrocarbonetos, o que aliado ao conhecimento geológico da bacia permite determinar outras possíveis fontes de petróleo na mesma bacia.

2.5.5 Idade e ambiente deposicional

A reprodução de espécies distintas de plantas e microrganismos ocorre sob condições climáticas e aquáticas distintas (salinidade, composição química e quantidade de oxigênio) (TISSOT, 1978; PHILP, 1985; GILL, 1997).

Uma vez que os biomarcadores mantêm uma relação estrutural direta com os organismos precursores, esses podem ser utilizados como indicadores do ambiente deposicional. A presença, ausência ou a variação quantitativa de biomarcadores, podem refletir não só a origem (continental ou marinha) da MO em sedimentos e óleos, como também suas condições ambientais de sedimentação (salinidade, profundidade etc.).

A evolução das espécies indica que os diferentes grupos de organismos (algas, vegetais superiores e bactérias) ocuparam determinados ambientes ao longo do tempo geológico do planeta. Dessa forma, alguns biomarcadores são característicos de determinada era geológica, podendo ser utilizados como ferramenta geocronológica relativa. Como exemplo, pode-se citar a presença do 18 α (H)-oleanano em amostras de petróleo, indicando a contribuição de MO de origem terrestre, já que seu precursor deriva de vegetais da família das angiospermas, demonstrando não só a contribuição de vegetais superiores, mas também a idade deposicional, uma vez que as angiospermas surgiram no final do período Cretáceo (TISSOT, 1978; PHILP, 1985; RODRIGUES, 2000; WAGGONER, 2001).

2.5.6 Biodegradação

A biodegradação de óleos é realizada principalmente por microrganismos anaeróbios ou aeróbios, os quais são introduzidos na rocha reservatório através da circulação de águas subterrâneas (MILLES, 1989; GILL, 1997; KILLOPS, 2005;). Nesse processo os hidrocarbonetos são oxidados pelas bactérias por reações catalisadas por enzimas.

Vários estudos em relação aos processos de oxidação dos componentes do petróleo têm sido feitos nas últimas duas décadas (CRUZ, 2012), mas ainda são necessários mais estudos principalmente a respeito das etapas iniciais de ataque dos microrganismos aos hidrocarbonetos. Porém, é conhecido que nos processos de biodegradação os microrganismos atacam as cadeias carbônicas e o fazem,

geralmente, na sequência: hidrocarbonetos lineares, isoprenoides, cíclicos, etc (PETERS, 1993; PETERS, 2005).

A mudança na composição química do petróleo devido à biodegradação promove um aumento na densidade do óleo. Isso ocorre não só em função da diminuição da concentração de compostos isotopicamente mais leves, mas também pelo aumento de asfaltenos e heterocompostos isotopicamente mais pesados, levando à formação de moléculas enriquecidas em ^{13}C , por exemplo.

Para que os microrganismos atuem é necessária a existência de condições ambientais de crescimento adequadas. A velocidade e a extensão da biodegradação dos componentes do petróleo dependem da existência de, pelo menos, quatro fatores principais (PETERS, 2005):

- Umidade;
- Contato óleo/água;
- Presença de oxigênio (em condições anaeróbias a oxidação é mais lenta e realizada por bactérias sulfato-redutoras);
- Presença de nutrientes para o desenvolvimento microbiano (fosfatos, nitratos, sulfatos, entre outros);
- Temperatura ($< 80^{\circ}\text{C}$).

2.6 Biomarcadores ácidos

Os ácidos carboxílicos de cadeia longa (ácidos graxos) são os principais componentes dos lipídios em organismos vivos, além de serem fósseis químicos encontrados em sedimentos e petróleo (FONTES, 2011). Apesar da existência de petróleos ácidos, como na Venezuela e na Rússia, eles não são rotineiramente analisados para a exploração do petróleo (SILVA, 2008). Entretanto, este grupo de compostos tem mostrado um grande potencial para promover informações complementares no estudo geoquímico de sedimentos antigos e óleos, como maturação (MACKENZIE, 1982; JAFFÉ, 1990; PETERS, 2005), biodegradação

(MACKENZIE, 1981; BEHAR, 1984; LIMA, 2010) e migração (JAFFÉ, 1988a; JAFFÉ, 1988b; PETERS, 2005).

Os ácidos carboxílicos, comumente encontrados em petróleos e sedimentos, incluem diferentes tipos de estruturas químicas como, ácidos graxos lineares, ácidos isoprenóicos, ácidos cíclicos saturados ou aromáticos e compostos bifuncionalizados com α,ω -dicarboxílicos (REBOUÇAS, 1992). Durante a diagênese, pode ocorrer tanto a preservação do grupo carboxílico presente na matéria orgânica original, como a formação deste a partir de outros grupos funcionais existentes no material de origem.

Em relação aos estudos de biodegradação de óleos utilizando ácidos carboxílicos, foram relatados por Behar e colaboradores (1984) ácidos lineares insaturados e ácidos acíclicos isoprenóicos com características de distribuição de isômeros termicamente imaturos, atribuindo-se a presença deles aos lipídios da membrana celular das bactérias. Nesse mesmo trabalho foi relatada a presença de ácidos terpanóicos, sugerindo sua formação durante a biodegradação. Atribuiu-se também que a razão de ácidos terpanóicos tricíclicos para os pentacíclicos (hopanóicos) é um indicador do nível de biodegradação de óleos, porquanto os ácidos tricíclicos são mais resistentes ao ataque de microrganismos em comparação aos pentacíclicos (LIMA, 2010).

O aparecimento de compostos ácidos no petróleo brasileiro é um fato relativamente recente e relacionado às novas descobertas na bacia de Campos e nas partes emersas das bacias de Potiguar, Sergipe-Alagoas e do Espírito Santo (LOPES, 1997; LOPES, 1999; CRUZ, 2005).

Em estudos realizados (SILVA, 2008; FONTES, 2011), atribuiu-se aos ácidos de baixo peso molecular a formação durante a exploração, produção, armazenamento e processamento do petróleo. No entanto, esses estudos também mostraram que a grande maioria dos compostos ácidos é de alto peso molecular e já se encontravam nos óleos. Devido a essas evidências, foram propostas duas possibilidades para a formação dos compostos ácidos: 1) oxidação dos hidrocarbonetos por meio da biodegradação realizada pelos microrganismos; 2) formação dos ácidos juntamente com o petróleo, originando-se os ácidos graxos, carboidratos, mono-, di- e triglicerídeos.

Apesar de ambos os processos serem viáveis, acredita-se que a primeira proposta seja a predominante, uma vez que a acidez é constantemente encontrada nos óleos pesados e biodegradados (SILVA, 2008).

2.7 Esteranos

Dentre os diversos biomarcadores, destacam-se os esteranos que são provenientes de esteroides presentes nos organismos vivos. Os esteranos constituem um grupo de biomarcadores imprescindível como indicadores de fonte, em estudos de correlação de óleos, evolução térmica e biodegradação (PETERS, 1993; BROCKS, 2003). Eles são formados a partir da redução de esteroides, largamente distribuídos em plantas superiores e algas, originalmente incorporados aos sedimentos (BODE, 2003).

Os esteranos que predominam em sedimentos e óleos correspondem a C_{27} (colestanos), C_{28} (ergostanos) e C_{29} (estigmastanos), muito embora possam ocorrer compostos desde C_{18} até C_{30} (MACKENZIE, 1981; DAHL, 1992). Há também os diasteranos e esteranos aromáticos que na sua larga maioria são produtos de reações termoquímicas dos esteranos normais (Figura 7).

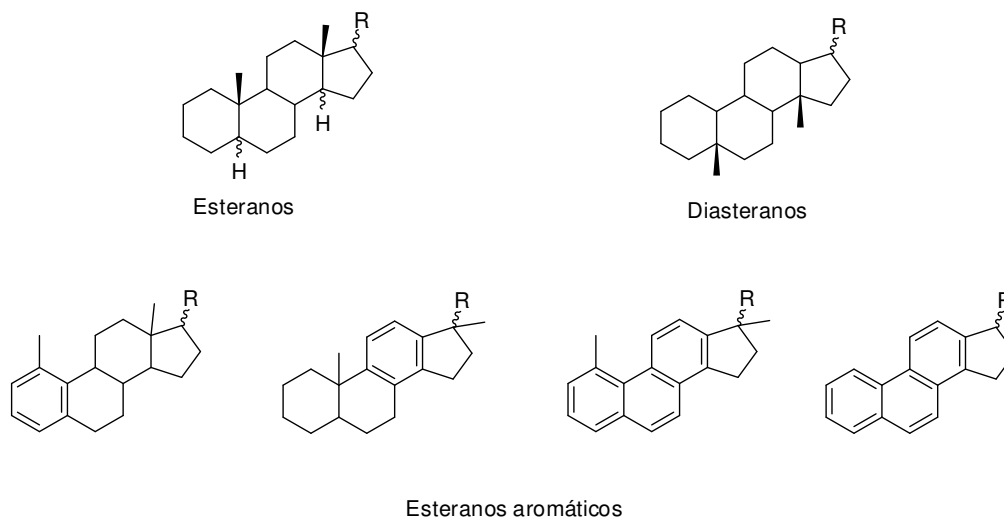


Figura 7: Classes de esteranos predominantes em sedimentos e óleos.

Com o progressivo soterramento da MO e o consequente aumento de temperatura e pressão, ocorre isomerização nos centros assimétricos. As moléculas naturais dos esteranos (biológico) nas posições 5, 14, 17 e 20 são isomerizadas para as configurações mais estáveis (geológico), resultando no equilíbrio da razão $\alpha\alpha\alpha 20S:\alpha\alpha\alpha 20R:\alpha\beta\beta 20R:\alpha\beta\beta 20S$ que é aproximadamente 1:1:3:3 (Figura 8) (PETERS, 1993; JOHANSEN, 2004; PETERS, 2005). Assim, estas razões podem ser usadas como parâmetros de evolução térmica ou maturidade das amostras geológicas.

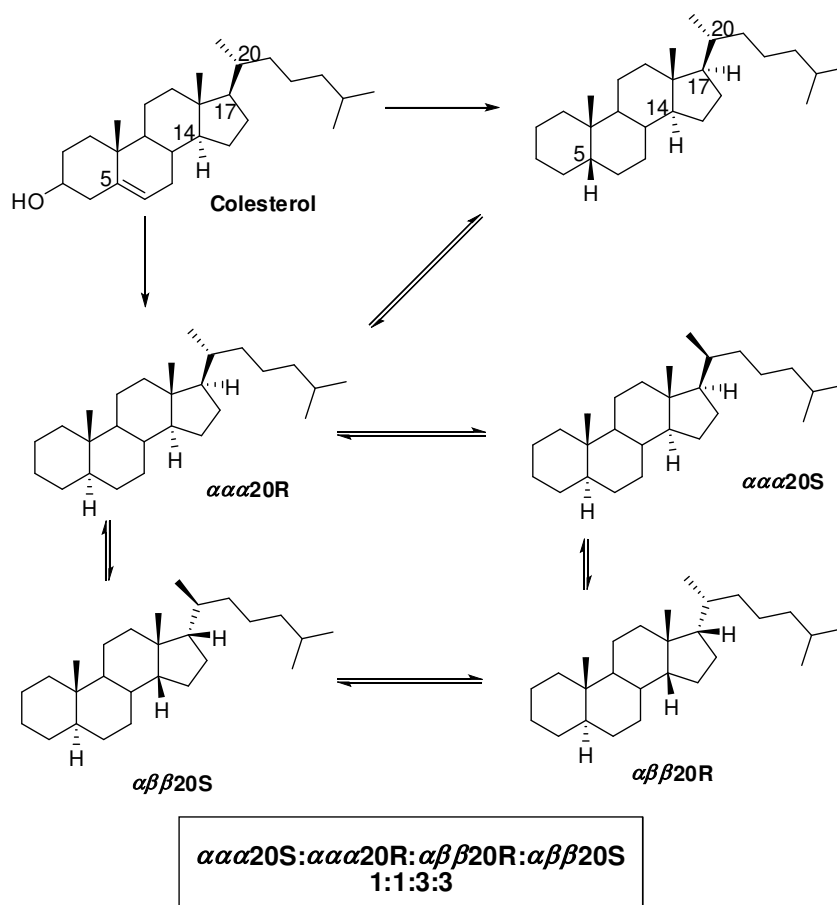


Figura 8: Transformação do colesterol durante a diagênese: equilíbrio de estereoisômeros de colestanos.

Esteranos contendo 21 e 22 átomos de carbono (pregnanos e homopregnanos) são comuns em petróleos e rochas. A diferença em relação aos esteranos de cadeia longa (C_{27} - C_{30}) está na cadeia lateral ligada ao C-20, sendo ela metil ou dimetil (REQUEJO, 1997). Os esteranos de cadeia curta mais abundantes em óleos são os

digínanos e homodigínanos, os quais são as formas termodinamicamente mais estáveis do pregnano e homopregnano (Figura 9), respectivamente (WINGERT, 1986).

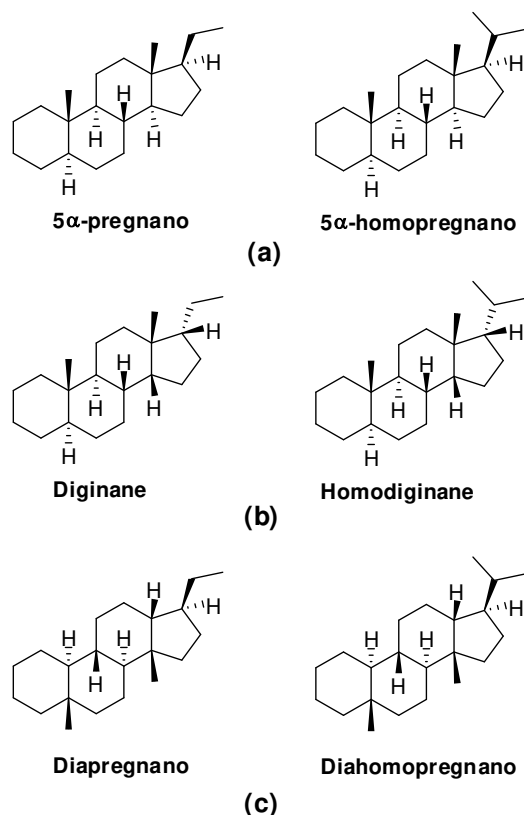


Figura 9: a) Estrutura dos esteranos C₂₁-C₂₂ (5α, 14α, 17α); b) estrutura dos esteranos C₂₁-C₂₂ termodinamicamente mais estáveis (5α, 14β, 17β); c) estrutura dos diasteranos de cadeia curta (C₂₁-C₂₂).

Wingert e Pomerantz (1986) mostraram que a abundância de digínanos aumenta com a maturidade dos óleos em relação aos esteranos C₂₇-C₃₀. Esse mesmo comportamento foi observado em óleos da Formação de Duvernay, no Canadá (REQUEJO, 1994). O aumento da abundância relativa dos esteranos de cadeia curta está relacionado à maior estabilidade térmica desses compostos comparados aos esteranos de cadeia longa (EGLINTON, 1988).

Em estudos realizados por Requejo e colaboradores (1997), mostrou-se que a abundância dos diasteranos C₂₁ e C₂₂ (formados a partir do rearranjo do pregnano e homopregnano) varia de acordo com a litificação e, ao contrário dos diasteranos de cadeia longa, varia pouco com a maturidade. Dessa forma, esses compostos podem ser utilizados como indicadores dos processos de formação da rocha geradora.

A ocorrência de esteranos C_{26} foi relatada por Moldowan (1985), consistindo em 21-, 24- e 27-norcolestanos (Figura 10). Os 24-norcolestanos são derivados dos 24-norcolesteróis, presentes em organismos marinhos invertebrados, enquanto que os 27- e 21-norcolestanos são, provavelmente, provenientes da atividade microbiana de esteróis C_{27} , sendo encontrados tanto em rochas e óleos de ambientes marinhos quanto terrestres. Devido às maiores ocorrência e abundância do 27-norcolestano comparado ao 24-norcolestano, a razão entre esses compostos é utilizada como parâmetro de correlação de fonte geradora. Nesse trabalho também foi observado uma maior abundância do 21-norcolestano em relação aos outros esteranos C_{26} em óleos maduros, sendo, portanto, um possível biomarcador indicador de maturidade térmica.

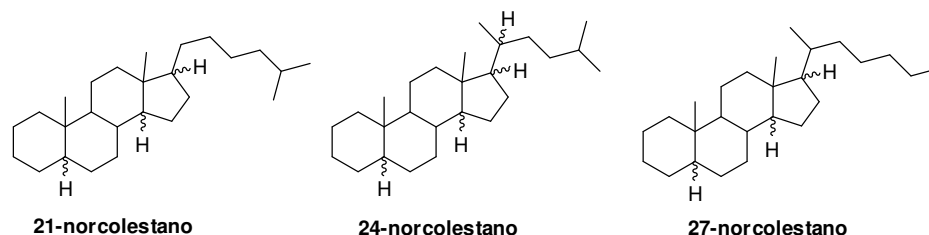


Figura 10: Estrutura dos esteranos C_{26} encontrados em óleos e extratos de rochas.

Esteranos com grupos alquila ligados ao C-3 são largamente encontrados em óleos e extratos de rochas (SUMMONS, 1988; SUMMONS, 1991; DAHL, 1992). Lopes (1997; 1999) detectou a mais completa série de homólogos de alquil-esteranos neutros e ácidos dos três grupos: colestano, ergostano e estigmastano com configuração $5\alpha(H)$. Além disso, Lopes (1999) detectou pela primeira vez os alquil-esteranos neutros e ácidos dos três grupos – colestano, ergostano e estigmastano – com configuração $5\beta(H)$. Acredita-se que a biossíntese dos esteranos com grupos alquila de até 6 carbonos na posição C-3 ocorra através da ação microbiana sobre o produto diagenético Δ^2 -estereno.

2.8 Métodos de análise

O desenvolvimento de um estudo sistemático da composição orgânica dos sedimentos e petróleo experimentou um grande incremento nas últimas décadas, principalmente devido ao desenvolvimento de novas técnicas analíticas instrumentais, as quais vieram propiciar a caracterização molecular em micro quantidades de misturas orgânicas altamente complexas (FRYSINGER, 2001).

A caracterização de biomarcadores em sedimentos e petróleos requer técnicas sofisticadas de análises que possibilitem sua detecção em pequenas quantidades em uma matriz altamente complexa. Os problemas de co-eluição, frequentes nestas amostras, são contornados através de alguns recursos em GC/MS e GC/MS-MS. A aquisição de dados pode ser realizada através de métodos distintos: o SCAN e o SIM (*Single Ion Monitoring*) e MRM (*Multiple Reaction Monitoring*).

No modo SCAN, a aquisição de dados é realizada através da varredura de todos os íons produzidos na fonte de ionização, dentro de uma faixa de massa/carga (m/z) pré-determinada. Já no modo SIM, os dados são adquiridos através da seleção de um íon, ou grupo de íons, com m/z característica da classe de biomarcadores que se deseja monitorar. Dessa forma, o modo SCAN fornece resultados gerais e mais representativos da amostra, porém apresenta desvantagens, como a co-eluição de compostos. Este problema é minimizado através do SIM, já que ele fornece resultados apenas de um íon previamente selecionado.

O TIC (*Total Ion Current*), também chamado de “cromatograma de massas” (BIEMANN, 1970) é obtido a partir do modo de aquisição SCAN, apresentando um resultado muito semelhante ao cromatograma obtido por GC-FID (*Flame Ionization Detector*).

A partir do “cromatograma” correspondente ao TIC é possível extrair o cromatograma relativo a um íon específico, chamado de cromatograma reconstituído de íons – RIC (por exemplo, RIC m/z 259). Este recurso corresponde a uma parcela da corrente iônica total, registrando somente os compostos que contém, em seus espectros de massas, o íon selecionado. Em geral, a pesquisa de uma classe de

biomarcadores é feita através da análise do RIC do íon correspondente ao pico base desses compostos.

A espectrometria de massas em série acoplada à cromatografia gasosa (GC/MS-MS) apresenta alta resolução cromatográfica, alta sensibilidade e alta seletividade em análise de misturas complexas, tais como petróleo e extratos de rochas. O espectrômetro de massas triplo quadrupolo permite a realização de experimentos em MS-MS, no qual no primeiro (Q1) e no último (Q3) quadrupolos podem ser realizados tanto a varredura de íons quanto a seleção de um íon com m/z específica; enquanto no segundo quadrupolo ($q2$ – câmara de colisão) ocorre a fragmentação do íon (ou dos íons) que atravessou o primeiro quadrupolo (Figura 11).

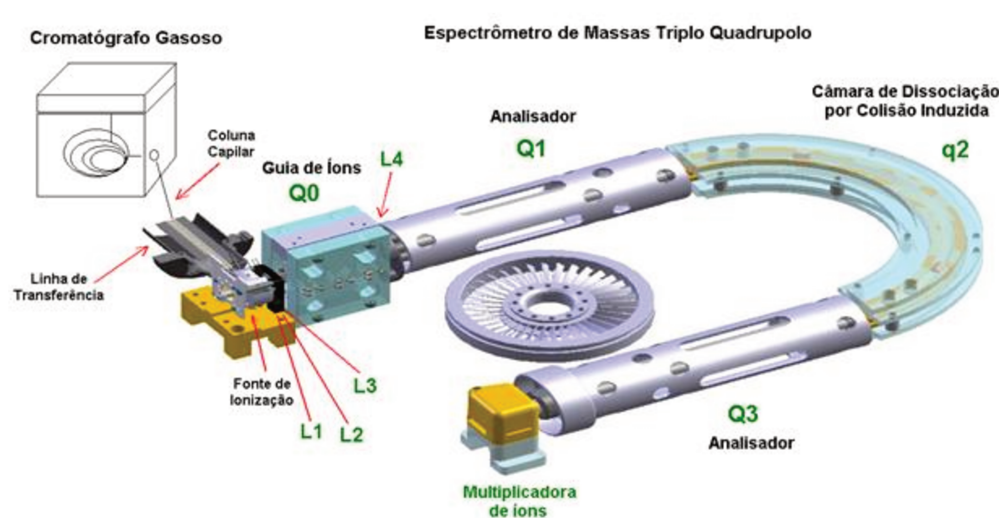


Figura 11: Representação de um sistema GC/MS-MS.

Assim como na espectrometria de massas convencional, em MS-MS também são utilizadas técnicas de monitoramento. A técnica de monitoramento seletivo de reação em MS-MS é análoga ao monitoramento seletivo de íons (SIM) na MS convencional.

No monitoramento seletivo de reação um número limitado de transição íon pai/íon filho é monitorado. Assim como o monitoramento seletivo de íons, a técnica de monitoramento seletivo de reação permite uma análise rápida de compostos traços presentes em misturas complexas.

Contudo, devido à relação inequívoca entre íon pai/íon filho, essa técnica fornece uma maior especificidade comparativamente à técnica de monitoramento seletivo de

íons. Mesmo que um composto de interferência apresente a mesma razão massa/carga (m/z) do íon pai selecionado, ele será detectado somente se no processo de dissociação ativada por colisão for gerado o íon filho previamente selecionado. Portanto, para que esse composto possa ser detectado por MSR (monitoramento seletivo de reação), ele deve fornecer a relação íon pai $\rightarrow$ íon filho previamente selecionada. Quando mais de uma transição íon pai $\rightarrow$ íon filho é monitorada em um único experimento, o tipo de análise é chamado de monitoramento de reações múltiplas – MRM (COOKS, 1978).

2.9 Novas classes de biomarcadores da bacia de Campos

Trabalhando em óleos lacustres salinos do Campo de Pampo Sul, bacia de Campos, Lima (2010) identificou uma grande família de biomarcadores constituídos pelos ácidos 3-*n*-propil ergostanóicos. Foram detectados 14 compostos identificados preliminarmente por GC/MS e GC/MS/MS dos hidrocarbonetos correspondentes. Para os compostos **(3)**, **(6)** e **(8)** foram analisados os GC/MS dos ésteres metílicos correspondentes.

A importância desses resultados se deve ao fato desses compostos, além de originais, serem indicadores de um processo de biodegradação ocorrendo naqueles reservatórios. No trabalho realizado no Grupo de Geoquímica da UNICAMP, constatou-se que a composição relativa dos compostos variava em função do nível de biodegradação (LIMA, 2010). Nos processos de biodegradação os microrganismos atacam as cadeias carbônicas e o fazem, geralmente, na sequência: hidrocarbonetos lineares, isoprenoides, cíclicos, etc (PETERS, 1993; PETERS, 2005). Nos óleos de Pampo Sul, foi possível identificar uma série homóloga de ácidos esteranóicos da série ergostano (Figura 12), na qual é a cadeia lateral em C-20 que sofre biodegradação progressiva, o que é muito raro e evidenciado pela primeira vez por Lima (2010).

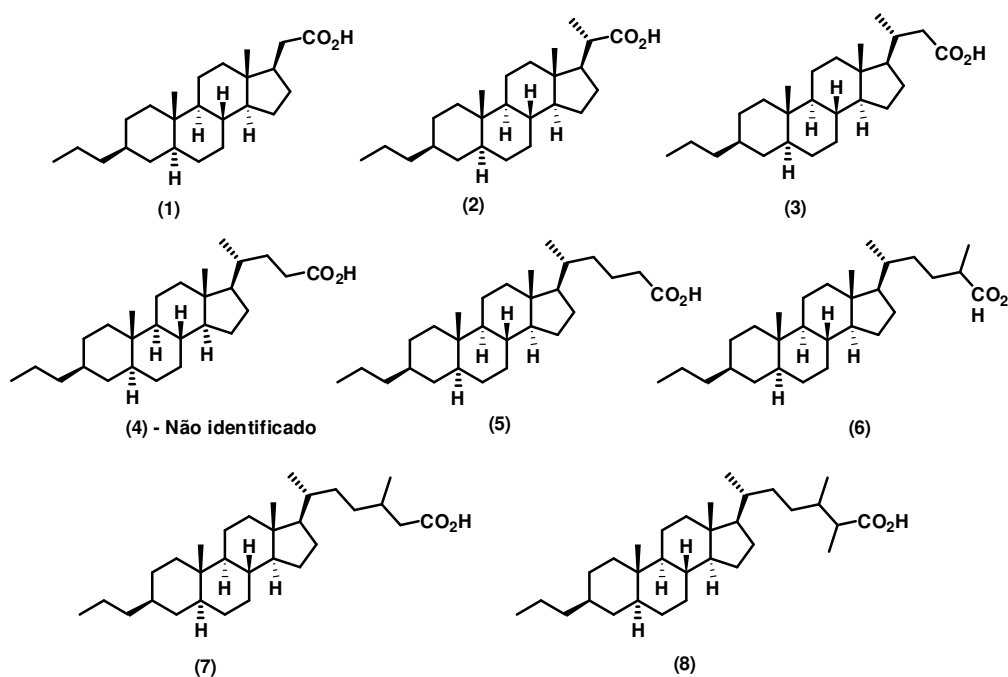


Figura 12: Estrutura dos ácidos 3-*n*-propilergostanóicos.

2.10 Objetivos

Após a identificação de novos biomarcadores a síntese se faz necessária para confirmação das estruturas dos compostos. Portanto, nesse trabalho, objetivou-se a síntese dos hidrocarbonetos diastereoisomericamente puros correspondentes (Figura 13), sua completa caracterização estrutural e sua co-injeção com as amostras de petróleo derivatizadas a hidrocarbonetos, em diferentes concentrações, para **confirmação ou não** das estruturas propostas por Lima (2010) com base na sua fragmentação no espectro de massas obtido por GC/MS.

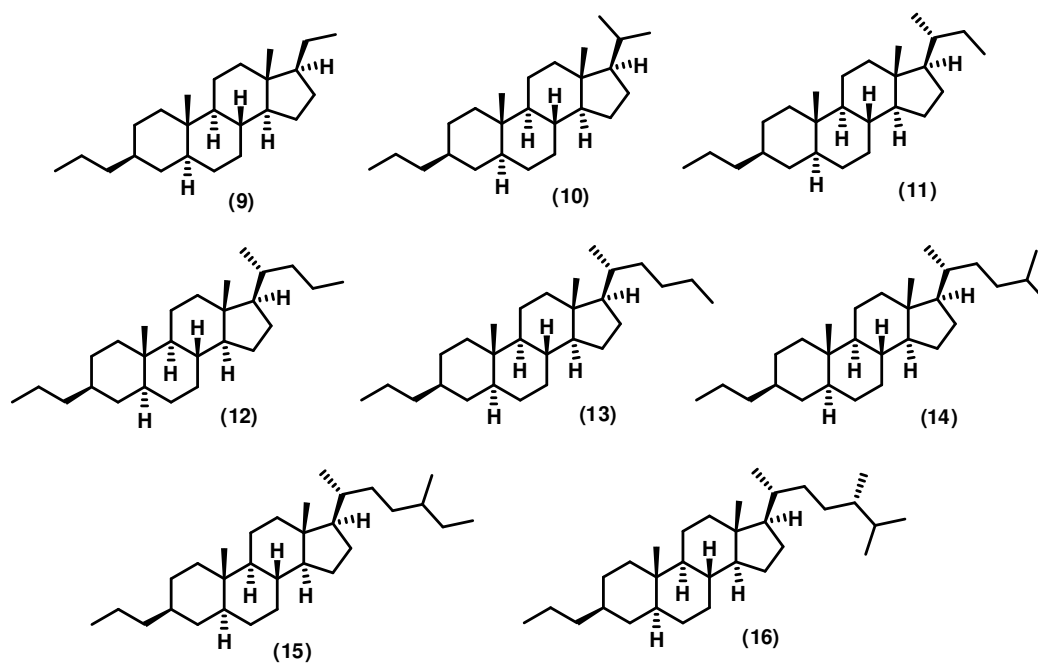
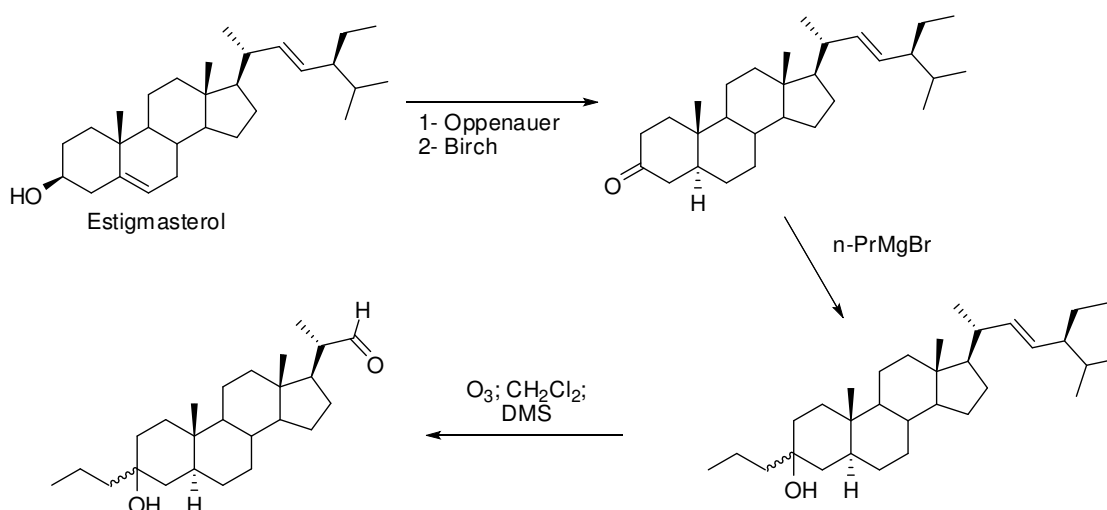


Figura 13: Hidrocarbonetos derivados dos ácidos 3-*n*-propil ergostanóicos.

3 SÍNTESE

3.1 Metodologia

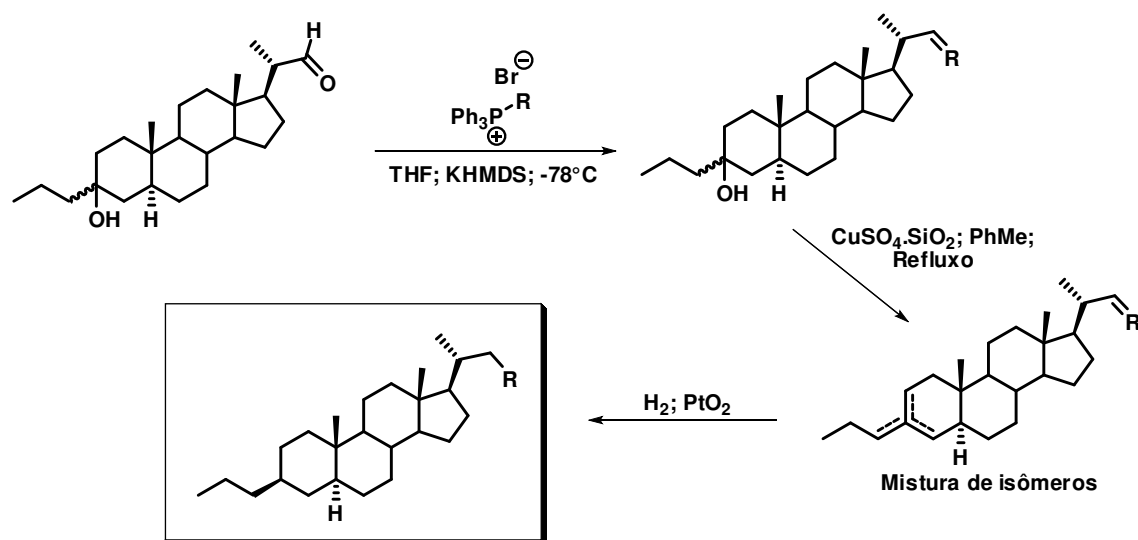
Os compostos desejados possuem de 8 a 10 centros assimétricos em suas estruturas. Uma vez que esses centros fornecem informações importantes sobre o petróleo é absolutamente essencial conhecer suas configurações e, conseqüentemente, os padrões devem ser preparados a partir destes requisitos. Para tanto foi escolhido um material de partida que possuísse a maioria dos centros assimétricos já definidos e uma estrutura química semelhante aos padrões desejados. Além disso, desenvolveu-se uma rota sintética que levasse às transformações químicas e à formação dos demais centros assimétricos. O estigmasterol foi o produto de partida escolhido por ter, de início, sete dos centros assimétricos desejados. Dessa forma, a síntese se baseou na obtenção de um hidróxi-aldeído que foi o composto intermediário chave para a obtenção dos padrões (Esquema 1).



Esquema 1: Síntese do intermediário chave a partir do Estigmasterol.

Em uma segunda etapa este intermediário foi utilizado em uma série de alquilações através de reações de Wittig com diferentes cadeias alquílicas, seguidas de

desidratação com $\text{CuSO}_4 \cdot \text{SiO}_2$ em tolueno sob refluxo e hidrogenação catalítica com PtO_2 (Esquema 2).



Esquema 2: Síntese dos padrões hidrocarbonetos identificados na sua forma ácida nas amostras de petróleo.

3.2 Resultados e discussão

3.2.1 Obtenção da Estigmastenona

Partindo-se do Estigmasterol **17** foi feita uma oxidação de Oppenauer na presença de isopropóxido de alumínio e ciclohexanona sob tolueno em refluxo. Após o tratamento e purificação da reação, obteve-se a Estigmastenona **18** com 85% de rendimento, cristais brancos, ponto de fusão 123,0 – 124,2 °C (Figura 14).

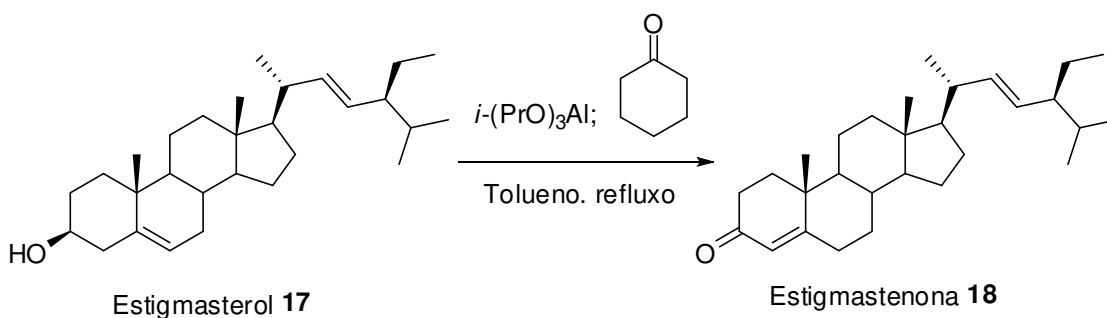


Figura 14: Oxidação de Oppenauer do Estigmasterol 15.

O mecanismo da reação consiste na formação de um estado de transição (ET) de seis membros através da complexação do substrato (álcool) e do oxidante (cicloexanona) com o íon metálico (alumínio). Ao se coordenar com o alumínio, a cicloexanona é ativada para a transferência de hidrogênio do alcóxido, formando o ET de seis membros (Figura 15). A migração da ligação dupla para a posição α,β é característica de álcoois homoalílicos para essa reação (GRAAUW, 1994).

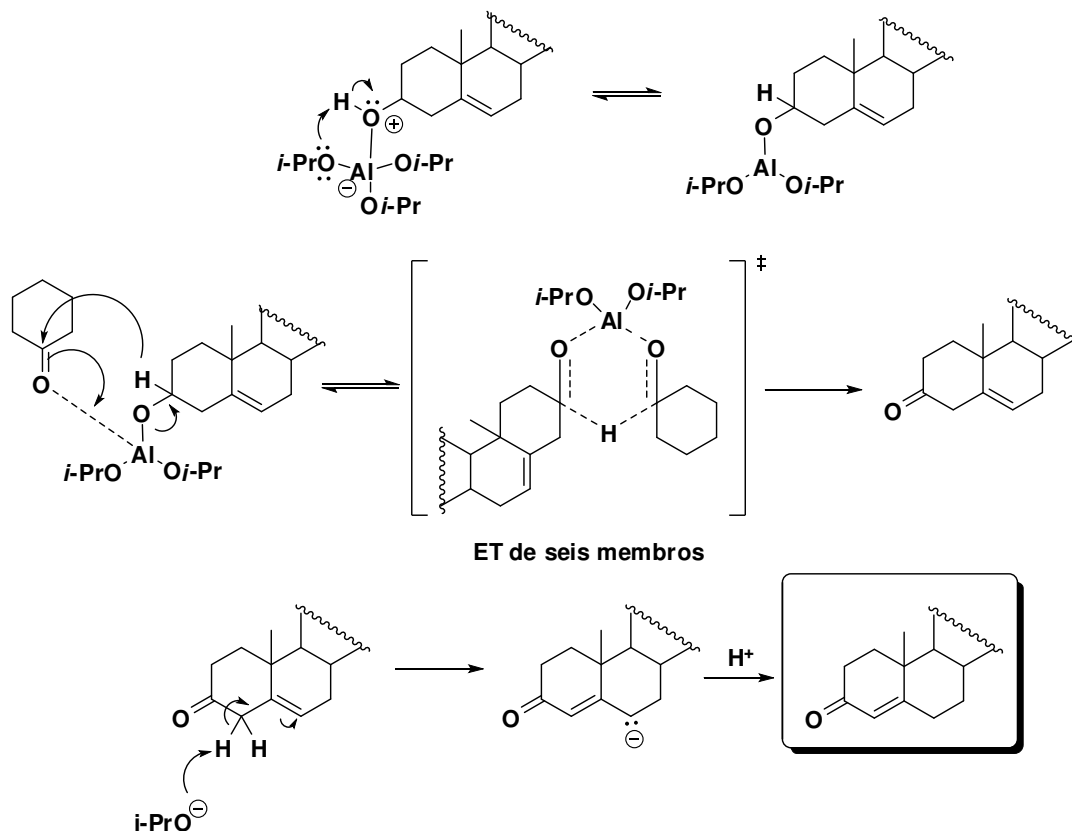


Figura 15: Mecanismo da oxidação de Oppenauer do estigmasterol.

No espectro de massas (Figura 56, Apêndice), destacam-se os sinais gerados pelos íons: m/z 410, correspondente ao íon molecular; m/z 395, correspondente à perda de metila (em C-10 ou C-13); m/z 381, correspondente à perda de etila em C-24; m/z 271, correspondente à perda da cadeia lateral ligada ao C-17 ($C_{10}H_{19}$); m/z 367, correspondente à perda do grupo isopropila ligado ao C-24, cujos fragmentos estão indicados na Figura 16.

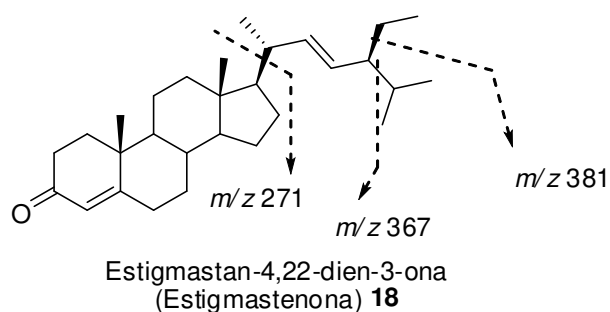


Figura 16: Principais fragmentos do espectro de massas da Estigmastenona (70 eV).

No espectro de RMN de 1H (Figura 57, Apêndice), destacam-se os picos referentes aos hidrogênios ligados a carbonos sp^2 , sendo um em 5,73 ppm correspondente ao próton olefínico α à carbonila (H-4) e dois duplo-dupletos (5,16 e 5,03 ppm) correspondentes aos prótons H-22 e H-23.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 58, Apêndice), observam-se os sinais dos 29 carbonos da molécula, destacando-se o sinal em 199,7 ppm referente ao carbono carbonílico (C-3) e os sinais de carbonos sp^2 em 171,7; 138,1; 129,4 e 123,7 ppm (C-5, C-22, C-23 e C-4, respectivamente).

No espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135 e DEPT-90) (Figura 59 e Figura 60, Apêndice), destacam-se os 4 sinais de metila (CH_3), 9 sinais dos carbonos metilênicos (CH_2) e 9 sinais de CH.

3.2.2 Obtenção da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona

Após a oxidação de Oppenauer foi feita uma redução estereosseletiva (formação preferencial do produto 5 α (H)) e regioseletiva (redução apenas da dupla entre C-4 e C-5). A redução de Birch utilizando Li metálico dissolvido em NH₃ líquida na presença de uma fonte de prótons atua especificamente em compostos aromáticos, alcenos conjugados e carbonilas α,β -insaturadas, além de ser conhecida como uma metodologia que leva à formação de produtos com estereoquímica 5 α (H) (BOWERS, 1958).

Após a reação de Birch, obteve-se um sólido branco, ponto de fusão 169,8 – 172,6 °C referente à 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona **19** em 78% de rendimento (Figura 17).

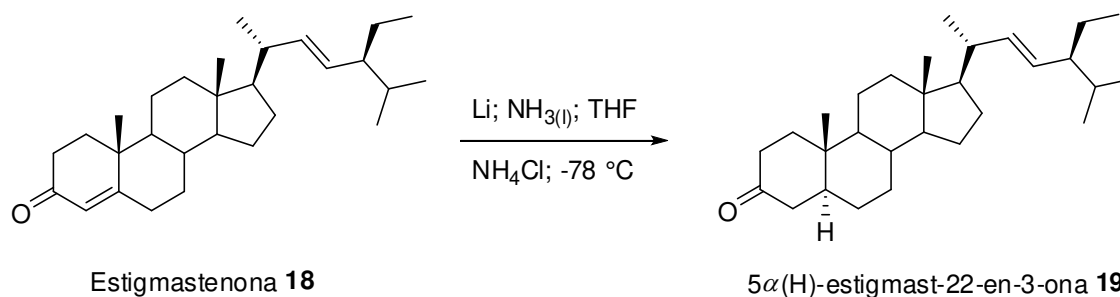


Figura 17: Redução de Birch da Estigmastenona e obtenção da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona.

Como os elétrons do sistema π estão conjugados, o ânion radicalar formado pela adição de um elétron proveniente da oxidação do Li metálico é um híbrido de ressonância e, assim, é possível reduzir tanto a carbonila quanto o alceno (Figura 18).

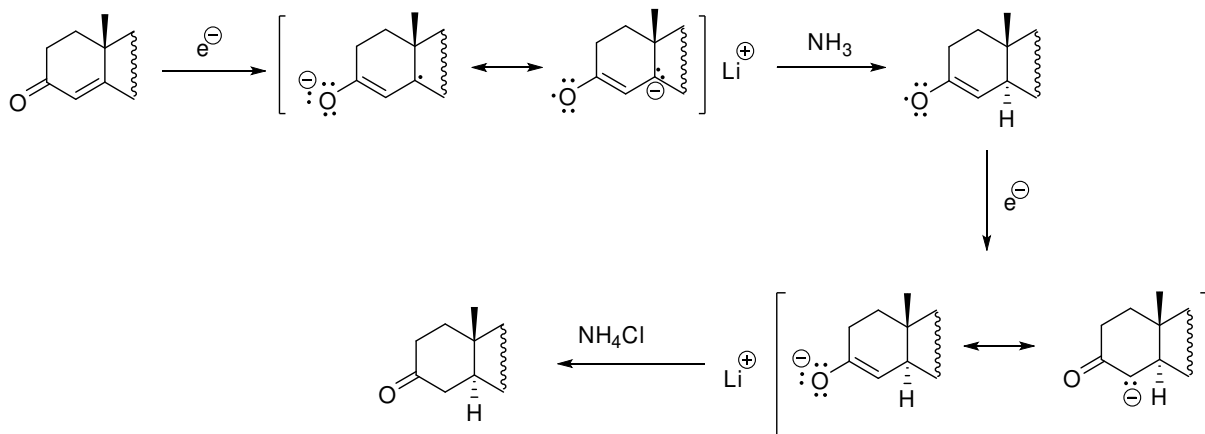


Figura 18: Mecanismo da redução de Birch.

