
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE *BACCHARIS* E SUA
INTERAÇÃO COM INSETOS POLINIZADORES**

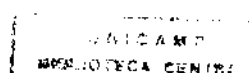
VERA LÚCIA FERRACINI

TESE DE DOUTORADO

ORIENTADORA

Profa. Dra. ANITA JOCELYNE MARSAIOLI

1995



UNIDADE	IQ
N.º CHAMADA	T/UNICAMP
	F410
V.	5
CÓDIGO DE BARRAS	27000
EDIC	GG7/96
C	0
D	X
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/3/96
N.º CPD	011.00025352-3

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

Ferracini, Vera Lúcia
F410 Óleos essenciais de *Baccharis* e sua interação com insetos polinizadores / Vera Lúcia Ferracini. -- Campinas, [SP: s.n.], 1995.

Orientadora: Anita Jocelyne Marsaioli.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Química.

1. *Baccharis*. 2. Polinização. 3. Monoterpenos. 4. Sesquiterpenos. I. Marsaioli, Anita Jocelyne. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Ferracini, Vera Lucia

Oleos essenciais de *Baccharis*
e sua interação com insetos po-
linizadores
T/UNICAMP/F410

(127000/96)



AO MEU ESPOSO CARLOS FERNANDO A. PANIAGO
E AOS MEUS FILHOS FELIPE E CARLA
PELO AMOR, CARINHO, INCENTIVO E TOTAL ATENÇÃO
EM TODOS OS MOMENTOS.

AGRADECIMENTOS

- À PROF^ª DR^ª ANITA JOCELYNE MARSAIOLI PELA ORIENTAÇÃO, DEDICAÇÃO, APOIO E AMIZADE DURANTE O DECORRER DESTE TRABALHO.
- AO CNPMA/EMBRAPA POR TER CONCEDIDO A OPORTUNIDADE DE REALIZAR ESTE CURSO.
- À DIREÇÃO DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS PELAS FACILIDADES CONCEDIDAS.
- AO LOURIVAL C. PARAÍBA E ALINE H. NUNES MAIA DO CNPMA/EMBRAPA PELAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS DOS DADOS.
- AO DOUTORANDO ARI GOMES DA SILVA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA PELA PARTICIPAÇÃO NOS ESTUDOS DE POLINIZAÇÃO.
- À PROF^ª DR^ª MARIA VARGAS E EM ESPECIAL AO CLÉBER V. URSINI, DO LABORATÓRIO DE ORGANOMETÁLICOS, PELA COLABORAÇÃO NA REALIZAÇÃO DA SÍNTESE DO COMPLEXO DE COBALTO.
- À BIBLIOTECARIA MARIA AMÉLIA T. LEME DO CNPMA/EMBRAPA PELA REVISÃO DO TEXTO.
- À TODOS OS COLEGAS DE LABORATÓRIO: DENISE, LÍDIA, PÉRICLES, CLARA, GILVANDETE E RAQUEL PELA COLABORAÇÃO E AMIZADE DURANTE ESTES ANOS.
- À CARMEN, CECÍLIA E AO DOMINGOS UM ESPECIAL AGRADECIMENTO PELA AMIZADE E COOPERAÇÃO DURANTE A EXECUÇÃO DESTE TRABALHO.
- À MARIA PELA AMIZADE E APOIO TÉCNICO.
- À SÔNIA E À PAULA PELA OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN.
- AOS MEUS PAIS WALDOMIRO (IN MEMORIAM) E IDALINA E IRMÃOS, PELO APOIO E INCENTIVO NO DECORRER DESTE TRABALHO.
- A TODOS OS AMIGOS QUE DIRETA OU INDIRETAMENTE CONTRIBUÍRAM PARA A REALIZAÇÃO DESTE TRABALHO.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Polinização de Plantas
Química dos Voláteis Florais
Generalidades sobre o Gênero *Baccharis*
Objetivos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo do Óleo Essencial de Diversas *Baccharis*
Isolamento do 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4 - trimetil-triciclo (6.3.0.0)
undecano- **39** de *B. dracunculifolia*
Variação do Perfil dos Óleos Essenciais de *Baccharis*
Biologia de Polinização
Síntese de Padrões
Identificação de Derivados Cadinânicos em *Baccharis*
Obtenção do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**
Obtenção do epóxi-calareno **23a**
Obtenção do α -gurjuneno oxidado **21b**
Obtenção do epóxi- α -copaeno **19a** e **19b**
Obtenção do epóxi α -cubebeno **18a**
Obtenção do α -guaieno **40a**
Obtenção da Nor-tailoriona **66**
Reação de Proteção da Nor-tailoriona **66**
Reação de Proteção do Cetoalcino **64**
Reação de Wittig

CONCLUSÃO GERAL

EXPERIMENTAL

BIBLIOGRAFIA

ESPECTROS

ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

IV: infravermelho

CG: cromatografia gasosa

CG/EM: cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

RMN^{1H}: ressonância magnética nuclear de prótons

RMN^{13C}: ressonância magnética nuclear de carbono treze

EM: espectrometria de massas

IR: índice de retenção

DEPT: espectro de RMN^{13C} intensificado sem distorção por transferência de polarização (distortionless enhancement by polarization transfer)

Inf.: inflorescência

PCA: análise de componentes principais

CA: análise de correspondência

CCA: análise de correspondência canônica

HETCOR: espectro bidimensional de correlação heteronuclear (C x H) a uma ligação

COSY: espectro bidimensional de correlação homonuclear (H x H) a três ligações

M: masculina

F: feminina

s: singleto

t: tripleto

d: dubleto

dd: duplo dubleto

ddd: triplo dubleto

dq: duplo quarteto

dt: duplo tripleto

m: multipeto

E: espectro

ev: elétron volts

CCD: cromatografia em camada delgada

CCP: cromatografia em camada preparativa

CC: cromatografia em coluna

Hz: hertz

J: constante de acoplamento

M⁺: ion molecular

m/z: relação massa carga

NOE: efeito Overhauser nuclear

THF: tetrahydrofurano

TMS: trimetilsilano

[α]_D: rotação ótica específica

CDCl₃: clorofórmio deuterado

AMCPB: ácido meta-cloroperbenzóico

t_r: tempo de retenção

ABSTRACT

Essential Oil of *Baccharis* and their Roles in Pollination

Vera Lúcia Ferracini

CNPMA/EMBRAPA, C. P. 69, Jaguariúna, 13820-000, SP, Brasil

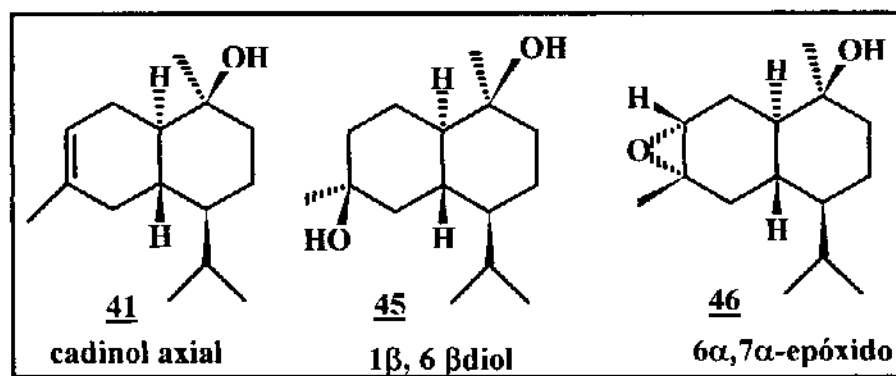
Anita Jocelyne Marsaioli

Instituto de Química, UNICAMP, C. P. 6154, Campinas, 13081-970, SP, Brasil

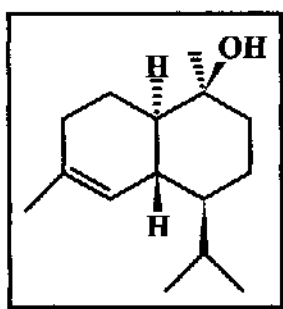
Correlation among *Baccharis* species revealed the essential oils similarity of *B. dracunculifolia*, *B. erioclada*, *B. caprariaefolia*, *B. platipoda*, *B. tridentata*, *B. vincaefolia* and *B. myriocephala*. From a daytime monitoring of *B. dracunculifolia* male and female plants we could observe that the inflorescences are mainly responsible for the mono/sesquiterpene ratio variation with a noticeable inversion occurring at about 11:00 AM. This phenomenon was associated to the pollinator attraction based on field observations and correlation analyses between volatiles and visiting insects leading the final conclusion that the solitary bees *Augochoropsis cupreola* and *Paroxystoglossa jocasta* are responsible for *B. dracunculifolia* pollination in our region. Monoterpenes alcohols (like terpineol and geraniol) are the allelochemicals responsible for the insect behaviour and pollination.

Several synthetic standards were obtained (10-methoxy-4-hydroxy-aromadendrane **24c**, epoxy-calarene **23a**, hidroxy- α -gurjunene **21b**, epoxy- α -copaene **19a** and **19b**, epoxy- α -cubebene **18a** and α -guaiene **40a**) and coinjected in *B. caprariaefolia*, *B. myriocephala*, *B. tridentata*, *B. platipoda*, *B. erioclada*, *B. dracunculifolia* and *B. vincaefolia*. None of them were detected in the volatile components of these plants.

Three novel cadinanes, axial-cadinol **41**, 1 β ,6 β -diol **45** and 6 α ,7 α -epoxide **46** were detected and identified in *B. platipoda* and *B. tridentata*.

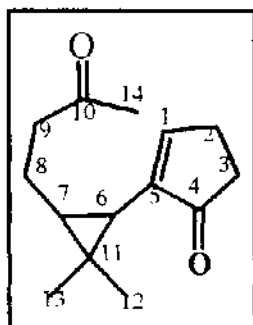


Another cadinane derivative was detected but was not fully characterized in *B. myriocephala* and *B. tridentata*.

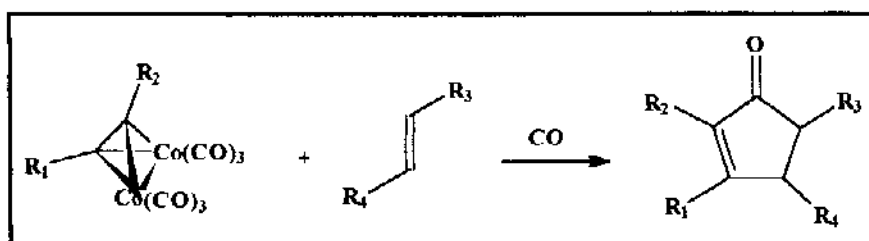


41a

Nor-taylorione **66** was obtained in an efficient synthesis involving a Pauson-Khand reaction in the last step. Its presence was not confirmed in the essential oils of the studied *Baccharis* species but it was detected in the volatiles components of *Artemisia annua*. This compound is a novel sesquiterpene possessing a novel skeleton.



Nor-taylorione **66** synthetic pathway is one of the few examples of Pauson-Khand reaction application to the synthesis of natural product.



Reação de Pauson- Khand

RESUMO

Óleos Essenciais de *Baccharis* e sua Interação com Insetos Polinizadores

Vera Lúcia Ferracini

CNPMA/EMBRAPA, C. P. 69, Jaguariúna, 13820-000, SP, Brasil

Anita Jocelyne Marsaioli

Instituto de Química, UNICAMP, C. P. 6154, Campinas, 13081-970, SP, Brasil

As correlações interespécies revelaram uma similaridade entre a composição dos óleos essenciais das *B. dracunculifolia*, *B. erioclada*, *B. caprariaefolia*, *B. platipoda*, *B. tridentata*, *B. vincaefolia* e *B. myriocephala*. As correlações interespécimens mostraram uma variação diária na razão monoterpeno/sesquiterpeno das inflorescências masculinas e femininas que foi primeiro apontada como um fenômeno sinalizador para o polinizador. A relação entre os voláteis das inflorescências e o sexo da planta é complexa com uma razão maior de monoterpeno/sesquiterpeno ocorrendo às 9:00 e 11:00 horas para as inflorescências masculinas e uma variação inversa é observada nas infrutescências das plantas femininas, com uma razão maior de monoterpeno/sesquiterpeno às 10:00 e 13:00 horas*.

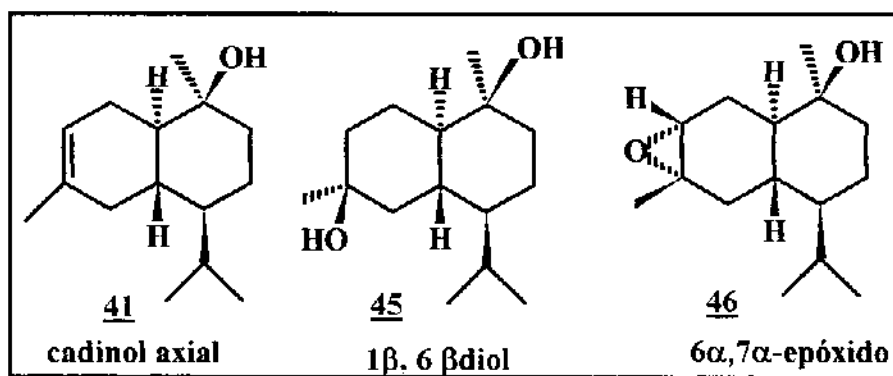
Contudo, o fenômeno existe e plantas masculinas e femininas de *B. dracunculifolia* estão certamente transmitindo uma mensagem ao ambiente. Podemos dizer que existe uma complementariedade na liberação dos voláteis entre espécimens de plantas masculinas e femininas ao longo do dia fazendo com que ocorra uma atração constante dos visitantes.

Nas observações dos insetos visitantes verificamos que o período das 10:00-15:00 horas é que ocorre a maior atividade dos mesmos. A abelha social *Apis mellifera* e as abelhas solitárias *Augochoropsis cupreola* e *Paroxystoglossa jocasta* tem suas atividades relacionadas ao grupo de compostos B, constituído por álcoois e cetonas monoterpênicos. Os compostos deste grupo são importantes sinalizadores para a polinização pois distribuem a atividade das abelhas entre plantas masculinas nos horários das 7:00 às 10:00 horas e femininas das 10:00 às 12:00 horas. *Ornídia obesa* tem resposta mais ampla aos compostos hidrocarbonetos monoterpênicos, álcoois monoterpênicos e álcoois sesquiterpênicos frequentando tanto flores masculinas como femininas. *Ornidea obesa* um visitante menos frequente do que as abelhas mas é um polinizador eficiente.

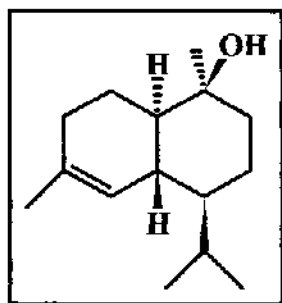
Com relação à síntese de padrões foram obtidos os compostos 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**, o epóxi-calareno **23a**, o α -gurjuneno oxidado **21b**, o epóxido α -copaeno **19a** e **19b**, o epóxido α -cubebeno **18a** e o α -guaieno **40a**, à partir dos compostos identificados nos óleos essenciais das *Baccharis dracunculifolia*, *B. erioclada*, *B. caprariaefolia*, *B. myriocephala*, *B. tridentata*, *B. platipoda* e *B. vincaefolia*. Isto contribuiu para a obtenção de padrões que muito ajudará na identificação de componentes traços de óleos essenciais através de CG/EM.

Os padrões sintéticos obtidos durante este trabalho e em trabalhos anteriores, foram comparados aos constituintes dos óleos essenciais das 7 espécies de *Baccharis* estudadas, levando à identificação de três compostos cadinânicos inéditos na

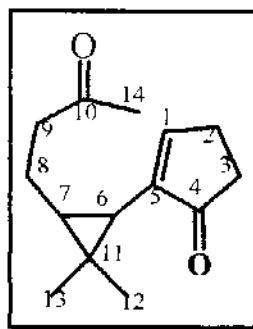
literatura. Na *B. platipoda* foi identificado o cadinol axial 41, o 1 β ,6 β -diol 45 e o 6 α ,7 α -epóxido 46. Na *B. tridentata* foi identificado o 6 α ,7 α -epóxido 46**.



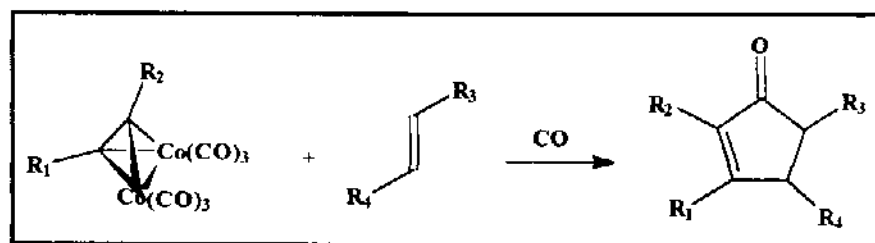
Um outro derivado cadinânico sugerido como T-cadinol 41a foi identificado nas *B. myriocephala* e *B. tridentata* entretanto, a confirmação de sua estrutura depende do trabalho de síntese que será realizado posteriormente.



A nor-tailoriona 66 foi comparada aos constituintes dos óleos essenciais das sete espécies de *Baccharis* estudadas não tendo sido encontrada em nenhum deles. A presença da nor-tailoriona 66 (cis e trans) foi evidenciada no óleo essencial de *Artemisia annua* por coinjeção e comparação de espectros de massas. Este é um novo composto cujo esqueleto é inédito na literatura.



A síntese da nor-tailoriona 66 é um exemplo da aplicação de uma metodologia eficiente, a partir de um cetoalcino acíclico contendo um ciclopropano, que nos possibilitou utilizar a reação de Pauson-Khand.



Reação de Pauson- Khand

Esta metodologia é raramente utilizada na síntese de produtos naturais e poderá ser aplicada a diferentes classes de sesquiterpenos, do tipo seco-aromadendreno 58, até então pouco divulgadas e exploradas.

*Referência 11

** Aceito para publicação na Phytochemistry

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

POLINIZAÇÃO DE PLANTAS

Os insetos, morcegos e pássaros visitam flores para se alimentarem de néctar e pólen e nesse processo, eles geralmente polinizam as flores, de modo que ambos se beneficiam desta associação mutualista. Nesta relação há três fatores bioquímicos que interagem; o cheiro, a cor das flores e o valor nutricional do néctar e do pólen. Os animais vivem no mundo da comunicação química, como exemplo os feromônios, e são capazes de detectar os terpenos e outros voláteis de flores à grandes distâncias. Quando um polinizador se aproxima de uma planta, ele também recebe um sinal visual, que é o destaque das flores coloridas contra o verde da folhagem¹.

Entretanto, é difícil determinar qual ou quais polinizadores são ativos numa espécie de planta. Para este estudo são necessárias muitas observações de campo. Alguns animais podem visitar flores por outras razões que não sejam a polinização, também podem ser capazes de alimentar-se de néctar, sem que ocorra a polinização necessária à planta. Formigas, por exemplo, são bem conhecidas como visitantes ilegítimos, isto é ladrões de néctar, e são frequentemente tão pequenas que patrulham as flores por dentro e por fora sem tocar os órgãos reprodutores. Elas, contudo, agem como polinizadores em alguns casos¹.

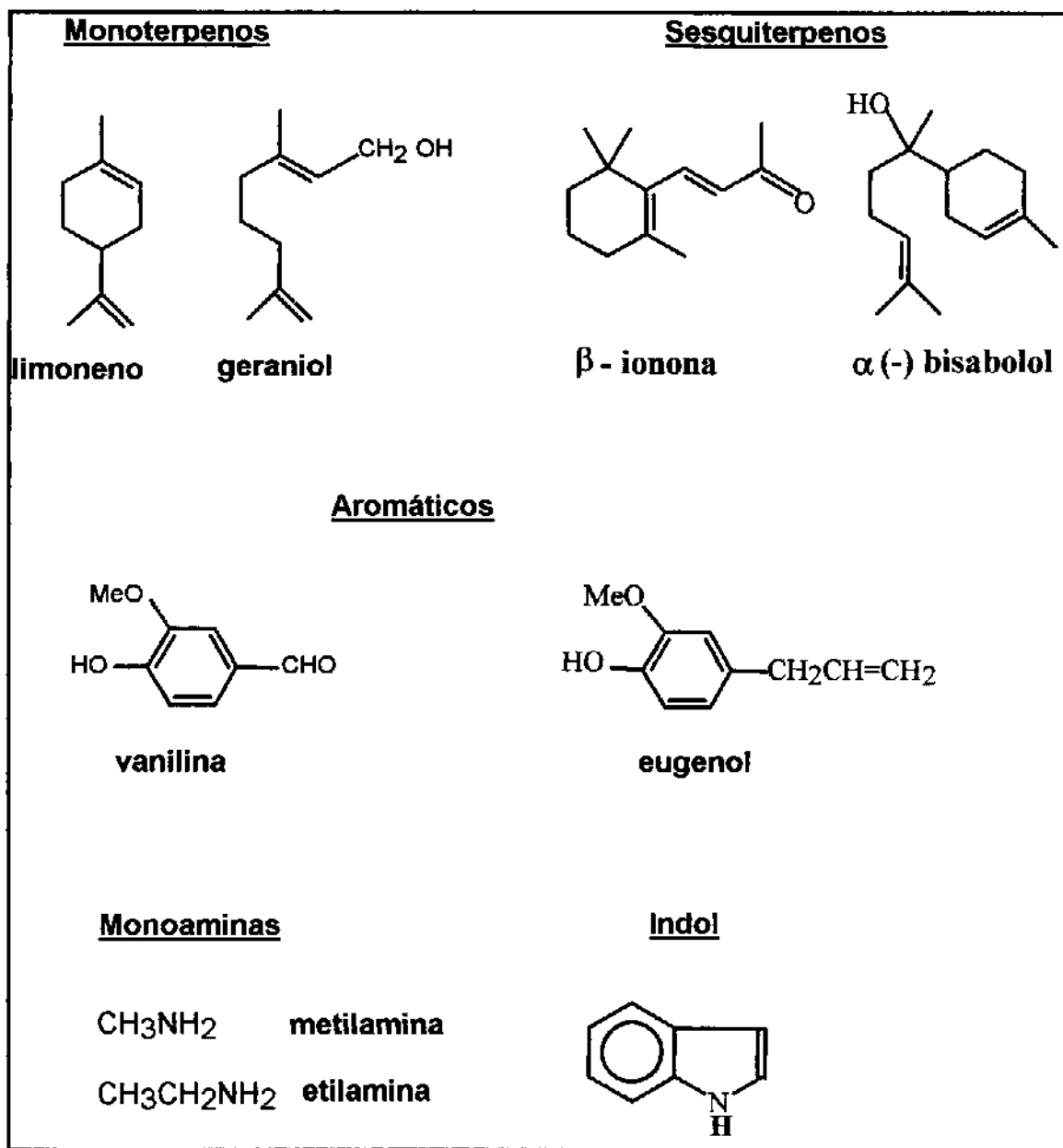
A necessidade de uma planta atrair animais para visitá-la visando sua polinização depende naturalmente do sistema sexual e da estrutura floral. Há alguns grupos, onde a polinização é feita por vento e visitas de animais às inflorescências poderão ser supérfluas. Contudo, no grupo Angiospermas a maioria das plantas

requer animais para fazer a polinização. Isto é observado principalmente em plantas dióicas, onde as flores masculinas e femininas estão em plantas separadas^{1,2}.

Química dos Voláteis Florais

Os voláteis florais são potencialmente importantes para atrair insetos polinizadores e, frequentemente, possuem composições complexas, onde são encontrados compostos benzenóides, terpenóides, álcoois alifáticos, cetonas e ésteres. Como exemplo de sesquiterpenos e monoterpenos, podemos citar geraniol, limoneno, β -ionona e α (-)-bisabolol; de aromáticos a vanilina e o eugenol; de compostos contendo nitrogênio o indol, metilamina e etilamina. Neste campo, o desenvolvimento e aprimoramento das técnicas de coleta e análise de voláteis foi mais importante do que a ampliação do número de substâncias químicas isoladas¹.

Neste contexto, destacamos o estudo das Orchidaceae e seus osmóforos, que contribuiu à identificação de mais de 700 substâncias químicas diferentes, relacionadas com as flores de Angiospermas e Gimnospermas².



Devido à alta capacidade dos insetos detectarem voláteis, os odores são provavelmente efetivos em baixas concentrações. Muitas espécies de plantas produzem odor suficiente para atrair abelhas ou borboletas, mas que não é detectado pelo homem. Em algumas espécies o odor floral pode variar no período de inflorescência. A variação diária e a variação entre indivíduos de uma mesma planta

pode também ser importante. Portanto, sugere-se que nos estudos de voláteis florais seja incluído um grande número de plantas para verificar tal variação.

Foram também encontradas diferenças significativas em inflorescências coletadas durante o dia e a noite, como também variações diurnas nos voláteis. Esta variação é um dos problemas encontrados pelos pesquisadores que desejam caracterizar os voláteis florais através de estudos qualitativos e quantitativos¹.

Um exemplo típico de polinização por inseto é o das abelhas solitárias do gênero *Andrena*, as quais são atraídas por flores de orquídeas do gênero *Ophrys* e são responsáveis pela sua polinização. Os componentes voláteis das flores têm sido analisados e os constituintes majoritários têm sido compostos alifáticos de cadeia longa, monoterpenos e alguns sesquiterpenos bicíclicos da série dos cadinanos¹.

Como foi citado acima, a química de polinização é particularmente importante para plantas dióicas e nesse contexto temos no Brasil plantas do gênero *Baccharis*. Economicamente temos duas espécies importantes, a *B. dracunculifolia* (vassourinha) e *B. genistelloides* (carqueja), das quais se extrai o óleo utilizado como matéria prima em perfumaria³.

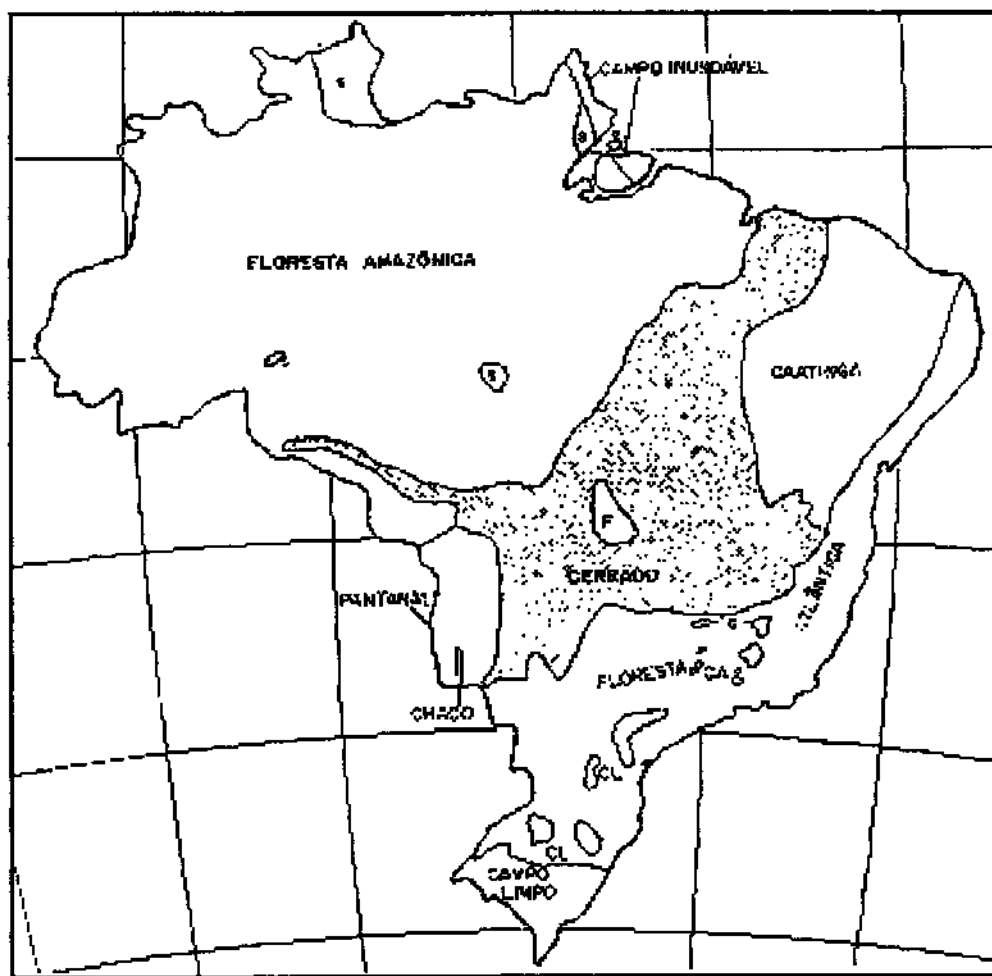
Generalidades sobre o Gênero *Baccharis*

Algumas espécies de *Baccharis* tais como a *B. halimifolia* e a *B. pillulares consanguinea*, são nativas dos Estados Unidos e muito estudadas devido à sua rápida expansão, provocando a redução de pastagens, áreas cultiváveis e recreativas do Sudeste e Sudoeste americano. Contrastando com esta situação temos a *B. pillulares pillulares* (Estados Unidos) e a *B. macrantha* (Colombia) as quais são frequentemente utilizadas para cobertura de solo ou como barreira contra erosão³.

Várias espécies na América do Sul possuem valor medicinal, como por exemplo, as *B. trimera* e *B. genistelloide* conhecidas no Brasil como “carqueja”, as quais são muito usadas para males do fígado³.

O gênero *Baccharis* L. pertence à família Asteraceae, tribo Astereae e subtribo Baccharidinae. O gênero é restrito ao novo mundo, com exceção da *B. halimifolia* introduzida pelo homem na Austrália, França, Espanha e Itália como planta ornamental³.

O gênero é constituído de 511 espécies distribuídas em 7 áreas geográficas: região Sul e Sudeste do Brasil, região montanhosa dos Andes e região da Patagônia, Guianas, México (incluindo Oeste dos Estados Unidos) e as Antilhas (incluindo Leste dos Estados Unidos). A grande concentração destas espécies no cerrado próximo a região Centro-Sul do Brasil e nos Andes indica que, esta área é o provável centro de origem do gênero ou que há duas áreas, separadas por uma estreita área xerofítica no Sudeste do Brasil que representam dois centros de origem.



Cerrado Brasileiro

Cerca de 90% das espécies de *Baccharis* são encontradas na América do Sul, onde se verifica uma grande diversidade morfológica. Este gênero é constituído principalmente por arbustos perenes atingindo de 0,5 a 4,0 metros de altura. As espécies são predominantemente dióicas e a única espécie monóica conhecida é a *B. monoica*³.

Este gênero tem sido bem investigado do ponto de vista fitoquímico, mas nenhum estudo sistemático sobre óleos essenciais tem sido publicado, a não ser por algumas publicações recentes anteriores ao início desse trabalho^{4, 5}. Estes aspectos

têm atraído a atenção de nosso grupo de pesquisa como também de vários outros grupos^{4, 6-10}.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é:

- Estudar a composição do óleo de diversas espécies de *Baccharis*;
- Verificar as relações entre os componentes do óleo de inflorescências de *B. dracunculifolia* e a visita de prováveis polinizadores;
- Verificar as correlações existentes entre as espécies masculinas e femininas de uma mesma espécie;
- Identificar os componentes inéditos seja por isolamento ou por coinjeção com padrões a serem sintetizados;
- Síntese de padrões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo do Óleo Essencial de Diversas *Baccharis*

Nas análises de óleos essenciais de *Baccharis caprariaefolia*, *B. erioclada*, *B. dracunculifolia*, *B. myriocephala*, *B. platipoda*, *B. tridentata* e *B. vincaefolia* (Figuras 1 e 2 e Tabelas 1 e 2) através de cromatografia gasosa e por CG/EM revelaram que a composição dos óleos é complexa, com mais de 100 constituintes¹¹. A identificação foi realizada utilizando-se padrões sintéticos, comerciais e isolados de *B. dracunculifolia* e caracterizados por IV, RMN¹H e RMN¹³C, comparação dos IR^{12, 13} (Figura 3) e dos espectros de massas quando encontrados na biblioteca Wiley do sistema. Vários constituintes estão presentes como traços, enquanto cerca de 15-20 componentes contribuem com mais de 50-60% do óleo total e estão presentes em muitas espécies.

Tabela 1: Composição percentual relativa de voláteis da parte aérea de quatro espécies de *Baccharis*, coletada às 8:00 horas

Compostos		IR	<i>B. myriocephala</i>	<i>B. platipoda</i>	<i>B. tridentata</i>	<i>B. vincaefolia</i>	Método
MONOTERPENOS							
α -TUJENO	<u>1</u>	1117					IRb, EM
α -PINENO	<u>2</u>	1123	0,82			0,60	IRpc, EM
SABINENO	<u>3</u>	1147					IRb, EM
β -PINENO	<u>4</u>	1152	0,11			0,40	IRpc, EM
β -MIRCENO	<u>5</u>	1156					IRb, EM
α -FELANDRENO	<u>6</u>	1167					IRb, EM
α -TERPINENO	<u>7</u>	1177					IRb, EM
p-CIMENO	<u>8</u>	1184					IRb, EM
LIMONENO	<u>9</u>	1187	0,15			0,35	IRpc, EM
TRANS- β -OCIMENO	<u>10</u>	1192					IRb, EM
γ -TERPINENO	<u>11</u>	1203	1,38		1,25		IRb, EM
TERPINOLENO	<u>12</u>	1219		1,98	2,33	0,35	IRb, EM
LINALOOL	<u>13</u>	1222			1,04	0,60	IRpc, EM
4-TERPINEOL	<u>14</u>	1274	0,98	0,81	4,74	6,70	IRpc, EM

α -TERPINEOL	15	1284		4,80	3,88	3,41	IRpc, EM
CARVONA	16	1321					IRpc, EM
GERANIOL	17	1325			0,58		IRpc, EM
SESQUITERPENOS							
α -CUBEENO	18	1409	1,01	0,37	0,67	4,98	IRb, EM
α -COPAENO	19	1432	2,86		2,08	0,98	IRpc, EM
β -ELEMENO	20	1445	1,57	0,15	1,03	1,31	IRb, EM
α -GURJUNENO	21	1463	0,24	0,23		0,56	IRpc, EM
β -CARIOFILENO	22	1475	4,52	0,82	2,48	8,66	IRpc, EM
CALARENO	23	1481	0,80		0,49	0,46	IRpc, EM
AROMADENDRENO	24	1495	1,76	0,49	0,43	0,56	IRpc, EM
HUMULENO	25	1505	1,03	0,66	1,41	2,18	IRpc, EM
ALLOAROMADENDREN	26	1508	0,22	0,28	0,42	1,11	IRpc, EM
γ -ELEMENO	27	1533	3,84	1,47	1,4	6,00	IRpc, EM
β -SELINENO	28	1537		1,90	0,39	0,62	IRb, EM
β -CADINENO	29	1541		0,43			IRps, EM
GERMACRENO-D	30	1550	2,00			3,84	IRpc, EM
α -MUUROLENO	31	1554	2,23	0,53	1,85	0,54	IRb, EM
γ -CADINENO	32	1567	0,73	1,54	0,68	6,49	IRb, EM
δ -CADINENO	33	1579	9,44	3,45	7,68	8,88	IRb, EM
EPI-GLOBULOL	34	1619		0,36	0,96		IRps, EM
NEROLIDOL	35	1627	9,01			3,19	IRpi, EM
ESPATULENOL	36	1638	9,44	8,76	21,20	4,78	IRpi, EM
GLOBULOL	37	1645	2,45	2,70	5,86	1,78	IRpi, EM
VIRIDIFLOROL	38	1652	0,82	2,36	3,99	1,08	IRps, EM
TRIMETILTRICICLO-	39	1663					IRpi, EM
GUAIOL	40	1672	0,91	1,48	1,23	1,29	IRpc, EM
T-CADINOL	41		1,82		2,8		IRps, EM
CADINOL AXIAL	41	1691		1,30			IRps, EM
α -CADINOL	42	1707	2,28	5,09	1,31	1,29	IRpi, EM
T-MUUROLOL	43	1715	2,00	7,62	2,03	7,00	IRpc, EM
AROMADENDRANODIO	44	1740	1,58	1,60	1,10	0,68	IRps, EM
1 β ,6 β -DIOL	45	1744		0,74			IRps, EM
6 α ,7 α -EPÓXIDO	46	1760		1,51	1,44		IRps, EM
% Total Relativa			65,9	53,4	73,9	80,7	

IRb= índice de retenção comparado à referência 13;

IRpc= índice de retenção comparado com os dos padrões comerciais;

IRpi= índice de retenção comparado com os dos padrões isolados;

IRps= índice de retenção comparado com os dos padrões sintéticos reportados na referência 6

Tabela 2: Composição percentual relativa dos óleos de flores e de folhas de três espécies de *Baccharis* feminina e masculina, coletada às 8:00 horas.

B. caprariaef. B. dracuncul. B. erioclada.								
Composto	Número	Método	FEM	MASC.	FEM.	MASC.	FEM	MASC.
MONOTERPENOS								
α -TUJENO	1	IRb, EM			0,07	0,23		0,18
α -PINENO	2	IRpc, EM	1,15	0,17	1,18	0,13	8,45	0,26
SABINENO	3	IRb, EM	0,69	0,08				
β -PINENO	4	IRpc, EM	0,50	0,77	3,76	1,90	21,44	1,16
β -MIRCENO	5	IRb, EM						0,09
α -TERPINENO	7	IRb, EM		0,74		0,14		0,16
LIMONENO	9	IRpc, EM	1,05	0,85	4,65	0,93	15,16	2,68
TRANS- β -OCIMENO	10	IRb, EM	0,24					0,16
γ -TERPINENO	11	IRb, EM		0,12			0,37	0,14
TERPINOLENO	12	IRb, EM	0,21	0,18	0,55	0,40	1,89	0,52
LINALOOL	13	IRb, EM						0,43
4-TERPINEOL	14	IRb, EM	1,71					
α -TERPINEOL	15	IRpc, EM	1,22	5,85	1,42	2,54	3,45	1,55
SESQUITERPENOS								
α -CUBEENO	18	IRb, EM					0,55	0,23
α -COPAENO	19	IRpc, EM			0,33	0,22	0,38	0,67
β -ELEMENO	20	IRb, EM	1,15	0,65	1,23	1,14	0,39	0,99
α -GURJUNENO	21	IRpc, EM			0,45	0,28	0,24	0,16
β -CARIOFILENO	22	IRpc, EM	12,7	15,73	5,40	5,90	4,21	10,7
AROMADENDRENO	24	IRpc, EM	0,37	0,44	1,63	1,06		0,31
HUMULENO	25	IRpc, EM	2,38	1,76	1,55	2,25	1,09	3,54
ALLOAROMADENDRENO	26	IRpc, EM		0,37	0,92	0,83	0,31	0,42
γ -MUUROLENO	27	IRc, EM	11,41	6,46			1,95	5,29
β -SELINENO	28	IRb, EM			9,90	11,00		0,80
β -CADINENO	29	IRps, FM			1,20	0,98		
GERMACRENO-D	30	IRpc, EM	23,47	12,71			2,66	4,56
α -MUUROLENO	31	IRb, EM	1,27	0,97	0,90	0,48	0,55	1,02
γ -CADINENO	32	IRb, FM	0,66	0,48				
δ -CADINENO	33	IRb, EM	4,07	2,96	5,07	3,58	1,92	3,37
EPI-GLOBULOL	34	IRps, EM	0,43	1,33				0,51
NEROLIDOL	35	IRpi, EM	6,49	0,43	20,80	12,02	1,92	12,57
ESPATULENOI.	36	IRpi, EM	1,71	8,41	2,58	3,79	6,61	6,74
GLOBULOL	37	IRps, EM	2,64	7,02	2,46	2,26	1,02	1,46
VIRIDIFLOROL	38	IRps, EM	1,86	3,76	1,34	1,12	2,27	4,81
GUAIOL	40	IRpc, EM	2,74	0,45	0,86	0,83	1,32	0,36
α -CADINOL	42	IRpi, EM	2,94	4,73	2,55	3,01	1,30	1,66
T-MUUROLOL	43	IRpc, EM	7,10	3,33			3,00	3,18
AROMADENDRENODIOL	44	IRps, FM	2,03	0,26	1,86	1,19	1,19	3,18
% COMP IDENTIFICADOS			92,03	81,01	72,7	58,2	83,7	74,02

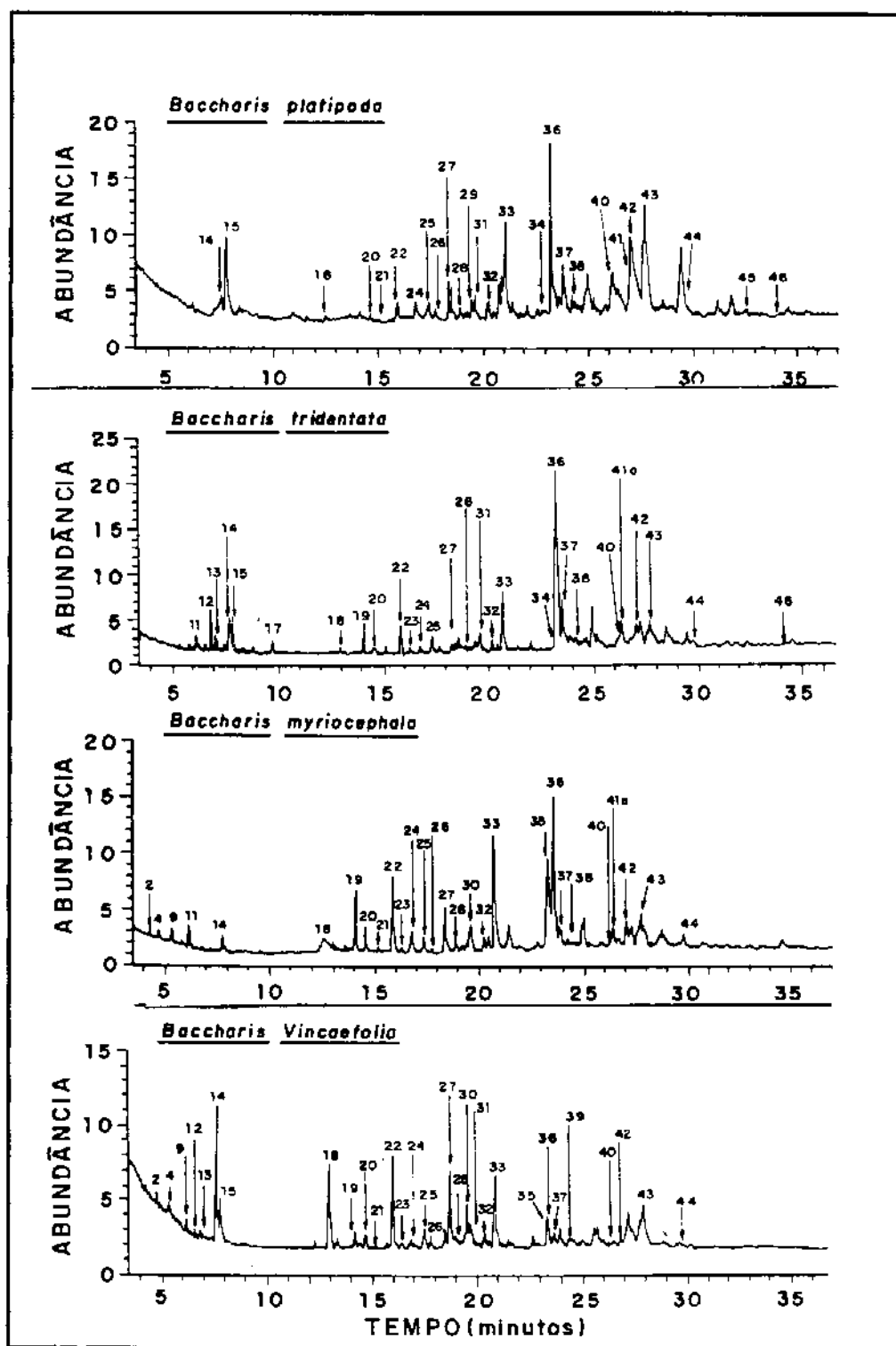


Figura 1: Cromatograma da variação do óleo essencial da parte aérea de espécies de *Baccharis*, coletada às 8:00 horas (programa 1)

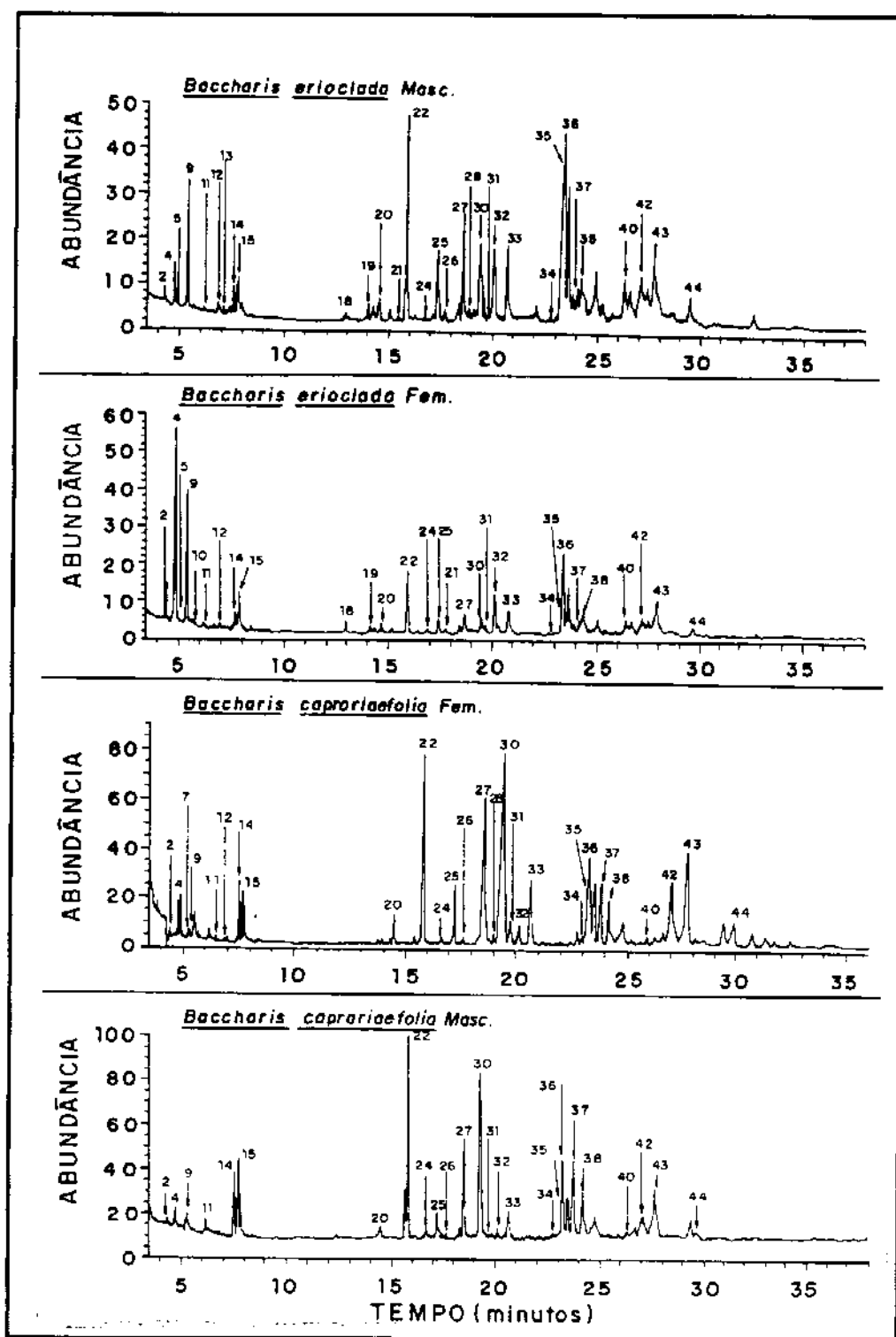


Figura 2: Cromatograma da variação do óleo essencial da parte aérea de espécies de *Baccharis* masculina e feminina, coletada às 8:00 horas (programa 1)

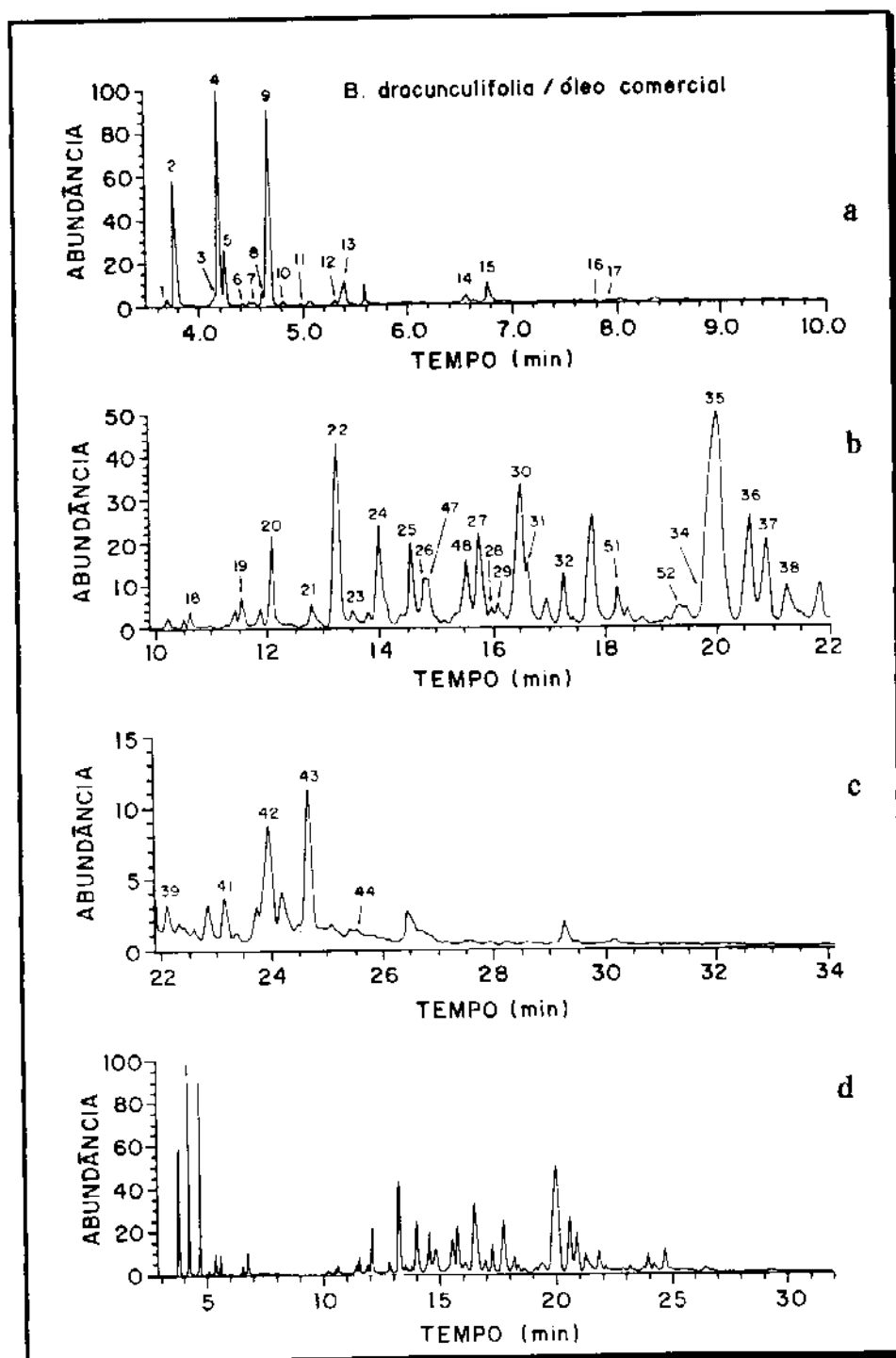


Figura 3: Cromatograma do óleo comercial de *B. dracunculifolia* (programa 2). (a) expansão do cromatograma de 2-10 minutos. (b) expansão do cromatograma de 10-22 minutos. (c) expansão do cromatograma de 22-34 minutos (d) corrente iônica total

Os números dos picos nos cromatogramas das Figuras 1, 2 e 3 correspondem aos compostos detectados nas espécies de *Baccharis* indicados nas Tabelas 1 e 2 e nas estruturas dos compostos conforme Figuras 4.1 e 4.2. As estereoquímicas indicadas nas estruturas dos compostos detectados, são relativas.

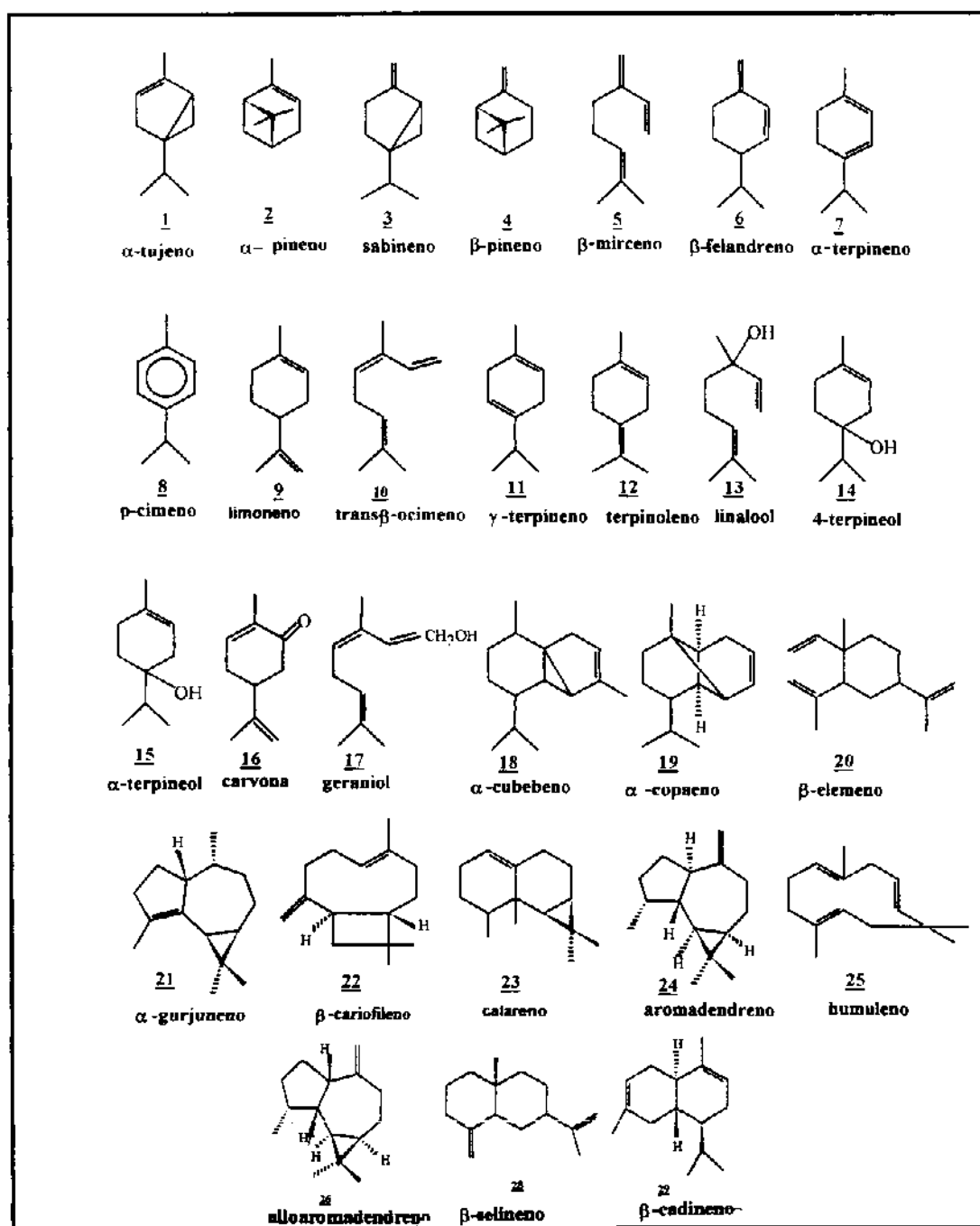


Figura 4.1: Estrutura dos compostos detectados nas espécies de *Baccharis*

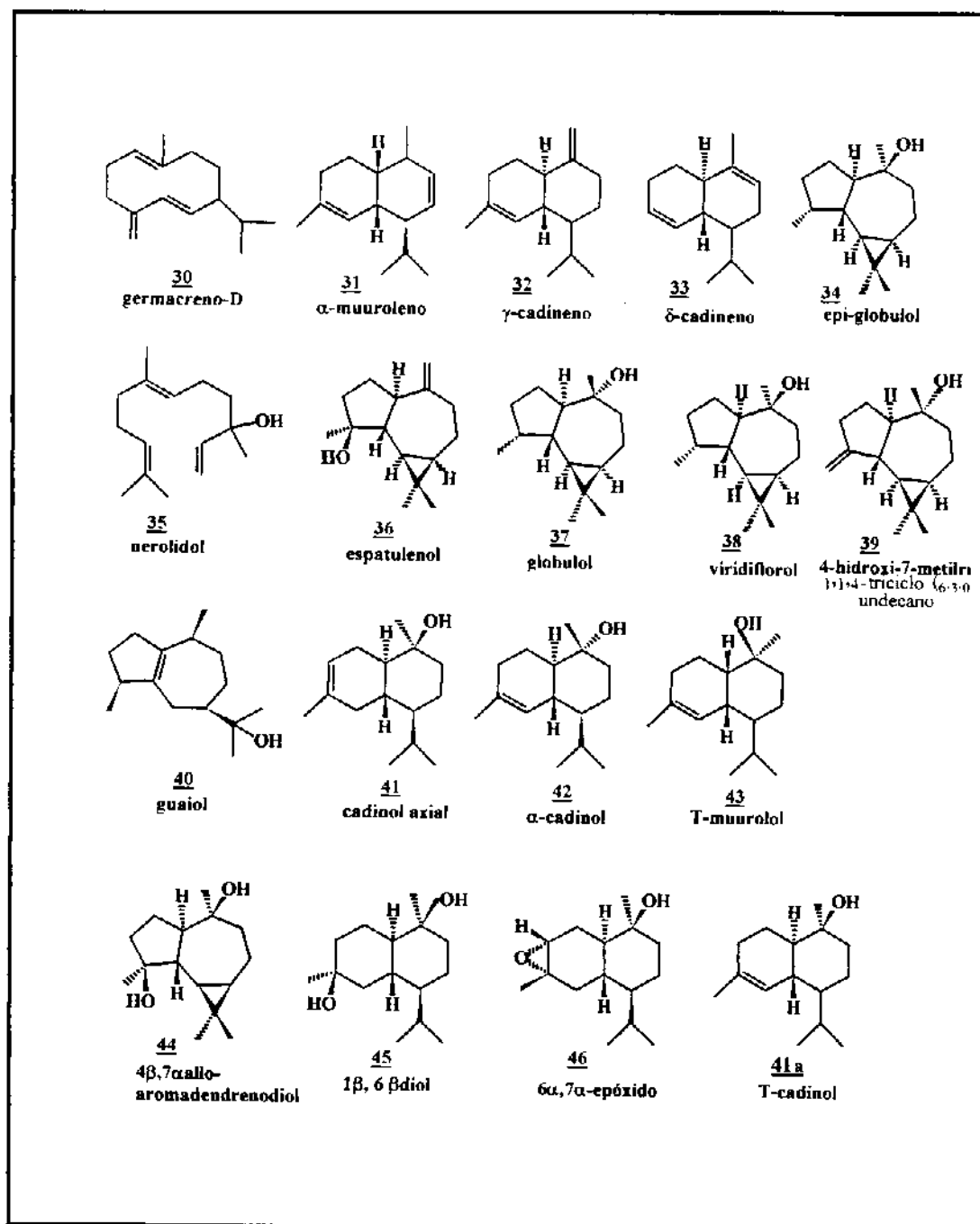


Figura 4.2: Estrutura dos compostos detectados nas espécies de *Baccharis*

Os constituintes majoritários identificados nas diversas espécies de *Baccharis* estão relacionados abaixo:

- *B. caprariaefolia* (feminina/masculina): germacreno-D 30 (23,5%/12,7%), β -cariofileno 22 (12,7%/15,7%) e γ -muuroleno 27 (11,4%/6,5%);
- *B. dracunculifolia* (feminina/masculina): β -selineno 28 (9,9%/11,0%) e nerolidol 35 (20,8%/12,0%);



B. caprariaefolia



B. dracunculifolia



B. platipoda



B. myriocephala



B. tridentata



B. erioclada

- *B. erioclada* (feminina/masculina): β -pineno 4 (21,4%/1,2%), limoneno 9 (15,2%/2,7%), β -cariofileno 22 (4,2%/10,7%), nerolidol 35 (1,9%/12,6%); *B. myriocephala*: δ -cadineno 33 (9,4%), nerolidol 35 (9,0%) e espatulenol 36 (9,4%);
- *B. platipoda*: espatulenol 36 (8,8%);
- *B. tridentata*: espatulenol 36 (21,2%) e δ -cadineno 33 (7,7%);
- *B. vincaefolia*: β -cariofileno 22 (8,7%) e δ -cadineno 33 (8,9%);
- *B. tridentata* pode ser considerada uma boa fonte de espatulenol 36 (21,2%) e sua potencialidade econômica frente a outras fontes de espatulenol 36 será posteriormente investigada.