Nas reações realizadas foi observada a formação da cetona **(19)** e do álcool correspondente na proporção 7:1.

No espectro de massas (Figura 61, Apêndice), destacam-se os sinais: m/z 412 referente ao íon molecular; m/z 273 correspondente à perda da cadeia lateral ligada ao C-17 ($C_{10}H_{19}$); m/z 369, correspondente à perda do grupo isopropila ligado ao C-24; m/z 231 correspondente ao fragmento ABC cujos fragmentos estão indicados na Figura 19.

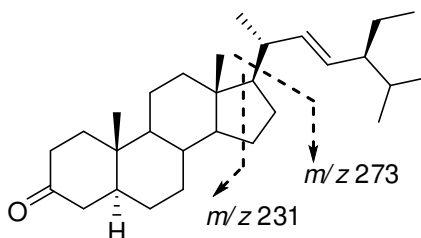


Figura 19: Principais fragmentos do espectro de massas da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona (70 eV).

No espectro de RMN de 1H (Figura 62, Apêndice), observa-se o desaparecimento do pico do H-4 que na cetona precursora aparecia em 5,73 ppm.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 63, Apêndice), destacam-se as mudanças nos deslocamentos químicos dos carbonos C-4 e C-5 que passaram de 123,7 e 171,7 (no precursor **(18)**) para 44,7 e 46,7 ppm no produto **(19)**. Além disso, houve mudança no deslocamento do carbono carbonílico C-3 de 199,7 para 212,2 ppm devido à perda da conjugação.

No espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) (Figura 64, Apêndice), observa-se o aparecimento do C-5 (CH) e a inversão da fase do C-4 (CH_2).

3.2.3 Obtenção do 3-propil-5 α (H)-estigmast-22-en-3-ol

A alquilação na posição 3 foi realizada através de uma reação de Grignard, utilizando-se brometo de propila e Mg em THF seco seguido da adição do substrato (**19**) dissolvido em THF.

Após a análise por CCD (Hex/AcOEt 9:1) e GC/MS, observou-se a formação de uma mistura de dois álcoois. Os produtos formados são: 3 β -propil-5 α (H)-estigmast-22-en-3-ol **20** (PF = 141,8 – 142,4 °C) e 3 α -propil-5 α (H)-estigmast-22-en-3-ol **21** (PF = 112,4 – 113,3 °C) (Figura 20). Uma vez que ambos os produtos levam a uma mistura de alcenos na etapa de desidratação e ao mesmo composto quando submetidos à hidrogenação catalítica, a mistura de álcoois não representa problemas para as demais etapas.

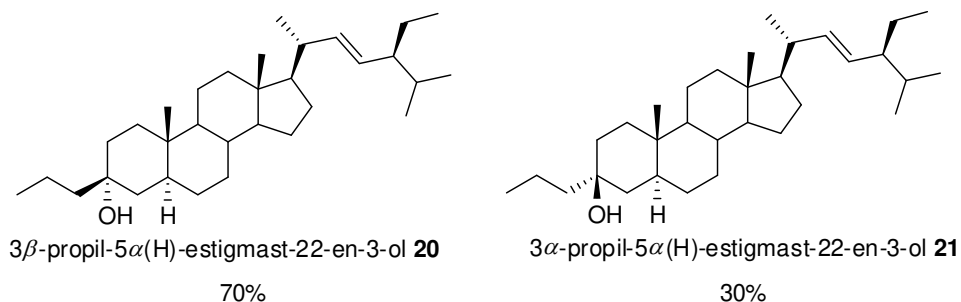


Figura 20: Produtos da reação de Grignard a partir da 5 α (H)-estigmast-22-en-3-ona.

No espectro de massas dos compostos (**20**) (Figura 66, Apêndice) e (**21**) (Figura 71, Apêndice), destacam-se os sinais: m/z 456 correspondente ao íon molecular; m/z 413, referente à perda de propila em C-3; m/z 438, referente à perda de água; m/z 317, correspondente à perda da cadeia lateral ligada ao C-17 ($\text{C}_{10}\text{H}_{19}$); m/z 276, referente ao anel ABC (Figura 21).

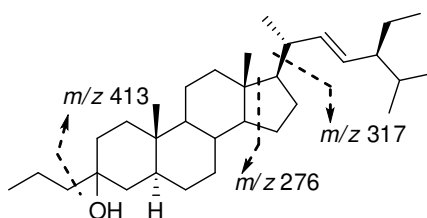


Figura 21: Principais fragmentos encontrados no espectro de massas dos compostos (20) e (21) (70 eV).

Os espectros de RMN de ^1H dos compostos **(20)** (Figura 67, Apêndice) e **(21)** (Figura 72, Apêndice) são bem semelhantes ao da $5\alpha(\text{H})$ -estigmast-22-en-3-ona **17**.

As maiores diferenças estão nos espectros de RMN de ^{13}C , onde estão presentes os picos referentes aos carbonos carbinólicos (71,7 ppm – composto **(20)**; 73,0 ppm – composto **(21)**).

Segundo Lopes (1997) para a série colestano, a análise dos espectros de RMN ^{13}C destes compostos também permite inferir acerca da configuração do grupo R em C-3. Baseando-se em dados da literatura (WINTER, 2004), o deslocamento do C-1' é menor quando o grupo propil está na posição axial (41,1 ppm) em relação à posição equatorial (46,9 ppm) (Figura 22). Com o substituinte (propil) na posição axial, têm-se interações entre o orbital ligante da ligação C2-H_{ax} e o orbital anti ligante da ligação C3-

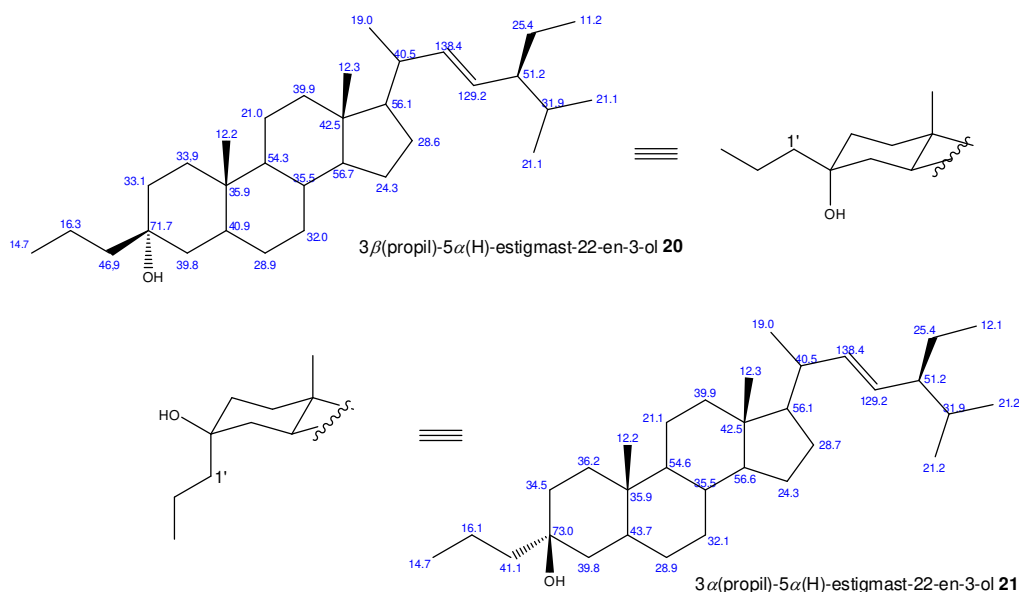


Figura 22: Deslocamentos químicos (δ em ppm) de ^{13}C dos álcoois.

3.2.4 Obtenção do hidróxi-aldeído:

O aldeído-chave (**21**) foi obtido através de uma reação de ozonólise a partir dos álcoois (**18**) e (**19**) sintetizados na etapa anterior.

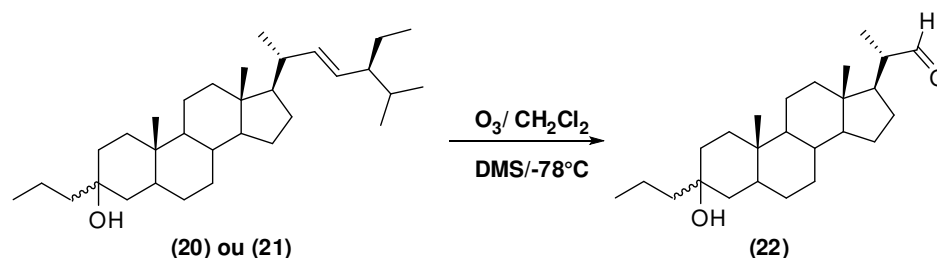


Figura 23: Síntese do intermediário (22) a partir dos álcoois (20) e (21).

No espectro de massas (Figura 76, Apêndice), observam-se os sinais: m/z 374 (íon molecular); m/z 356 referente à perda de água; m/z 331 devido à perda do radical propila ligado em C-3 e m/z 215 referente aos anéis ABC.

No espectro de RMN de 1H (Figura 77, Apêndice), observa-se o pico em 9,55 ppm referente ao próton do aldeído.

Já no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 78, Apêndice), estão presentes 25 sinais, dos quais se destaca o pico em 205,2 ppm característico de carbonilas de aldeídos. Além disso, houve o desaparecimento dos sinais dos carbonos sp^2 C-22 e C-23 presentes nos compostos anteriores.

3.2.5 Reações de alquilação em C-22

O aldeído (**22**) obtido na etapa anterior é suscetível de se enolizar fazendo com que o centro assimétrico em C-20 seja epimerizado (Figura 24). Entretanto, conservando o produto em geladeira por pequenos períodos, indicando que se trata de

um equilíbrio lento, foi possível realizar as alquilações logo após a reação de ozonólise sem maiores dificuldades.

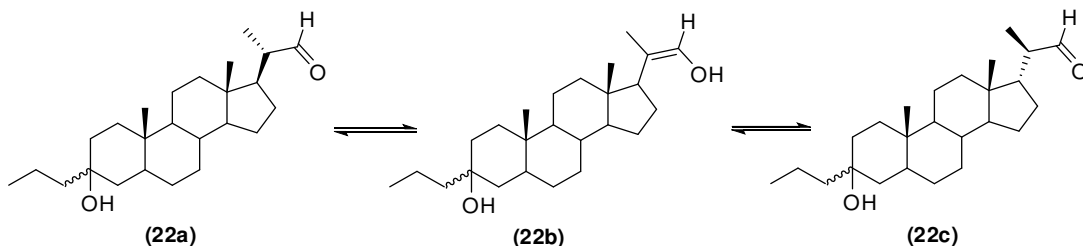


Figura 24: Tautomerização do aldeído e epimerização do centro assimétrico α à carbonila.

As alquilações em C-22 podem ser feitas tanto por reação de Wittig quanto por Grignard (Figura 25).

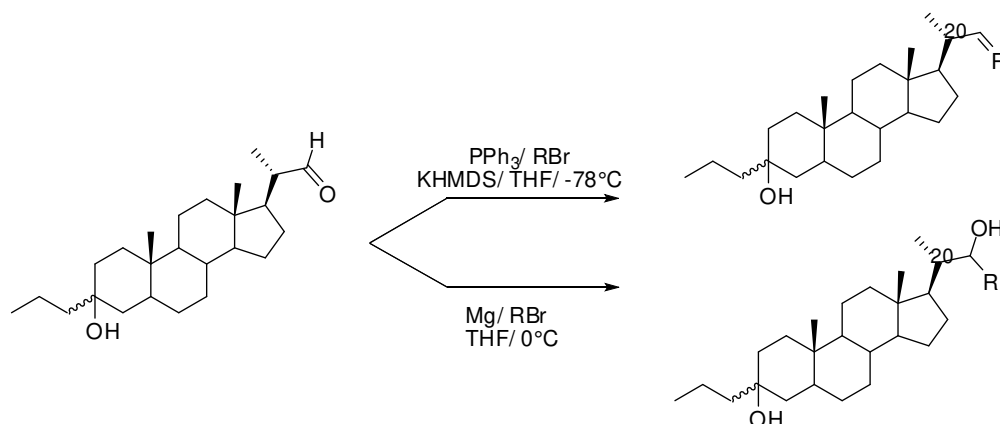


Figura 25: Produtos obtidos após as reações de Wittig e Grignard.

Apesar da reação de Grignard ser mais prática (a formação do agente alquilante é realizada *in situ*) e de maior rendimento, a etapa posterior de desidratação promove a perda do centro assimétrico em C-20, uma vez que o carbocátion formado (C-22) rearranja para o carbono terciário vizinho mais estável. Em uma tentativa de contornar esse problema, pensou-se em realizar a mesilação do álcool secundário seguida da substituição com LiAlH_4 . Porém, em teste realizado com o colesterol, a reação com o LiAlH_4 levou à formação do álcool novamente (Figura 26). Portanto, a reação de Wittig é de maior interesse nesse trabalho.

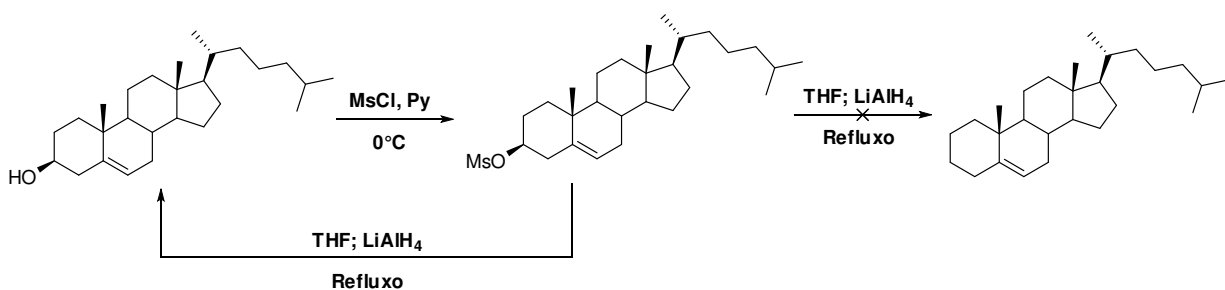


Figura 26: Teste de mesilação e substituição com LiAlH_4 .

Na reação de Wittig do aldeído **(22)** com $[(\text{Ph})_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3]\text{Br}^-$ e $[(\text{Ph})_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_3]\text{Br}^-$, utilizando-se BuLi como base, obteve-se 47% e 16% de rendimento, respectivamente. Quando a base utilizada foi KHMDs os rendimentos subiram para 76% e 70%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1: Reações de alquilação realizadas a partir do synthon (21).

R	Produto	Rendimento (%)
Propil	 (23)	76
Metil	 (24)	75
Etil	 (25)	70
2-metilpropil	 (26)	62

3.2.5.1 Interpretação dos espectros de GC/MS

O espectro de massas do composto **(23)** (Figura 81, Apêndice) apresenta os seguintes sinais: m/z 400, referente ao íon molecular; m/z 357, referente à perda do grupo propila ligado ao C-3; m/z 317, devido à perda do fragmento ligado ao C-17 e pico base m/z 43 (Figura 27a).

No espectro de massas do composto **(24)** (Figura 86, Apêndice), observam-se os seguintes sinais: m/z 372, referente ao íon molecular; m/z 354, devido à perda de água; m/z 329 (pico base), referente à perda do fragmento propil em C-3 (Figura 27b).

No espectro de massas do composto **(25)** (Figura 91, Apêndice), estão presentes os seguintes sinais: m/z 386, referente ao íon molecular; m/z 368, referente à perda de uma molécula de água; m/z 343, referente à perda do grupo propil; m/z 317, referente à perda da cadeia lateral ligada ao C-17; m/z 257, referente aos anéis ABCD e pico base m/z 69 (Figura 27c).

Para o composto **(26)**, o espectro de massas (Figura 96, Apêndice) mostra os sinais: m/z 414, referente ao íon molecular; m/z 396, referente à perda de uma molécula de H_2O ; m/z 371, devido à perda do grupo propil em C-3; m/z 299, referente ao anel BCD (Figura 27d).

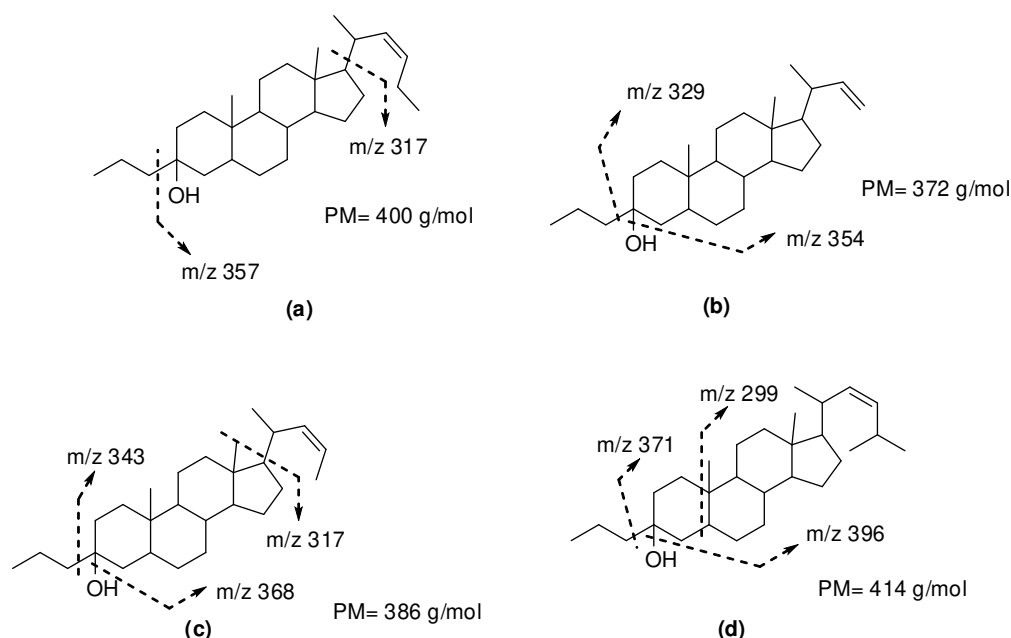


Figura 27: Principais fragmentos encontrados no espectro de massas (70 eV); a) composto (23); b) composto (24); c) composto (25); d) compostos (26).

3.2.5.2 Interpretação dos espectros de carbono

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **(23)** (Figura 83, Apêndice), observam-se 28 picos, dos quais se destacam os sinais em 136,1 e 128,2 ppm referentes aos carbonos sp^2 da cadeia alquílica proveniente da reação de Wittig e o sinal em 73,0 ppm referente ao carbono carbinólico C-3. No espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) (Figura 84, Apêndice), não estão presentes os picos em 73,0; 42,6 e 36,0 ppm, referentes aos carbonos quaternários C-3, C-13 e C-10, respectivamente. Além disso, estão presentes 12 picos referentes aos grupos metilênicos. No espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) (Figura 85, Apêndice), observam-se 8 carbonos metínicos.

No espectro de RMN de ^{13}C do composto **(24)** (Figura 88, Apêndice), observam-se 26 linhas espectrais, sendo 2 picos referentes aos carbonos sp^2 C-22 e C-23 em 145,3 (CH) e 111,4 ppm (CH_2), respectivamente. Além disso, observa-se um pico em 71,6 ppm referente ao carbono quaternário C-3. Nos espectros de RMN de ^{13}C (DEPT-

135) (Figura 89, Apêndice) e (DEPT-90) (Figura 90, Apêndice), observam-se outros 2 carbonos quaternários, 7 grupos metínicos, 12 grupos metilênicos e 4 grupos metílicos.

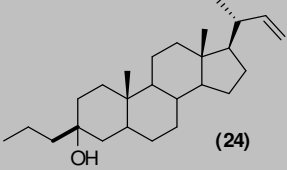
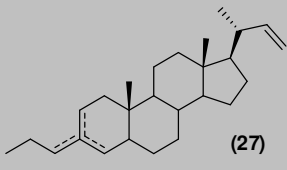
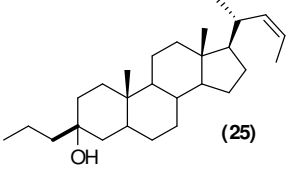
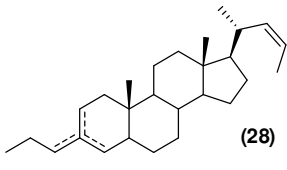
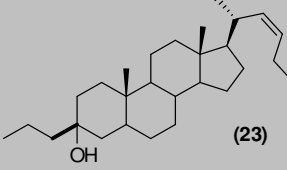
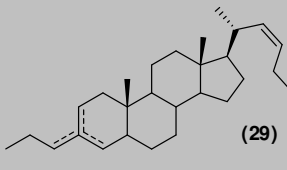
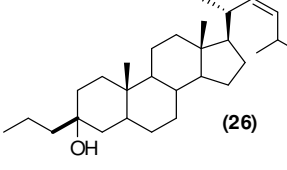
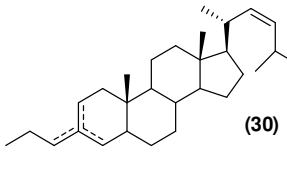
No espectro do composto **(25)** (Figura 93, Apêndice), estão presentes 27 picos, sendo um referente ao carbono carbinólico (73,0 ppm) e dois referentes aos carbonos sp^2 em 137,7 (CH) e 120,3 ppm (CH). Nos espectros de RMN de ^{13}C (DEPT-135) (Figura 94, Apêndice) e (DEPT-90) (Figura 95, Apêndice), observam-se 3 carbonos quaternários (73,0 ppm – C-3; 42,6 ppm – C-13; 36,0 ppm – C-10), 8 grupos metínicos, 11 grupos metilênicos e 5 grupos metílicos.

No espectro do composto **(26)** (Figura 98, Apêndice), observam-se 29 picos, destacando-se os sinais em 134,2 ppm e 134,1 ppm referentes aos carbonos insaturados (sp^2). Observa-se também um pico em 71,7 ppm referente ao C-3. Nos espectros de RMN de ^{13}C (DEPT-135) (Figura 99, Apêndice) e (DEPT-90) (Figura 100, Apêndice), observam-se outros dois carbonos quaternários (42,5 ppm – C-13; 35,9 ppm – C-10), 9 grupos metínicos (CH), 11 grupos metilênicos (CH_2) e 6 grupos metílicos (CH_3).

3.2.6 Desidratação dos álcoois

Após as reações de alquilação, foram realizadas as desidratações com $CuSO_4.SiO_2$. A eliminação do grupo OH ocorre através da ativação dos orbitais de fronteira após a complexação do Cu^{2+} (ácido de Lewis), enfraquecendo a ligação C–O. A desidratação dos álcoois leva à formação de uma mistura de alcenos de difícil separação e, portanto, não é possível fazer uma interpretação dos dados obtidos com RMN. Tratam-se de compostos com ligações duplas endocíclicas e exocíclicas, que por hidrogenação catalítica dará um único produto com a cadeia *n*-propila na posição β .

Tabela 2: Desidratação dos álcoois com $\text{CuSO}_4 \cdot \text{SiO}_2$.

Material de Partida	Produto	Rendimento (%)
 (24)	 (27)	91
 (25)	 (28)	93
 (23)	 (29)	93
 (26)	 (30)	99

No espectro de massas da mistura **(27)** (Figura 101, Apêndice) estão presentes os seguintes sinais: m/z 354, referente ao íon molecular; m/z 339, devido à perda de uma metila; m/z 299, devido à perda da cadeia lateral ligada ao C-17 e m/z 258, referente ao anel BCD (Figura 28a).

No espectro de massas da mistura **(28)** (Figura 102, Apêndice) estão presentes os seguintes sinais: m/z 368, referente ao íon molecular; m/z 353, devido à perda de uma metila; m/z 299, devido à perda da cadeia lateral ligada ao C-17; m/z 326, referente à perda do grupo ligado à C-3 e m/z 272, referente ao anel BCD (Figura 28b).

No espectro de massas da mistura **(29)** (Figura 103, Apêndice) estão presentes os seguintes sinais: m/z 382, referente ao íon molecular; m/z 367, devido à perda de uma metila; m/z 329, devido à perda da cadeia lateral ligada ao C-17 (Figura 28c).

No espectro de massas da mistura **(30)** (Figura 104, Apêndice) estão presentes os seguintes sinais: m/z 396, referente ao íon molecular; m/z 381, devido à perda de

uma metila; m/z 299, devido à perda do grupo ligado ao C-17 e m/z 353, referente à perda da cadeia lateral ligada à C-3 (Figura 28d).

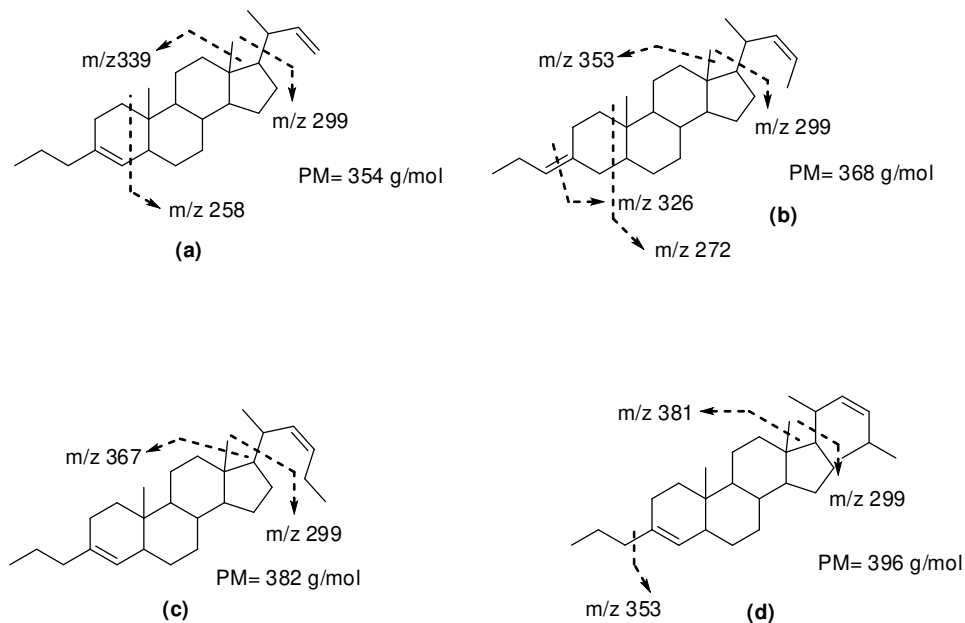


Figura 28: Principais fragmentos encontrados no espectro de massas (70 eV) a) composto (27); b) composto (28); c) composto (29); d) compostos (30).

3.2.7 Hidrogenação dos alkenos

A última etapa da síntese dos padrões de biomarcadores 3-*n*-propilergostanos consistiu na hidrogenação catalítica das misturas de alkenos com PtO₂ (20 mol%) em CH₂Cl₂:*i*-PrOH (1:1). A configuração 5 α (H) (sistema trans decalina) do substrato induz à obtenção de um único produto no qual o grupo *n*-propila fica em posição equatorial (β) (Figura 29).

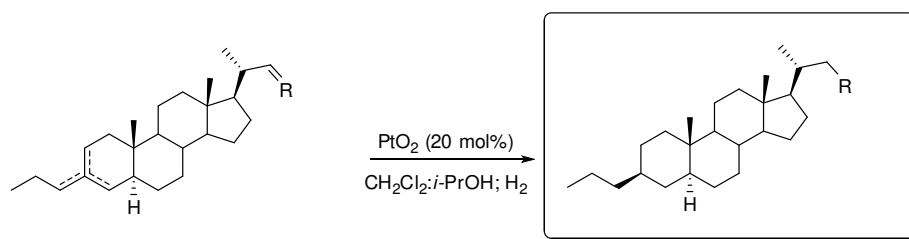


Figura 29: Hidrogenação da mistura de alcenos e formação dos padrões de biomarcadores.

Tabela 3: Hidrogenação das misturas de alcenos e obtenção dos padrões de biomarcadores.

Composto	Rendimento (%)
(11)	71
(12)	95
(13)	98
(14)	93

3.2.7.1 Interpretação dos espectros de massas:

As Figura 105 a Figura 125 (Apêndice), apresentam os respectivos espectros de massas dos padrões. Nos espectros desses compostos, destacam-se como principais picos os que estão indicados na Figura 30 e na Tabela 4, que correspondem:

- Ao íon molecular;
- À perda de metila em C-10 ou C-13;
- Ao fragmento relativo aos anéis AB (fragmento AB);
- Ao fragmento relativo aos anéis ABC (fragmento ABC);
- Ao fragmento relativo à perda do anel A (fragmento BCD).

Desses fragmentos, o que corresponde aos anéis AB é de fundamental importância na interpretação dos espectros de massas desses compostos, pois, como é citado por Lima (2005); Lopes (1997); Peters (1993) e como foi confirmado nos espectros dos padrões, ele pode apresentar dois valores de m/z , dependendo do caminho de fragmentação e suas abundâncias relativas são dependentes da geometria da junção dos anéis AB.

Um esquema de fragmentação que leva à formação do íon com m/z 148+R, característico de esteranos com junção A/B trans é apresentado na Figura 31, enquanto que o caminho de fragmentação que leva à formação do fragmento m/z 150+R nos alquil-esteranos com estereoquímica $5\beta(H)$ é apresentado na Figura 32.

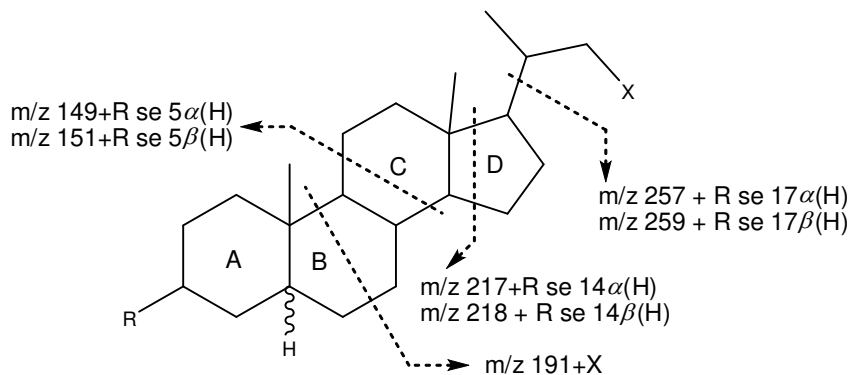


Figura 30: Principais fragmentos dos padrões de síntese dos esteranos (70 eV).

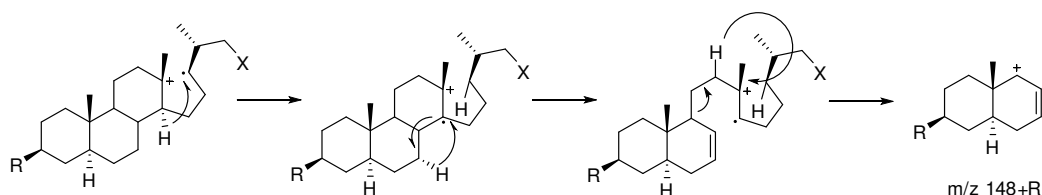


Figura 31: Esquema de fragmentação de alquil-esteranos, levando à formação do íon m/z 148+R.

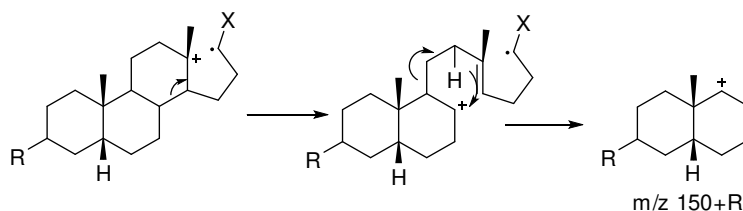


Figura 32: Esquema de fragmentação de alquil-esteranos, levando à formação do íon m/z 150+R.

Tabela 4: Principais íons presentes nos espectros de massas para os padrões $5\alpha(H)$ -esteranos.

Fragmento	Grupo alquil			
	Metil	Etil	Propil	2-metilpropil
M⁺	358	372	386	400
M-15	343	357	371	385
AB	191	191	191	191
ABC	259	259	259	259
	(100%)	(100%)	(100%)	(100%)
BCD	206	220	234	248

3.2.7.2 Interpretação dos espectros de RMN de ^{13}C :

As interpretações foram feitas por comparação com os dados da literatura (LIMA, 2005).

Como sugerido por Lopes (1997) para a série colestano, a análise dos espectros de RMN de ^{13}C destes compostos permite inferir acerca da configuração do grupo R

(propil) em C-3. Pode-se concluir que este grupo ocupa, nesta série, a posição β (equatorial), uma vez que eles não alteram significativamente os deslocamentos químicos em C-1 e C-5, quando comparados com o composto não-alkilado, o que deveria acontecer caso esse substituinte ocupasse a posição α (axial), já que assim geraria interações γ -gauche com C-1 e C-5, deslocando os sinais desses carbonos para campos mais altos (Figura 33).

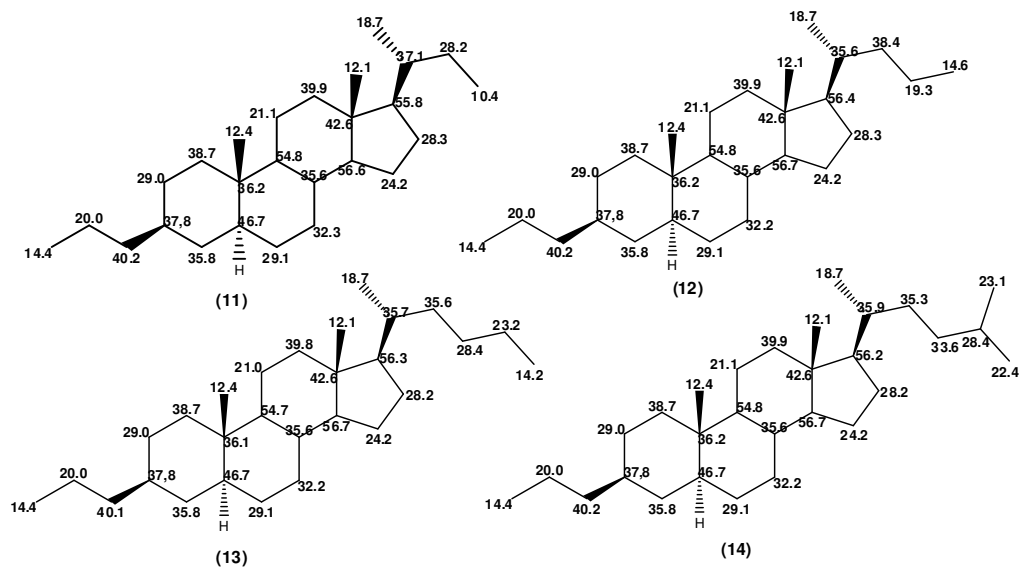


Figura 33: Atribuição dos espectros de RMN de ^{13}C (125 MHz) dos biomarcadores sintetizados (δ em ppm).

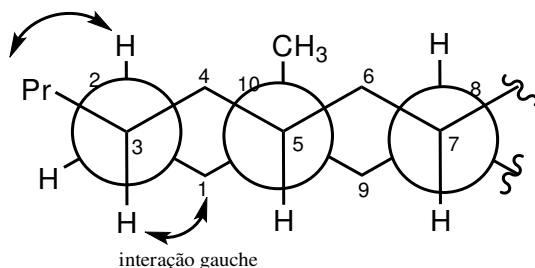


Figura 34: Projeção de Newman mostrando interações gauche dependentes da estereoquímica do substituinte em C-3.

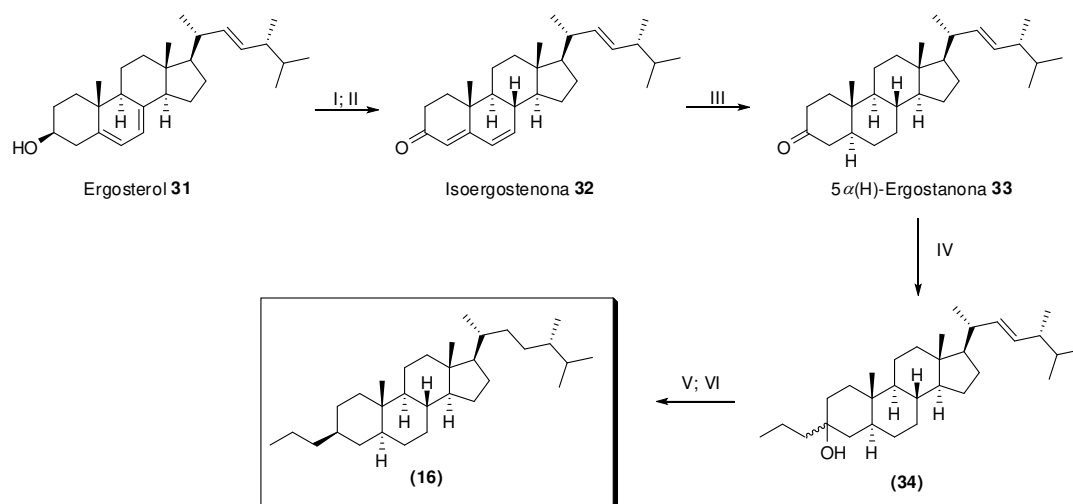
3.2.8 Síntese do padrão (16)

Diferentemente do estigmasterol que sofre redução da insaturação facilmente através de hidrogenação catalítica, o ergosterol apresenta uma dupla ligação em C-7 inerte a este tipo de redução, mesmo em condições mais severas de temperatura e pressão, como fora observado anteriormente em nosso grupo de pesquisa e também por Dorée (1948).

Wetter e Dimroth (1937) conseguiram reduzir completamente as insaturações do ergosterol via hidrogenação catalítica após prévia isomerização da dupla em C-7 para a posição C-6 através de refluxo em meio ácido. A desvantagem dessa metodologia é que a hidrogenação leva a uma mistura diastereoisomérica dos compostos $5\alpha(\text{H})$ e $5\beta(\text{H})$ de difícil purificação (BARTON, 1949). Porém, em nosso laboratório a redução de Birch foi utilizada com sucesso na redução diastereosseletiva da isoergostenona, obtendo-se o composto $5\alpha(\text{H})$ com 100% de excesso diastereoisomérico.

O padrão (16) foi sintetizado a partir do ergosterol seguindo o

Esquema 3. Uma pequena quantidade da $5\alpha(\text{H})$ -ergostanona **33** já sintetizada no laboratório foi utilizada em uma reação de Grignard com brometo de propila, obtendo-se a mistura de álcoois (**34**). Submetendo-se esses álcoois à desidratação com $\text{CuSO}_4 \cdot \text{SiO}_2$ e hidrogenação catalítica com PtO_2 , obteve-se o padrão (**16**) desejado.



Esquema 3: Síntese do padrão (16). I) oxidação de Oppenauer; II) Isomerização; III) redução de Birch; IV) Grignard; V) desidratação; VI) hidrogenação catalítica.

4 CO-INJEÇÕES

4.1 Metodologia

No trabalho realizado por Lima e colaboradores (2010), foram utilizadas três amostras de petróleo da bacia de Campos provenientes da mesma rocha geradora, porém de reservatórios diferentes. O óleo A está bem preservado, nível PM1 da classificação de Peters (2005) e os óleos B e C, biodegradados, estão em níveis PM5 e PM6 respectivamente. A Figura 35 mostra os cromatogramas da fração neutra utilizando GC-FID, nos quais é possível perceber que os *n*-alcanos estão preservados no óleo A e exauridos nos óleos B e, principalmente, C.

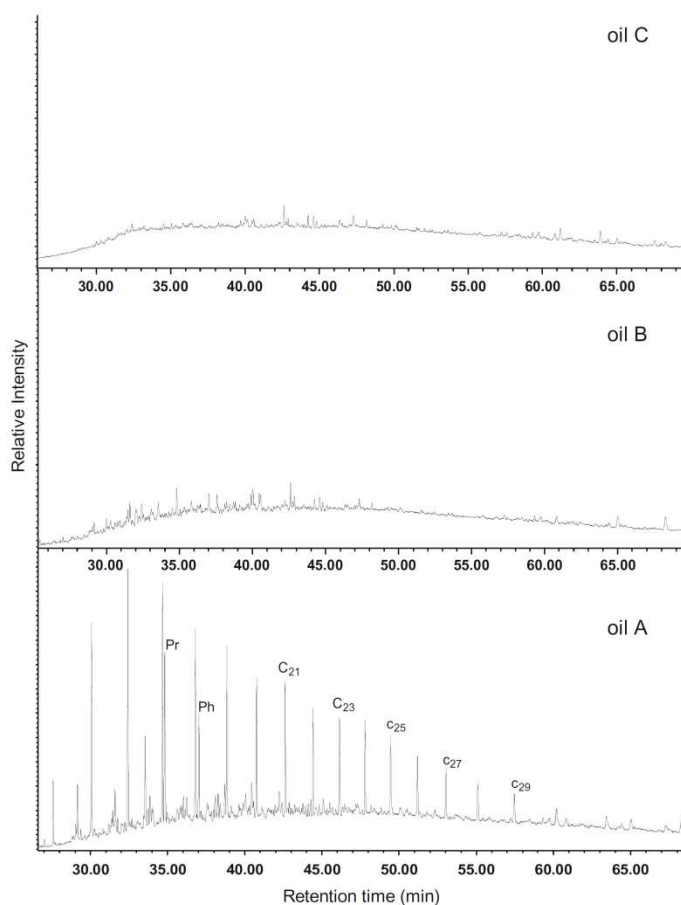
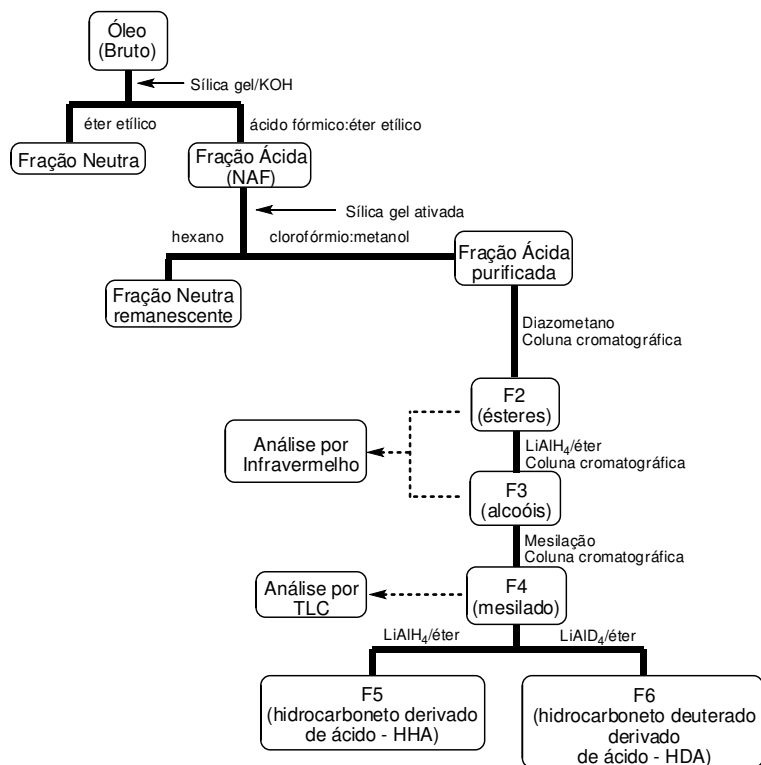


Figura 35: Cromatogramas de GC-FID das frações neutras dos óleos A, B e C (LIMA, 2010).

Nessa dissertação de mestrado foi utilizada a amostra de óleo C para a comprovação estrutural dos ácidos 3-*n*-propil norergostânicos (Figura 12) através de sua derivatização a hidrocarbonetos para co-injeção com os padrões sintéticos (Figura 13)

Para que a fração ácida da amostra de óleo possa ser analisada por GC/MS-MS, é necessário que ela seja derivatizada a hidrocarbonetos. Como o objetivo é fazer a co-injeção com os padrões sintéticos e confirmação ou não das estruturas propostas para os novos biomarcadores, todo o procedimento seguiu o roteiro de Lima (2010) e referências citadas (MELLO, 1988; KOIKE, 1992; LOPES, 1995; LOPES, 1999). Para isso a amostra de óleo foi extraída, fazendo-se passar os óleos em coluna de sílica/KOH que retém os compostos ácidos. Os compostos neutros foram eluídos com éter e em seguida os ácidos foram eluídos com éter/ácido fórmico 20% (Fração NAF). O Fluxograma 1 resume todas as etapas para a transformação dos ácidos presentes no óleo em hidrocarbonetos- HHA, para torná-los voláteis e analisáveis por GC, e hidrocarbonetos deuterados – HDA (esta etapa não faz parte dos objetivos), com o objetivo de reter a informação sobre a localização da carboxila original e passível de identificação por GC/MS e ou GC/MS-MS.