Observou-se neste estudo que existe uma variação na quantidade de mono e sesquiterpenos oxigenados de uma espécie para outra, porém serão necessários dados adicionais para algumas conclusões taxonômicas. Outro aspecto interessante citado na literatura foi a detecção e o isolamento dos óxidos de cabreuva 47, 48, 49 e 50, dos isoumbertiois 51, 52, 53 e 54^{14, 15} e do óxido de cariofileno 55 no óleo comercial de *Baccharis dracunculifolia*, Figura 5.

No óleo comercial de *B. dracunculifolia*, fornecido pela Dieberger Óleos Essenciais, foram encontrados óxido de cabreuva 48 (IR=1512), óxido de cabreuva 50 (IR=1529), isoumbertiol 51 (IR=1588) e isoumbertiol 53 (IR=1611). No óleo hidrodestilado de planta fresca foi detectado apenas o isoumbertiol 53 (IR=1611), quando da coleta de inflorescência de *B. dracunculifolia* feminina às 7:00 horas. A presença destes compostos no óleo comercial pode ser relacionado à:

- formação de artefatos durante a estocagem da planta;
- oxidação do óleo após a extração;
- os vários diastereoisômeros são produzidos por diferentes quimiotipos e a coleta em massa não faz distinções.

O precursor destes compostos poderia ser o nerolidol 35, o qual poderia ter sofrido oxidações e ciclizações sem nenhum controle estereoquímico¹⁴.

Fato semelhante foi observado na análise de óleo de sementes de *Compositas* estocadas por um determinado período, nas quais foram detectados ácidos graxos, pouco usuais contendo epóxidos, hidroxilas, etc.¹⁶

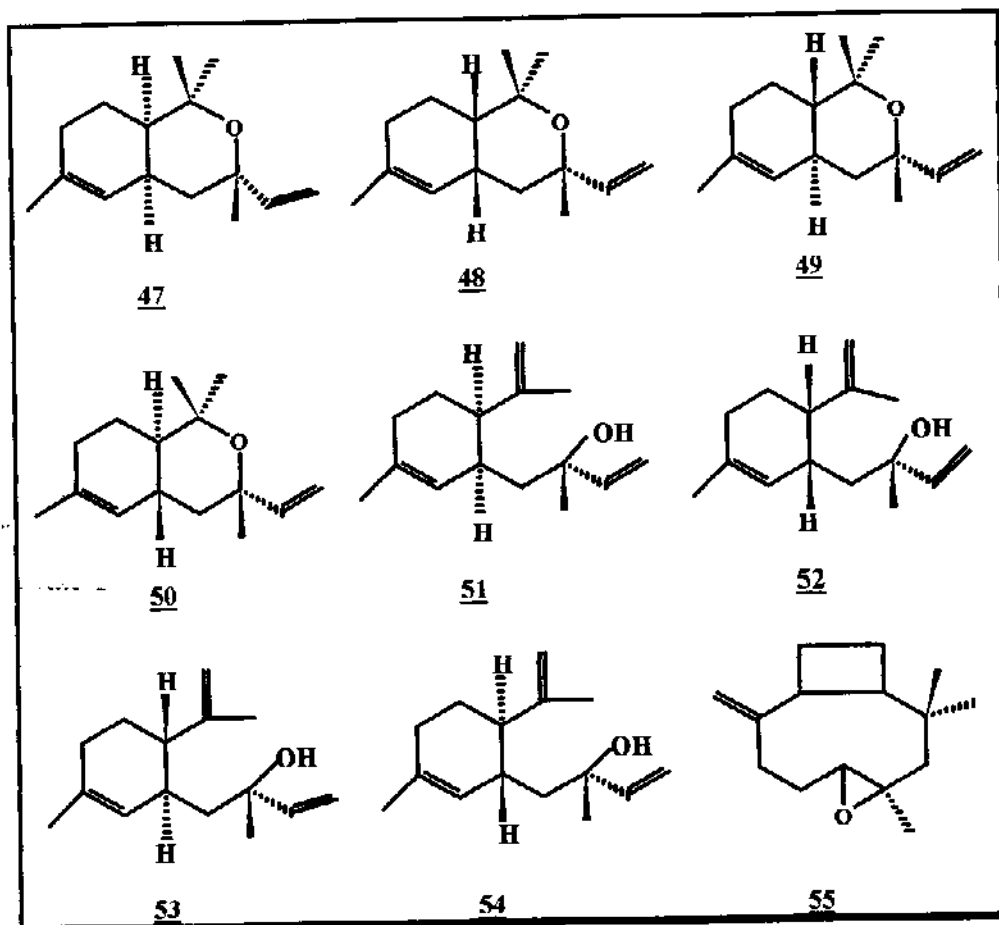
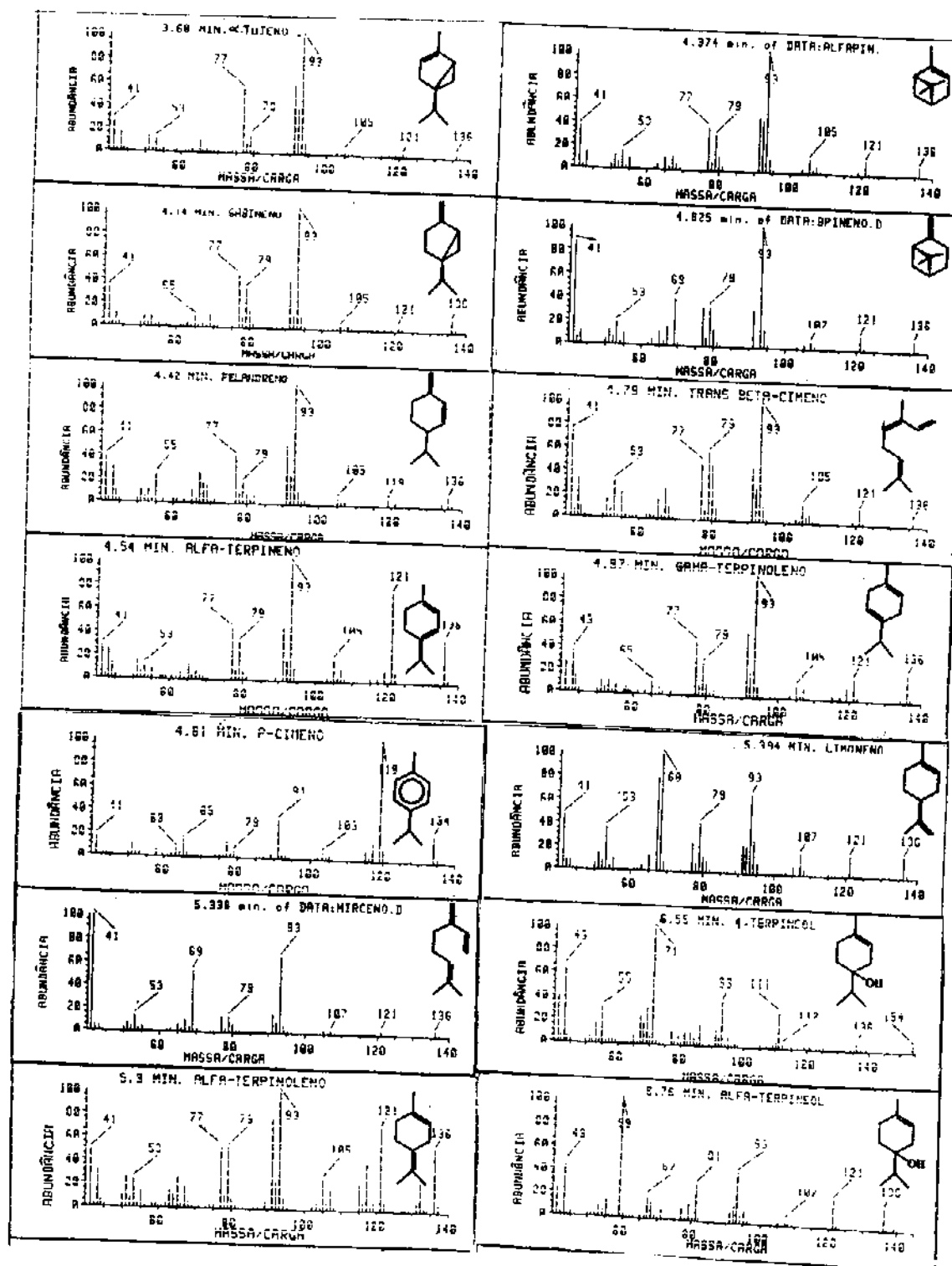
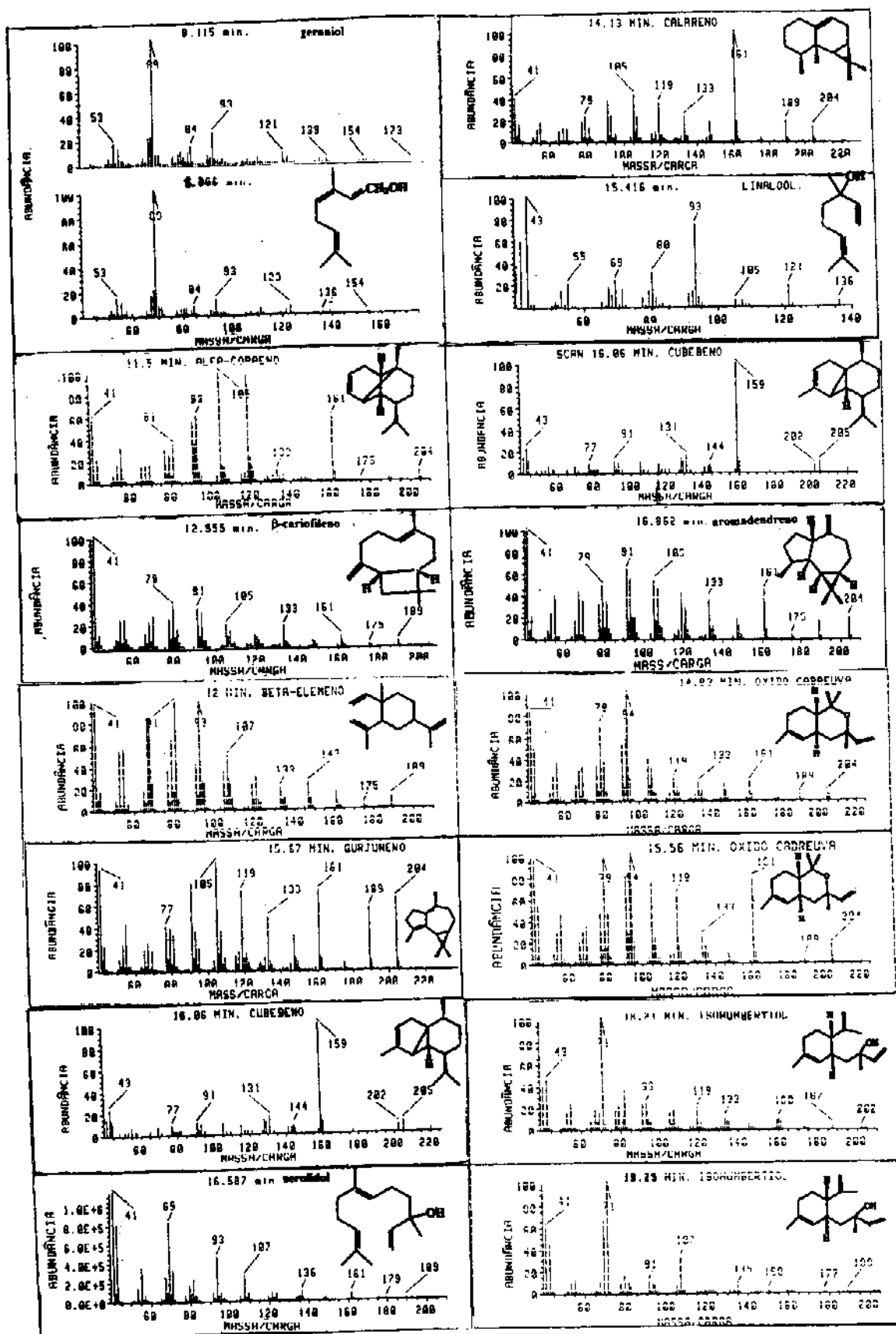
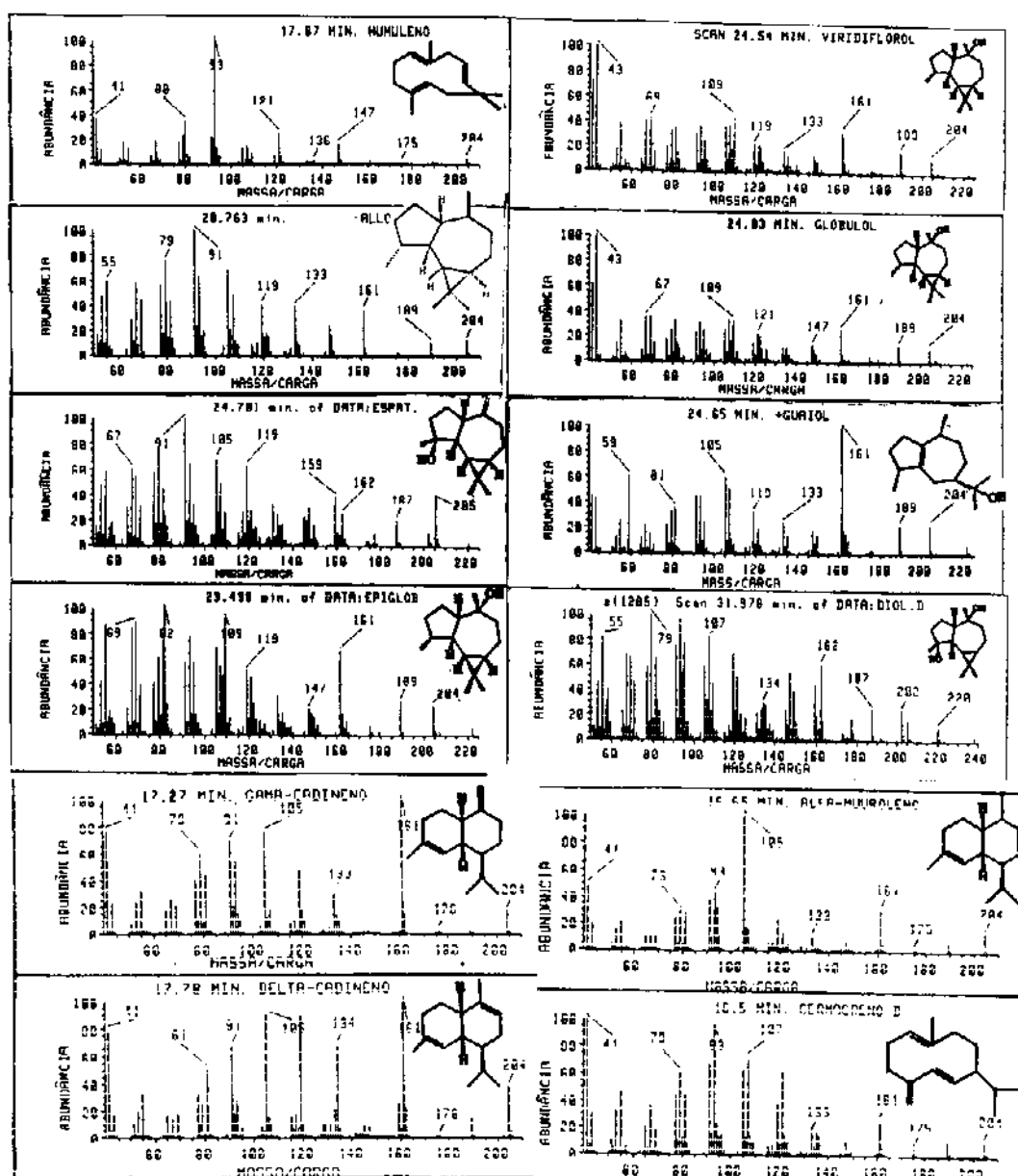


Figura 5: Compostos encontrados no óleo comercial de *B. dracunculifolia*

Os espectros de massas dos compostos identificados nos óleos essenciais das diversas espécies de *Baccharis* através de CG/EM (Figuras 1, 2 e 3) estão relacionados abaixo.

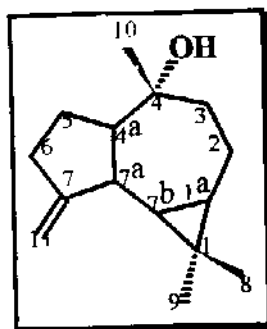






Durante a análise dos componentes dos óleos essenciais de *Baccharis* verificamos que os mesmos são mais ricos em compostos sesquiterpênicos do que monoterpênicos. O óleo de *Baccharis dracunculifolia* comercial foi também fracionado para isolar e identificar um composto sesquiterpênico até então não isolado, e de difícil identificação por espectrometria de massas.

Isolamento do 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano- 39 de *B. dracunculifolia*



Da fração polar do óleo comercial de *B. dracunculifolia*, eluída com gradiente hexano-acetato de etila (8:2), isolou-se o 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano- 39, o qual apresentou-se como um óleo incolor e tentativas de recristalização utilizando vários solventes (éter etílico, clorofórmio, metanol, hexano-éter etílico, metanol-éter etílico, etc.) foram infrutíferas. Este composto foi obtido com muita dificuldade, devido à presença de impurezas de outros compostos e às perdas ocorridas no processo de isolamento.

O espectro de IV (E IV-1) do 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano- 39 apresentou uma banda de estiramento em $3423,9\text{ cm}^{-1}$,

característica do grupo OH, bandas em $1654,7\text{ cm}^{-1}$ e $893,3\text{ cm}^{-1}$, características do grupo $\text{C}=\text{CH}_2$.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos prótons e dos carbonos-13, baseada na teoria dos deslocamentos químicos, foi feita através dos espectros unidimensionais de RMN^1H e de RMN^{13}C (espectro desacoplado em faixa larga e do tipo DEPT 135 e do DEPT 90) e com base na atribuição dos deslocamentos químicos de prótons para o globulol 37¹⁷ e espatulenol 36¹⁸.

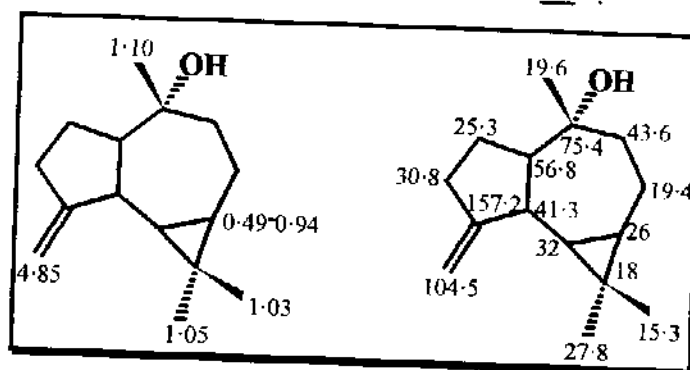


Figura 6: Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C do 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano- 39

O espectro de RMN^1H ($\text{ER}^1\text{H-1}$) apresentou bandas de absorções de baixa intensidade entre 0,49 a 0,94 ppm atribuídas aos prótons do anel ciclopropânico (H_{1a} e H_{7a}), três singletos em 1,03 ppm, 1,05 ppm e 1,10 ppm, atribuídos aos prótons metílicos de C_8 , C_9 e C_{10} , respectivamente. O singlete em 1,10 ppm foi atribuído aos prótons metílicos do C_{10} ; esta desproteção ocorreu devido à presença de um grupo -OH vizinho ao C_{10} . O dubleto largo em 4,85 ppm foi atribuído aos prótons olefinicos do C_{11} .

Estes dados espectrais, juntamente com o espectro de RMN^{13}C ($\text{ER}^{13}\text{C-1}$) levaram-nos a sugerir a estrutura do 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano- 39, a qual foi confirmada através dos dados da literatura^{17, 18}.

Assim sendo, foi possível atribuir os sinais dos espectros de RMN¹H (ER¹H-1) e de RMN¹³C (ER¹³C-1) com maior precisão.

A partir do espectro de RMN¹³C (ER¹³C-1) 75,4 ppm foi atribuído ao C₄ (carbinol) com base no composto modelo globulol 37¹⁷. O deslocamento químico em 18 ppm foi atribuído ao carbono C₁ com base nos deslocamentos químicos dos carbonos correspondentes dos compostos modelo aromadendreno 23, globulol 37 e espatulenol 36. Os deslocamentos em 157,2 e 104,5 ppm foram atribuídos aos carbonos C₇ e C₁₁ com base nos deslocamentos químicos dos compostos modelo espatulenol 36 e globulol 37¹⁷ (Figura 7).

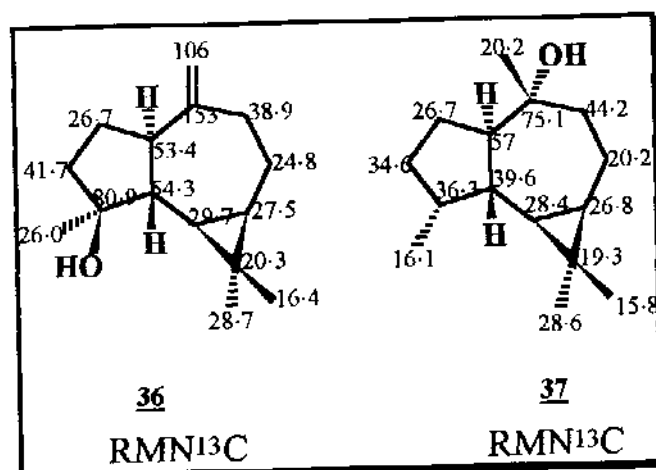


Figura 7: Deslocamentos químicos de ¹³C do espatulenol 36 e do globulol 37

O espectro de massas (EM-1) do 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano- 39 apresentou íon molecular com 3% de intensidade em m/z 220 e fragmentações em m/z 202 (M-18), 187, 159, 133, 120, 91 e pico base em m/z 43.

Uma possibilidade seria o composto 39 ser o espatulenol 36 mas com coinjeção do padrão verificamos que os tempos de retenção dos compostos 36 e 39 são diferentes. O composto 4-hidroxi-7-metileno, 1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0)

undecano- **39**, um álcool sesquiterpênico, não foi isolado anteriormente no óleo de vassoura e consiste de uma nova estrutura na literatura.

Variação do Perfil dos Óleos Essenciais de *Baccharis*

Nos estudos dos óleos essenciais de *Baccharis* outro fato que merece destaque foi a variação observada entre espécimens femininos e masculinos da mesma espécie (Tabela 2, Figura 2). A fim de avaliar a variação entre os componentes de espécimens femininos e masculinos, idealizamos uma razão interna entre a quantidade de monoterpenos e sesquiterpenos. A razão monoterpeno/sesquiterpeno foi maior nas plantas femininas de *B. dracunculifolia* e de *B. erioclada*.

Com o intuito de explicar essa variação, o óleo essencial da parte aérea de 2 plantas uma feminina e outra masculina de *B. dracunculifolia* foi monitorado ao longo de um período diurno, coletadas à 8:00 horas. Neste estudo verificamos dois fenômenos, um relacionado aos índices pluviométricos e o outro relacionado ao rendimento do óleo. No primeiro, a razão monoterpeno/sesquiterpeno apresentou valores altos em épocas de baixos índices pluviométricos e baixos valores para altos índices pluviométricos. Diferenças maiores foram observadas entre plantas masculinas e femininas durante as épocas de inflorescências (Março 93 e Agosto 93) (Figura 8).

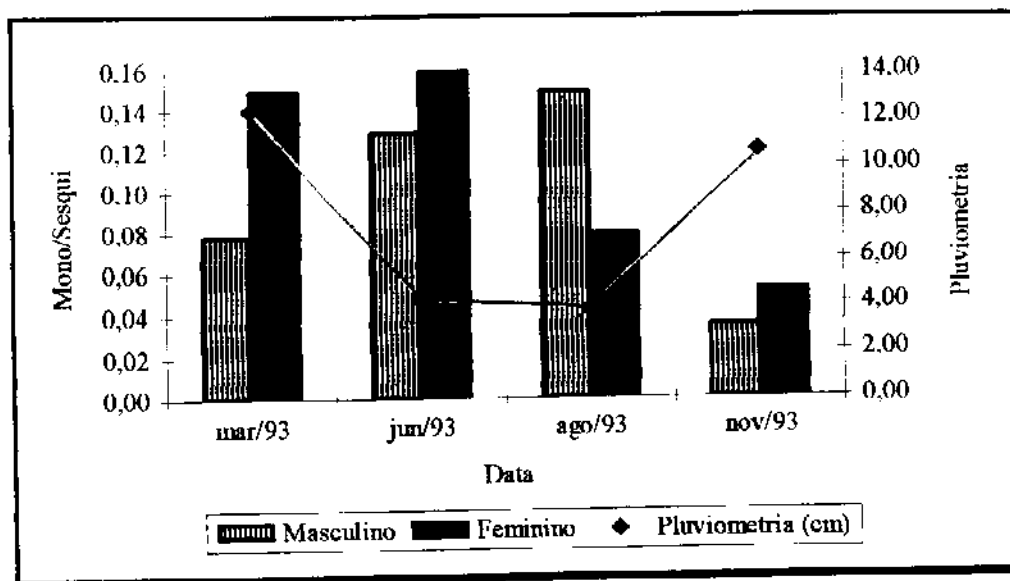


Figura 8: Variação sazonal da razão monoterpeno/sesquiterpeno da parte aérea de voláteis de *B. dracunculifolia* feminina e masculina.

No segundo fenômeno observado, verificamos baixo rendimento do óleo em épocas de baixos índices pluviométricos e altos valores para altos índices pluviométricos (Figura 9).

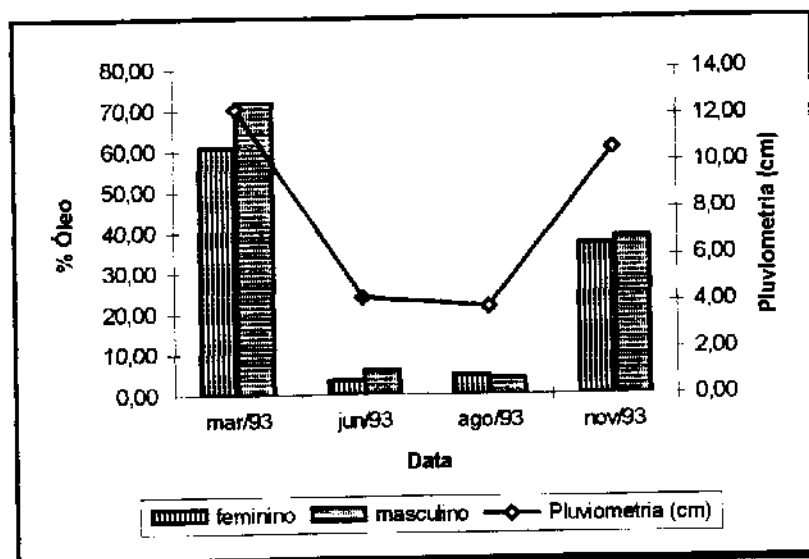


Figura 9: Rendimento total do óleo da parte aérea de *B. dracunculifolia* comparado com a época de chuva, coletada às 8:00 horas

As variações observadas poderiam ser atribuídas ao estresse hídrico ou salino e para confirmar esta hipótese, submetemos a *B. dracunculifolia* (maculina) a estresse salino e aquoso, em laboratório por um período de 72 horas, antes da hidrodestilação. Galhos com folhas de uma mesma planta, coletados à 8:00 horas, foram mergulhados em água e em uma solução aquosa de cloreto de magnésio 1×10^{-4} M, respectivamente, e um terceiro foi deixado como testemunho. Em ambos os casos ocorreu um decréscimo na razão monoterpene/sesquiterpene e um aumento de 100% no rendimento do óleo (Figura 10, Tabela 3).

Tabela 3: Composição percentual relativa dos óleos essenciais da parte aérea de *Baccharis dracunculifolia* (maculina) sob condições de estresse

Compostos		Método	Controle	Aquoso	Salino
MONOTERPENOS					
α -PINENO	2	IRcs,EM	1,45	0,17	
β -PINENO	4	IRpc,EM	3,95	0,97	0,89
β -MIRCENO	5	IRb,FM	0,80		
LIMONENO	9	IRpc,EM	4,19	0,67	1,02
γ -TERPINENO	11	IRb,EM	0,88	0,81	0,76
4-TERPINEOL	14	IRb, FM	0,48	0,38	0,41
α -TERPINEOL	15	IRpc,EM	0,72	1,71	1,87
SESQUITERPENOS					
α -CUBEENO	18	IRb,EM	0,15	0,23	0,38
α -COPAENO	19	IRpc,EM	0,48	0,78	1,10
β -ELEMENO	20	IRb,EM	1,18	1,49	1,89
α -GURJUNENO	21	IRpc,EM	0,45	0,65	0,76
β -CARIOFILENO	22	IRpc,EM	5,98	7,00	9,1
AROMADENDRENO	24	IRpc,EM	1,62	2,51	3,30
HUMULENO	25	IRcs, EM	2,49	2,79	3,57
ALLOAROMADEND.	26	IRpc, FM	1,24	1,21	1,40
γ -MUUROLENO	27	IRpc, EM	11,00	2,87	5,94
β -SELINENO	28	IRb, EM	2,10	3,49	4,00
β -CADINENO	29	IRps, EM	1,22	2,59	2,52
GERMACRENO-D	30	IRpc, EM	7,30	2,99	3,31
γ -CADINENO	32	IRb, EM	1,48	1,97	2,39
δ -CADINENO	33	IRb, FM	4,98	7,35	9,12
EPI-GLOBULOL	34	IRps, EM	0,38	0,69	0,54
NEROLIDOL	35	IRpi, EM	0,31	0,43	0,52
ESPATULENOI.	36	IRpi, EM	13,3	8,07	8,40
GLOBULOL	37	IRss, EM	4,74	5,60	5,79
VIRIDIFLOROL	38	IRps, EM	3,68	3,05	2,90
GUAJOL	40	IRcs, EM	0,87	1,43	1,57
α -CADINOL	42	IRpi, EM	3,22	4,68	5,00
T-MUUROLOL	43	IRpc, EM	5,32	10,19	9,92
AROMADENDIOL	44	IRps, EM	2,10	2,80	2,79
% Comp. Identificados			88,1	79,6	91,2

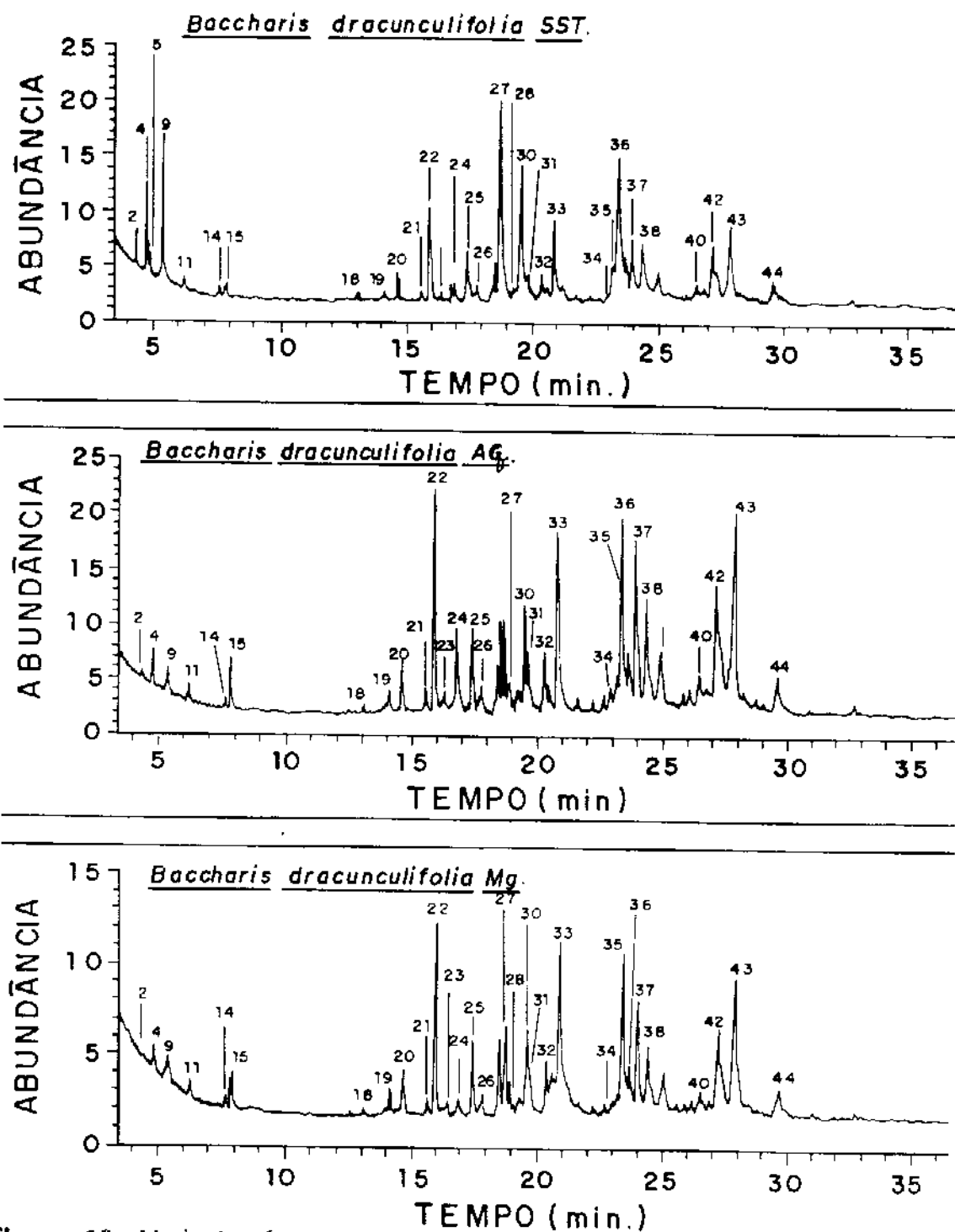


Figura 10: Variação da composição dos óleos essenciais de *B. dracunculifolia* (masculina) sob condições de estresse

Ficou assim confirmado que parte da variação sazonal do óleo essencial da *B. dracunculifolia* pode ser atribuída ao estresse hídrico e salino. Para explicar as diferenças entre a razão mono/sesqui dos espécimens masculinos e femininos nos meses de março e agosto (Figura 8), monitorou-se folhas e inflorescências de uma planta feminina e de uma planta masculina de *B. dracunculifolia* ao longo do dia, às 8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas. Verificamos que a maior razão mono/sesqui é obtida com inflorescências de plantas masculinas e quando a coleta é realizada em torno das 11:00 horas, com uma inversão marcante nas inflorescências de plantas femininas (Figura 11).

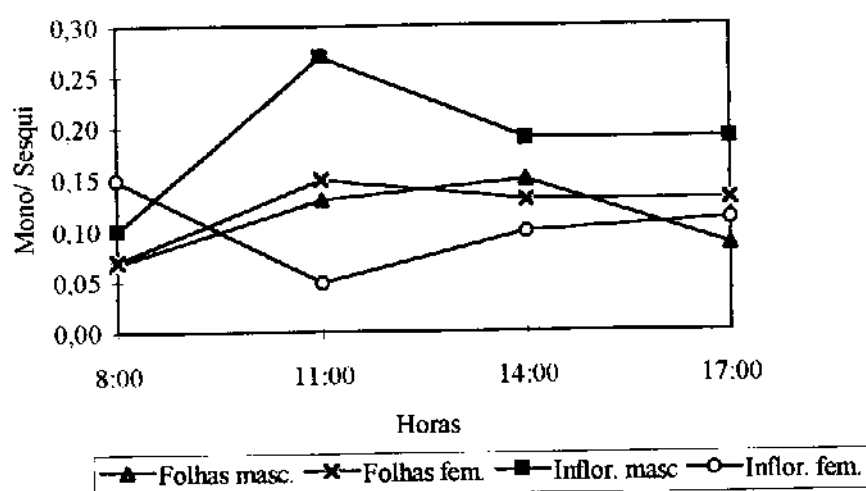


Figura 11: Variação da razão monoterpeno/sesquiterpeno em *B. dracunculifolia* feminina e masculina

O estudo de apenas duas plantas não é suficiente para obter resultados conclusivos. Confirmação adicional foi obtida estudando uma população de 10 plantas femininas e 10 masculinas de *Baccharis dracunculifolia*, crescendo em uma área restrita no campus da UNICAMP (Figura 12).

Foram coletadas separadamente folhas e inflorescências às 8:00, 11:00 e 17:00 horas, totalizando 120 amostras. Os resultados obtidos foram similares, mostrando que existe uma relação entre os voláteis de inflorescências e o sexo da planta, com uma razão maior de mono/sesquiterpeno ocorrendo em torno das 11:00 horas para inflorescências de plantas masculinas. Uma variação inversa é observada nas inflorescências de plantas femininas.

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente através do teste de Duncan sendo feitas comparações múltiplas do sexo e da parte da planta utilizada e do horário de coleta. As inflorescências femininas apresentaram uma variação muito alta o que com orientação de botânicos, foi atribuído ao fato das coletas terem sido realizadas sem levar em consideração a separação das inflorescências e das infrutescências (difíceis de serem distinguidas), o que poderia estar influenciando significativamente nos resultados. O tratamento estatístico dos dados também mostrou que não existe uma diferença significativa entre as folhas dos espécimens masculinos e femininos e que não há variação do óleo essencial ao longo do dia. Resultados melhores certamente poderão ser obtidos estudando uma população de *Baccharis* cultivada, cujas plantas são mais homogêneas.

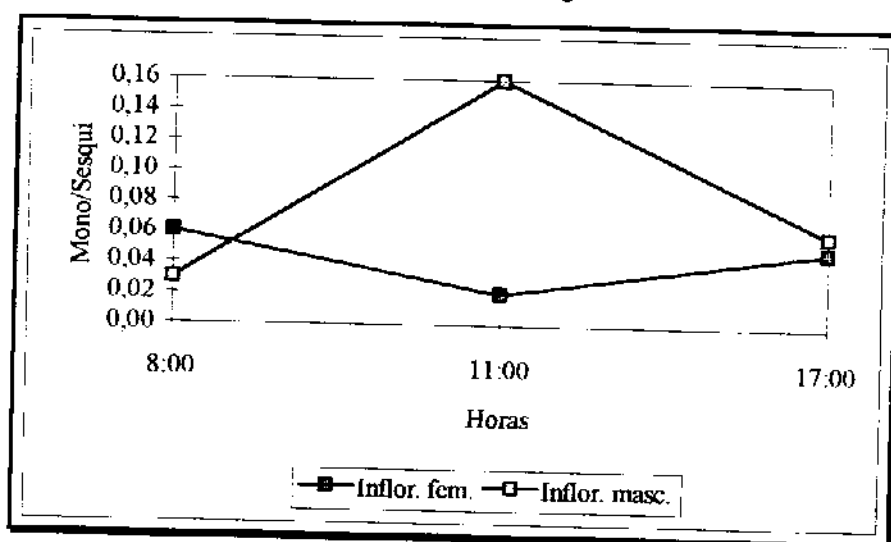


Figura 12: Variação média da razão monoterpeno/sesquiterpeno em inflorescências de 10 plantas femininas e 10 masculinas de *B. dracunculifolia*

Para confirmação destes resultados foi feita uma amostragem de inflorescências e de infrutescências separadamente, em uma população de 05 plantas femininas e de inflorescências de 05 plantas masculinas, coletadas de hora em hora das 7:00 às 15:00 horas e das 7:00 às 13:00 horas, respectivamente, em dezembro de 1994, totalizando 80 amostras.

Os resultados confirmaram as observações anteriores de que existe uma relação entre os voláteis de inflorescências masculinas e de infrutescências femininas, porém esta relação é muito mais complexa, com picos de inversão na razão monoterpeno/sesquiterpeno às 9:00, 11:00 e 13:00 horas (Figura 13).

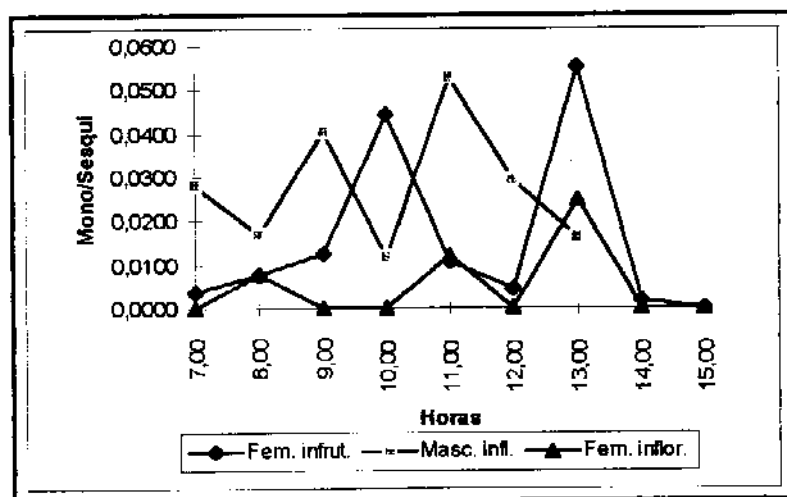


Figura 13: Variação da razão monoterpeno/sesquiterpeno em inflorescências masculinas e femininas e infrutescências femininas de *B. dracunculifolia*

Com este estudo, verificamos que existe uma relação entre os voláteis das inflorescências e o sexo da planta. Esta relação é complexa, com uma razão maior de mono/sesquiterpeno ocorrendo às 9:00 e 11:00 horas para as inflorescências masculinas e uma variação inversa é observada nas infrutescências das plantas femininas, com uma razão maior de mono/sesquiterpeno às 10:00 e 13:00 horas. Podemos então dizer que existe uma complementariedade na liberação dos voláteis

entre os espécimens masculinos e femininos ao longo do dia, fazendo com que ocorra uma atração constante dos visitantes. Nas observações dos insetos visitantes, verificamos que no período das 10:00 às 15:00 horas é que ocorre a maior atividade dos mesmos.

Os resultados mostraram que as inflorescências das plantas femininas não influenciam significativamente nos resultados quando da utilização da razão monoterpeno/sesquiterpeno para avaliar a variação entre os componentes de espécimens femininos e masculinos de *B. dracunculifolia*.

Biologia de Polinização

Considerando os perfis contrastantes de óleos essenciais de *B. dracunculifolia* e que o perfume das flores possui um papel muito importante como atrativo de visitantes florais, entre eles os insetos polinizadores, consideramos primeiramente que a polinização poderia estar envolvida com a variação observada no óleo essencial¹⁹⁻²².

No presente trabalho foram realizadas observações de campo visando relacionar a polinização desta espécie de *Baccharis* com os seus visitantes. A biologia de polinização incluiu a coleta dos visitantes florais e anotações sobre suas atividades durante as visitas.

Os insetos visitantes da *B. dracunculifolia* foram observados semanalmente de agosto à novembro de 1993 e de abril à junho de 1994, em dias chuvosos, ensolarados e nublados, no período das 7:00 às 17:00 horas.

Diferentes grupos de insetos foram observados como visitantes florais. A diversidade de visitantes no capítulo inclui espécies de insetos pequenos e generalistas (Tabela 4). As visitas de moscas, vespas e abelhas são fortemente influenciadas por fatores meteorológicos, principalmente pela temperatura. Elas estiveram ausentes das flores durante dias nublados e chuvosos, quando a temperatura estava próxima ou abaixo de 20° C. Mesmo em dias ensolarados, os insetos mostraram maior atividade das 10:30 às 13:30 horas, quando a temperatura estava próxima de 28° C ou mais alta. Na Figura 14 temos as partes das flores masculinas e femininas de *B. dracunculifolia*.

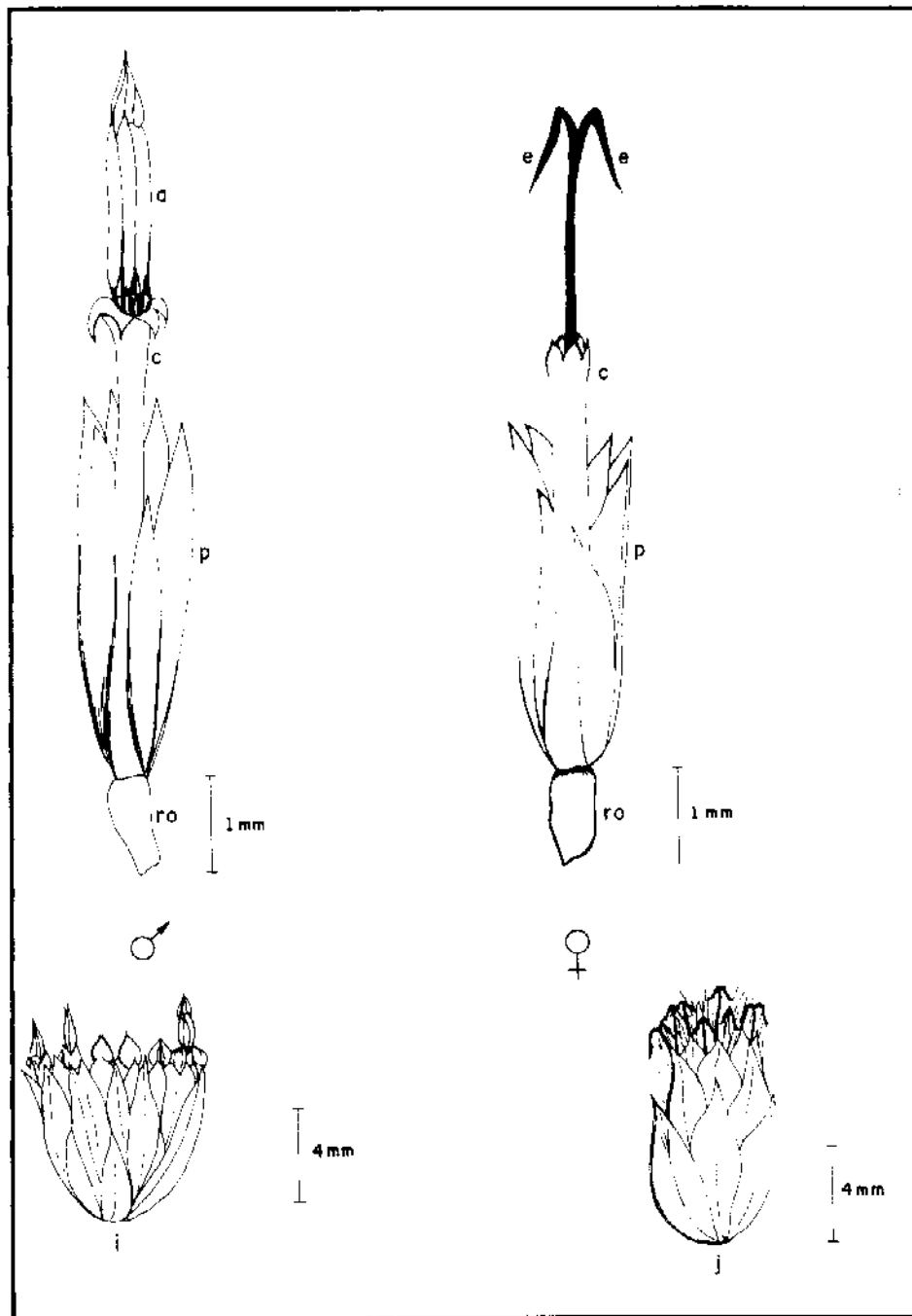


Figura 14: Flores masculinas e femininas de *B. dracunculifolia*

a = anteras conadas, p = papus, ro = rudimento estéril do ovário, c = corola, e = estigma, i = capítulo masculino, j = capítulo feminino

As formigas *Zacryptocerus pusilus* e *Camponotus crassus* (Hymenoptera: Formicidae) foram os visitantes mais frequentes e constantes, patrulhando a planta toda, incluindo o capítulo, ao longo de todo o período de observação.

Abelhas solitárias *Augochloropsis cupreola* e *Paroxystoglossa jocasta* (Hymenoptera: Halictidae) também visitam as flores masculinas e femininas. Elas chegam em torno das 8:00-9:00 horas e permanecem até às 12:00 horas.

A vespa *Polystes suberosa* (Hymenoptera: Vespidae) e a mosca *Ornidia obesa* (Diptera: Syrphidae) também foram observadas em flores masculinas e femininas das 7:00 às 13:00 horas, porém a mosca *Ornidia obesa* é mais frequente das 11:00-12:00 horas.

Um outro grupo de visitantes florais consiste de insetos que diretamente se alimentam no capítulo, usando pólen, néctar ou ambos. Abelhas sociais nativas como *Plebeia mosquito*, *Trigona spinipes* e *Trigona angustula* (Apidae) foram observadas somente em flores masculinas. Elas chegam em torno das 9:00-11:00 horas e permanecem até às 13:00 horas.

Tabela 4: Insetos observados visitando inflorescências em *Baccharis dracunculifolia*

Abelhas Sociais	Formigas
<i>Trigona angustula</i>	<i>Zacryptocerus pusilus</i>
<i>Trigona spinipes</i>	<i>Camponotus crassus</i>
<i>Plebeia mosquito</i>	Mosca
<i>Apis mellifera</i>	<i>Ornidia obesa</i>
Abelhas Solitárias	Vespa
<i>Augochloropsis cupreola</i>	<i>Polystes suberosa</i>
<i>Paroxystoglossa jocasta</i>	

Através da análise cromatográfica dos óleos essenciais da *Baccharis dracunculifolia* foram detectados 75 componentes, levando em consideração os diferentes horários de coleta das inflorescências das plantas femininas e inflorescências das plantas masculinas. Esses componentes foram divididos em 9 grupos de terpenos com as respectivas percentagens (Tabela 5), para atender às exigências da Análise de Correspondência Canônica²³ efetuada entre a matriz de voláteis florais e a dos insetos visitantes.

Na Figura 15 temos o perfil dos óleos analisados através de cromatografia gasosa, separados em 9 grupos de terpenos. Os grupos A (IR= 1115-1250), B (IR= 1250-1465), C (IR= 1465-1545), D (IR= 1545-1610), E (IR= 1610-1710), F (IR= 1710-1740), G (IR= 1740-1760) e os grupos H e I com índices de retenção acima de 1760. Dos 75 componentes detectados, alguns compostos foram identificados por comparação do espectro de massas e comparados com os índices de retenção (tabela 1, programa 2) dos compostos do óleo de *B. dracunculifolia*. Vários constituintes estão presentes como traços, sendo o nerolidol 35 e o espatulenol 36 os componentes principais em todos os horários de coleta, tanto em espécimens femininos como em masculinos. A quantidade do nerolidol 35 variou de 10-41% dependendo do horário de coleta enquanto que o espatulenol 36 variou de 2-31%.

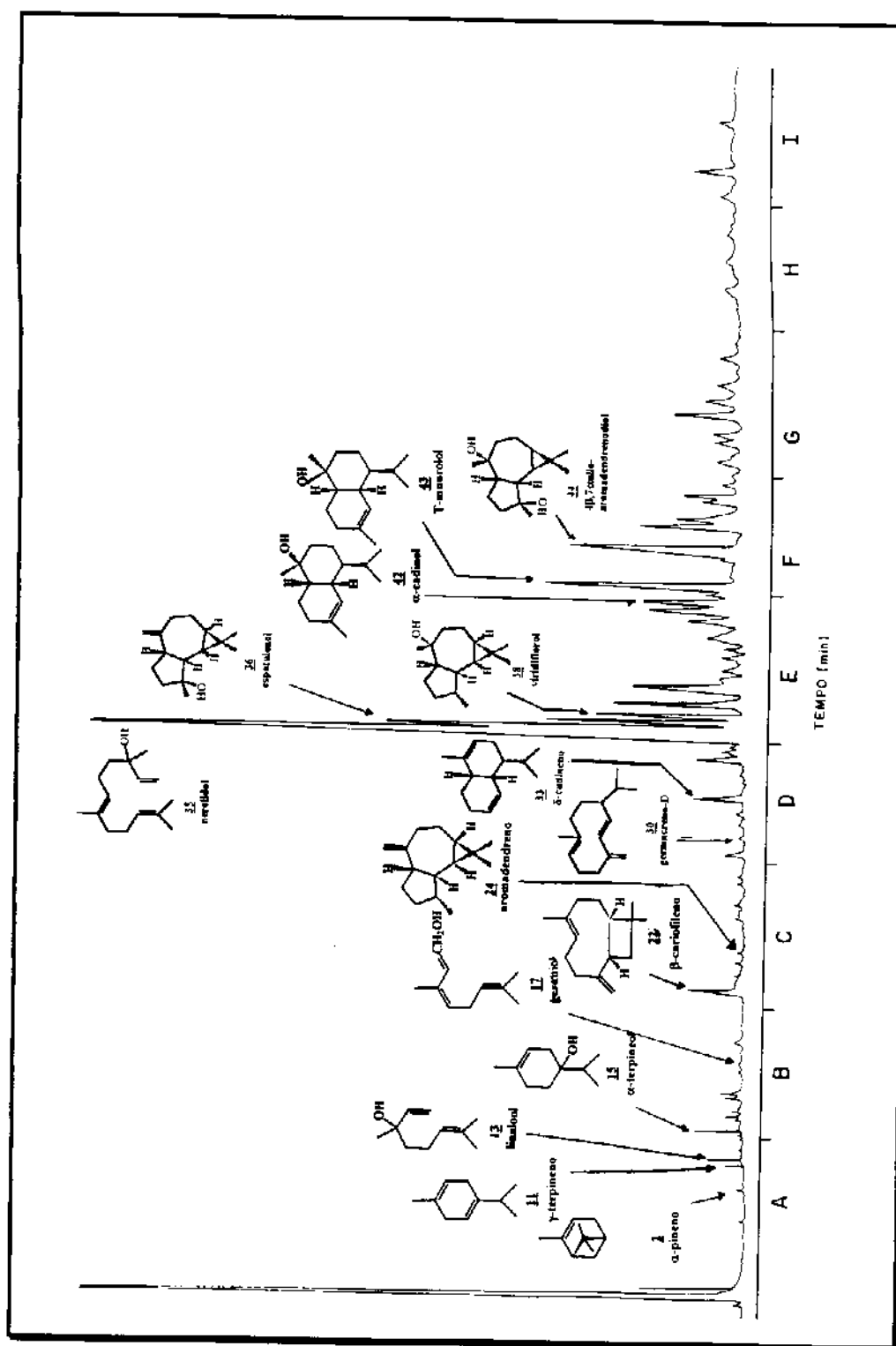
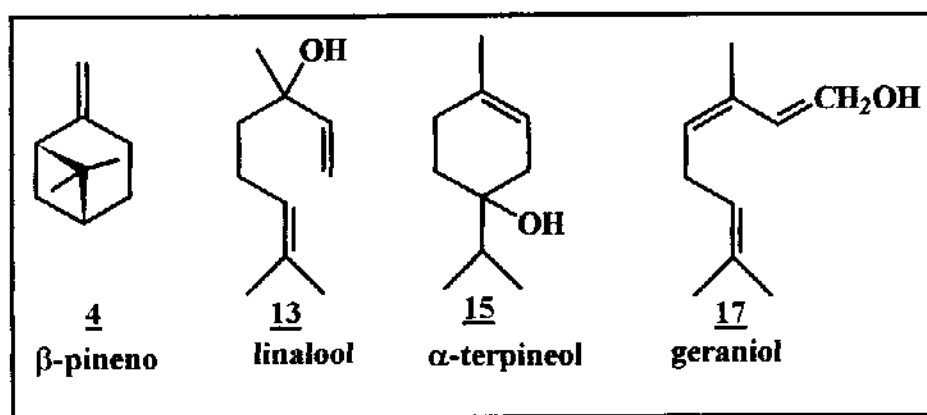
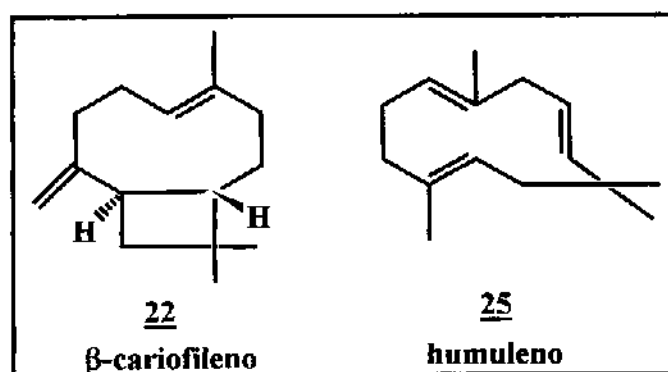


Figura 15: Cromatograma do óleo essencial de inflorescência feminina de *B. dracunculifolia* coletada às 7:00 horas (separado em 9 grupos de terpenos)

No grupo A (IR=1115-1250) existe uma predominância de monoterpenos com β -pineno 4 e linalool 13 como componentes principais; grupo B (1250-1465) álcoois monoterpênicos e cetonas com α -terpineol 15 e geraniol 17 como componentes principais;

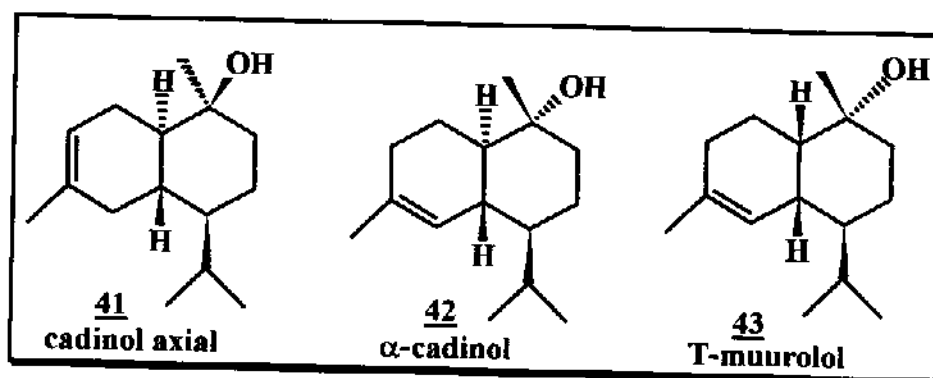
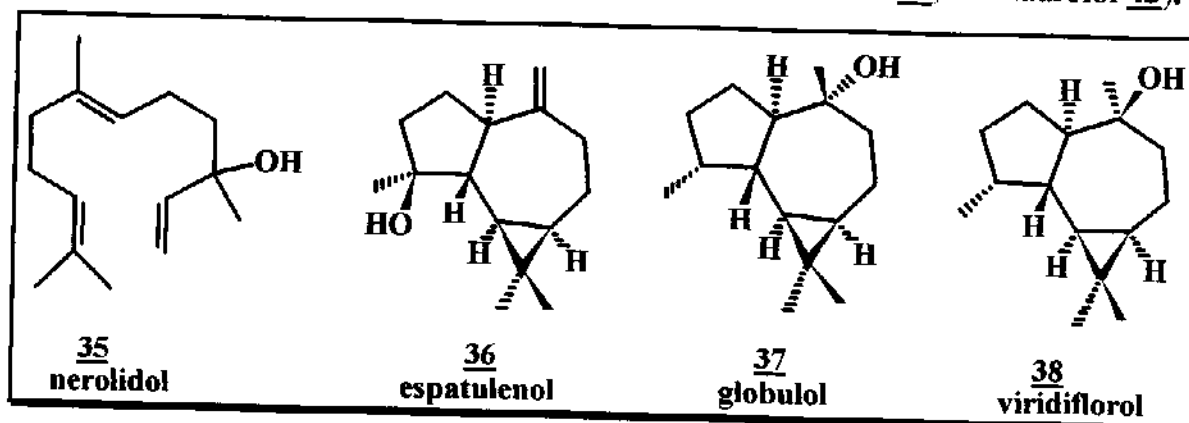


grupos C (IR= 1465-1545) e D (IR= 1545-1610) hidrocarbonetos sesquiterpênicos com β -cariofileno 22 e humuleno 25 como componentes principais



Os grupos E (IR= 1610-1710), F (IR= 1710-1740), G (IR= 1740-1760), H e I são álcoois sesquiterpênicos, epóxidos e cetonas com nerolidol 35 e espatulenol 36 como componentes principais. Os principais grupos de compostos presentes são os grupos E e F, variando de 17-81% dos constituintes de acordo com os horários de coleta, as inflorescências e espécimens masculinas ou femininas, tabela 5. O grupo E corresponde à região dos álcoois sesquiterpênicos (nerolidol 35) e tricíclicos

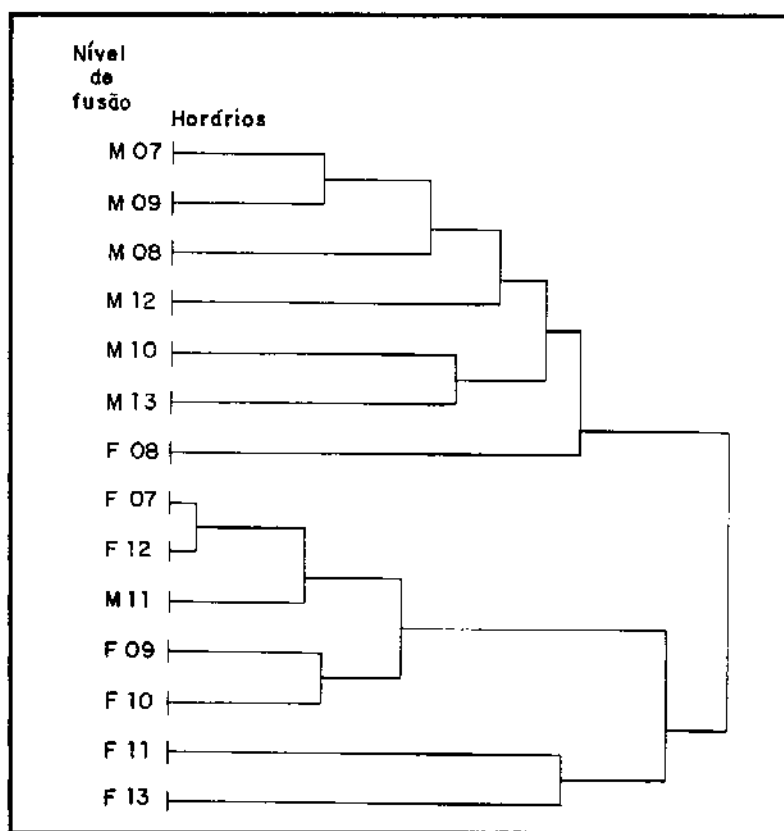
(espatulenol **36**, globulol **37** e viridiflorol **38**) e, o grupo F corresponde à região dos álcoois sesquiterpênicos bicíclicos (cadinol axial **41**, α -cadinol **42**, T-muurolol **43**).



Antes de qualquer tratamento estatístico, os valores percentuais dos grupos de terpenos constituintes do óleo essencial de *B. dracunculifolia* sofreram transformação arco seno, objetivando eliminar o inconveniente inerente a curvilinearidade da escala das proporções.

Partindo então de uma matriz triangular de coeficiente de distância "Canberra metric", incluindo zero duplo, a análise de agrupamento por média de grupo (UPGMA) produziu um dendograma (Dendograma 1), que separou dois grandes blocos de 7 amostras femininas e 7 masculinas. Curiosamente, cada bloco segregou capítulos masculinos de capítulos femininos, havendo apenas uma amostra de inflorescência masculina coletada às 11:00 horas (M11) agrupada entre as femininas,

assim como apenas uma amostra de inflorescência feminina coletada às 8:00 horas (F08) agrupada entre as masculinas.



Dendograma 1: Dendograma de agrupamento das amostras horárias de voláteis de espécimens masculinos e femininos de *B. dracunculifolia*.

Esta situação, previamente detectada em outras espécies de *Baccharis*¹¹ levantou questões importantes para a polinização dessas espécies. Isto porque, num sistema sexual dioico, seria esperada uma química de voláteis florais que apresentasse compostos comuns entre indivíduos dos dois sexos (Figura 2).

Na Figura 16 temos o gráfico dos horários de coleta das inflorescências masculinas e femininas de *B. dracunculifolia* versus as médias das massas (mg) obtidas nos grupos de terpenos (% componentes em cada classe de compostos x massa do óleo obtido em cada horário de coleta/100).

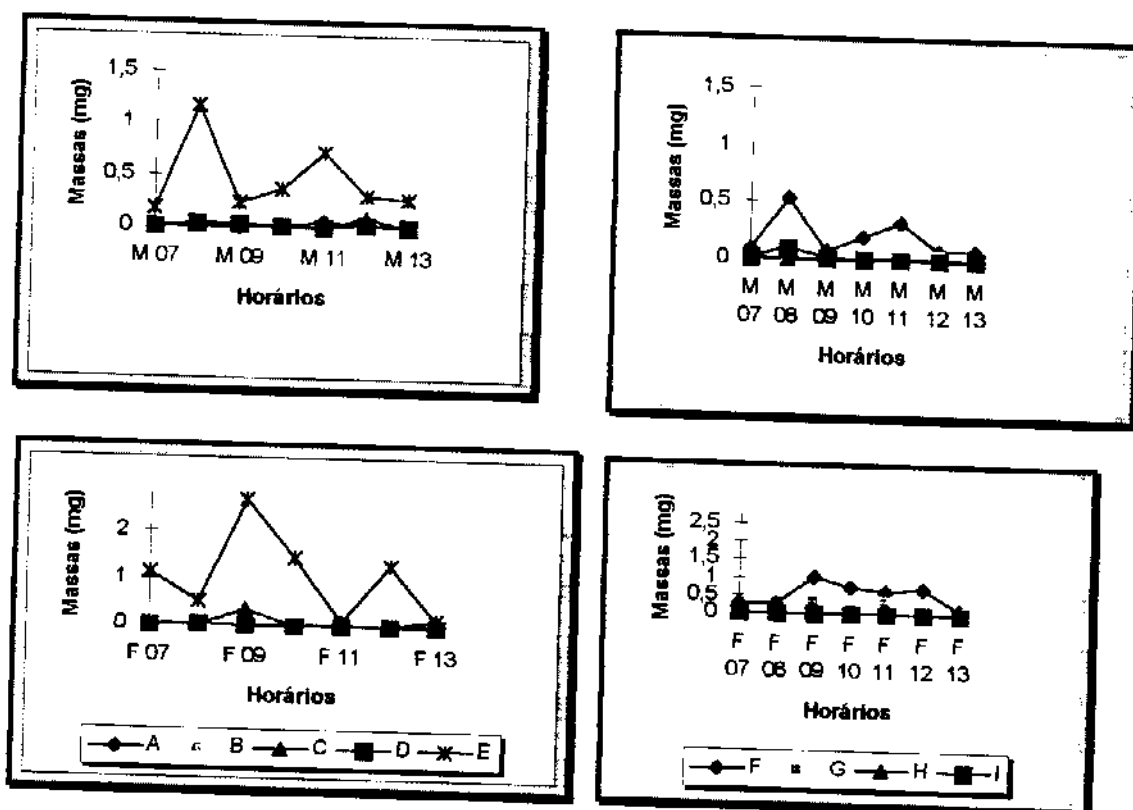


Figura 16: Variação das massas nos grupos de terpenos em espécimens masculinas e femininas versus o horário de coleta

Os picos horários de eliminação dos diferentes grupos de terpenos se alternam entre espécimens masculinos e femininos ao longo do período observado, demonstrando assim que em *Baccharis dracunculifolia* ocorre uma complementariedade no “bouquet” floral. Esses pulsos sugerem que a eliminação de voláteis ocorre na medida em que eles são secretados, sem que haja ocorrência do seu acúmulo prévio²⁴.

Os grupos de terpenos foram considerados variáveis ambientais e comparados com os insetos visitantes, verificando assim a influência dos terpenos no comportamento dos insetos ao longo do dia.

Tabela 5: Percentagens dos componentes do óleo essencial dos grupos de terpenos de inflorescências de espécimens femininas e masculinas de *Baccharis dracunculifolia*

Grupos de Terpenos

Horário de coleta (horas)	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Masc. Infl. 7:00	0,59	0,60	1,48	2,07	55,15	27,93	8,35	0	2,57
Fem. Infl. 7:00	0	0	0	0	81,07	18,93	0	0	0
Masc. Infl. 8:00	0	0,53	1,39	1,81	61,60	28,37	0,94	0	5,02
Fem. Infl. 8:00	0,23	0,27	0,22	4,53	56,94	29,91	5,08	1,23	0,66
Masc. Infl. 9:00	0,58	2,38	3,53	6,36	56,53	19,06	5,64	0	5,11
Fem. Infl. 9:00	0	0	7,71	0	61,38	23,34	7,56	0	0
Masc. Infl. 10:00	0,99	0,17	0,42	3,57	66,29	20,21	6,79	0	1,09
Fem. Infl. 10:00	0	0	0	0	63,37	32,88	3,74	0	0
Masc. Infl. 11:00	5,01	0	0	0	65,94	28,97	0	0	0
Fem. Infl. 11:00	0	1,44	2,58	0	52,89	29,30	13,78	0	0
Masc. Infl. 12:00	2,38	0	4,56	6,67	62,49	17,97	6,12	0	0,53
Fem. Infl. 12:00	0	0	0	0	64,26	35,74	0	0	0
Masc. Infl. 13:00	1,59	0	0	3,02	70,27	20,13	5,00	0	0
Fem. Infl. 13:00	0	0,51	29,9	2,37	26,84	29,47	9,97	0,67	0

Para tratamento estatístico dos dados foi utilizada a análise de componentes principais (PCA) por correlação. PCA é utilizada para ordenar as amostras individuais de acordo com a composição química. A matriz consistiu de 75 constituintes dos óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia*, 07 amostras de inflorescências masculinas e 07 amostras de inflorescências femininas.

Com a finalidade de melhorar a análise eliminando a multicolinearidade entre as variáveis, a matriz foi simplificada para 09 grupos de terpenos (cromatograma da Figura 15). Com esta simplificação, apenas 3 eixos (1, 2 e 3) do PCA explicaram 69,36% da variância amostrada o que permitiu separar as plantas femininas e masculinas (Tabela 6).

Tabela 6: Distribuição de variâncias entre os eixos da Análise de Componentes Principais por correlação.

Eixo	Autovalor	Variância %	Variância cumulativa %
1	3.01252	33.47	33.47
2	2.05640	22.85	56.32
3	1.17384	13.04	69.36
4	1.03030	11.45	80.81
5	0.77324	8.59	89.40
6	0.39118	4.35	93.75
7	0.34669	3.85	97.60
8	0.13798	1.53	99.13
9	0.07785	0.87	100.00

Na Tabela 6.2 temos os eixos das matrizes dos compostos divididos em 9 grupos. No eixo 1 (autovalor 3,01/variância 33,47%, Tabela 6) temos uma ordenação promovida pelos grupos de terpenos G, B e C para as inflorescências femininas às 13:00 horas e às 11:00 horas e para as inflorescências masculinas às 9:00 horas, respectivamente (Tabela 6.1), polarizada pelos grupos F, A e E.

O eixo 2 do PCA (autovalor 2,06/variância 22,85%, Tabela 6) separa as plantas masculinas das plantas femininas quanto aos níveis de oxidação dos sesquiterpenos (Tabela 6.1) sendo as plantas masculinas caracterizadas por sesquiterpenos não oxigenados (cadinenos, germacreno-D), grupo D e as femininas por sesquiterpenos oxigenados, grupo F, tabela 6.2. Pensando em termos de polinização esta ordenação poderia implicar em pouco significado biológico ainda obscuro mas, do ponto de vista fitoquímico, ela permite separar dois grupos de compostos que informam bastante sobre a segregação enzimática entre plantas masculinas e femininas.

No eixo 3 temos uma ordenação de amostras pela classe H, polarizada pelas classes, B e I, tanto para as plantas masculinas quanto para as plantas femininas (Tabelas 7 e 8).

Tabela 6.1: Escores para os horários de coleta

Horário	Eixo 1	Horário	Eixo 2	Horário	Eixo 3	Horário	Eixo 4
Fem.13:00	3,05	Masc. 9:00	2,63	Fem.13:00	1,66	Fem. 8:00	2,33
Fem.11:00	2,32	Masc. 12:00	2,05	Fem.8:00	1,36	Masc.8:00	1,12
Masc.9:00	2,08	Masc. 13:00	1,14	Masc 12:00	1,35	Fem.12:00	0,93
Fem.8:00	1,02	Masc. 8:00	0,84	Masc 13:00	0, 92	Masc.10:00	0,35
Masc.7:00	0,86	Masc. 7:00	0,78	Masc.11:00	0,49	Fem.13:00	0,22
Masc.8:00	0,28	Masc. 11:00	0,20	Fem.9:00	0,35	Fem.10:00	0,20
Masc. 12:00	0,10	Masc. 10:00	0,08	Masc.10:00	0,32	Masc.7:00	0,09
Fem. 9:00	- 0,14	Fem.8:00	0,07	Fem. 7:00	- 0,31	Masc. 9:00	- 0,04
Masc. 10:00	- 0,52	Fem.7:00	- 0,03	Fem. 10:00	- 0,41	Masc. 11:00	- 0,02
Masc. 13:00	- 1,01	Fem. 9:00	- 0,95	Fem. 12:00	- 0,70	Fem. 7:00	- 0,37
Fem. 10:00	- 1,25	Fem. 10:00	- 1,44	Masc. 7:00	- 0,78	Masc. 13:00	- 0,90
Fem. 12:00	- 2,02	Fem. 12:00	- 1,54	Fem. 11:00	- 1,22	Masc.12:00	- 1,13
Fem. 7:00	- 2,18	Fem. 13:00	- 1,57	Masc. 9:00	- 1,33	Fem. 9:00	- 1,14
Masc. 11:00	- 2,57	Fem. 11:00	- 2,27	Masc. 8:0	- 1,70	Fem. 11:00	- 1,44

Tabela 6.2: Autovetores para os grupos de terpenos nos diferentes eixos

Eixo 1		Eixo 2		Eixo 3		Eixo 4	
G	0,473	D	0,510	H	0,523	H	0,594
B	0,461	I	0,458	A	0,335	F	0,516
C	0,421	A	0,389	C	0,293	I	0,310
D	0,276	E	0,352	D	0,276	E	0,261
H	0,253	B	0,118	G	0,152	D	0,209
I	0,223	G	- 0,054	E	0,115	B	0,074
F	- 0,028	C	- 0,103	F	- 0,114	C	- 0,175
A	- 0,174	H	- 0,120	B	- 0,432	A	- 0,192
E	- 0,407	F	- 0,462	I	- 0,464	G	- 0,317

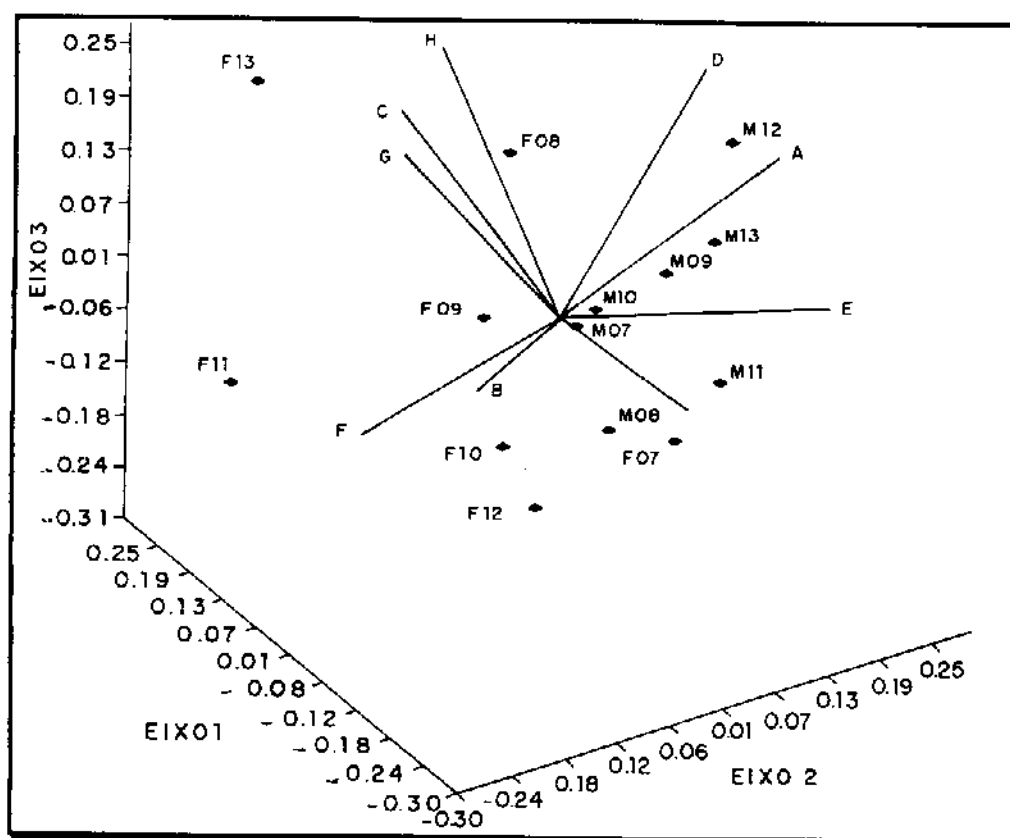


Figura 17: Diagrama de ordenação das amostras horárias de voláteis florais de *Baccharis dracunculifolia* pela Análise de Componentes Principais por Correlação, segundo os grupos de terpenos

O diagrama de ordenação praticamente reproduziu o dendograma 1 mostrando, pelo eixo 2, quase os mesmos blocos, sendo os de amostras masculinas mais coesos que os das femininas, incluindo uma única amostra de inflorescência feminina às 7:00 horas (F07) (Figura 17).

Desta PCA foi possível perceber que os grupos D e F polarizavam uma ordenação inversamente correlacionada entre flores masculinas e femininas, podendo um deles ser retirado para análises posteriores. Ao mesmo tempo, os outros 7 grupos não apresentavam o mesmo poder segregatório entre as amostras.

Restava saber se havia um padrão similar para a atividade dos visitantes florais. Foi construída uma matriz de dados binários para registrar as espécies de visitantes

observadas nos capítulos agrupando-se feminina e maculinas, nos mesmos intervalos horários em que as amostras de voláteis foram coletadas. Essa matriz foi ordenada pela Análise de Correspondência (CA) cujo diagnóstico é apresentado na Tabela 9 (Figura 18).

Tabela 7: Distribuição da Inércia segundo os eixos da Análise de Correspondência entre os visitantes florais e os horários de coleta de voláteis

Eixo	Autovalor	Inércia %	Inércia cumulativa %
1	0,40764	41,07	41,07
2	0,22872	23,04	64,11
3	0,16913	17,04	81,15
4	0,10610	10,69	91,84
5	0,04931	4,97	96,81
6	0,02324	2,34	99,15
7	0,00844	0,85	100,00

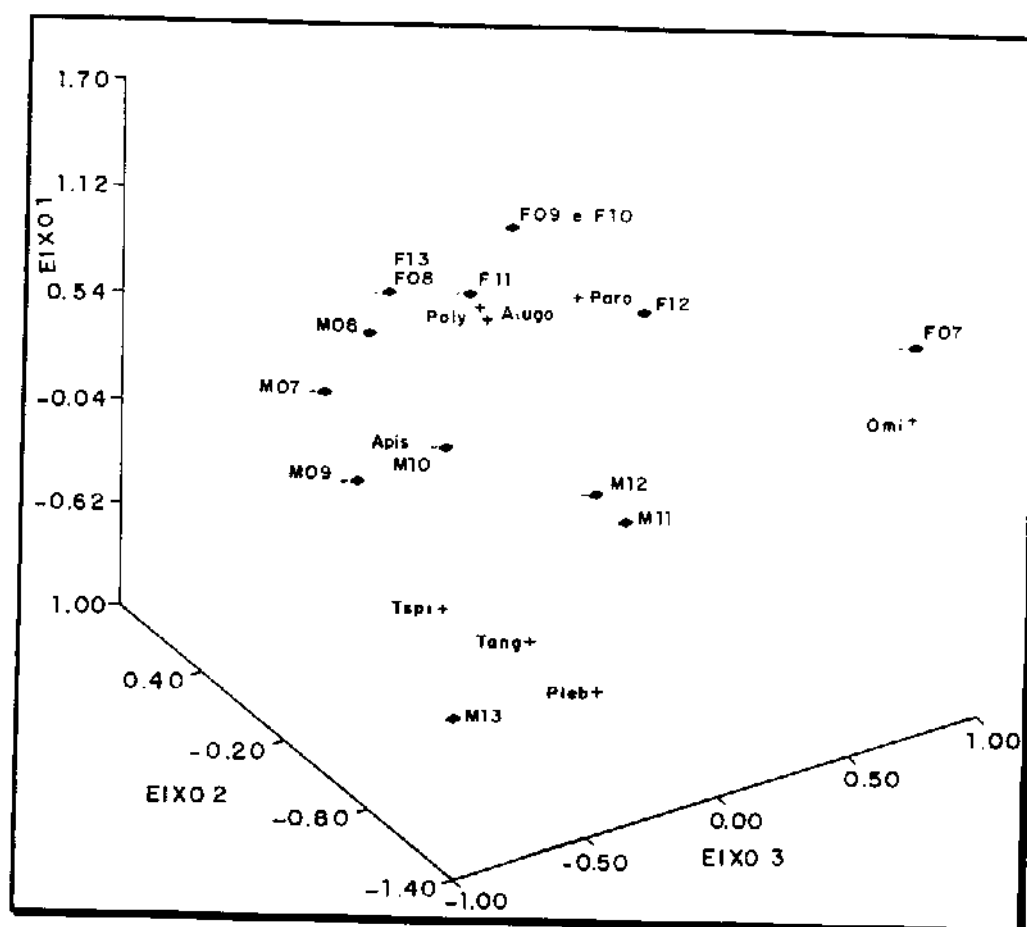


Figura 18: Diagrama de ordenação pela Análise de Correspondência entre os horários de coleta (◆) e os visitantes florais (+) dos capítulos de *B. dracunculifolia*.

T. spi = *Trigona spinipes*, T. ang = *Trigona angustula*, Pleb = *Plebeia maosquito*, Apis = *Apis mellifera*, A. augo = *Augochloropsis cupreola*, Paro = *Paroxystoglossa jocasta*, Omi = *Ornidea obesa*, Poly = *Polystes suberosa*

Tabela 8: Escores para os horários de observação de visitas dos capítulos de *B. dracunculifolia*, ordenados segundo os eixos da Análise de Correspondência (CA)

Horário	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5
M 07	0,6174	-0,1441	-0,8416	-0,5397	-0,4873
F 07	0,9079	-1,3500	0,7363	-0,4600	0,2382
M 08	0,4744	0,3130	-0,4292	-0,4104	-0,0997
F 08	1,5606	-0,7477	-0,9320	0,4580	0,1182
M 09	-0,4889	0,5194	-0,3560	-0,5953	0,6095
F 09	0,6655	0,5125	0,2117	0,4885	0,0618
M 10	-0,1700	0,1900	-0,1987	0,1854	0,1759
F 10	0,6655	0,5125	0,2117	0,4885	0,0618
M 11	-0,5717	-0,1875	0,2929	0,0575	-0,0387
F 11	0,0366	0,9149	0,2720	-0,1767	-0,3419
M 12	-0,3052	-0,2575	0,1398	0,1076	-0,0191
F 12	0,3851	0,0089	0,4577	-0,2900	-0,1099
M 13	-1,1733	-0,4113	-0,4803	0,1933	-0,1740
F 13	1,5606	-0,7477	-0,9320	0,4580	0,1182

Tabela 9: Escores para os visitantes florais dos capítulos de *B. dracunculifolia*, ordenados segundo os eixos da Análise de Correspondência

Espécies	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Eixo 4	Eixo 5
Apis	-0,2081	0,2197	-0,3089	-0,5008	-0,2427
T. angustula.	-0,8694	-0,3483	-0,1497	0,4174	-0,0628
T. spinipes	-0,8486	-0,0614	-0,2929	-0,0316	0,4987
Plebeia	-1,0704	-0,5968	-0,0386	0,3668	-0,3478
mosquito					
Aug. cupreola	0,1203	0,5869	0,1626	-0,0494	0,1500
Par. jocasta	0,1579	0,5059	0,4818	0,3776	-0,1351
Poly. suberosa	0,9964	-0,3576	-0,3833	0,1492	0,0263
Ornidea obesa	0,1630	-0,9336	0,9889	-0,4489	0,0796

A ordenação por CA demonstrou que as abelhas sociais nativas *Trigona spinipes*, *Trigona angustula* e *Plebéia mosquito*, tendem a se concentrar entre as flores masculinas, independentemente do horário de observação, Figura 18. As abelhas solitárias, a partir do momento em que estão ativas, não apresentam o mesmo tipo de associação. A mosca *Ornidia obesa* e a vespa *Polystes suberosa* mostraram menos restrição à associação com os diferentes horários de visitas às flores masculinas e femininas, assim como *Apis mellifera*, uma abelha social introduzida no Brasil.

Para testar se a matriz de visitantes florais que produziu esta ordenação pela CA era consequente à produção de voláteis florais, ela foi ordenada pela Análise de Correspondência Canônica (CCA), utilizando a matriz dos 9 grupos de terpenos como variáveis ambientais, sendo excluídas as espécies de formiga, porque apresentaram variação quanto às visitas (Tabelas 8 e 9).

A análise realizada com todos os 9 grupos foi submetida ao teste de múltiplas permutações de Monte Carlo, não sendo significativa nem para os resíduos ($F = 1,66$, $P > 0,05$) e nem para o 1º eixo canônico ($F = 2,17$, $P > 0,05$). Cada grupo, como variável, foi testado separadamente em regressões lineares com a matriz de visitantes. As proporções da variância explicada pelas variáveis, juntamente com os respectivos níveis de significância, são apresentadas na Tabela 10, juntamente com as das posteriores regressões lineares múltiplas, realizadas para selecionar as que mais efetivamente contribuíam para explicar a variância das matrizes.

Tabela 10: Variância explicada pelos grupos de terpenos em regressões lineares múltiplas sobre a matriz de visitantes florais, e seus respectivos níveis de significância

Modelo de Regressão Linear Múltipla				
Grupos	Saturado	A B H		
	% Var.	<i>P</i>	% Var.	<i>P</i>
A	0,24	0,01	0,24	0,01
B	0,12	0,04	0,12	0,04
I	0,03	0,95	0,01	0,95
D	0,03	0,48	0,05	0,48
E	0,06	0,26	0,06	0,26
F	0,08	0,57	0,04	0,57
G	0,05	0,41	0,06	0,41
H	0,14	0,04	0,14	0,04
I	0,05	0,38	0,05	0,38
Σ Variância	0,78		0,50	
<i>P</i> _{res}	0,16		0,01	
<i>P</i> _{eixo 1}	0,78		0,01	

p = níveis de significância

A construção de um modelo para regressão linear múltipla, com a adição dos grupos A ($P = 0,01$), H ($P = 0,04$) e B ($P = 0,04$) possibilitou realizar uma CCA altamente significativa para o teste de Monte Carlo realizado tanto para o resíduo, como para o 1º eixo canônico, garantindo a relação causal entre grupos de terpenos e os visitantes florais.

Qualquer tentativa de adicionar novos grupos de terpenos não foi significativa para a regressão, como também houve oscilação entre uma análise e outra. Ao contrário do que aparenta, os 50% de variância associada aos 3 grupos são bastante satisfatórios pois, as matrizes espécies baseadas em presença/ausência (Tabela 10), como a de visitantes florais utilizada, tendem a produzir baixos níveis de explanação frente aos testes com variáveis ambientais²⁵, não podendo também desconsiderar o

ruido que é comum a dados ecológicos. terBraak²⁶ apresentou ordenações informativas com níveis exploratórios similares aos que nós encontramos.

Tabela 11: Matriz das espécies de insetos baseada na presença/ausência nas espécimens masculinas e femininas de *B. dracunculifolia* nos diferentes horários de visitas

Horário	Apis	T. ang.	T. spi.	Pleb.	Augo.	Paro.	Poly.	Orni.
M 07	1	0	0	0	0	0	1	0
F 07	0	0	0	0	0	0	1	1
M 08	1	0	0	0	1	0	1	0
F 08	0	0	0	0	0	0	1	0
M 09	1	0	1	0	1	0	0	0
F 09	0	0	0	0	1	1	1	0
M 10	1	1	1	0	1	1	1	0
F 10	0	0	0	0	1	1	1	0
M 11	1	1	1	1	1	1	0	1
F 11	1	0	0	0	1	1	0	0
M 12	1	1	1	1	1	1	1	1
F 12	1	0	0	0	1	1	1	1
M 13	1	1	1	1	0	0	0	0
F 13	0	0	0	0	0	0	1	0

A análise do diagrama de ordenação mostra que a atividade das abelhas sociais nativas, ou seja, *Plebeia mosquito*, *Trigona angustula* e *Trigona spinipes*, está significativamente relacionada aos compostos do grupo A, constituído predominantemente por monoterpenos do tipo hidrocarboneto, ao mesmo tempo em que, tanto esses compostos como as espécies relacionadas, concentrariam seu forrageio apenas em capítulos masculinos entre 11:00-13:00 horas. Por isto, não contribuem para a polinização (Figuras 19 e 20).

A abelha social introduzida *Apis mellifera*, bem como as solitárias nativas *Augochoropsis cupreola* e *Paroxystoglossa jocasta*, tem sua atividade relacionada

ao grupo B, constituído por álcoois e cetonas monoterpênicos. Os compostos deste grupo são importantes sinalizadores, que contribuem significativamente para a polinização, pois distribuem a atividade das abelhas entre plantas masculinas nos horários das 7:00 às 10:00 horas, e femininas às 7:00 horas, mas, principalmente, das 10:00 às 12:00 horas.

Ornídia obesa tem uma resposta mais ampla aos compostos dos três grupos, A, B e H, frequentando tanto flores masculinas como femininas. É um visitante menos frequente do que as abelhas, mas eficiente polinizador. São bem menos frequentes as visitas de *Polystes suberosa*, uma vespa cuja atividade é ligada aos compostos do grupo H, que são sesquiterpenos dioxigenados, visitando principalmente plantas femininas entre 7:00 e 12:00 horas e masculinas apenas às 13:00 horas, o que reduz sua eficiência como polinizador.

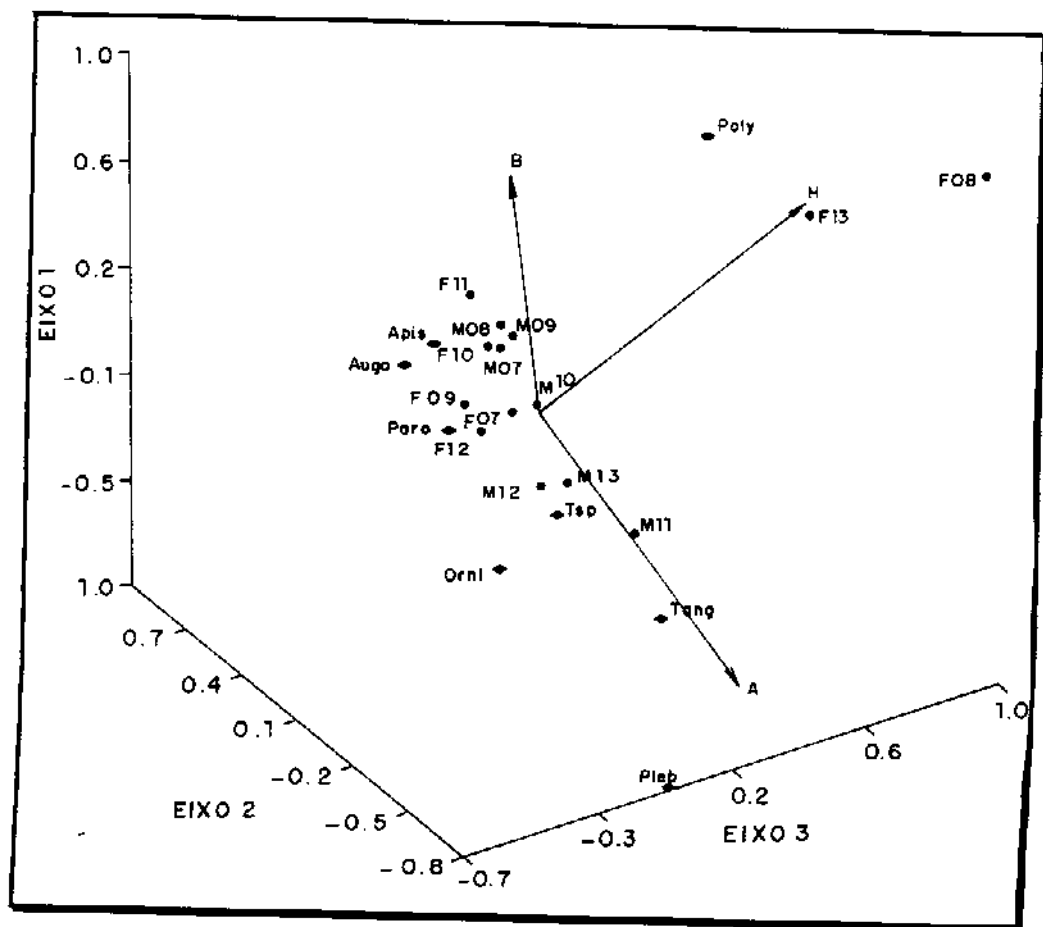


Figura19: Diagrama de Ordenação da Análise de Correspondência Canônica (CCA) entre os grupos de terpenos (→), os visitantes florais (◆) e os horários de coletas dos capítulos (•) de *Baccharis dracunculifolia*

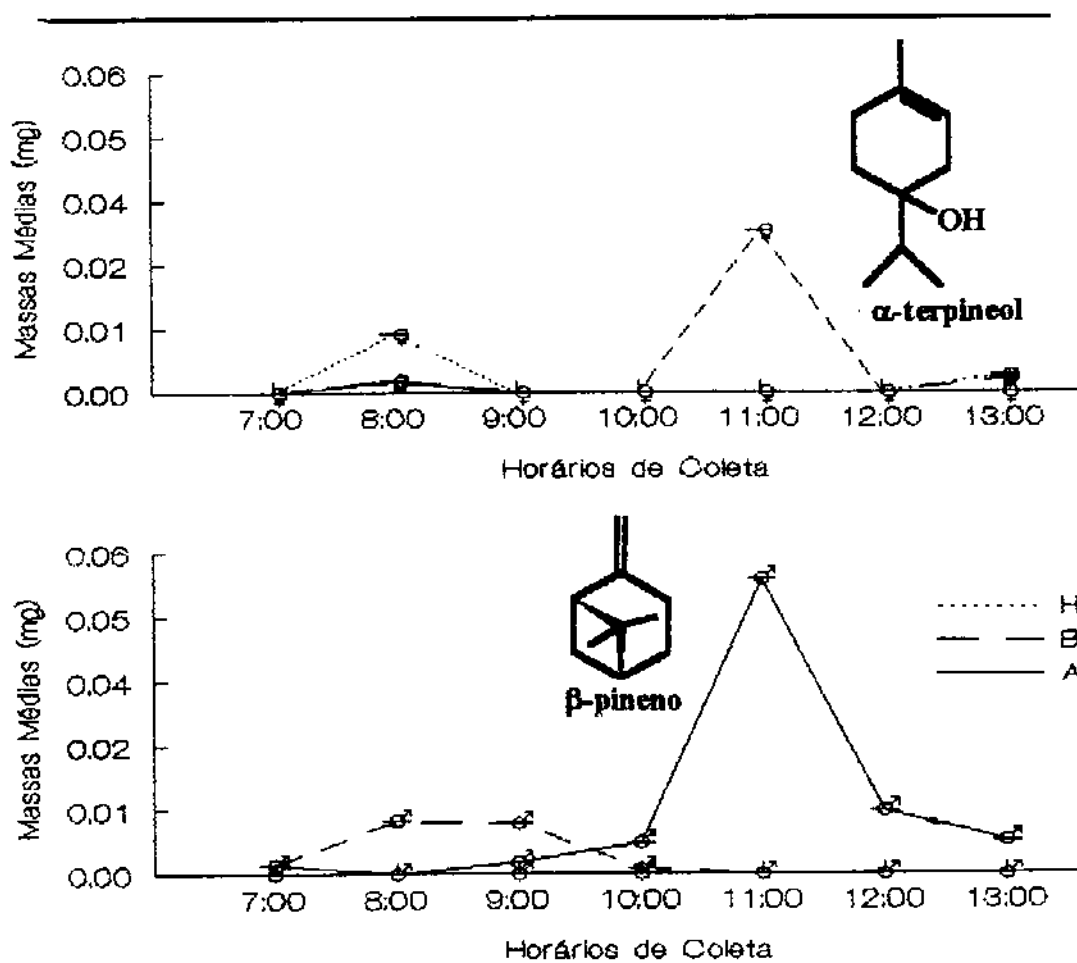


Figura 20: Variação horária dos grupos de terpenos ligados à atividade dos visitantes florais em inflorescências femininas e masculinas

Conclusão

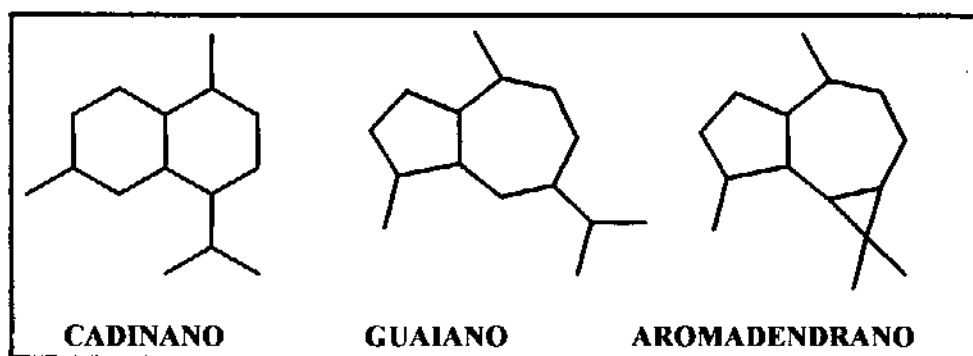
No estudo da biologia de polinização da *Baccharis dracunculifolia* com os insetos visitantes verificamos que a abelha social *Apis mellifera* e as abelhas solitárias *Augochoropsis cupreola* e *Paroxystoglossa jocasta* tem suas atividades relacionadas ao grupo de terpenos constituído por álcoois e cetonas monoterpênicos.

Os compostos deste grupo são importantes sinalizadores para a polinização pois distribuem a atividade das abelhas entre plantas masculinas nos horários das 7:00 às 10:00 horas e plantas femininas das 10:00 às 12:00 horas. As abelhas são atraídas primeiramente pelas plantas masculinas e depois são dirigidas para as plantas femininas.

Ornidea obesa tem resposta aos compostos monoterpênicos dos grupos A e B e aos compostos sesquiterpênicos dioxigenados do grupo H, visitando tanto as flores masculinas como as femininas. *Ornidea obesa* é um visitante menos frequente mas um eficiente polinizador.

SÍNTESE DE PADRÕES

No decorrer da análise dos componentes do óleo essencial das diversas espécies de *Baccharis* ficou evidente que muitos dos componentes eram álcoois sesquiterpênicos pertencentes à classe dos cadinanos (biciclo [4.4.0] decano), guaianos (biciclo [5.3.0] decano), e à classe dos aromadendranos (triciclo [6.3.0.0^{2,4}] undecano), os quais não puderam ser facilmente identificados devido à dificuldade de distinguir estas classes de sesquiterpenos por espectrometria de massas, pois apresentam fragmentos de igual relação massa/carga e abundância relativa,²⁷ conforme Figura 21.



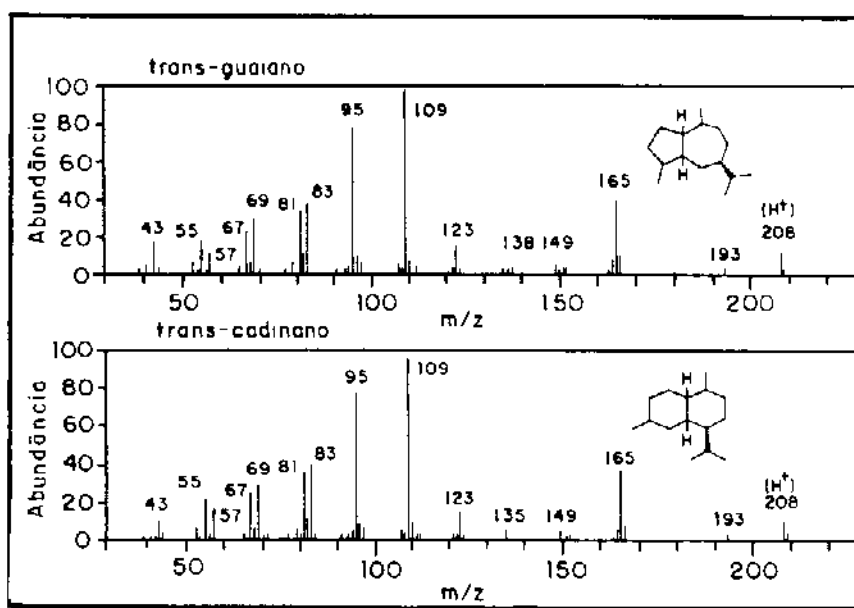
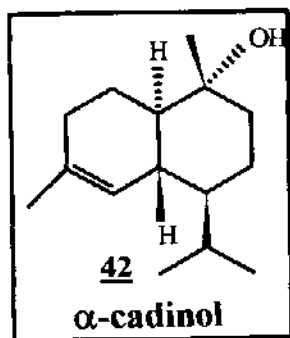


Figura 21: Espectro de massas das classes dos sesquiterpenos guaiânicos e cadinânicos

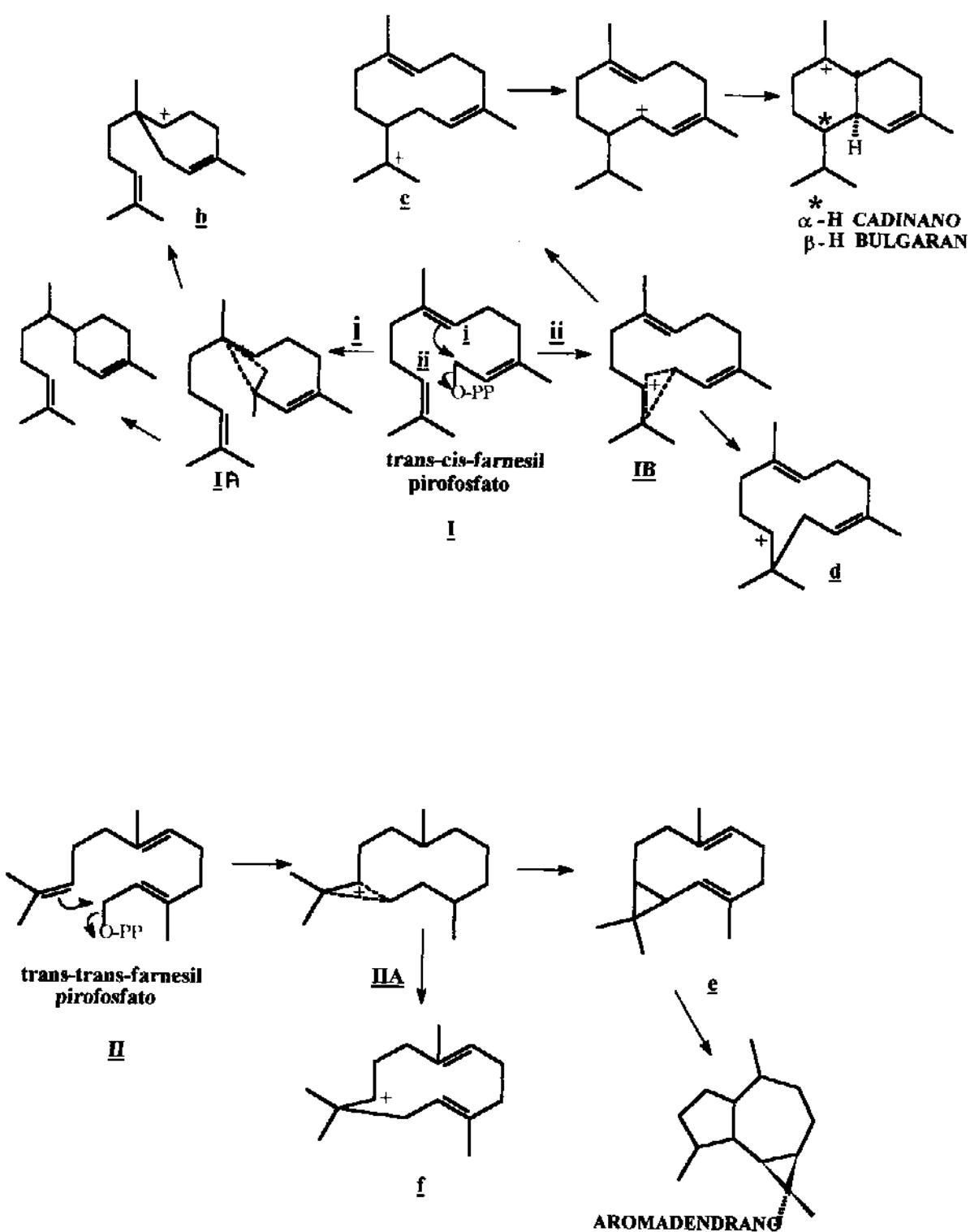
Estes fatos mostraram que para a análise dos componentes minoritários dos óleos essenciais através da análise convencional por CG/EM, era necessário o uso de padrões e índices de retenção, recursos estes limitados pela falta de padrões e poucos dados na literatura para os diversos isômeros possíveis.

Nos trabalhos desenvolvidos anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa, sobre óleos essenciais de *Baccharis*, foram detectados vários sesquiterpenos oxigenados com espectros de massas compatíveis com os derivados de álcoois sesquiterpênicos dos esqueletos cadinanos, guaianos e aromadendranos. A presença de alguns derivados possuindo esqueleto aromadendrano foi confirmada utilizando padrões sintéticos, isolados e comerciais^{6, 11}. O isolamento do α -cadinol **42** de *B. dracunculifolia* foi tomado como indicativo da presença de outros derivados nos óleos essenciais de diversas espécies de *Baccharis*^{28, 17}.



Assim sendo nós nos propuzemos a sintetizar diversos derivados aromadendrânicos¹⁷ e cadinânicos²⁹ oxigenados, para a obtenção de padrões variados que permitiriam a detecção de traços destes compostos em *Baccharis*. Para auxiliar na sugestão dos padrões a serem obtidos analisamos os sesquiterpenos identificados nos óleos essenciais da *Baccharis platipoda* (compostos **41**, **45** e **46**), *B. tridentata* (compostos **41a** e **46**) e na *B. myriocephala* (composto **41a**) e, com base na rota biogenética dos sesquiterpenos nos propuzemos sintetizar derivados de álcoois e cetonas relacionados a estes esqueletos e que não possuíam referência na literatura.

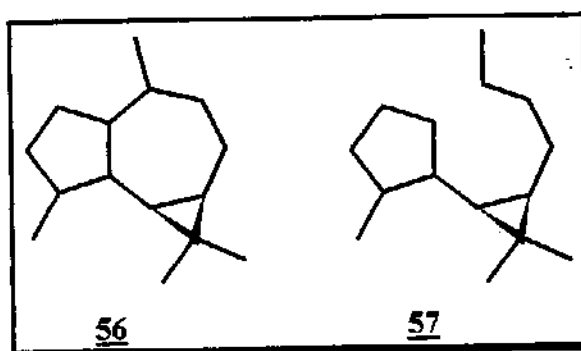
Na rota biossintética os sesquiterpenos são derivados tanto do *trans-cis*-farnesil-pirofosfato **I**, como de seu isômero *trans-trans*-farnesil-pirofosfato **II**³⁰. Ciclizações e rearranjos desses precursores, envolvendo a remoção do grupo pirofosfato com a participação da dupla ligação central ou terminal, origina os íons carbocátions **a**, **b**, **c**, **d**, **e** e **f** via os íons não clássicos **IA**, **IB** e **IIA**, conforme esquema 1³⁰⁻³².



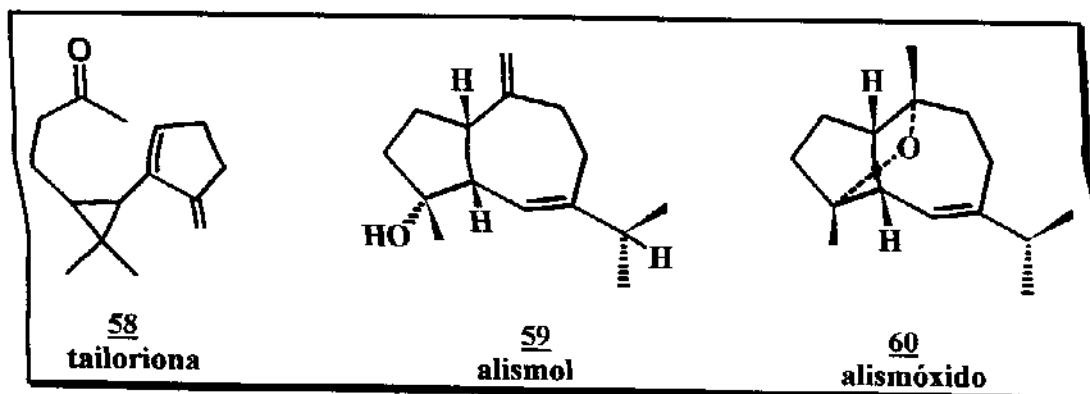
Esquema 1: Origem biogenética dos compostos sesquiterpenóides

Os intermediários de carga positiva a-f podem ser estabilizados pela eliminação de um próton ou por reação com outra molécula de água dando origem a diferentes esqueletos sesquiterpenóides³¹.

Esta rota segue, além das ciclizações e rearranjos, para oxidações de duplas ligações chegando a clivagens oxidativas. Um exemplo deste tipo é encontrado nos líquens, onde os aromadendranos 56 sofrem clivagem do anel de 7 membros formando derivados do tipo seco-aromadendranos 57.



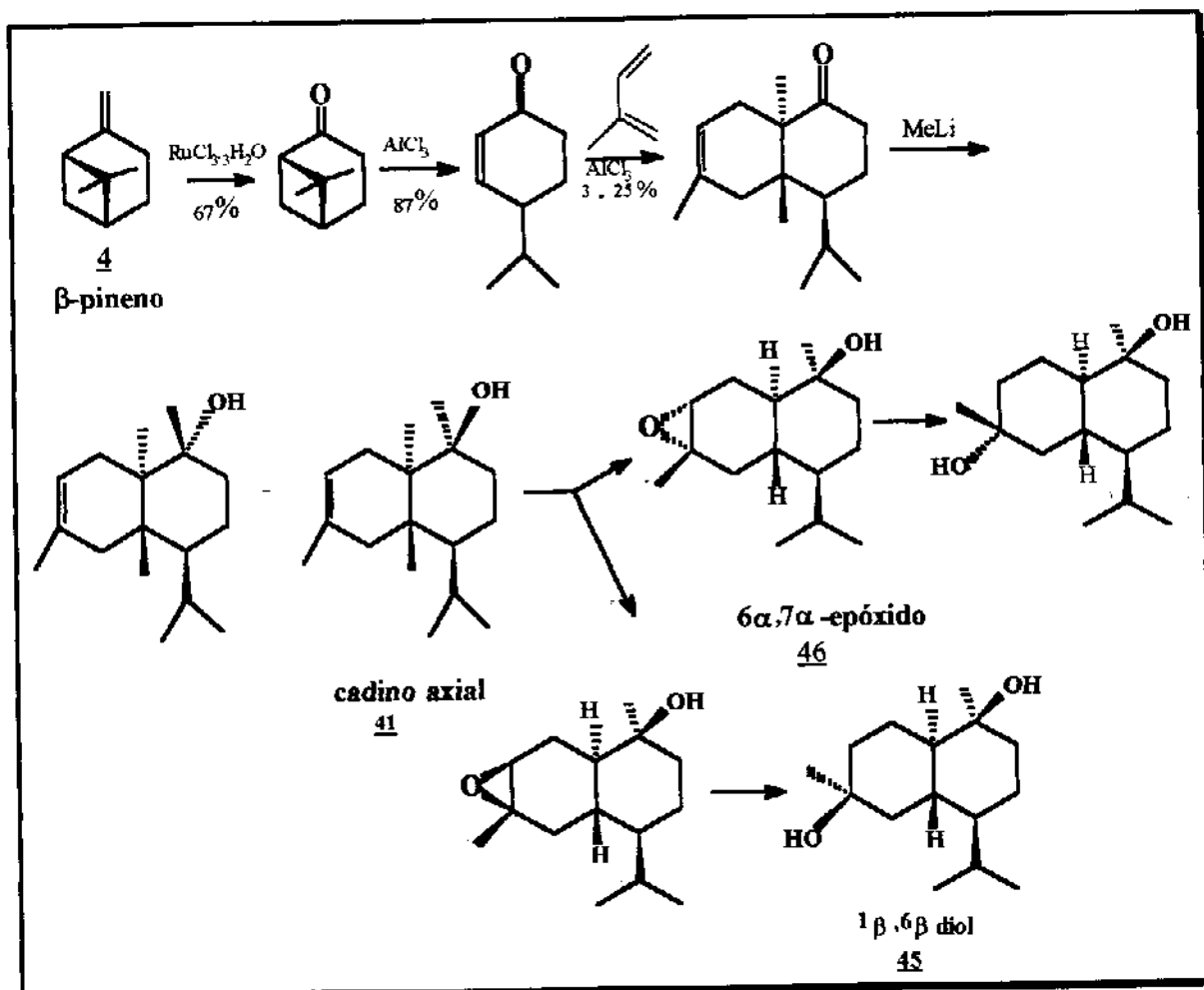
Vários compostos sesquiterpenóides têm sido isolados a partir de líquens (Hepaticae), sendo que todos os constituintes são enantiômeros dos obtidos de plantas superiores^{32, 33}. *Mytilia taylorii* (Hock) encontrada nos Alpes da Bavária é uma fonte rica em derivados do aromadendrano, como exemplo temos a tailoriona 58³⁴⁻³⁶. Os compostos alismol 59 e alismoxido 60, isolados de *Alisma plantago-aquatica* var. *orientale* (Alismataceae)³⁷, pertencem à classe dos guaianos.



Considerando que os aromadendranos e cadinanos são compostos encontrados em óleos essenciais e, que em nosso grupo foram detectados e isolados vários compostos dessa classe em óleos essenciais de *Baccharis*, estamos interessados em sintetizar sesquiterpenos nos quais a oxidação da dupla ligação de derivados de aromadendreno e cadineno dariam origem a derivados de álcoois, cetonas e sesquiterpenos clivados oxidativamente.

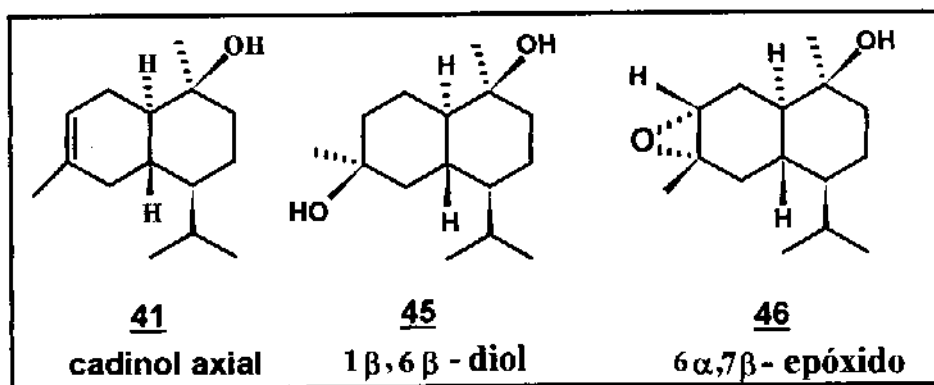
Identificação de derivados cadinânicos em *Baccharis*

Diversos derivados cadinânicos foram obtidos na tese da Dra. Carmen Lucia Queiroga, segundo a rota sintética indicada abaixo²⁹. Os padrões obtidos foram devidamente caracterizados e detalhes da síntese poderão ser obtidos na referida tese.



Esquema 2: Síntese de derivados cadinânicos oxigenados a partir de β -pineno **4**

Os padrões sintéticos foram por nós comparados aos constituintes dos óleos essenciais das 7 espécies de *Baccharis* estudadas (*B. caprariaefolia* feminina e masculina, *B. dracunculifolia*, masculina e feminina, *B. erioclada*, masculina e feminina, *B. myriocephala*, *B. platipoda*, *B. tridentata* e *B. vincaefolia*).



A presença destes compostos nos óleos foi confirmada através da coinjeção utilizando CG e CG/EM. Comparando-se os espectros de massas dos componentes com os dos padrões, confirmamos a presença do cadinol axial 41 na *B. platipoda*, o 6α, 7α-epóxido 46 nas *B. platipoda* e *B. tridentata* e o 1β, 6β-diol 45 na *B. platipoda*. Esses três cadinois são inéditos como produtos naturais.

Durante o processo de identificação dos três compostos, na *B. myriocephala* e *B. tridentata* foi identificado outro derivado cadinânico, o composto 41a, com fragmentação semelhante ao cadinol axial 41 mas com índice de retenção menor (Figura 22).