Fluxograma 1: Método para obtenção da fração de hidrocarboneto derivado de ácido (HHA).

4.2 Resultados e discussão

4.2.1 Análises da amostra de óleo

Após o processo de derivatização da fração ácida, os hidrocarbonetos resultantes (HHA) foram analisados por GC/MS-MS utilizando os métodos SCAN, SIM (m/z 259) e MRM (várias transições íon-precursor→íon produto) (Figura 36).

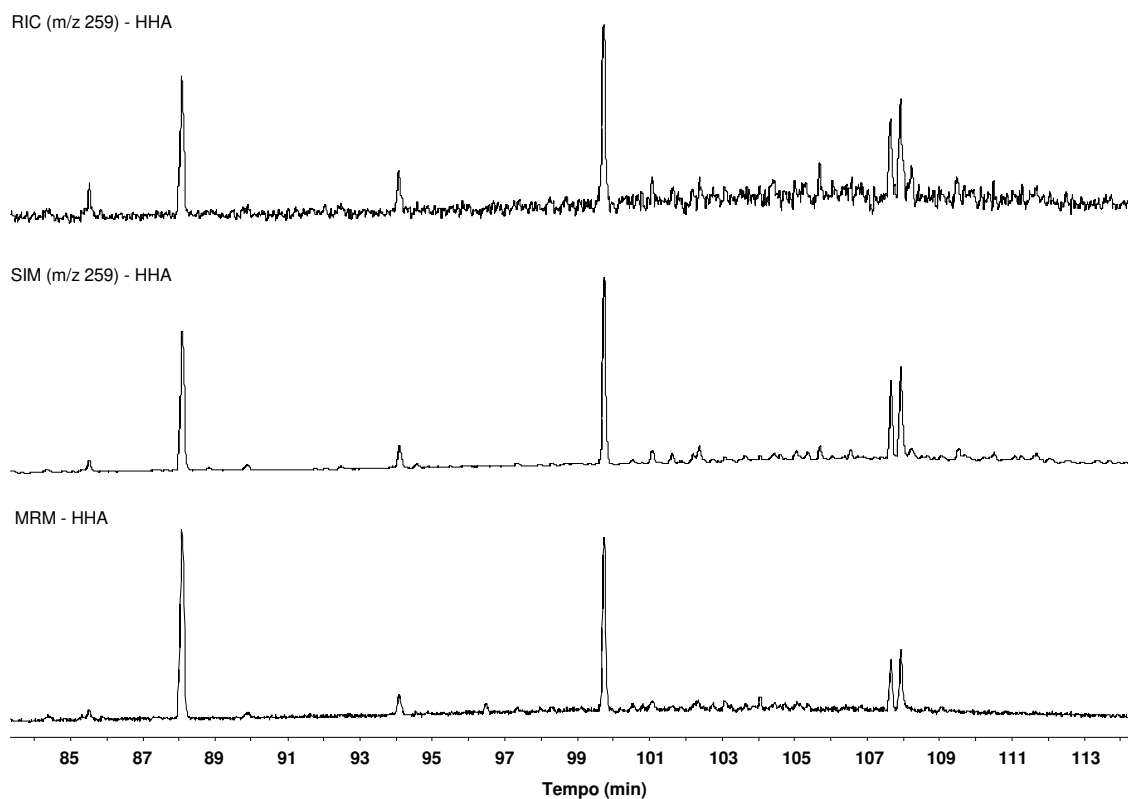


Figura 36: RIC (m/z 259), SIM (m/z 259) e MRM dos hidrocarbonetos derivados de ácido (HHA) do óleo C.

A análise por monitoramento múltiplo de reações (MRM) do HHA permitiu realizar as atribuições apresentadas na Figura 37 e na Tabela 5. Todas as análises foram feitas com a presença de β -colano como padrão interno de referência.

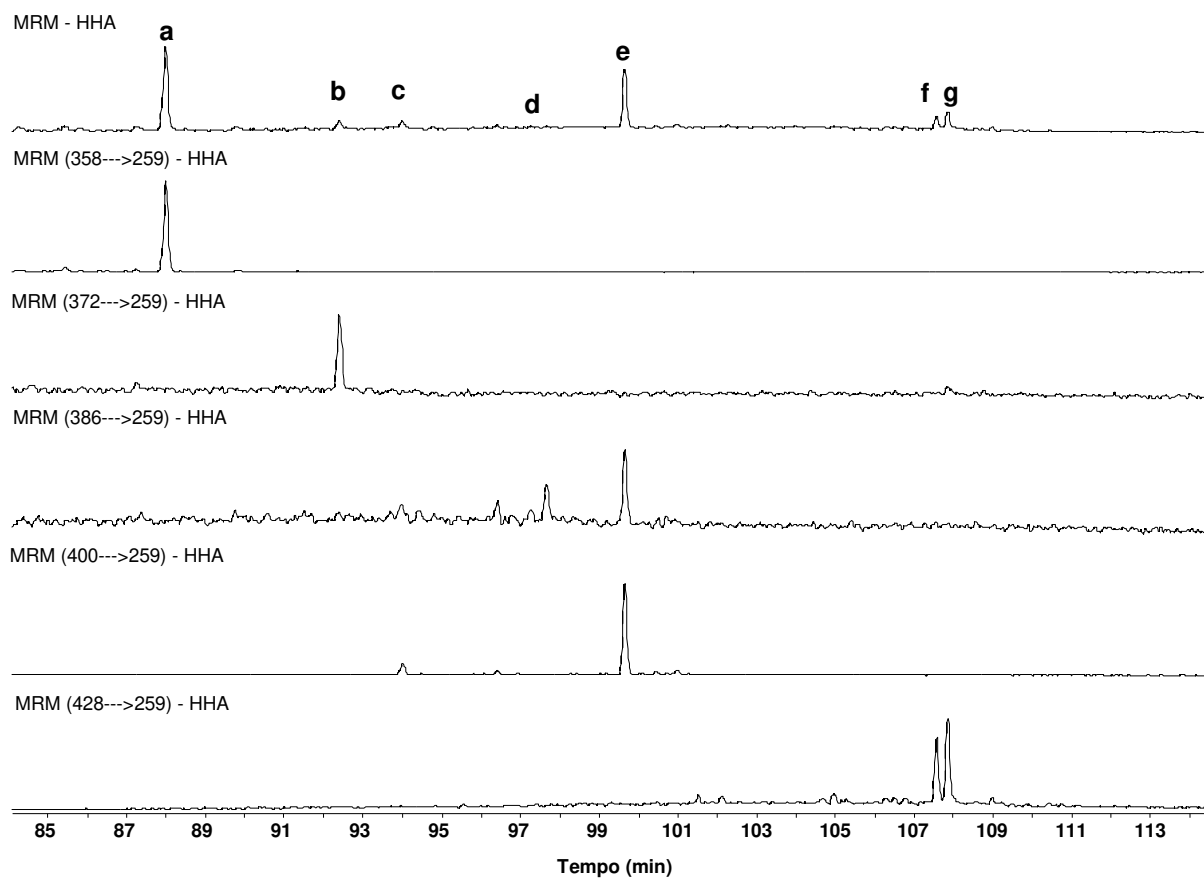


Figura 37: MRM da fração ácida derivatizada (íons precursores: m/z 358; 372; 386; 400 e 428. Íon fragmento: m/z 259).

Tabela 5: Atribuição dos picos presentes no MRM da amostra de óleo.

Pico	Composto ^a	Estereoquímica ^b
a	(3)	$5\alpha, 14\alpha, 17\alpha$
b	(4) ^c	
c,e	(6)	
d	(5)	
f, g	(8)	

^aatribuição realizada por Lima (2010);

^bproposta por Lima (2010) através da fragmentação por espectrometria de massas;

^cnão identificado por Lima (2010).

4.2.2 Análises das co-injeções

Os ácidos 3-propil-ergostanólicos foram identificados por Lima (2010) com base nos espectros de massa e respectivas fragmentações dos ésteres dos ácidos carboxílicos e dos hidrocarbonetos e hidrocarbonetos deuterados. Nessas identificações o *n*-propil foi fixado no C3 e as estereoquímicas dos centros 5 α (H), 14 α (H) e 17 α (H) estabelecidas. Não foi possível determinar as configurações em C20 (R ou S) e em C24 (R ou S) para os compostos que tenham esses centros assimétricos. A carboxila foi fixada na cadeia lateral com base na fragmentação nos espectros de massa dos derivados hidrocarbonetos e hidrocarbonetos deuterados. Entretanto os autores não determinaram com exatidão a sua posição nesta parte da molécula. Portanto, havia imprecisões que poderiam ser sanadas pela síntese de padrões. Como vimos anteriormente, nossos padrões foram sintetizados a partir do estigmasterol que tem as configurações 20R e 24S sendo 24R no dihidroestigmasterol. Portanto, havia a probabilidade de diferenças estereoquímicas entre os biomarcadores identificados nos óleos de Campos e os padrões sintetizados.

As co-injeções foram realizadas utilizando o método MRM, uma vez que esse se mostrou mais sensível que o SCAN, além de diminuir as possibilidades de co-eluição. Nessas análises, percebeu-se que os picos mais intensos mostrados na Figura 36 não correspondiam aos compostos sintetizados e propostos no trabalho de Lima (2010). Porém, observou-se a presença de picos próximos, de menor abundância, com tempos de retenção e transições íon precursor $\rightarrow$ íon produto iguais aos padrões sintetizados. Dessa forma, as co-injeções confirmaram a presença dos ácidos **(3)**, **(5)**, **(6)** e **(8)** na amostra de óleo, porém não os ácidos de maior concentração relativa. Além disso, observou-se a presença do composto **(12)**, identificando o ácido **(4)** não relatado anteriormente. As Figura 38 a Figura 42 mostram os resultados das co-injeções do óleo (HHA) com os padrões sintéticos (descritos no tópico: SÍNTESE).

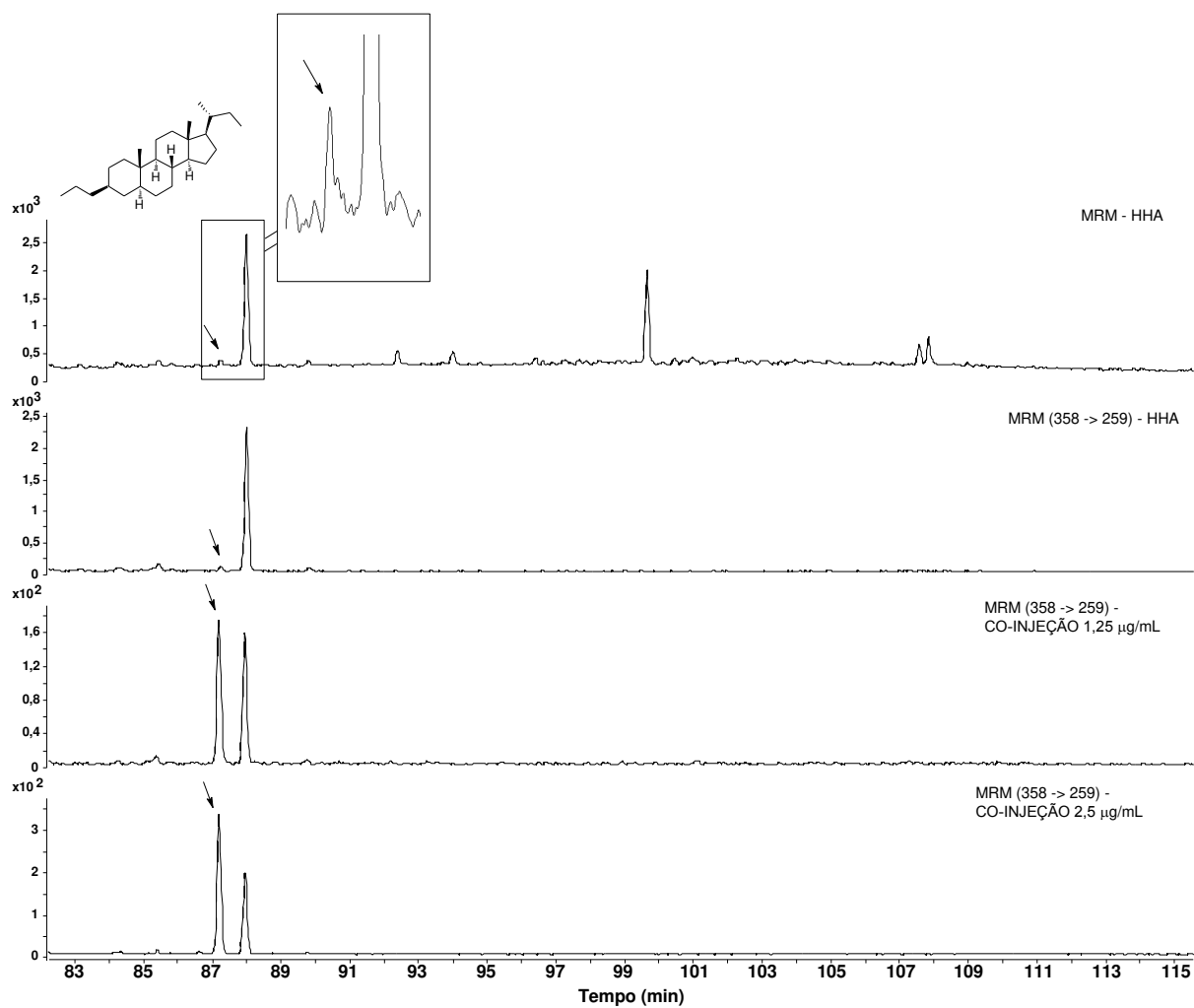


Figura 38: Co-injeção do óleo com o padrão (11) e confirmação da presença do ácido (3).

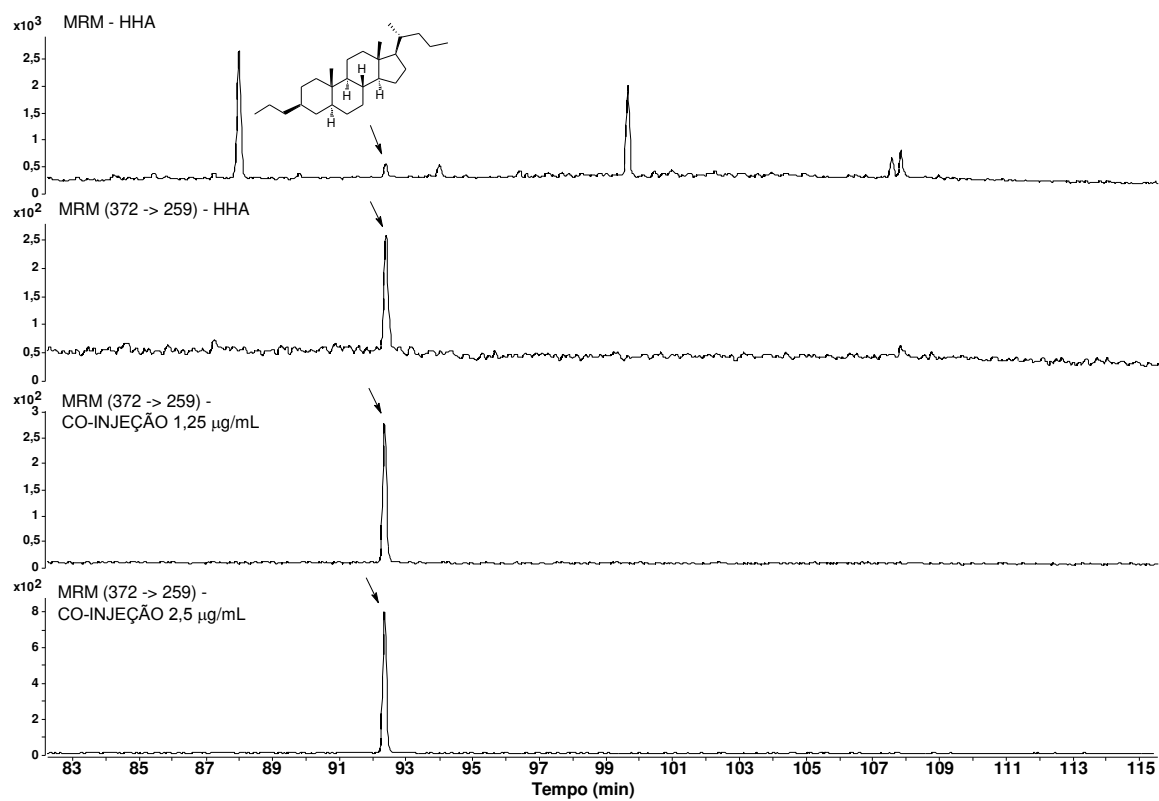


Figura 39: Co-injeção do óleo com o padrão (12) e confirmação da presença do ácido (4).

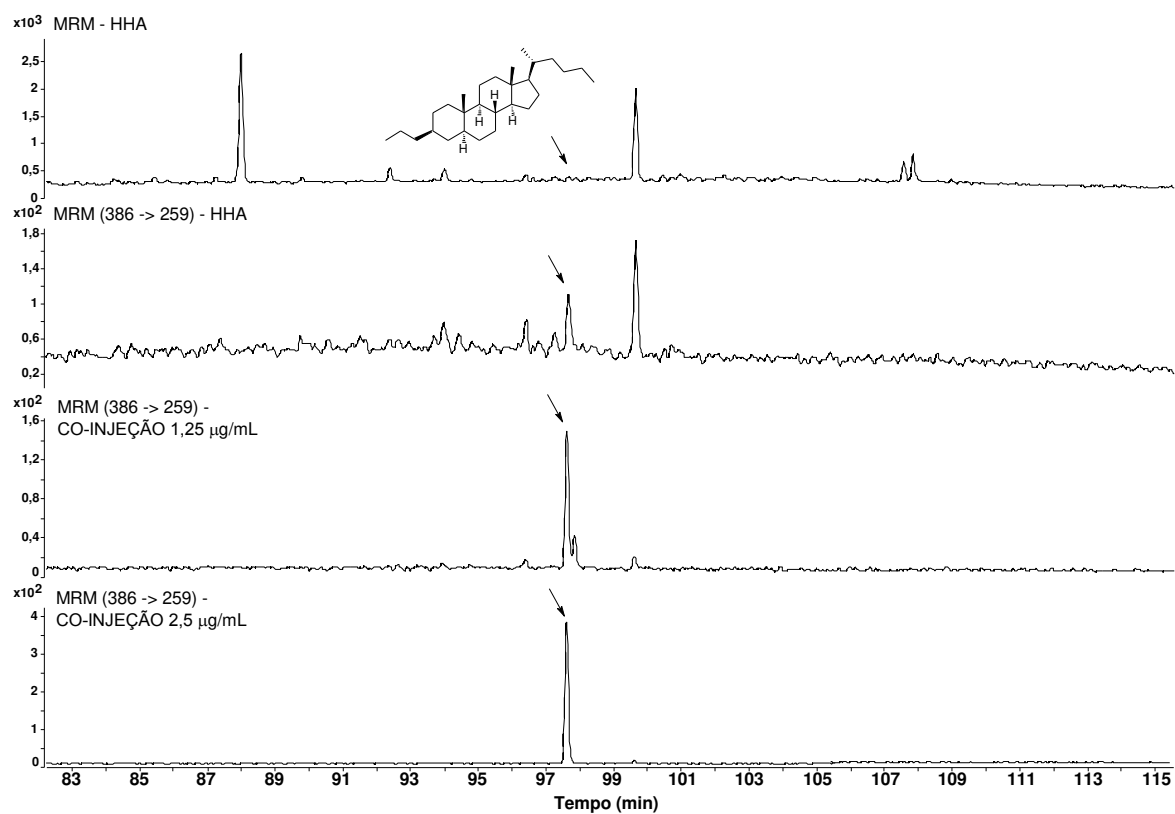


Figura 40: Co-injeção do óleo com o padrão (13) e confirmação da presença do ácido (5).

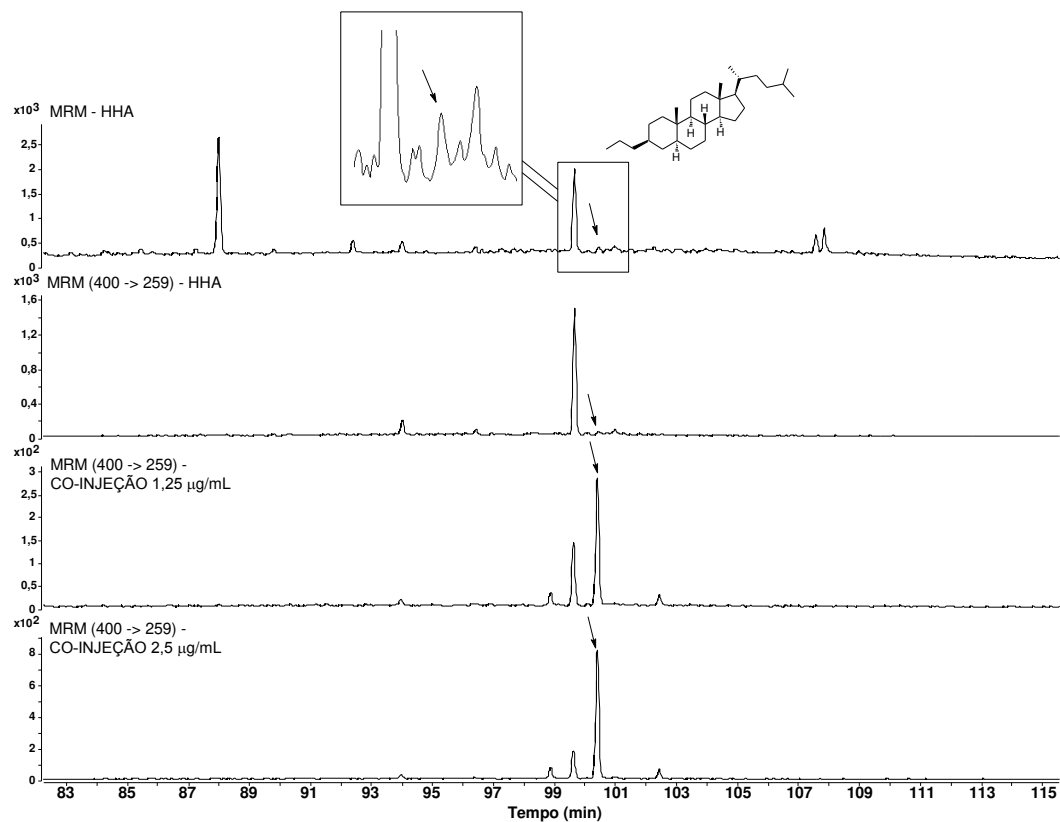


Figura 41: Co-injeção do óleo com o padrão (14) e confirmação da presença do ácido (6).

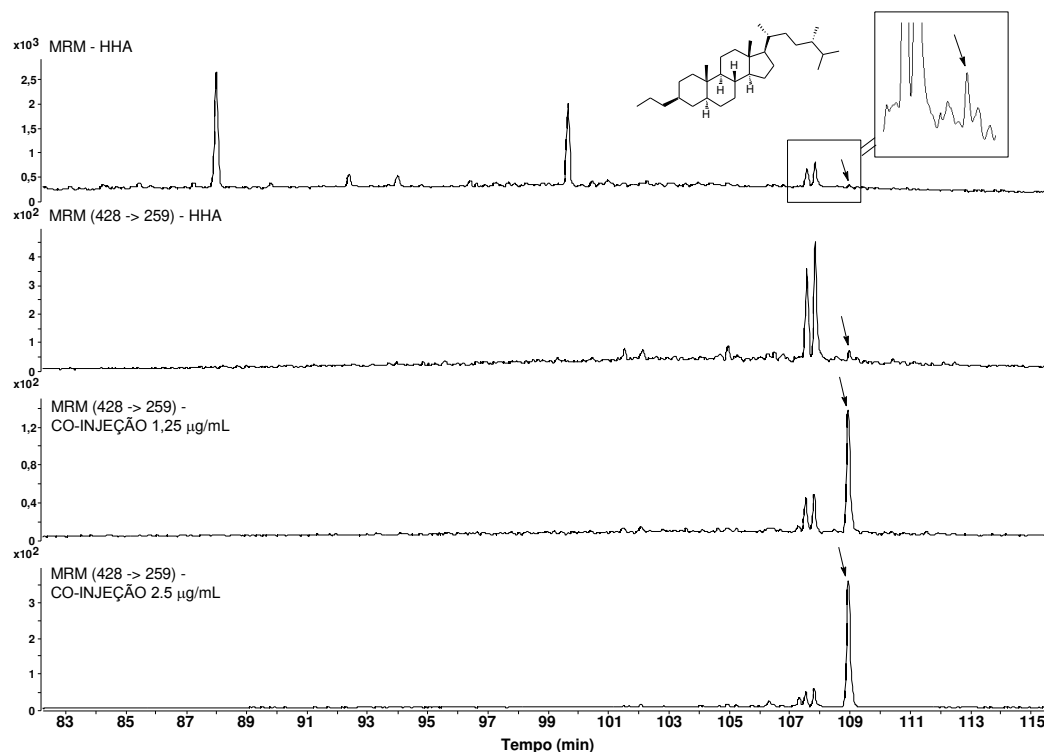


Figura 42: Co-injeção do óleo com o padrão (16) e confirmação da presença do ácido (8).

É reconhecido que os esteranos aparecem numa faixa de retenção muito pequena, após os terpanos e de difícil resolução (SEIFERT, 1978). A Figura 43 mostra uma análise SCAN do óleo HHA com os RIC's dos íons com m/z característicos de cada classe de compostos, mostrando que os compostos identificados por Lima (2010) se tratam de esteranos, uma vez que além dos dados de espectrometria de massa, aparecem na ordem de eluição esperada.

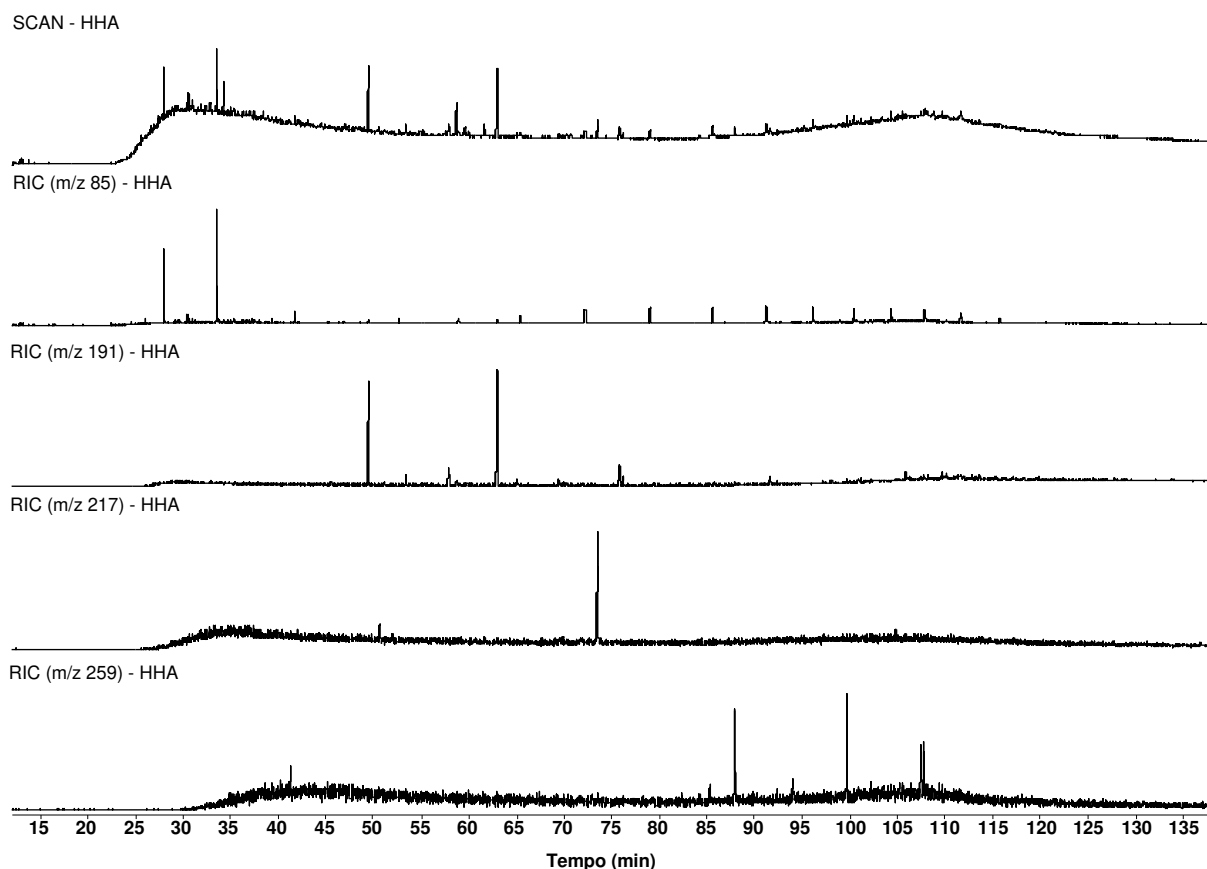


Figura 43: SCAN da amostra de óleo e RIC's dos íons característicos de cada classe de compostos (m/z 85 – n -alcanos; 191 – terpanos; 217 - esteranos e 259 – 3-propil esteranos).

Como a co-injeção dos padrões com a amostra de óleo não confirmou as estruturas dos compostos majoritários, assim como proposto por Lima (2010), tentou-se avaliar estruturas alternativas que não possuísem diferenças claras na fragmentação e, portanto, passíveis de erro na determinação sem a co-injeção com padrões sintéticos. A fim de verificar a presença dos epímeros 5α , 14α , 17α e $20S$, realizou-se a co-injeção da amostra de óleo com o padrão racêmico ($20R + S$) do composto **(14)**, porém, o mesmo não foi identificado na amostra de óleo.

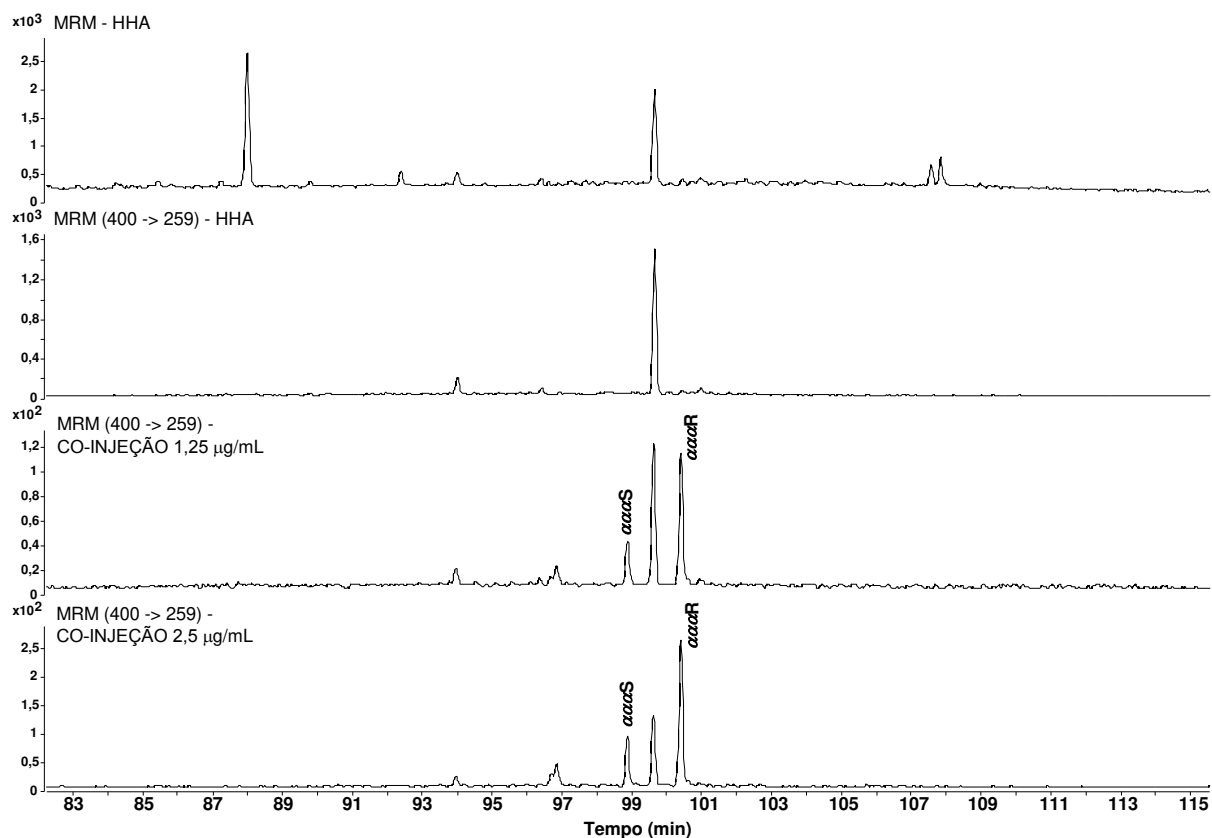


Figura 44: Co-injeção da amostra de óleo com o padrão racêmico (14) (20R + S).

Como não houve a identificação do epímero 20S, verificou-se a estereoquímica dos compostos presentes na amostra de petróleo nas posições 5, 14 e 17 através dos espectros de massas dos picos mais intensos obtidos por SCAN do HHA. Analisando-se os espectros de massas (Figura 45 a Figura 47), pode-se concluir que os compostos possuem estereoquímica $5\alpha(\text{H})$ (presença do íon com m/z 191) e $14\alpha(\text{H})$ (presença do íon m/z 259). Em relação à posição 17, os espectros de massas possuem o sinal do íon m/z 301 mais intenso do que m/z 299, sugerindo a configuração $17\beta(\text{H})$, diferentemente do proposto por Lima (2010). Porém, a confirmação poderá ser melhor realizada através da co-injeção com padrões sintéticos de estereoquímicas perfeitamente estabelecidas, uma vez que esses fragmentos (m/z 299 e 301) são pouco abundantes.

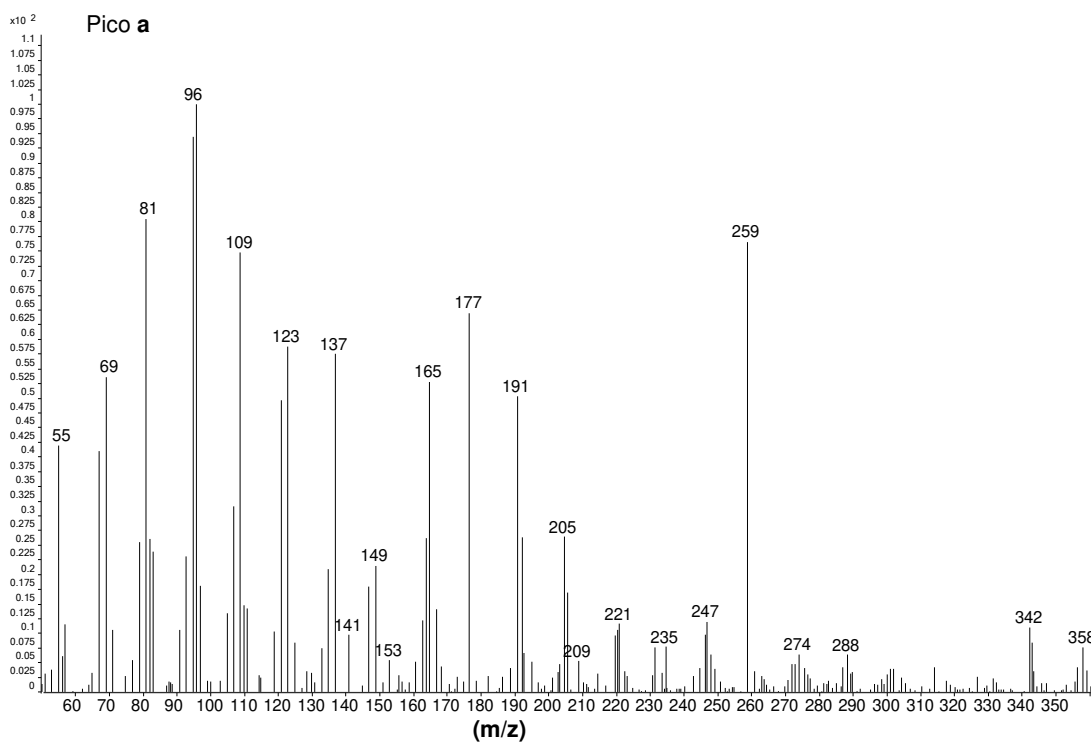


Figura 45: Espectro de massas do pico a, correspondente ao composto (3) com estereoquímica $\alpha\alpha\beta$ (20R ou S).

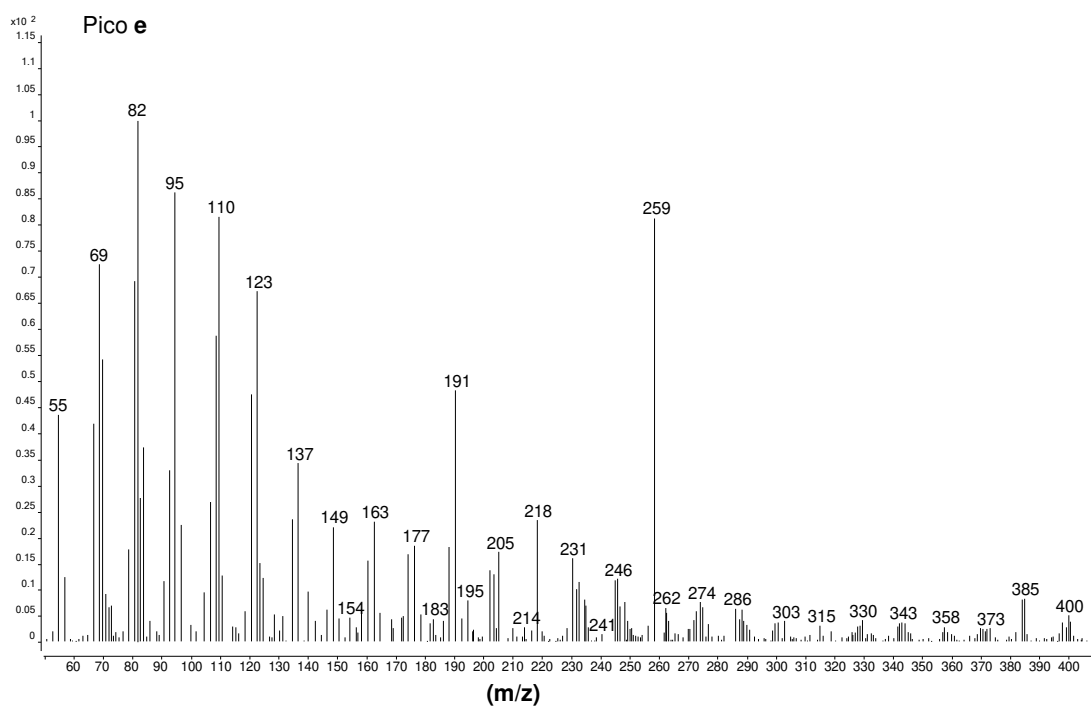


Figura 46: Espectro de massas do pico e, correspondente ao composto (6) com estereoquímica $\alpha\alpha\beta$ (20R ou S).

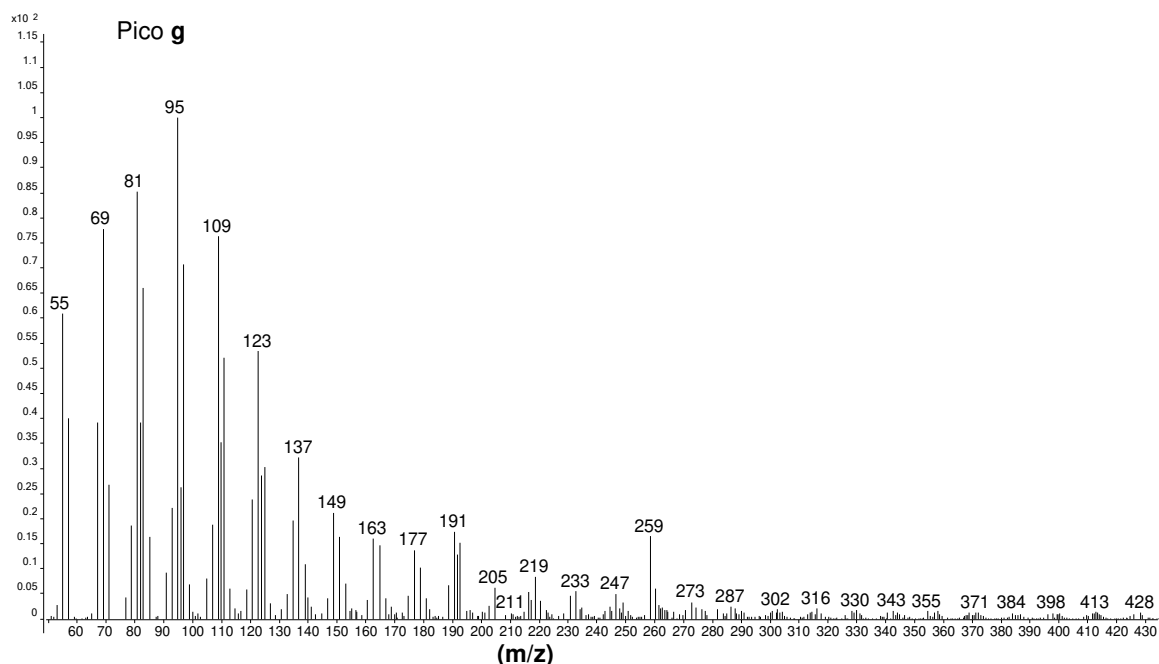


Figura 47: Espectro de massas do pico g, correspondente ao composto (8) com estereoquímica $\alpha\beta$ (20R ou S).

Outra possibilidade seriam regioisômeros no anel A. Lima (2010) fixou o substituinte propil na posição C-3 por analogia a toda uma série de aquil-esteranos com diferentes homólogos de cadeia alquílica naquela posição. Nos espectros de massa de metil-colestanos com o grupo substituinte nas posições C-2, C-3 e C-4 (anel A), observou-se que o padrão de fragmentação é muito semelhante. Isto torna difícil excluir outra possibilidade de fixação do propil baseado apenas na espectrometria de massa.

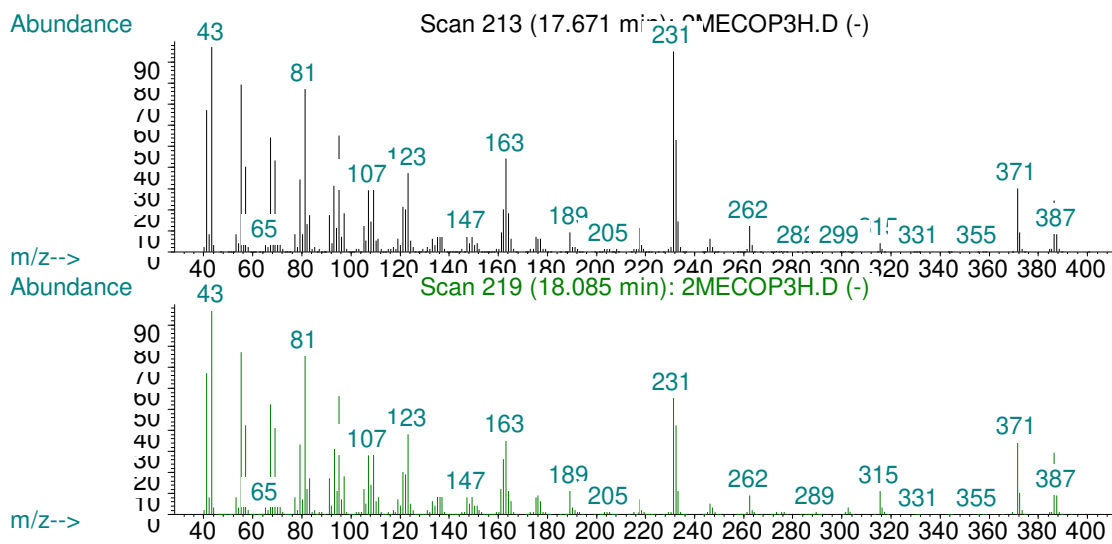


Figura 48: Espectro de massas de isômeros 2-metil-5 α (H)-colestano (fornecido pela Prof^a Dr^a Luzia Koike).

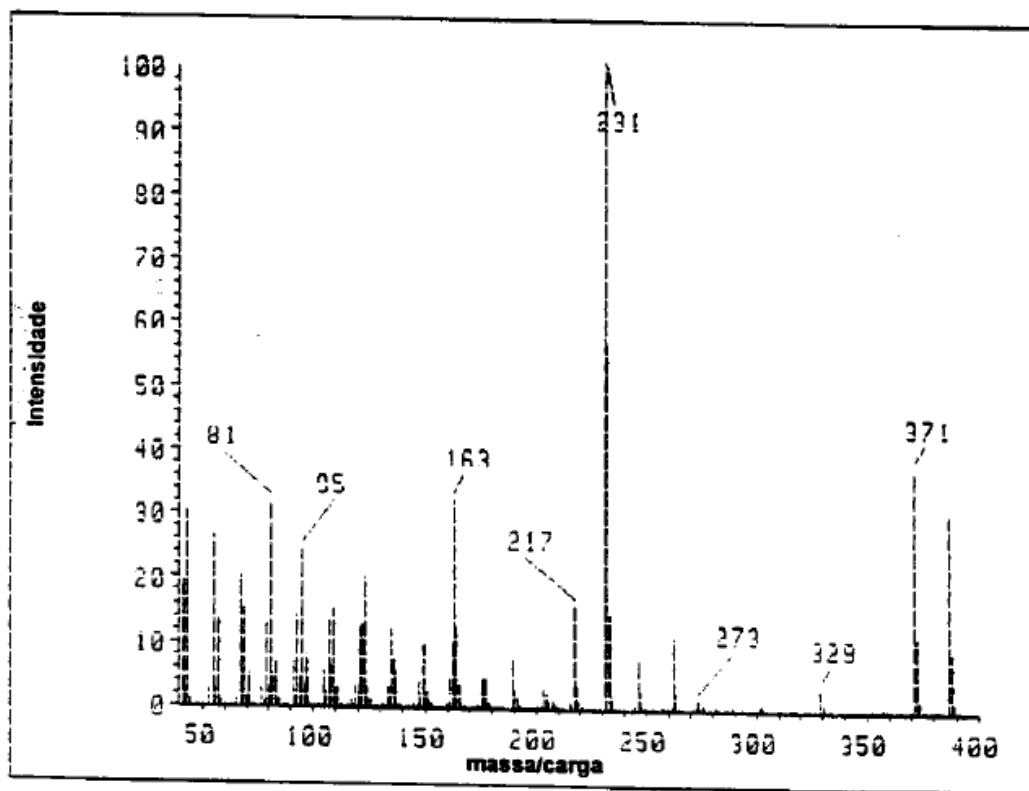


Figura 49: Espectro de massas do composto 3-metil-5 α (H)-colestano (LOPES, 1995).

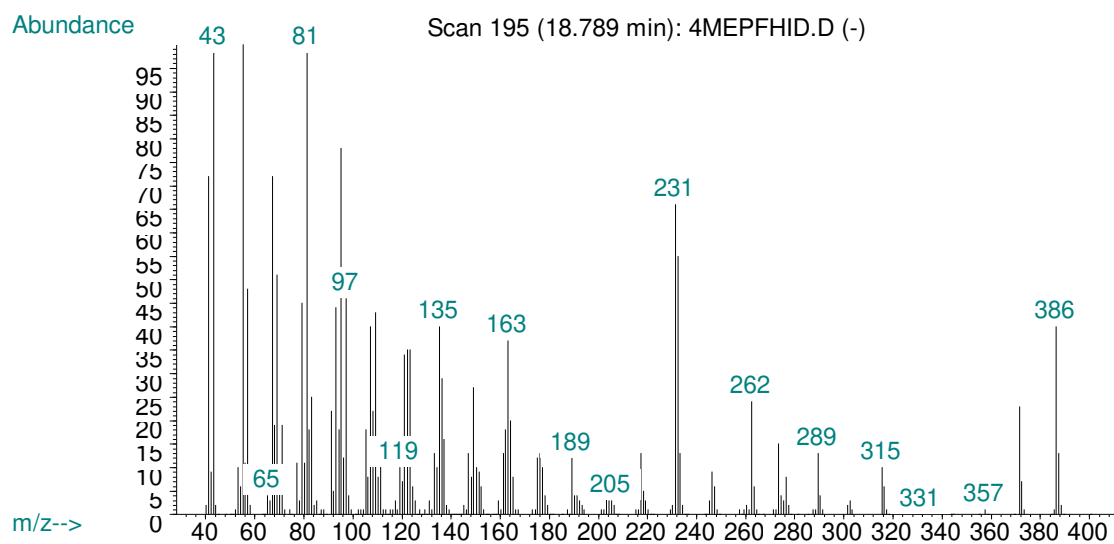


Figura 50: Espectro de massas do padrão 4-metil-5 α (H)-colestano (fornecido pela Prof^a Dr^a Luzia Koike).

5 CONCLUSÃO

Nesse trabalho foi realizada a síntese de 5 padrões nor-ergostanos desejados com bons rendimentos. Esses compostos se tratam de uma série homóloga de ergostanos com diferentes cadeias laterais ligadas ao carbono 17 e configuração $5\alpha(H)$. Esses padrões são os hidrocarbonetos correspondentes aos ácidos 3-*n*-propil ergostanóicos encontrados em óleos de Pampo Sul, bacia de Campos e suas estruturas foram propostas por Lima (2010). Esses ácidos, além de inéditos, estariam associados a um processo de biodegradação no qual a cadeia lateral em C-17 sofreria o ataque microbiano. Os padrões foram sintetizados a partir do estigmasterol através de reações estéreo e regioespecíficas e suas estereoquímicas foram estabelecidas por RMN de ^{13}C e fragmentação nos espectros de massas.

A amostra de óleo foi tratada com procedimento idêntico ao executado por Lima (2010). A fração ácida foi derivatizada a hidrocarboneto para que fosse possível a co-injeção com os padrões sintéticos em GC/MS e GC/MS-MS.

A co-injeção dos padrões sintéticos com a amostra de óleo derivatizada a hidrocarboneto (HHA) confirmou a presença dos compostos **(3)**, **(5)**, **(6)** e **(8)**. Os compostos de maior concentração relativa relatados por Lima (2010) não deram co-injeções positivas com os padrões sintéticos apesar de apresentarem retenção muito próximas e mesmo padrão de fragmentação no espectro de massa, sugerindo a presença de isômeros. Além disso, foi possível identificar um novo biomarcador **(4)**.

6 PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiais, reagentes e aparelhos

- Os solventes anidros utilizados (THF e tolueno) foram secos em peneira molecular (3A para THF e 4A para o tolueno) após ativação por 4h a 400 °C;
- O estigmasterol utilizado foi da marca Sigma-Aldrich (95%).
- A amônia utilizada foi comprada da Air Products com 99,5% de pureza;
- Foram utilizados solventes destilados da Synth (Labsynth, São Paulo, Brasil) na síntese dos padrões.
- No tratamento da amostra de óleo e nas co-injeções foram utilizados solventes de grau HPLC da Tedia (Tedia Brasil, Rio de Janeiro, RJ).
- O padrão interno 5 β (H)-colano foi adquirido da Chiron (Chiron As, Trondheim, Noruega).
- As purificações foram realizadas com sílica gel 60 (30 – 70 μ m) da Merck (Merck Brasil, São Paulo, SP).

6.2 Métodos espectroscópicos

6.2.1 Espectrometria no infravermelho (IV)

Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos em um espectrômetro Nicolet 380 FT-IR da Thermo Scientific, utilizando filmes sobre cela de KBr. A faixa de varredura foi de 400 – 4000 cm^{-1} . Foram feitos 32 *scans* com resolução de 4 cm^{-1} .

6.2.2 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro Bruker Avance III 500MHz (11,7 T). O solvente deuterado utilizado foi o CDCl_3 da CIL (Andover, EUA).

6.3 Análises cromatográficas

As sínteses foram analisadas em um aparelho GC/MS Agilent 7890A (cromatógrafo) e Agilent 5975C (espectrômetro de massas).

- Coluna J&W DB5 – 30 m x 250 μm 0,25 μm ;
- Volume de injeção = 1 μL ;
- T injetor = 250 $^{\circ}\text{C}$;
- Split = 1:1;
- Fluxo de He = 1 mL/min;
- Programação: 200 $^{\circ}\text{C}$ (4 min); 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 290 $^{\circ}\text{C}$ (15 min); 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 305 $^{\circ}\text{C}$ (5 min). Tempo total = 46,5 min.
- T auxiliar = 310 $^{\circ}\text{C}$;
- Solvent delay = 5 min;
- Aquisição = 40 – 600 Da.

As co-injeções foram realizadas em um aparelho GC/MS-MS triploquadrupolo Agilent 7890A (cromatógrafo) e Agilent 7000 (espectrômetro de massas).

- Coluna CPSIL-8CB – 60 m x 250 μm 0,25 μm ;
- Volume de injeção = 1 μL ;
- T injetor = 300 $^{\circ}\text{C}$;
- Split = 10:1;

- Fluxo de He = 1 mL/min;
- Programação: 60 °C (10 min); 10 °C/min até 190 °C; 1 °C/min até 250 °C; 2 °C/min até 300 °C (30 min). Tempo total = 138 min.
- T auxiliar = 300 °C;
- Solvent delay = 12 min;
- Aquisição = 50 – 600 Da.

6.4 Obtenção da fração ácida

Uma amostra de cerca de 100 g de óleo foi aplicada em uma coluna cromatográfica com reciclagem de solvente, contendo sílica-gel, modificada com KOH, conforme descrito à seguir: 25 g de KOH e 400 mL de isopropanol foram agitados à 50 °C, até completa dissolução do KOH e em seguida adicionados à 200 g de gel de sílica, previamente ativada a 400 °C. Após homogeneização, a mistura foi deixada em repouso por uma hora e posteriormente transferida para uma coluna cromatográfica. O excesso de KOH e isopropanol foram lavados abundantemente com éter etílico, seco e então, cerca de 100 g de óleo, dissolvidos no menor volume possível de éter etílico, foram aplicados no topo da coluna.

A fração neutra foi eluída com 100 mL de éter etílico seco, mantido sob refluxo por cerca de 6 horas. Esta fração não foi objeto de estudo. Em seguida a coluna foi eluída também continuamente, com cerca de 1000 mL de uma solução de ácido fórmico, a 20%, em éter etílico, mantido sob refluxo por cerca de seis horas.

6.4.1 Purificação da fração ácida

Preparou-se uma coluna filtrante contendo aproximadamente uma proporção de amostra-sílica ativada de (1:30) com hexano. No topo da coluna cromatográfica aplicou-se a fração ácida extraída anteriormente. Foram eluídos o restante dos hidrocarbonetos neutros com 400 mL de hexano, seguindo a eluição dos ácidos com 400 mL de diclorometano (ou clorofórmio). A seguir extraiu-se com clorofórmio/metanol 10%. O ácido fórmico fica retido na coluna de sílica.

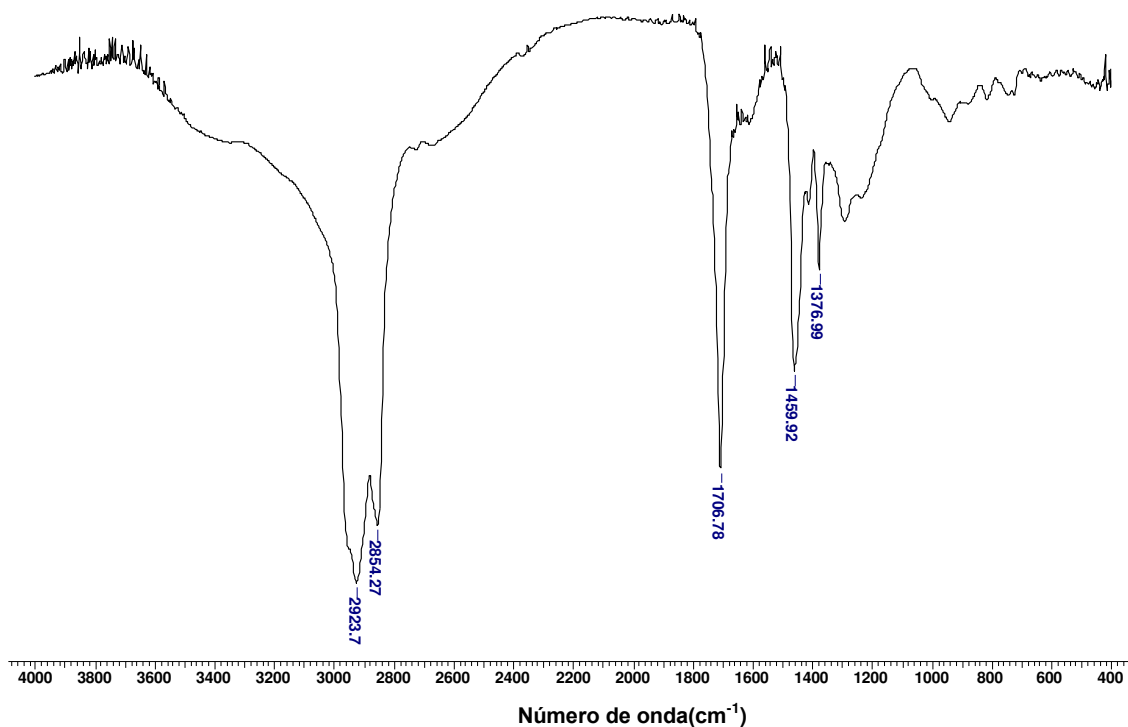


Figura 51: Espectro de infravermelho da fração ácida purificada.

6.5 Esterificação da fração ácida

A fração ácida purificada foi submetida a uma reação de esterificação com diazometano. Cerca de 500 mg da fração ácida foram dissolvidas em 5 mL de éter

etílico e, em seguida, uma solução etérea de diazometano foi adicionada, gota a gota, sob refrigeração em banho de gelo, até que não se observasse mais a liberação de gases. A mistura foi deixada em repouso por 30 minutos, adicionando-se uma nova porção da solução de diazometano igual à metade do volume gasto inicialmente, deixando-se a reação sob agitação em temperatura ambiente durante a noite. O solvente foi evaporado, obtendo-se os ésteres totais. Estes foram submetidos à purificação por coluna flash, utilizando-se uma coluna de 30 mm de diâmetro, contendo aproximadamente 50 g de sílica flash. A mistura foi eluída com 100 mL de cada mistura de solventes: hexano, hexano:AcOEt (5%), CHCl_3 e CHCl_3 :MeOH (10%). Após análise por CCD e IV foi observado o deslocamento da banda referente à carbonila, de $1706,78\text{ cm}^{-1}$ para $1741,49\text{ cm}^{-1}$, além do desaparecimento da banda larga entre 2600 cm^{-1} e 3400 cm^{-1} , correspondente à hidroxila do ácido. Massa dos ésteres totais = 300 mg.

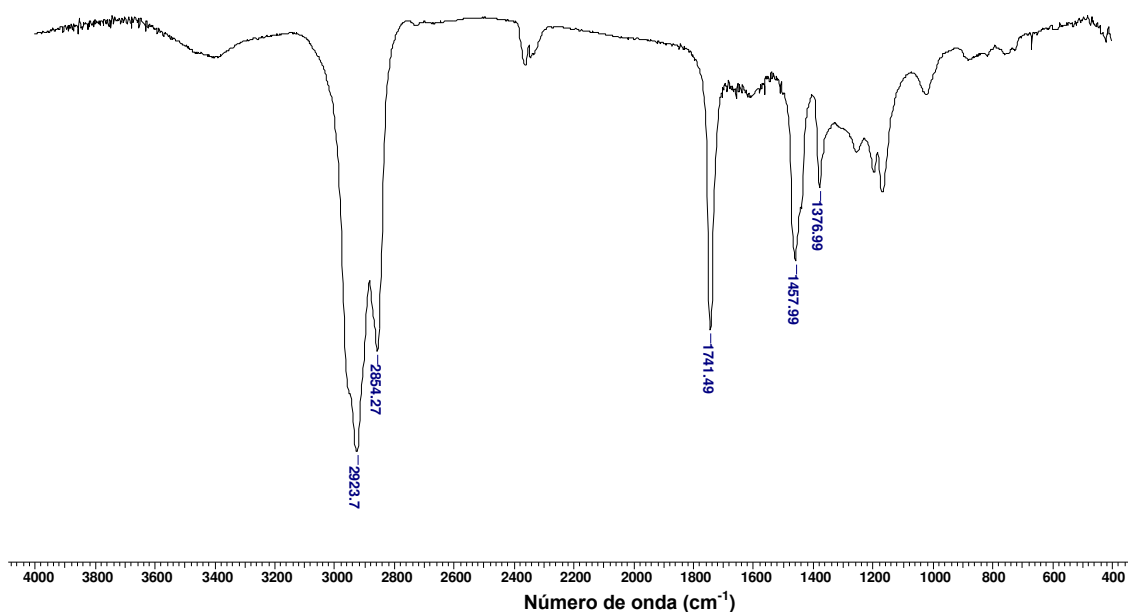


Figura 52: Espectro de infravermelho dos ésteres.

6.6 Redução dos ésteres a álcoois

Os ésteres obtidos anteriormente foram dissolvidos em THF anidro e, em seguida, adicionou-se LiAlH_4 em excesso. A reação foi mantida sob refluxo por 2 h em

atmosfera inerte de N_2 , monitorando-se por CCD. Após finalizada a reação, resfriou-se a mistura em banho de gelo e se adicionou solução gelada de HCl 5%, gota a gota, até completa destruição do excesso de $LiAlH_4$. A fase orgânica foi extraída com Et_2O e seca com Na_2SO_4 e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os produtos obtidos foram analisados por IV, observando-se o desaparecimento da banda correspondente à carbonila de éster e o surgimento de uma banda larga em $3388,48\text{ cm}^{-1}$ referente à hidroxila do álcool.

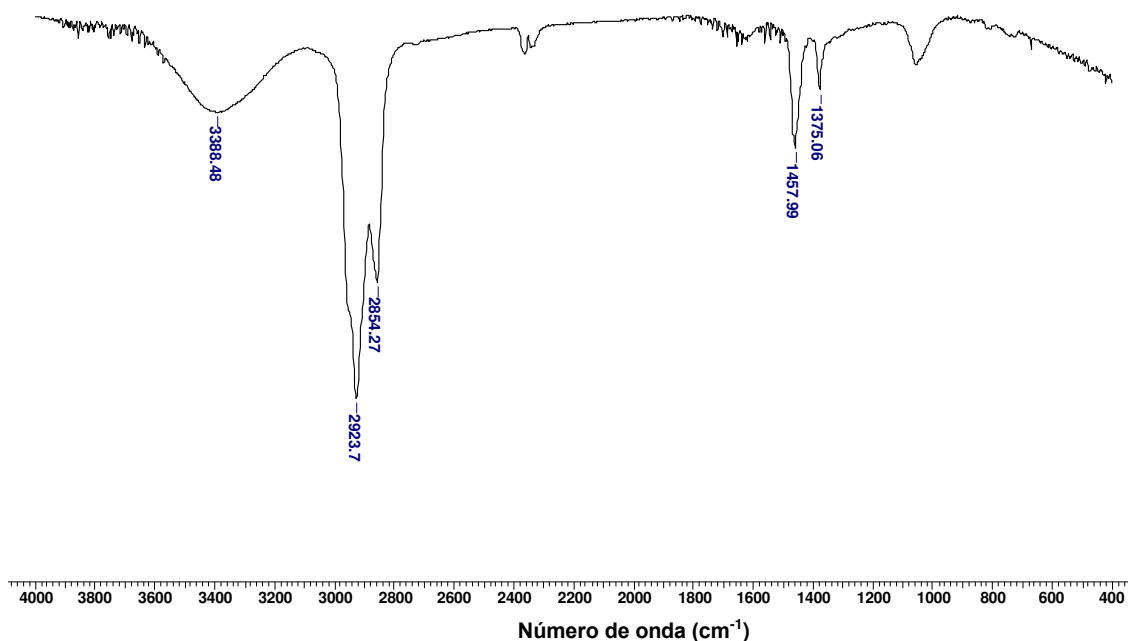


Figura 53: Espectro de infravermelho dos álcoois.

6.7 Mesilação do álcoois

230 mg da mistura de álcoois foram dissolvidas em 10 mL de piridina a $0^{\circ}C$. Em seguida foram adicionados 2 mL de MsCl. A reação foi deixada sob agitação por 4 h em atmosfera de N_2 , monitorando-se por CCD. Após o término da reação, a mistura foi lavada exaustivamente com solução de HCl 5% extraída com Et_2O . A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 e evaporada, obtendo-se 220 mg do produto desejado. A análise por IV mostrou o desaparecimento da banda em $3388,48\text{ cm}^{-1}$, correspondente à hidroxila.

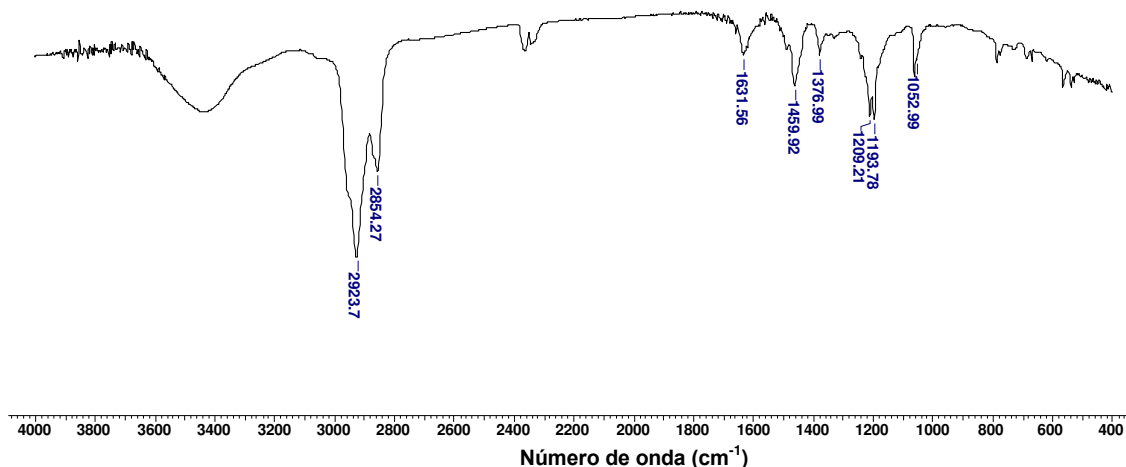


Figura 54: Espectro de infravermelho da amostra mesilada.

6.8 Redução dos compostos mesilados com LiAlH₄.

O produto mesilado obtido anteriormente foi dissolvido em THF anidro e, em seguida, adicionou-se excesso de LiAlH₄. A mistura foi mantida em atmosfera de N₂ sob refluxo por 2 h, monitorando-se por CCD. Após o término da reação, resfriou-se a mistura em banho de gelo e se adicionou solução gelada de HCl 5%, gota a gota, até completa destruição do excesso de LiAlH₄. A fase orgânica foi extraída com Et₂O e seca com Na₂SO₄ e o solvente evaporado sob pressão reduzida. Os produtos obtidos foram analisados por IV, onde se obteve a confirmação da formação dos hidrocarbonetos. Realizou-se a purificação da amostra em placa preparativa dopada com AgNO₃, obtendo-se 80 mg dos hidrocarbonetos derivados de ácidos (HHA), os quais foram analisados por GC/MS-MS.

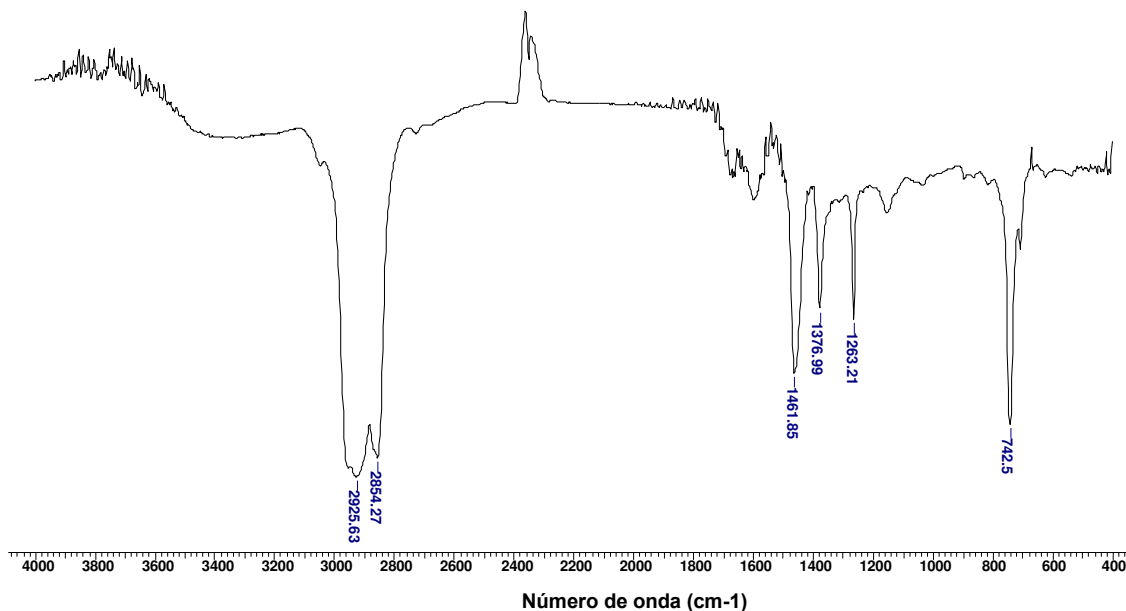


Figura 55: Espectro de infravermelho dos hidrocarbonetos derivados de ácido – HHA (não purificada).

6.9 Oxidação de Oppenauer do Estigmasterol

Em um balão de 3 bocas, equipado com condensador e Dean-Stark, adicionou-se 250 mL de tolueno seco e 25 mL de cicloexanona bidestilada, sob atmosfera de N_2 e 5,0 g de estigmasterol.

Aqueceu-se o sistema até o refluxo, coletando-se cerca de 50 mL de tolueno no Dean-Stark. Em seguida, adicionou-se 7,3 g de i -(PrOH) $_3$ Al em 50 mL de tolueno e o sistema mantido sob refluxo por 45 min. À solução alaranjada e fria, adicionou-se 2 g de tartarato de sódio e potássio, agitando-se por 2 min. A solução foi lavada com solução de HCl 5% e extraída com CH_2Cl_2 . A fase orgânica foi evaporada, dissolvida em acetona e recristalizada com a adição de H_2O gota a gota. A água mãe foi submetida a coluna flash, obtendo-se 4,18 g da Estigmastenona **18** (15% de rendimento). **Ponto de fusão:** 123,0 – 124,2 °C **RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 5,73 (s, 1H); 5,16 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 15,5 Hz); 5,03 (dd, 1H, J = 8,5 Hz, J = 15,5 Hz). **RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 12,1 (CH_3); 12,2 (CH_3); 17,4

(CH₃); 19,0 (CH₃); 21,0 (CH₂); 21,1 (2CH₃); 24,2 (CH₂); 25,4 (CH₂); 28,9 (CH₂); 31,9 (CH); 32,0 (CH₂); 32,9 (CH₂); 34,0 (CH₂); 35,6 (CH); 35,7 (CH₂); 38,6 (C); 39,5 (CH₂); 40,5 (CH); 42,3 (C); 51,2 (CH); 53,8 (CH); 55,9 (CH); 56,0 (CH); 123,7 (CH); 129,4 (CH); 138,1 (CH); 171,7 (C); 199,6 (C).

6.10 Redução de Birch da Estigmastenona

Em uma balão de 1 L foram adicionados 1,3 g de Li metálico. Condensou-se 400 mL de NH₃ à -78°C (acetona/ gelo seco) e, em seguida, adicionou-se 5,0 g (1 eq, 12,2 mmol) da Estigmastenona **18** em 200 mL de THF seco. A reação foi mantida sob agitação, à -78°C, sob atmosfera de argônio por 1 h. Após esse período, adicionou-se 32 g de NH₄Cl seco, deixando agitar por 2 h. Retirou-se o banho de acetona/ gelo seco e a mistura reacional foi mantida à temperatura ambiente por 1 noite até a evaporação da NH₃. A reação foi extraída com CH₂Cl₂ e a fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ e evaporada. Foram formados 3,9 g (9,47 mmol, 78% de rendimento) da 5 α (H)-estigmastanona **19**. **Ponto de fusão:** 169,8 – 172,6 °C. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 5,15 (dd, 1H, J= 8,5 Hz, J= 15,5 Hz); 5,02 (dd, 1H, J= 8,5 Hz, J= 15,5 Hz). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 11,5 (CH₃); 12,2 (2CH₃); 19,0 (CH₃); 21,1 (CH₃); 21,2 (CH₃); 21,4 (CH₂); 24,3 (CH₂); 25,4 (CH₂); 28,9 (CH₂); 29,0 (CH₂); 31,7 (CH₂); 31,9 (CH); 35,4 (CH); 35,6 (C); 38,2 (CH₂); 38,6 (CH₂); 39,8 (CH₂); 40,5 (CH); 42,5 (C); 44,7 (CH₂); 46,7 (CH); 51,2 (CH); 53,8 (CH); 56,0 (CH); 56,4 (CH); 129,3 (CH); 138,3 (CH); 212,2 (C).

6.11 Alquilação da 5 α (H)-estigmastanona

Em uma balão de 3 bocas foram adicionados 0,990 mg de Mg e 25 mL de THF anidro sob atmosfera de N₂. Em seguida, adicionou-se 7,5 mL de brometo de propila. A reação foi mantida em temperatura ambiente por 30 min.

O balão foi colocado em banho de gelo e se adicionou uma solução da 5 α (H)-estigmastanona **19** (1,133 mg; 1 eq; 2,75 mmol) em 25 mL de THF anidro através de uma cânula. A mistura reacional permaneceu sob agitação a temperatura ambiente durante 2 h. Após esse período, a reação foi novamente resfriada a 0 °C e se adicionou, vagarosamente, H₂O até a precipitação de um sólido branco. A mistura foi extraída com Et₂O e a fase orgânica seca com Na₂SO₄ e evaporada. A análise por CCD e GC/MS mostrou a formação de dois compostos, correspondentes ao 3 β (propil)-5 α (H)-ergost-22-en-3-ol **20** e 3 α (propil)-5 α (H)-ergost-22-en-3-ol **21** em um rendimento total de 73%.

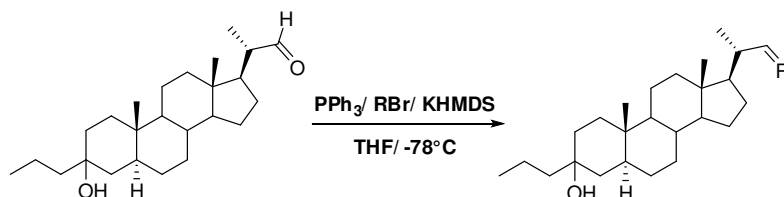
- 3 β (propil)-5 α (H)-ergost-22-en-3-ol **20** – **Ponto de fusão:** 141,8 – 142,4 °C. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 5,15 (dd, 1H, J= 8,5 Hz, J= 15,5 Hz); 5,10 (dd, 1H, J= 8,5 Hz, J= 15,5 Hz); 2,03 (m, 1H); 1,96 (dt, 1H, J= 3,6 Hz, J= 12,6 Hz). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 11,2 (CH₃); 12,2 (CH₃); 12,3 (CH₃); 14,7 (CH₃); 16,3 (CH₂); 19,0 (CH₃); 21,0 (CH₂); 21,1 (CH₃); 21,2 (CH₃); 24,3 (CH₂); 25,4 (CH₂); 28,6 (CH₂); 28,9 (CH₂); 31,9 (CH); 32,0 (CH); 33,1 (CH₂); 33,9 (CH₂); 35,5 (CH); 35,9 (C); 39,9 (CH₂); 40,5 (CH); 40,9 (CH); 42,5 (C); 46,9 (CH₂); 51,2 (CH); 54,3 (CH); 56,0 (CH); 56,6 (CH); 71,7 (C) 129,2 (CH); 138,4 (CH).
- 3 α (propil)-5 α (H)-ergost-22-en-3-ol **21** – **Ponto de fusão:** 112,4 – 113,3 °C. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 5,15 (dd, 1H, J= 8,5 Hz, J= 15,5 Hz); 5,03 (dd, 1H, J= 8,5 Hz, J= 15,5 Hz); 2,03 (m, 1H); 1,95 (dt, 1H, J= 3,6 Hz, J= 12,6

Hz). **RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm):** δ 12,1 (CH_3); 12,2 (CH_3); 12,3 (CH_3); 14,7 (CH_3); 16,1 (CH_2); 19,0 (CH_3); 21,1 (CH_2); 21,2 (2CH_3); 24,3 (CH_2); 25,4 (CH_2); 28,7 (CH_2); 28,9 (CH_2); 31,9 (CH); 32,1 (CH_2); 34,5 (CH_2); 35,5 (CH); 35,9 (C); 36,2 (CH_2); 39,8 (CH_2); 39,9 (CH_2); 40,5 (CH); 41,1 (CH_2); 42,5 (C); 43,7 (CH); 51,2 (CH); 54,6 (CH); 56,1 (CH); 56,6 (CH); 73,0 (C) 129,2 (CH); 138,4 (CH).

6.12 Ozonólise da mistura de álcoois

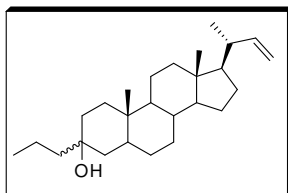
140 mg (0,306 mmol) da mistura de álcoois foram dissolvidas em 20 mL de CH_2Cl_2 em um borbulhador de gases com agitador magnético, adaptado ao sistema gerador de O_3 em banho de gelo seco/ acetona. A reação foi submetida a um fluxo de O_3 por 30 min. Em seguida, adicionou-se 0,1 mL de Me_2S , deixando-se sob agitação por 20 min. A mistura foi evaporada sob pressão reduzida e purificada por coluna flash (hexano:AcOEt 10%), obtendo-se um óleo viscoso em aproximadamente 50% de rendimento. **RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm):** δ 9,55 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz); 2,34 (m, 1H); 1,91 (dt, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 12,6$ Hz). **RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm):** δ 11,2 (CH_3); 12,4 (CH_3); 13,4 (CH_3); 14,7 (CH_3); 16,3 (CH_2); 20,9 (CH_2); 25,4 (CH_2); 27,0 (CH_2); 28,5 (CH_2); 32,0 (CH_2); 33,1 (CH_2); 33,9 (CH_2); 35,5 (CH); 35,9 (C); 39,7 (CH_2); 39,9 (CH_2); 40,8 (CH); 43,2 (C); 46,9 (CH_2); 49,5 (CH); 51,1 (CH); 54,2 (CH); 55,8 (CH); 71,6 (C); 205,2 (CH).

6.13 Reações de alquilação em C-22



As reações de Wittig foram realizadas segundo o procedimento básico: em um balão de 3 bocas de 25 mL foram adicionados 2 eq do sal de fosfônio em 6 mL de THF anidro em banho de gelo seco/ acetona. Em seguida, adicionou-se 2 eq de KHMDS, obtendo-se uma solução alaranjada. Após uma 1 h foram adicionados 100 mg (1 eq; 0,267 mmol) do aldeído (**22**) em 6 mL de THF anidro lentamente. Após mais 1 h sob agitação e atmosfera de N₂, retirou-se o banho de gelo seco/ acetona, deixando a reação aquecer até a temperatura ambiente e mantendo por mais 1 h. A mistura reacional foi purificada por coluna flash (hexano:AcOEt 10%).

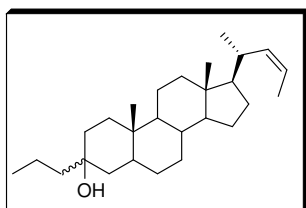
6.13.1 Composto (**24**):



Rendimento: 76%. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 5,67 (ddd, 1H, J= 8,4 Hz, J= 10,4 Hz, J= 17,2 Hz); 4,90 (dd, 1H, J= 1,2 Hz, J= 17,2 Hz); 4,81 (dd, 1H, J= 2 Hz, J= 10 Hz); 2,10 (m, 1H); 1,96 (dt, 1H, J= 3,6 Hz, J= 12,6 Hz). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 11,2 (CH₃); 12,2 (CH₃); 14,7 (CH₃); 16,3 (CH₂); 20,1 (CH₃); 21,0 (CH₂); 24,2 (CH₂); 28,4 (CH₂); 28,6 (CH₂); 32,0 (CH₂); 33,1

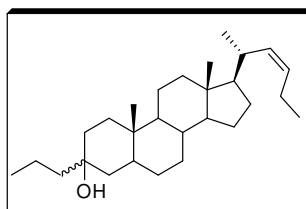
(CH₂); 33,9 (CH₂); 35,5 (CH); 35,9 (C); 39,9 (CH₂); 40,9 (CH); 41,2 (CH); 42,6 (C); 46,9 (CH₂); 54,2 (CH); 55,5 (CH); 56,5 (CH); 71,6 (C); 111,4 (CH₂); 145,3 (CH).

6.13.2 Composto (25):



Rendimento: 75%. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm): δ 5,27 (dq, 1H, J= 6 Hz, J= 12 Hz); 5,17 (dd, 1H, J= 6 Hz, J= 12 Hz); 2,47 (m, 1H); 1,96 (dt, 1H, J= 3,6 Hz, J= 12,6 Hz). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 12,2 (CH₃); 12,4 (CH₃); 13,1 (CH₃); 14,7 (CH₃); 16,1 (CH₂); 20,5 (CH₃); 21,2 (CH₂); 24,2 (CH₂); 28,0 (CH₂); 28,7 (CH₂); 32,1 (CH₂); 33,8 (CH); 34,5 (CH₂); 35,5 (CH); 36,0 (C); 36,2 (CH₂); 39,8 (CH₂); 40,0 (CH₂); 41,1 (CH₂); 42,6 (C); 43,8 (CH); 54,6 (CH); 56,3 (CH); 56,6 (CH); 73,0 (C); 120,3 (CH); 137,7 (CH).

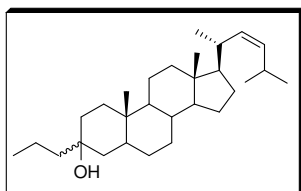
6.13.3 Composto (23):



Rendimento: 70%. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm): δ 5,18 (dt, 1H, J= 6 Hz, J= 10,5 Hz); 5,11 (M, 1H); 2,43 (m, 1H); 2,15 (m, 2H); 1,96 (dt, 1H, J= 3,6 Hz, J= 12,6 Hz). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 12,1 (CH₃); 12,4 (CH₃); 14,4 (CH₃); 14,7 (CH₃); 16,1 (CH₂); 20,8 (CH₃); 20,9 (CH₂); 21,2 (CH₂); 24,2 (CH₂); 28,2 (CH₂); 28,7 (CH₂); 32,1 (CH₂); 34,2 (CH); 34,5 (CH₂); 35,5 (CH); 35,9 (C);

36,2 (CH₂); 39,8 (CH₂); 40,0 (CH₂); 41,1 (CH₂); 42,6 (C); 43,8 (CH); 54,6 (CH); 56,2 (CH); 56,6 (CH); 73,0 (C); 128,2 (CH); 136,1 (CH).

6.13.4 Composto (26):

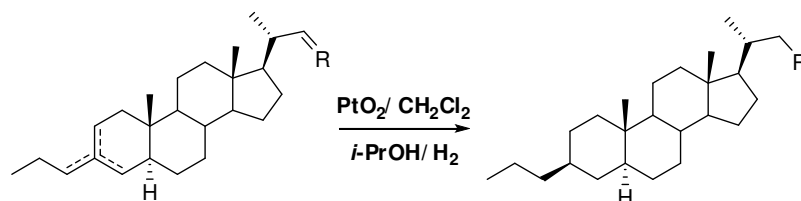


Rendimento: 62%. **RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 5,18 (dt, 1H, J= 6 Hz, J= 10,5 Hz); 5,11 (M, 1H); 2,43 (m, 1H); 2,15 (m, 2H) 1,96 (dt, 1H, J= 3,6 Hz, J= 12,6 Hz). **RMN de ¹³C (125 MHz, CDCl₃, δ em ppm):** δ 11,2 (CH₃); 12,4 (CH₃); 14,7 (CH₃); 16,3 (CH₂); 21,0 (CH₂); 21,1 (CH₃); 23,2 (CH₃); 23,6 (CH₃); 24,2 (CH₂); 28,4 (CH₂); 28,6 (CH₂); 32,0 (CH₂); 33,1 (CH₂); 33,9 (CH₂); 34,6 (CH); 35,6 (CH); 35,9 (C); 39,9 (CH₂); 40,9 (CH); 42,5 (C); 46,9 (CH₂); 54,3 (CH); 56,1 (CH); 56,6 (CH); 71,7 (C); 134,1 (CH); 134,2 (CH).

6.14 Desidratação dos álcoois

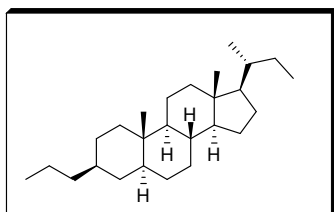
As reações de desidratação seguiram o seguinte procedimento básico: em uma balão de 25 mL foram adicionados 70 mg do álcool em 15 mL de tolueno. Em seguida, adicionou-se 700 mg de CuSO₄.SiO₂ previamente ativada a 230°C por 3h. A reação foi mantida sob refluxo por 1h. Após o término da reação, a mesma foi filtrada e seca.

6.15 Hidrogenação dos alcenos



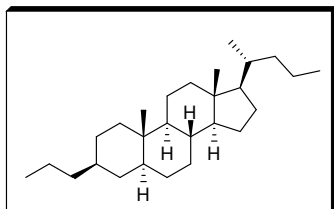
As reações de hidrogenação seguiram o seguinte procedimento básico: em um balão de 15 mL foram adicionados 60 mg da mistura de alcenos (1 eq) em 8 mL de uma mistura de $\text{CH}_2\text{Cl}_2:i\text{-PrOH}$ (1:1). Em seguida, adicionou-se 20 mol% de PtO_2 . A mistura reacional foi mantida sob agitação em atmosfera de H_2 por 1h. Após esse período reação foi filtrada e purificada por cristalização com AcOEt e MeOH .

6.15.1 Composto (11):



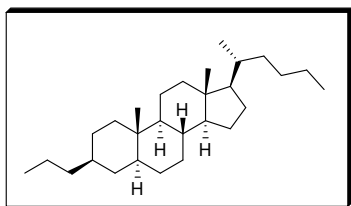
Rendimento: 71%. **Ponto de fusão:** 55,5 – 57,3 °C. **Espectro de massas (m/z):** 358 (M^+); 343 ($\text{M}-15$); 259 (pico base); 191 (anel AB). **RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ em ppm):** δ 1,96 (dt, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 12,6$ Hz); 1,82 (m, 1H); 1,66 (m, 2H); 0,75 (s, 3H); 0,65 (s, 3H). **RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3 , δ em ppm):** δ 10,3 (CH_3); 12,1 (CH_3); 12,3 (CH_3); 14,4 (CH_3); 18,1 (CH_3); 20,0 (CH_2); 21,0 (CH_2); 24,2 (CH_2); 28,1 (CH_2); 28,3 (CH_2); 29,0 (CH_2); 29,1 (CH_2); 32,2 (CH_2); 35,6 (CH); 35,8 (CH_2); 36,2 (C); 37,0 (CH); 37,8 (CH); 38,7 (CH_2); 39,8 (CH_2); 40,1 (CH_2); 42,6 (C); 46,7 (CH); 54,7 (CH); 55,8 (CH); 56,6 (CH).

6.15.2 Composto (12):



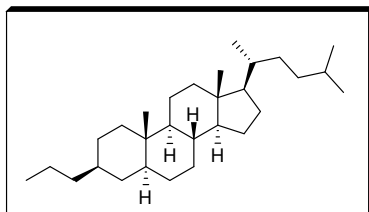
Rendimento: 95%. **Ponto de fusão:** 57,1 – 58,3 °C. **Espectro de massas (m/z):** 372 (M^+); 357 ($M-15$); 259 (pico base); 191 (anel AB). **RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 1,96 (dt, 1H, $J=3,6$ Hz, $J=12,6$ Hz); 1,82 (m, 1H); 1,66 (m, 2H); 0,75 (s, 3H); 0,65 (s, 3H). **RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 12,1 (CH_3); 12,4 (CH_3); 14,2 (CH_3); 14,4 (CH_3); 18,7 (CH_3); 20,0 (CH_2); 21,1 (CH_2); 23,2 (CH_2); 24,2 (CH_2); 28,3 (CH_2); 28,4 (CH_2); 29,0 (CH_2); 29,1 (CH_2); 32,2 (CH_2); 35,6 (CH); 35,7 (CH_2); 35,8 (CH); 35,8 (C); 37,8 (CH); 38,7 (CH_2); 39,9 (CH_2); 40,2 (CH_2); 42,6 (C); 46,7 (CH); 54,8 (CH); 56,3 (CH); 56,7 (CH).