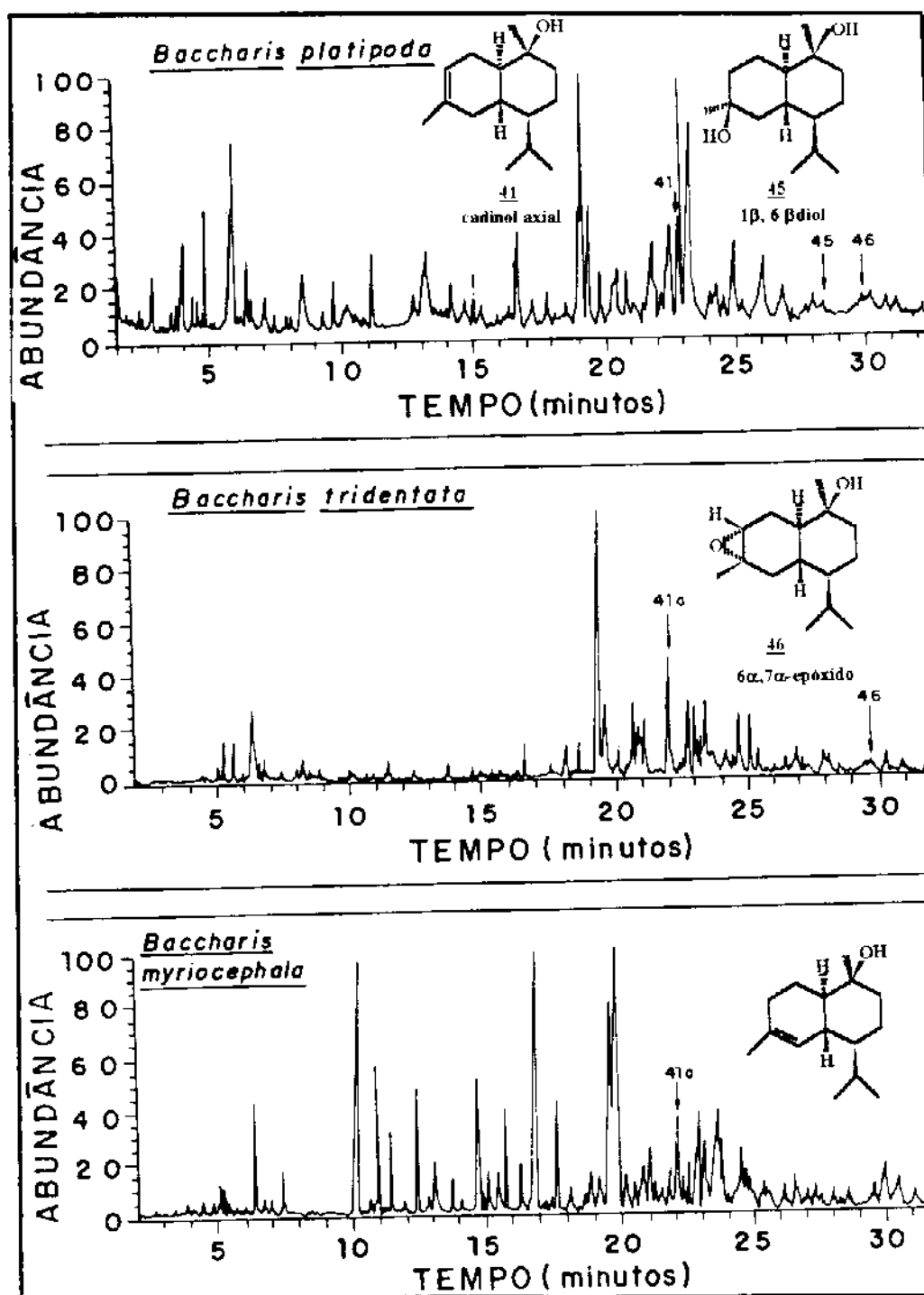
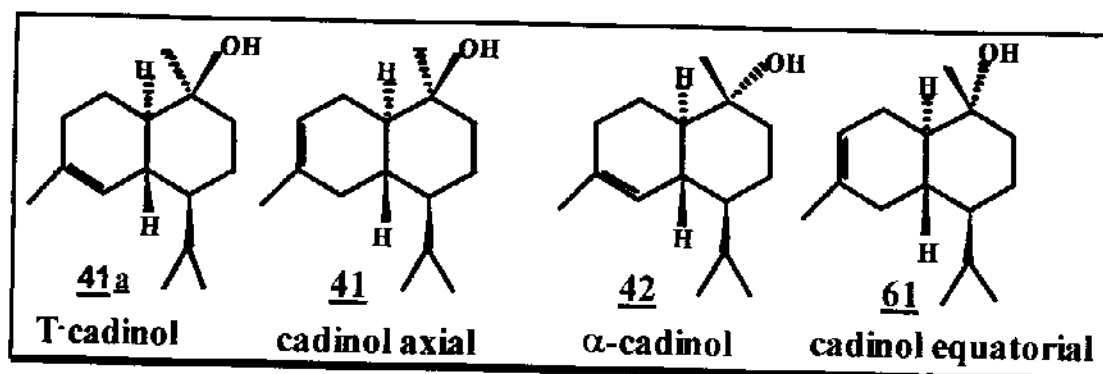


Figura 22: Cromatograma da *B. platipoda*, *B. tridentata* e *B. myriocephala* e localização dos compostos identificados

Com base nas diferenças de IR e nas fragmentações do **41** e do **41a**, as quais são compatíveis com as do cadinol equatorial **61** e do α -cadinol **42**, sugerimos a estrutura **41a** para o composto com IR=1675.



Um levantamento dos cadinois relatados na literatura indicou, que a estrutura **41a** corresponde ao T-cadinol^{38, 39} (Figura 23).

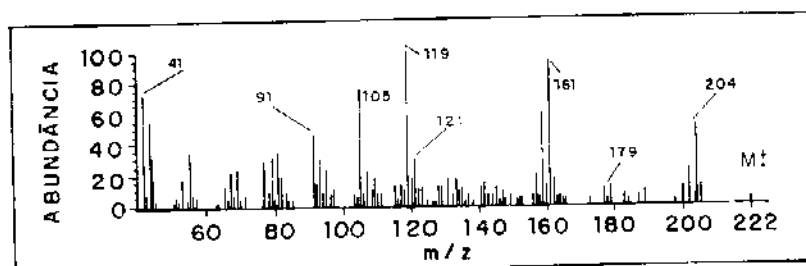
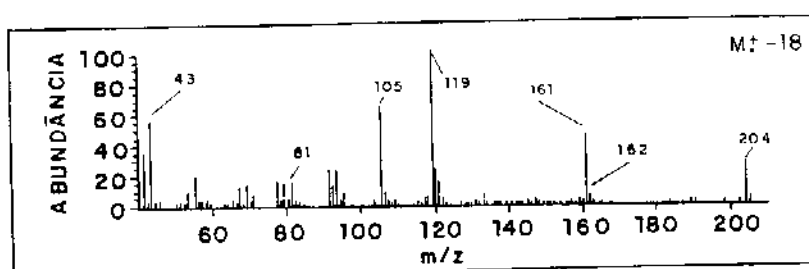
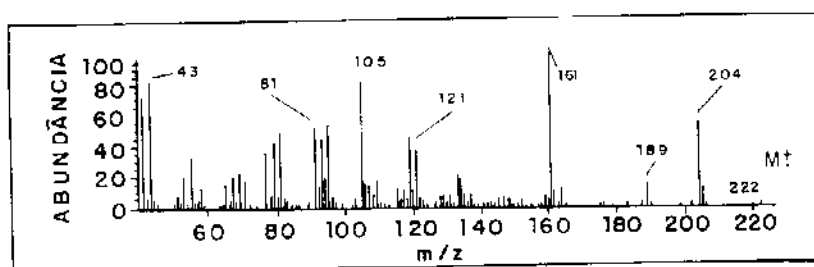
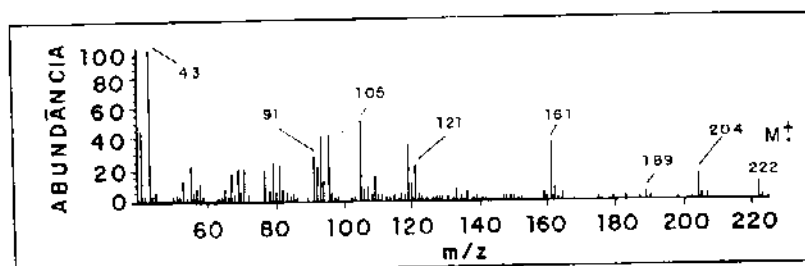
EM do T-cadinol 41a no óleoEM do cadinol axial 41 puroEM do α -cadinol 42 no óleoEM do cadinol equatorial 61 puro

Figura 23: Espectros de massas dos padrões sintéticos e isolados

Entretanto, ao compararmos o espectro de massas do composto **41a** com o espectro de massas do T-cadinol da literatura^{38, 39}, reconstituído a partir dos fragmentos e de suas respectivas abundâncias relativas e do espectro de massas do T-cadinol da biblioteca Wiley de padrões⁴⁰, notamos uma discrepância significativa na abundância relativa dos fragmentos m/z 105 e m/z 119 (Figura 24).

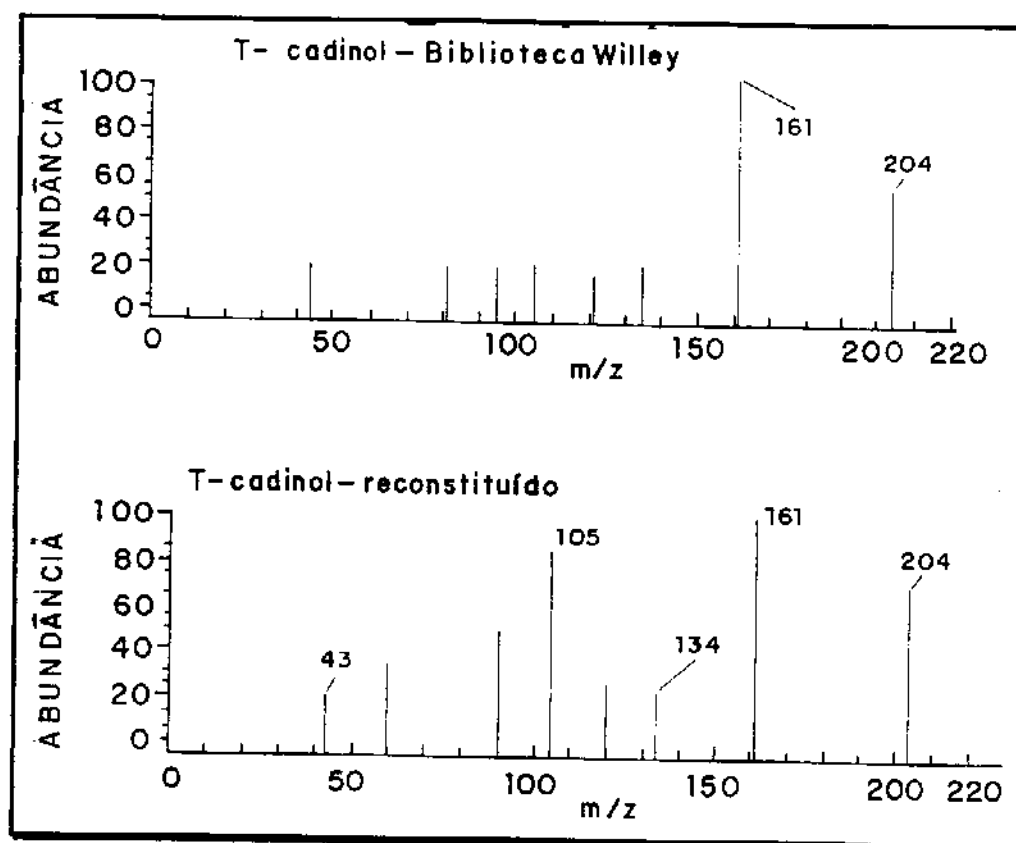


Figura 24: Espectros de massas do T-cadinol encontrados na literatura

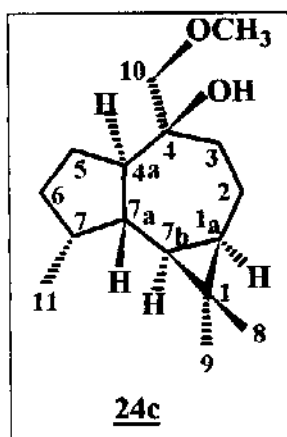
Mesmo levando em consideração que variações desse tipo podem ocorrer quando os espectros de uma mesma substância são obtidos em diferentes espectrômetros, consideramos apropriado sintetizar **41a** para confirmar a sua estrutura. O trabalho de síntese será realizado posteriormente

Os compostos identificados até o presente momento podem ser agrupados em poucos esqueletos básicos (aromadendranos, guaianos, cadinanos, cubebanos e cedranos), variando unicamente a estereoquímica e os grupos funcionais.

Como pode ser verificado nas tabela 1 e tabela 2, 20 a 40% dos componentes presentes nos óleos analisados não foram identificados por falta de dados na literatura e de padrões adequados. Uma boa parte destes compostos forneceram íons moleculares M^+ em m/z 220, 222, 234, 252 e 264 que poderiam estar relacionados a sesquiterpenos oxigenados. Entretanto a identificação dos mesmos foi, na maioria dos casos, dificultada pela ausência de picos bases característicos de classes definidas de sesquiterpenos. Em trabalhos anteriores no grupo, a obtenção de derivados oxigenados a partir de hidrocarbonetos sesquiterpênicos se revelou eficiente na descoberta de compostos inéditos e confirmou a presença de outros sesquiterpenóides cuja identificação poderia ter sido errônea sem a disponibilidade de padrões²⁹.

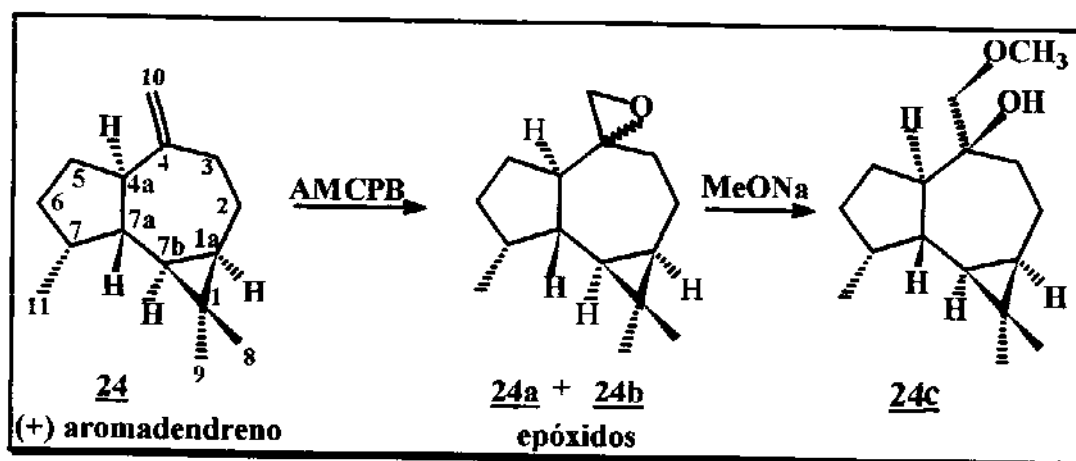
Dentro desse contexto, nós nos propuzemos sintetizar derivados de álcoois e cetonas relacionados a estes esqueletos e que não possuíam referência na literatura.

Obtenção do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano 24c⁴¹



Nos espectros de massas dos óleos *B. dracunculifolia*, *B. caprariaefolia*, *B. tridentata* e *B. vincaefolia*, foram detectados compostos com índice de retenção apropriado para sesquiterpenos dioxigenados, cuja fragmentação não apresentava picos base característicos de esqueletos sesquiterpênicos conhecidos.

Dessa forma propuzemos a obtenção do padrão **24c** segundo o esquema 3.



Esquema 3: Obtenção do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** a partir do aromadendrano **24**

A epoxidação⁴¹ do (+) aromadendreno **24** foi realizada a partir do padrão comercial e forneceu uma mistura de dois epóxidos **24a** e **24b**, com rendimento de 15%. Os dados físicos^{17, 42} e as atribuições de RMN¹H^{17, 42} e de RMN¹³C^{17, 43} desse padrão foram baseadas nas atribuições obtidas anteriormente.

O (+) aromadendreno **24** apresenta-se como um óleo incolor. O espectro de I.V. apresenta banda de estiramento de grupo C=C em 1635 cm⁻¹ e banda de deformação angular fora do plano em 890 cm⁻¹ característica de ligação olefínica terminal (C=CH₂)⁴².

A formação dos epóxidos foi evidenciada pelos espectros de massas (EM-2a e EM-2b) que apresentaram íons moleculares em m/z 220 e fragmentações em m/z 205 (M-15), 177 (M-43) e pico base em m/z 41.

O 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** foi obtido através do tratamento dos epóxidos com MeONa em metanol anidro, sem prévia separação. Somente um dos epímeros em C₄ foi isolado (Figura 25).

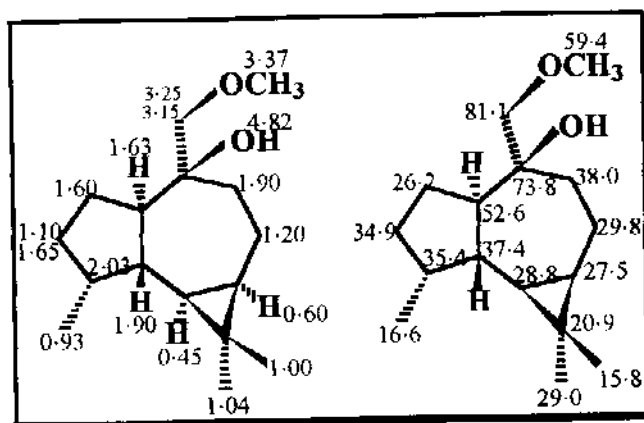
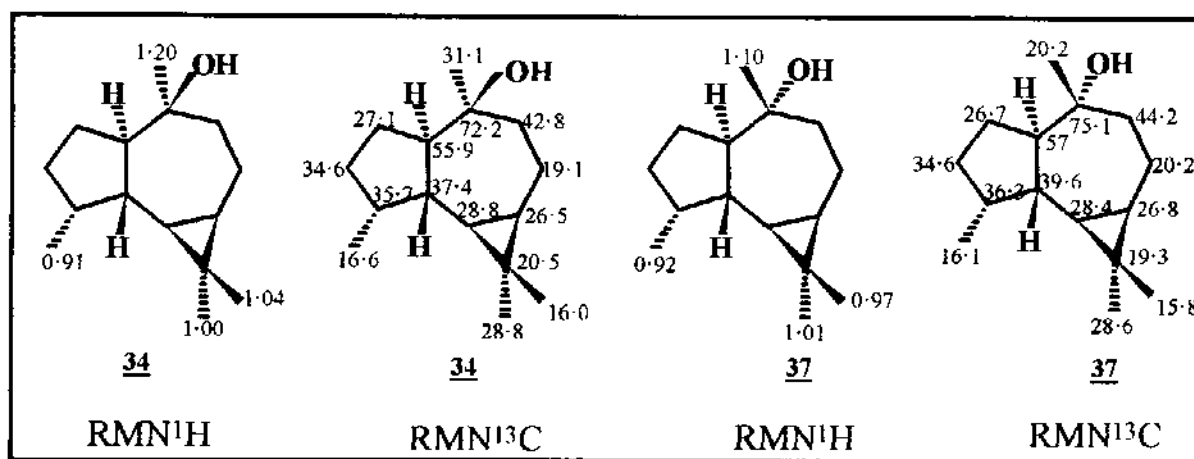


Figura 25: Deslocamentos químicos de ¹H e de ¹³C para o 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**

O espectro de RMN¹H (E R¹H-2) apresentou dois singletos em 1,04 ppm e 1,00 ppm atribuídos aos prótons das metilas C₈ e C₉, onde pudemos observar um efeito de desproteção $\Delta\delta$ 0,04 ppm entre os dois grupos, fato característico para aromadendranos com hidroxila em C₄ em posição β . Fato análogo ocorre no epi-globulol **34**. A diferença observada no deslocamento de ¹³C é mais relevante onde podemos observar que com OH em C₄ na posição α o deslocamento é de 75,1 ppm para o globulol **37** e na posição β o deslocamento é de 72,2 ppm para o epi-globulol **34**. No nosso caso o deslocamento é de 73,8 ppm devido a presença do grupo OCH₃. Os singletos em 3,37 e 4,82 ppm atribuídos aos grupos OCH₃ e OH, respectivamente.



Deslocamentos químicos de ^1H e de ^{13}C para o epi-globulol **34** e globulol **37**

As atribuições dos deslocamentos químicos de ^1H e de ^{13}C para o 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** foram feitas com base nos deslocamentos de carbonos análogos do globulol **37** e epi-globulol **34** e nas correlações espectroscópicas unidimensionais RMN ^1H e RMN ^{13}C e bidimensional homonuclear (H, H) COSY (E COSY-1) e heteronuclear (H, C) (E HETCOR-1).

No espectro de RMN ^{13}C (E R ^{13}C -2) foram atribuídos em 73,8, 81,1 e 59,4 ppm os carbonos C $_4$, C $_{10}$ e o grupo OCH $_3$, respectivamente.

O espectro de IV (E IV-2) apresentou uma banda larga em 3444,6 cm $^{-1}$, característica do grupo -OH, e uma banda em 1113 cm $^{-1}$, característica do grupo C-O-C. Na figura 26 temos a conformação mais estável do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** calculada através de métodos empíricos MM2.

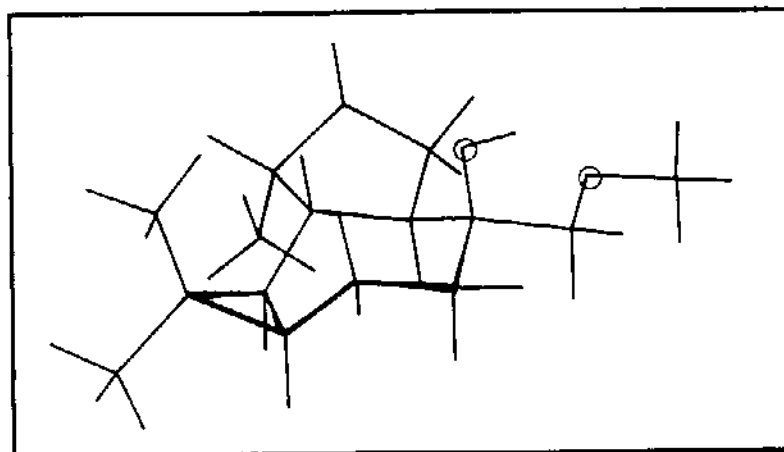


Figura 26: Conformação mais estável do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** obtida por cálculos empíricos MM-2

O espectro de massas (EM-3) apresentou íon molecular em m/z 252 (2%) e fragmentações em m/z 234 (5%) que equivale a perda de H_2O , m/z 207 (100%) correspondente à perda de CH_2OCH_3 e fragmento em m/z 189 (90%) correspondente à perda de CH_2OCH_3 a partir do íon m/z 234.

O composto 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** foi coinjetado com o óleo essencial da *B. dracunculifolia*, apresentando $IR = 1759$. A região de $IR = 1750$ à 1760 de todos os óleos essenciais estudados, foi detalhadamente investigada, comparando todos os espectros de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis*. Os óleos essenciais de *B. caprariaefolia* (masculina/feminina) e *B. tridentata* apresentaram compostos cujos espectros de massas apresentavam fragmentos em m/z 252 e 234, respectivamente, porém os espectros de massas e os índices de retenção não foram coincidentes com os do composto 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** (Figura 27).

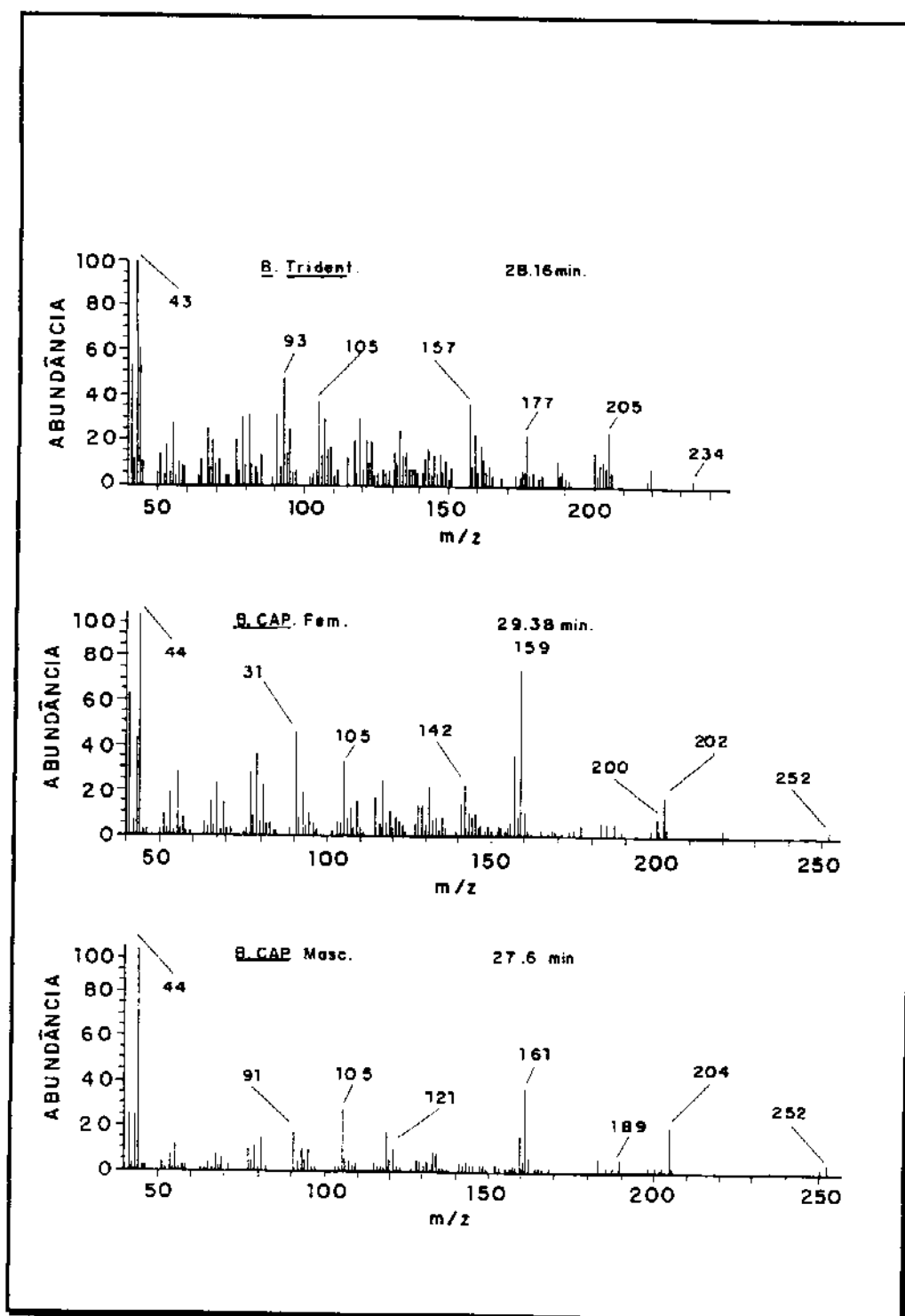
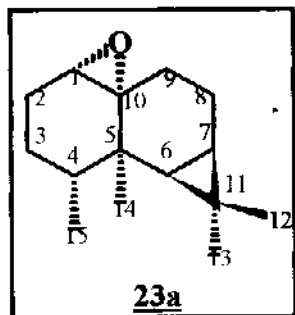


Figura 27: Espectros de massas dos compostos da *B. tridentata* e *B. caprariaefolia*

Obtenção do epóxi-calareno **23a**



A obtenção do epóxi-calareno **23a** foi obtida a partir do (+) calareno **23** comercial. O produto bruto da epoxidação após purificação em CC de sílica gel nos forneceu o epóxi-calareno **23a** com 19% de rendimento. A formação preferencial de um dos epóxidos pode ter ocorrido devido ao maior impedimento epacial da face β . Neste caso é permitido sugerir que o epóxido é α pois uma análise dos modelos moleculares permite visualizar que a metila axial na posição C₅ provoca menos impedimento epacial do que o grupo metila C₁₂ (Figura 28).

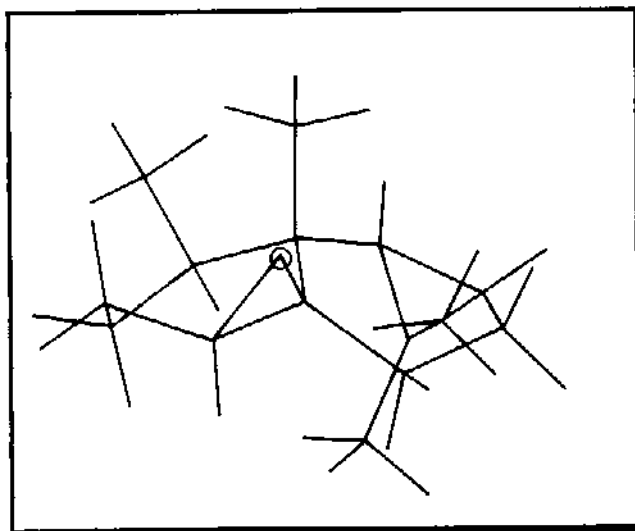


Figura 28: Conformação mais estável do epóxi-calareno **23a** obtida por cálculos empíricos MM-2

Com a finalidade de tirar algumas dúvidas com relação aos dados da literatura foram feitas as atribuições dos deslocamentos químicos de próton ($E R^1H-3$) e de carbono-13 ($E R^{13}C-3$) para o calareno **23** com base nas análises espectroscópicas unidimensionais (Figura 29). O espectro de RMN 1H ($E R^1H-3$) para o calareno **23** apresentou singletos em 0,97, 1,02 e 1,08 ppm atribuídos aos prótons das metilas C_{14} , C_{13} e C_{12} , respectivamente e um dubleto em 0,99 ppm característico dos prótons da metila C_{15} . O duplo dubleto em 5,25 ppm é característico do próton olefinico H_1 .

No espectro de RMN ^{13}C ($E R^{13}C-3$) foram atribuídos os sinais em 16,5, 29,8, 22,9 e 16,1 ppm aos carbonos C_{12} , C_{13} , C_{14} e C_{15} , respectivamente.

O espectro de massas (EM-4) para o calareno **23** apresentou íon molecular em m/z 204 e pico base em m/z 161.

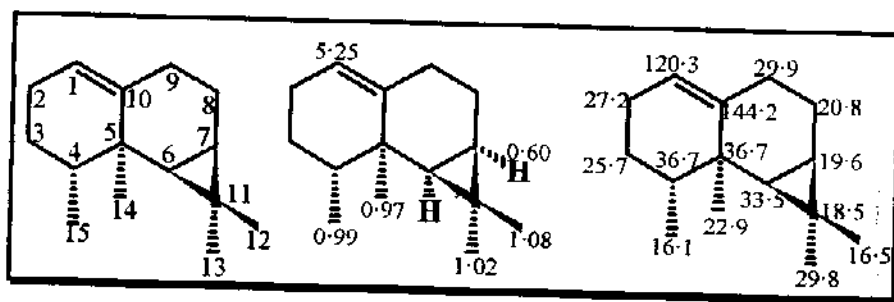


Figura 29: Deslocamentos químicos de 1H e de ^{13}C para o (+) calareno **23**

O epóxi-calareno **23a** sintetizado foi evidenciado por espectroscopia de RMN 1H ($E R^1H-4$) e de RMN ^{13}C ($E R^{13}C-4$). No espectro de RMN 1H ($E R^1H-4$) observamos o aparecimento de um dubleto largo em 3,01 ppm ($J = 2$ Hz) atribuído ao próton H_1 do epóxido, o qual deve possuir acoplamentos entre 0 e 2 Hz com os hidrogênios H_2 ^{44, 45} (Figura 30). Este fato é condizente com a orientação do epóxido em posição α . Esta configuração relativa foi confirmada por experimento de diferença de NOE ($E NOE-1$) onde a irradiação dos prótons pertencentes à metila C_{12} (1,06 ppm) provocou um aumento na absorção do próton H_1 do epóxido (3,01 ppm).

As atribuições dos deslocamentos químicos de carbono-13 (E R¹³C-4) para epóxi-calareno **23a** foram feitas com base nas análises espectroscópicas unidimensionais RMN¹³C (E R¹³C-4) e correlações bidimensionais homo (H, H) COSY (E COSY-2) (Tabela 12) e heteronucleares (H, C) HETCOR (E HETCOR-2) (Tabela 13).

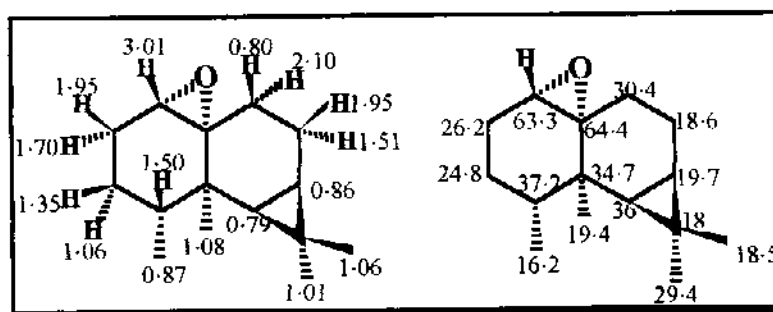


Figura 30: Deslocamentos químicos de ¹H e de ¹³C para o epóxi-calareno **23a**

A atribuição do carbono C₁ (63,3 ppm) foi confirmada pela correlação heteronuclear com o próton em 3,01 ppm no espectro HETCOR (E HETCOR-2).

Os deslocamentos químicos dos grupos metilênicos em 18,5, 29,4, 19,4 e 16,2 ppm foram atribuídos aos carbonos C₁₂, C₁₃, C₁₄ e C₁₅, respectivamente. As absorções de grupos metileno em 26,2, 24,8, 18,6 e 30,4 ppm foram atribuídos aos carbonos C₂, C₃, C₈ e C₉, respectivamente. As absorções restantes foram atribuídas conforme Figura 30.

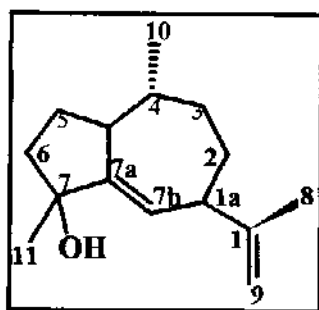
O espectro de IV (E IV-3) apresentou bandas de estiramento em 1264,8 cm⁻¹ e 1071,9 cm⁻¹ características do grupo epóxi.

O valor de α_D encontrado para o epóxido **23a** foi de α_D = + 18,9° comparado com o da literatura cujo valor é de α_D = + 21,2°⁴⁴.

O espectro de massas (EM-5) apresentou íon molecular em m/z 220 (12%), fragmentação em m/z 205 correspondente à perda de CH₃ e pico base em m/z 41.

O epoxi-calareno **23a** foi coinjetado com o óleo essencial da *B. dracunculifolia*, apresentando IR= 1587. A região de IR = 1580 à 1620 de todos os óleos essenciais estudados, foi detalhadamente investigada, comparando todos os espectros de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis* estudadas, não tendo sido identificado em nenhum deles.

Obtenção do α -gurjuneno oxidado **21b**



Como foi visto nos exemplos anteriores, os epóxidos se fragmentam de forma pouco característica, não sendo possível estabelecer o esqueleto básico a partir do espectro de massas. Pela presença do α -gurjuneno **21** no óleo essencial de diversas *Baccharis* (*B. myriocephala*, *B. platipoda*, *B. vincaefolia*, *B. dracunculifolia* e *B. erioclada*) fomos levados a sugerir a presença do epóxi-gurjuneno **21a** entre os compostos monooxidados com (IR = 1619 à 1720), cuja confirmação estrutural só seria possível através de coinjeção de um padrão devidamente caracterizado.

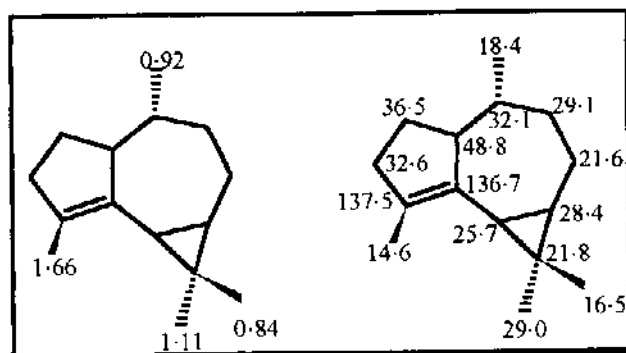
Foram feitos inicialmente estudos espectroscópicos do (-) α -gurjuneno **21** para utilizá-los como referência.

O espectro de massas (EM-6) do (-) α -gurjuneno **21** apresentou íon molecular m/z 204 (70%), fragmentação em m/z 189 correspondente à perda de CH₃ e pico base em m/z 105.

As atribuições dos deslocamentos químicos de próton e de carbono-13 do composto **21** foram feitas com base nas correlações espectroscópicas bidimensionais homo (H, H) e heteronucleares (C, H) COSY (E COSY-3) e HETCOR (E HETCOR-3), e também com base na atribuição do composto aromadendreno **24**¹⁷.

O espectro de RMN¹H (E R¹H-5) apresentou multipletes de baixa intensidade entre 0,6-0,9 ppm atribuídos aos prótons do anel ciclopropânico (H_{1a} e H_{7b}), um dubleto em 0,92 ppm (J = 8 Hz) atribuído aos prótons metílicos H₁₀ e três singletos em 0,84, 1,11 e 1,66 ppm atribuídos aos prótons metílicos H₈, H₉ e H₁₁, respectivamente^{46, 47}.

O espectro de RMN¹³C (E R¹³C-5) forneceu os deslocamentos químicos dos carbonos em 137,5, 136,7 e 25,7 ppm, atribuídos aos carbonos C₇, C_{7a}, e C_{7b}, respectivamente.



Deslocamentos químicos de ¹H e de ¹³C para o (-) α-gurjuneno **21**

A epoxidação do (-) α-gurjuneno **21** forneceu o epóxido **21a** o qual foi purificado através da coluna de sílica gel fornecendo o composto **21b** com 21% de rendimento. O composto **21b** apresentou banda de estiramento de -OH em 3422,6 cm⁻¹ e bandas em 3110 cm⁻¹ e 1708,3 cm⁻¹, características dos grupos C=CH₂ e C=C, respectivamente (E IV-4).

No espectro de RMN¹H (E R¹H-6) foram observadas absorções características de hidrogênios olefinicos em 4,80 e 5,7 ppm, atribuídos aos H₉ e H_{7b}.

repectivamente, e de tres grupos metílicos em 0,83 ppm (H_{10}), 1,27 ppm (H_9) e em 1,70 ppm (H_{11}), respectivamente. Essas características foram novamente confirmadas pelo espectro de RMN ^{13}C (E R ^{13}C -6), onde a presença de duas duplas ligações foram evidenciadas pelos sinais em 111,0 ppm e 146 ppm, características dos carbonos C_1 , e C_9 e em 124,0 ppm e 152,0 ppm, características dos carbonos C_{7a} , e C_{7b} , respectivamente. Essas características estavam condizentes com a estrutura **21b** e não com a do epóxido **21a** (Figura 31).

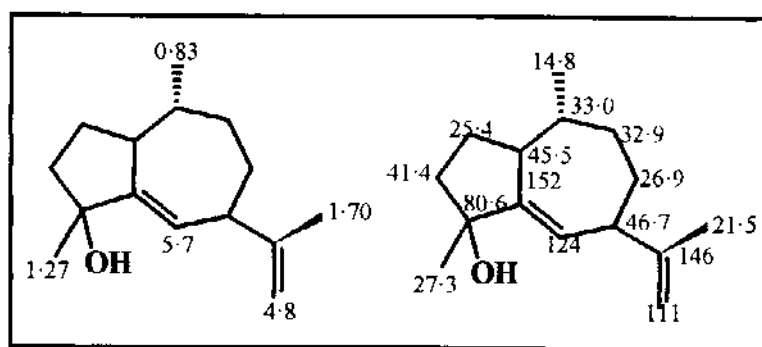
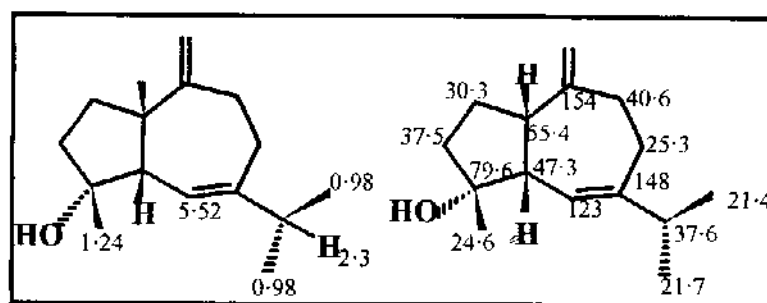


Figura 31: Deslocamentos químicos de 1H e de ^{13}C do α -gurjuneno oxidado **21b**

A atribuição dos deslocamentos químicos de próton e de carbono-13 do composto **21b** (E R 1H -6 e E R ^{13}C -6) baseou-se nas correlações H, H obtidas nas análises dos espectros (E COSY-4 e E COSY-4').

Os deslocamentos químicos dos prótons e dos carbonos foram atribuídos com base nos deslocamentos dos compostos modelo γ -gurjuneno **62**⁴³ e do alismol **59**³⁷.



Deslocamentos químicos de 1H e de ^{13}C do alismol **59**

O carbono não ligado ao hidrogênio em 80,6 ppm foi atribuído ao C₇ (carbinol) com base no composto modelo alismol **59**³⁷. Os singletos em 146,0 e 152,0 ppm foram atribuídos aos carbonos olefinicos C₁ e C_{7a}, respectivamente, com base nos deslocamentos químicos dos carbonos correspondentes do composto modelo γ -gurjuneno **62**⁴³ (Figura 32).

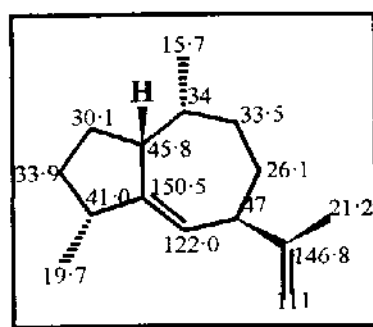


Figura 32: Deslocamentos químicos de ¹³C do γ -gurjuneno **62**

Os carbonos metínicos em 46,7, 33,0, 45,5 e 124,0 ppm foram atribuídos aos C_{1a}, C₄, C_{4a} e ao C_{7b}, respectivamente. Os carbonos metílicos em 21,5, 14,8 e 27,3 ppm foram atribuídos aos C₈, C₁₀ e C₁₁, respectivamente, com base no composto modelo γ -gurjuneno **62**⁴³.

Com esse estudo espectroscópico detalhado foi possível confirmar a estrutura **21b** sugerida e a formação desse composto foi racionalizada a partir da labilidade do epóxido.

A fácil abertura do epóxido **21a** (formação preferencial do epóxido pela face menos impedida, ou seja face alfa, ou face 3Re-7aRe) pode ser explicada a partir dos efeitos estereoeletrônicos envolvendo o ciclopropano e o epóxido situados *anti* um ao outro como mostrado na análise conformacional do modelo molecular do α -gurjuneno oxidado **21b** (Figura 33).

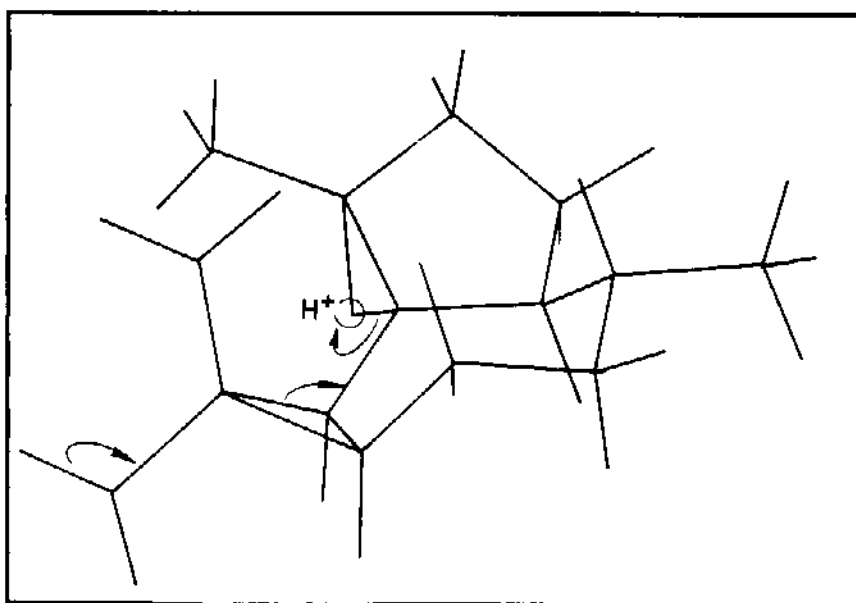
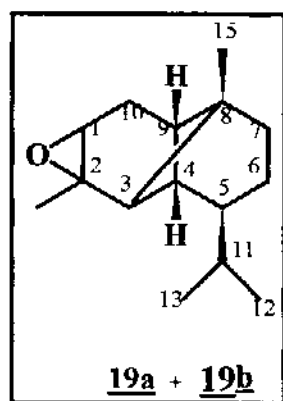


Figura 33: Conformação mais estável do α -gurjuneno oxidado **21b** obtida por cálculos empíricos MM-2

O α -gurjuneno oxidado **21b** foi coinjetado com o óleo essencial da *B. dracunculifolia*, apresentando IR = 1610. A região de IR = 1600 à 1620 de todos os óleos essenciais estudados, foi detalhadamente investigada, comparando todos os espectros de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis* estudadas, não tendo sido identificado em nenhum dos óleos.

Obtenção dos epóxidos **19a** e **19b**



Seguindo a mesma estratégia anterior obtivemos o (α)epoxi-copaeno **19a** a partir da epoxidação do α -copaeno **19** comercial, levando em consideração a presença do composto **19** nos óleos de *B. myriocephala*, *B. tridentata*, *B. vincaefolia*, *B. dracunculifolia* (masculina/feminina) e *B. erioclada* (masculina/feminina) e a presença de sesquiterpenos monooxidados não identificados na região de IR = 1619 à 1720. O tratamento do composto **19** com AMCPB forneceu uma mistura de dois epóxidos **19a** e **19b**, na proporção de 1:1,5, com rendimento de 7%. As tentativas de separação desses epóxidos foram infrutíferas.

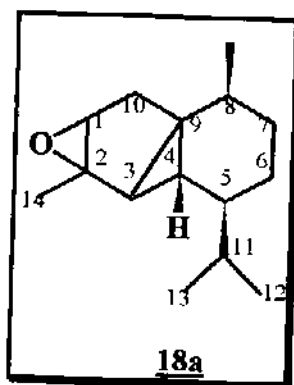
O espectro de massas (EM-8) do α -copaeno **19** apresentou íon molecular m/z 204, fragmentações em m/z 161, 119 e pico base em 105.

O espectro de massas do epóxido do α -copaeno **19a** (EM-9a) apresentou íon molecular m/z 220 (8%), fragmentações em m/z 205 (7%) correspondente à perda de CH₃ e sugeriu para o pico base em m/z 41 o fragmento C₃H₅⁺.

O espectro de massa do epóxido do α -copaeno **19b** (EM-9b) apresentou íon molecular m/z 220 (30%), fragmentação em m/z 205 (5%) correspondente à perda de CH₃ e pico base em m/z 41 correspondente à perda de C₃H₅⁺.

A mistura dos epóxidos α -copaeno **19a** e **19b** foi coinjetada com o óleo essencial da *B. dracunculifolia*, apresentando IR= 1660 e 1670, respectivamente. A região de IR = 1650 à 1675 de todos os óleos essenciais estudados, foi detalhadamente analisada, comparando todos os espectros de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis* estudadas, não tendo sido identificado nenhum dos epóxidos nos óleos investigados.

Obtenção do epoxi α -cubebeno 18a



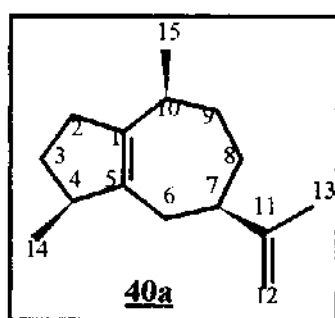
A epoxidação do α -cubebeno 18 foi realizada a partir do padrão comercial e forneceu o epóxido 18a. As tentativas de separação desse epóxido foram infrutíferas, obtendo uma mistura do α -cubebeno 18 com o epóxido 18a, na proporção de 3,5:1 e rendimento de 8%.

O espectro de massas do α -cubebeno 18 (EM-10) apresentou íon molecular m/z 204 e pico base em 105.

No espectro de massas (EM-11) do epóxi- α -cubebeno 18a o íon molecular m/z 220 não apareceu e o fragmento correspondente à perda de água, a partir do mesmo apareceu em m/z 202 com 5% de intensidade. O pico base em m/z 159 correspondente à perda de $C_3H_7^+$ a partir de m/z 202. Como não foi confirmado por ressonância o espectro de massa do composto obtido poderia ser explicado por um rearranjo térmico ocorrido no injetor ou por uma abertura ocorrida quimicamente. A estrutura do composto não foi checada devido a sua ausência nos óleos de *Baccharis* estudados.

O epóxido α -copaeno **18a** foi coinjetado com o óleo essencial da *B. dracunculifolia*, apresentando IR= 1593. A região de IR = 1550 à 1600 de todos os óleos essenciais estudados, foi detalhadamente analisada, comparando todos os espectros de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis* estudadas, não tendo sido identificado nenhum deles.

Obtenção do α -guaieno **40a**



Embora tivéssemos obtido até aqui alguns padrões oxigenados, poderíamos ainda conseguir outros padrões a partir da desidratação do grupo OH.

Levando em consideração a presença do guaíol **40** nos óleos de *B. myriocephala*, *B. tridentata*, *B. vincaefolia*, *B. dracunculifolia* (masculina/feminina), *B. caprariaefolia* (masculina/feminina), *B. platipoda* e *B. erioclada* (masculina/feminina) e a presença de hidrocarbonetos sesquiterpênicos não identificados na região de IR = 1400 à 1600 com íon molecular em m/z 204, obtivemos o (α) guaieno **40a** a partir da desidratação do guaíol comercial.

A desidratação do guaíol **40** foi realizada com cloreto de tionila (SOCl_2) em piridina e forneceu o α -guaieno **40a**, com 9% de rendimento.

O espectro de IV (E IV-5) (α) guaieno **40a** apresentou bandas de estiramento em 3054 cm^{-1} e $985,9\text{ cm}^{-1}$ características do grupo metileno exo e banda em $1705,8\text{ cm}^{-1}$, característica do grupo $\text{C}=\text{C}$ ^{48, 49}.

A atribuição dos deslocamentos químicos de próton e de carbono-13 do α -guaieno **40a** foram feitas com base nas correlações espectroscópicas unidimensionais de RMN¹H (E R¹H-7) e de RMN¹³C (E R¹³C-7) (Figura 34).

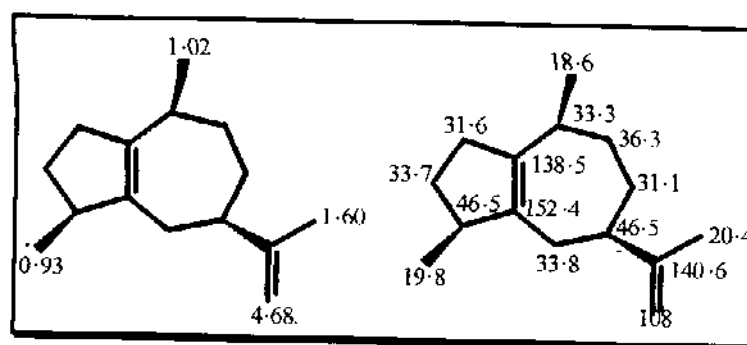
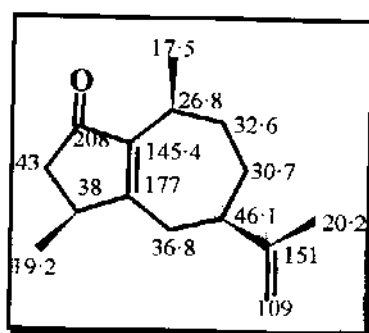


Figura 34: Deslocamentos químicos de ¹H e de ¹³C do α -guaieno **40a**

No espectro de RMN¹H (E R¹H-7) do α -guaieno **40a** os sinais em 4,63 ppm (1H, d), 4,68 ppm (1H, s) e em 1,60 ppm revelaram a existência do grupo isopropenil⁴⁸.

Os deslocamentos químicos dos carbonos foram atribuídos com base nos deslocamentos dos carbonos dos compostos modelo γ -gurjuneno **62**⁴³ e da rotundona **63**⁴⁸.



Deslocamentos químicos de ¹³C da rotundona **63**

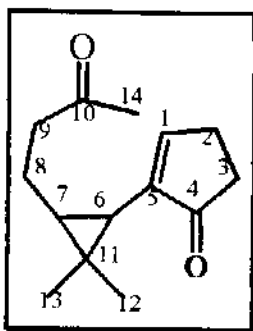
Os sinais em 138,5, 152,4 e 140,6 ppm foram atribuídos aos carbonos C₁, C₅ e C₁₁, respectivamente, com base nos deslocamentos químicos dos carbonos correspondentes dos compostos modelo γ -gurjuneno **62**⁴³ e rotundona **63**⁴⁸.

Os sinais dos CH em 46,6 e 33,3 ppm foram atribuídos aos C₇ e C₁₀, respectivamente, com base nos compostos modelo γ -gurjuneno **62**⁴³ e rotundona **63**⁴⁸. Os sinais dos CH₂ e dos CH₃ foram atribuídos com base nos compostos modelo γ -gurjuneno **62**⁴³ e rotundona **63**⁴⁸.

O espectro de massas do guaíol **40** (EM-12) apresentou íon molecular em 222 e pico base em 161.

O espectro de massas (EM-13) do α -guaíeno **40a** apresentou íon molecular m/z 204 (30%), fragmentações em m/z 189 (20%) correspondentes à perda de CH₃ e pico base em m/z 41 correspondente ao íon C₃H₅⁺.

O α -guaíeno **40a** foi coinjectado com o óleo de *B. dracunculifolia* apresentando IR = 1435. Os espectros de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis* estudadas foram investigados na região de IR 1400 à 1450 e comparados ao espectro do α -guaíeno **40a**, não tendo sido identificados em nenhum deles.

Síntese da Nor-Tailoriona 66

Nosso interesse na síntese da nor-tailoriona 66 se deve ao fato de que uma boa parte dos compostos detectados nas 7 espécies de *Baccharis* estudadas forneceram íons moleculares M^+ em m/z 220 e IR condizente com terpenos dioxigenados, cujos espectros de massas eram de difícil interpretação. Levando em consideração o raciocínio exposto anteriormente, a rota biossintética dos terpenos nas *Baccharis* poderia seguir e fornecer seco-aromadendranos do tipo tailoriona 58 (M^+ $m/z=218$) os quais seriam compatíveis com a estrutura da nor-tailoriona 66.

Dentro desse contexto nós nos propuzemos sintetizar a nor-tailoriona 66 (Figura 35).

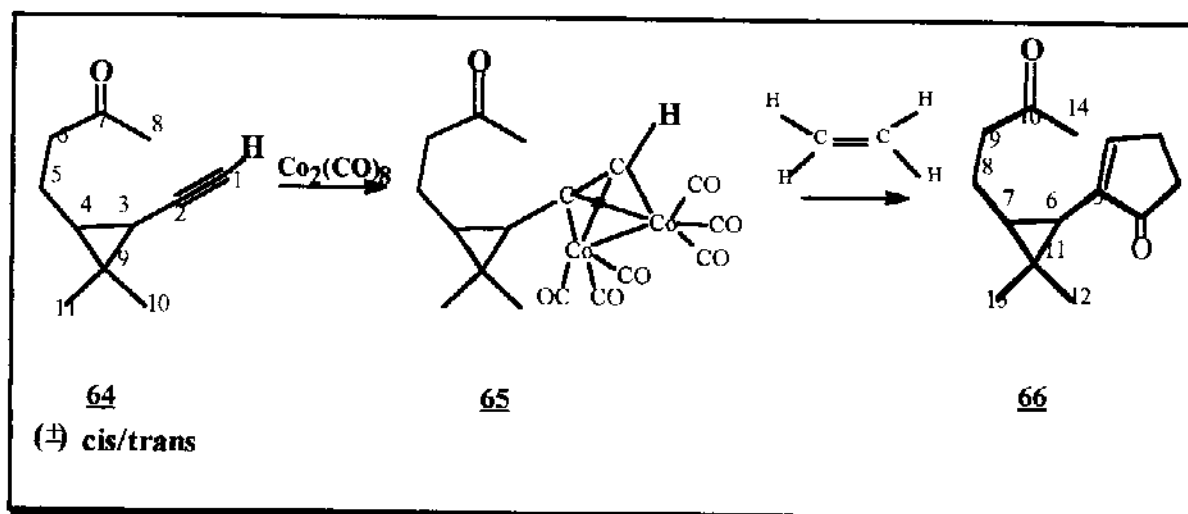
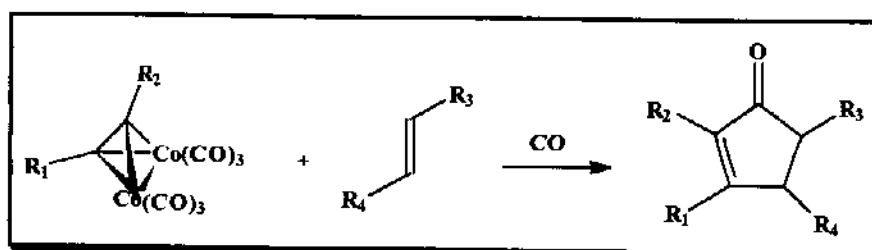


Figura 35: Síntese da nor-tailoriona **66**

A estratégia de síntese embora simples envolve a reação intramolecular de cicloadição de Pauson - Khand⁵⁰⁻⁵² onde o complexo hexacarbonila-dicobalto de um alcino reage com uma olefina produzindo uma ciclização intramolecular com consequente formação de ciclopentenonas. A reação de Pauson - Khand embora forneça um meio rápido para produzir ciclopentenonas não é muito aplicada na síntese de produtos naturais e isso constitui para o nosso grupo um desafio.



Esquema 4: Reação de Pauson- Khand

Esta reação foi primeiro reportada por Pauson e Khand em 1973 e foi observado que esta reação tem alto grau de regio e estereosseletividade⁵². A regioseletividade em relação ao alceno é determinada por fatores estéricos conduzindo o produto com o grupo volumoso adjacente à função cetônica. Os

produtos tem exclusivamente configuração *exo* e os alcinos terminais forneceram predominantemente cetonas 2- substituídas. Os fatores que determinam a regioseletividade em relação ao alceno não tem sido claramente determinados.

Na síntese da nor-tailoriona **66** uma mistura *cis/trans* (1:1) do composto **64** (E CG-1; Figura 36) foi complexada com octacarbonila-dicobalto formando o complexo **65** de cor avermelhada, o qual foi purificado em coluna de alumina.

As atribuições dos deslocamentos químicos de próton do cetoalcino **64** foram com base nas análises espectroscópicas unidimensionais de RMN¹H (E R¹H-8), o qual apresentou um singlete em 1,87 ppm atribuído ao hidrogênio acetilênico e três singletos em 1,12, 1,13 e 2,15 ppm característicos dos prótons das metilas C₁₀, C₁₁ e C₈.

O cetoalcino **64** tem fórmula molecular C₁₁H₁₆O como determinado pelo espectro de massas de alta resolução (EM-15).