6.15.3 Composto (13):



Rendimento: 98%. **Ponto de fusão:** 57,7 – 59,1 °C. **Espectro de massas (m/z):** 386 (M^+); 371 ($M-15$); 259 (pico base); 191 (anel AB). **RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 1,96 (dt, 1H, $J=3,6$ Hz, $J=12,6$ Hz); 1,82 (m, 1H); 1,66 (m, 2H); 0,75 (s, 3H); 0,65 (s, 3H). **RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 12,1 (CH_3); 12,4 (CH_3); 14,2 (CH_3); 14,4 (CH_3); 18,7 (CH_3); 20,0 (CH_2); 21,1 (CH_2); 23,2 (CH_2); 24,2 (CH_2); 28,3 (CH_2); 28,4 (CH_2); 29,0 (CH_2); 29,1 (CH_2); 32,3 (CH_2); 35,6 (CH); 35,7 (CH_2); 35,8 (CH); 35,8 (CH_2); 36,2 (C); 37,8 (CH); 38,7 (CH_2); 39,9 (CH_2); 40,2 (CH_2); 42,6 (C); 46,7 (CH); 54,8 (CH); 56,3 (CH); 56,7 (CH).

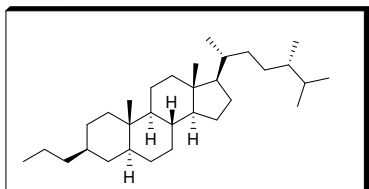
6.15.4 Composto (14):



Rendimento: 93%. **Ponto de fusão:** 58,2 – 59,7 °C.

Espectro de massas (m/z): 400 (M^+); 385 ($M-15$); 259 (pico base); 191 (anel AB). **RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 1,96 (dt, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 12,6$ Hz); 1,82 (m, 1H); 1,66 (m, 2H); 0,75 (s, 3H); 0,65 (s, 3H). **RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 12,1 (CH_3); 12,3 (CH_3); 14,4 (CH_3); 18,7 (CH_3); 20,0 (CH_2); 21,0 (CH_2); 22,4 (CH_3); 23,1 (CH_3); 24,2 (CH_2); 28,2 (CH_2); 28,4 (CH); 29,0 (CH_2); 29,1 (CH_2); 32,2 (CH_2); 33,6 (CH_2); 35,3 (CH_2); 35,6 (CH); 35,8 (CH_2); 35,9 (CH); 36,2 (C); 37,8 (CH); 38,7 (CH_2); 39,8 (CH_2); 40,1 (CH_2); 42,6 (C); 46,7 (CH); 54,7 (CH); 56,2 (CH); 56,6 (CH).

6.15.5 Composto (16):



Rendimento: 90%. **Ponto de fusão:** 60,5 – 62,1 °C.

Espectro de massas (m/z): 428 (M^+); 413 ($M-15$); 259 (pico base); 191 (anel AB). **RMN de 1H (500 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 1,96 (dt, 1H, $J = 3,6$ Hz, $J = 12,6$ Hz); 1,82 (m, 1H); 1,66 (m, 2H); 0,75 (s, 3H); 0,65 (s, 3H). **RMN de ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$, δ em ppm):** δ 12,1 (CH_3); 12,3 (CH_3); 14,4 (CH_3); 15,5 (CH_3); 17,6 (CH_3); 18,9 (CH_3); 20,0 (CH_2); 20,5 (CH_3); 21,0 (CH_2); 24,2 (CH_2); 28,2 (CH_2); 29,0 (CH_2); 29,1 (CH_2); 29,7 (CH_2); 30,6 (CH_2); 31,5 (CH); 32,2 (CH_2); 33,7 (CH_2); 35,6 (CH); 35,8 (CH_2); 36,2 (CH); 36,2 (C);

37,8 (CH); 38,7 (CH₂); 39,1 (CH); 39,8 (CH₂); 40,1 (CH₂); 42,6 (C); 46,7 (CH); 54,7 (CH); 56,2 (CH); 56,6 (CH).

7 REFERÊNCIAS

- ANP- Agência Nacional de Petróleo, Relatório de produção de derivados de petróleo, 2013. <http://www.anp.gov.br/> - Página acessada em 08/07/2013.
- Barton, D. H. R.; Cox, J. D.; Holness, N. J., *J. Chem. Soc.*, **1949**, 1771.
- Behar, R.F.H; Albrecht, P., *Organic Geochemistry*, **1984**, 6, 597.
- Biemann, K.; Hites, R. A., *Analytical Chemistry*, **1970**, 42, 855.
- Bode, H. B.; Zeggel, B.; *Mol. Microbiol.*, **2003**, 47, 471.
- Bowers, A.; Ringold, H. J.; Denot, E.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 20, 6115.
- Brocks, J. J.; Sumons, R. E.; *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **2003a**, 67, 4321.
- Brocks, J. J.; Love, G. D.; *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **2003b**, 67, 1521.
- Brown, G. D., *Nat. Prod. Rep.*, **1998**, 15, 653.
- Cruz, G. F., “Contribuição ao estudo de biomarcadores em óleos da Bacia Sergipe-Alagoas.”, **2005**. Dissertação de mestrado – UFPI – Piauí – Brasil.
- Cruz, G. F.; Marsaioli, A. J.; *Quim. Nova*, **2012**, 35, 1628.
- Cmiel, S.; Fabianska, M. J., *International Journal of Coal Geology*, **2004**, 57, 77.
- Cooks, R., *Analytical Chemistry*, **1978**, 50, 2007.
- Dahl, J.; Moldowan, J. M.; McCaffrey, M. A.; Lipton, P.; *Nature*, **1992**, 355, 154.
- Dorée, C.; McGhie J.F.; Kurzer F., *J. Chem. Soc.*, **1948**, 998.
- Eglinton, T. I.; Douglas, A. G.; Rowland, S. J., *Organic Geochemistry*, **1988**, 13, 655.
- Fabianska, M. J.; Bzowska, G.; Matuszewska, A.; *Chem. Erde.*, **2003**, 63, 63.
- Fontes, R. A., “Estudo qualitativo e quantitativo de biomarcadores ácidos e hidrocarbonetos presentes em óleos da Bacia Potiguar.”, **2011**, Tese de doutorado. UNICAMP – Instituto de química – Campinas – Brasil.

- Fryssinger, G. S.; Gaines, R. B.; *J. Sep. Sci.*, **2001**, *24*, 87.
- Graauw, C. F.; Peters, J. A.; Bekkum H. van; Huskens, J., *Synthesis*, **1994**, *10*, 1007.
- Gill, R., "Modern Analytical Geochemistry. An introduction to quantitative chemical analysis techniques for earth, environmental and materials scientists.", 1st ed.. Longman Singapore Publishers (Pte) Ltda, Singapore, **1997**.
- Jaffé, R.; Albrecht, P.; Oudin, J.L., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1988a**, *52*, 2599.
- Jaffé, R.; Albrecht, P.; Oudin, J. L., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1988b**, *52*, 2599.
- Jaffé, R.; Gardinali, P. R., *Organic Geochemistry*, **1990**, *16*, 211.
- Johansen, J. E. Biomarker Catalogue – Chiron, **2004-2005**.
- Killops, S. D; Killops, V. J., "Introduction to Organic Geochemistry." Blackwell Publishing Ltd., 2nd ed., Padstow, UK, **2005**.
- Koike, L.; Rebouças, L. M. C.; Reis, F. A. M.; Marsaioli, A. J.; *Organic Geochemistry*, **1992**, *18*, 851.
- Kürti, L.; Czakó, B, "Strategic Applications of Named Reactions in Organic Synthesis", Elsevier Academic Press, **2005**.
- Lima, S. G.; "Síntese e identificação de biomarcadores em óleos da bacia de campos e bacia potiguar: identificação de 3-alquil esteranos", **2005**, Tese de Doutorado. Unicamp – Instituto de Química, Campinas-SP – Brasil.
- Lima, S. G.; Steffen, R. A.; Reis, F. A. M.; Koike, L.; Neto, E. V. S.; Cerqueira, J. R.; Lopes, J. A. D.; *Organic Geochemistry*, **2010**, *41*; 325.
- Lopes, J. A. D.; "Estudo de biomarcadores em óleos do campo Fazenda Belém, Bacia Potiguar: identificação de 3-alquil e 3-carboxialquilesteranos, uma nova classe de biomarcadores", **1995**, Tese de Doutorado. Unicamp – Instituto de Química, Campinas-SP – Brasil.
- Lopes, J. A. D.; Neto, E. V.; Mello, M. R.; Reis, F. A. M., *Organic Geochemistry*, **1997**, *26*, 787.
- Lopes, J. A. D.; Neto, E. V. S.; Mello, M. L.; Koike, L.; Marsaioli, A. J.; Reis, F. A. M.; *Chemical Geology*, **1999**, *158*, 1.

Mackenzie, A. S.; Hofman, C. F.; Maxwell, J. F.; *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1981**, 45, 1345.

Mackenzie, A.S.; Brassell, S. C.; Maxwell, J.R., *Science*, **1982**, 217, 491.

Makin, H.L.J., "Biochemistry of steroid hormones". 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England, **1984**.

Mello, M. R.;Gaglianone, P. C.; Maxwell, J. R.; *Marine and Petroleum Geology*, **1988**, 5, 205.

Miles, J. A., "Illustrated Glossary of Petroleum Geochemistry.", Oxford University Press, New York, USA, **1989**.

Moldowan, J. M.; Lee, C. Y.; Watt, D. S.; Jeganathan, A.; Slougui, N. E.; Gallegos, E. J., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1991**, 55, 1065.

Peters, K. E.; Walters, C. C.; Moldowan, J. M., "The biomarkers Guide", Cambridge University Press, **2005**.

Peters, K. E.; Moldowan, J. M., "The Biomarker Guide. A Interpreting Molecular Fossil in Petroleum and Ancient Sediments", Prentice-Hall, Inc. New Jersey, EUA, **1993**.

Philp, R. P.; "Fossil Fuel Biomarkers", Elsevier, New York, **1985**.

Rebouças, L. C., "Ácidos naftênicos de petróleos do campo Albacora, Bacia de Campos e síntese de biomarcadores.", **1992**, Tese de Doutorado, Unicamp – Instituto de Química, Campinas – SP, Brasil.

Requejo, A. G.; Allan, J.; Hartgers, W. A., Hayes, J. M.; Ling, Y.; Xie, T. M.; Primack, J.; Leeuw J. W., *Organic Geochemistry*, **1994**, 22, 703.

Requejo, A. G.; Hieshima, G. B.; Hsu, C. S.; McDonald, T. J.; Sassen, R., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1997**, 61, 2653.

Rodrigues, R.; Brüning, I. M. R. A. (**1984**). "Ocorrência e origem de petróleos ácidos no Brasil." *B. téc. Petrobrás*, 27, 1, 3-17. Rio de Janeiro.

Rodrigues, D. C.; Koike, L.; Reis, F. A..M.; Alves, H.P; Chang, H. K.; Trindade, L. A.; Marsaioli, A. J., *Organic Geochemistry*, **2000**, 31, 1209.

Schlesinger, W. H., "Biogeochemistry an analysis of global change" 2^o ed. Academic press, New York. Duke University. Durham, North Caroline, USA, **1997**.

Seifert, W.; Moldowan, J. M., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1978**, 43, 111.

Simons, D. J.; Kenig, F., *Organic Geochemistry*, **2003**, 34, 1177.

Silva, A. A. "Estudos geoquímicos com evidências paleoambientais, maturação e biodegradação dos óleos de diferentes origens da Bacia Potiguar, Brasil. Síntese de biomarcadores de esteróis." **2008**, Tese de doutorado. UNICAMP – Instituto de Química, Campinas – SP – Brasil.

Summons, R. E.; Capon, R. J., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1988**, 52, 2733.

Summon, R. E.; Capon, R. J., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1991**, 55, 2391.

Summons, R. E.; Bradley, A. S.; Jahnke, L. L.; Waldbauer, J.R., *Phil Trans R Soc B*, **2006**, 361, 951.

Tissot, B.P; Welte, D. H., "Petroleum formation and occurrence. A new approach to oil and gas exploration." Springer-Verlag Berlin Heidelberg; New York, **1978**.

Waggoner, B., *Molecular Paleontology*, **2001**. Encyclopedia of Life Sciences, Nature Publishing Group.

Wetter, F.; Dimroth, K.; *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (B Series)*, **1937**, 1665.

Wingert, W. S.; Pomerantz M., *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1986**, 50, 2763.

Winter, B.; *Helvetica Chimica Acta*, **2004**, 87, 1616.

8 APÊNDICE

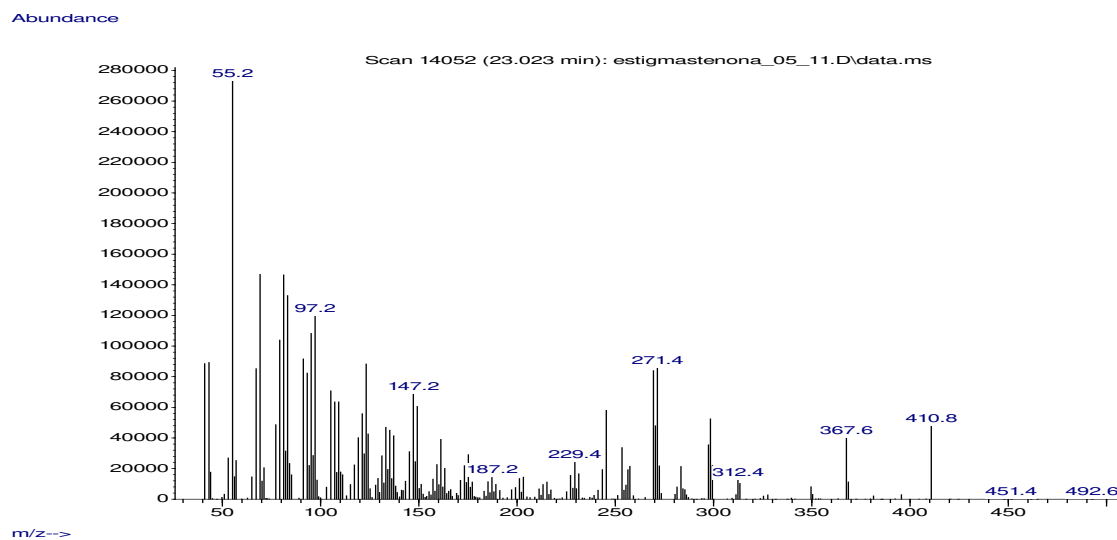


Figura 56: Espectro de massas do composto (18) (70eV).

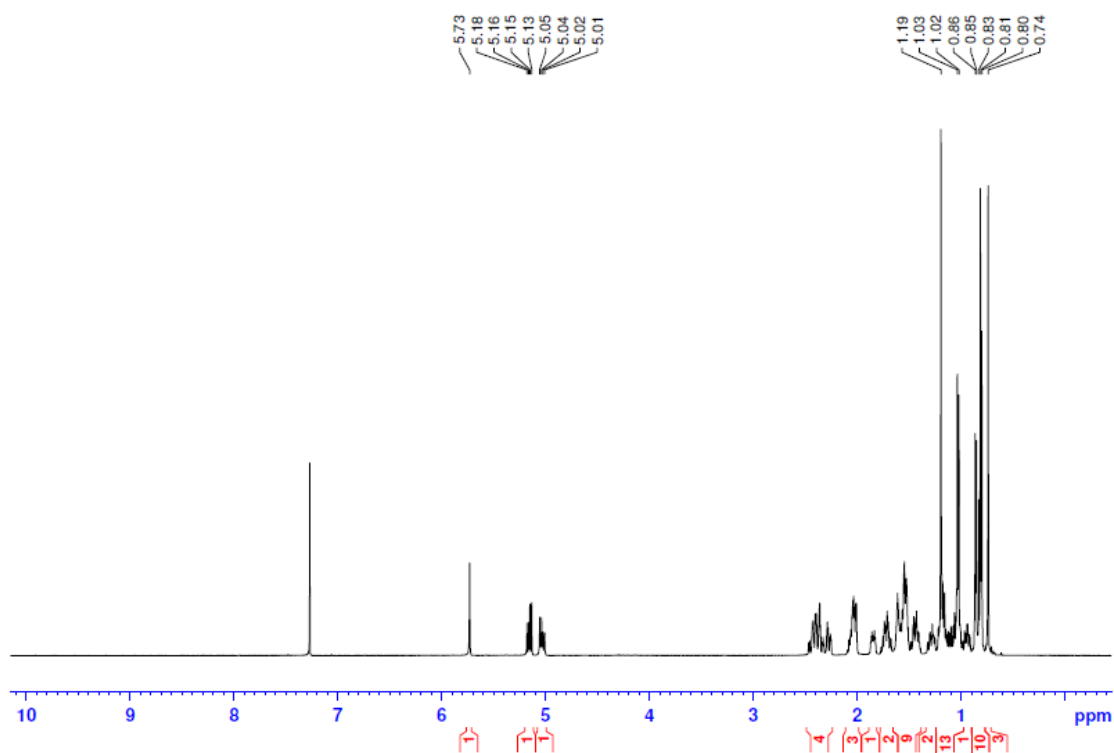


Figura 57: Espectro de RMN de ^1H do composto (18) (500 MHz).

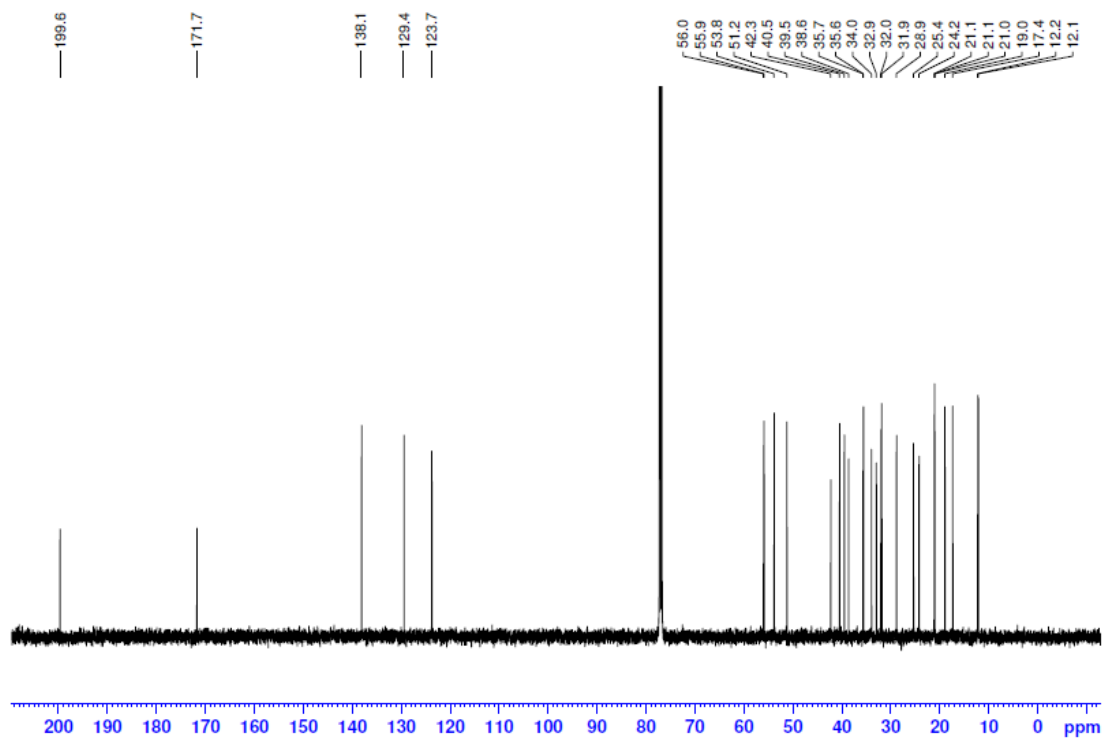


Figura 58: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (18) (125 MHz).

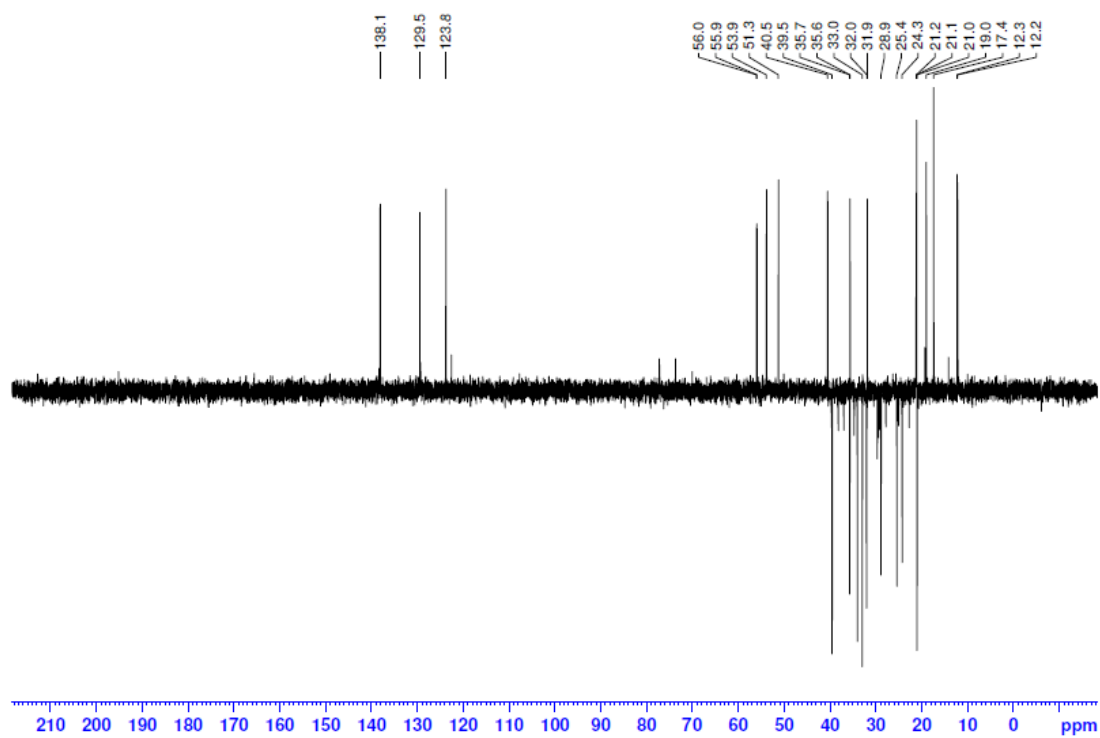


Figura 59: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (18).

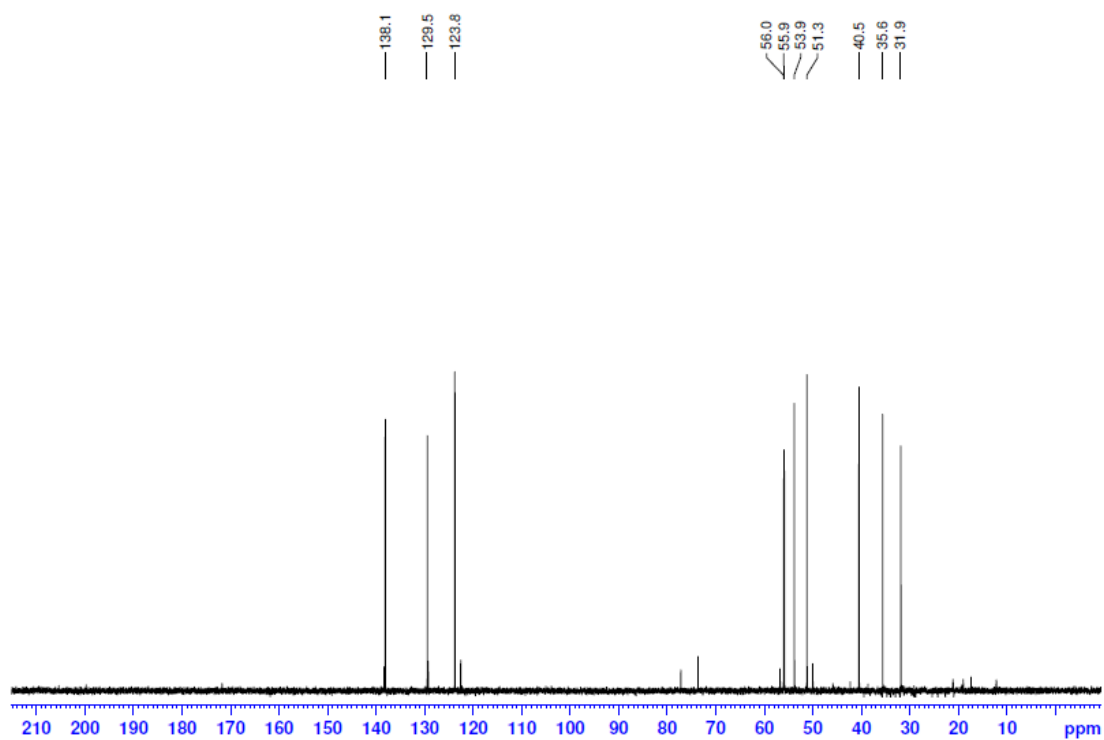


Figura 60: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (18).

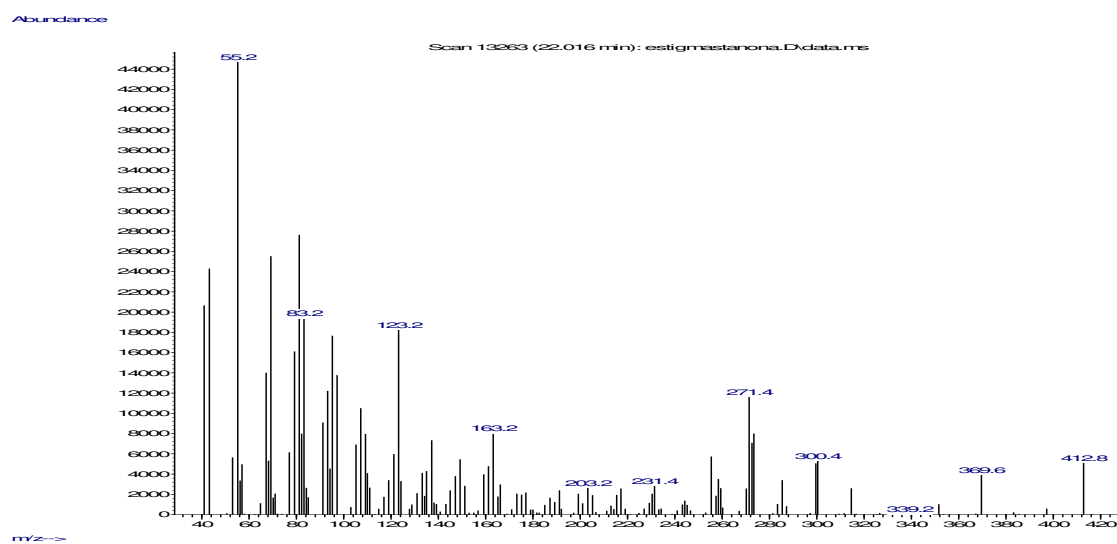


Figura 61: Espectro de massas do composto (19) (70 eV).



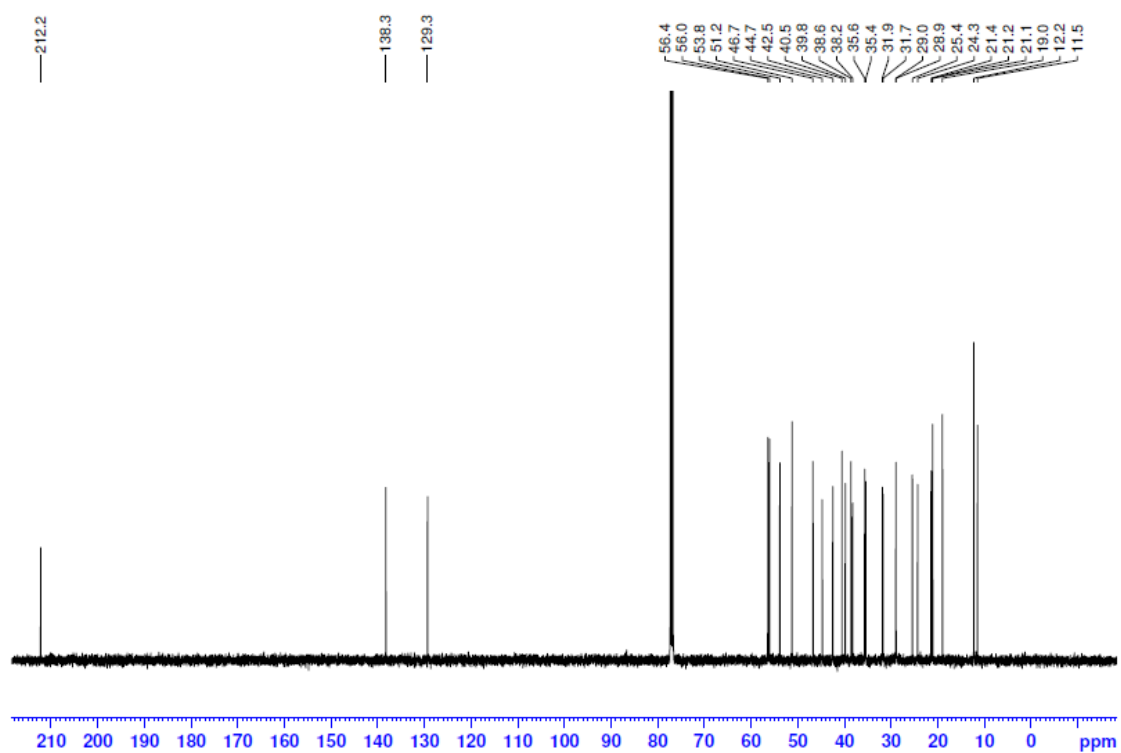


Figura 63: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (19) (125 MHz).

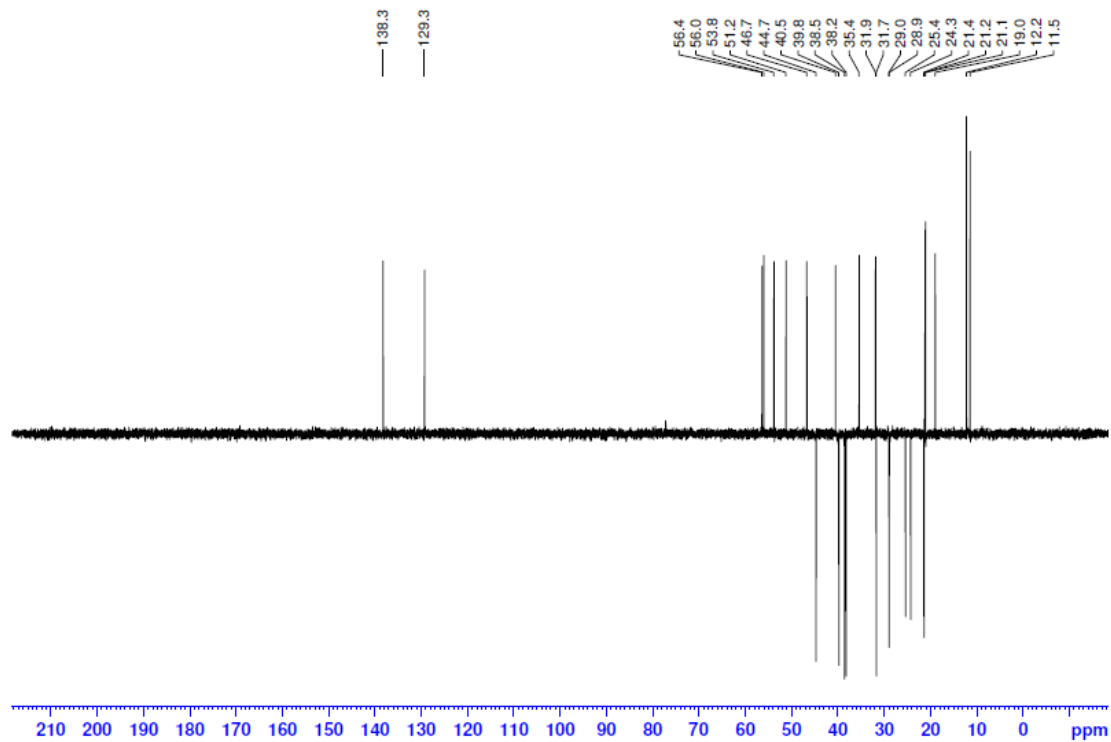


Figura 64: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (19).

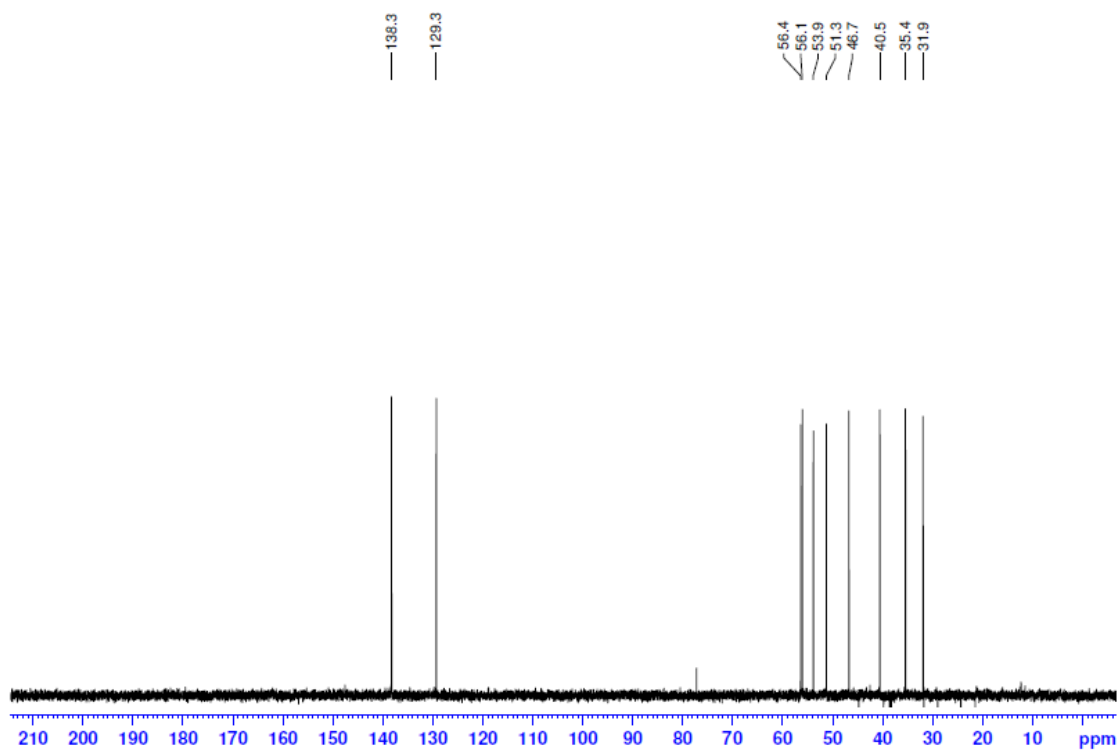


Figura 65: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (19).

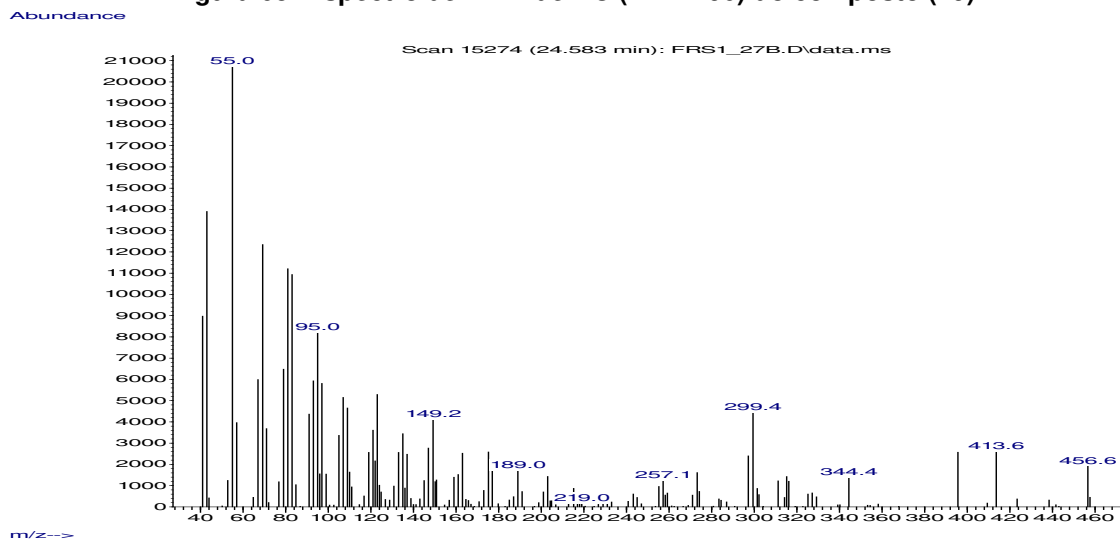


Figura 66: Espectro de massas do composto (20) (70 eV).

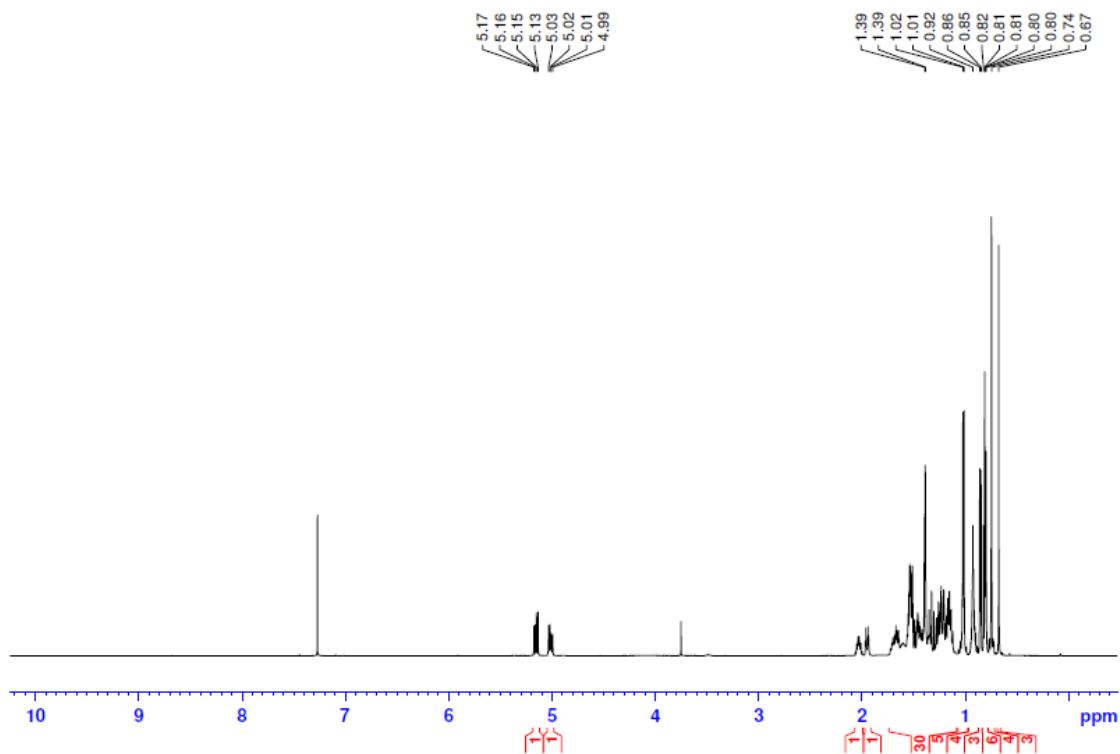


Figura 67: Espectro de RMN de ^1H do composto (20) (500 MHz).

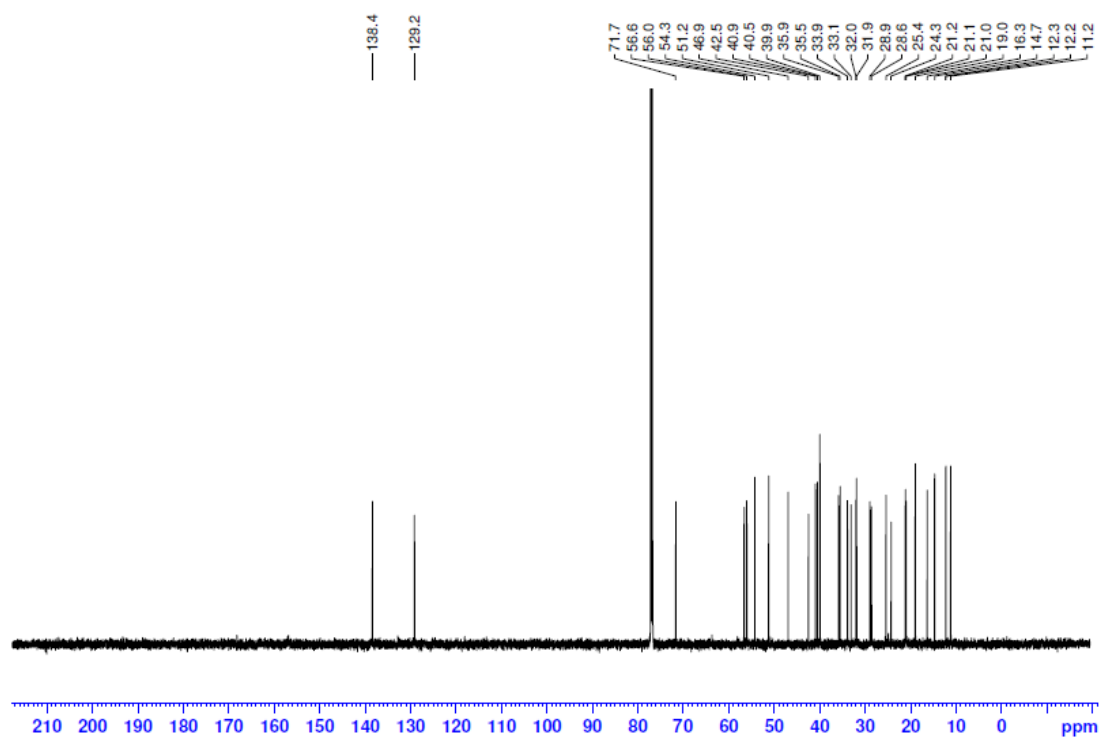


Figura 68: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (20) (125 MHz).

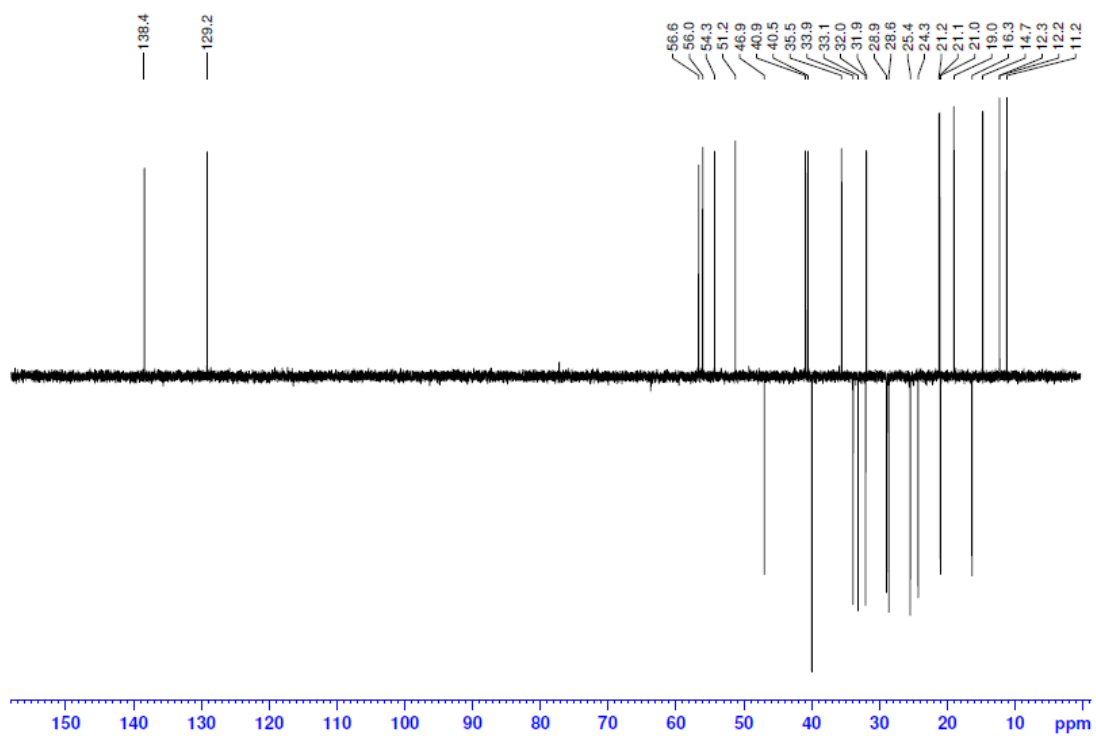


Figura 69: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (20).

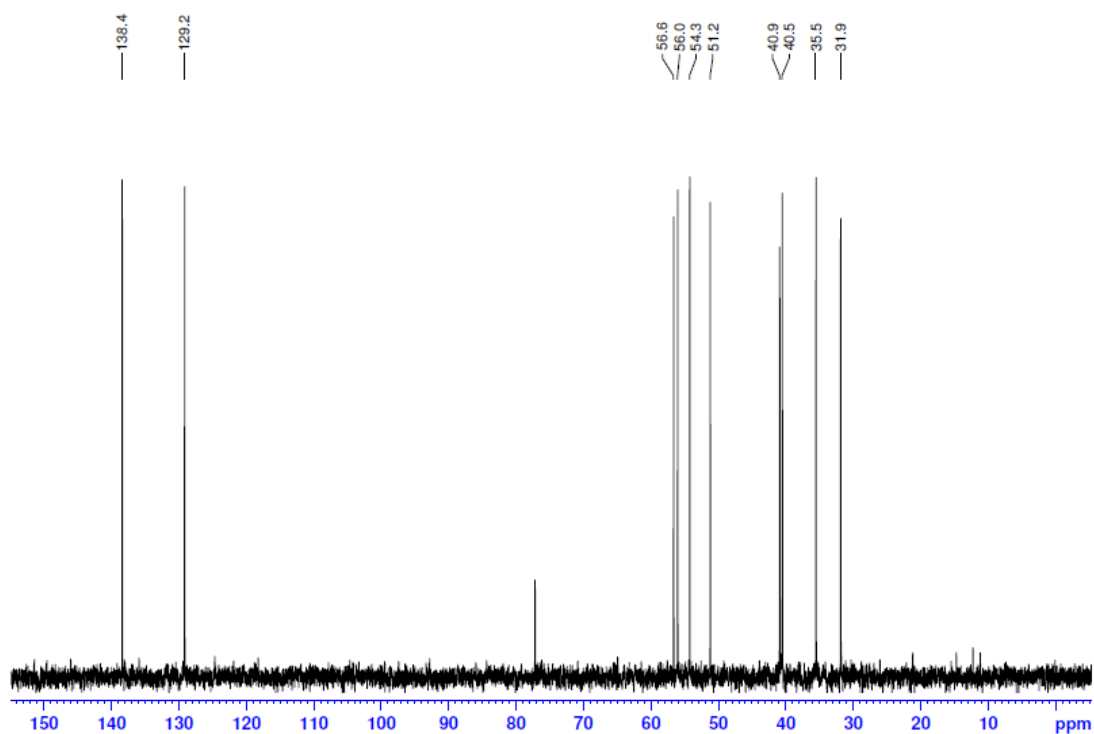


Figura 70: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (20).

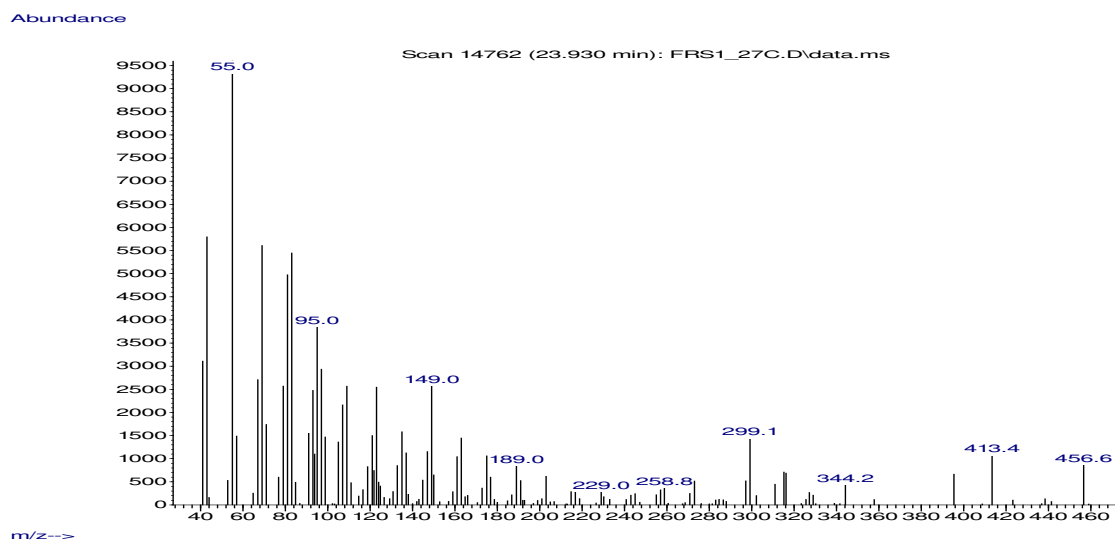


Figura 71: Espectro de massas do composto (21) (70 eV).

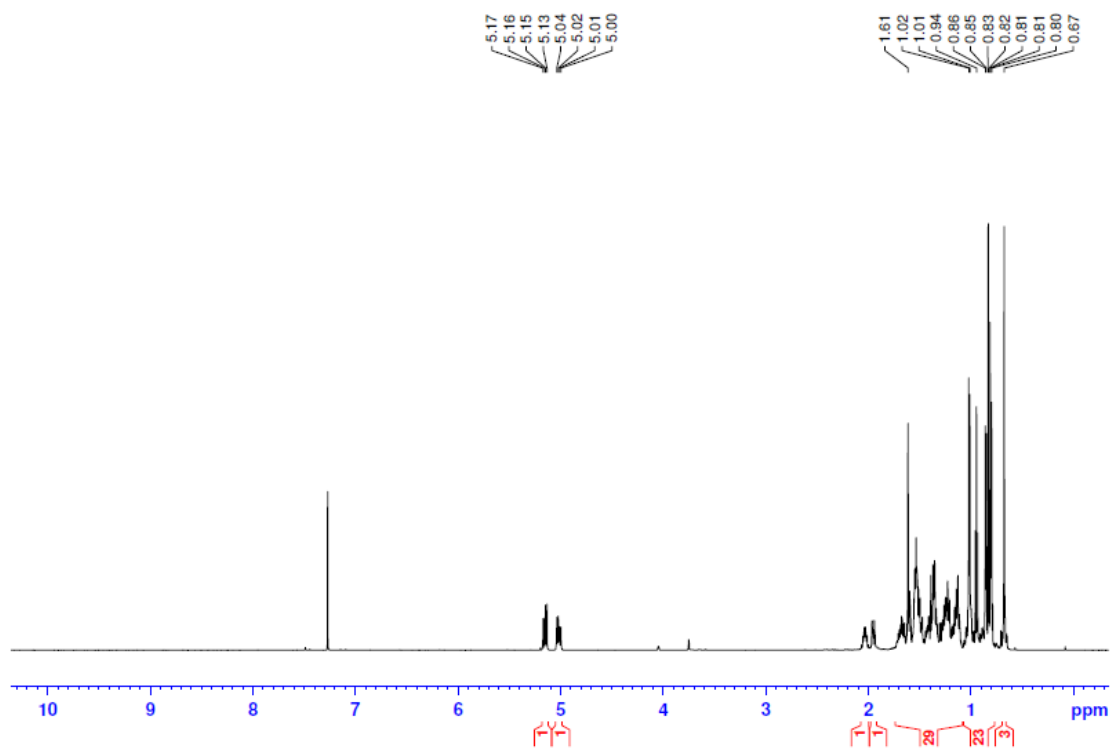


Figura 72: Espectro de RMN de ^1H do composto (21) (500 MHz).

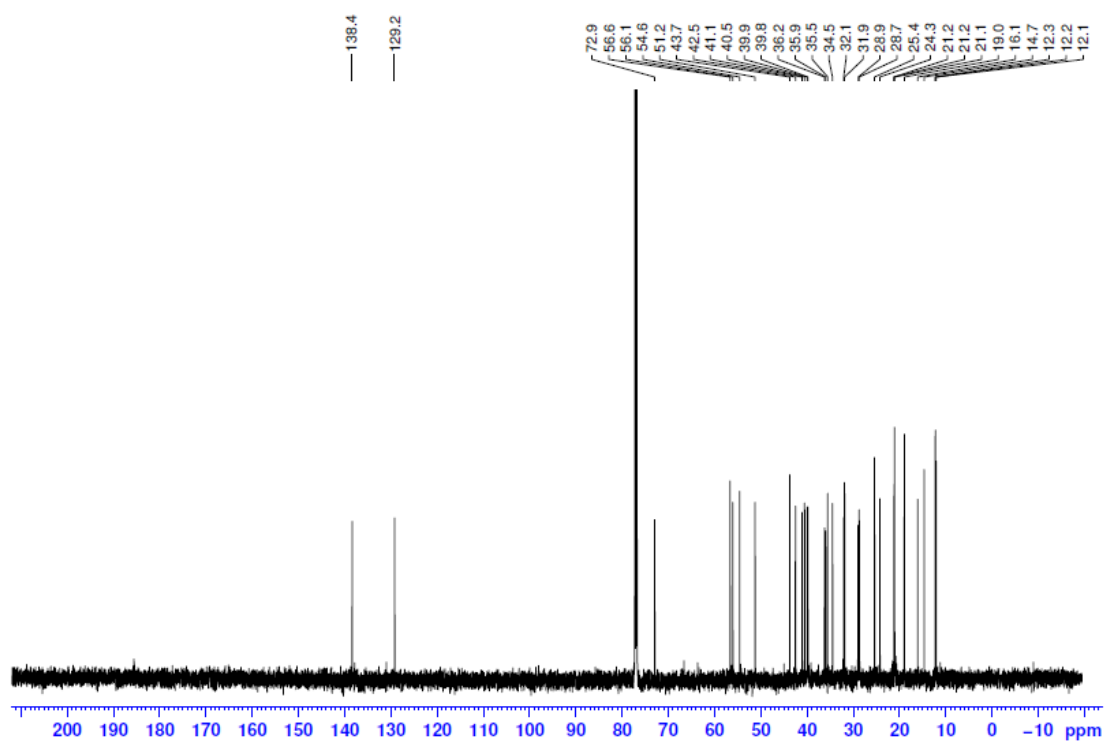


Figura 73: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (21) (125 MHz).

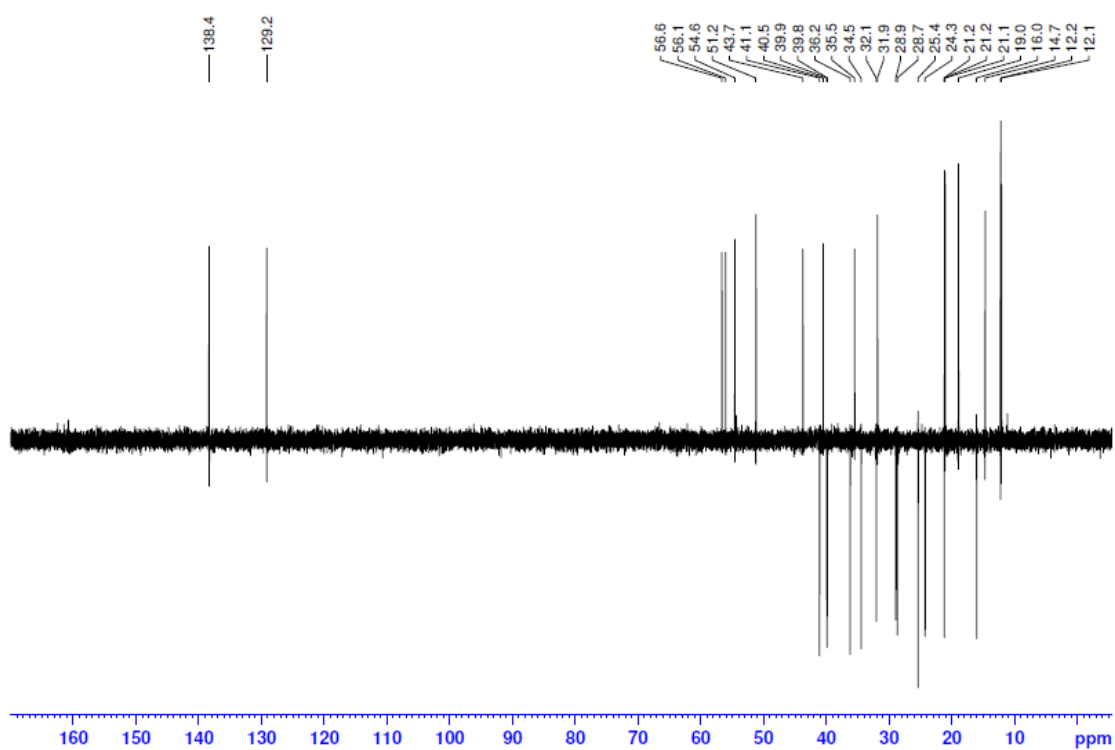


Figura 74: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (21).

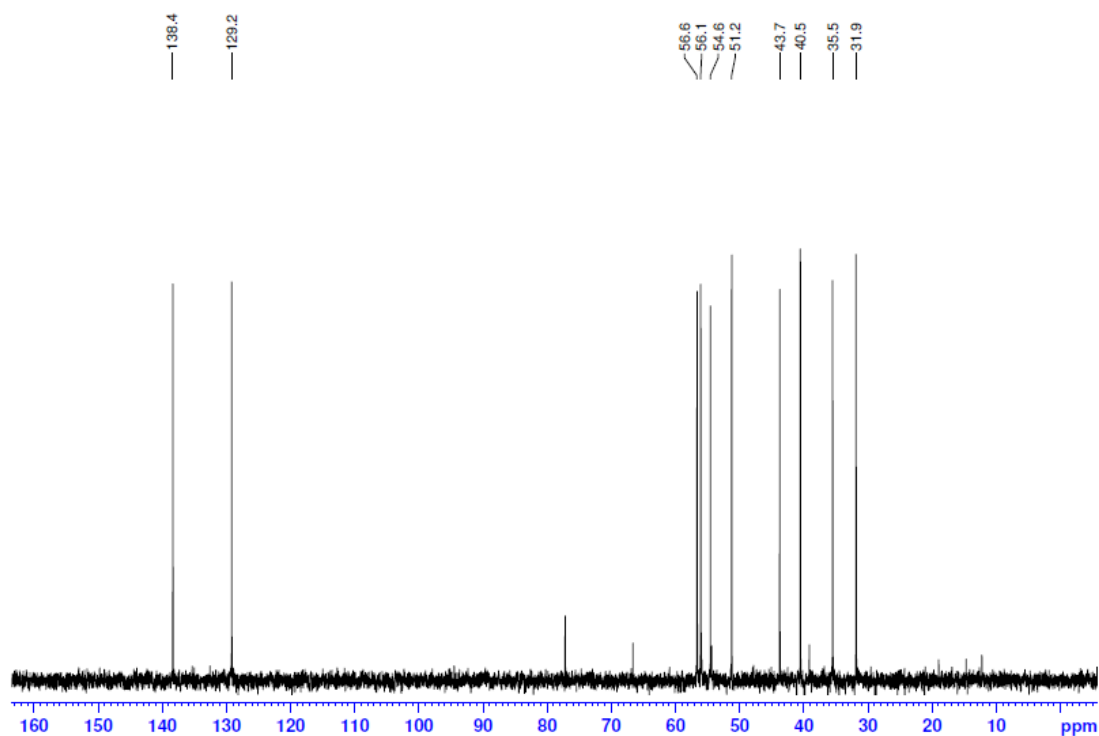


Figura 75: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (21).

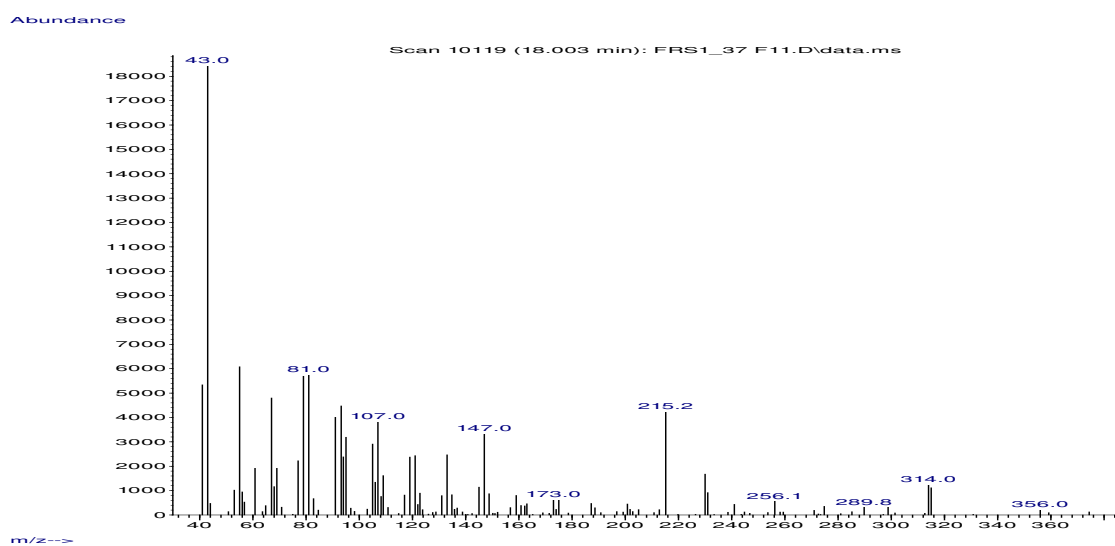


Figura 76: Espectro de massas do composto (22) (70 eV).

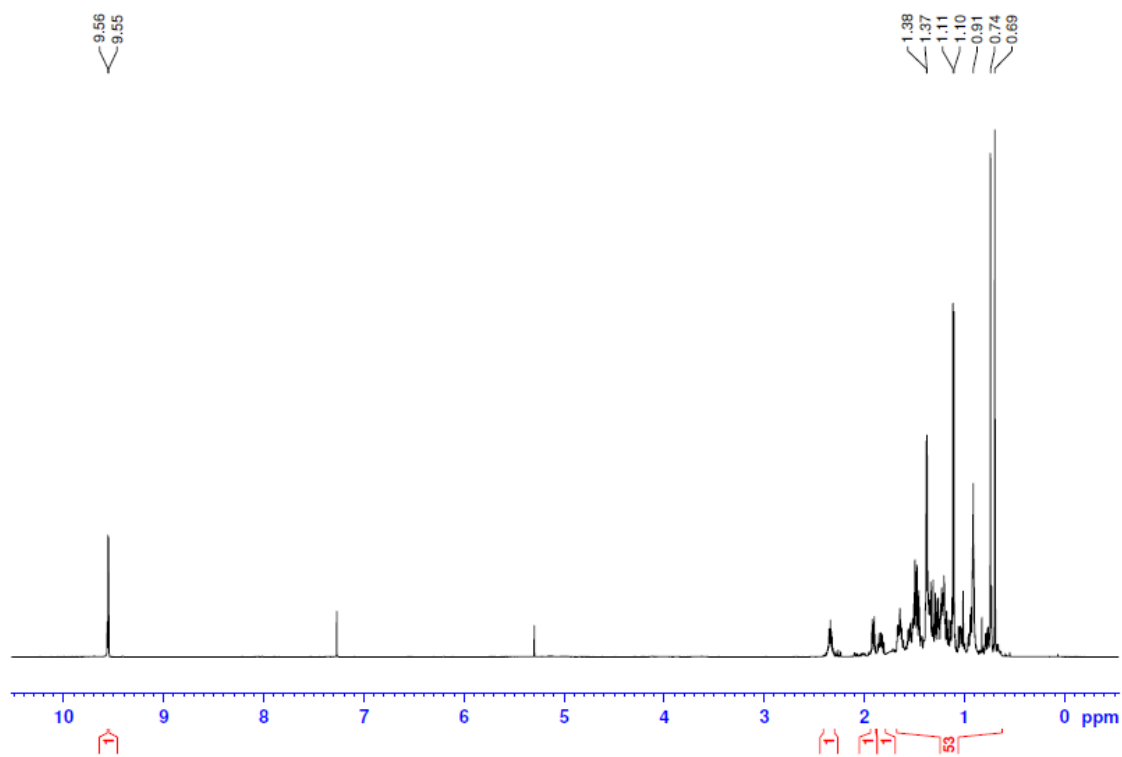


Figura 77: Espectro de RMN de ^1H do composto (22) (500 MHz).

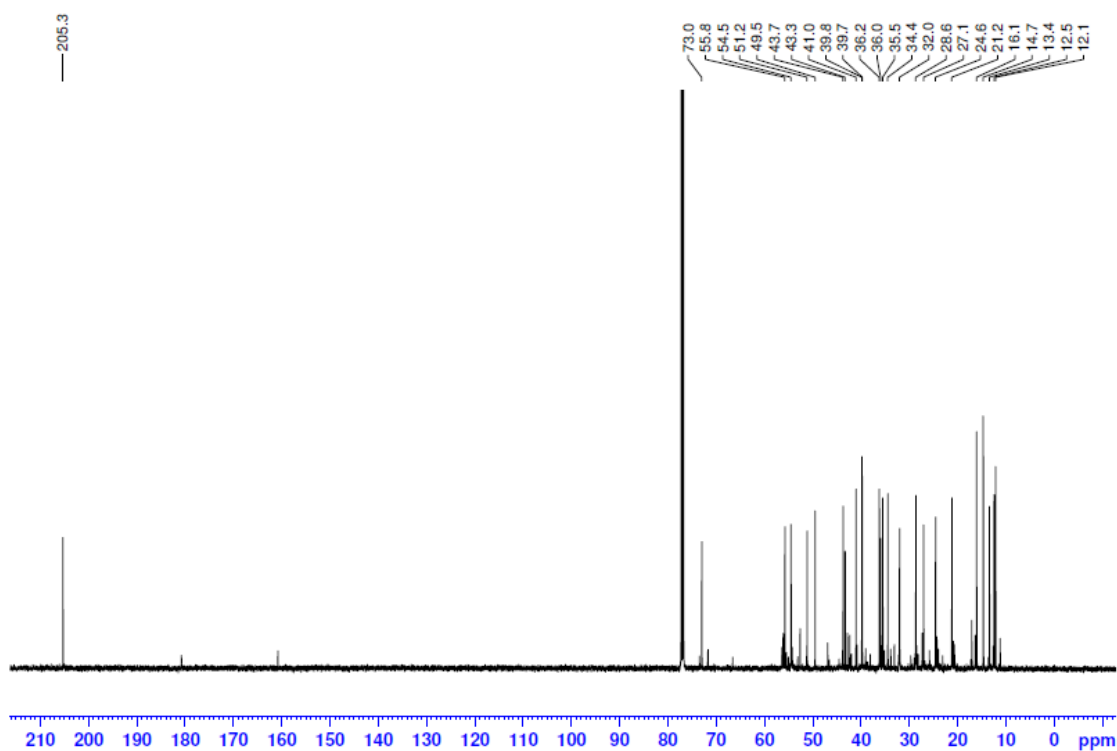


Figura 78: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (22) (125 MHz).

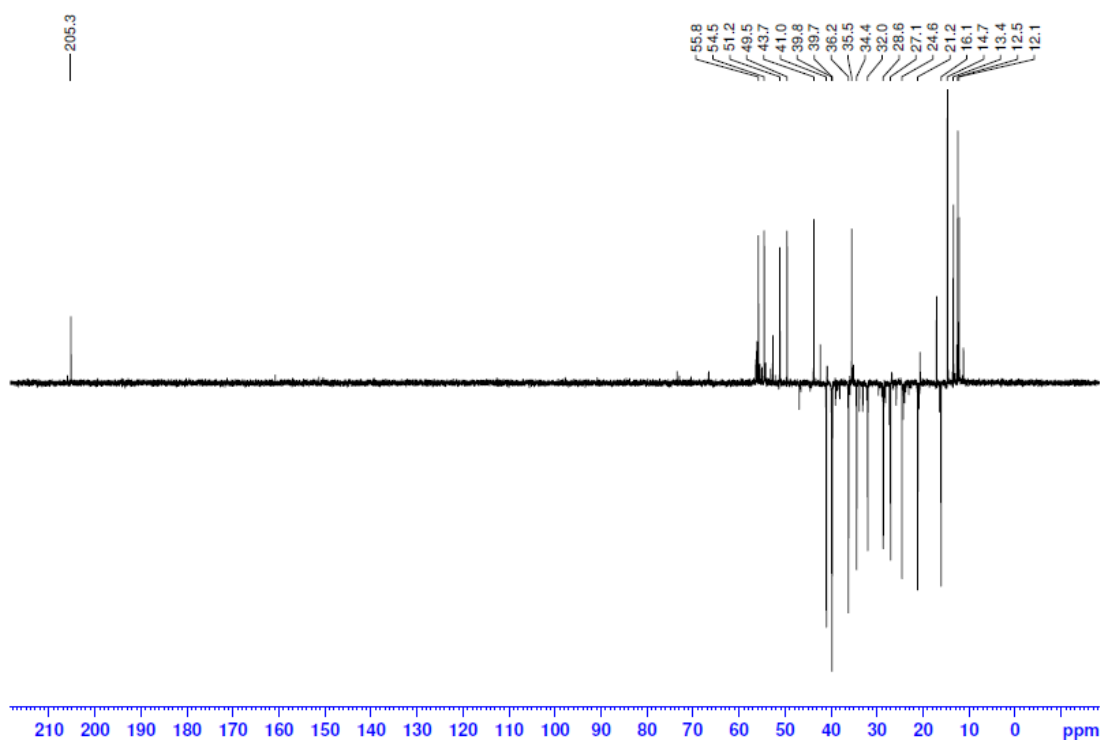


Figura 79: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (22).

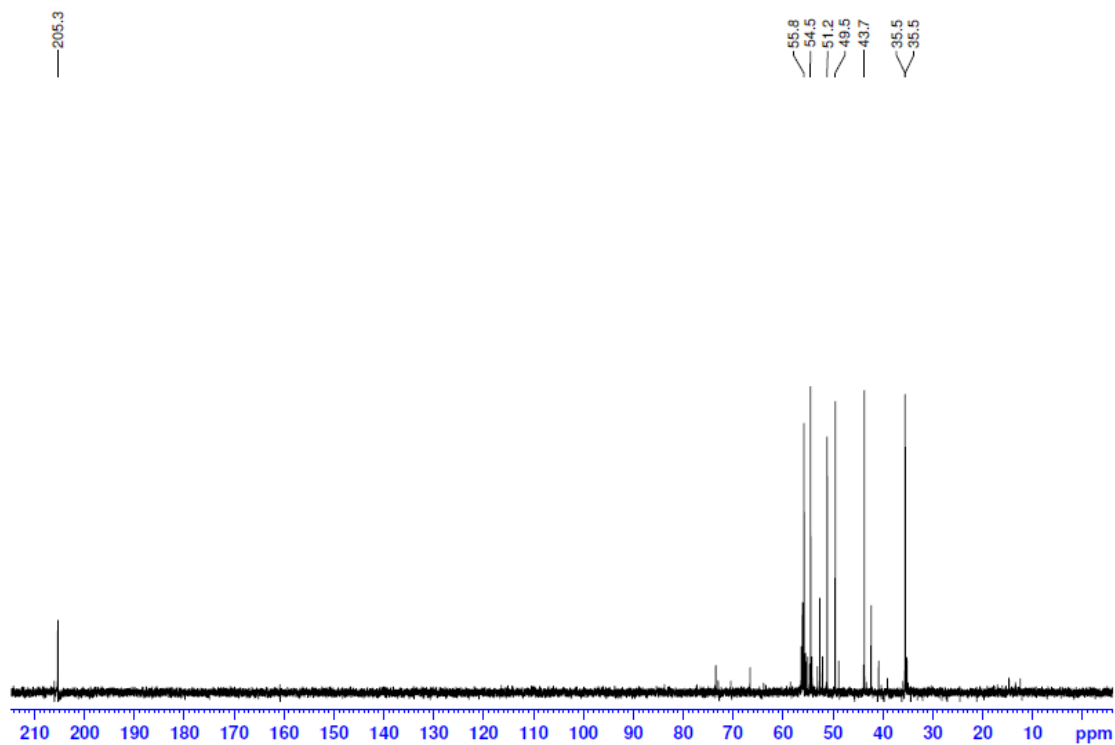


Figura 80: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (22).

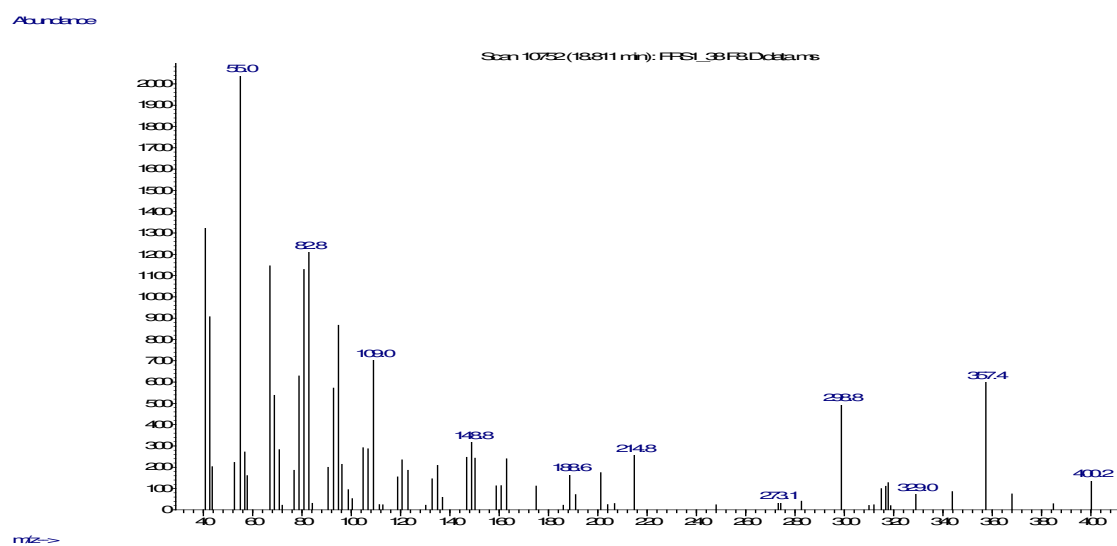


Figura 81: Espectro de massas do composto (23) (70 eV).

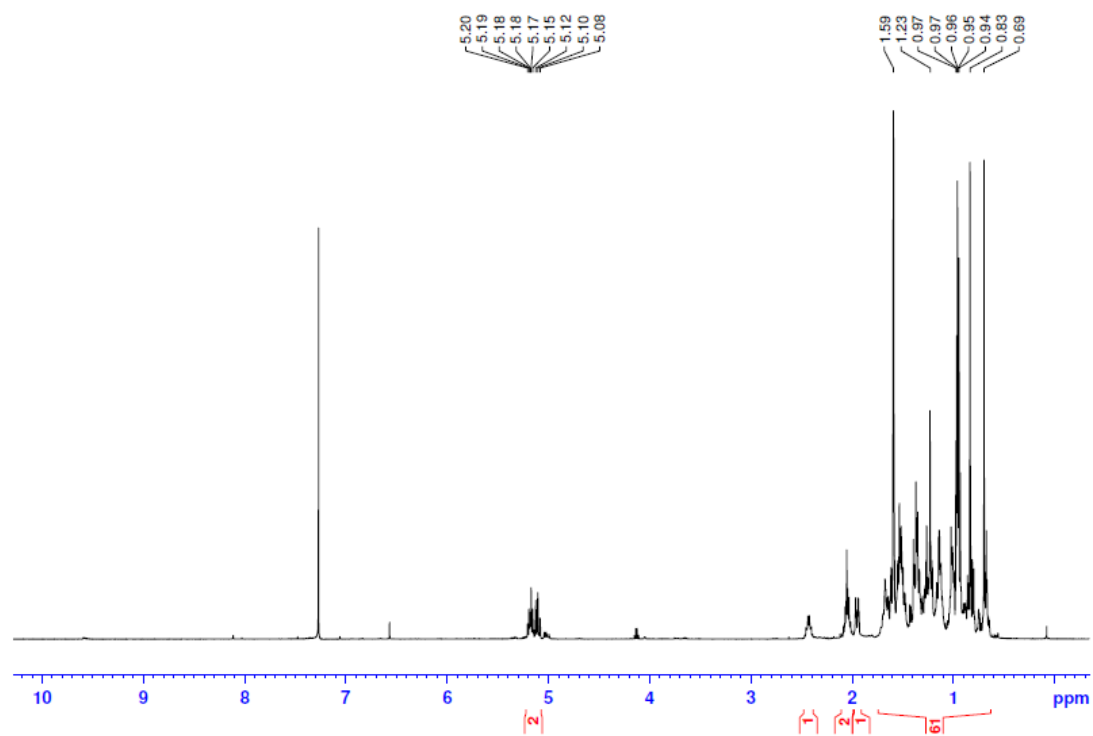


Figura 82: Espectro de RMN de ^1H do composto (23) (500 MHz).

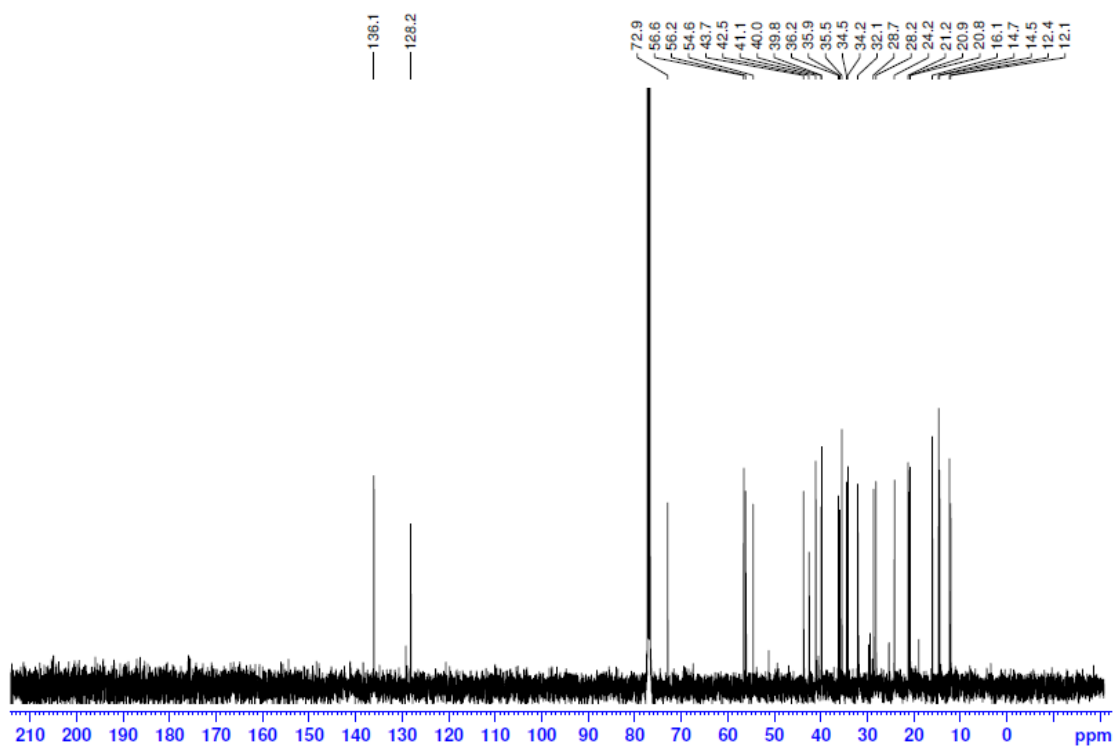


Figura 83: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (23) (125 MHz).

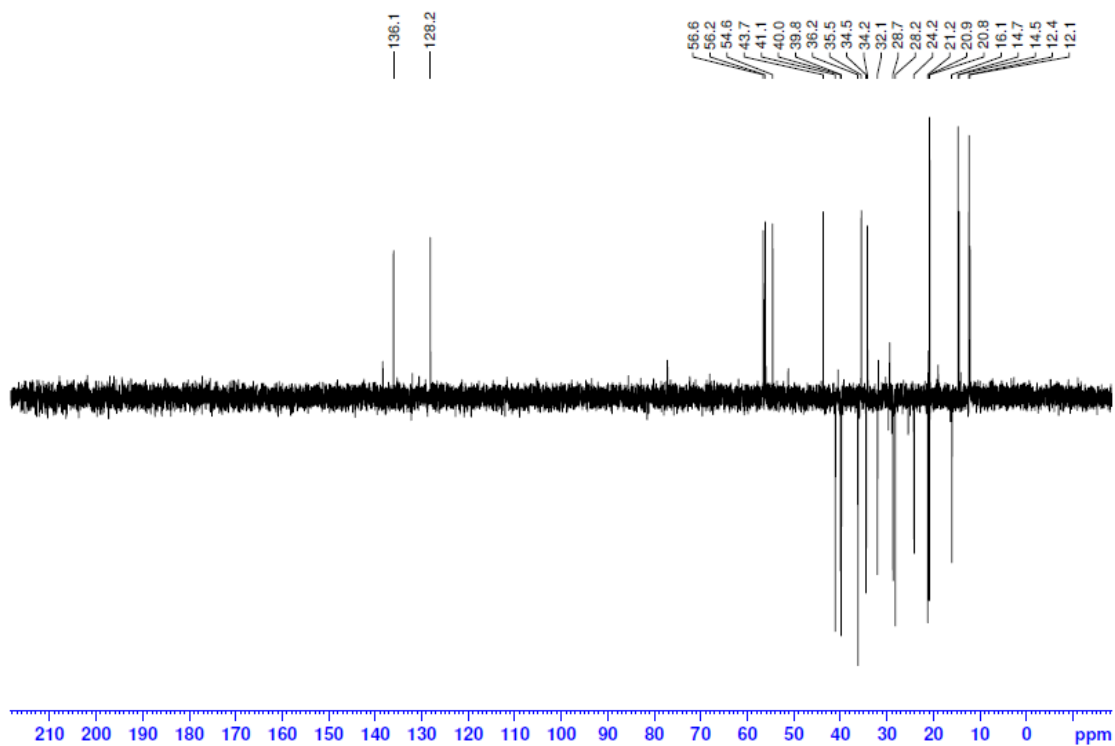


Figura 84: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (23).

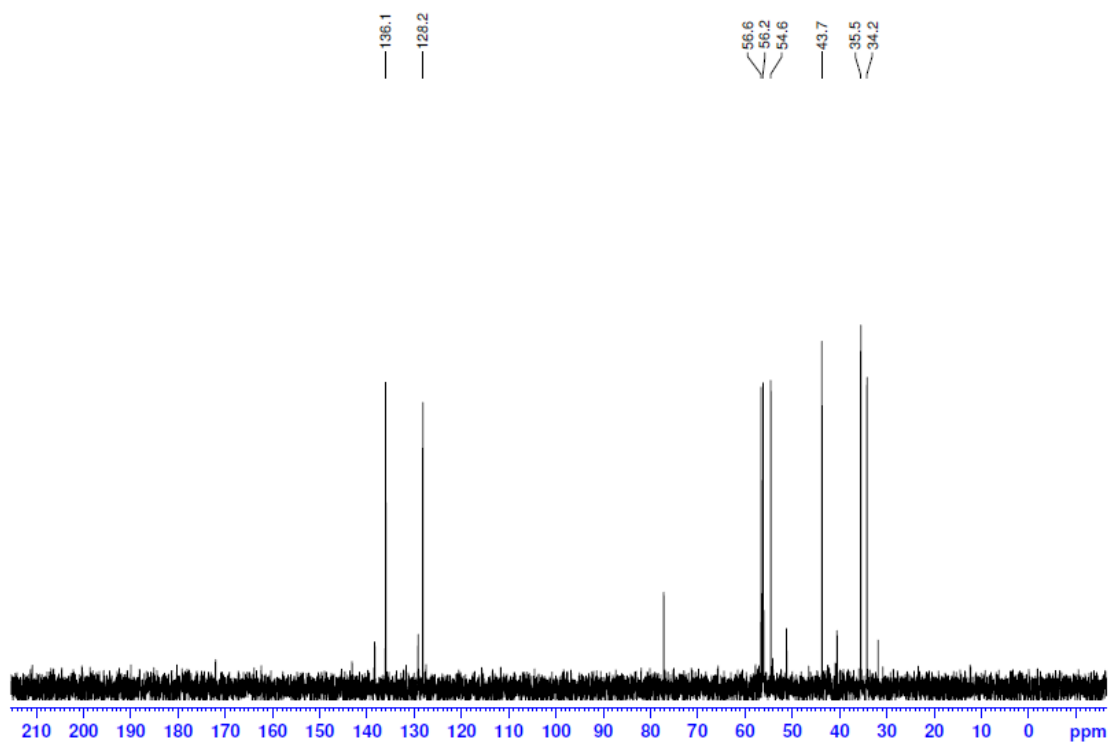


Figura 85: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (23).

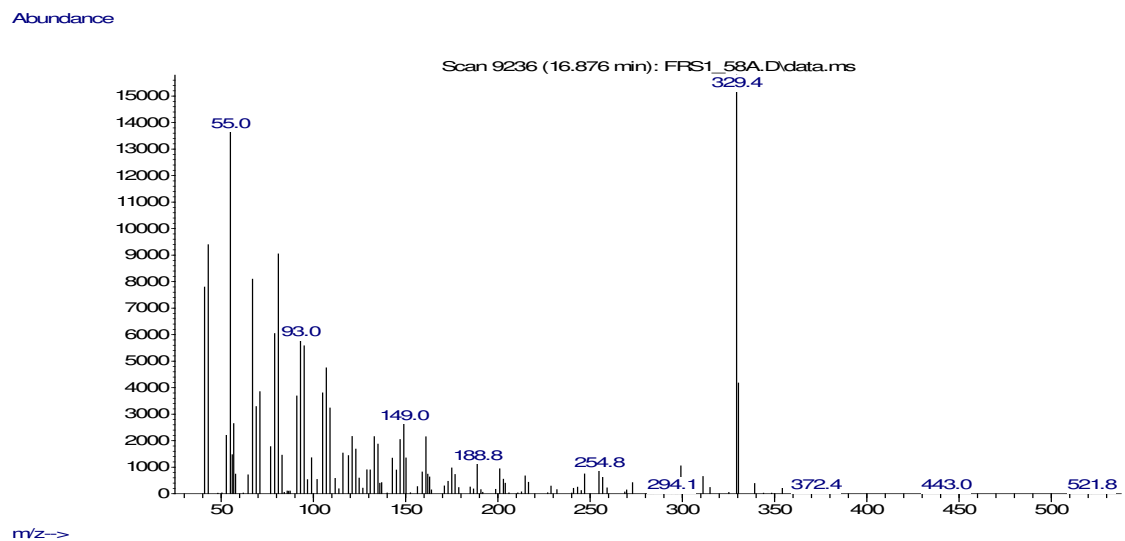
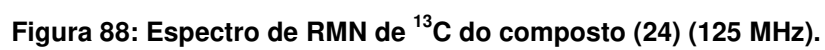


Figura 86: Espectro de massas do composto (24) (70 eV).



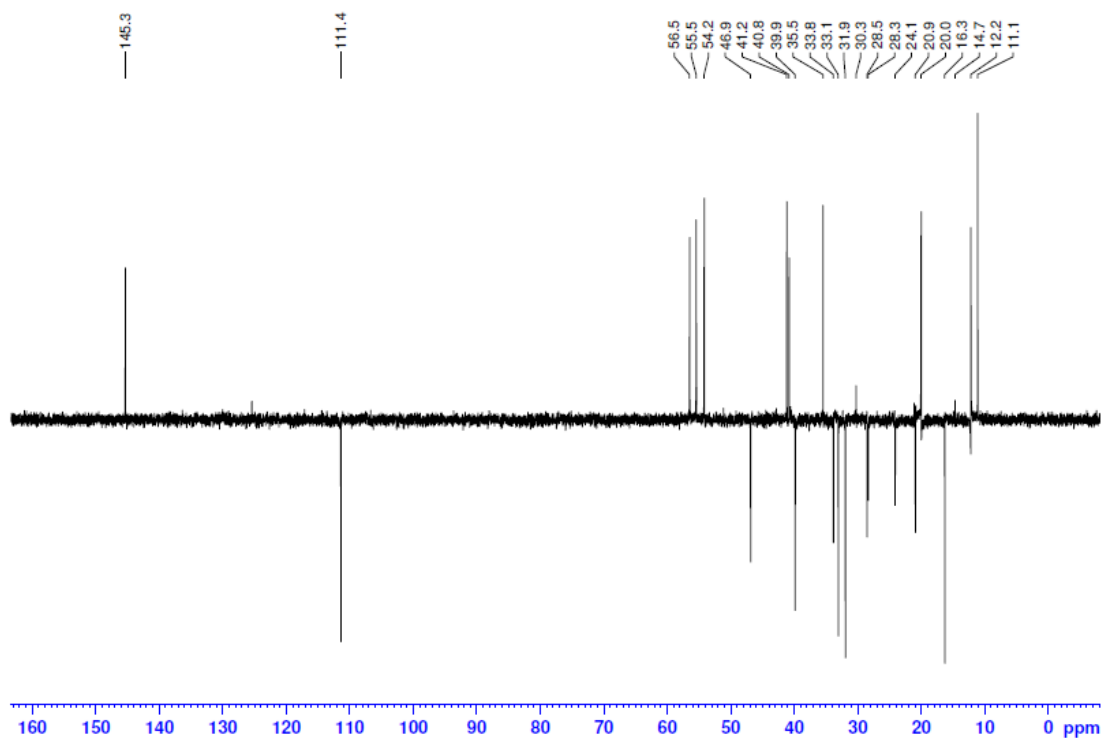


Figura 89: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (24).