O espectro de RMN¹H (E RMN¹H-9) do complexo **65** apresentou um singlete em 5,78 ppm atribuído ao hidrogênio acetilênico.

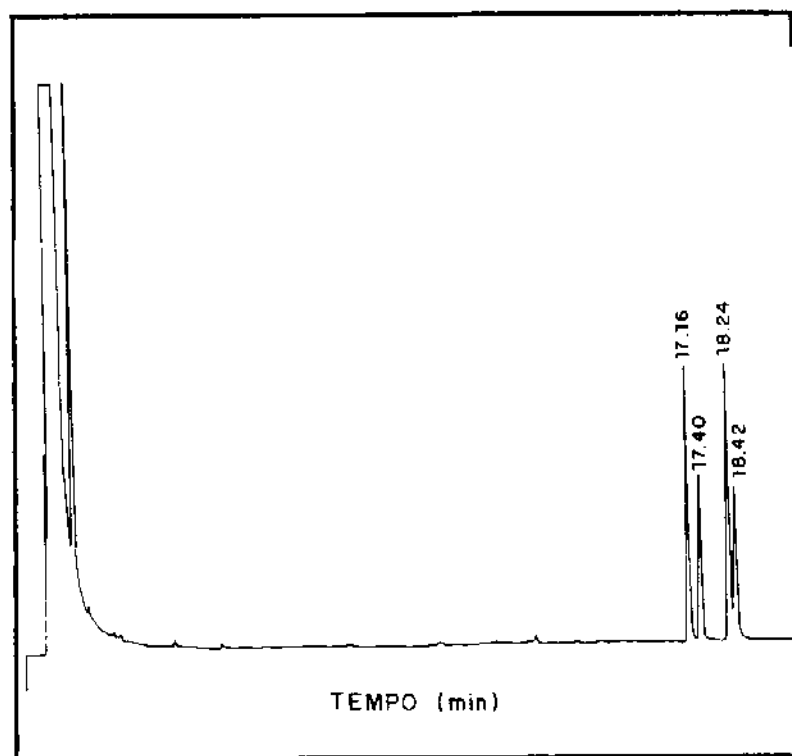


Figura 36: Cromatograma do cetoalcino 64 em coluna quiral

O complexo 65 foi deixado reagir em atmosfera de CO e etileno em ampola selada à 90°C durante 48 horas. A análise cromatográfica através de coluna quiral revelou a presença de 4 isômeros da mistura cis/trans da nor-tailoriona 66, na proporção 1,1:1(E CG-2; Figura 37).

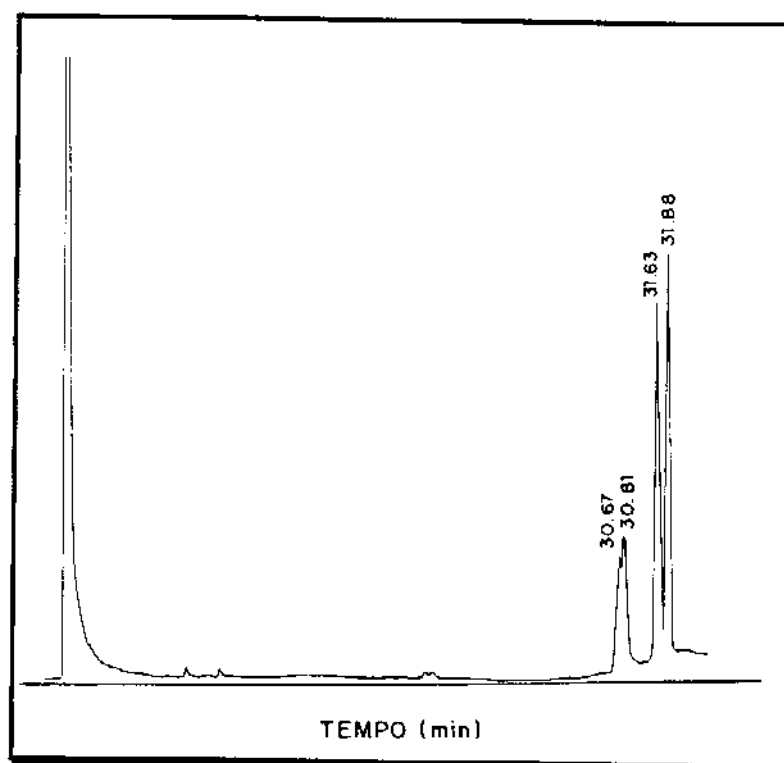


Figura 37: Cromatograma da nor-tailoriona **66** em coluna quiral

A nor-tailoriona **66** foi obtida com 40% de rendimento, com três repetições, sendo que os melhores rendimentos foram com quantidades de 100 a 200 mg de substrato.

As atribuições dos deslocamentos químicos de ^1H e de ^{13}C para o composto **66** (Figura 38), foram feitas com base nas correlações espectroscópicas unidimensionais RMN^1H (E R^1H -10) e RMN^{13}C (E R^{13}C -10) e com base na atribuição dos deslocamentos químicos de prótons e carbonos do produto natural tailoriona **58**, isolado da *Mytilus taylorii*³²⁻³⁴.

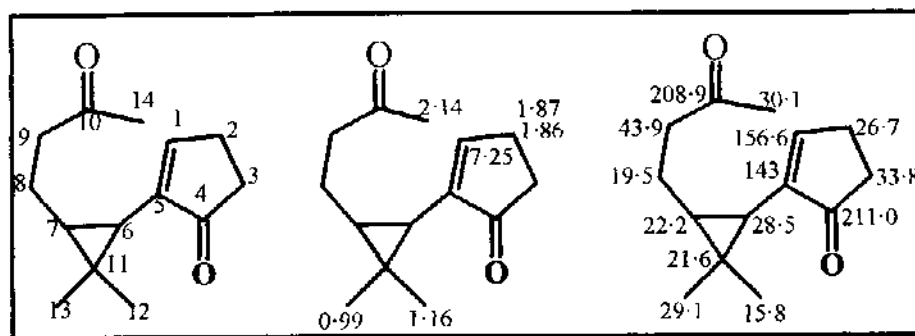


Figura 38: Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C da nor-tailoriona **66**

O espectro de RMN ^1H (ER ^1H -10) da nor-tailoriona **66** apresentou três singletos em 0,99, 1,16 e 2,14 ppm atribuídos aos prótons metílicos dos carbonos C $_{12}$, C $_{13}$ e C $_{14}$, respectivamente. O singlete largo em 7,25 ppm foi atribuído à dupla trissubstituída H $_1$ e um multipeto entre 1,87-1,86 ppm foi atribuído aos prótons dos três metilenos adjacentes à C=C e ou C=O, H $_2$, H $_3$ e H $_9$ ³⁴.

No espectro de RMN ^{13}C (E R ^{13}C -10) foram atribuídos os carbonos C $_4$ (211 ppm), C $_5$ (143 ppm), C $_1$ (156,6 ppm), C $_{10}$ (208,9 ppm), C $_2$ (26,7 ppm) e C $_3$ (33,8 ppm).

O espectro de IV (EIV-6) apresentou bandas em 1706,8 cm $^{-1}$ e em 1603,9cm $^{-1}$, características do grupo C=O, e uma banda em 1495,5cm $^{-1}$ característica de uma dupla trissubstituída.

O espectro de massas (EM-16) apresentou íon molecular em m/z 220 (3%) e fragmentações em m/z 202 que equivale à perda de H $_2\text{O}$, m/z 177 (9%) correspondente à perda de CH $_3\text{CO}$, m/z 121 (18%) que equivale a perda da ciclopentenona a partir do íon m/z 202 e pico base em m/z 43. O composto **66** possui fórmula molecular C $_{14}\text{H}_{20}\text{O}_2$ como determinado por espectrometria de massas de alta resolução (EM-17).

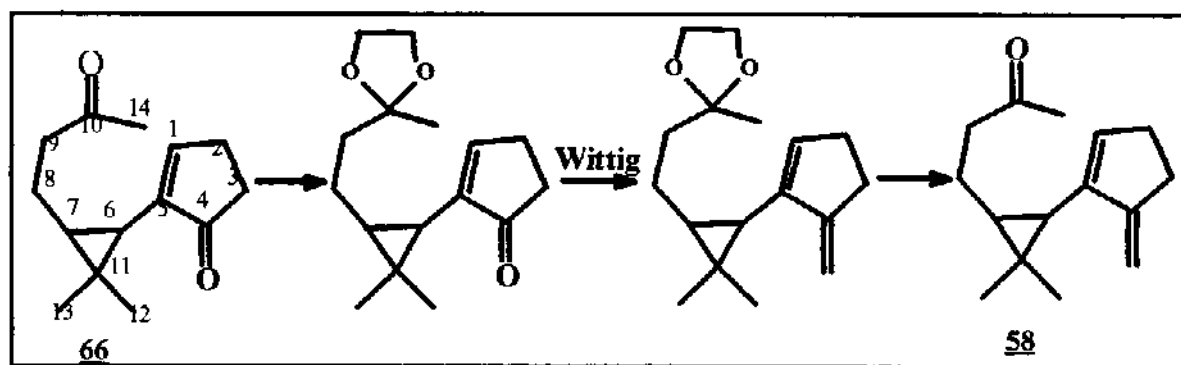
A nor-tailoriona **66** foi coinjetada com o óleo essencial da *B.dracunculifolia*, apresentando IR= 1720 e 1736. A região de IR = 1710 à 1740 de todos os óleos essenciais estudados foi detalhadamente investigada, comparando todos os espectros

de massas dos constituintes presentes nos óleos das 7 espécies de *Baccharis* porém, os espectros de massas e os índices de retenção não foram coincidentes com os da nor-tailoriona **66**.

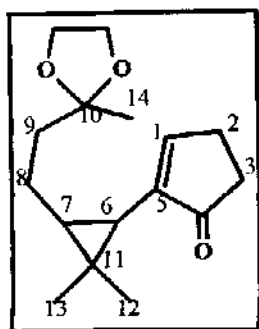
A nor-tailoriona **66** foi coinjetada com o óleo essencial de *Artemisia annua*, planta estudada por Mary Ann Foglio, tendo sido então identificada no óleo⁵³. A presença deste novo esqueleto sesquiterpênico no óleo essencial da *Artemisia* não causa nenhuma surpresa quando se analisa os diversos sesquiterpenos oxigenados já isolados anteriormente, evidenciando que o sistema enzimático desta planta permite que na rota biossintética dos sesquiterpenos as duplas ligações podem sofrer clivagens oxidativas

Pela presença da nor-tailoriona **66** no óleo essencial de *Artemisia annua* e de outros compostos com $M^+ 222$ fomos levados a sugerir também a presença da tailoriona **58**. Novamente neste caso a confirmação estrutural só seria possível através de coinjeção de um padrão devidamente caracterizado. Dentro deste contexto resolvemos dar continuidade na síntese para obtenção da tailoriona **58**.

Vale a pena comentar que a síntese da tailoriona **58** foi publicada posteriormente ao início desta etapa do nosso trabalho⁵⁴.



Reação de Proteção da Nor-Tailoriona **66**



Em continuidade ao desenvolvimento da síntese da tailoriona **58**, temos como próxima etapa a proteção da carbonila no C₁₀ da nor- tailoriona **66**.

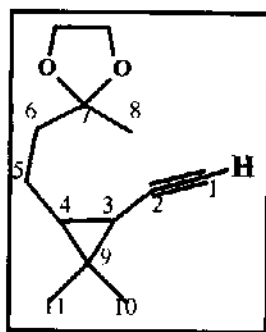
A carbonila C₁₀ foi submetida à proteção utilizando-se etilenoglicol e p-toluenossulfonato de piridinium (PPTS) em benzeno anidro sob refluxo⁵⁵. O cetal **66a**, após purificação em coluna de sílica gel (hexano-acetato de etila, 8:2), foi obtido em 11,4% de rendimento.

A reação foi confirmada através do espectro de massas (EM-18) que apresentou íon molecular em m/z 275 (2%), fragmentações em m/z 249 (M-15, 2 %), 177 (M-87, 97%) que corresponde à perda do fragmento C₄H₇O₂ e pico base em 87.

O espectro de RMN¹H (ER¹H-11) não apresentou o singlete em 2,14 ppm atribuído ao próton metílico do H₁₄, correspondente a metila ligada à carbonila.

Em função do baixo rendimento obtido da nor-tailoriona **66a** (cetal) buscamos uma alternativa no sentido de proteger o cetoalcino **64** antes da obtenção da nor-tailoriona **66**.

Reação de Proteção do cetoalcino 64



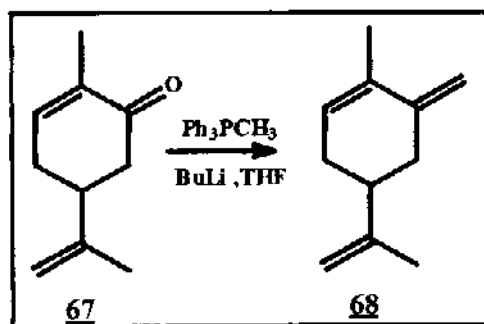
A carbonila foi submetida à proteção conforme o procedimento anterior utilizando-se etilenoglicol e p-toluenossulfonato de piridínio (PPTS) em benzeno anidro sob refluxo⁵⁵. O cetoalcino protegido 64a, após purificação em coluna de sílica gel (hexano-acetato de etila, 8:2), foi obtido em 11,4% de rendimento.

O rendimento da nor-tailoriona protegida 66a (cetal) obtida com o cetoalcino protegido 64a foi de 23,7%.

A próxima etapa da sequência sintética, obtenção da tailoriona 58, visa a obtenção da olefina através de uma reação de Wittig seguida por desproteção da carbonila.

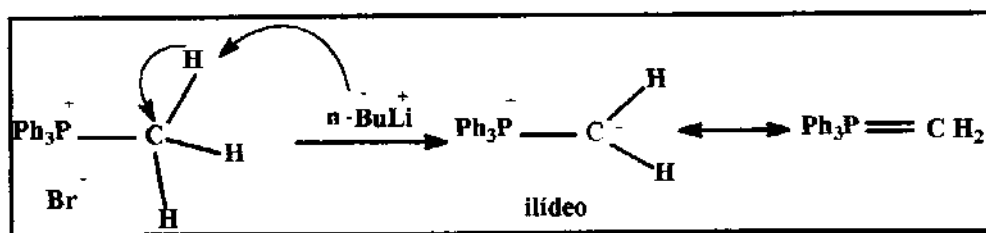
Reação de Wittig

Devido a problemas no laboratório ficamos com uma pequena quantidade da nor-tailoriona 66a (9 mg) e antes de realizar esta última etapa otimizamos a reação de Wittig usando carvona 67 como composto modelo.

Esquema 5: Obtenção do composto modelo 68

Neste ponto, voltamos nossa atenção para a escolha de um procedimento adequado, o qual utilizasse como substrato cetonas α , β -insaturadas com esqueletos análogos ao por nós utilizado e, a metodologia empregada por Corey e colaboradores⁵⁶ nos pareceu conveniente.

Inicialmente procedemos a preparação do ílideo de fósforo, gerado “in situ” a partir do brometo de metil-trifenilfosfônio, n -BuLi em éter etílico sob atmosfera de argônio por 3 horas. À solução avermelhada resultante, foi adicionada a carvona 67 em éter etílico e deixado reagir à temperatura ambiente por 12 horas, quando então o solvente foi substituído por tetraidrofurano e a mistura deixada sob refluxo por mais 6 horas.



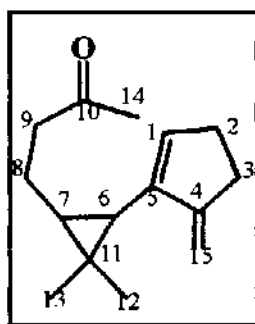
Esquema 6: Obtenção do ílideo de fósforo

O acompanhamento da reação por CCD utilizando hexano-acetato de etila 8:2 como eluente indicou a formação de um produto.

Vale a pena ressaltar que esta reação é altamente sensível à umidade, que acarreta a decomposição do ilídeo gerado, a qual pode ser visualizada através do desaparecimento da coloração avermelhada característica do ilídeo de fósforo.

A purificação do composto **68**, através de coluna cromatográfica de sílica gel, tendo hexano como eluente não foi possível, tendo sido confirmada a sua formação apenas por CG/MS (EM-21). O espectro de massas apresentou íon molecular em m/z 148 com 20% de intensidade, fragmentação em m/z 133 (M-15) e pico base em m/z 91.

Em continuidade ao desenvolvimento da síntese da tailoriona **58**,



submetemos a nor-tailoriona protegida **66a** às mesmas condições aplicada para o composto modelo **67**. A tailoriona **58** não foi obtida e por falta de uma quantidade maior de nor-tailoriona **66** a reação não foi repetida.

CONCLUSÃO GERAL

O estudo de óleos essenciais de 7 espécies de *Baccharis* demonstrou as diferenças e similaridades na química de espécimens femininos e masculinos. Estes dados são inéditos na literatura e permitiu evidenciar o eficiente mecanismo de polinização da *B. dracunculifolia* com relação aos álcoois monoterpênicos e sesquiterpênicos.

Os padrões sintetizados no grupo foram por nós coinjetados nos óleos das espécies de *Baccharis* estudadas e identificamos 3 novos cadinanos. O cadinol axial **41** foi identificado na *B. platipoda*, o 6 α , 7 α -epóxido **46** nas *B. platipoda* e *B. tridentata* e o 1 β , 6 β -diol **45** na *B. platipoda*.

A síntese da nor-tailoriona **66**, tendo como estratégia sintética a construção do anel ciclopentanônico através da reação de Pauson-Khand, permitiu identificar esse novo esqueleto terpênico no óleo essencial de *Artemisia annua*.

EXPERIMENTAL

MÉTODOS GERAIS

- Os valores de rotação ótica $[\alpha]_D$ foram determinados em um polarímetro LEPA2-Carl Zeiss com lâmpada de sódio, precisão de $0,005^\circ$, utilizando CHCl_3 como solvente.

O cálculo da rotação ótica específica em função do comprimento de onda de sódio⁵⁷, foi obtido segundo as relações abaixo recomendadas pelo fabricante.

$$\alpha_z = \alpha_{20} [1 + 0,000143 (t - 20)]$$

$$[\alpha]_D = \frac{\alpha_{20}}{c \text{ (g/ml)} \times l \text{ (dm)}}$$

onde:

$[\alpha]_D$ = rotação específica

α_z = rotação ótica lida no aparelho

α_{20} = rotação ótica observada

t = temperatura ambiente

$c \text{ (g/ml)}$ = concentração da amostra

$l \text{ (dm)}$ = comprimento da cela (0,1)

- Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram registrados em um espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo 298 e modelo 1600 com transformada de Fourier, em pastilhas de KBr ou em filmes sobre cela de NaCl. Como referência foi utilizado a absorção em 1601 cm^{-1} de um filme de poliestireno.

- Os espectros de ressonância magnética nuclear de próton (RMN ^1H) foram registrados em espectrômetros Varian Gemini-300 (300,07 MHz) e Bruker AC 300 P (300,13 MHz). Os deslocamentos químicos foram registrados em ppm, utilizando como padrão interno tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0,0$ ppm) e clorofórmio deuterado (CDCl_3 , $\delta = 7,16$ ppm). As constantes de acoplamento (J) foram medidas em Hertz (Hz). Os sinais foram caracterizados como: s = singleto, d = dubleto, t = tripleto, q = quarteto, dd = duplo dubleto, ddd = duplo duplo dubleto, dt = duplo tripleto, dq = dubleto de quarteto.
- Os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ^{13}C) foram obtidos em espectrômetros Varian Gemini-300 (75,46 MHz) e Bruker AC 300 P (75,47 MHz). Os deslocamentos químicos RMN ^{13}C foram registrados em ppm, sendo $\delta = 0,0$ ppm para o TMS e 77,0 ppm para CDCl_3 .
- A interpretação dos dados de RMN ^{13}C foi realizada com a ajuda da técnica DEPT 135° e DEPT 90° (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), onde: CH_3/CH = sinal positivo (+), CH_2 = sinal negativo (-), C (não ligado ao hidrogênio) = sinal de $\text{C}_{\text{quart.}}$ = ausente, intensidade zero e confirmada por espectros bidimensionais: HETCOR (correlações de ^1H , ^{13}C a uma ligação) e (COSY) (correlações homonucleares ^1H , ^1H).
- As análises por CG foram realizadas em cromatógrafo à gás Hewlett Packard-VCD 5890 A, com detector de ionização de chama, equipado com coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), J&W Scientific CA, HP-Ultra-1 (25 m x 0,2 mm x 0,33 μm) e HP-101 (25 m x 0,2 mm x 0,25 μm) e gás de arraste H_2 . A injeção foi da ordem de 1 μl de solução do óleo em acetato de etila na razão 1:3. O programa de temperatura utilizado foi de 55°C - 20°C/min. - 120°C - 1,5°C/min - 150°C - 20°C/min - 180°C, o tempo gasto por corrida de

amostra foi de 40 min. (programa 1). As temperaturas do injetor e detector foram de 210°C e 280°C, respectivamente.

- Os índices de retenção (IR) foram obtidos através da coinjeção do óleo com uma mistura padrão de hidrocarbonetos, C₁₁-C₃₀, coluna capilar DB-5 com programa de temperatura de 105°C - 2°C/min - 280°C = 40 min. por corrida (programa 2) e com aplicação da equação de Van den Dool e Kratz¹².

$$IR = [(T_s - T_{C_{n-1}}) / (T_{C_n} - T_{C_{n-1}}) \times 100] + 100 \times C_{n-1}$$

onde:

T_s: Tempo de retenção da substância analisada

T_{C_n}: Tempo de retenção do n-alcano que elui após a substância analisada

T_{C_{n-1}}: Tempo de retenção do n-alcano que elui antes da substância analisada

C_{n-1}: n-alcano que elui antes da substância analisada

- A resolução dos enantiômeros foi obtida em cromatógrafo à gás Hewlett Packard VCD 5890 A, com detector de ionização de chama, equipado com coluna capilar quiral Heptakis (2, 6, metil-3-pentil) β-ciclodextrina 20% em OV-1701 (w/w) (20 m x 0,25 mm x 0,25 μm). As temperaturas do injetor e detector foram de 210°C e 250°C, respectivamente. O programa de temperatura utilizado para o cetoalcino **64** foi de 55°C - 2°C/min. - 80°C (programa 3) e para o composto **66** a programação da temperatura foi de 125°C - 30°C/min. - 150°C (programa 4).
- As análises por CG/EM foram realizadas em um cromatógrafo à gás modelo HP 5890 acoplado a um detector de massas HP 5970 operando a 70 eV, equipado com colunas capilares de sílica fundida DB-5 ou Ultra-1 e gás de arraste Hélio. As condições cromatográficas foram as mesmas utilizadas por CG.
- Os óleos foram analisados por CG e CG/EM e a identificação foi realizada utilizando-se padrões comerciais, sintéticos e isolados de *Baccharis dracunculifolia*, caracterizados por RMN ¹H, RMN ¹³C e IV e por comparação

dos índices de retenção e espectros de massas quando encontrados na biblioteca Wiley/NBS do sistema CG/EM.

- As cromatografias em coluna foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 (0,05-0,20 mm), 70-230 mesh da Merck e solventes destilados. O diâmetro interno e a altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material a ser fracionado. A proporção de sílica utilizada foi aproximadamente 30 vezes o peso do produto bruto a ser purificado.
- As cromatografias em camada delgada (CCD) foram efetuadas em sílica gel G e PF₂₅₄, na proporção 1:1, sobre suporte de vidro com 0,25 mm de espessura. A detecção dos compostos foi feita por irradiação com lâmpada ultravioleta ou pulverização com revelador específico para terpenos, seguindo aquecimento.
- Revelador de terpenos⁵⁸: p-anisaldeído: H₂SO₄: HOAc (0,5: 1,0: 50 ml).
- As cromatografias em camada preparativa (CCP) foram realizadas em sílica gel G e PF₂₅₄ da Merck, na proporção 2:1 e espessura de 0,1mm. Os compostos foram detectados por irradiação com lâmpada ultravioleta.
- A purificação e tratamento dos solventes e reagentes, quando necessário, foram feitas segundo as técnicas descritas por Perrin e colaboradores⁵⁹.

Coleta das Diversas Espécies de *Baccharis*

A tabela 19 mostra a identificação botânica, locais de coleta, número das excidatas das espécies e rendimento dos óleos das sete espécies de *Baccharis* estudadas.

Tabela 19: Identificação do material estudado

Número	Espécies de <i>Baccharis</i>	Local de coleta	Excicata	Óleo (%)
1	<i>B. caprariaefolia</i> AP. D. C. feminina	Salesópolis, SP	UEC-46656 (2IV/87)	0,05
2	<i>B. caprariaefolia</i> AP. D. C. masculina	Salesópolis, SP	UEC-46656 (2IV/87)	0,07
3	<i>B. dracunculifolia</i> AP. D. C. feminina	Campinas, SP	UEC-47072 (18/XII/85)	0,18
4	<i>B. dracunculifolia</i> AP. DC masculina	Campinas, SP	UEC-47072 (18/XII/85)	0,19
5	<i>B. erioclada</i> AP. D. C. feminina	Campos de Jordão, SP	UEC-1499 (23/V/78)	0,30
6	<i>B. erioclada</i> AP. D. C. masculina	Campos de Jordão, SP	UEC-1499 (23/V/78)	0,21
7	<i>B. myriocephala</i> (Less.) AP. D. C.	Jundiaí, SP	UEC-50276 (9/IX/88)	0,60
8	<i>B. platipoda</i> AP. D. C.	Santana do Riacho, MG	UEC-51399 (2/VII/89)	0,49
9	<i>B. tridentata</i> Vahl	Santana do Riacho, MG	UEC- 51400 (2/VII/89)	0,10
10	<i>B. vincaeefolia</i> AP. D. C.	Campinas, SP	UEC	0,38

- As identificações botânicas das espécies estudadas foram feitas pelo Professor Hermógenes F. L. Filho e as excicatas das plantas foram depositadas no herbário do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia da UNICAMP.
- *Baccharis caprariaefolia* AP. D. C. foi coletada no município de Salesópolis/SP. O arbusto de até 1,5 m de altura possui folhas alternas, cartáceas, oblongas, pecioladas, com 2-4 cm de comprimento e 0,7-1,0 cm de largura e denteadas. Os capítulos são ordenados em ráceros terminais com cerca de 20 flores. As plantas são dióicas ocorrendo nos estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

- *Baccharis dracunculifolia* AP. D. C. foi coletada no campus da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), estado de São Paulo. O arbusto é relativamente grande, 2,5 m de altura, possui folhas alternas, cartáceas, lanceoladas, com 1-2,5 cm de comprimento e 0,3-0,4 cm de largura, denteadas e glandulosas. Os capítulos são ordenados em ráceros terminais com cerca de 10-15 flores. As plantas são dióicas, com ampla distribuição no Brasil, ocorrendo nos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.
- *Baccharis erioclada* AP. D. C. foi coletada no município de Campos de Jordão/SP. O arbusto de até 1,2 m de altura possui folhas alternas, ovadas a elíticas, sésseis com 1-2 cm de comprimento por 0-5 cm de largura, pilosas na face inferior e serreadas. Os capítulos são ordenados em ráceros espiciformes curtos com 20-30 flores. As plantas são dióicas ocorrendo em regiões altas dos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais.
- *Baccharis myriocephala* AP. D. C. foi coletada no município de Jundiaí/SP. É um subarbusto ramificado com ramos trialados, alas com 5-10 mm de largura interrompidas formando artículos de 5-10 cm de comprimento. Os capítulos sésseis em grupos de 3-5 cada um com 30-40 flores. As plantas são dióicas, largamente dispersas no Brasil, ocorrendo nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.
- *Baccharis platipoda* AP. D. C. foi coletada no município de Santana do Riacho/MG. É um arbusto de até 1,6 m de altura com folhas alternas, coriáceas, viscosas, oblongas, pecioladas com 6-10 cm de comprimento e 3-6 cm de largura. Os capítulos são ordenados em glomérulos terminais com 8-10 flores. As plantas são dióicas ocorrendo em regiões de serra dos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais.

- *Baccharis tridentata* Vahl foi coletada no município de Santana do Riacho/MG. É um arbusto de 0,5-1,2 m de altura com folhas alternas, oblongas, com base longa atenuada com 1,5-5 cm de comprimento por 0,5-3 cm de largura, denteadas e glabras. Os capitulos em panículas são agrupadas com cerca de 10-15 flores. As plantas são dióicas ocorrendo nos estados de Minas Gerais.
- *Baccharis vincaefolia* AP. D.C. foi coletada no município de Campinas/SP. É um arbusto de até 1,2 m de altura ramificado com ramos alados, alas com 1 mm de largura, folhas lanceoladas com 3-7 cm de comprimento e 0,5-2 cm de largura. Os capítulos sésseis em grupos de 3-5 cada um com 25-40 flores com corola com mais de 2 mm de comprimento. As plantas são dióicas ocorrendo em regiões altas dos estados de São Paulo, Santa Catarina, Paraná e Minas Gerais.

Extração do Óleo Essencial

Os óleos essenciais das sete espécies de *Baccharis* foram obtidos da parte aérea das plantas por hidrodestilação de cerca de 200 g do material fresco em 1500 ml de H₂O. Os óleos foram extraídos da água destilada com éter etílico (3 x 50 ml), secos com Na₂SO₄ anidro e concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida. Os óleos foram analisados por CG e CG/EM (Figuras 1, 2, Tabelas 1, 2 e 3).

Variação Sazonal da Razão Monoterpeno/Sesquiterpeno de Voláteis de *B. dracunculifolia* Feminina e Masculina

O óleo essencial de uma planta feminina e uma masculina de *B. dracunculifolia* foi monitorado durante o ano de 1993, nos meses de março, junho, agosto e novembro meses de inflorescências das plantas, totalizando 08 amostras. As amostras de 3 g (parte aérea) foram microdestiladas com 25 ml de água e o óleo extraído com éter etílico (3 x 5 ml). As fases orgânicas combinadas foram secas com Na_2SO_4 anidro e concentrada em evaporador rotativo. Os óleos foram analisados por CG e a razão monoterpeno/sesquiterpeno relacionada com os índices pluviométricos (Figura 8). A % do óleo foi calculada e também relacionada com os índices pluviométricos (Figura 9).

Variação Diária da Razão Monoterpeno/Sesquiterpeno de Voláteis de *B. dracunculifolia* Feminina e Masculina

Plantas feminina e masculina de *B. dracunculifolia* foram monitoradas ao longo do dia em diferentes horários (às 8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas) coletando 3 g de folhas e 3 g de inflorescências de cada planta. Um total de 16 amostras de óleo foram obtidas por microdestilação com 40 ml de água por amostra e extraídos com éter etílico (3 x 5 ml). As fases orgânicas combinadas foram secadas com Na_2SO_4 anidro e concentrada em evaporador rotativo.

Os óleos foram analisados por CG (Figura 11) e o experimento foi repetido monitorando uma população de 10 plantas femininas e 10 plantas masculinas. Foram coletadas separadamente folhas e inflorescências às 8:00, 11:00 e 17:00 horas no mes de abril de 1994, totalizando 120 amostras.

As amostras de 3 g cada foram microdestiladas com 40 ml de água e o óleo extraído com éter etílico (3 x 5 ml). As fases orgânicas combinadas foram secas com Na₂SO₄ anidro e concentrada em evaporador rotativo. Os óleos foram analisados por CG (Figura 12).

O tratamento estatístico dos dados foi feito para verificar a combinação dos fatores sexo e parte da planta e horário de coleta^{60, 61}.

Variação Diária da Razão Monoterpeno/Sesquiterpeno em Inflorescências Masculinas e Inflorescências e Frutos Femininos da *Baccharis dracunculifolia*

Uma amostragem de 05 plantas femininas e de 05 plantas masculinas de *B. dracunculifolia* foi feita de hora em hora ao longo do dia, das 7:00 às 15:00 horas para as plantas femininas e das 7:00 às 13:00 horas para as plantas masculinas, coletando 3 g de frutos das plantas femininas e 3 g de inflorescências das plantas masculinas e das plantas femininas, em cada horário de coleta. Um total de 23 amostras de óleo foram obtidas por microdestilação com 40 ml de água por amostra e extraído com éter etílico (3 x 5 ml). Os óleos foram analisados por CG (Figura 13).

Experimento da *Baccharis dracunculifolia* Sob Estresse

Parte aérea de uma mesma planta de *B. dracunculifolia* foram submetidos a estresse salino e aquoso por um período de 72 horas, antes da hidrodestilação. Foram feitos três experimentos onde o primeiro galho foi mergulhado em uma solução de cloreto de magnésio 1×10^{-4} M, o segundo foi mergulhado em água destilada e um terceiro galho foi deixado como testemunha. Após 72 horas as folhas (20 g) foram hidrodestiladas com 150 ml de água e o óleo extraído com éter etílico (3 x 7 ml). As fases orgânicas combinadas foram secas com Na₂SO₄ anidro e concentrada em evaporador rotativo. Os óleos foram analisados por CG (Figura 10).

Terpenos Florais e Polinização da *Baccharis dracunculifolia*

Para entender a relação entre a composição dos óleos essenciais e a polinização da *B. dracunculifolia* observamos o comportamento dos insetos visitantes e ao mesmo tempo foram realizadas coletas dos insetos visitantes e das inflorescências masculinas e femininas da *B. dracunculifolia*. Os insetos foram observados semanalmente de abril à junho de 1994, em dias chuvosos, ensolarados e nublados, no período das 7:00 às 17:00 horas. Os locais escolhidos para essas observações foram: onde havia uma população de alta densidade de indivíduos de *B. dracunculifolia* em uma área aberta no campus da UNICAMP e outra, de uma população próxima à fazenda Santa Genebra (250 ha). Ambas as áreas estão próximas à Campinas (22° 29' S e 47° 06' W).

As exsiccatas das abelhas foram depositadas no Centro de Identificação de Insetos Fitófagos-UFPR e as exsiccatas de *Baccharis dracunculifolia* foram depositadas no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Estadual de Campinas (UEC-47072).

Os tratamentos experimentais para testar a ocorrência de agamospermia foram realizados por proteger 25 capítulos com sacos de papel hidrofóbico. Anemofilia (polinização realizada pelo vento) foi testada utilizando sacos de tule para evitar a visita dos insetos em 25 capítulos e deixado passar o vento livremente através deles. As amostras das inflorescências masculinas e femininas foram coletadas de hora em hora das 7:00 horas às 14:00 horas.

Extração do Óleo Essencial

Os óleos essenciais das inflorescências masculinas e das inflorescências e dos frutos femininos da *Baccharis dracunculifolia* foram obtidos por hidrodestilação de cerca de 3 g do material fresco, com 40 ml de água. A amostragem foi realizada em 5 plantas masculinas e 5 plantas femininas das 7:00 às 14:00 totalizando assim 24 amostras. Os óleos foram extraídos da água destilada com éter etílico (3 x 5 ml), seco com Na₂SO₄ anidro e concentrado em evaporador rotativo. Os óleos foram analisados por CG (Figura 15).

Os constituintes dos óleos foram divididos em nove grupos de terpenos de acordo com o índice de retenção. Os grupos foram utilizados como variáveis para construir a matriz com a finalidade de verificar a influência nos horários de visita dos insetos. As análises foram feitas de acordo com o método de Análise de Correspondência Canônica (CCA) com permutação Monte Carlo para teste de significância²³. Para tratamento estatístico dos dados foi utilizada a análise dos componentes principais (PCA) por correlação para ordenar as amostras individuais de acordo com a composição química. A ordenação dos dados das espécies de visitantes observadas nos capítulos foi feita através da Análise de Correspondência (CA).

PCA: Técnica de ordenação. Arranja as unidades amostrais em relação a um ou mais eixos de coordenadas de tal forma que, a posição relativa das amostras ao longo do eixos produzam uma máxima informação sobre os padrões e similaridades ecológicas. Reduz a dimensão dos dados sem que ocorra perda de informações.

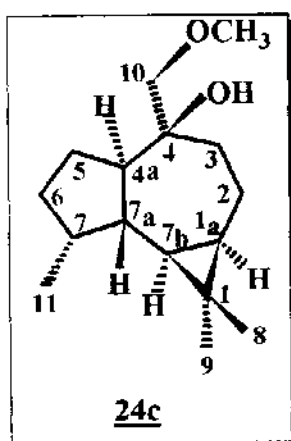
CCA: Analisa as correlações entre dois grupos de variáveis.

PCA e CCA são análogos. A principal diferença é que na PCA o interesse está na variação do conjunto total de variáveis.

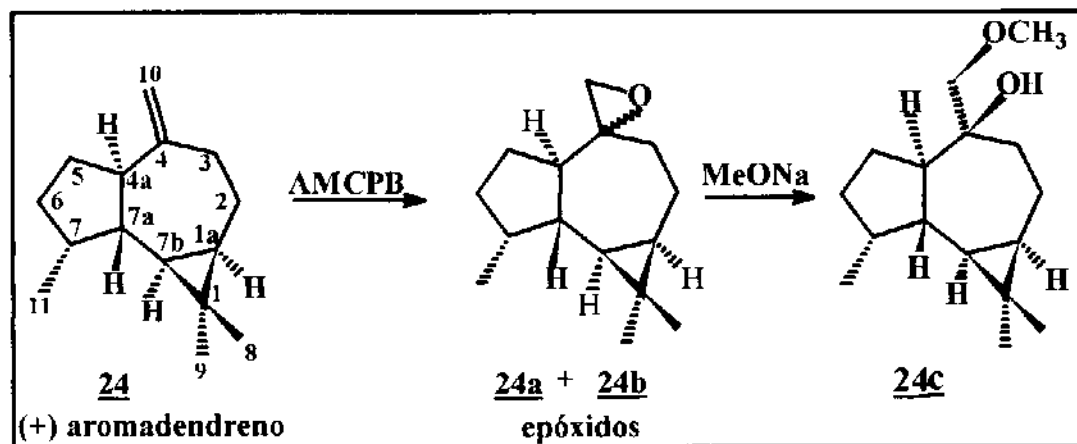
CA: Reduz as dimensões e ordena as variáveis e amostras simultaneamente. Suger novas variáveis combinadas.

SÍNTESES DE PADRÕES

Obtenção do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano 24c^{62, 41}



Uma solução de (+)-aromadendreno 24 (0,1 g, 0,49 mmol), AMCPB 80% (0,1 mg, 0,46 mmol) e NaHCO₃ (0,1 mg, 0,99 mmol) em CH₂Cl₂ (10ml) foi agitada no escuro por 1 hora. Após o término da reação a mistura foi fracionada entre CH₂Cl₂ e solução aquosa de Na₂SO₃ 10%. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de NaHCO₃ 10%, seguida por solução de NaCl saturada, secada com Na₂SO₄ anidro. Após a evaporação do solvente o produto bruto foi purificado por CC de sílica gel eluída com gradiente hexano-acetato de etila (5-10%) para retirar o AMCPB. Obteve-se assim a mistura dos epóxidos 24a e 24b (16 mg, 15% de rendimento), de difícil separação.



Composto **24**: (+)-aromadendreno, $C_{15}H_{24}$

Óleo incolor;

t_r (min): 15,6; IR = 1495

R_f 0,73 (Hexano : Acetato de Etila, 4:1);

$[\alpha]_D^{25} + 13,9$ (c. 1,58 em EtOH)

IV (filme/KBr): 1635 e 890 cm^{-1} (ν_{C-CH_2}) (lit.^{17,41}).

EM (70 eV, EM-2), m/z (%): 204 (M^+ , 25), 175 (5), 161 (52), 133 (37), 105 (55), 91(65), 79 (50), 41 (100)¹⁷.

Epóxidos **24a** e **24b**: $C_{15}H_{24}O$;

t_r (min): 21,6 e 22,5; IR = 1590 e 1609;

R_f 0,64 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-2a): m/z (%): 220 (M^+ , 2), 205 (5), 189 (25), 133 (40), 119 (28), 91 (70), 79 (55), 41 (100).

EM (70 eV, EM-2b): m/z (%): 220 (M^+ , 2), 205 (5), 189 (18), 133 (45), 119 (32), 91 (85), 81 (62), 79 (60), 41 (100).

A mistura dos epóxidos **24a** e **24b** (0,016g, 0,072 mmoles) e MeONa (0,375g, 6,94 mmoles) em metanol anidro (10 ml) foi agitada por 48 horas a temperatura ambiente. O composto obtido foi fracionado em CC de sílica gel cluída

com gradiente hexano-acetato de etila (0-20%). Obteve-se 0,0077g (8,7%) do metóxiálcool do aromadendrano **24c**.

10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c** : $C_{16}H_{24}O_2$:

t_r (min): 30,9 IR = 1759

R_f 0,37 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

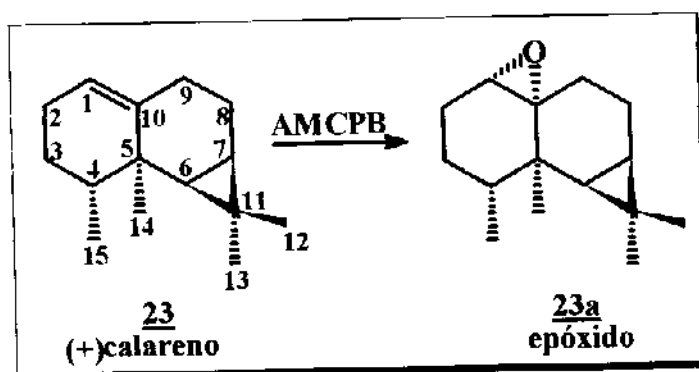
IV (filme/KBr) (EIV-2): 3448 cm^{-1} (ν_{OH}) e 1113 cm^{-1} (ν_{C-O-C})

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹H-2), δ : 0,45-0,65 (2H, m, H_{7b} e H_{1a}), 0,93 (3H, d, J= 6 Hz, H₁₁), 1,00 (3H, s, H₈), 1,04 (3H, s, H₉), 3,37 (s, OCH₃), 4,82 (OH).

RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹³C-2), δ : 20,9 (ausente, C_{quat}, C₁), 27,5 (+, CH, C_{1a}), 29,8 (-, CH₂, C₂), 38,0 (-, CH₂, C₃), 73,8 (ausente, C_{quat}, C₄), 52,6 (+, CH, C_{4a}), 26,2 (-, CH₂, C₅), 34,9 (-, CH₂, C₆), 35,4 (+, CH, C₇), 37,4 (+, CH, C_{7a}), 28,8 (+, CH, C_{7b}), 15,8 (+, CH₃, C₈), 29,0 (+, CH₃, C₉), 81,1 (-, CH₂, C₁₀), 16,6 (+, CH₃, C₁₁), 59,4 (OCH₃).

EM (70 eV, EM-3): m/z (%): 252 (M⁺, 2), 234 (5), 207 (100), 189 (90), 159 (18), 133 (40), 95 (42), 69 (55), 41(68).

Obtenção do (+)-Epoxi-Calareno **23a**⁴¹



Uma solução do (+)-calareno **23** (0,1 g, 0,49 mmol), AMCPB 80% (0,1g, 0,46 mmol) e NaHCO₃ (0,1g, 0,99 mmol) em CH₂Cl₂ (10 ml) foi agitada no escuro

por 2 horas. Após o término da reação a mistura foi fracionada entre CH_2Cl_2 e solução aquosa de Na_2SO_3 10%. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de NaHCO_3 10%, seguida por solução de NaCl saturada, secada com Na_2SO_4 anidro. Após a evaporação do solvente o produto bruto foi purificado por CC de sílica gel eluída com gradiente hexano-acetato de etila (5-10%) para retirar o AMCPB. Obteve-se assim 20 mg do (+)-epóxi-calareno **23a** (rendimento 20 %).

Composto **23**: (+)-calareno; $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$

Óleo incolor;

t_r (min): 15,27, IR = 1481

R_f 0,60 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

$[\alpha]_D - +18,4$ (lit.⁶³).

IV (filme/KBr): 1670 e 836 cm^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{CH}}$) e 1360 cm^{-1} (CH_3 gem.) (lit.⁴⁴).

RMN^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) (E R^1H -4): δ : 0,6-0,8 (2H, m, H_7 e H_6), 0,99 (3H, d, $J = 6\text{ Hz}$, H_{15}), 0,97 (3H, s, H_{14}), 1,02 (3H, s, H_{13}), 1,08 (3H, s, H_{12}), 5,25 (1H, s, largo, H_1)^{44, 45}.

RMN^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) (E R^{13}C -4), δ : 120,3 (+, CH, C_1), 27,2 (-, CH_2 , C_2), 25,7 (-, CH_2 , C_3), 36,7 (+, CH, C_4), 36,7 (ausente, $\text{C}_{\text{quat.}}$, C_5), 33,5 (+, CH, C_6), 19,6 (+, CH, C_7), 20,8 (-, CH_2 , C_8), 29,9 (-, CH_2 , C_9), 144,2 (ausente, $\text{C}_{\text{quat.}}$, C_{10}), 18,5 (ausente, $\text{C}_{\text{quat.}}$, C_{11}), 16,5 (+, CH_3 , C_{12}), 29,8 (+, CH_3 , C_{13}), 22,9 (+, CH_3 , C_{14}), 16,1 (+, CH_3 , C_{15}).

EM (70 eV, EM-5): m/z (%): 204 (M^+ , 14), 189 (16), 161 (100), 133 (18), 119 (30), 105 (35), 41 (35).

Epóxido **23a**: $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$;

t_r (min): 21,38, IR = 1587

R_f 0,53, (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

$[\alpha]_D = +19$; (lit. $[\alpha]_D = +21,2^{44}$);

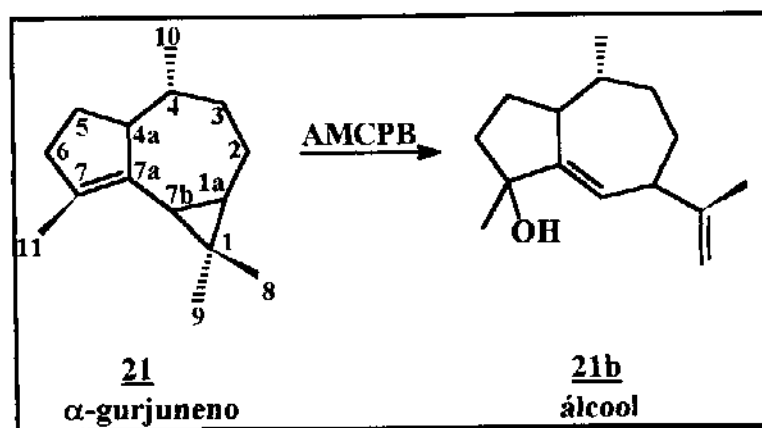
IV (filme/KBr) (E IV-3): $1264,8 \text{ cm}^{-1}$ e $1071,9 \text{ cm}^{-1}(\nu_{C-O-C})$.

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹H-3), δ : 0,7-0,86 (2H, m, H₆ e H₇), 0,87 (3H, d, J=7,5 Hz, H₁₅), 1,08 (3H, s, H₁₄), 1,01 (3H, s, H₁₃), 1,06 (3H, s, H₁₂), 3,01 (1H, s, largo, J=2 Hz, H₁).

RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹³C-3), δ : 63,3 (+, CH, C₁), 26,2 (-, CH₂, C₂), 24,8 (-, CH₂, C₃), 37,2 (+, CH, C₄), 34,7 (ausente, C_{quat.}, C₅), 36,0 (+, CH, C₆), 19,7 (+, CH, C₇), 18,6 (-, CH₂, C₈), 30,4 (-, CH₂, C₉), 64,4 (ausente, C_{quat.}, C₁₀), 18,0 (ausente, C_{quat.}, C₁₁), 18,5 (+, CH₃, C₁₂), 29,4 (+, CH₃, C₁₃), 19,4 (+, CH₃, C₁₄), 16,2 (+, CH₃, C₁₅).

EM (70 eV, EM-4): m/z (%): 220 (M⁺, 10), 205 (12), 187 (10), 163 (30), 138 (35), 119 (28), 91 (50), 67 (42), 41 (100).

Obtenção do α -Gurjuneno oxidado 21b⁴¹



Uma solução do (-)- α -gurjuneno 21 (0,1g, 0,49 mmol), AMCPB 80% (0,1g, 0,46 mmol) e NaHCO₃ (0,1 g, 0,99 mmol) em CH₂Cl₂ (10ml) foi agitada no escuro por 2 horas. Após o término da reação a mistura foi fracionada entre CH₂Cl₂ e

solução aquosa de Na_2SO_3 10%. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de NaHCO_3 10%, seguida por solução de NaCl saturada, secada com Na_2SO_4 anidro. Após a evaporação do solvente o produto bruto foi purificado por CC de sílica gel eluída com gradiente hexano-acetato de etila (5-10%) para retirar o AMCPB. Neste caso em particular obteve-se 22 mg do α -gurjuneno oxidado **21b** (rendimento 21%).

Composto **21**: $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$

Óleo incolor;

t_r (min): 14,8 = 1463

R_f 0,72, (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

$[\alpha]_D = -21,4$ (lit.⁴⁷);

IV (filme/KBr): 1670 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-C}}$) (lit.⁴⁷).

RMN¹H (300 MHz, CDCl_3/TMS) (E R¹H-5), δ : 0,82-1,09 (2H, m, H_{7b} e H_{1a}), 0,84 (s, 3H, H_8), 0,92 (d, 3H, H_{10}), 1,11 (s, 3H, H_9), 1,66 (s, 3H, H_{11})^{46, 47}.

RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) (E R¹³C-5), δ : 21,8 (ausente, $\text{C}_{\text{quat.}}$, C_1), 28,4 (+, CH, C_{1a}), 21,6 (-, CH_2 , C_2), 29,1 (-, CH_2 , C_3), 32,1 (+, CH, C_4), 48,8 (+, CH, C_{4a}), 36,5 (-, CH_2 , C_5), 32,6 (-, CH_2 , C_6), 137,5 (ausente, $\text{C}_{\text{quat.}}$, C_7), 136,7 (ausente, $\text{C}_{\text{quat.}}$, C_{7a}), 25,7 (+, CH, C_{7b}), 16,5 (+, CH_3 , C_8), 29,0 (+, CH_3 , C_9), 18,4 (+, CH_3 , C_{10}), 14,8 (+, CH_3 , C_{11}).

EM (70 eV, EM-6): m/z (%): 204 (M^+ , 70), 189 (55), 161 (70), 133(45), 119 (70), 105 (100), 91(80), 77(40), 41 (96).

α -Gurjuneno oxidado **21b**: $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$;

t_r (min): 22,7; IR = 1610

R_f 0,49 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

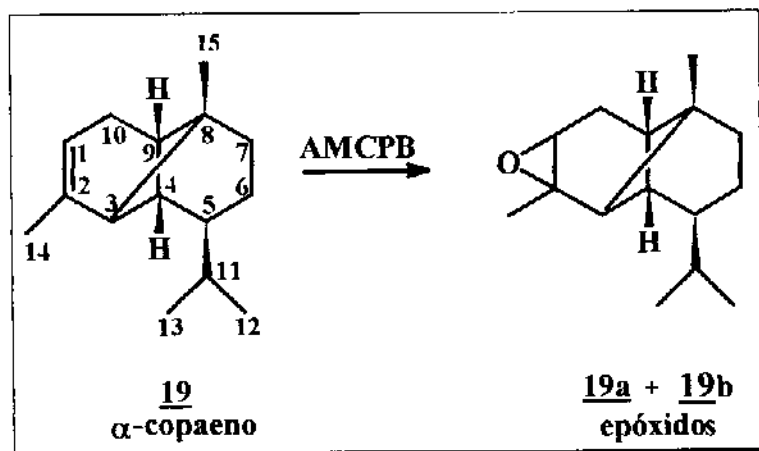
IV (filme/KBr) (E IV-4): $3422,6\text{ cm}^{-1}$ (ν_{OH}), 3110 cm^{-1} e 900 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=CH}_2}$) e $1708,3\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{\text{C=C}}$).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹H-6), δ : H₁, 0,83 (3H, d, J = 8 Hz, H₁₀), 1,27 (3H, s, H), 1,70 (3H, s, H), 4,80 (2H, d, H₉), 5,7 (1H, dd, J = 1,6 Hz, H_{7b}).

RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹³C-6), δ : 146 (ausente, C_{quat}, C₁), 46,7 (+, CH, C_{1a}), 26,9 (-, CH₂, C₂), 32,9 (-, CH₂, C₃), 33,0 (+, CH, C₄), 45,5 (+, CH, C_{4a}), 25,4 (-, CH₂, C₅), 41,4 (-, CH₂, C₆), 80,6 (ausente, C_{quat}, C₇), 152 (+, CH, C_{7a}), 124 (+, CH, C_{7b}), 21,5 (+, CH₃, C₈), 111 (-, CH₂, C₉), 14,8 (+, CH₃, C₁₀), 27,3 (+, CH₃, C₁₁)^{43, 37}.

EM (70 eV, EM-7): m/z (%): 220 (M⁺, 10), 202 (M - 18, 58), 187 (220-33, 40), 162 (40), 91(100), 43 (95).

Obtenção dos Epoxi-Copaeno 19a e 19b⁴¹



Uma solução do α -copaeno 19 (0,1g, 0,49 mmol), AMCPB 80% (0,1g, 0,49 mmol) e NaHCO₃ (0,1 g, 0,99 mmol) em CH₂Cl₂ (10ml) foi agitada no escuro por 2 horas. Após o término da reação a mistura foi fracionada entre CH₂Cl₂ e solução aquosa de Na₂SO₃ 10%. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de NaHCO₃ 10%, seguida por solução de NaCl saturada, secada com Na₂SO₄ anidro. Após a

evaporação do solvente o produto bruto foi purificado por CC de sílica gel eluída com hexano-acetato de etila (5-10%) para retirar o AMCPB. Obteve-se assim uma mistura do α -copaeno **19** e os epóxidos **19a** e **19b** na proporção 1:1,5, rendimento 7%.

Composto **19**: α -copaeno ; $C_{15}H_{24}$

Óleo incolor;

t_r (min): 14,2; IR = 1432

R_f 0,74, (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-8): m/z (%): 204 (M^+ , 15), 161 (75), 119 (95), 105 (100), 91 (60), 77 (30), 41 (68).

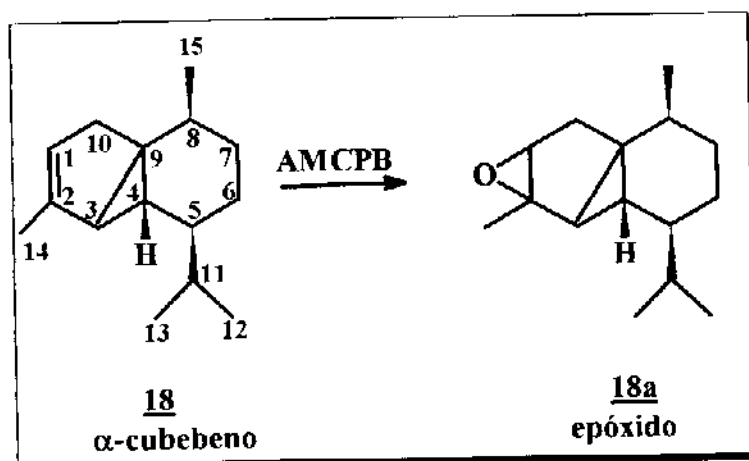
Epóxidos **19a** e **19b**: $C_{15}H_{24}O$;

t_r (min): 24,37 e 26,1; IR = 1660 e 1670

R_f 0,45, (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-9): m/z (%): 220 (M^+ , 8), 205 (7), 177 (42), 135 (30), 121 (27), 107 (77), 91 (50), 43 (83), 41 (100).

EM (70 eV, EM-9a): m/z (%): 220 (M^+ , 30), 205 (7), 177 (60), 121 (30), 107 (50), 93 (75), 43 (38), 41 (100).

Obtenção do α -Epoxi-Cubebeno 18a⁴¹

Uma solução do α -cubebeno 18 (0,1g, 0,49 mmol), AMCPB 80% (0,1g, 0,46 mmol) e NaHCO_3 (0,1 g, 0,99 mmol) em CH_2Cl_2 (10ml) foi agitada no escuro por 1 hora. Após o término da reação a mistura foi fracionada entre CH_2Cl_2 e solução aquosa de Na_2SO_3 10%. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa de NaHCO_3 10%, seguida por solução de NaCl saturada, secada com Na_2SO_4 anidro. Após a evaporação do solvente o produto bruto foi purificado por CC de sílica gel eluída com gradiente hexano-acetato de etila (5-10%) para retirar o AMCPB. Obteve-se assim uma mistura do α -cubebeno 18 com o epóxi-cubebeno 18a (proporção 3,5:1).

Composto 18: α -cubebeno ; $\text{C}_{15} \text{H}_{24}$

Óleo incolor;

t_r (min): 15,42, IR = 1409

R_f 0,75 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-10): m/z (%): 204 (M^+ , 10), 161 (55), 119 (60), 105 (100), 91 (60), 41 (82).

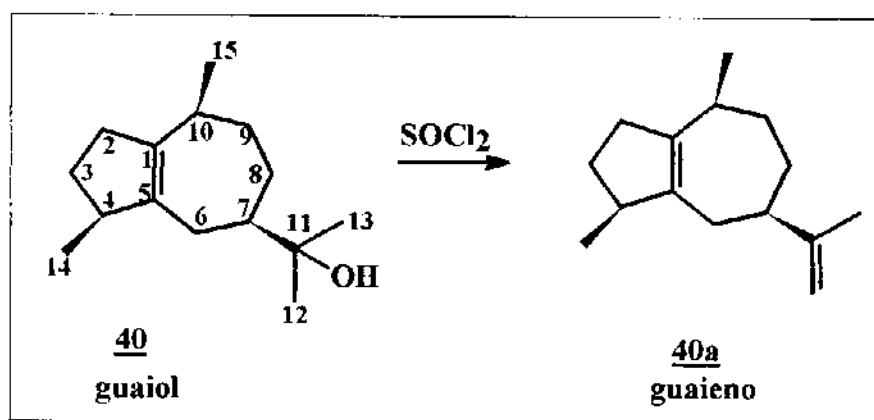
Epóxido **18a**: $C_{15}H_{24}O$;

t_r (min): 21,7, IR = 1593

R_f 0,47 (Hexano:Acetato de Etila, 4:1)

EM (70 eV, EM-11): m/z (%): 220 (M^+ , 0), 202 (5), 159 (100), 128 (14), 105 (16), 77 (10), 41 (20).

Obtenção do α -Guaieno **40a**⁶⁴



A uma solução de 0,4g (0,0018 mmoles) de guaiol **40** em 1,0 ml de piridina à 0°C adicionou-se gota a gota excesso de cloreto de tionila (0,25 ml, 3,5 mmoles)⁶⁴. A mistura foi agitada por 3 horas e em seguida foi deixada durante a noite a temperatura ambiente. A reação foi extraída com éter etílico, secada com K_2CO_3 e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi fracionado em CC de silica gel eluída com hexano-acetato de etila (0-10%) obtendo-se assim 7 mg (9%) do α -guaieno **40a**.

Guaiol **40**: $C_{15}H_{26}O$

Óleo incolor;

t_r (min): 24,65 ; IR = 1672

R_f 0,49 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-12): m/z (%): 222 (M^+ , 5), 204 (25), 189 (25), 161 (100), 119 (32), 105 (60), 81 (35), 59 (60).