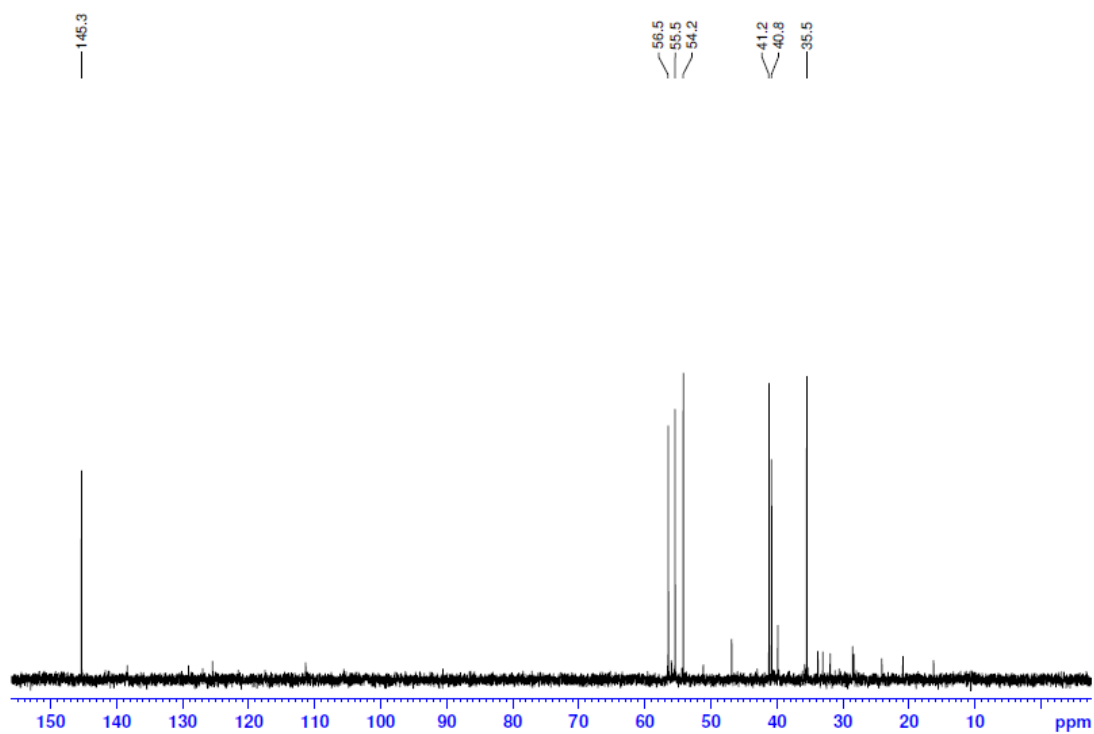


Figura 90: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (24).

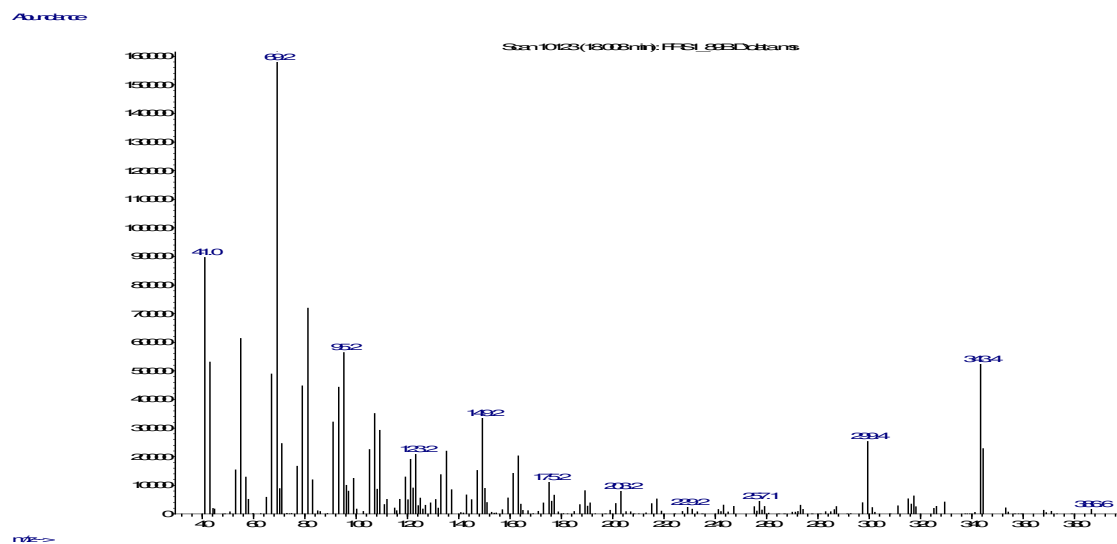


Figura 91: Espectro de massas do composto (25) (70 eV).



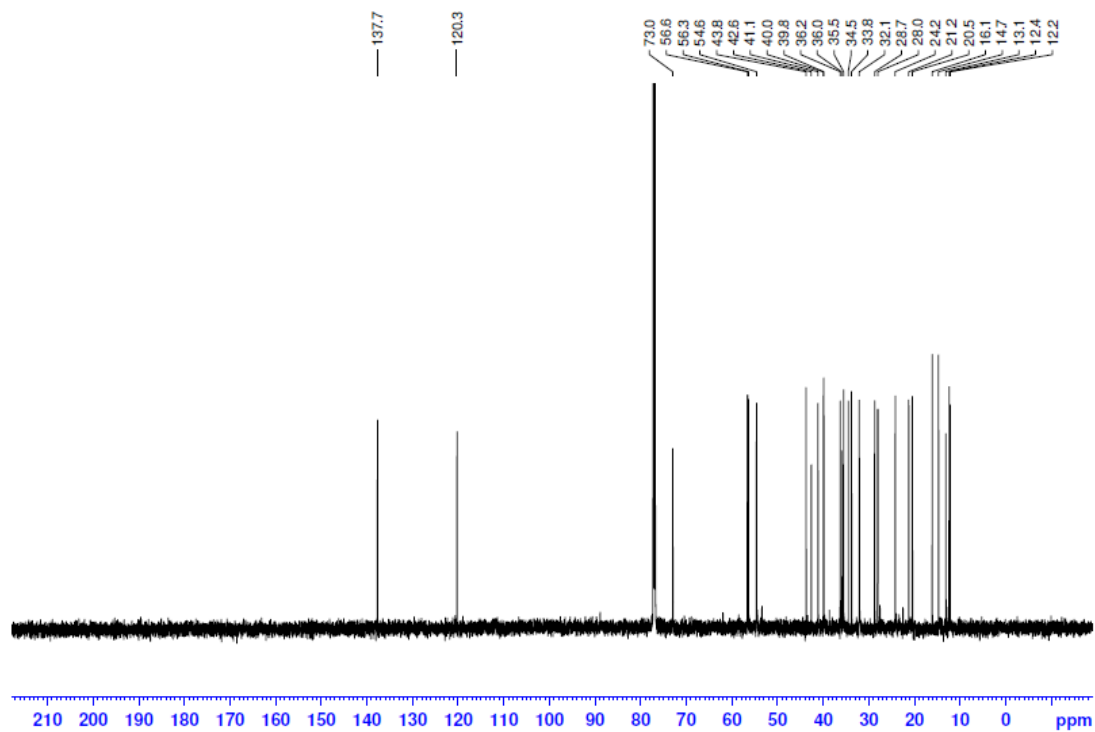


Figura 93: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (25) (125 MHz).

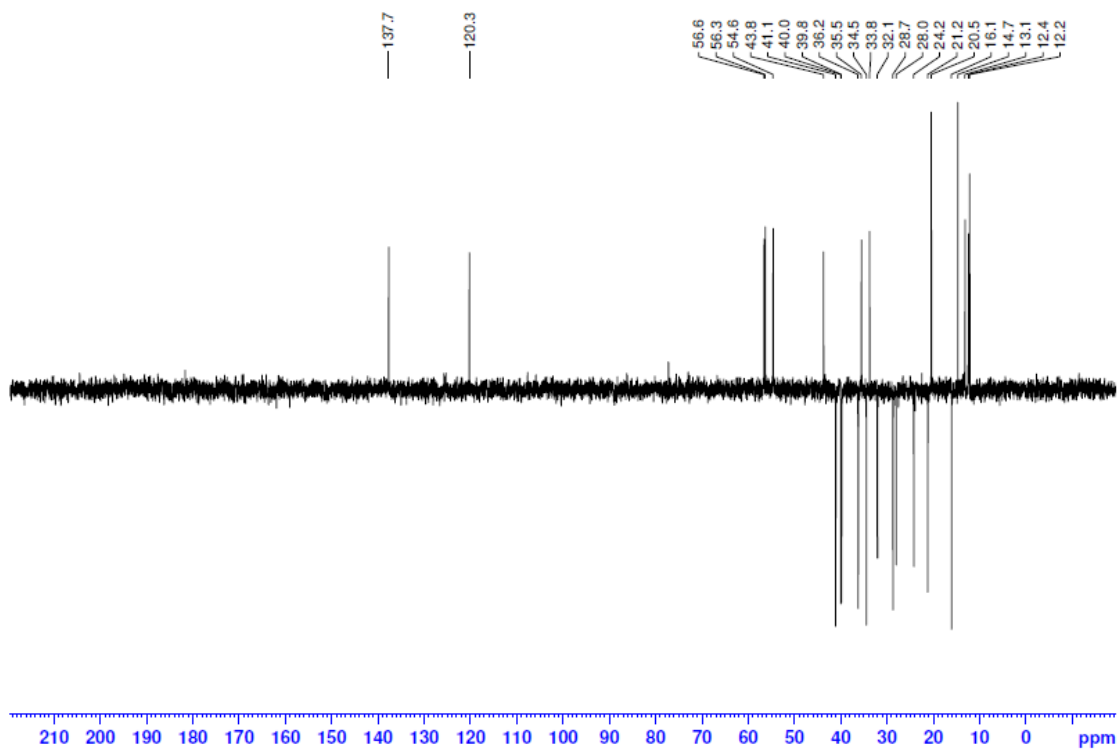


Figura 94: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (25).

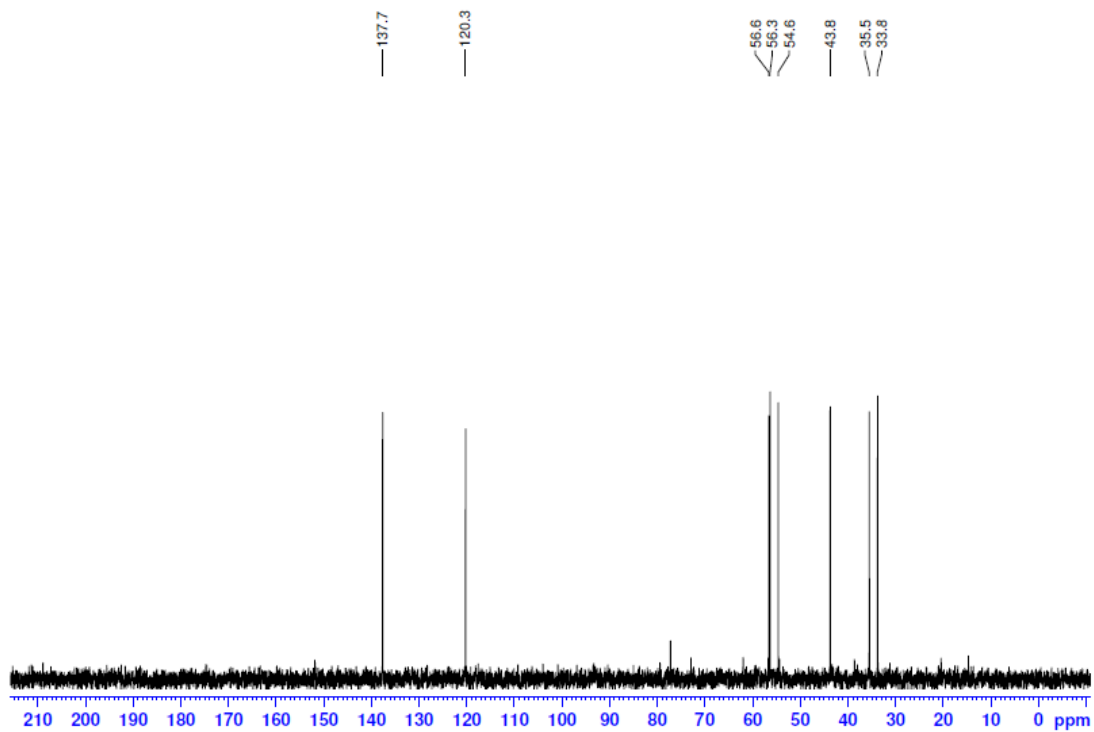


Figura 95: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (25).

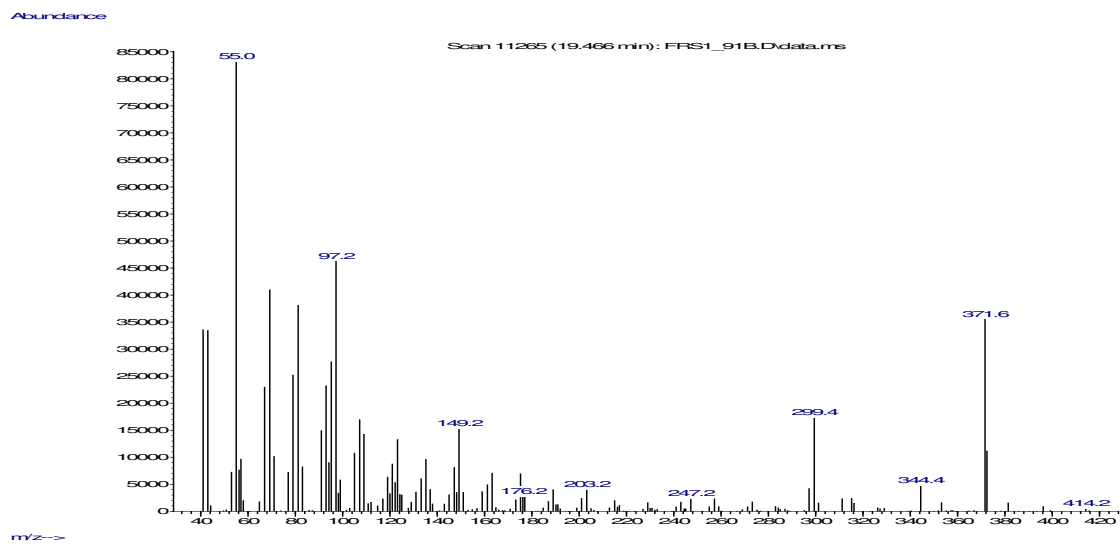


Figura 96: Espectro de massas do composto (26) (70 eV).

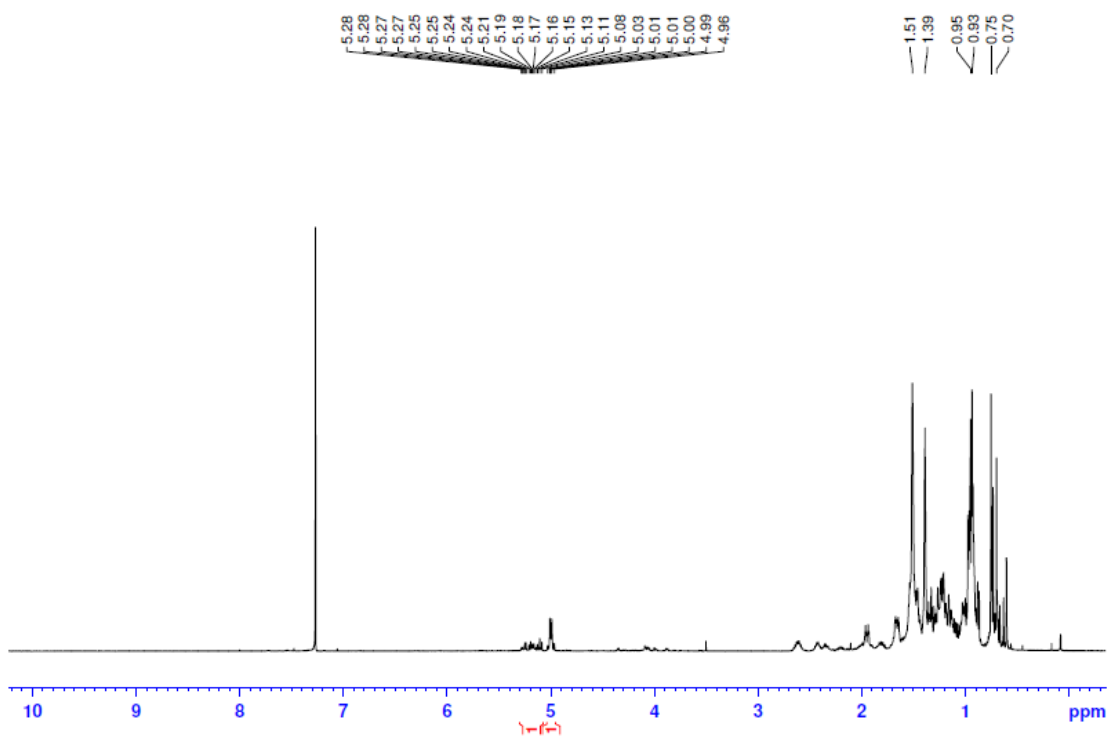


Figura 97: Espectro de RMN de ^1H do composto (26) (500 MHz).

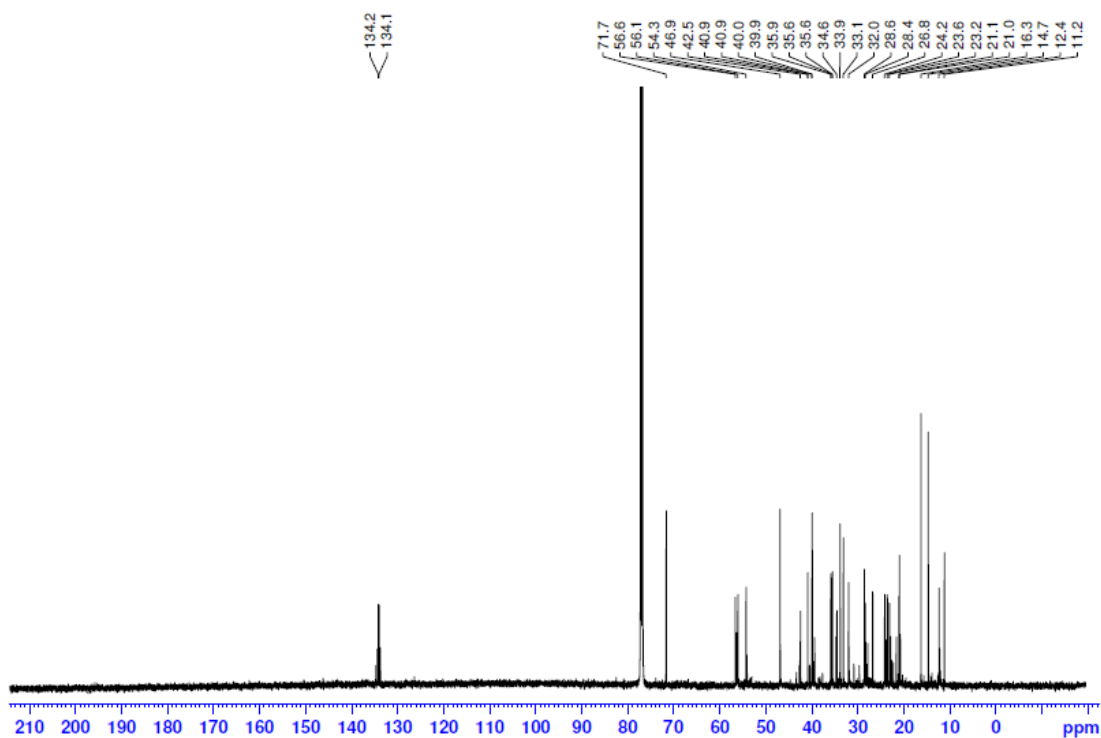


Figura 98: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (26) (125 MHz).

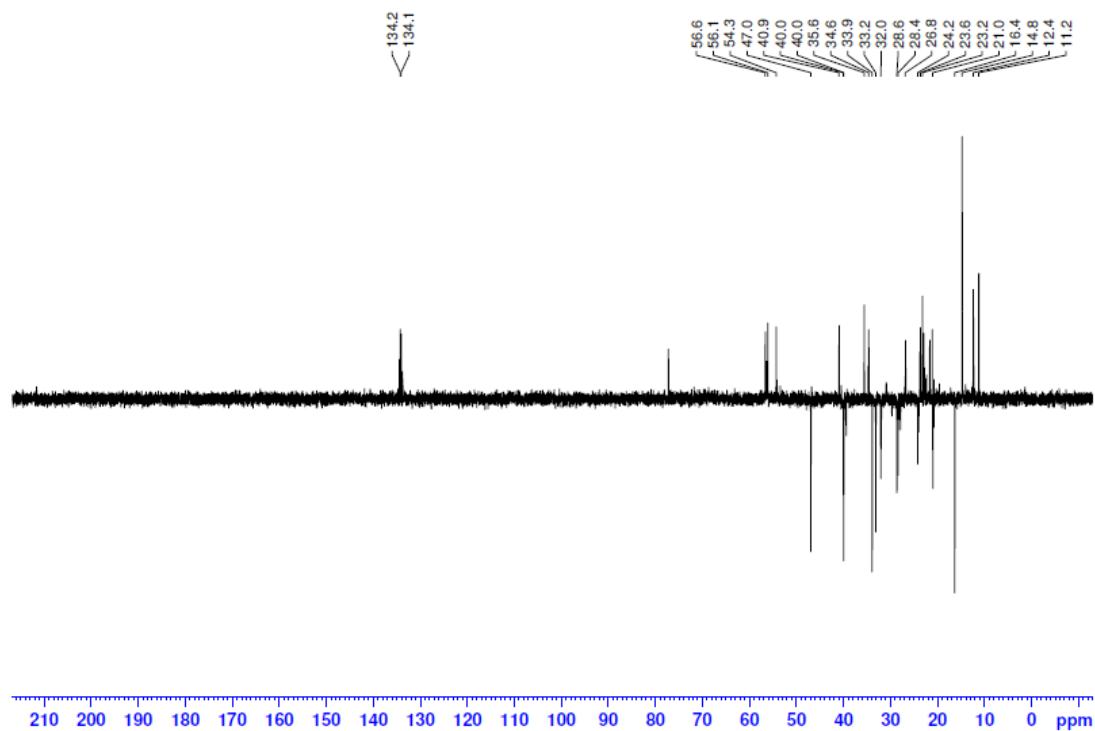


Figura 99: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (26).

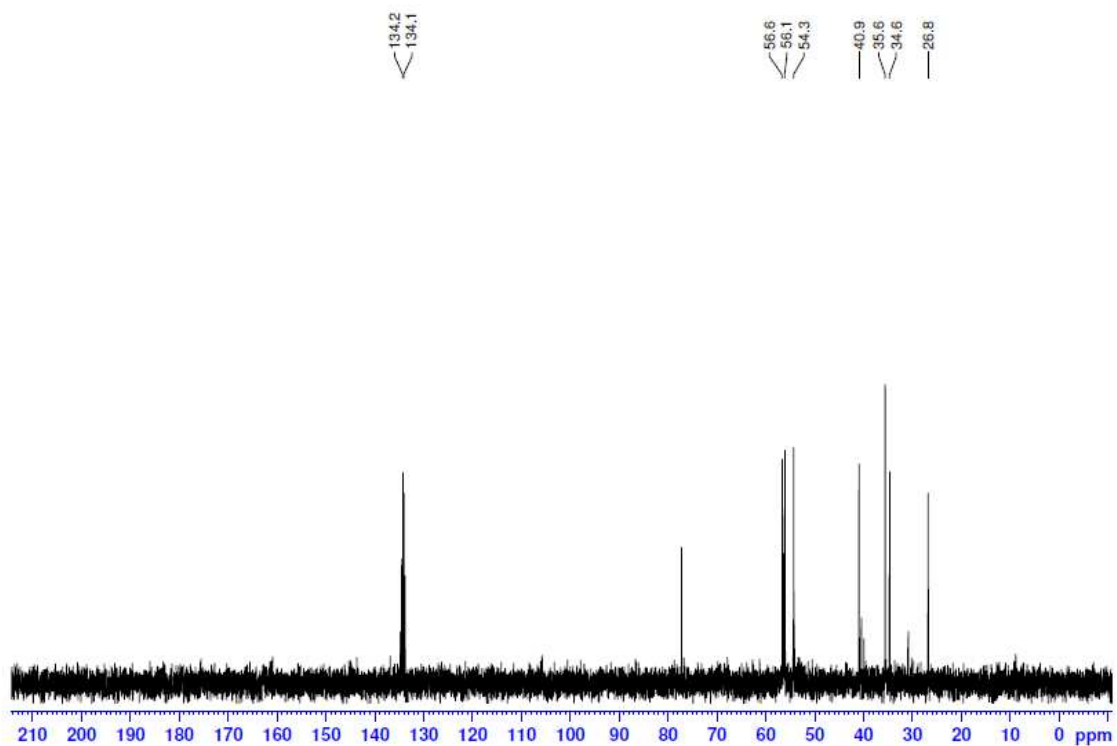


Figura 100: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (26).

Abundance

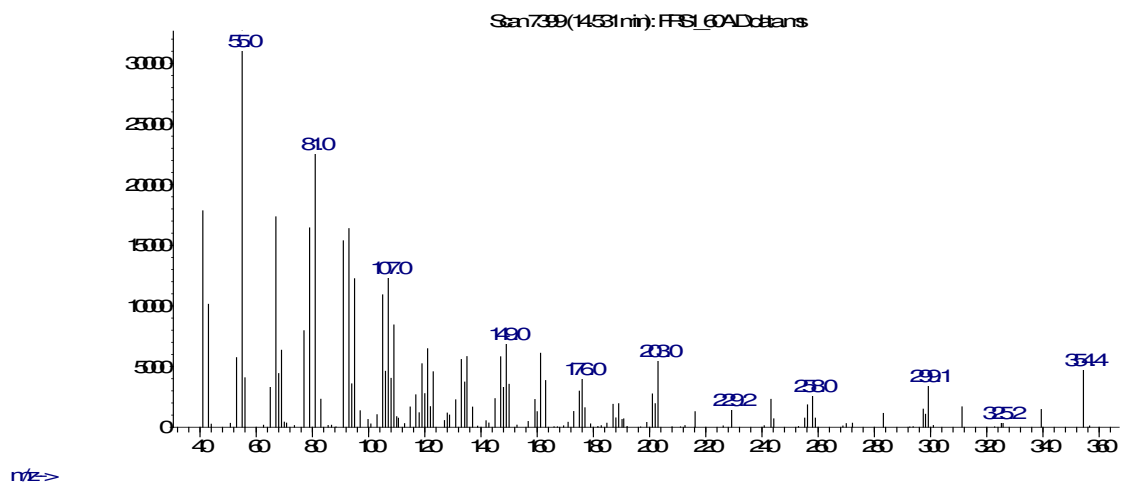


Figura 101: Espectro de massas do composto (27) (70 eV).

Abundance

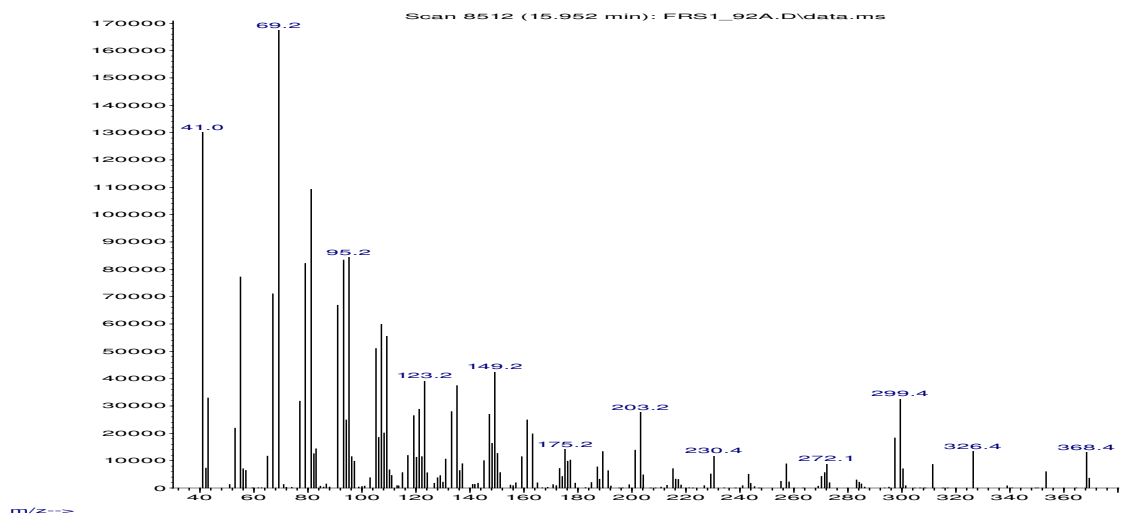


Figura 102: Espectro de massas do composto (28) (70 eV).

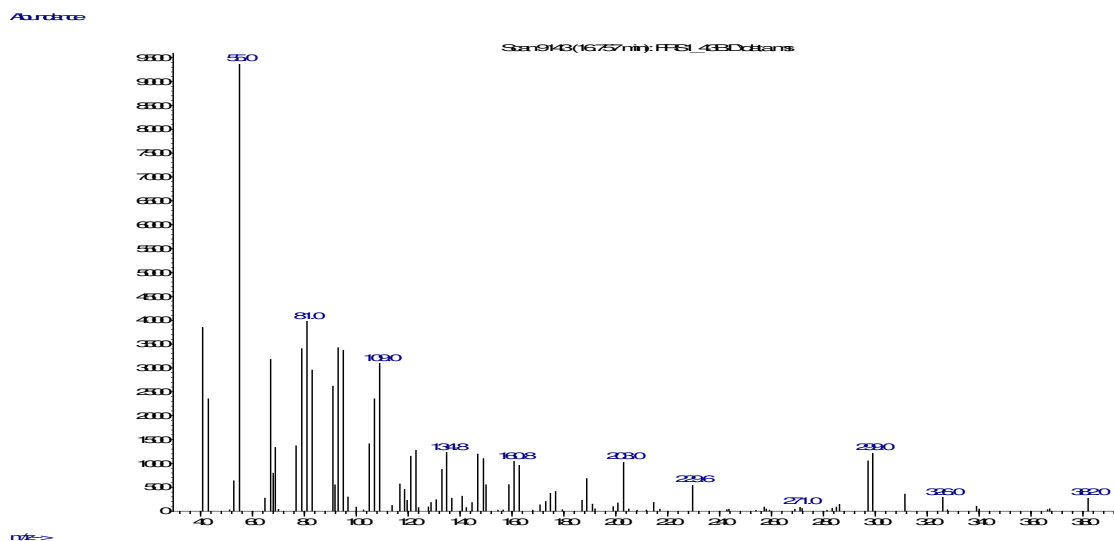


Figura 103: Espectro de massas do composto (29) (70 eV).

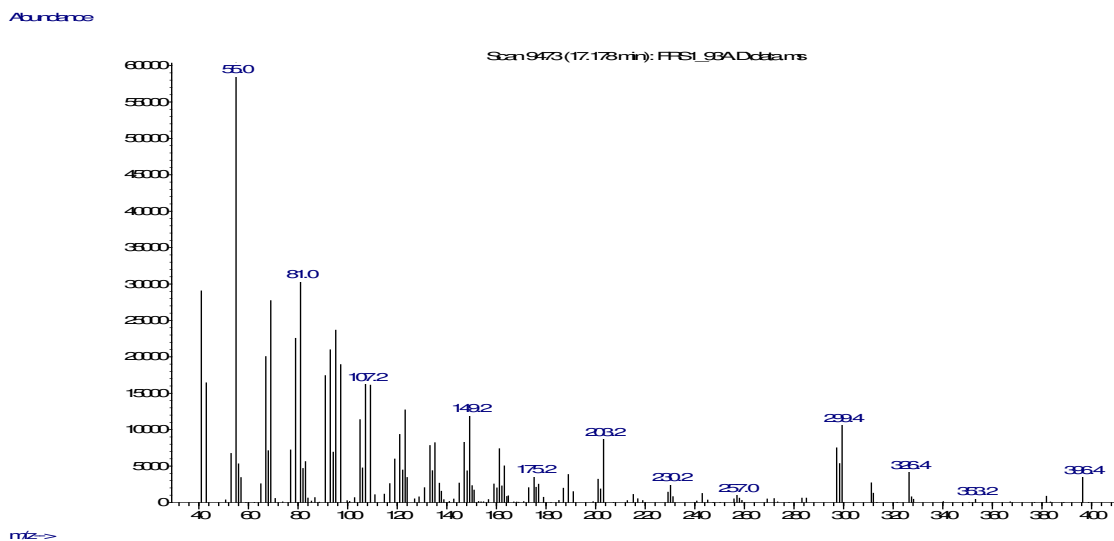


Figura 104: Espectro de massas do composto (30) (70 eV).

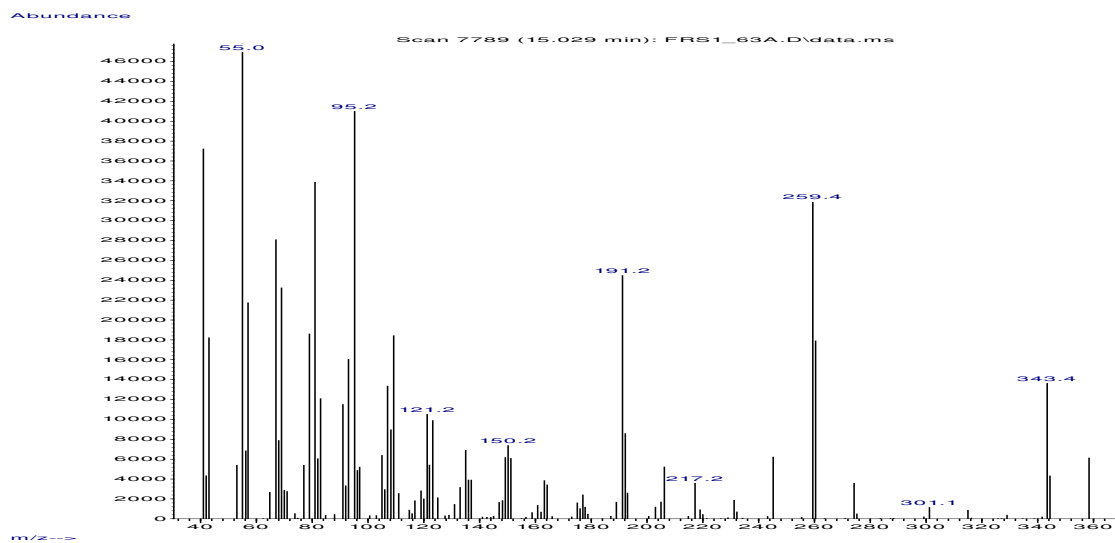


Figura 105: Espectro de massas do composto (11) (70 eV).

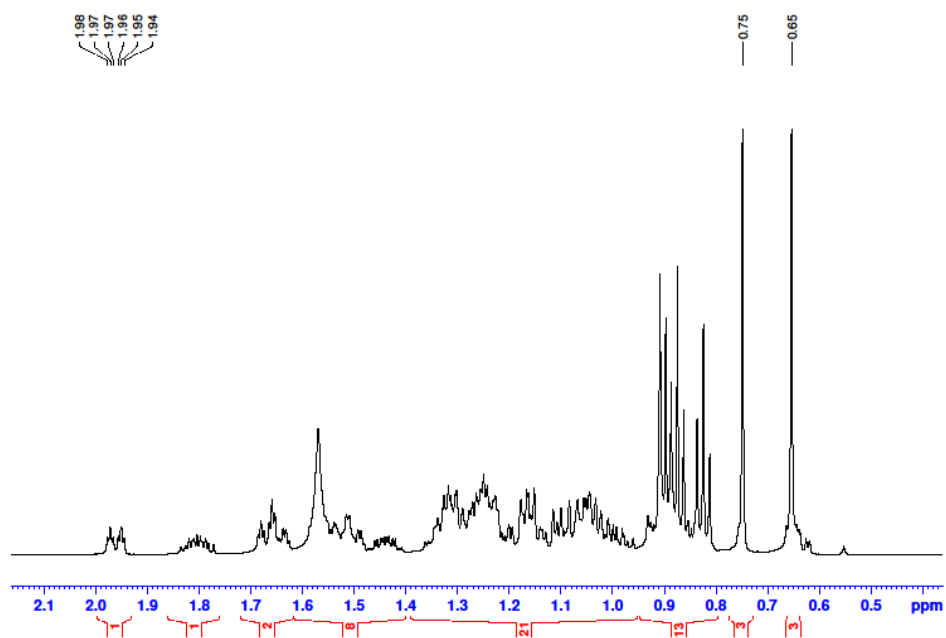


Figura 106: Espectro de RMN de ^1H do composto (11) (500 MHz).

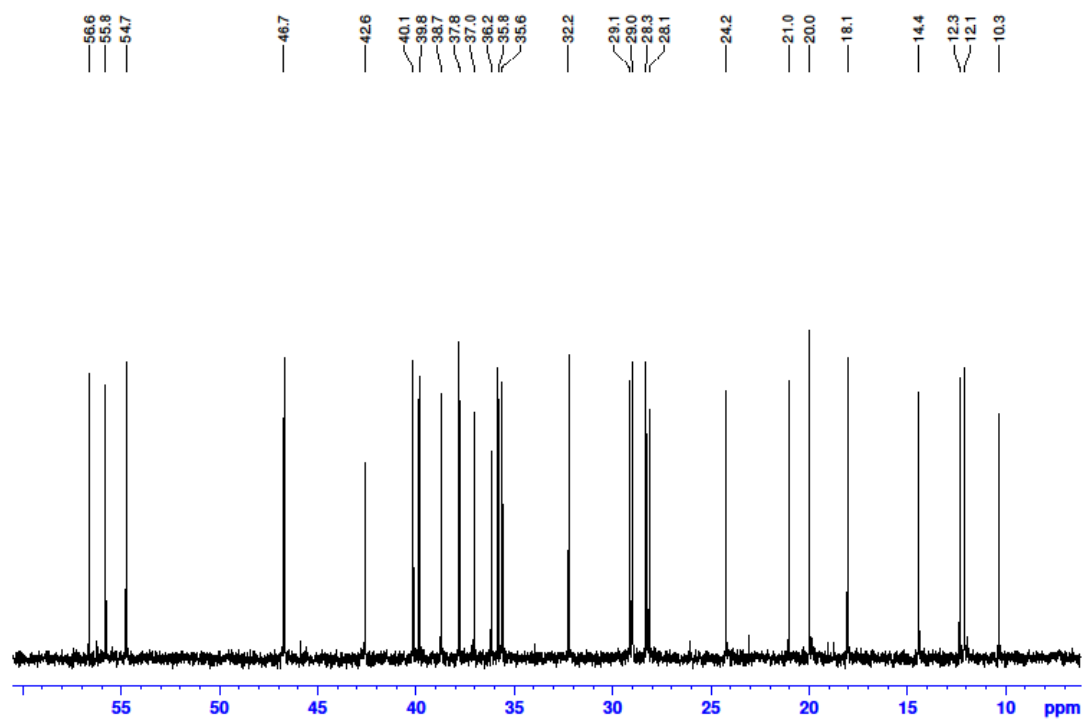


Figura 107: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (11) (125 MHz).

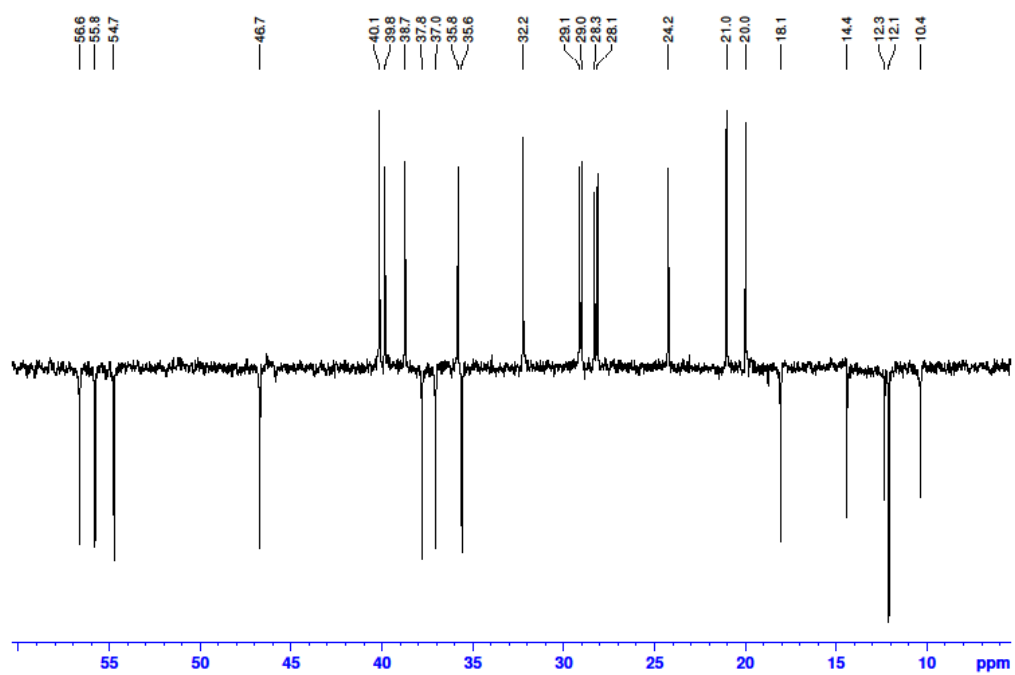


Figura 108: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (11).

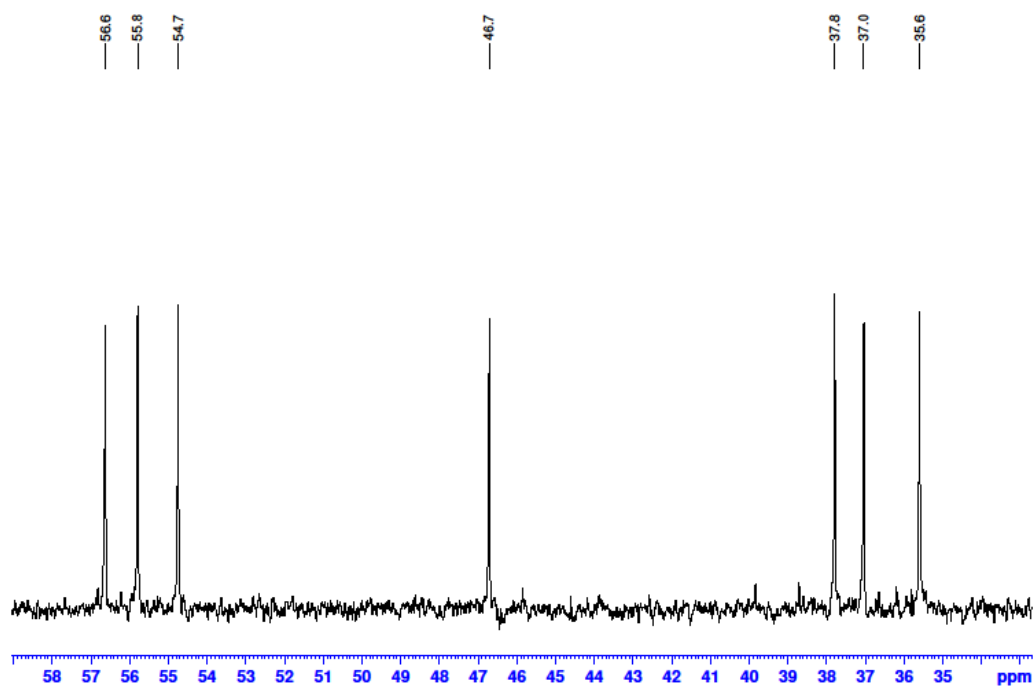


Figura 109: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (11).

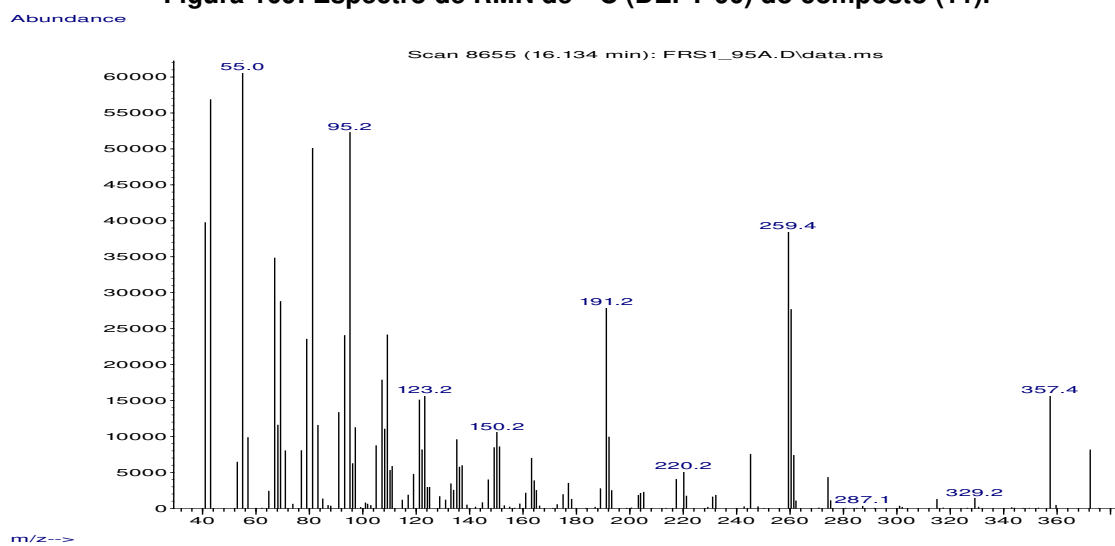


Figura 110: Espectro de massas do composto (12) (70 eV).

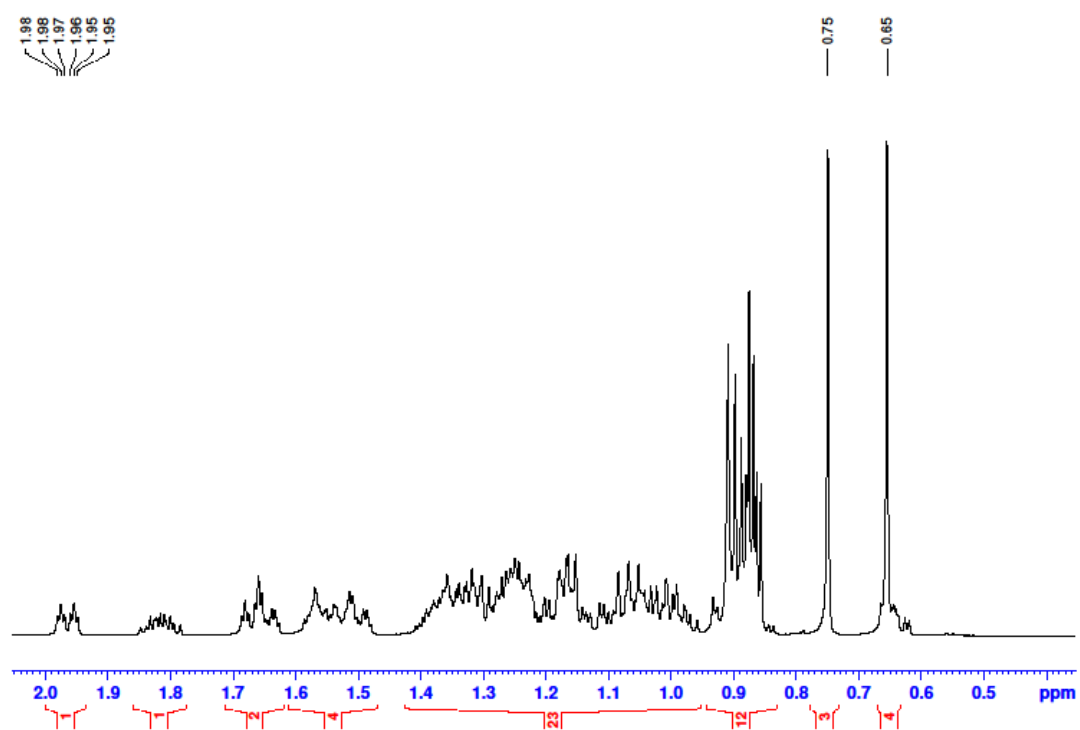


Figura 111: Espectro de RMN de ^1H do composto (12) (500 MHz).

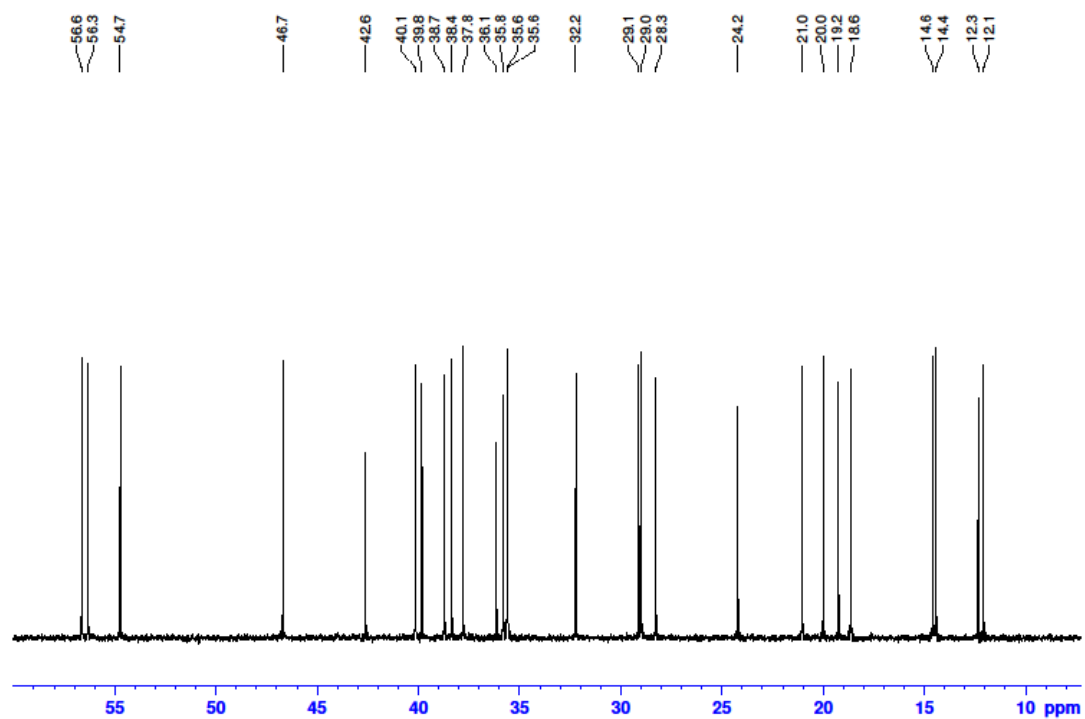


Figura 112: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (12) (125 MHz).

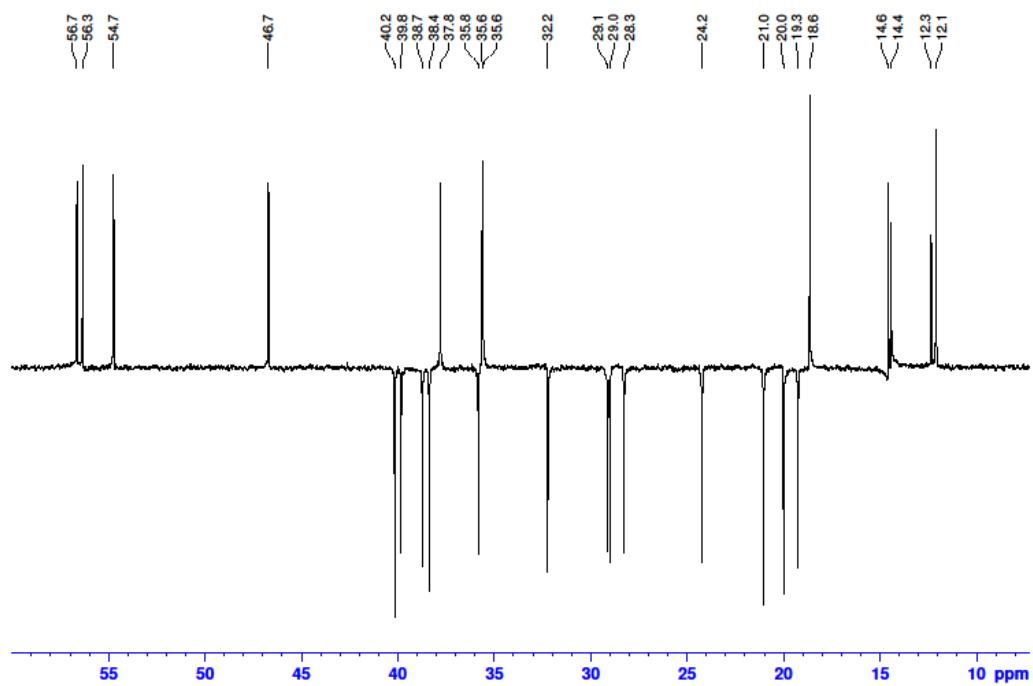


Figura 113: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (12).

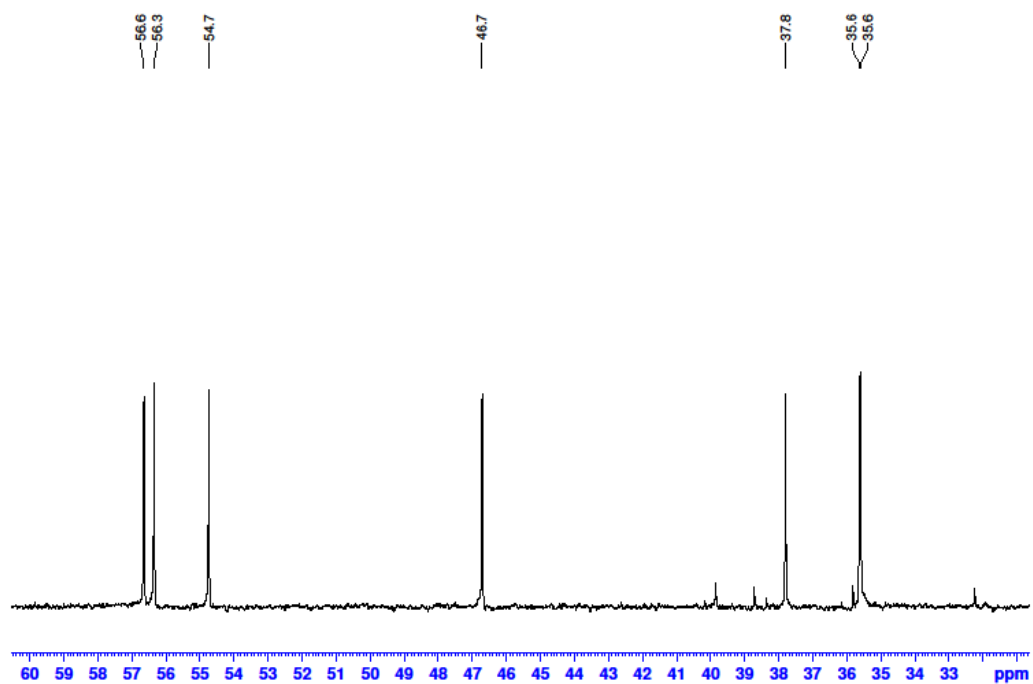


Figura 114: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (12).

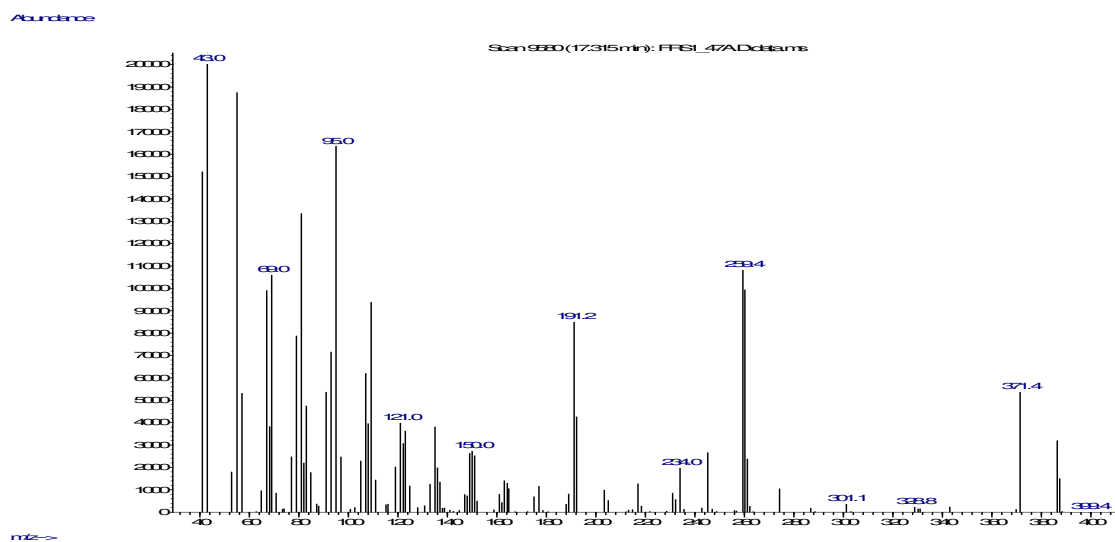


Figura 115: Espectro de massas do composto (13) (70 eV).

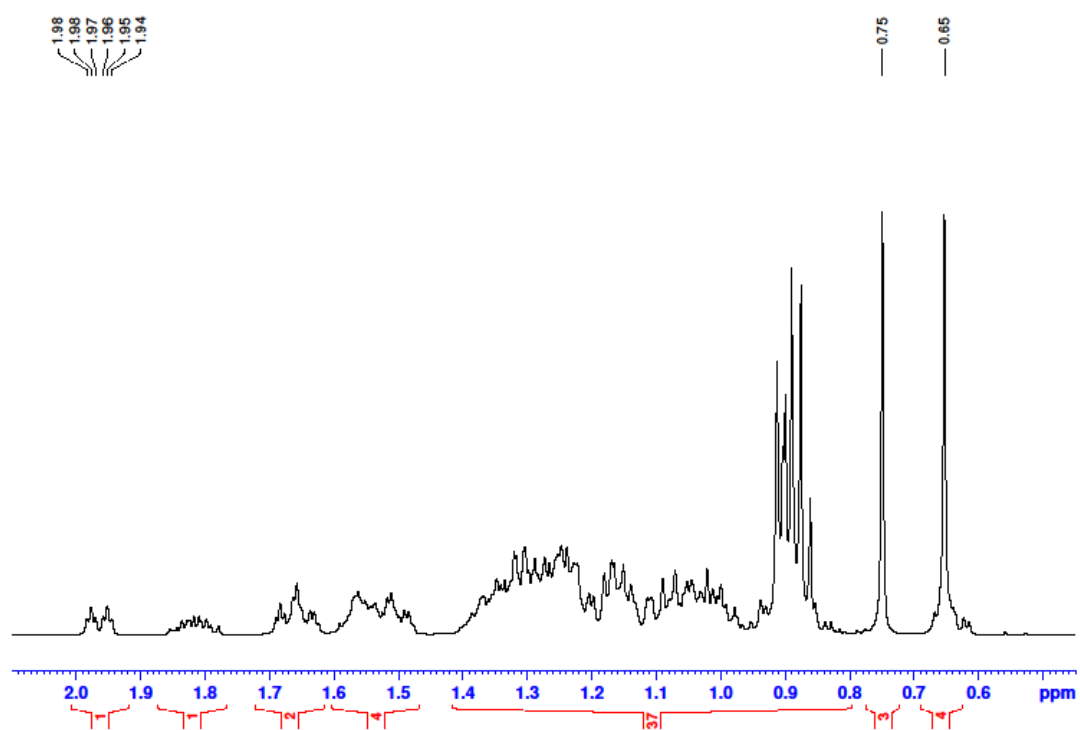


Figura 116: Espectro de RMN de ^1H do composto (13) (500 MHz).

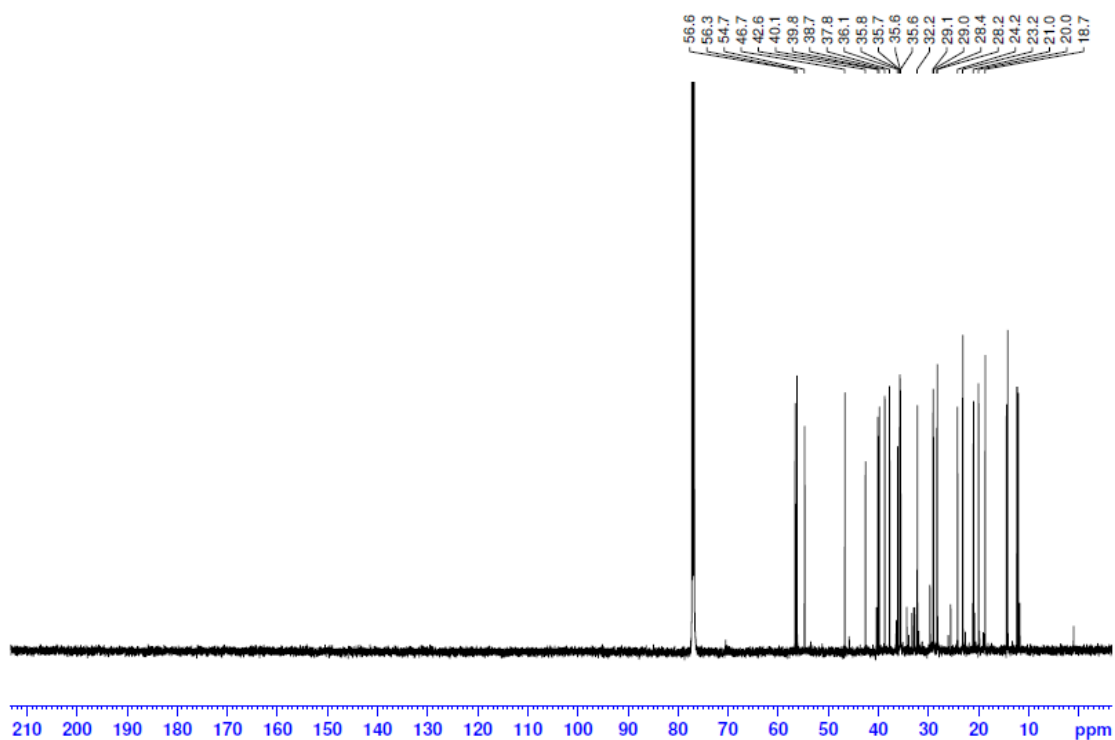


Figura 117: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (13) (125 MHz).

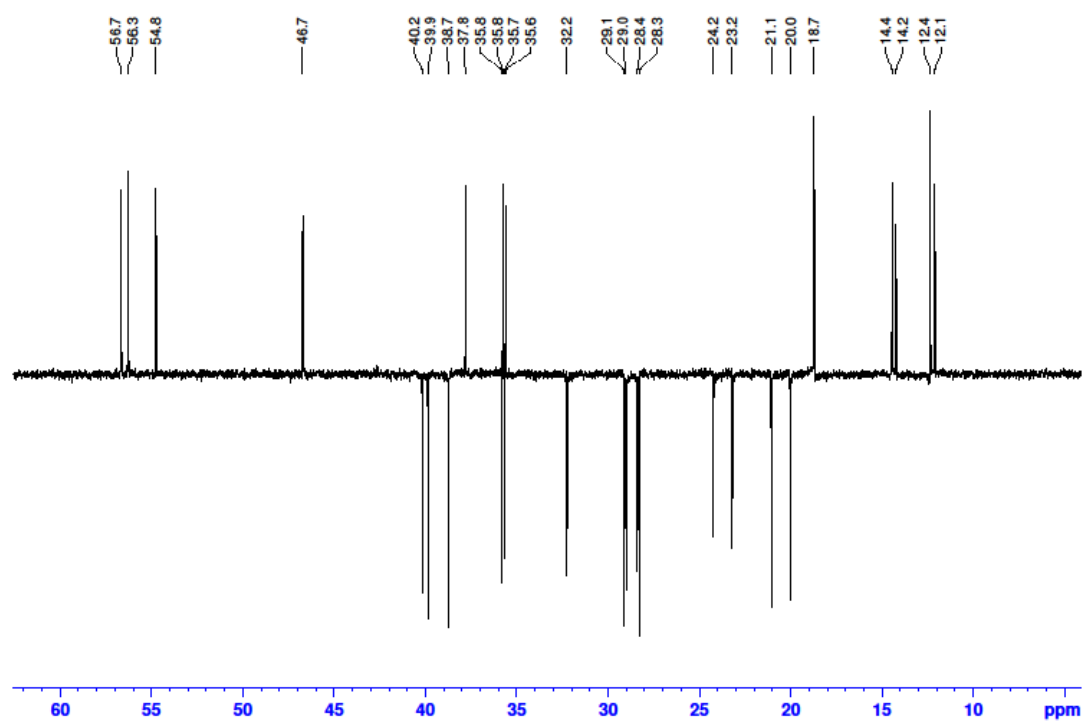


Figura 118: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (13).

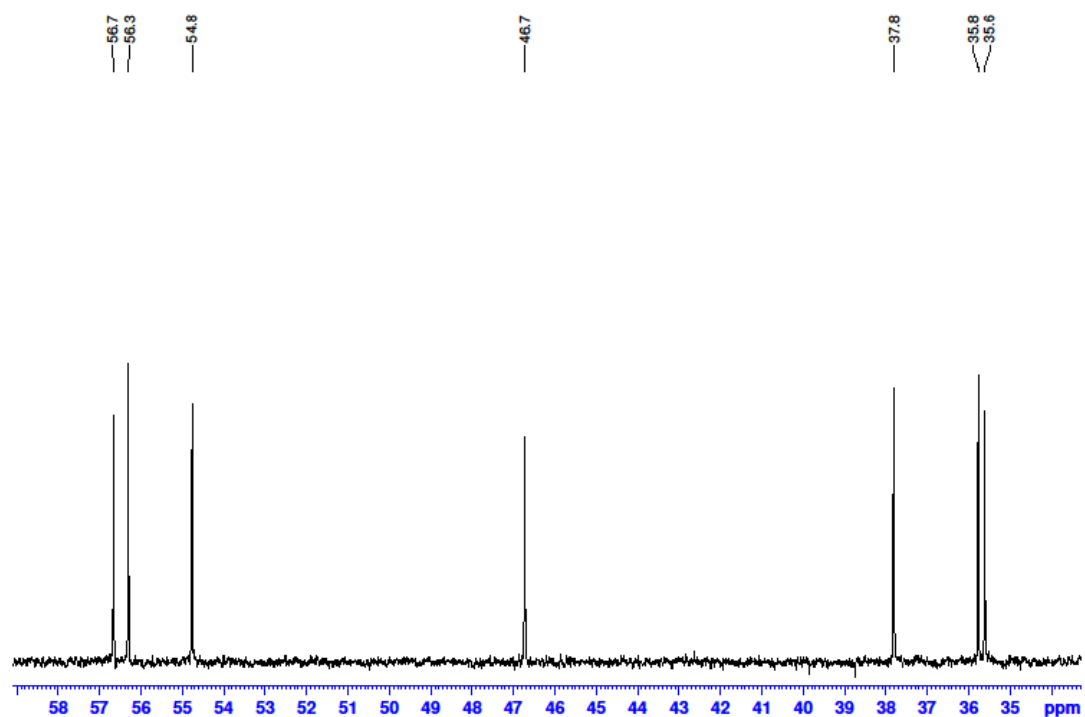


Figura 119: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (13).

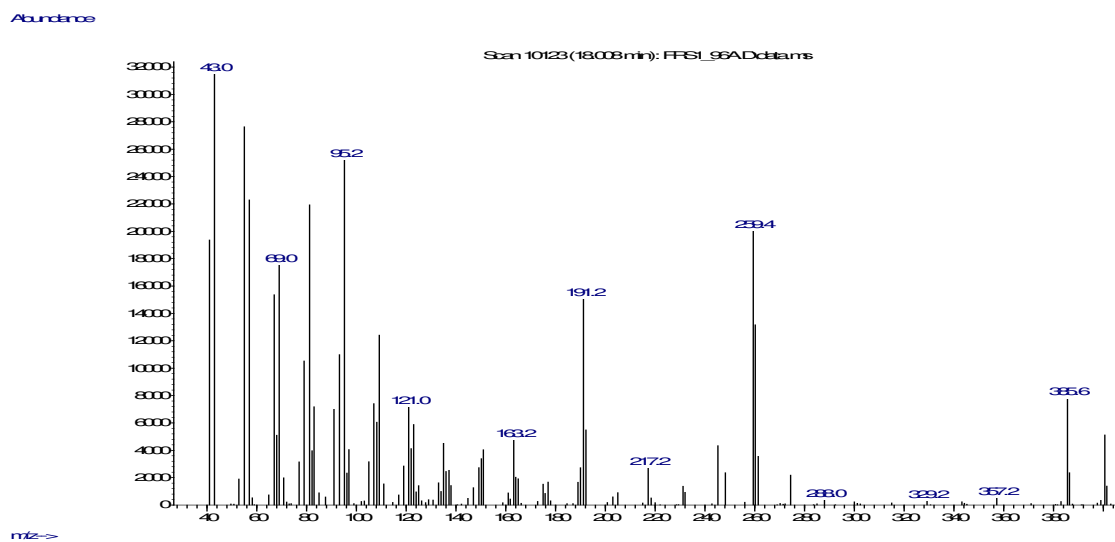


Figura 120: Espectro de massas do composto (14) (70 eV).

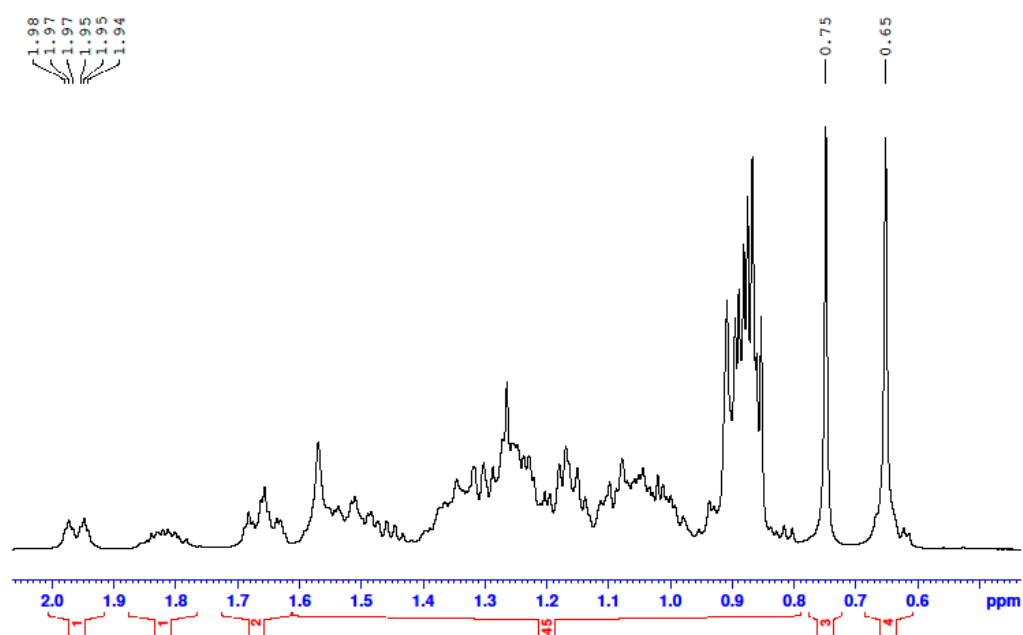


Figura 121: Espectro de RMN de ^1H do composto (14) (500 MHz).

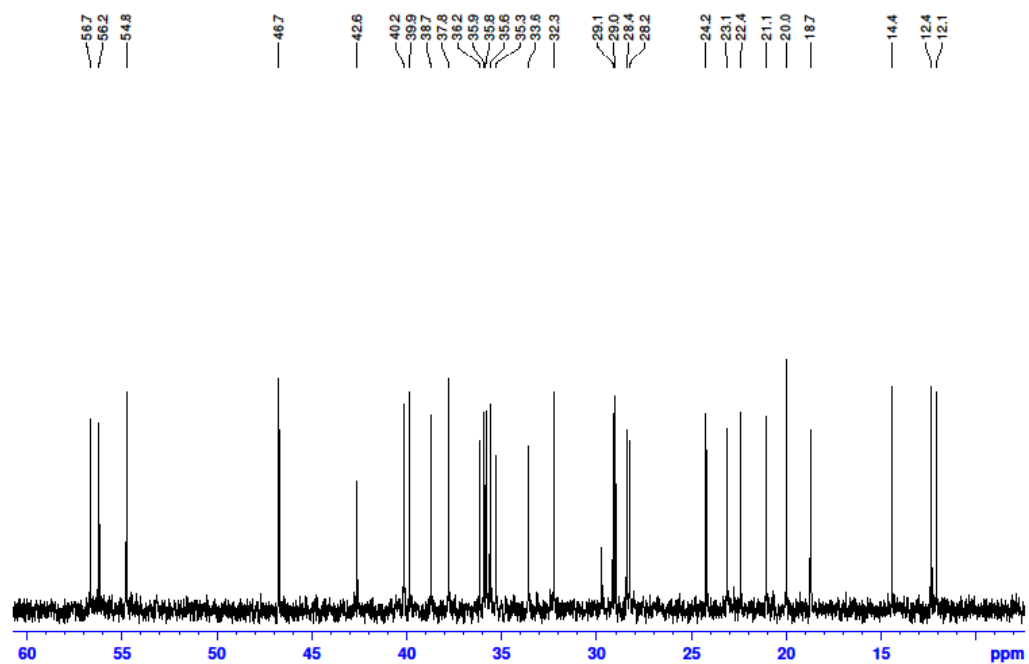


Figura 122: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (14) (125 MHz).

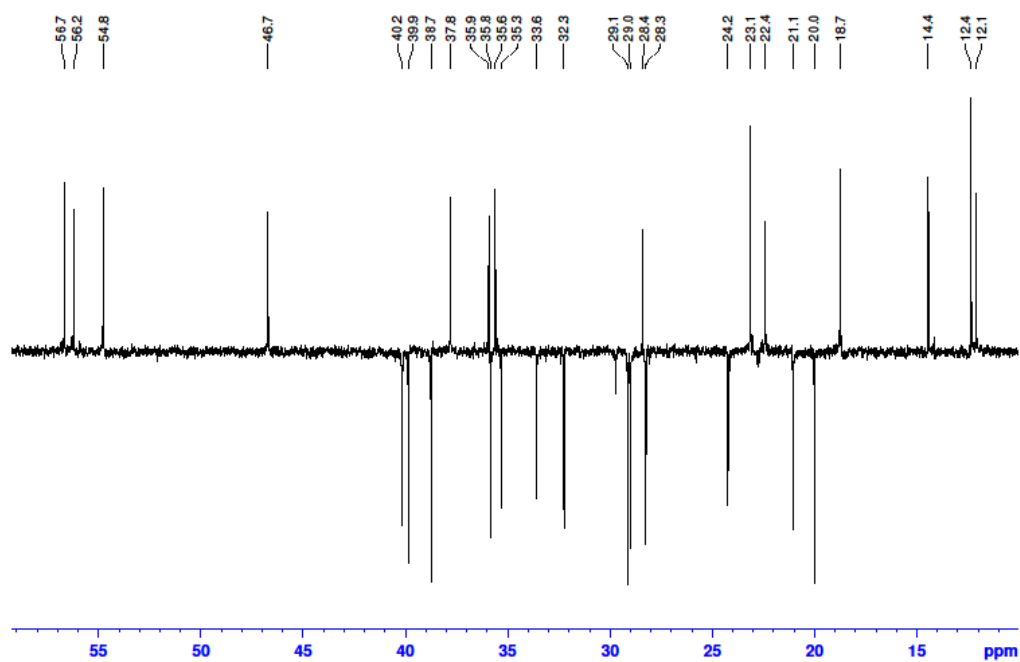


Figura 123: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (14).

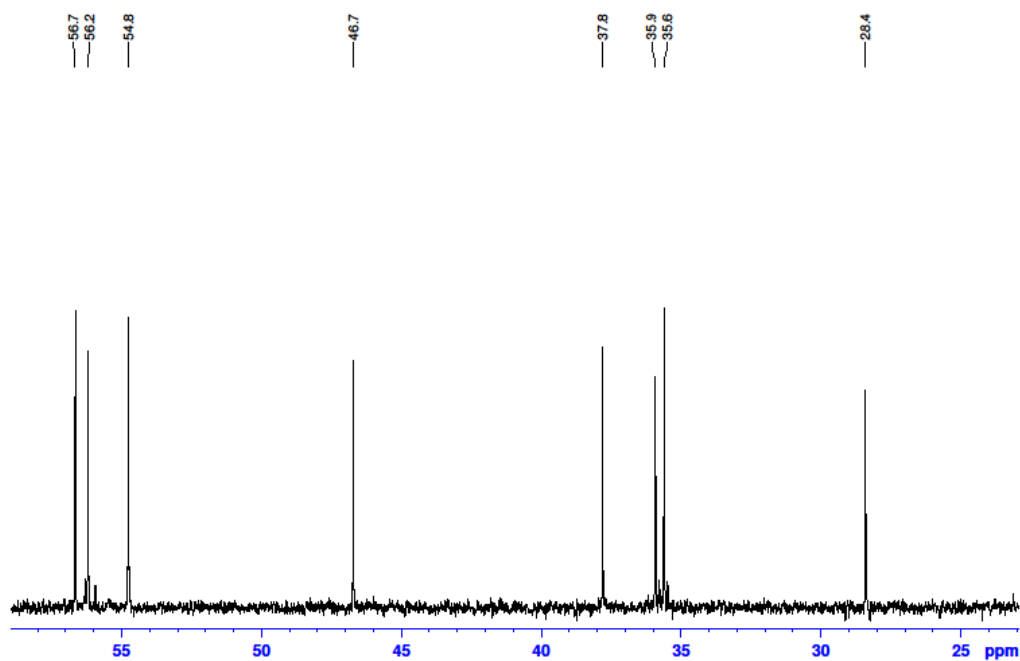


Figura 124: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (14).

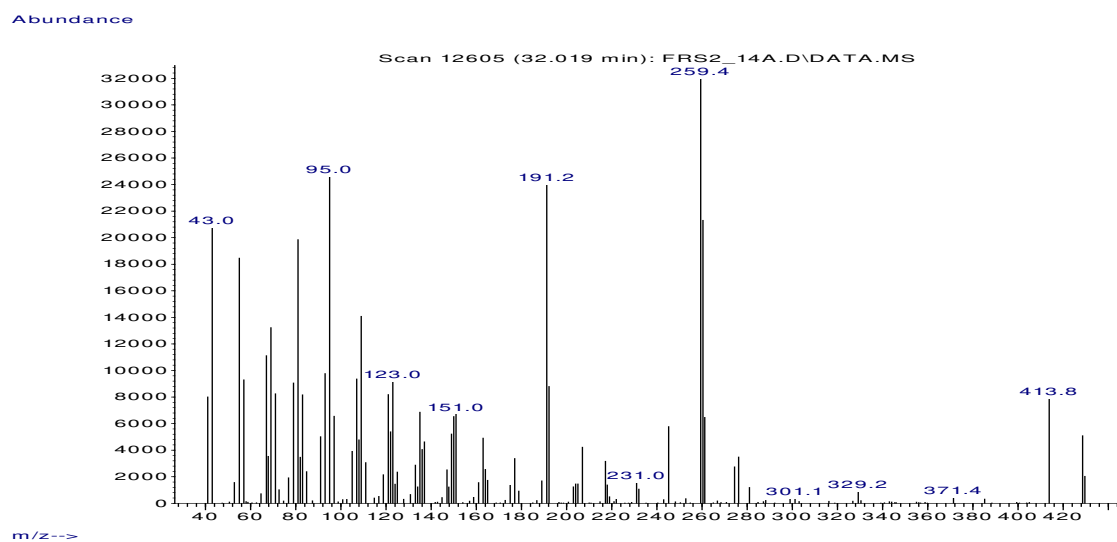


Figura 125: Espectro de massas do composto (16) (70 eV).

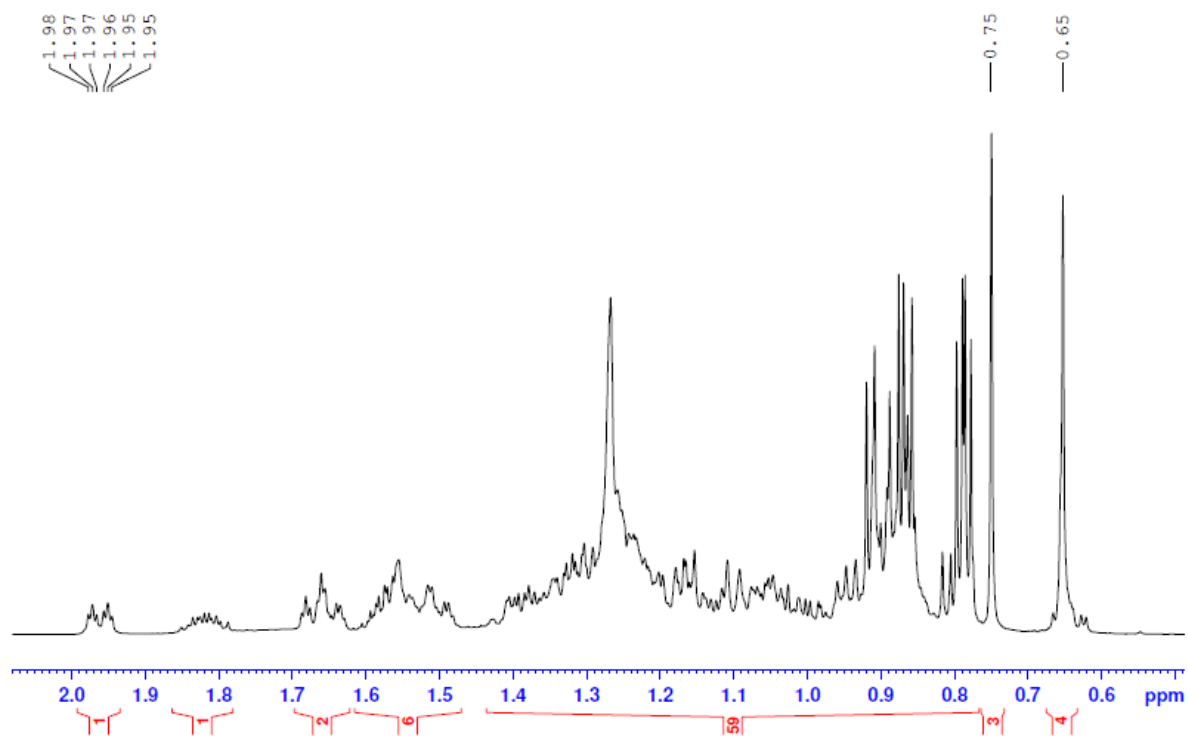


Figura 126: Espectro de RMN de ^1H do composto (16) (500 MHz).

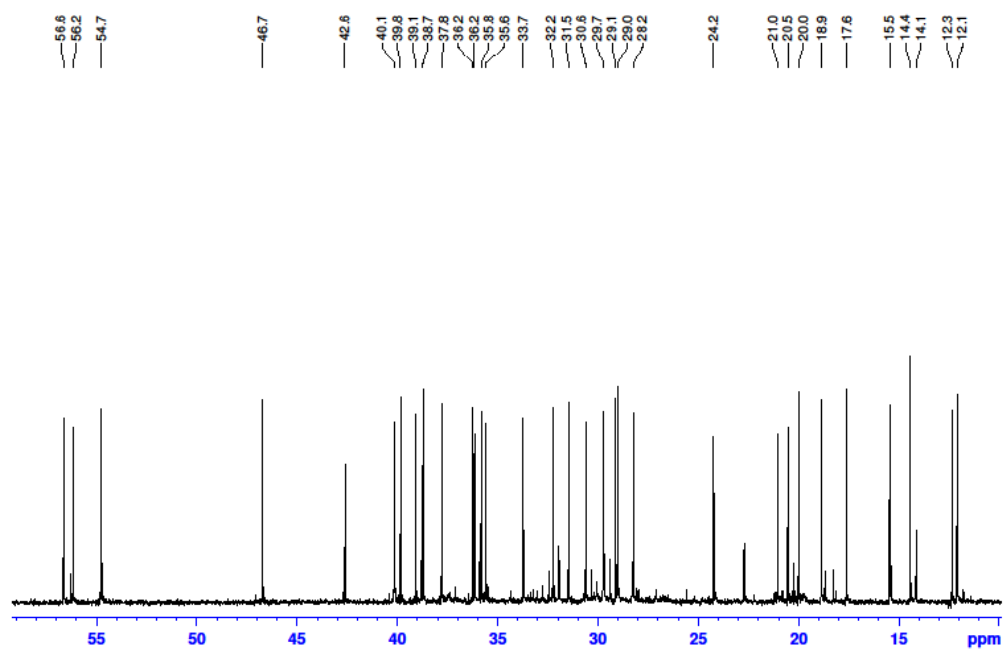


Figura 127: Espectro de RMN de ^{13}C do composto (16) (125 MHz).

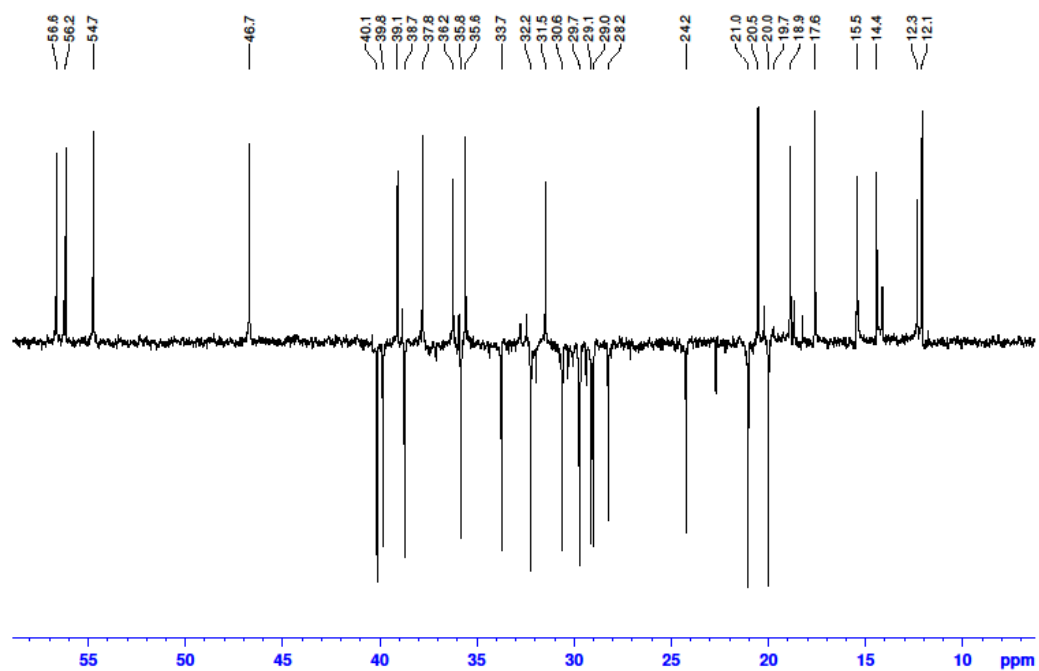


Figura 128: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-135) do composto (16).

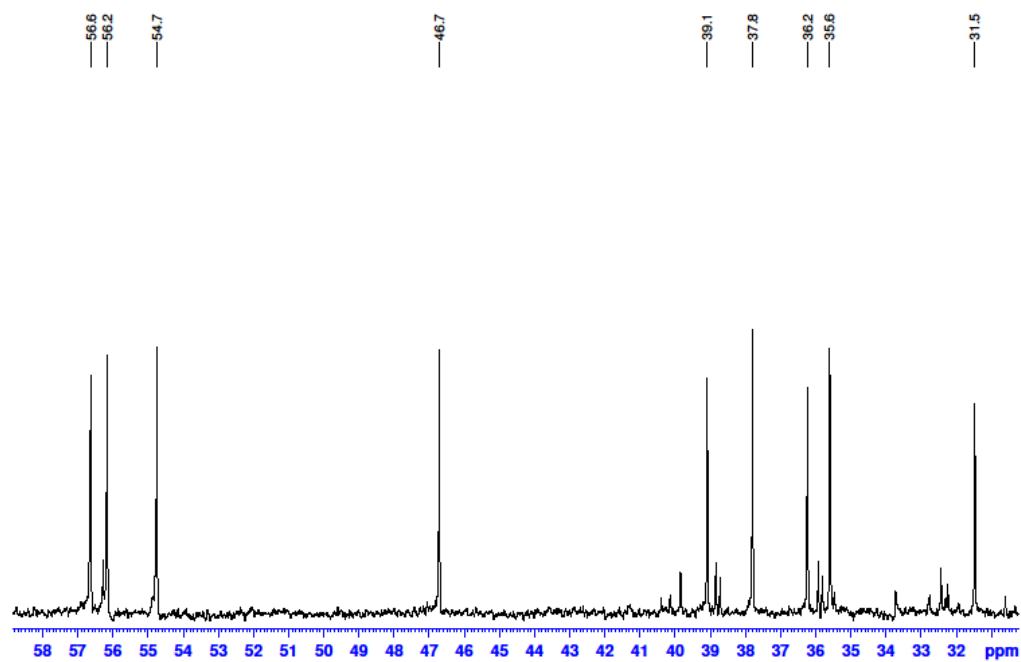


Figura 129: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT-90) do composto (16).