α -Guaieno **40a**: $C_{15}H_{24}$;

t_r (min): 14,47, IR = 1435

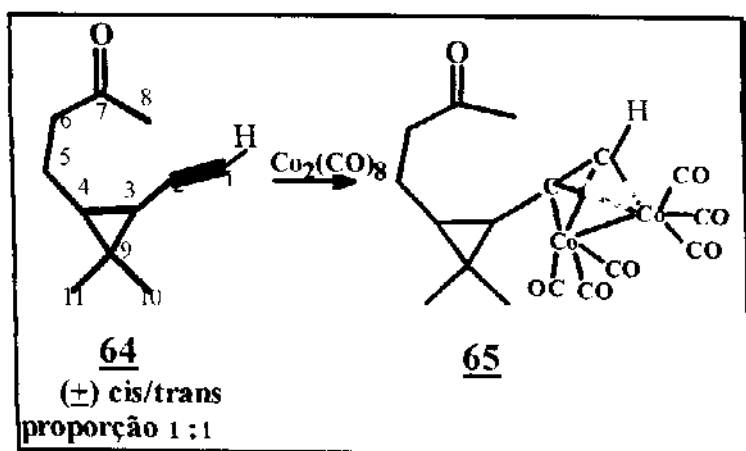
R_f 0,8 (Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

IV (filme/KBr) (E IV-5): $3054,10\text{ cm}^{-1}$ e $895,9\text{ cm}^{-1}$ (ν_{C-CH_2}) e $1705,8\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{C=C}$)^{48, 49, 62}).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹H-7), δ : 0,93 (3H, d, $J = 8\text{ Hz}$, H₁₄), 1,01 (3H, d, $J = 8\text{ Hz}$, H₁₅), 1,60 (3H, s, H₁₃), 4,68 (2H, d, H₁₂).

RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹³C-7), δ : 138,5 (ausente, C_{quat}, C₁), 31,06 (-, CH₂, C₂), 33,7 (-, CH₂, C₃), 46,5 (+, CH, C₄), 152,4 (ausente, C_{quat}, C₅), 33,8 (-, CH₂, C₆), 46,5 (+, CH, C₇), 31,1 (-, CH₂, C₈), 36,3 (-, CH₂, C₉), 33,3 (+, CH, C₁₀), 140,6 (ausente, C_{quat}, C₁₁), 108 (-, CH₂, C₁₂), 20,5 (+, CH₃, C₁₃), 19,8 (+, CH₃, C₁₄), 18,6 (+, CH₃, C₁₅)^{43, 48}.

EM (70 eV, EM-13): m/z (%): 204 (M^+ , 30), 189 (20), 147 (50), 133 (40), 105 (92), 91 (68), 79 (65), 41 (100)

SÍNTESE DO COMPLEXO HEXACARBONILA-DICOBALTO **65**

Uma solução de octacarbonila-dicobalto (0,32 g, 0,94 mmol) em tolueno anidro (50 ml), sob atmosfera de argônio, foi agitada e mantida à 10-15°C. Gotejou-se lentamente (15 minutos) o derivado ciclopropânico, cetoalcino, **64** (0,18 g, 1,1 mmol) diluído em tolueno anidro (15 ml). A mistura foi então agitada à temperatura ambiente por um período de 5 horas. A solução de coloração vermelha foi filtrada em celite, então concentrada sob pressão reduzida e purificada por cromatografia em coluna de alumina neutra, utilizando tolueno para eluir o complexo **65** (0,2 g, 0,44 mmol)⁵⁰. O rendimento obtido foi de 40,5%.

Composto **64**: mistura cis/trans $C_{11}H_{16}O$

t_r (min): 6,75 e 6,8; IR = 1315 e 1316

R_f 0,55/0,58, (Hexano:Acetato de Etila, 4:1);

CG coluna quiral: (E CG-1)

IV (filme/KBr) (E IV-6): 3308,8 e 2110,5 cm^{-1} ($\nu_{C=CH}$), 1715,3 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$)

RMN¹H (300 MHz, $CDCl_3$ /TMS) (E R¹H-8), δ : 0,7-0,9 (2H, m, H_3 e H_4) 1,87 (1H, s, H_1), 1,12 (3 H, s, H_{10}), 1,43 (3 H, s, H_{11}), 2,15 (3H, H_8).

EM (70 eV, EM-14), m/z (%): 164 (M^+ , 1), 149 (5), 121 (10), 106 (15), 91 (65), 77 (30), 43 (100).

Composto **65**: $C_{11}H_{16}OCo(CO)_6$

t_r (min): 9,6;

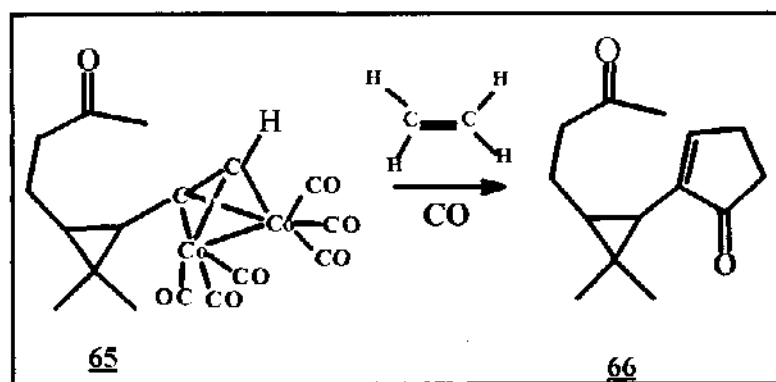
R_f 0,60, (Hexano:Acetato de Etila 4:1);

IV (filme/KBr) (E IV-7): 2087,6, 2047,2 e 2020 cm^{-1} (ν_{C-O}).

RMN¹H (300 MHz, $CDCl_3$ /TMS) (E R¹H-9), δ : 0,98 (3H, s, H_{10}), 1,08 (3H, s, H_{11}), 2,08 (3H, s, H_8), 2,45 (2H, H_6), 5,78 (1H, H_1).

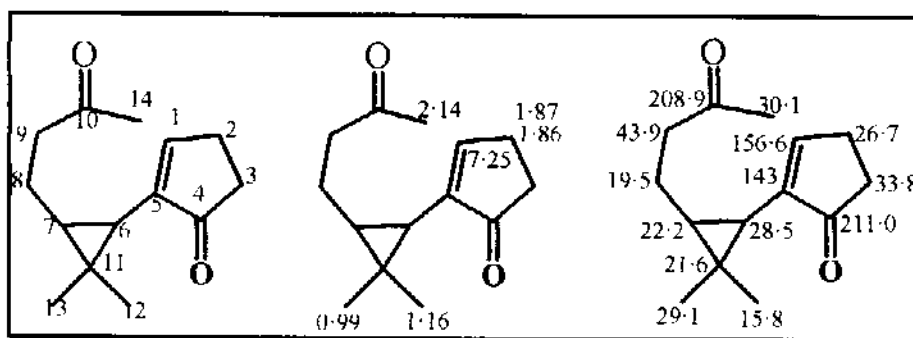
EM (70 eV, EM-15), m/z (%): 450 (M⁺, 0), 280 (1), 230 (5), 195 (40), 173 (42), 115 (22), 101 (6), 43 (100).

Síntese da Nor-Tailoriona **66**



A uma mistura do complexo **65** (0,2 g, 0,44 mmol) em tolueno anidro em ampola de vidro, sob atmosfera de argônio, foi borbulhado etileno e CO durante 10 minutos. Em seguida a ampola foi selada e a mistura aquecida à 90°C em um banho de areia, por um período de 48 horas. A mistura reacional foi filtrada sobre celite e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi purificado por coluna cromatográfica de alumina neutra eluída primeiramente com tolueno, para eliminar os resíduos do complexo e, em seguida eluída com tolueno-acetato de etila (5-10%). Obteve-se 106 mg (43,4%) da mistura cis/trans dos enantiômeros da nor-tailoriona **66**, na proporção 1:3.

A reação foi repetida três vezes com reprodutibilidade sendo que quando os reagentes foram duplicados o rendimento foi de apenas 10%, o que nos leva a crer que o excesso de hexacarbonila-dicobalto seja responsável pelo baixo rendimento obtido.



Nor-Tailoriona **66**: $C_{14}H_{20}O_2$

t_r (min) 28,07/29,5; IR = 1720 e 1736

R_f 0,45, (Hexano:Acetato de Etila 4:1);

CG: coluna quiral (E CG-2)

IV (filme/KBr) (E IV-8): $1706,8\text{ cm}^{-1}$ (ν_{O-CCl_3}), $1603,9\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{C=O}$), $1495,5\text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{C=C}$).

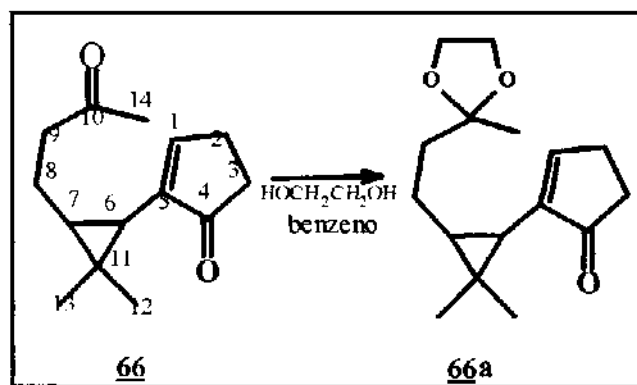
RMN¹H (300 MHz, $CDCl_3$ /TMS) (E R¹H-10), δ : 0,99 (3 H, s, H_{13}), 1,16 (3 H, s, H_{12}), 2,14 (3H, s, H_{14}), 1,87 e 1,86 (2H, H_2), 7,25 (1H, H_1).

RMN¹³C (75,5 MHz, $CDCl_3$ /TMS) (E R¹³C-10), δ : 156,6 (+, CH, C_1), 26,7 (-, CH_2 , C_2), 33,8 (-, CH_2 , C_3), 211, (ausente, $C_{quat.}$, C_4), 143 (ausente, $C_{quat.}$, C_5), 28,5 (+, CH, C_6), 22,2 (+, CH, C_7), 19,5 (-, CH_2 , C_8), 43,9 (-, CH_2 , C_9), 208,9 (ausente, $C_{quat.}$, C_{10}), 21,6 (ausente, $C_{quat.}$, C_{11}), 15,8 (+, CH_3 , C_{12}), 29,1 (+, CH_3 , C_{13}), 30,1 (+, CH_3 , C_{14}).

EM (70 eV, EM-16a), m/z (%): 220 (M^+ , 2), 202 (8), 187 (17), 163 (15), 131 (15), 105 (25), 91 (40), 79 (30), 43 (100).

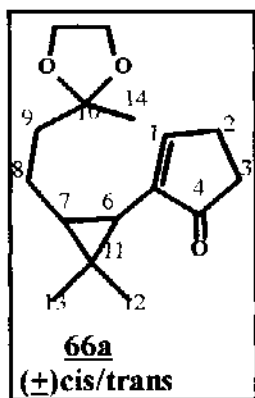
EM (70 eV, EM-16b), m/z (%): 220 (M^- , 2), 202 (8), 187 (17), 163 (15), 147 (15), 119 (18), 96 (30), 91 (38), 79 (26), 43 (100).

Reação de Proteção da Nor-Tailoriona 66⁵⁵



Uma mistura da nor-tailoriona 66 (0,04 g, 0,18 mmol) em benzeno anidro (2 ml), etilenoglicol (0,062 g, 1 mmol) e tosilato de piridina⁶⁵ (0,015 g, 0,06 mmol) foi aquecida sob refluxo por cerca de 2 horas, em banho de óleo à temperatura de 80°C.

A mistura foi extraída com éter etílico (3 x 40 ml) e lavada com solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo. Após a purificação por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com hexano : acetato de etila (4:1) obteve-se 5,45 mg (11,4%) da nor-tailoriona protegida 66a.



Composto **66a**: $C_{16}H_{24}O_2$

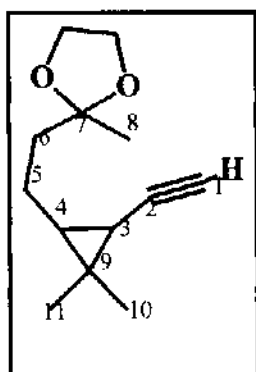
t_r (min) 37,9/38,1

R_f 0,41, Hexano: Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-17a), m/z (%): 264 (M^+ , 5), 249 (3), 221 (2), 203 (2), 177 (4), 133 (2), 115 (3), 87 (100), 43 (50).

EM (70 eV, EM-17b), m/z (%): 264 (M^+ , 5), 249 (3), 221 (2), 203 (2), 177 (3), 133 (2), 115 (3), 87 (100), 43 (48).

Reação de proteção do cetoalcino **64**⁵⁵



Uma mistura do cetoalcino **64** (0,2 g, 1,22 mmol) em benzeno anidro (10 ml), etilenoglicol (0,31 g, 5 mmol) e tosilato de piridina (0,075 g, 0,3 mmol) foi aquecida sob refluxo por cerca de 2 horas, em banho de óleo à temperatura de 80°C. A mistura foi extraída com éter etílico (3 x 50 ml) e lavada com solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e concentrada em evaporador rotativo. Após a purificação por coluna cromatográfica de sílica gel eluída com gradiente hexano-acetato de etila (4:1) obteve-se 20 mg (7,84%) do cetoalcino **64a** protegido.

Composto **64a**: $C_{13}H_{20}O_2$

t_r (min): 17,2/17,7 e 18,1/18,4;

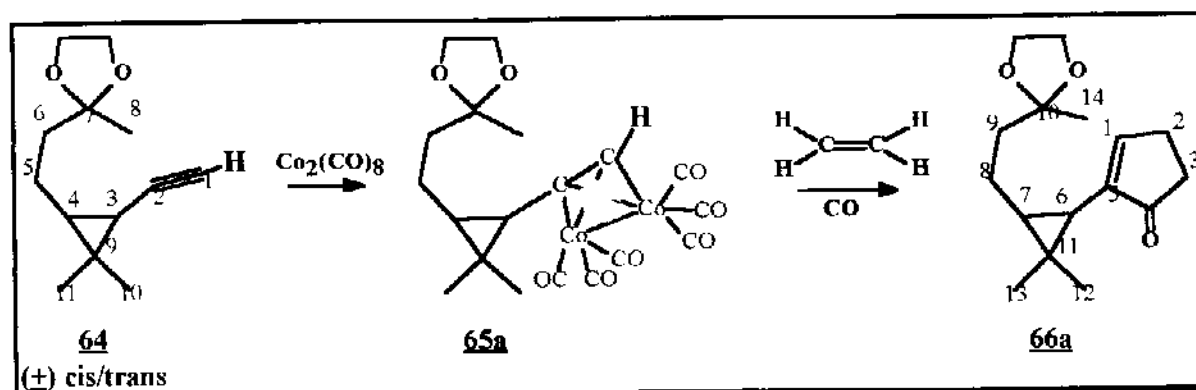
R_f 0,55/0,58, Hexano:Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, EM-18a), m/z (%): 208 (M^+ , 1), 207(1), 182(7), 147(5), 121(5), 91(10), 87(100), 43(83).

EM (70 eV, EM-18b), m/z (%): 208 (M^+ , 1), 207(2), 180(5), 147(10), 119(5), 91(15), 87(95), 43(100).

EM (70 eV, EM-18c), m/z (%): 208 (M^+ , 1), 207(2), 180(5), 147(10), 119(5), 91(15), 87(95), 43(100).

EM (70 eV, EM-18d), m/z (%): 208 (M^+ , 1), 207(1), 182(7), 147(5), 121(5), 91(10), 87(100), 43(88).

Síntese da Nor-Tailoriona **66a** protegida

Uma solução de octacarbonila-dicobalto (0,062 g, 0,18 mmol) em tolueno anidro (5 ml), sob atmosfera de argônio, foi agitada e mantida à 10-15°C enquanto gotejou-se lentamente (15 minutos) o cetoalcino protegido **64a**, (0,02 g, 0,096 mmol) diluído em tolueno anidro (5 ml). A mistura foi então agitada à temperatura ambiente por um período de 5 horas. A solução de coloração vermelha foi filtrada em celite, então concentrada sob pressão reduzida e cromatografada em coluna de alumina neutra, utilizando tolueno para eluir o complexo **65a**.

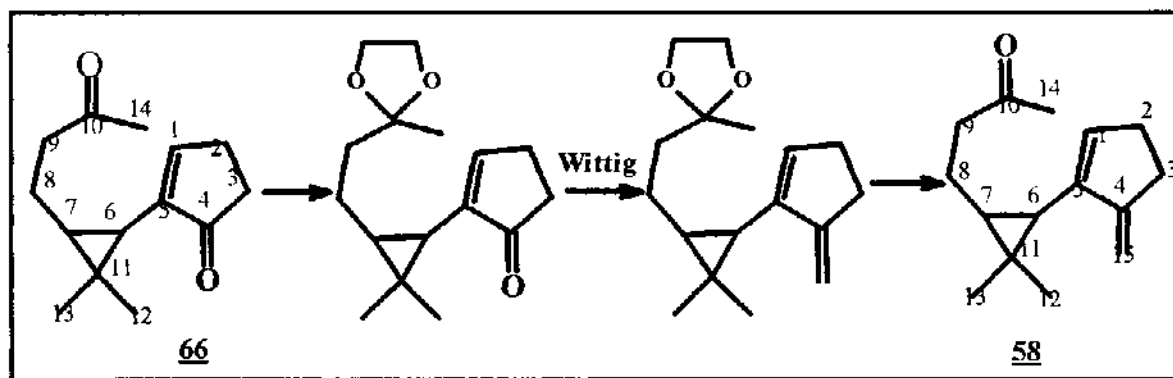
À mistura do complexo **65a** em tolueno anidro, em ampola de vidro sob atmosfera de argônio, foi borbulhado etileno e CO durante 10 minutos. Em seguida a ampola foi selada e a mistura aquecida à 90°C em um banho de areia, por um período de 48 horas. A mistura reacional foi filtrada sobre celite e concentrada em evaporador rotativo. O produto foi purificado por coluna cromatográfica de alumina neutra eluída primeiramente com tolueno, para eliminar os resíduos do complexo e, em seguida eluída com tolueno-acetato de etila (5-10%). Obteve-se assim 6 mg (23,7%) da mistura cis/trans (1:3) da nor-tailoriona **66a**.

Composto **66a**

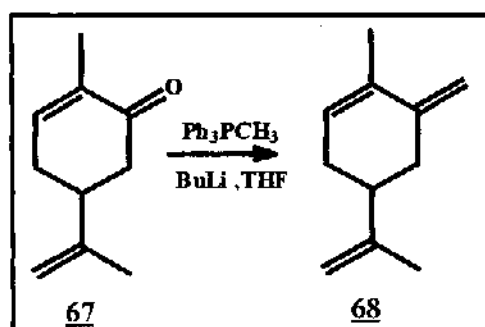
EM (70 eV, EM-17a), m/z (%): 264 (M^+ , 1), 249 (3), 221 (2), 202 (20), 169 (5), 135 (8), 120 (15), 87 (100), 43 (88).

EM (70 eV, EM-17b), m/z (%): 264 (M^+ , 1), 249 (3), 221 (2), 202 (20), 169 (5), 135 (8), 120 (15), 87 (100), 43 (83).

Síntese da (±)-Tailoriona **58**.



Reação de Wittig-Horner com o composto modelo **67**



Em um balão (250 ml) de 3 bocas, equipado com um condensador de refluxo, septo de borracha e um tubo para passagem de gás, foi adicionado uma suspensão de brometo de metilfosfônio seco (4,06 g, 11,4 mmol) em éter etílico anidro (10 ml), sob agitação magnética e atmosfera de argônio. Em seguida foi adicionado lentamente n-BuLi em hexano, 2,5 M (10 ml, 25 mmol) e a solução resultante de coloração avermelhada foi mantida sob agitação por 2 horas, à temperatura ambiente. Em seguida foi feita a adição da carvona **67** (0,22 g, 1,46 mmol) em éter etílico (5 ml). A mistura ficou sob agitação por 12 horas à temperatura ambiente, quando então o éter etílico foi removido seguido pela adição de tetrahidrofurano anidro (20 ml)⁶⁶.

A mistura foi refluxada por 6 horas, seguida pela evaporação do solvente e adição de água gelada (10 ml) no resíduo obtido, a fim de destruir o excesso do reagente de Wittig. A mistura resultante foi extraída com éter etílico (3 x 20 ml), lavada com solução saturada de NaCl (2 x 15 ml), tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida.

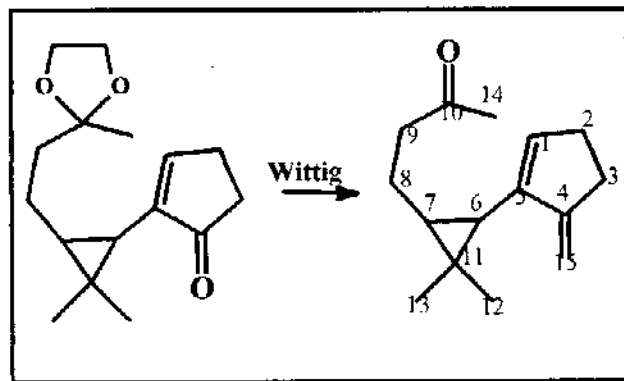
A análise por C.C.D. apresentou duas manchas, o produto e o substrato não reagido. Purificação por cromatografia de coluna em sílica gel eluída com gradiente hexano-acetato de etila 20%, forneceu o composto **68** impuro.

Composto **67**:

t_r (min) 5,5; IR = 1270

R_f 0,75, Hexano:Acetato de Etila, 4:1);

EM (70 eV, E-19), m/z (%): 148 (M^+ , 15), 105 (65), 91 (100), 79 (45)

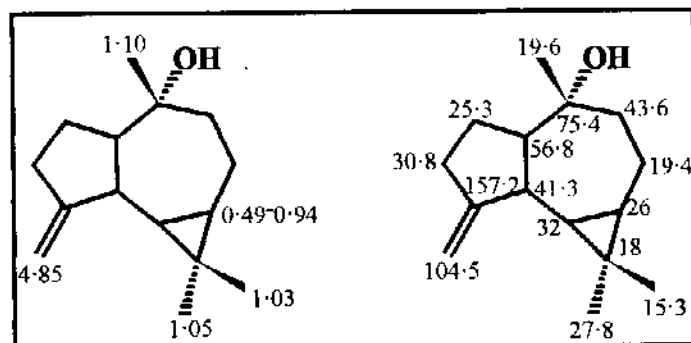
Reação de Wittig-Horner com a molécula alvo nor-tailoriona 66a

Em um balão (250 ml) de 3 bocas, equipado com um condensador de refluxo, septo de borracha e um tubo para passagem de gás, foi adicionado uma suspensão de brometo de metilfosfônio seco (4,06 g, 11,4 mmol) em éter etílico anidro (10 ml), sob agitação magnética e atmosfera de argônio. Em seguida foi adicionado lentamente *n*-BuLi em hexano, 2,5 M (10 ml, 25 mmol) e a solução resultante de coloração avermelhada foi mantida sob agitação por 2 horas, à temperatura ambiente. Em seguida foi feita a adição do composto 66a (0,012g, mmol) em éter etílico (5 ml). A mistura ficou sob agitação por 12 horas à temperatura ambiente, quando então o éter etílico foi removido seguido pela adição de tetrahidrofurano anidro (20 ml).

A mistura foi refluxada por 30 horas, seguida pela evaporação do solvente e adição de água gelada (10 ml) no resíduo obtido, a fim de destruir o excesso do reagente de Wittig. A mistura resultante foi extraída com éter etílico (3 x 20 ml), lavada com solução saturada de NaCl (2 x 15 ml), tratada com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida.

A C.C.D. não apresentou a formação da tailoriona 58.

**ISOLAMENTO DO 7-METILENO, 1,1,4-TRIMETIL-TRICICLO (6.3.0.0)
UNDECANE-4-HIDROXI 39 DE *B. DRACUNCULIFOLIA***



COLUNA DE MÉDIA PRESSÃO (LOBAR)

60 g de óleo de *B. dracunculifolia* (2 colunas de 30 g) foram fracionados em coluna de média pressão, Lobar Grobe B (310-25) Lichroprep. Si 60 (40-63 μ m). Utilizou-se como sistema de eluentes hexano e acetato de etila, combinados em ordem crescente de polaridade. Foram coletadas frações de 100 ml e concentradas em evaporador rotativo. As placas de CCD foram eluídas em hexano-acetato de etila 20%. A visualização e revelação foram feitas como descrito anteriormente.

As frações polares combinadas 24-25 (3 g) foram fracionadas em coluna de média pressão, Lobar-Grobe. Utilizou-se como solvente diclorometano. Foram coletadas 70 frações de 20 ml cada. As placas de CCD foram eluídas com hexano-acetato de etila 20% e as frações polares 62-70 (0,2 g) foram combinadas e concentradas em evaporador rotativo.

0,3 g do óleo da fração 62-70 foram fracionados em sílica gel 60 (0,05-0,20 mm) da Carlo Erba. Como eluente utilizou-se hexano-acetato de etila 20%. Foram coletadas 20 frações de 1ml cada, seguidas por concentração em evaporador rotativo. As placas de CCD foram eluídas com hexano:acetato de etila 20%.

Utilizou-se placas de CCP para separar o composto **39** presente nas frações 10-11. As placas foram eluídas com hexano-acetato de etila 18% obtendo-se assim o composto **39** da fração média.

Composto **39**: 4-hidroxi-7-metileno-1,1,4-trimetil-triciclo (6.3.0.0) undecano, $C_{15}H_{24}O$

t_r (min) 25,2; IR = 1663

R_f 0,41, (Hexano:Acetato de Etila, 4:1);

IV (filme/KBr) (E IV-1): $3423,9\text{ cm}^{-1}$ (ν_{OH}), $1654,7$ e $893,3\text{ m}^{-1}$ ($\nu_{C=CH_2}$).

RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹H-1), δ : 0,49-0,94 (2 H, m, H_{1a}, H_{7b}), 1,03 (3 H, s, H₈), 1,05 (3H, s, H₉), 1,10 (3H, H₁₀), 4,85 (2H, d, H₁₁).

RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) (E R¹³C-1), δ : 18,0 (ausente, C_{quat}, C₁), 26,0 (+, CH, C_{1a}), 19,4 (-, CH₂, C₂), 43,6 (-, CH₂, C₃), 75,4 (ausente, C_{quat}, C₄), 56,8 (+, CH, C_{4a}), 25,3 (-, CH₂, C₅), 30,8(-, CH₂, C₆), 157,2 (ausente, C_{quat}, C₇), 41,3 (+, CH, C_{7a}), 32,0 (+, CH, C_{7b}), 15,3 (C_{quat}, C₈), 27,8 (ausente, C_{quat}, C₉), 19,6 (C_{quat}, C₁₀), 104,5 (-, CH₂, C₁₁).

EM (70 eV, EM-1), m/z (%): 220 (M⁺, 2), 202 (20), 187 (15), 159 (40), 133 (50), 120 (70), 91 (50), 79 (40), 43 (100).

BIBLIOGRAFIA

- 1- J. B. HARBONE. Biochemistry of Plant Pollination in Introduction to Ecological Biochemistry. 3a. ed., Academic Press, **1988**, 42-81.
- 2- C. A. KEARS and D. W. INOUE. Techniques for Pollination Biologists. University Press of Colorado, **1993**, 46-57.
- 3- P. E. BOLDT. *Baccharis*, (Asteraceae). A Review of Its Taxonomy, Phytochemistry, Ecology, Economic Status, Natural Enemies and Potential for Its Biological Control in the United States The Texas Agricultural Experiment Station, The Texas A&M University System, College Station. Station 77843, **1989**.
- 4- I. LOAYZA, D. ABUJDER, R. ARANDA, J. JAKUPOVIC, G. COLLIN, H. DESLAURIERS and JEAN FRANCE-IDA. Essential Oils of *Baccharis salicifolia*, *B. latifolia* and *B. dracunculifolia*. *Phytochemistry* **1995**, 38, 381-389.
- 5- C. ZDERO, F. BOHLMAN, J. C. SOLOMON, R. M. KING and H. ROBINSON. Ent-Clerodanes and other constituents from Bolivian *Baccharis* species. *Phytochemistry* **1989**, 28, 531-542.
- 6- C. L. QUEIROGA, A. FUKAI and A. J. MARSAIOLI. Composition of the Essential Oil of Vassoura. *J. Braz. Chem. Soc.* **1990**, 1, 105-109.
- 7- O. MOTL and A. TRKA. Zusammensetzung des brasilianischen Vassoura-Öls (aus *Baccharis dracunculifolia*). *Parfume. Kosm.* **1983**, 64, 488-491.

- 8- P. WEYERSTAHL, H. MARSCHALLA-WEYERSTAHL and C. CHRISTIANSEN. New Sesquiterpenes of *Baccharis dracunculifolia* Leaf Oil. *Planta Med.* **1990**, 56, 542.
- 9- P. WEYERSTAHL, C. CHRISTIANSEN and H. MARSCHALL. Isolation and Synthesis of Isohumbertiol, the First Naturally Occurring Sesquiterpene Alcohol with Humbertian Skeleton. *Leibigs Ann. Chem.* **1992**, 1325-1328.
- 10- L. de SILVA G. A. BAUER, , N. C. S. SIQUEIRA, C. T. M. BACHA and B. M. S. SANT'ANA. Os Óleos Essenciais de *Baccharis dracunculifolia* DC e *Baccharis genistelloides* Pers do Rio Grande do Sul. *Revista Centro de Ciências da Saúde* **1978**, 6, 7-12.
- 11- V. L. FERRACINI, L. C. PARAIBA, H. F. LEITÃO FILHO, , A. G. DA SILVA, L. R. NASCIMENTO and A. J. MARSAIOLI. Essential Oil of Seven Brazilian *Baccharis* Species. *J. Essent. Oil Res.* **1995**, 7, 355-367.
- 12- H. VAN DEN DOOL and P. D. J. KRATZ. A generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography. *J. Chromatogr.* **1963**, 11, 463-471.
- 13- W. JENNINGS and T. SHIBA MOTO. Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by glass capillary Gas Chromatography. Academic Press, **1980**.
- 14- B. MAURER, A. HAUSER and O. GUNTHER. New Sesquiterpenoids from Cabreuva Oil. *Helv. Chim. Acta* **1968**, 69, 2026-2037.

- 15- P. WEYERSTAHL, C. CHRISTIANSEN and H. MARSCHALL. New Sesquiterpene Ethers and Other Constituents Isolated from Brazilian Vassoura Oil. *Leibigs Ann.Chem.* **1995**, 1039-1043.
- 16- R. KLEIMAN and S.A. GRAHAM. The taxonomic implications of fatty acid composition of seed oils of the Compositae, Compositae, International Compositae Conference, Royal Botanic Gardens, Kew, England, **1994**.
- 17- C. L. QUEIROGA. Tese de Mestrado, IQ/UNICAMP, **1989**.
- 18- F. INAGAKI and A. ABE. Analysis of ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Spathulenol by Two-Dimensional Methods. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1985**, 1773-1778.
- 19- V. L. V. ARRUDA e M. SAZIMA. Polinização e reprodução de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sarg. (Ulmaceae), uma espécie anemófila. *Rev. Bras. Bot.* **1988**, 11, 113-122.
- 20- L. TOLLSTEN and D. O. OVSTEDAL. Differentiation in floral scent chemistry among populations of *Conopodium majus* (Apiaceae). *Nord. J. Bot.* **1994**, 14, 361-367.
- 21- L. TOLLSTEN, J. T. KNUDSEN and L. G. BERGSTROM. Floral Scent in Generalistic *Angelica* (Apiaceae)-an Adaptive Character ? *Biochem. Syst. Ecol.* **1994**, 22, 161-169.
- 22- J. T. KNUDSEN. Floral scent variation in the *Pyrola rotundifolia* complex in Scandinavia and Western Greenland. *Nord. J. Bot.* **1994**, 14, 277-282.

- 23- C. J. F. terBRAAK. Canoco-Fortran program canonical community ordination by [partial detrended canonical] correspondence analysis, principal component analysis and redundancy analysis. (version 2.1). Technical Report. Wageningen, Agriculture Mathematics Group, **1988**.
- 24- P. MATILE and R. ALTENBURGER. Rhythms of fragrance emission in flowers. *Planta* **1988**, 174, 242-247.
- 25- H. G. GAUCH. Multivariate analysis in community data. Cambridge, Cambridge University Press, **1982**.
- 26- C. J. F. terBRAAK. Update notes: Canonic version 3.10. Wageningen, Agricultural Mathematics Group, **1990**.
- 27- M. KATAYAMA, S. MARUMO and H. HATTORI. The Revised Structure of Sclerosporin. A Sporogenic Substance of *Sclerotinia fructicola*. The Total Synthesis of ($\pm$)-Scleroscopin. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 1703-1706.
- 28- J. F. SANZ, J. A. MARCO. *Phytochemistry* **1991**, 30, 2788-2790.
- 29- C. L. QUEIROGA. Tese de Doutorado, IQ/UNICAMP, **1994**.
- 30- A. A. NEWMAN. Chemistry of Terpenes and Terpenoids, Academic Press, London, **1972**, p. 337-346.
- 31- M. LUCKNER. Secondary Metabolism in Plants and Animals, Chapman and Hall, London, **1972**, p. 130-132.

- 32- A. MATSUO, S. SATO, M. NAKAYAMA and S. HAYASHI. Structure and Configuration of (-) Taylorione, a Novel Carbon Skeletal Sesquiterpene Ketone of ent-1, 10-seco-Aromadendrane Form, from *Mylia taylorii* (Liverwort). *J. Chem. Soc. Perkin I* **1979**, 2652-2656.
- 33- A. MATSUO, M. NAKAYAMA, T. MAEDA, Y. NODA and S. HAYASHI. Enantiomeric Cuparene-Type Sesquiterpenoids from *Bazzania Pompeana*. *Phytochemistry* **1975**, 14, 1037-1040.
- 34- A. MATSUO, S. SATO, M. NAKAYAMA and S. HAYASHI. Taylorione, A Novel Carbon Skeletal Sesquiterpene Ketone From The Liverwort, *Mylia taylorii* (Hock.) Gray. *Tetrahedron Letters* **1974**, 42, 3681-3684.
- 35- L. J. HARRISON and H. BECKER. A Nor-Seco-Aromadendrane from Liverwort *Mylia Taylorii*. *Phytochemistry* **1989**, 28, 1261-1262.
- 36- D. TAKAOKA, N. KOUYAMA, H. TANI and A. MATSUO. Structures of Three Novel Dimeric Sesquiterpenoids from the Liverwort *Mylia taylorii*. *J. Chem. Res.* **1991**, 180-181.
- 37- Y. OSHIMA, T. IWAKAWA and H. HIKINO. Alismol and Alismoxide, Sesquiterpenoids of *Alisma* Rhizomes. *Phytochemistry* **1983**, 22, 183-185.
- 38- M. BORBOLOI, V. S. SHUKLA, S. C. MATH and R. M. SHARMA. Review Article Number 45. Naturally Occurring cadinenes. *Phytochemistry* **1989**, 28, 2007-2037.

- 39- A. K. BORD-KARLSON, T. NORIN and A. TALVITIE. Configurations and Conformations of Torreyol (δ -cadineno), α -cadinol, T-muurolol and T-cadinol. *Tetrahedron* **1981**, 37, 425-430.
- 40- F. W. Mc Lafferty and D. B. Stauffer. The Wiley/ NBS Registry of Mass Spectral Data. John Wiley & Sons, **1986**
- 41- F. BOHLMANN, C. ZDERO, R. M. KING and H. ROBINSON. Neue Aromadendren-Derivative aus *Wyethia arizonica*. *Planta Medica* **1984**, 2, 117-204.
- 42- G. BUCHI, W. HOFHEINZ and V. PAUKSTELIS. The Synthesis of (-) Aromadendrene and Related Sesquiterpenes. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 6473-6478.
- 43- R. FAURE. Two Dimensional Nuclear Magnetic Resonance of Sesquiterpenes- Part 2. Total Assignment of (+) Aromadendrene, (+) Longicyclene, and γ -Gurjunene by Two-Dimensional Inadequate Method. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* **1987**, 341-344.
- 44- J. STREITH, P. PESNELLE et G. OURISSON. Le β -Gurjunene. Identification avec le calarène. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1963**, 518-522.
- 45- G. BUCHI, F. GRUNTER and T. TOKOROYAMA. Structure of Calarene and Stereochemistry of Aristolone. *T. Lett.* **1962**, 18, 827-833.
- 46- M. PALMADE, P. PESNELLE, J. STREITH et G. OURISSON. L-' α -Gurjunene. I- Structure et Stereochimie. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1963**, 1950-1959.

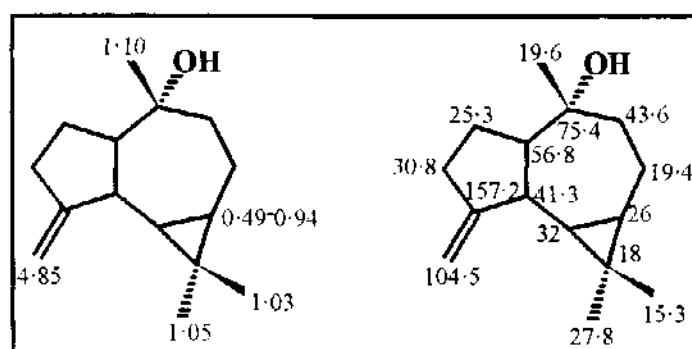
- 47- J. STREITH et G. OURISSON L- α -Gurjunene II -Quelques Reactions de l- α -Gurjunene. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1963**, 1960-1965.
- 48- M. ISHIHARA, T. TSUNEYA and K. UNEYAMA. Guaiene Sesquiterpenes from Agarwood. *Phytochemistry* **1991**, 30, 3343-3347.
- 49- K. TAKEDA, H. MINATO and S. NOSAKA. Studies on Sesquiterpenoids-III. Some Derivatives of Guaiol. *Tetrahedron* **1961**, 13, 308-318.
- 50- P. L. PAUSON. The Khand Reaction. A Convenient and General Route to a Wide Range of Cyclopentenone Derivatives. *Tetrahedron* **1985**, 41, 5855-5860.
- 51- P. MAGNUS, C. EXON and P. ALBAUCH-ROBERTSON. Dicobaltoctacarbonyl-Alkyne Complexes As Intermediates In The Synthesis Of Bicyclo [3.3.0] Octenones For The Synthesis Of Coriolin And Hirsutic Acid. *Tetrahedron* **1985**, 41, 5861-5869.
- 52- P. MAGNUS and L. M. PRINCIPE. Origins of 1,2-1,3-Stereoselectivity In Dicobaltoctacarbonyl-Alkyne Cyclizations For The Synthesis Of Substituted Bicyclo [3.3.0] Octenones. *Tetrahedron Letters* **1985**, 26, 4851-4854.
- 53- A. J. Marsaioli, F. Y. Fujiwara, M. A. Foglio, N. Sharapin and Jin-Sheng Zhang. Proton and Carbon-13 NMR and Conformation in Solution of Some Amorphanes (Quinghaosu Derivatives). *Magnetic Resonance in Chemistry*, **1994**, 32, 583-590.
- 54- C. Johnstone W. J. Kerr and U. Lange. Total Synthesis of (+) taylorione utilising Modified Pauson-Khand Reaction Methodology. *J. Chem. Soc., Chem. Com.*, **1995**, 457-458.

- 55- R. STERZYCKI. Pyridinium Tosylate, A Mild Catalyst for Formation and Cleavage of Dioxolane-Type Acetals. *Synthesis* **1979**, 724-725.
- 56- E. J. COREY, M. OHNO, R. B. MITRA, P. A. VATAKENCHERRY. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 478.
- 57- N. L. ALLINGER, M. P. CAVA, D. C. JONGH, C. R. JOHNSON, N. A. LEBEL, C. L. STEVENS,. Química Orgânica, 2a. ed., Guanabara Dois, R. J., **1978**, p. 88.
- 58- Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography, Merck, Darmstadt, Germany, **1971**, p. 07.
- 59- D. D. PERRIN, W. L. F. ARMAREGO e D. R. PERRIN, Purification of Laboratory Chemical, 2a ed., A. Wheaton & Co. Ltd., Great Britain, (Pergamon Press, New York), **1980**.
- 60- SAS Institute Inc. SAS/SAT Users Guide. Release 6.03. Edition (Cary, NC:SAS Institute Inc. **1988**, p. 1028.
- 61- J. NETER and W. WASSERMAN. Applied Linear Statistical Models. Richard D. Irwin, Inc. **1974**, p. 842.
- 62- W. K. ANDERSON and VEYSOGLU T. A simple Procedure for the Epoxidation of Acid-Sensitive Olefinic Compounds with m-Chlorobenzoic Acid in an Alkaline Biphasic Solvent System. *J. Org. Chem.* **1973**, 38, 2267-2268.

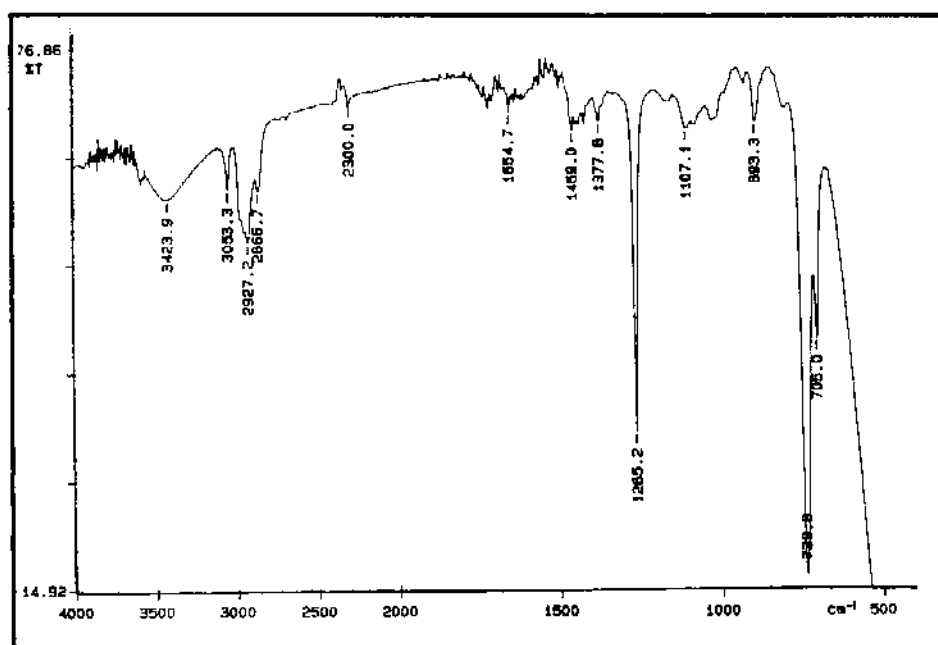
- 63- F. SORM, M. HOLUB, J. MLEZIVA, M. STREIBL, J. PLIVA, B. SCHENEIDER and V. HEROUT. On Terpenes. XLVI. Sesquiterpenic Hydrocarbons From Oil Of Sweet Flag. *Coll. Czech. Chem. Com.* **1953**, 18, 512-525.
- 64- Minato Hitoshi. Absolute Configuration of the Substituent At C-7 in Guaiol. *Tetrahedron Lett.* **1961**, 8, 280-284.
- 65- N. MIYASHITA, A. YOSHIKOSHI and P. A. GRIECO, Pyridinium p-Toluenesulfonate. A Mild and Efficient Catalyst for the Tetrahydropyranylation of Alcohols. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, 3772-3774.
- 66- R. T. NOGUEIRA. Tese de Mestrado, IQ/UNICAMP, **1991**

ESPECTROS

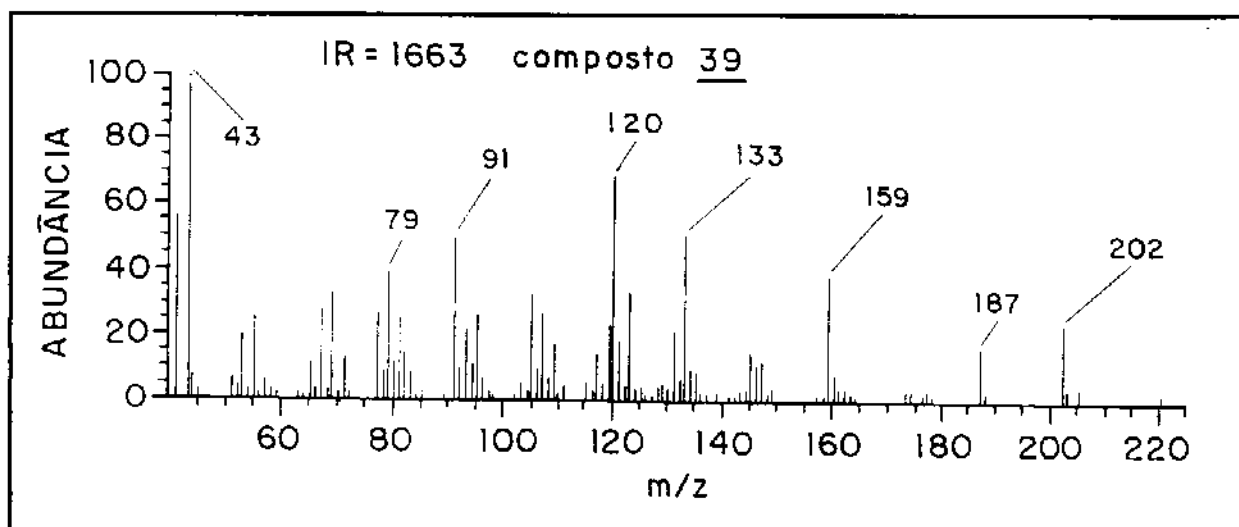
Espectros do 4-hidroxi 7-metileno-1, 1, 4-trimetil- triciclo-(6.3.0.0)-undecano 39



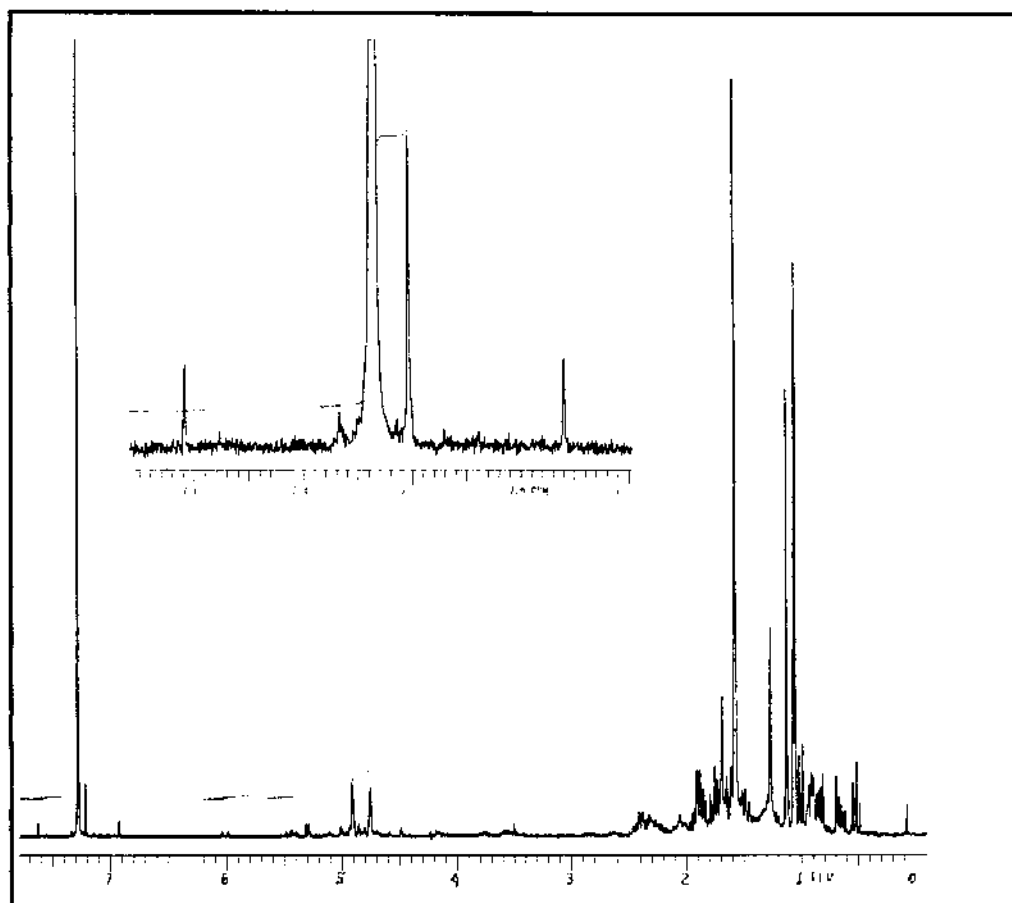
RMN¹H e RMN¹³C do 4-hidroxi 7-metileno-1,1,4 - trimetil-triciclo-(6.3.0.0)-undecano 39



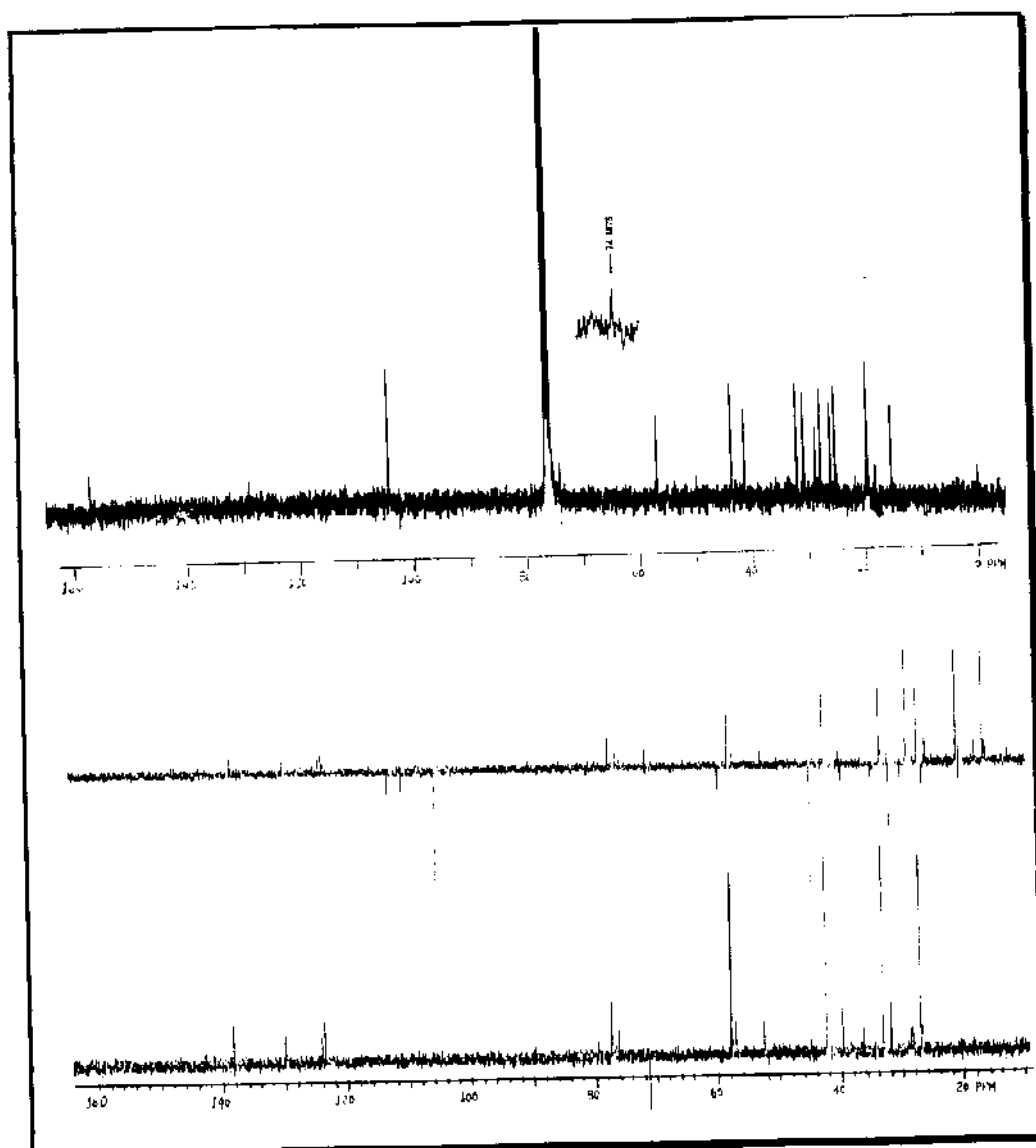
E IV-1: Espectro de IV (filme/KBr) do 4-hidroxi 7-metileno, 1,1,4 - trimetil-triciclo-(6.3.0.0)-undecano 39



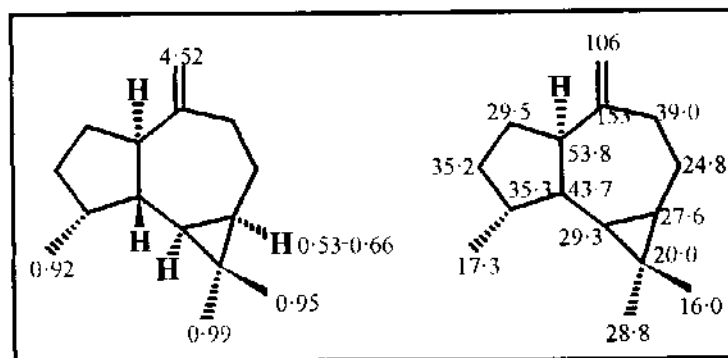
EM-1: Espectro de massas do 4-hidroxi 7-metileno, 1,1,4 - trimetil-triciclo-(6.3.0.0)-undecano 39



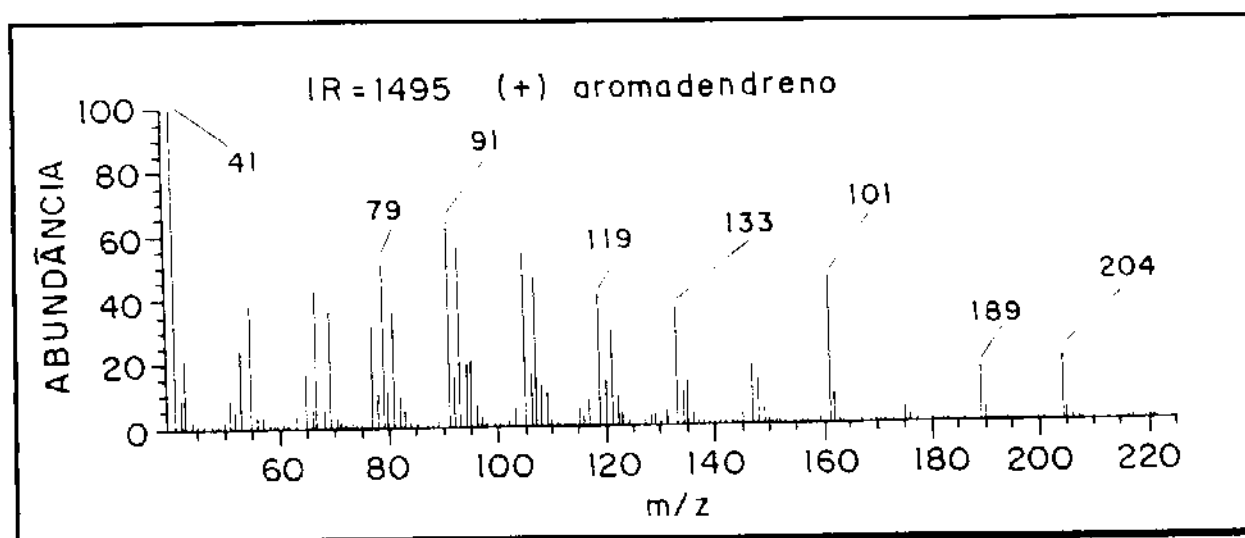
E R¹H-1: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do 4-hidroxi 7-metileno-1,1,4 - trimetil-triciclo-(6.3.0.0)-undecano 39



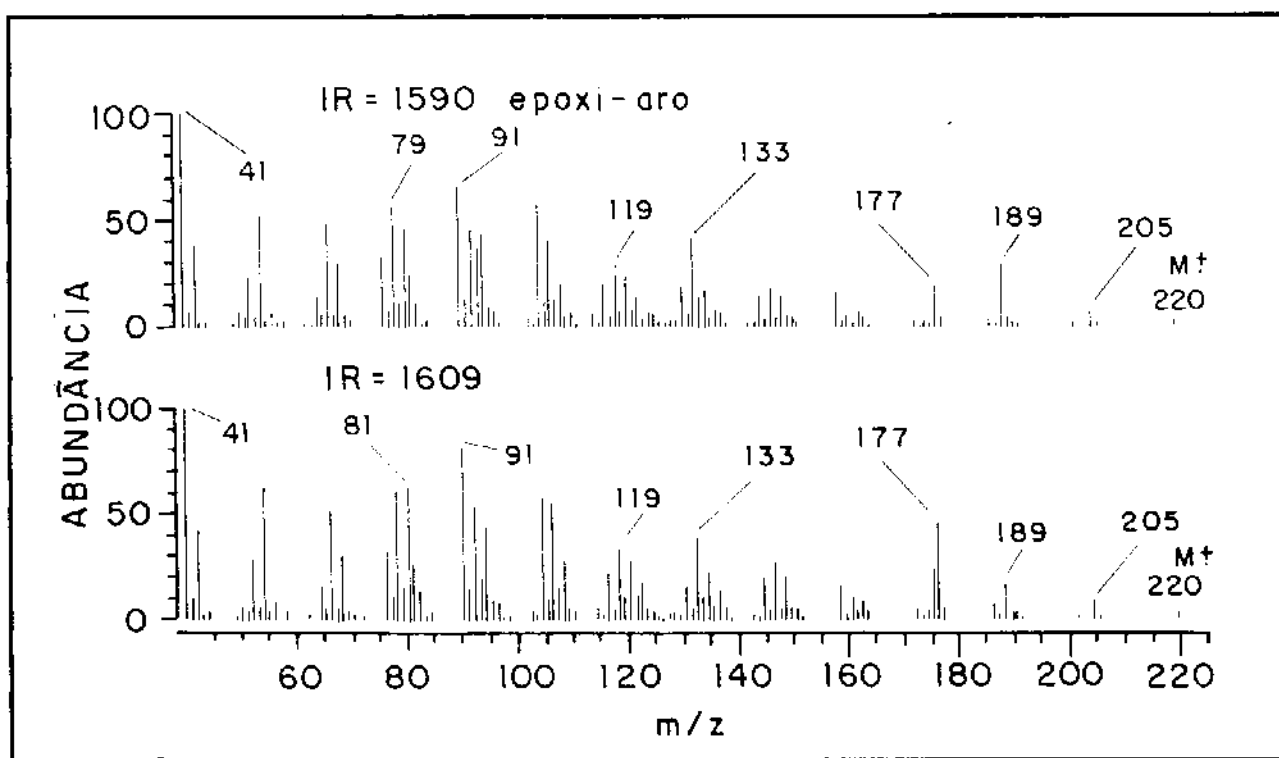
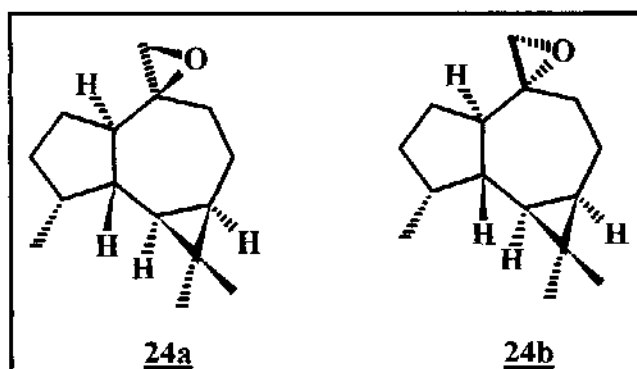
E R ^{13}C -1: Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do 4-hidroxi 7-metileno-1,1,4 trimetil-triciclo-(6.3.0.0)-undecano **39**

Espectro do (+) aromadendreno 24

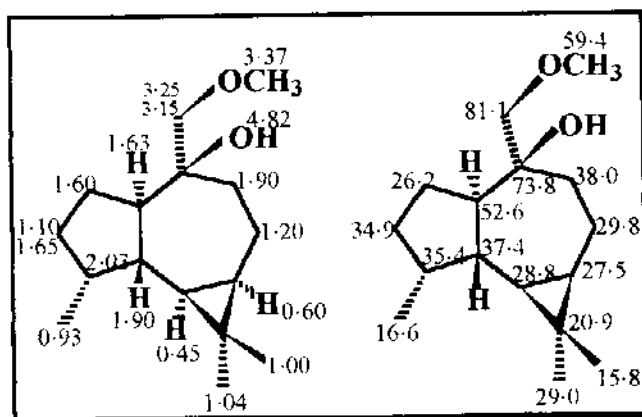
RMN^1H e RMN^{13}C para o aromadendreno 24



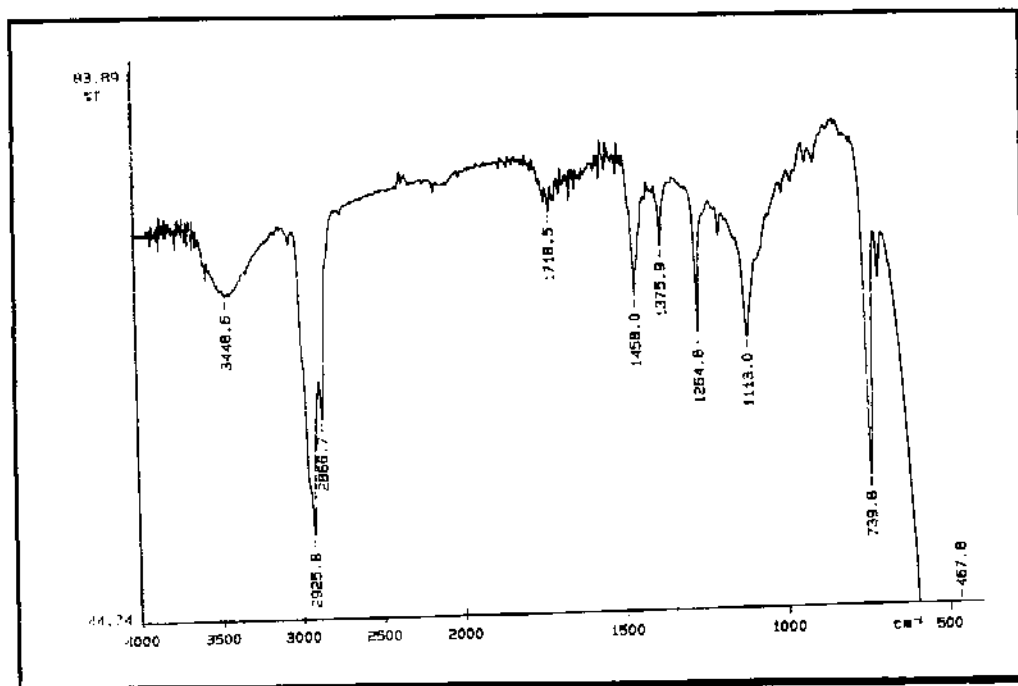
EM-2: Espectro de massas do aromadendreno 24

Espectros dos epóxidos do aromadendreno **24a** e **24b**EM-2a e 2b: Espectros de massas dos epóxidos do aromadendreno **24a** e **24b**

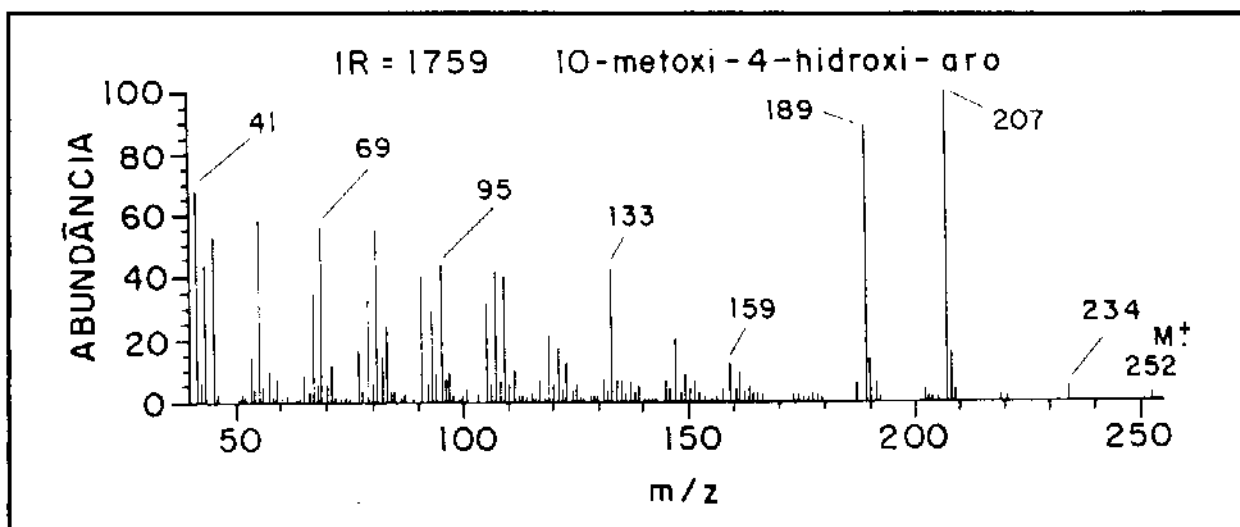
Espectros do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**



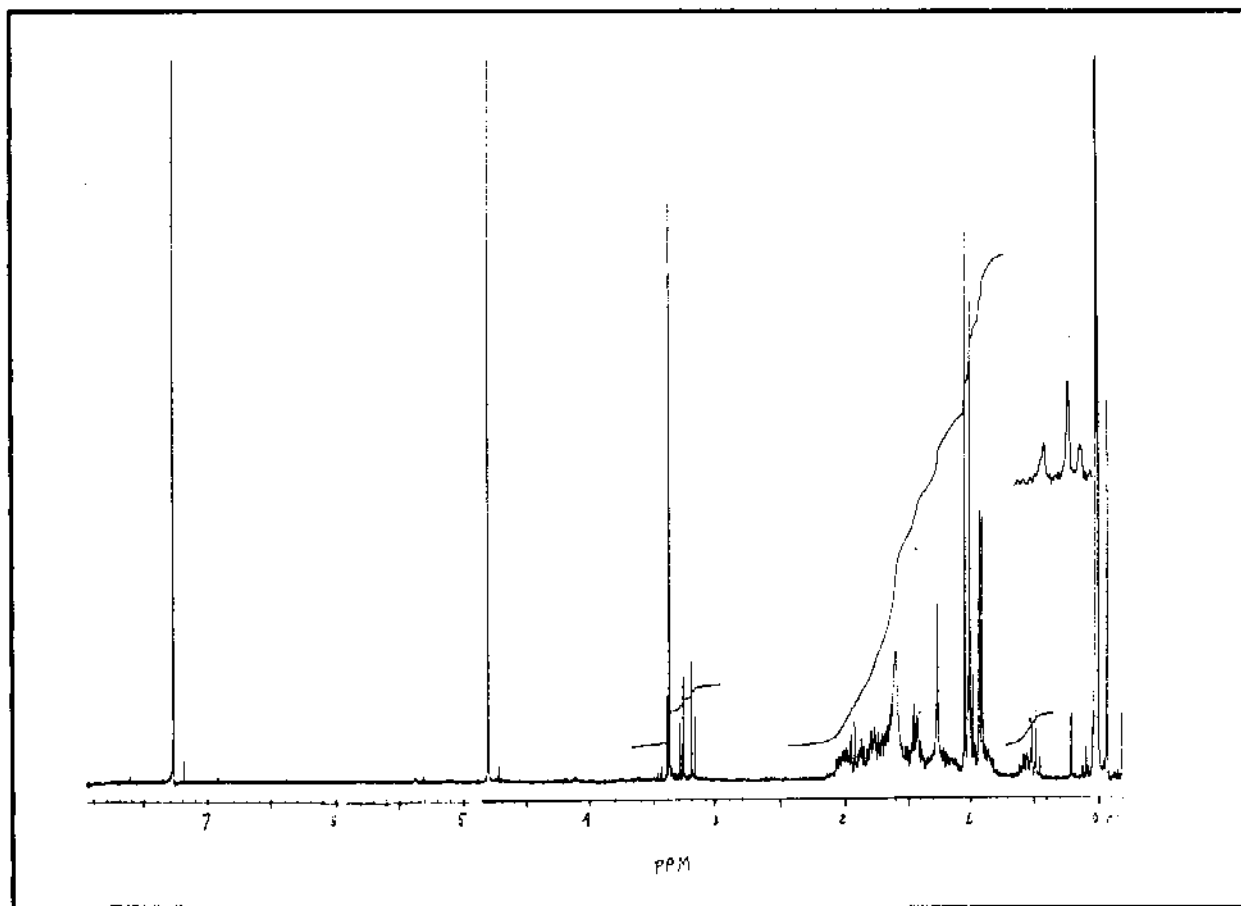
RMN ^1H e RMN ^{13}C para o 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**



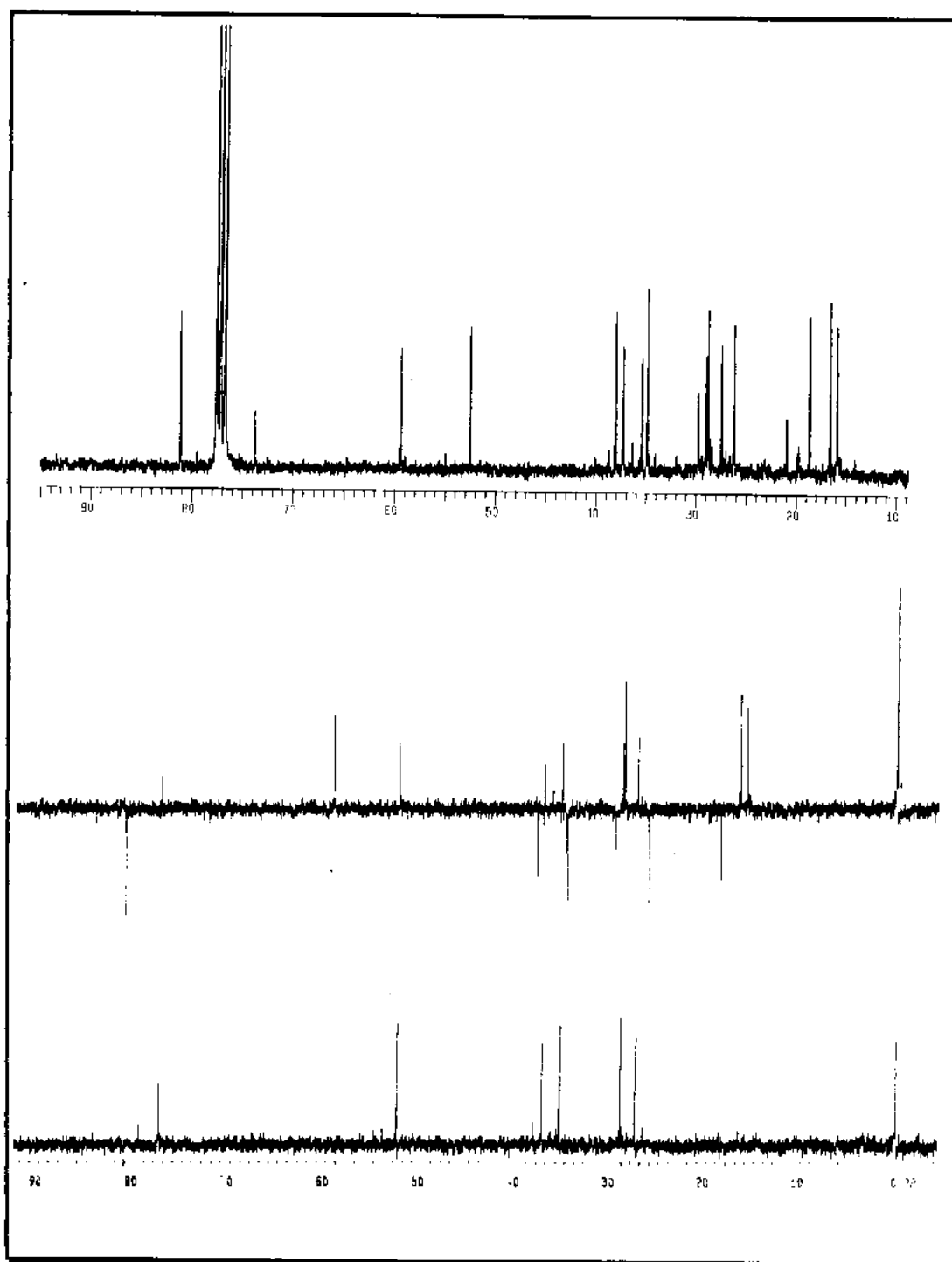
E IV-2: Espectro de IV (filme/KBr) do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**



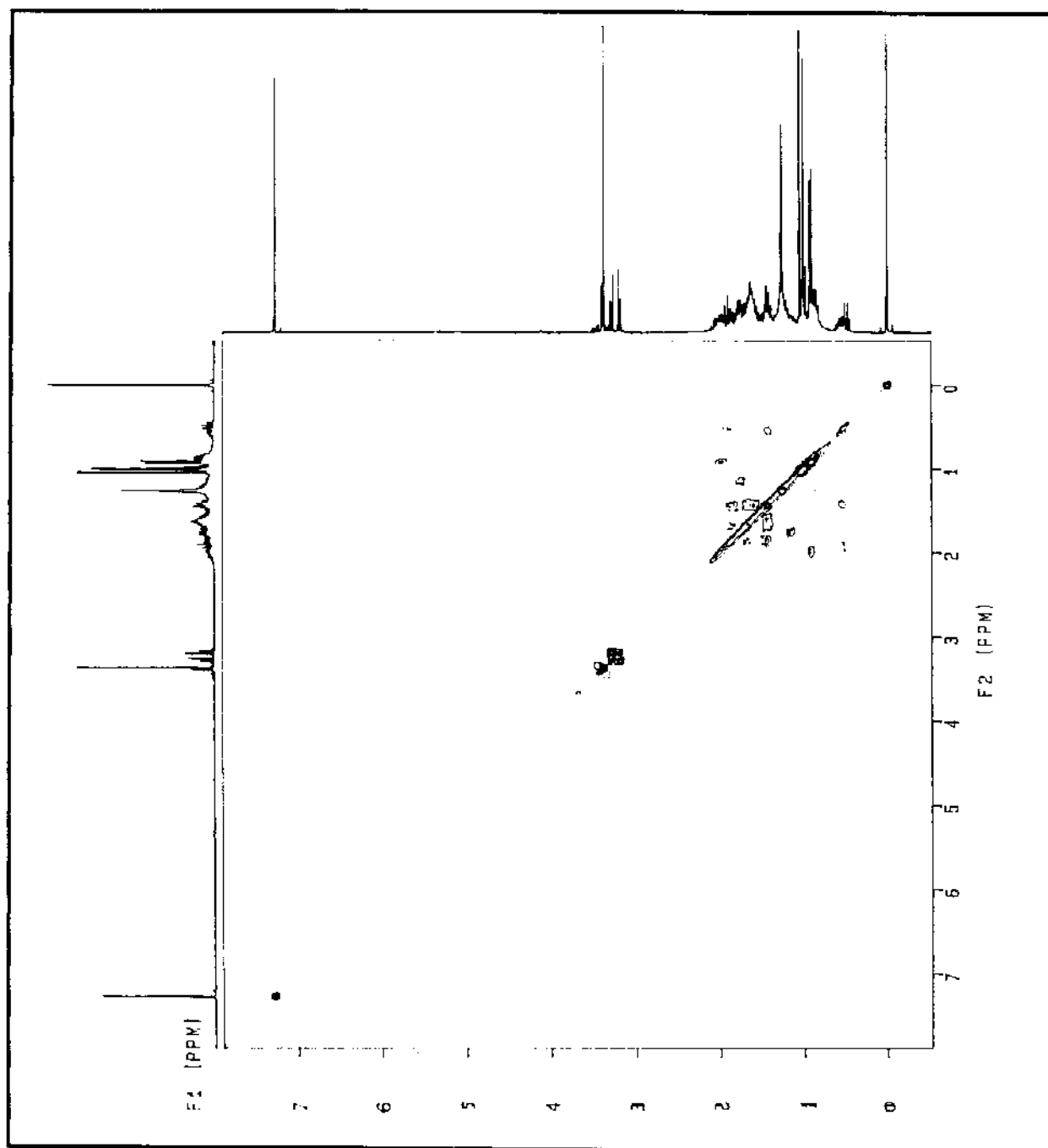
EM-3: Espectro de massas do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**



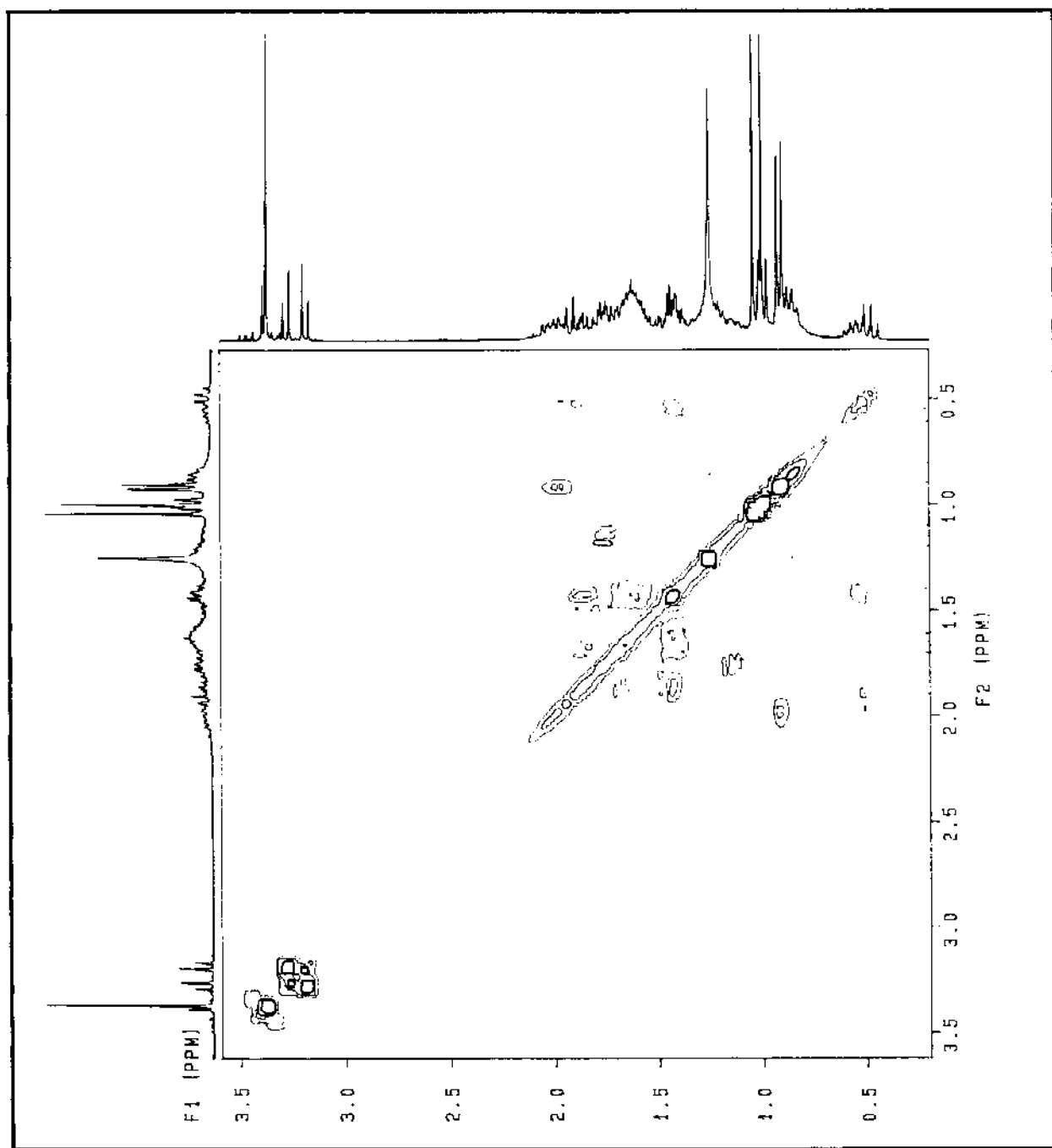
E R¹H-2: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**



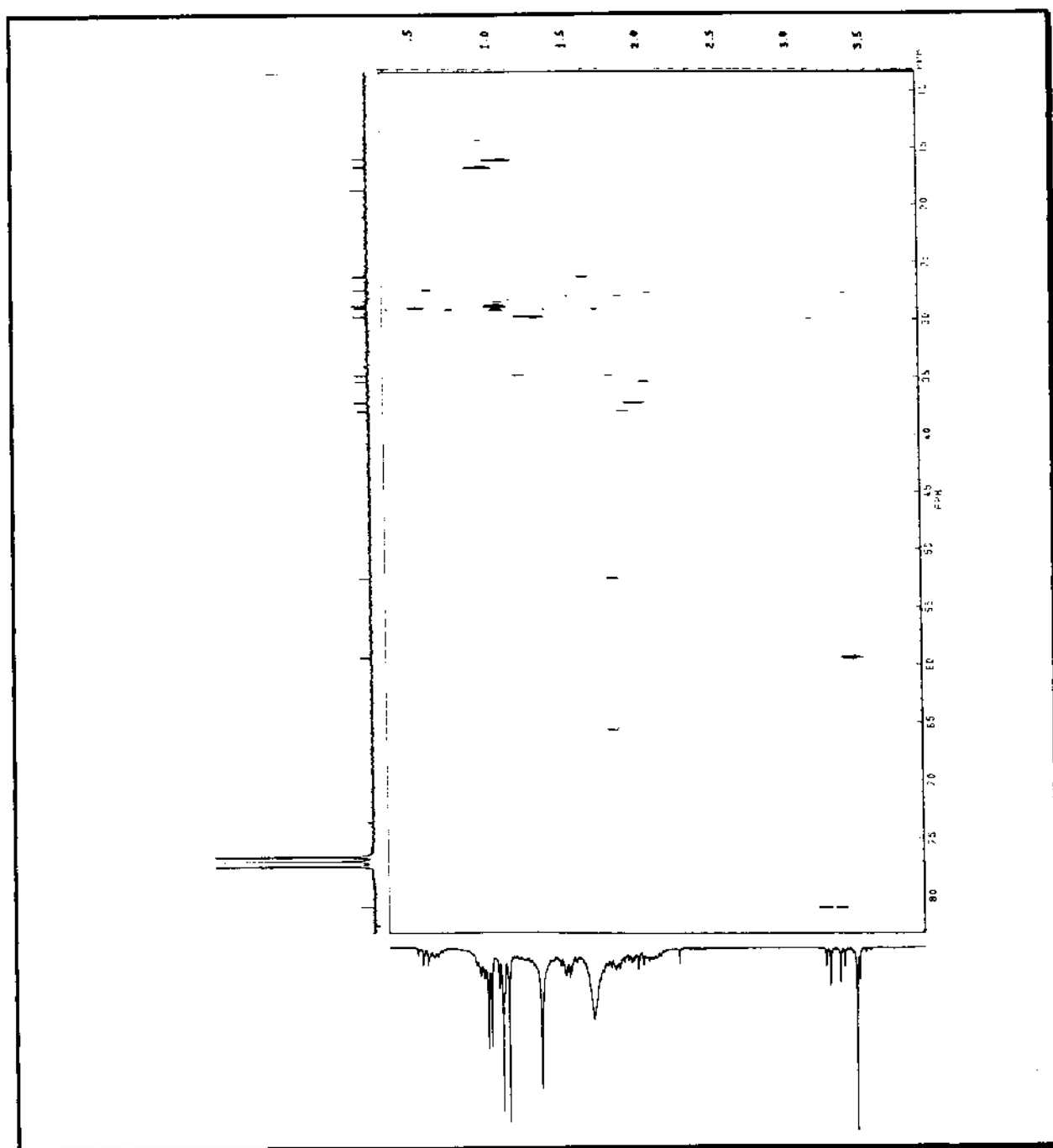
E R¹³C-2: Espectro de RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do 10-metoxi-4-hidroxi aromadendrano **24c**



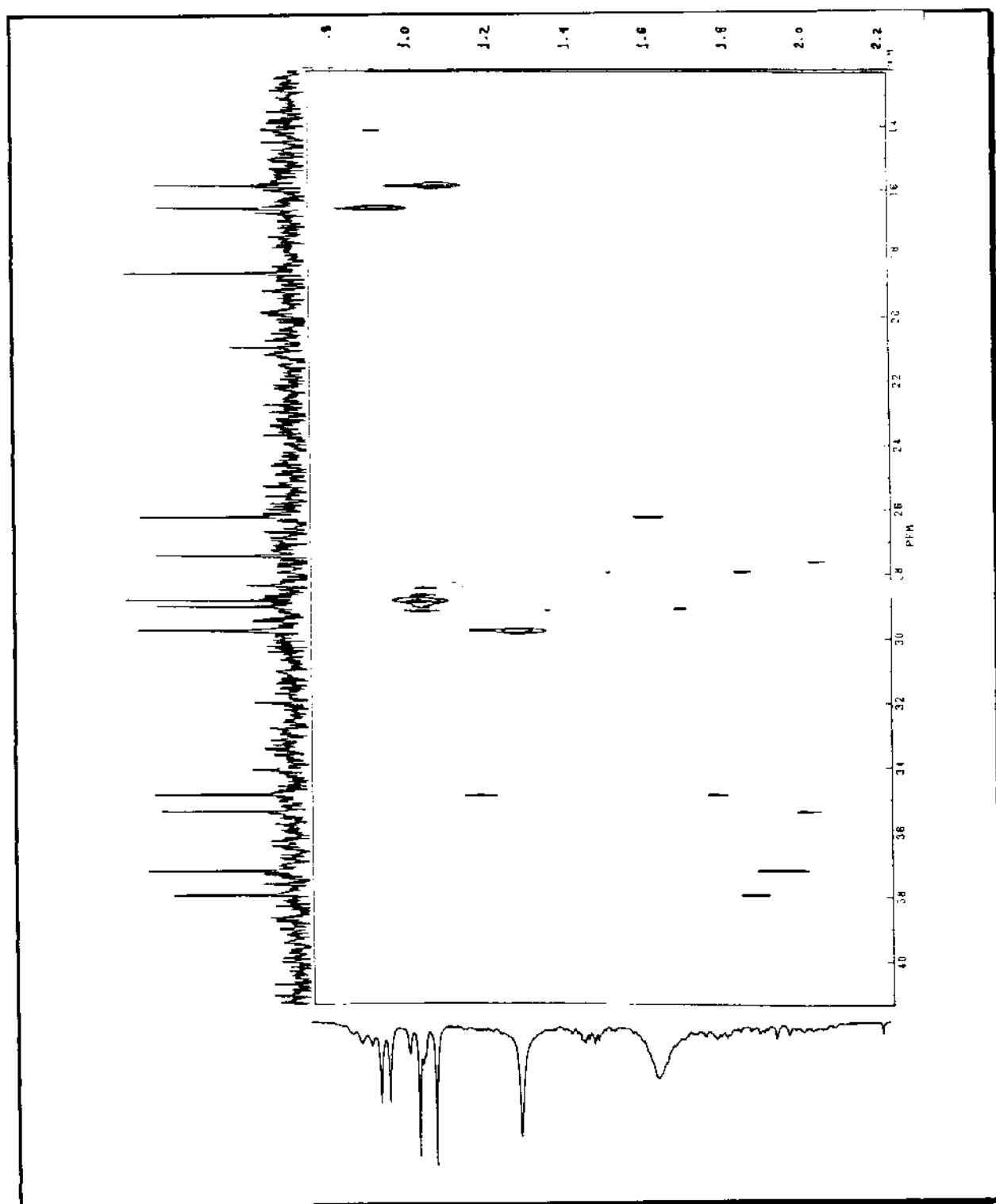
E COSY-1: Espectro de correlação H, H do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano 24c



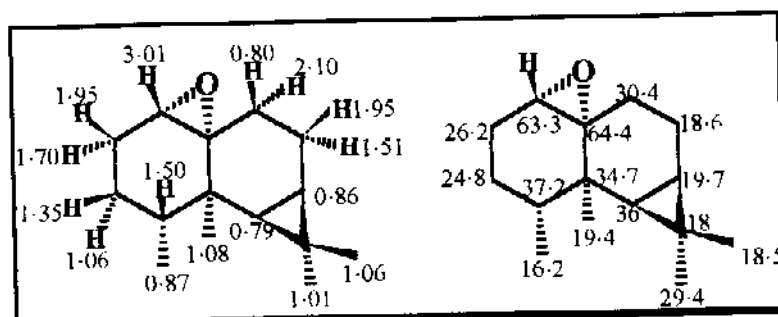
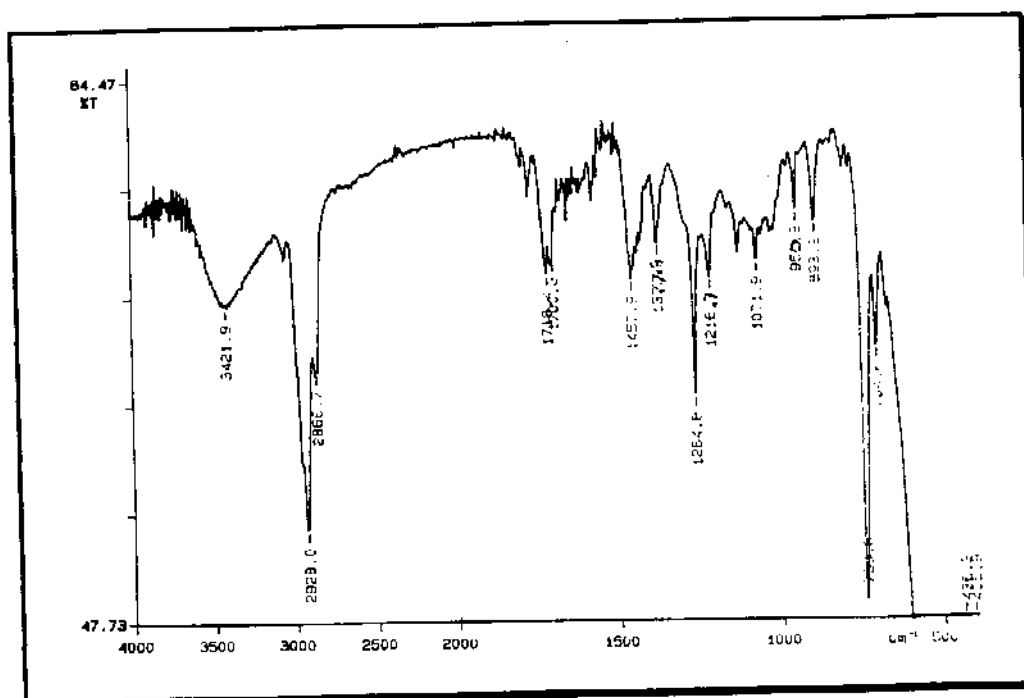
E COSY'-1: Espectro de expansão da correlação H, H do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**

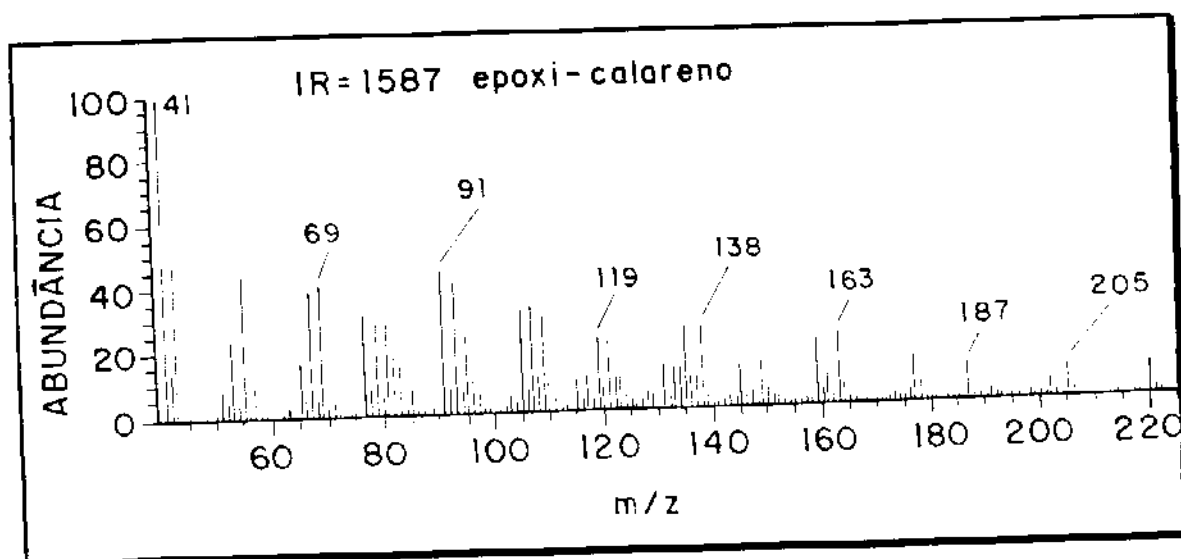


E HETCOR-1: Espectro de correlação C, H, a uma ligação, do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**

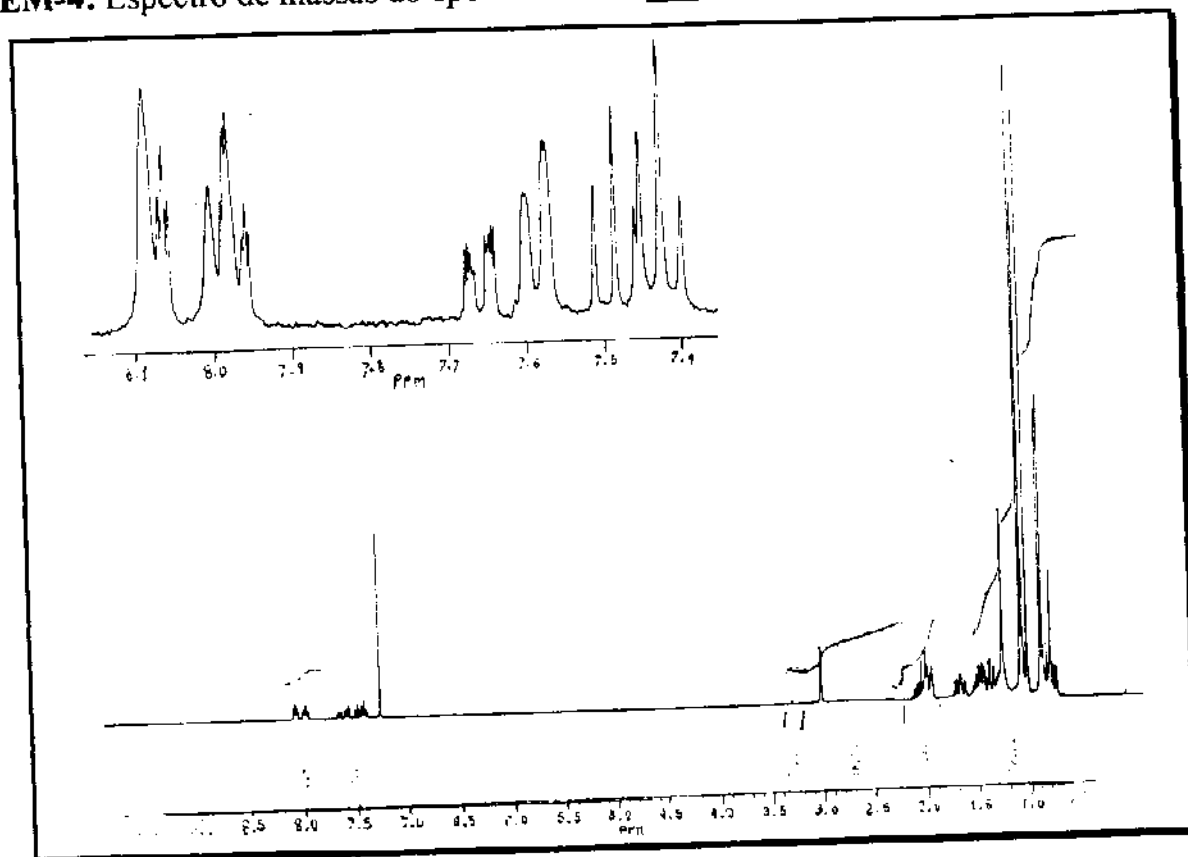


E HETCOR'-1: Espectro de correlação C, H, a uma ligação, do 10-metoxi-4-hidroxi-aromadendrano **24c**

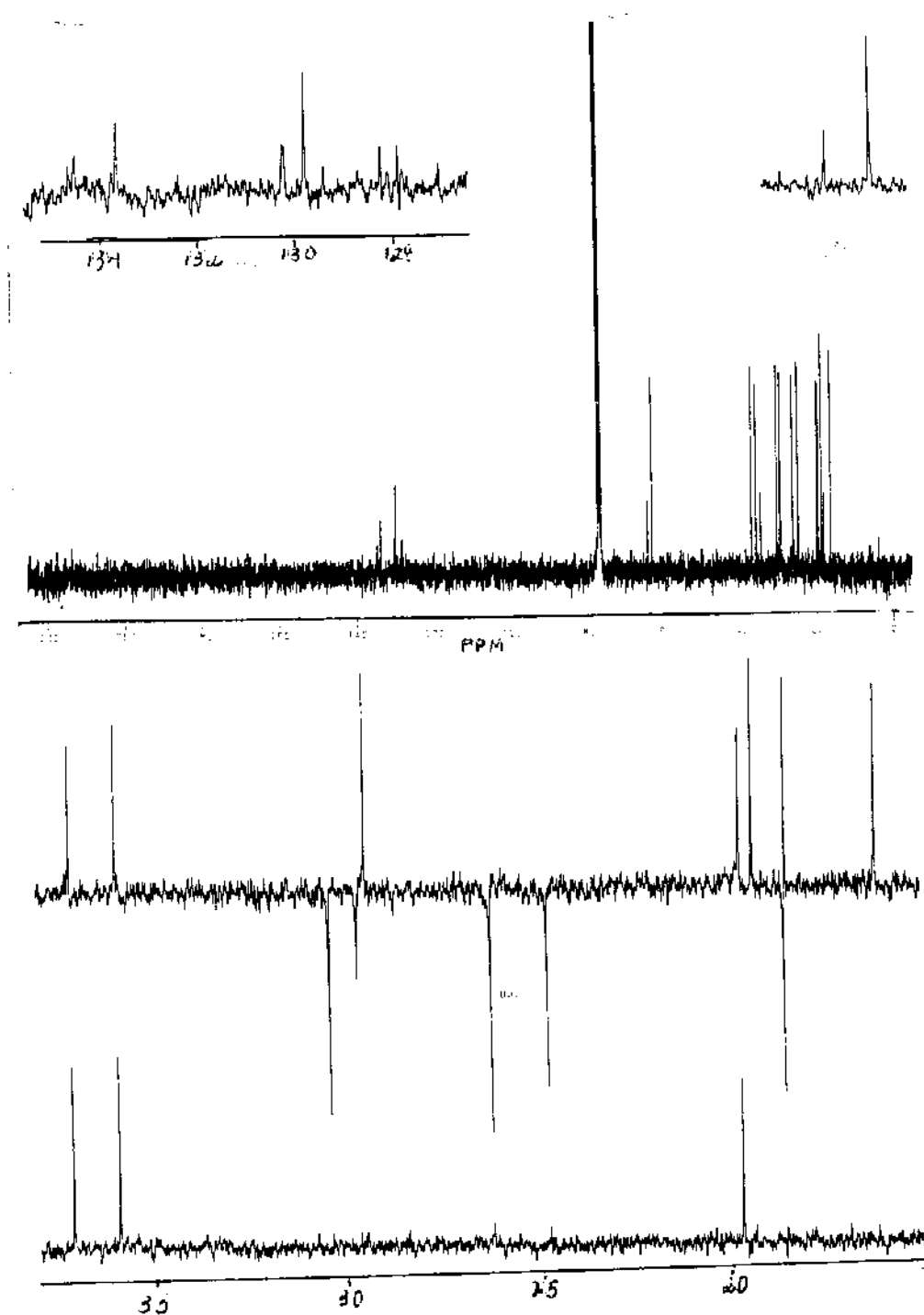
Espectros do Epóxi-Calareno **23a**RMN ^1H e RMN ^{13}C para o epóxi-calareno **23a**E IV-3: Espectro de IV (filme/KBr) do epóxi-calareno **23a**



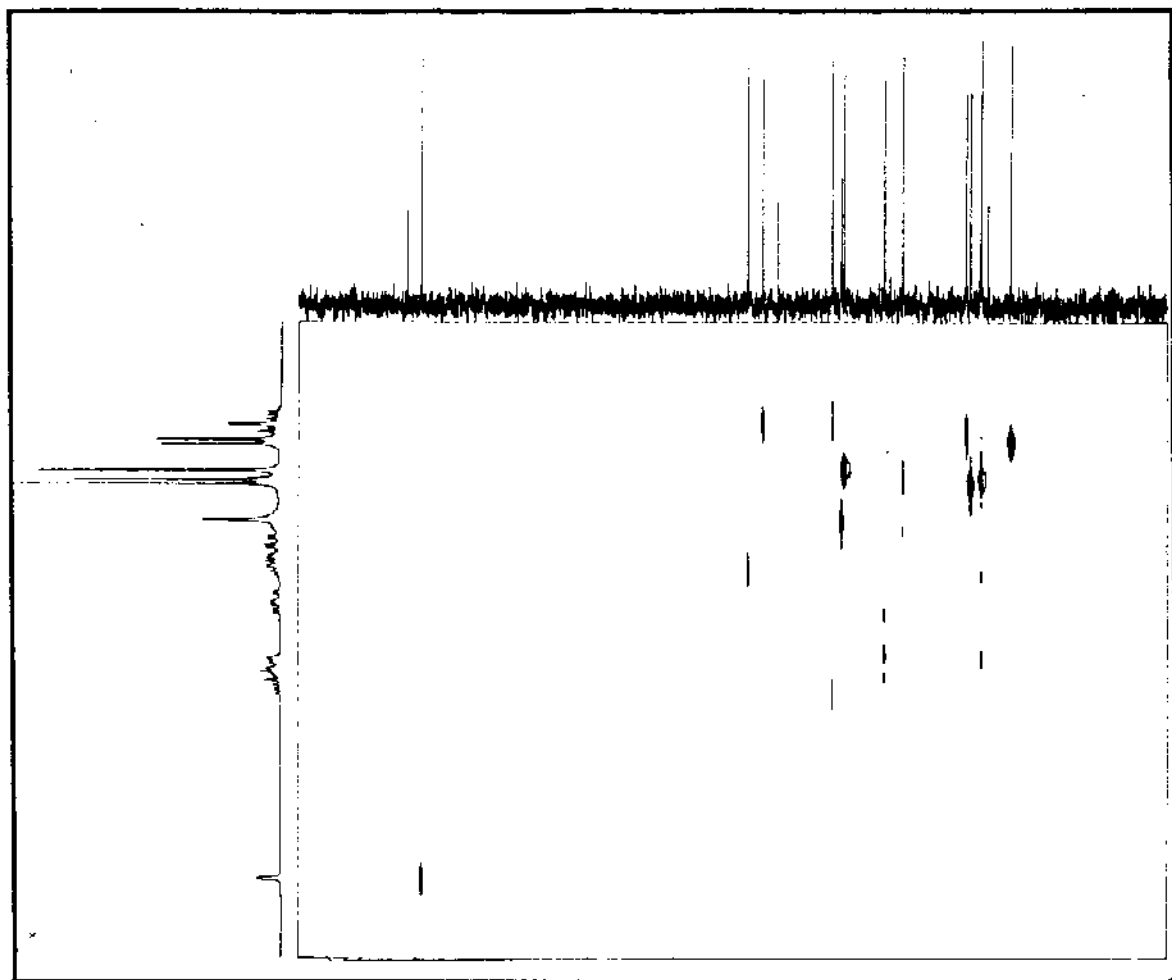
EM-4: Espectro de massas do epóxi-calareno 23a



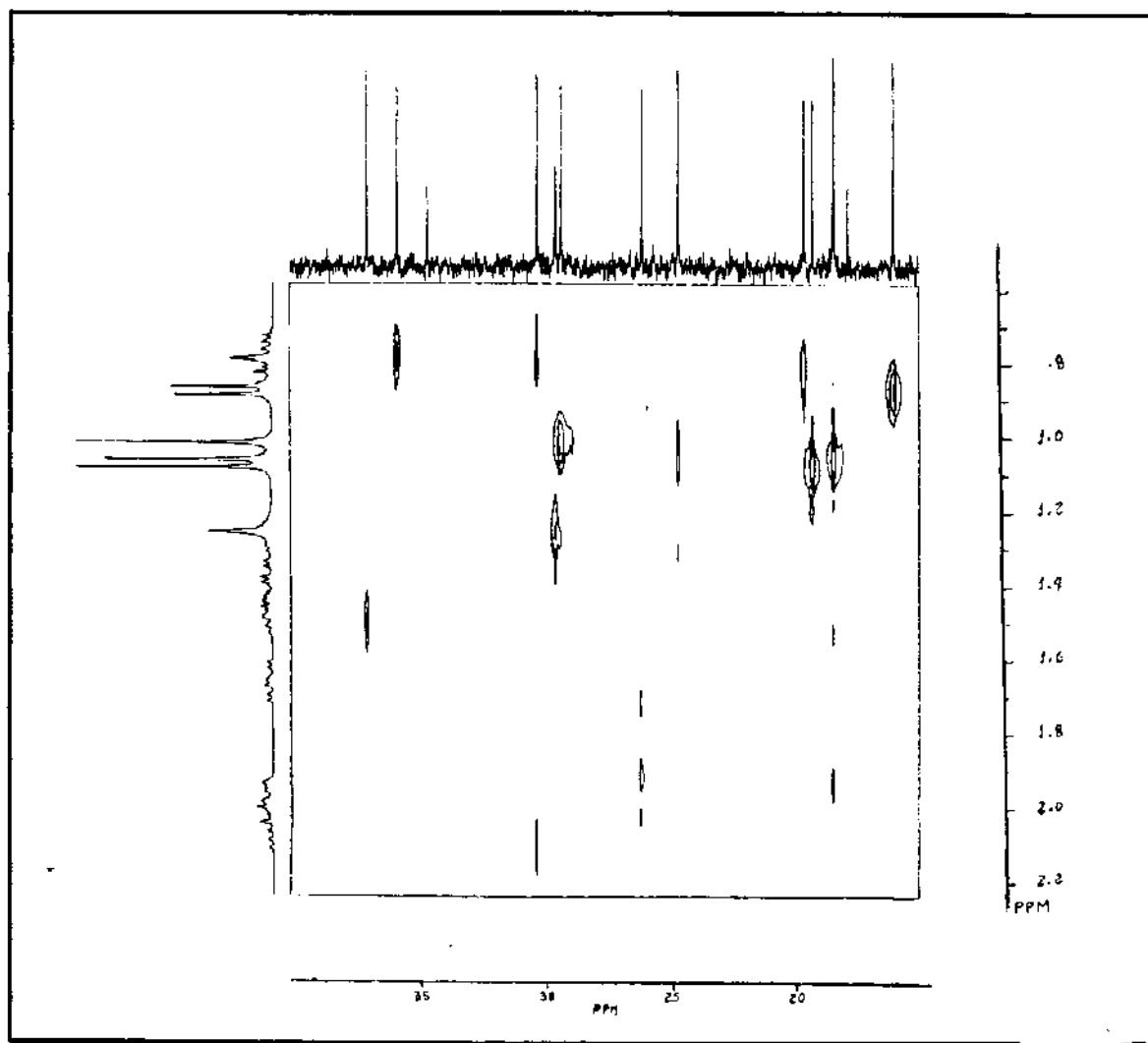
E R¹H-3: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do epóxi-calareno 23a



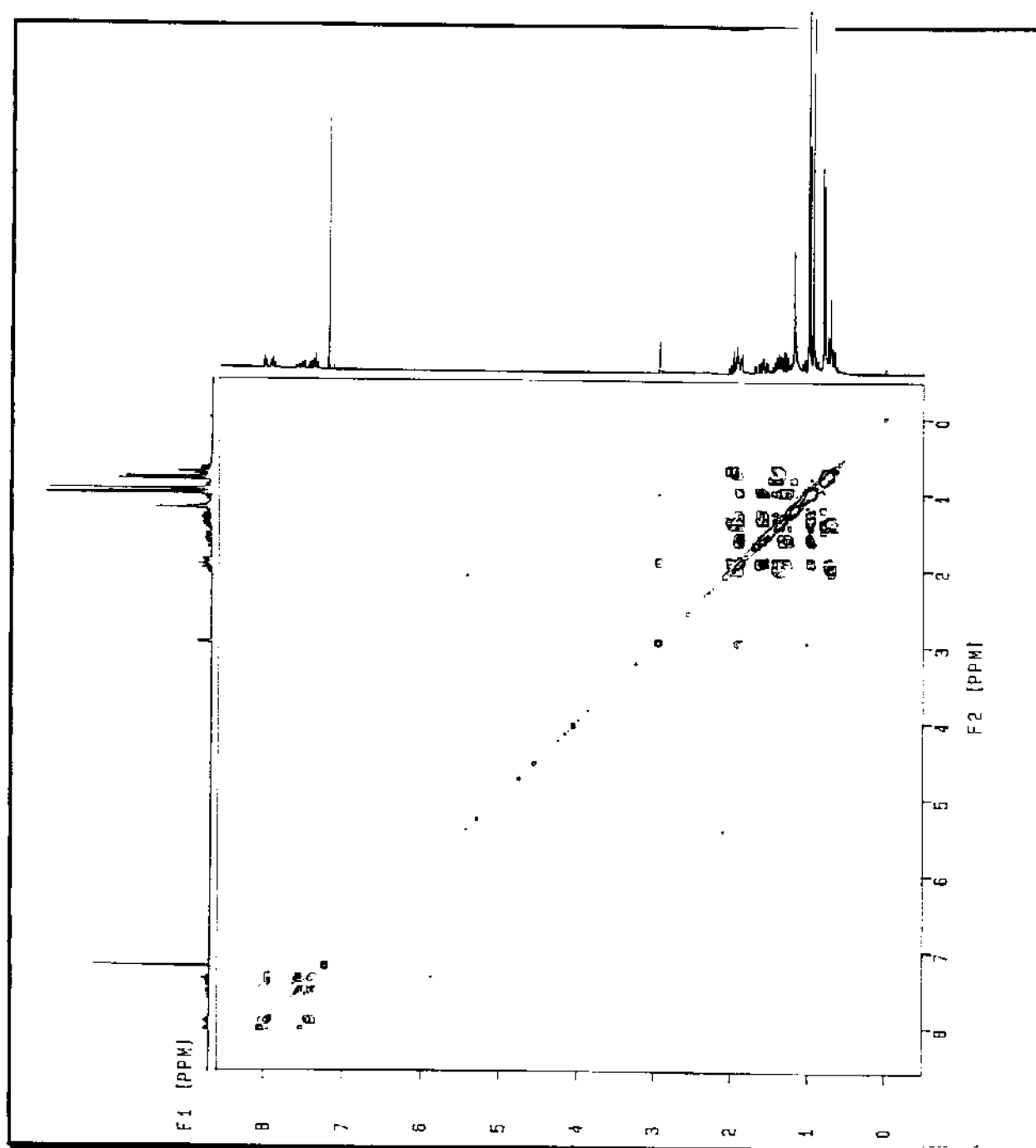
E R¹³C-3: Espectro de RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do epóxi-calareno **23a**



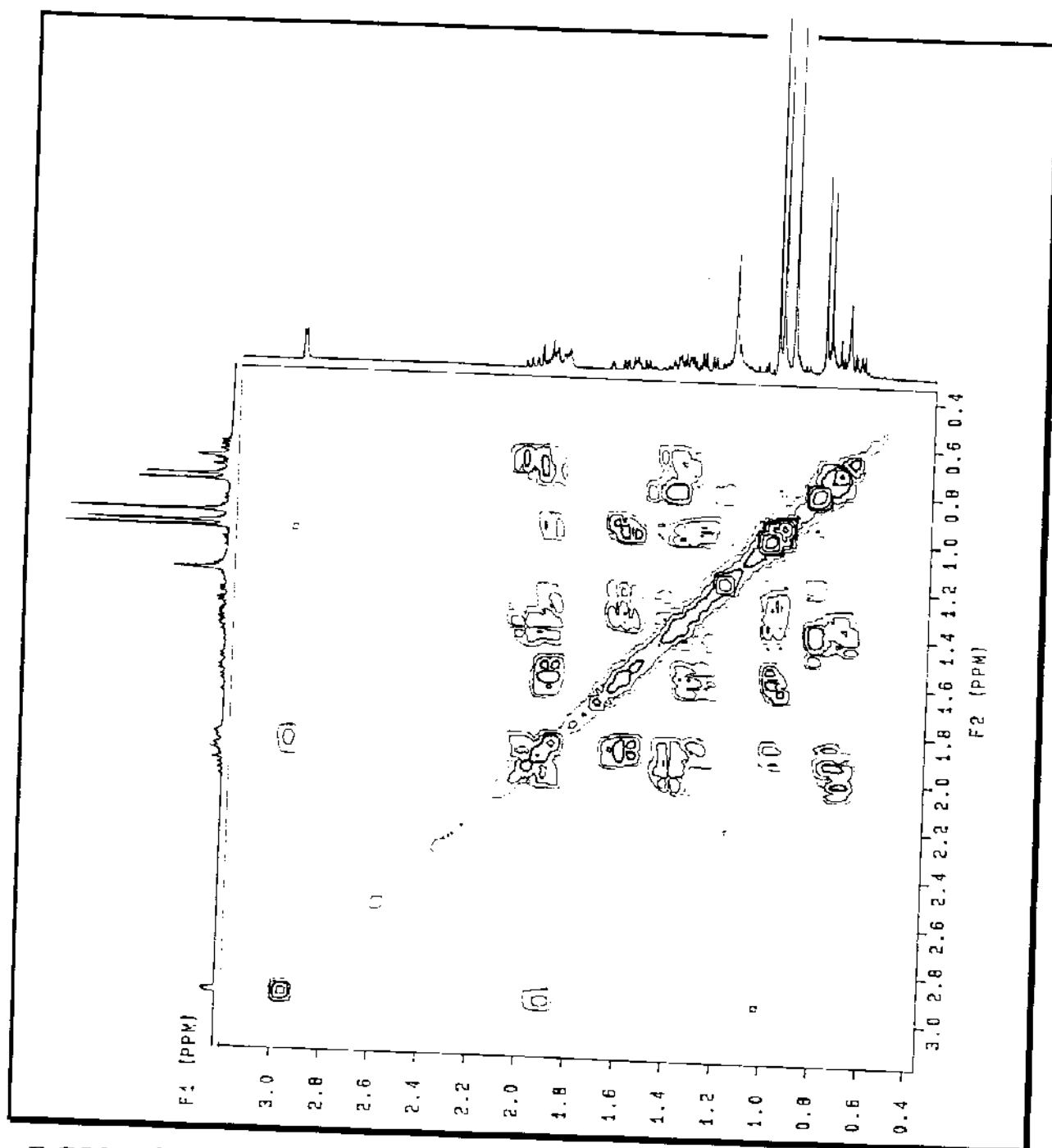
E HETCOR-2: Espectro da correlação C, H, a uma ligação, do epóxi-calareno **23a**



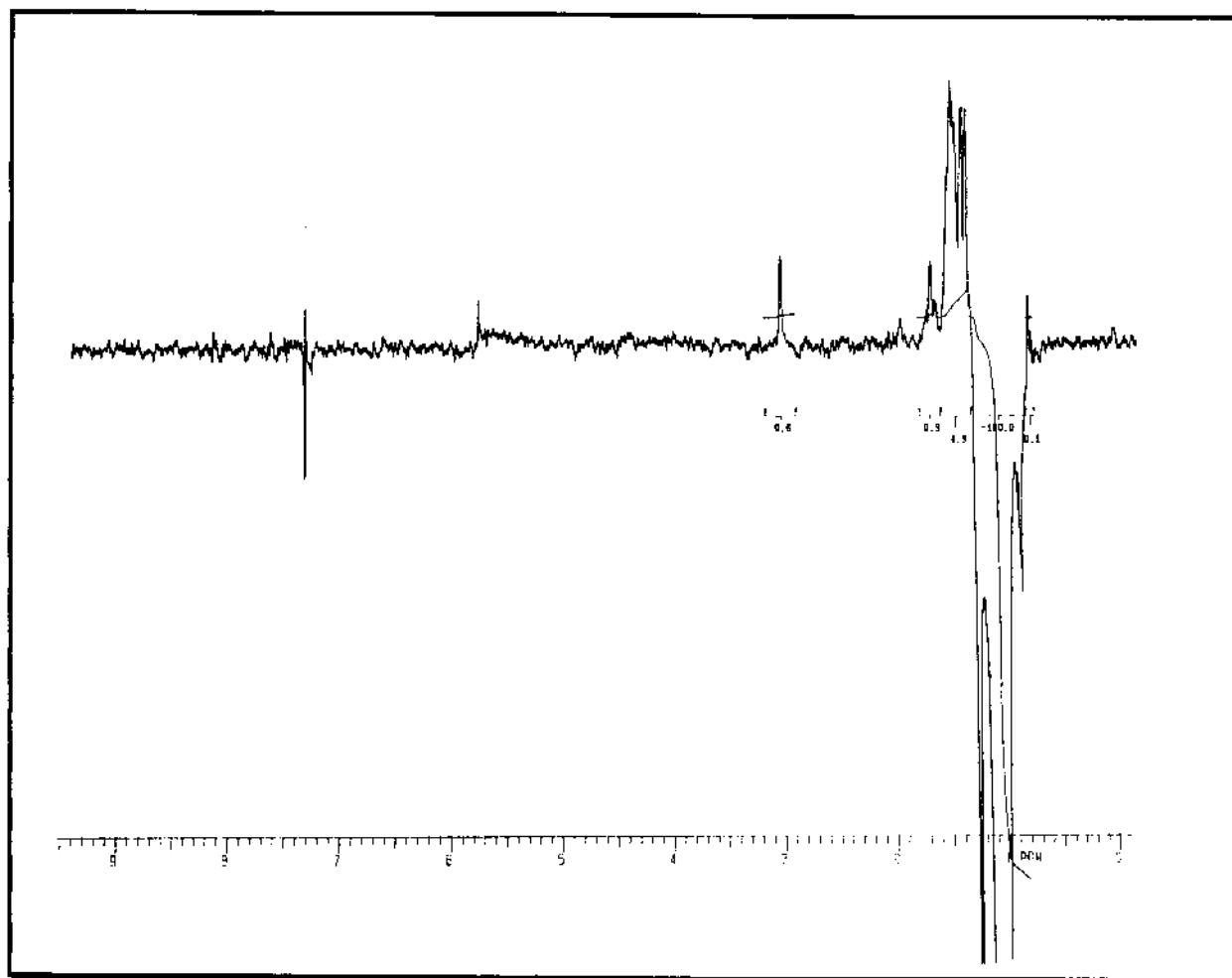
E HETCOR'-2: Espectro da correlação C, H, a uma ligação, do epóxi-calareno 23a



E COSY-2: Espectro da correlação H, H do epóxi-calareno **23a**



E COSY²-2: Espectro da expansão da correlação H, H do epóxi-calareno **23a**



E NOE-1: Espectro de diferença de efeito NOE (irradiação em 1,06 ppm, metila-15) do epóxi-calareno **23a**

Tabela12: Correlação entre C, H do espectro HETCOR do epóxi-calareno **23a**

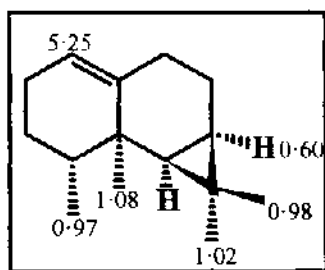
No. do C)	δ C (ppm)	δ H (ppm)
C ₁₅	16,2 (CH ₃)	0,87
C ₁₃	29,4 (CH ₃)	1,01
C ₁₂	18,5 (CH ₃)	1,06
C ₁₄	19,4 (CH ₃)	1,08
C ₇	19,7 (CH)	0,86
C ₆	36,0 (CH)	0,79
C ₄	37,2 (CH)	1,50
C ₁	63,3 (CH)	3,01
C ₈	18,6 (CH ₂)	1,51 e 1,95
C ₃	24,8 (CH ₂)	1,06 e 1,35
C ₂	26,2 (CH ₂)	1,7 e 1,95
C ₉	30,4 (CH ₂)	0,80 e 2,10

Tabela 13: Correlação entre H, H do espectro COSY do epóxi-calareno **23a**

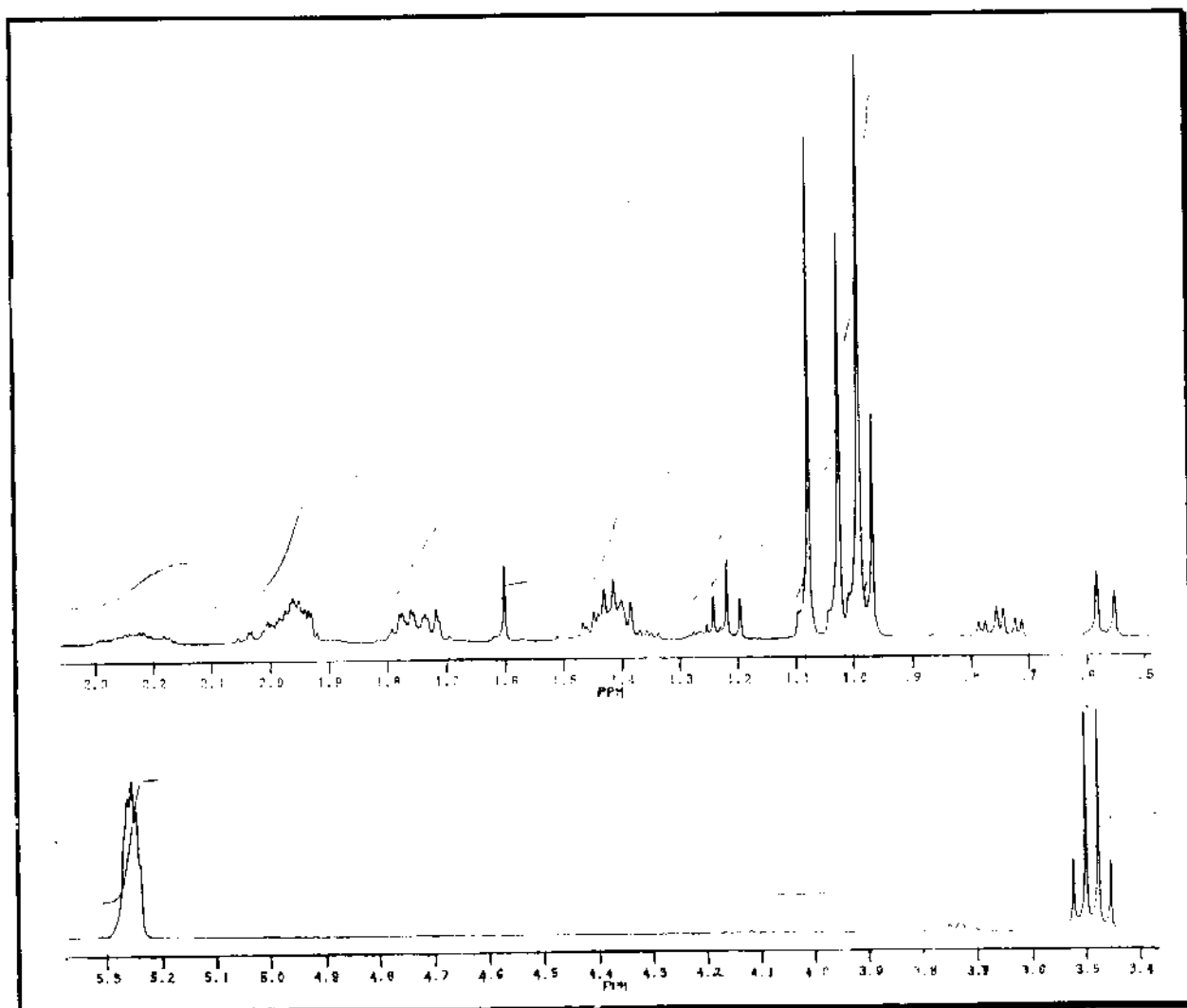
H (No.) x H (No.)	δ H (ppm) x δ H (ppm)
H _{1β} x H _{2β}	3,01 x 1,95
H _{1β} x H _{3β}	3,01 x 1,06
H _{2β} x H _{4β}	1,95 x 1,50
H _{6α} x H ₉	0,79 x 2,10
H _{2α} x H _{2β}	1,70 x 1,95
H _{2α} x H _{3α}	1,70 x 1,35
H _{3β} x H _{3α}	1,06 x 1,35
H ₉ x H ₈	0,80 x 1,51

$H_9 \times H_9$	0,80 x 2,10
$H_{7\alpha} \times H_8$	0,86 x 1,51
$H_{7\alpha} \times H_{3\alpha}$	0,86 x 1,35

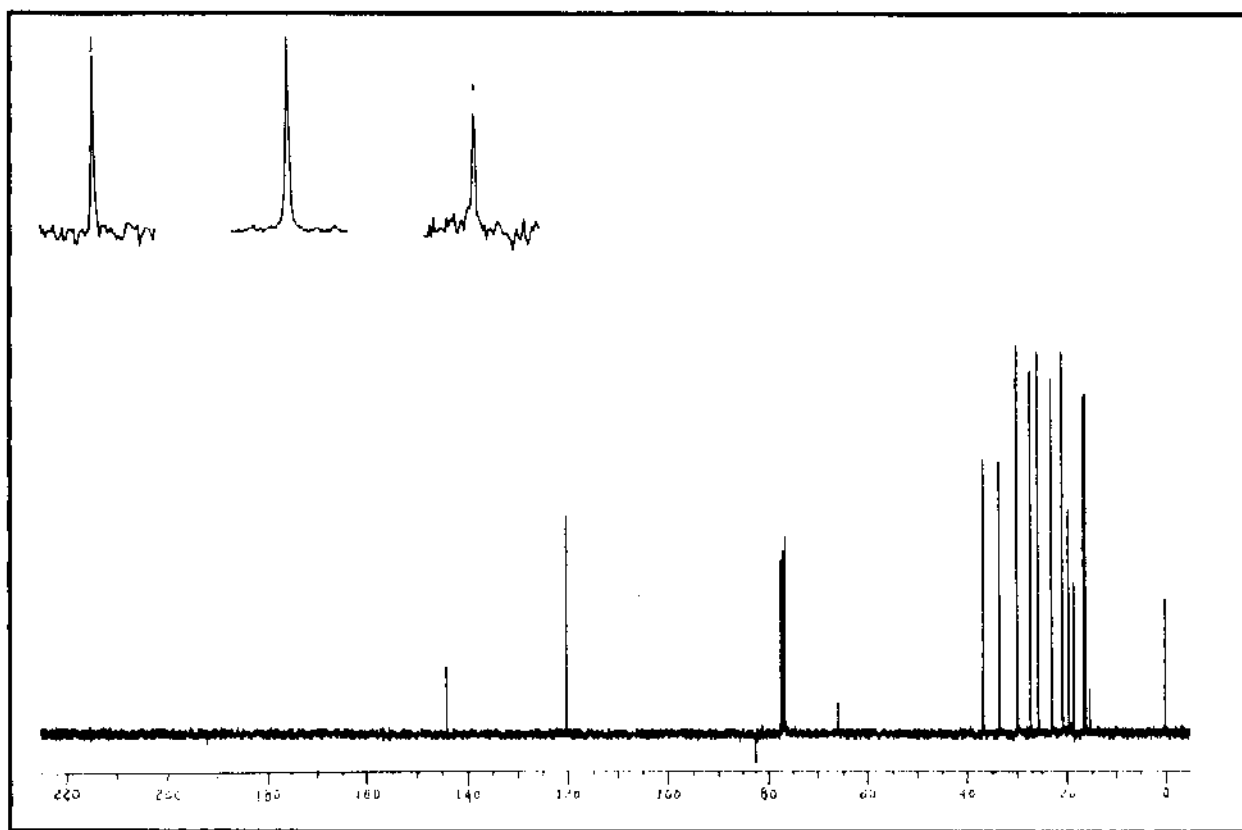
Espectro do Calareno 23



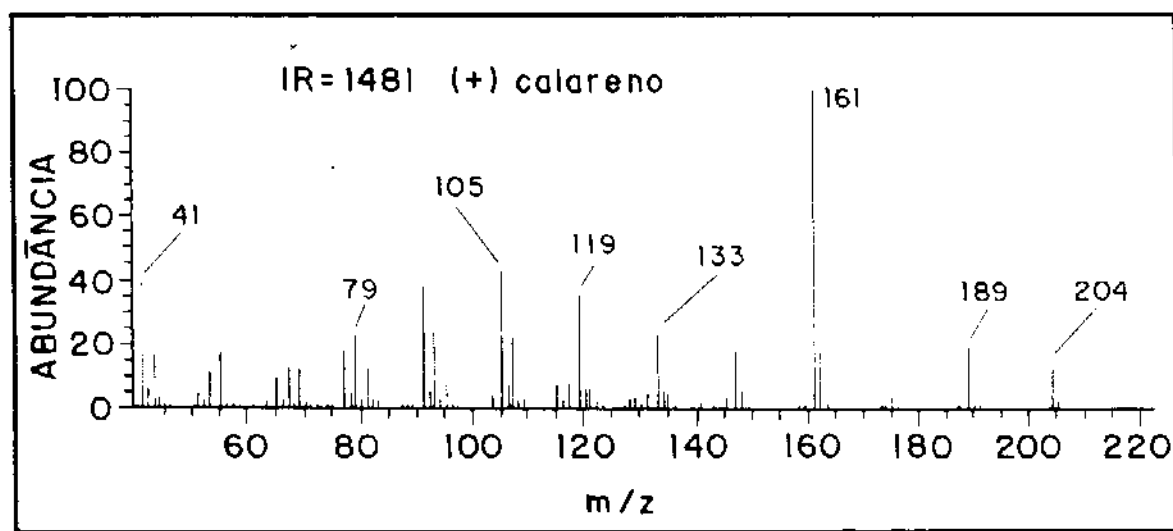
RMN¹H e RMN¹³C para o (+) calareno 23



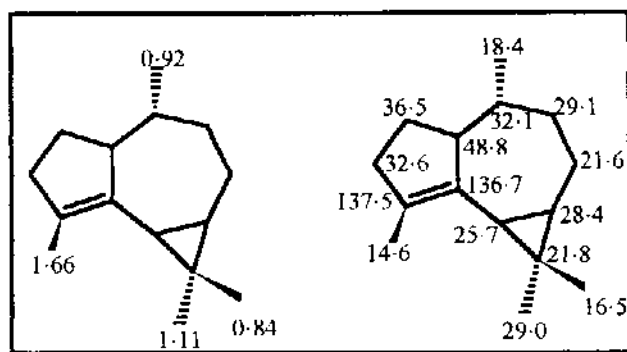
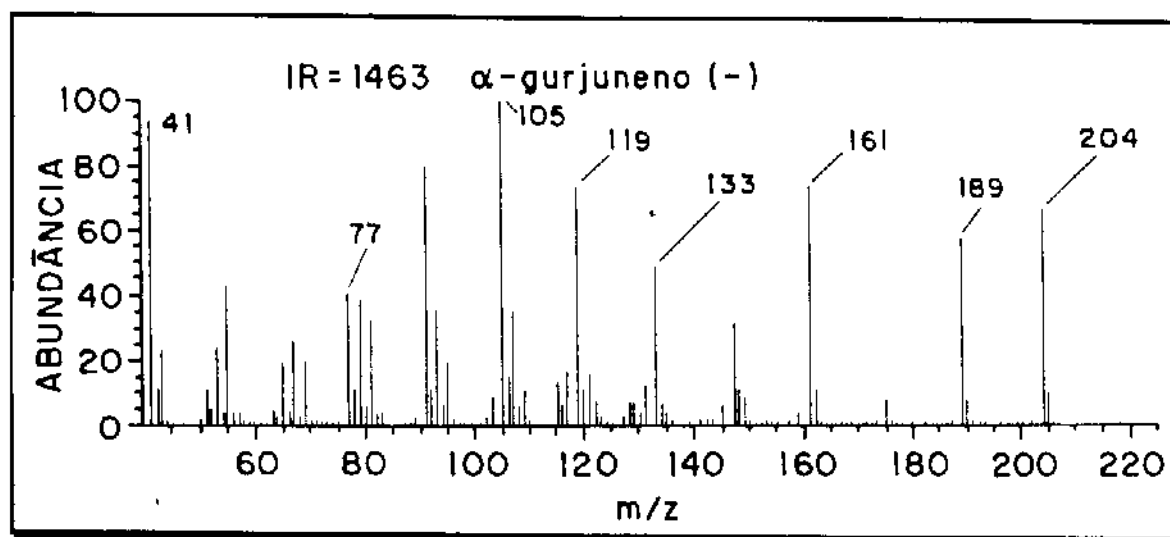
E R¹H-4: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do calareno **23**

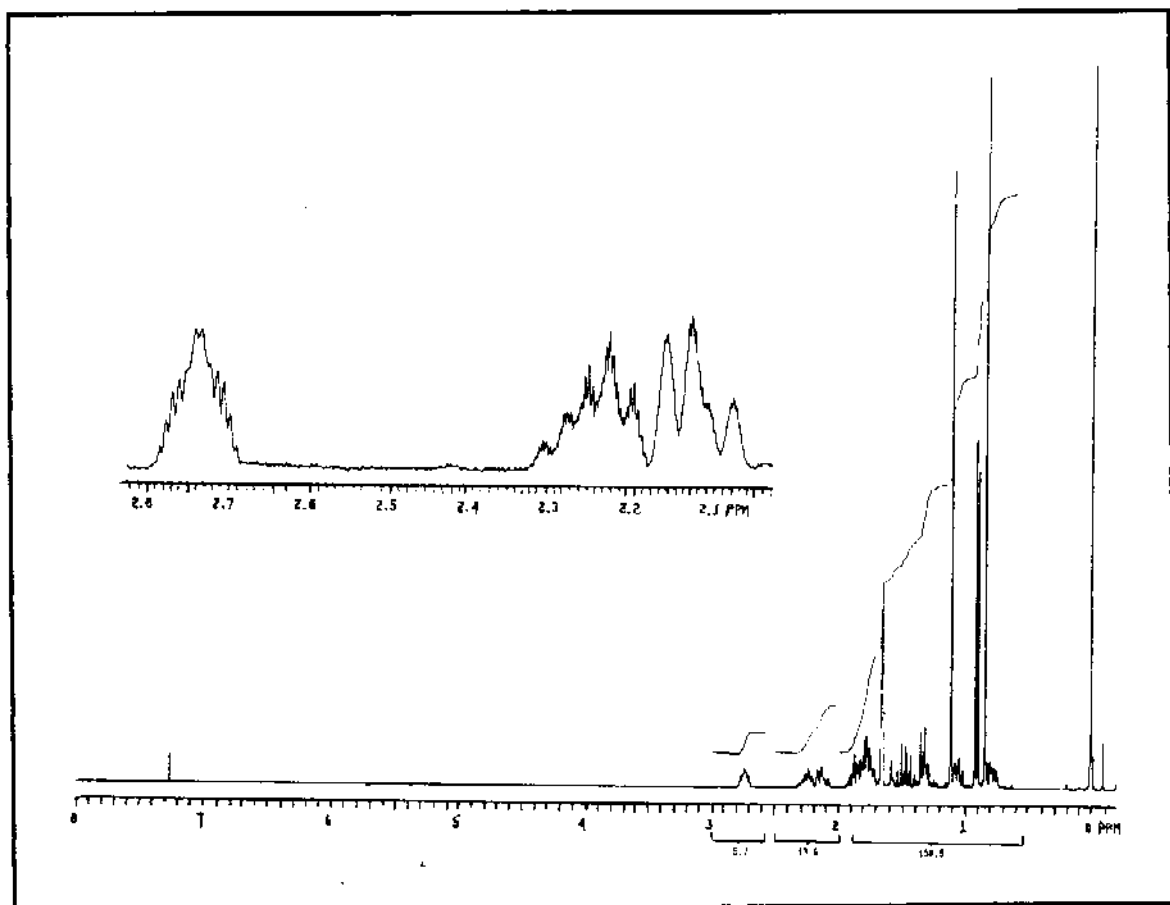


E R¹³C-4: Espectro de RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do calareno **23**

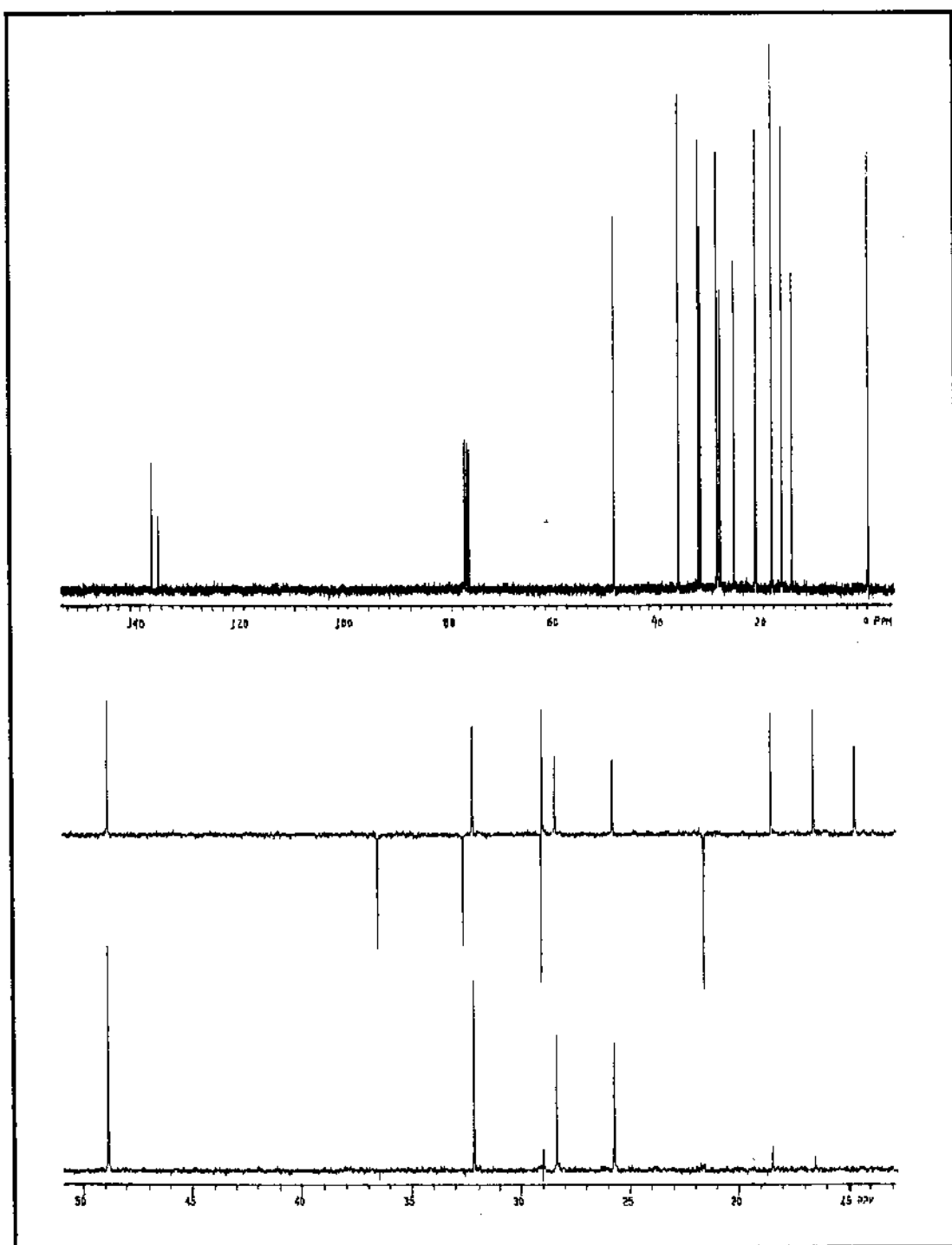


EM-5: Espectro de massas do calareno **23**

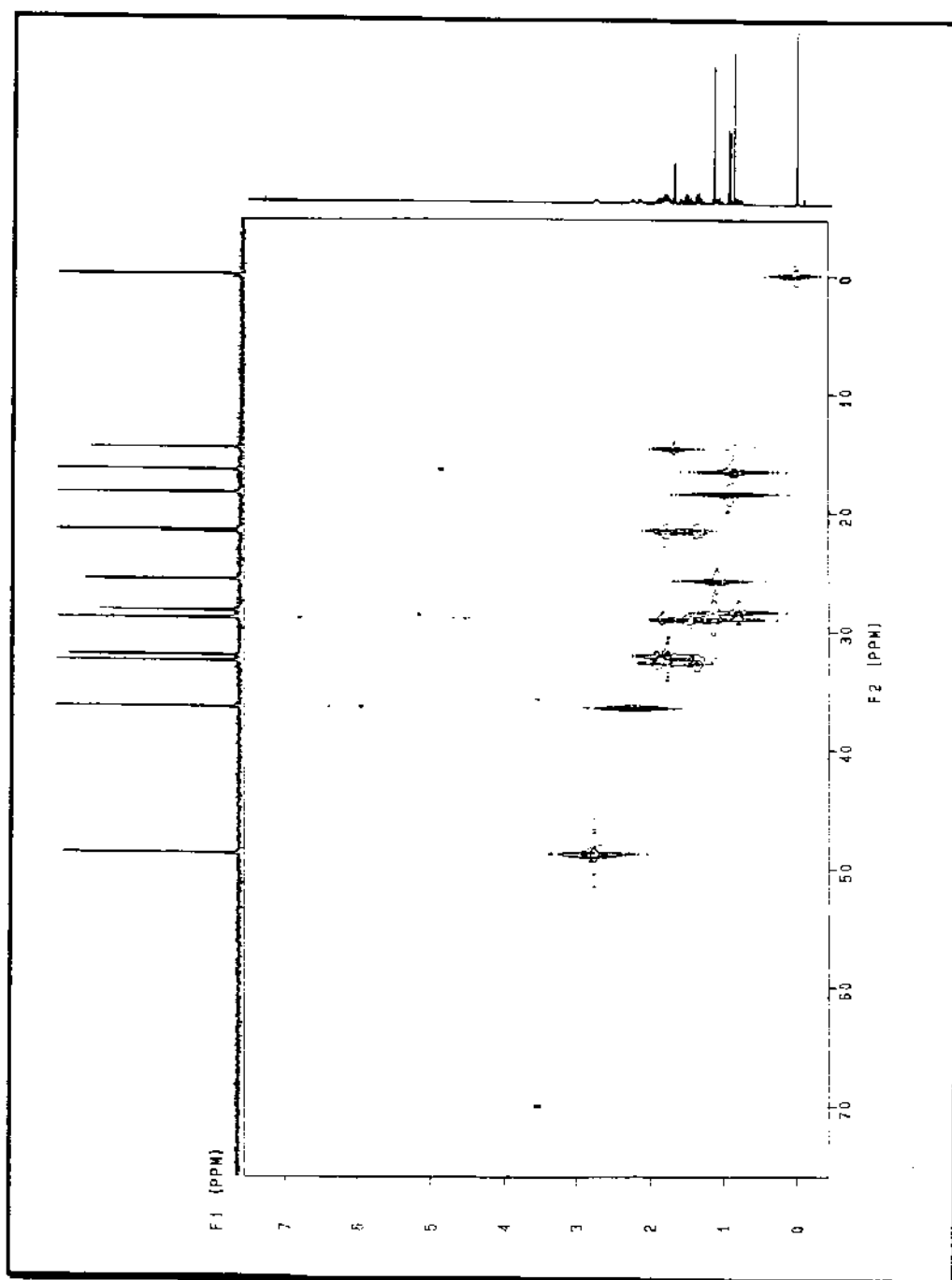
Espectros do (-) α -gurjuneno **21**RMN ^1H e RMN ^{13}C para o (-) α -gurjuneno **21**EM-6: Espectro de massas do (-) α -gurjuneno **21**



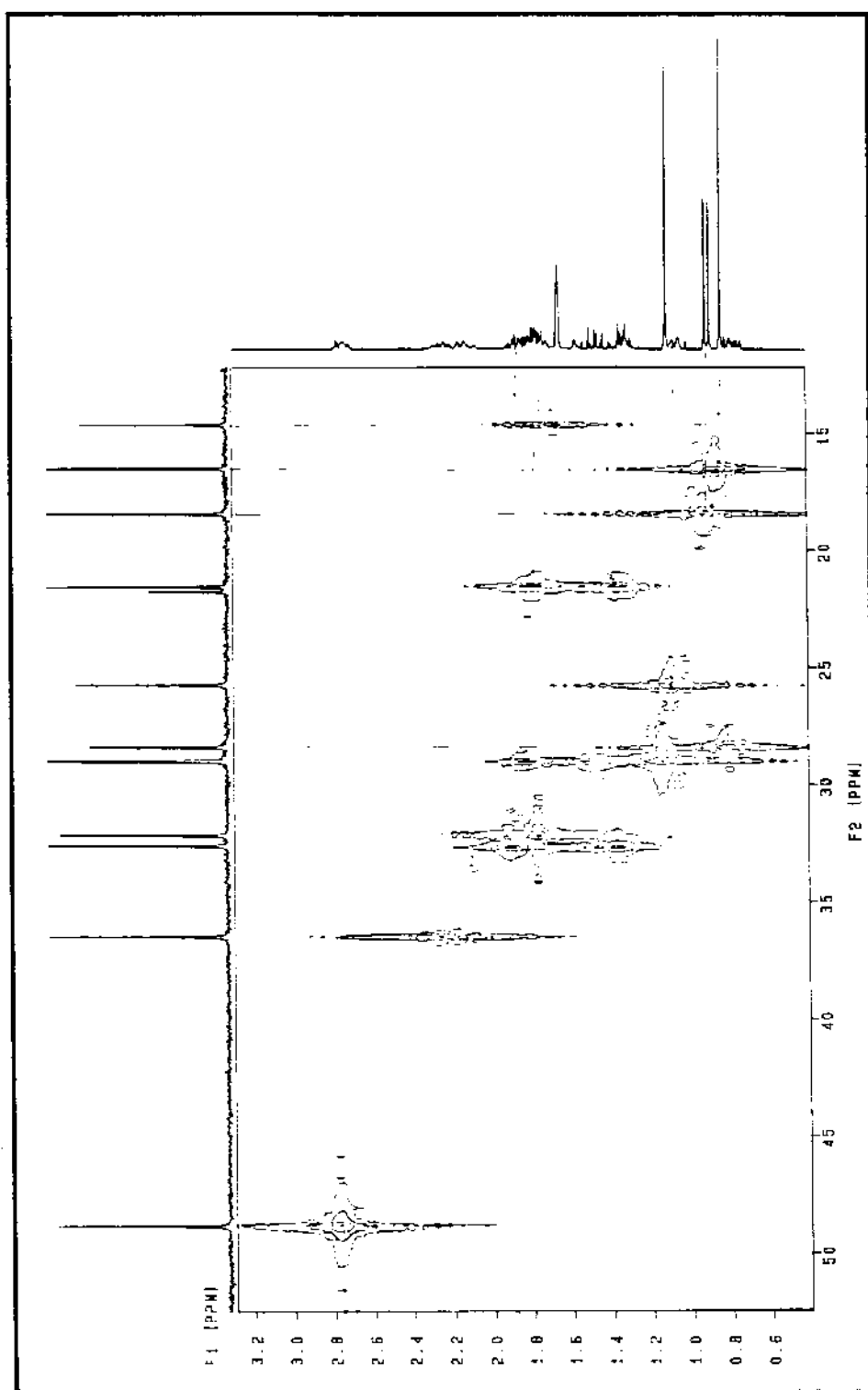
E R¹II-5: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do (-) α -gurjuneno **21**



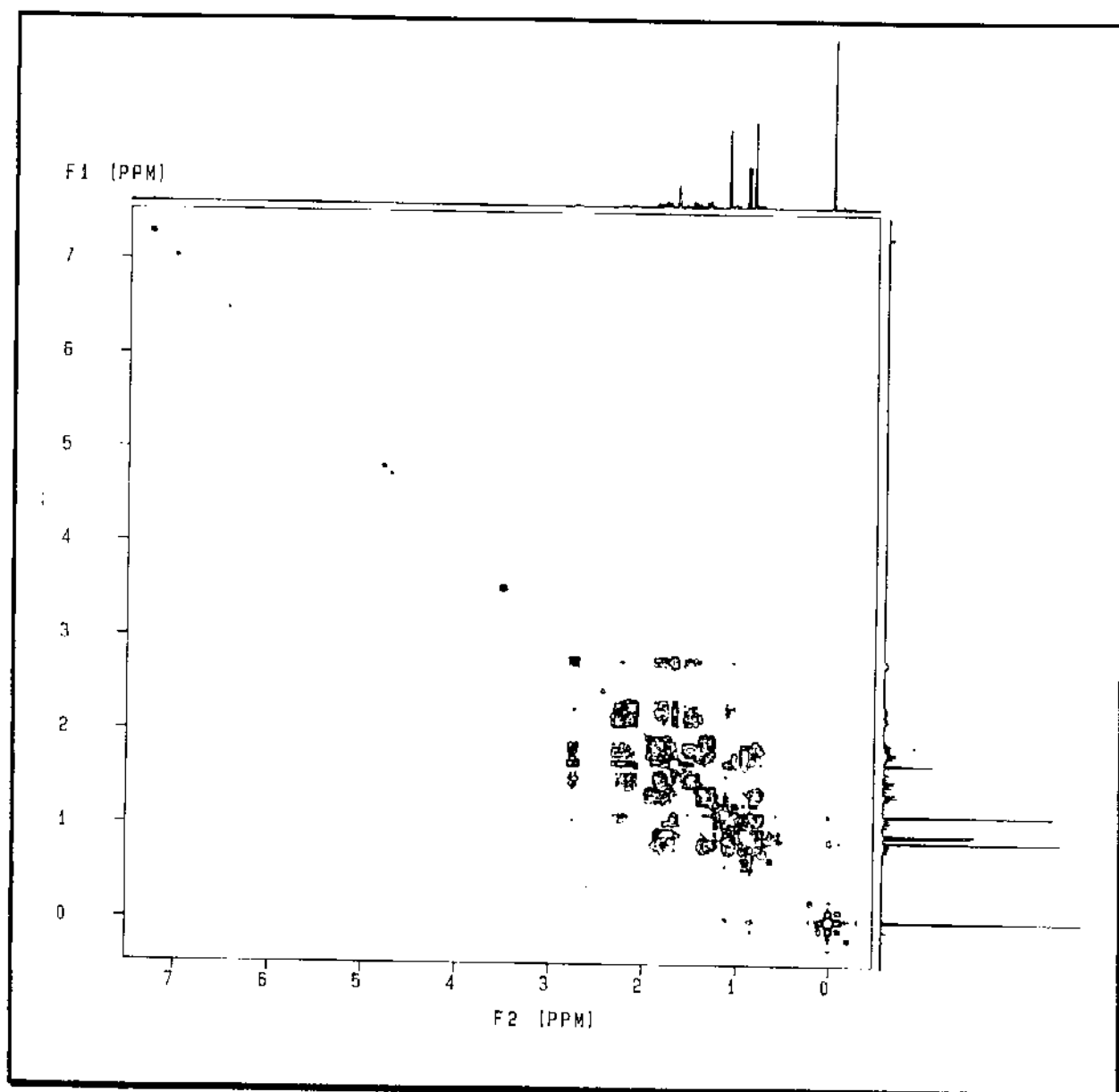
E R¹³C-5: Espectro de RMN¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do (-) α -gurjuneno **21**



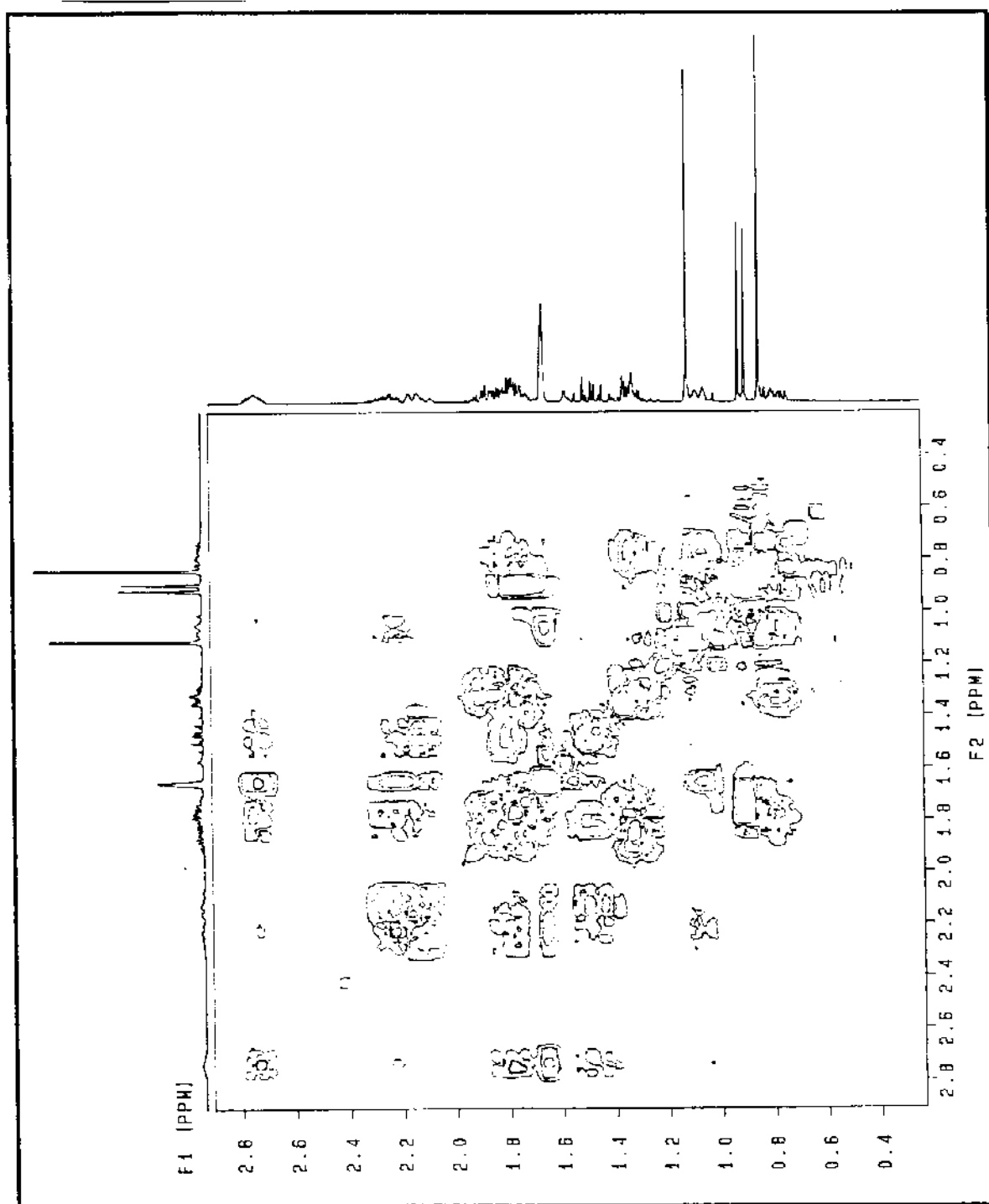
E HETCOR-3: Espectro da correlação C, H, a uma ligação, do (-) α -gurjuneno **21**



E HETCOR'-3: Espectro da correlação C, H, a uma ligação, do (-) α -gurjuneno 21

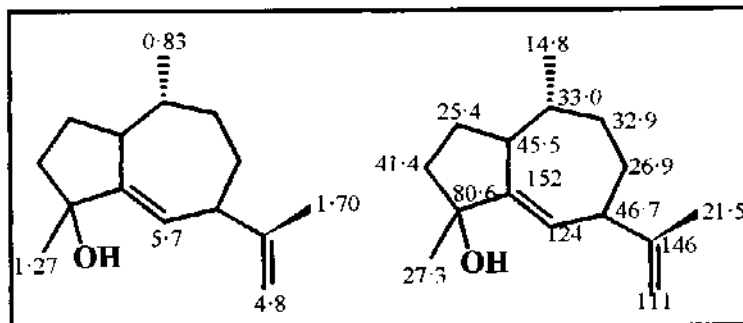
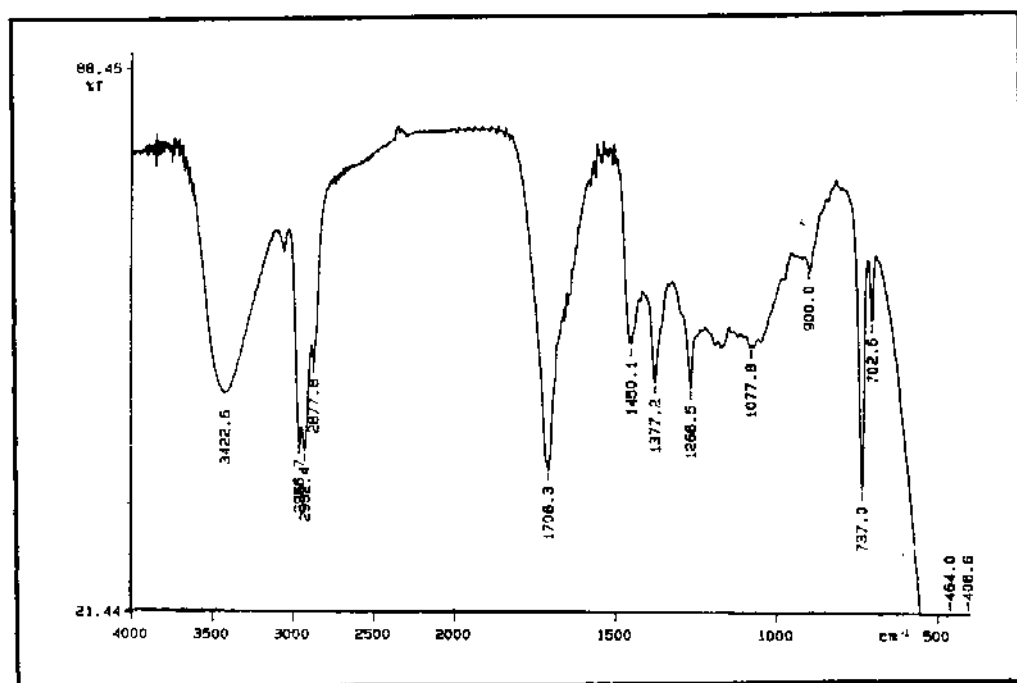


E COSY-3: Espectro da correlação H, H do (-) α -gurjuneno **21**

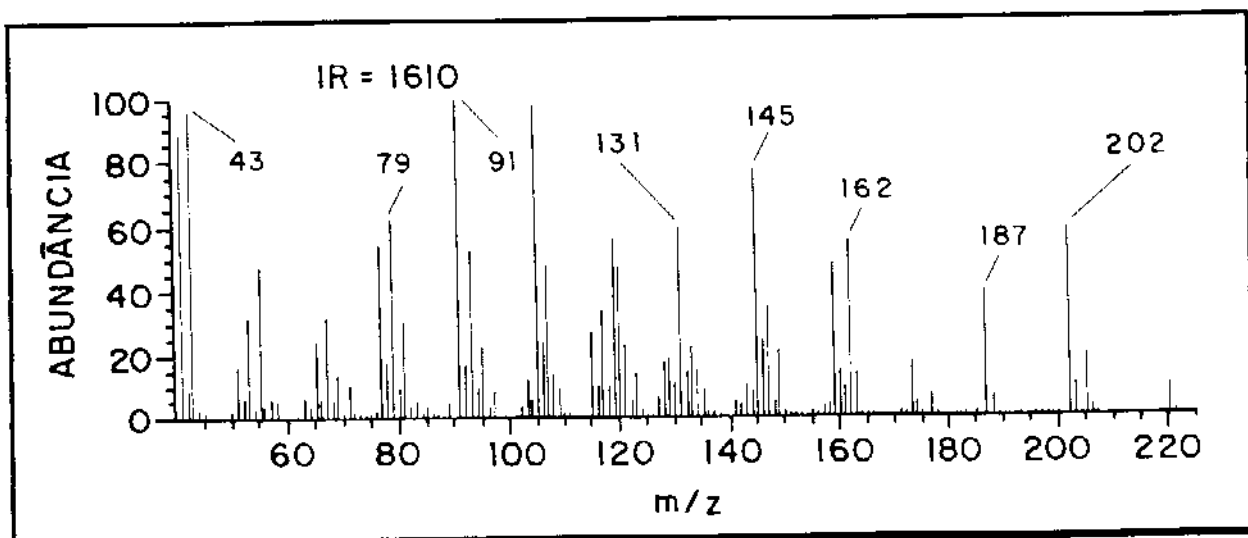


E COSY'-3: Espectro da expansão da correlação H, H do (-) α -gurjuneno **21**

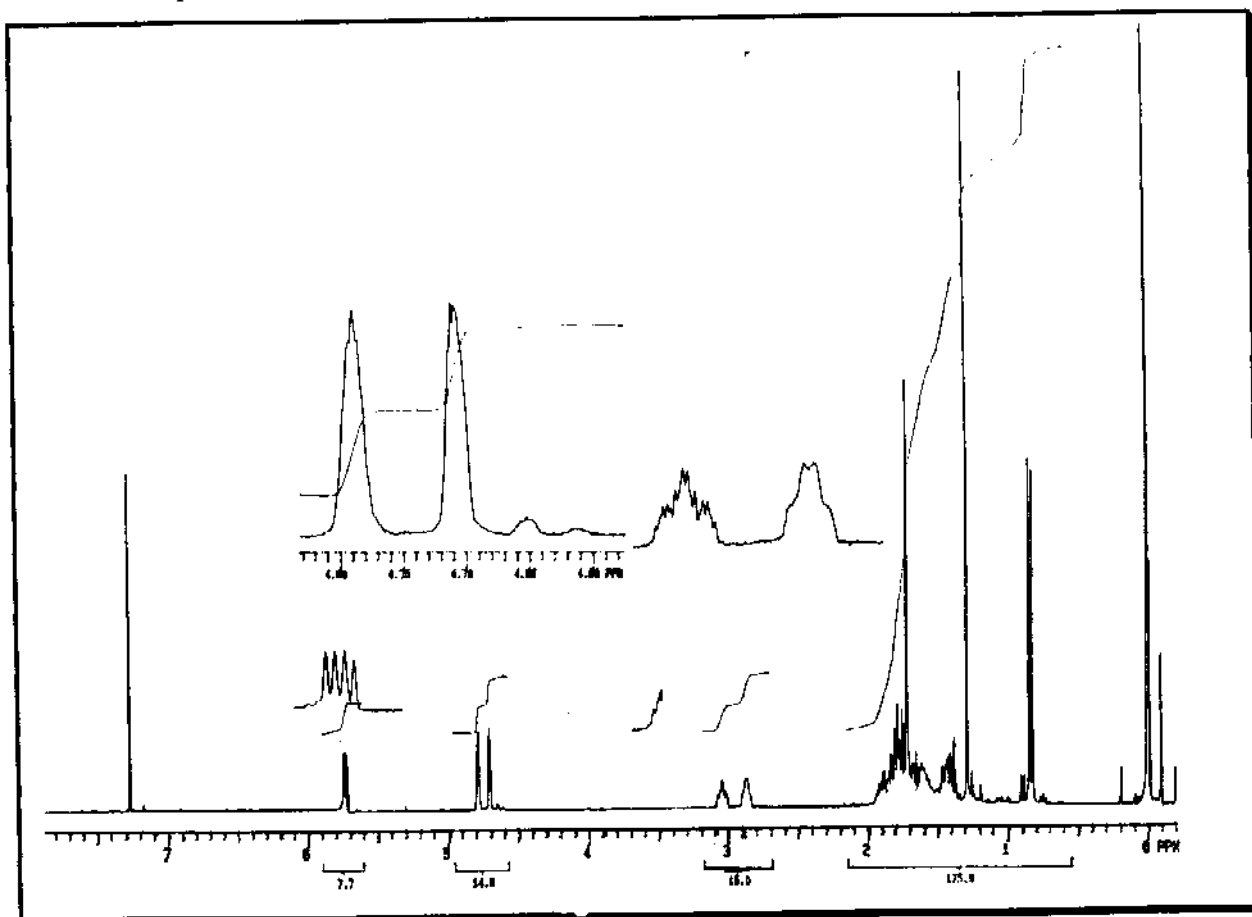
Espectros do α -gurjuneno oxidado 21b

RMN¹H e RMN¹³C do α-gurjuneno oxidado **21b**

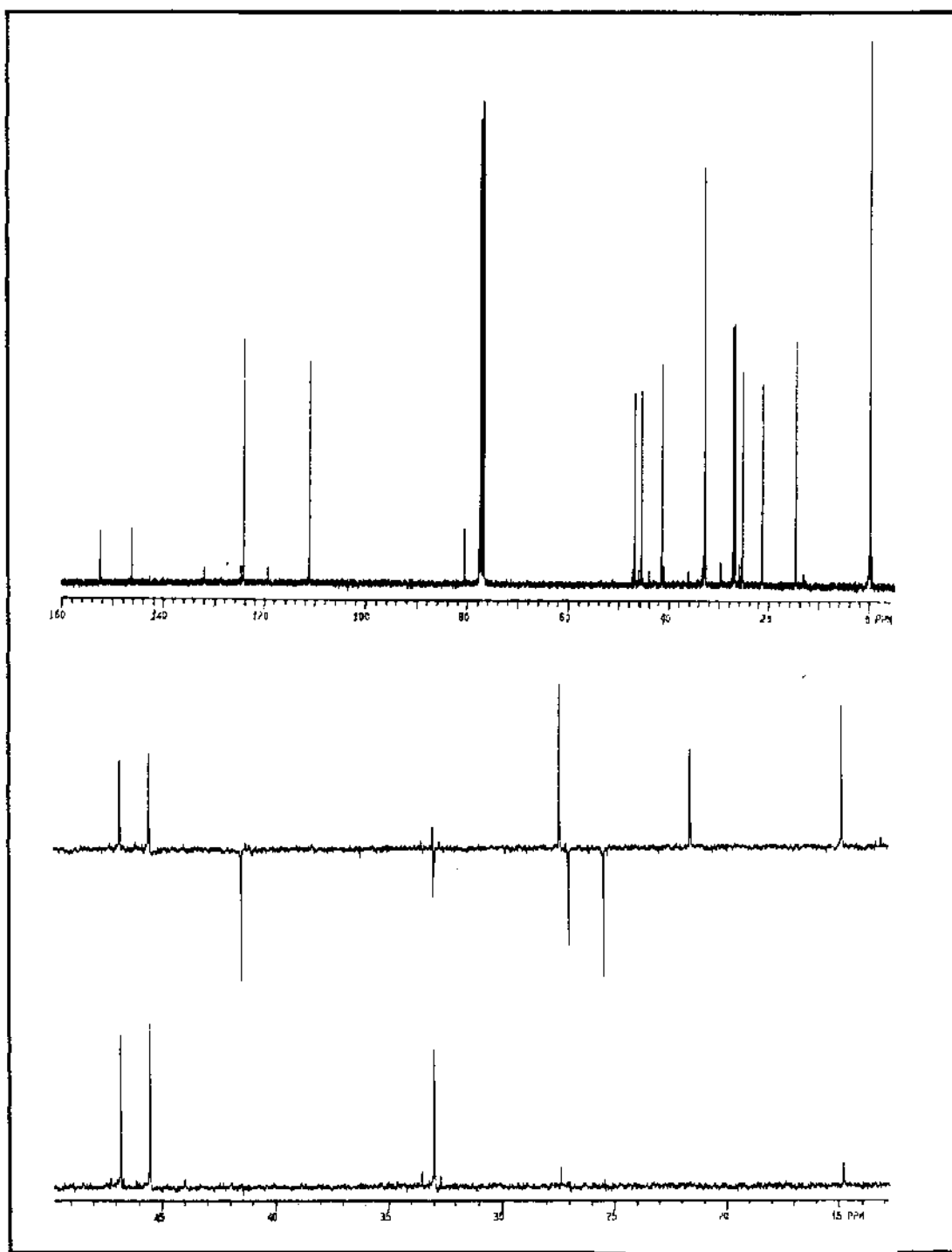
E IV-4: Espectro de IV (filme/KBr) do α -gurjuneno oxidado **21b**



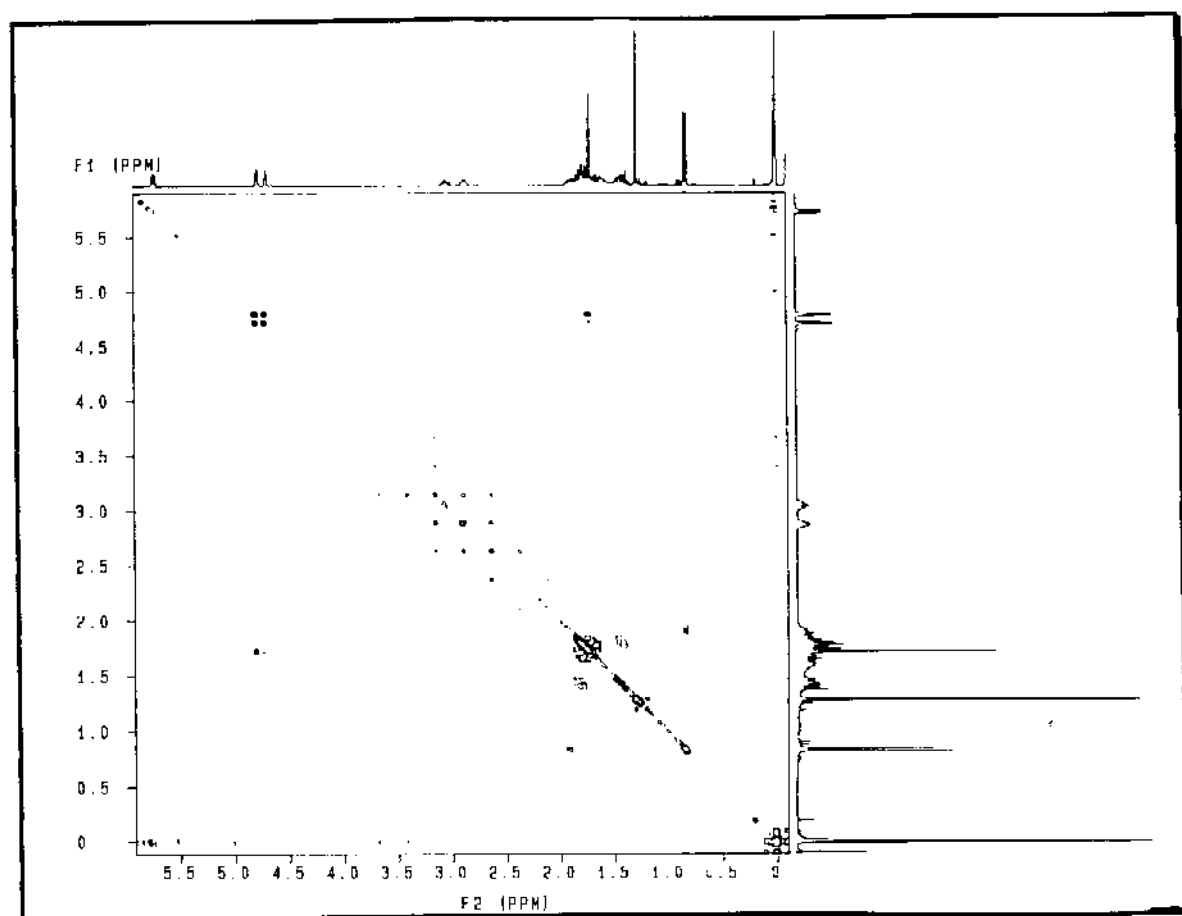
EM-7: Espectro de massas do α -gurjuneno oxidado **21b**



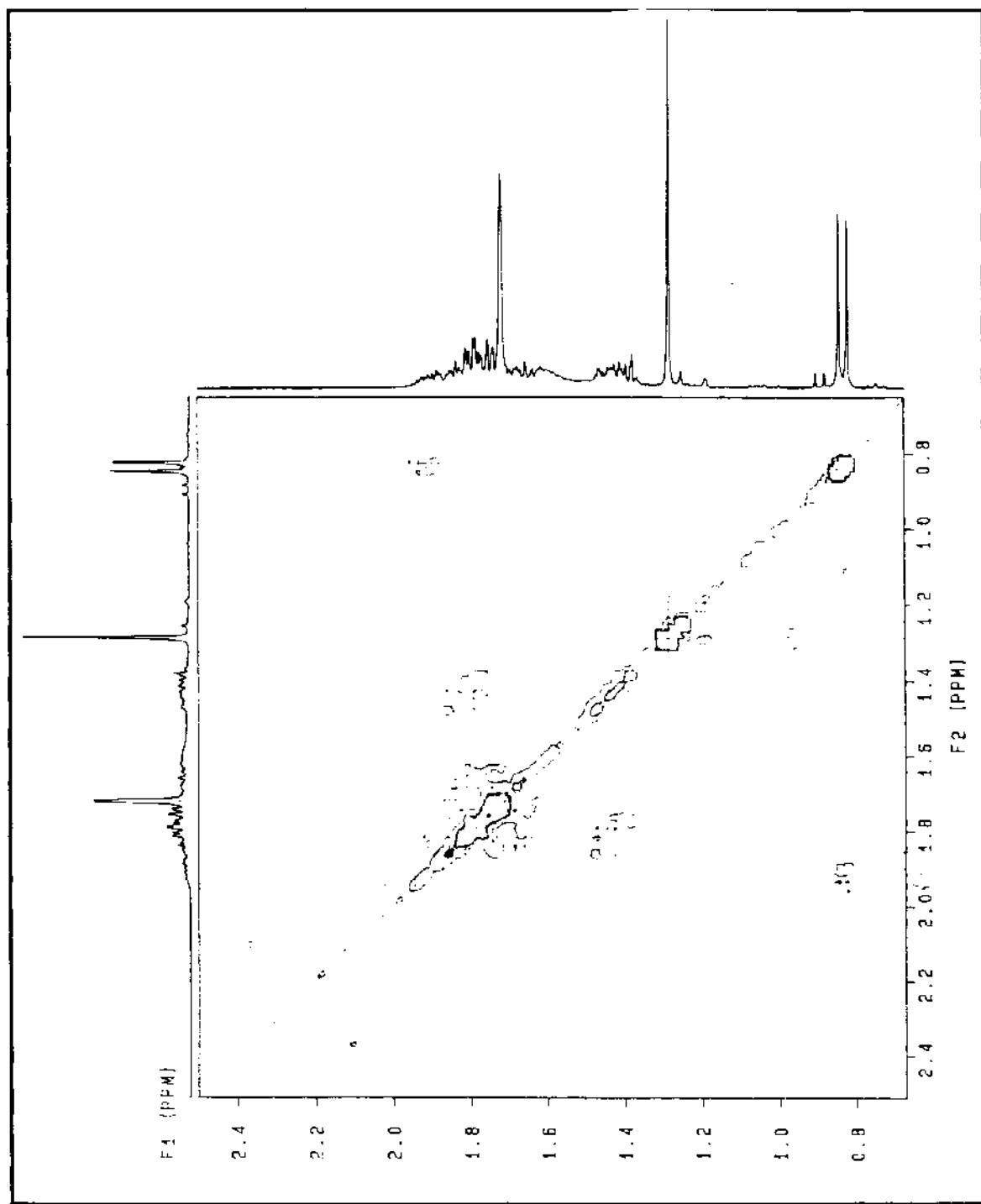
E R¹H-6: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do α -gurjuneno oxidado **21b**



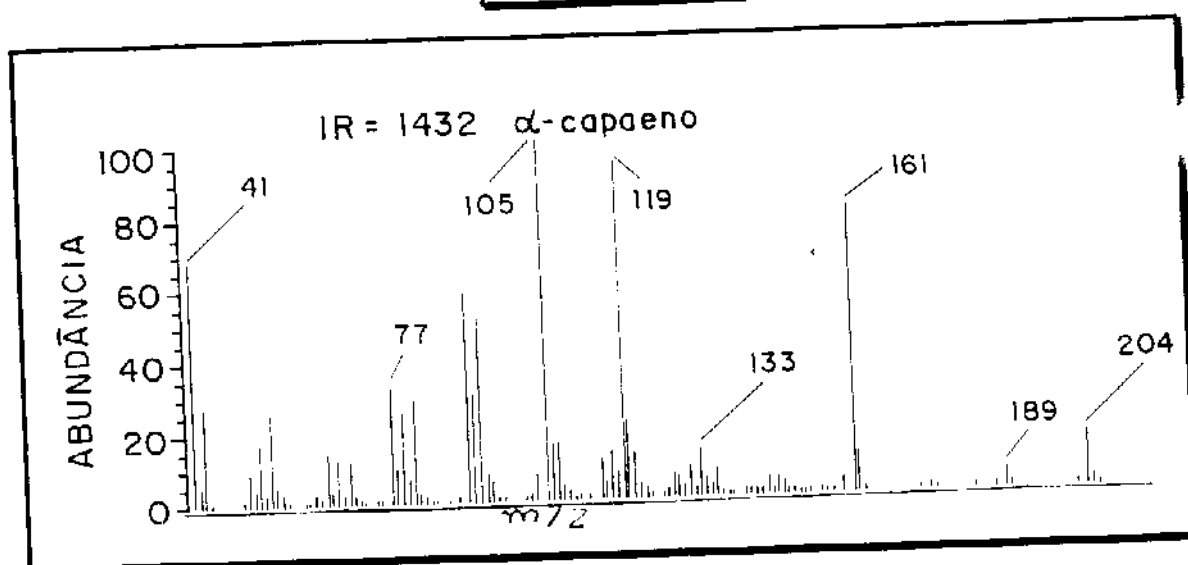
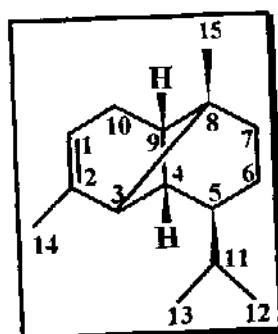
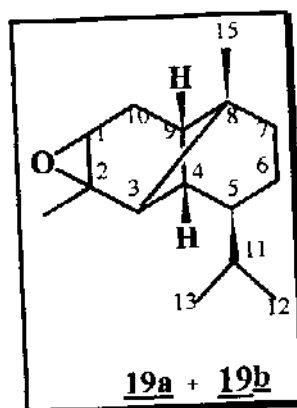
E R^{13}C -6: Espectro de RMN^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do α -gurjuneno oxidado **21b**

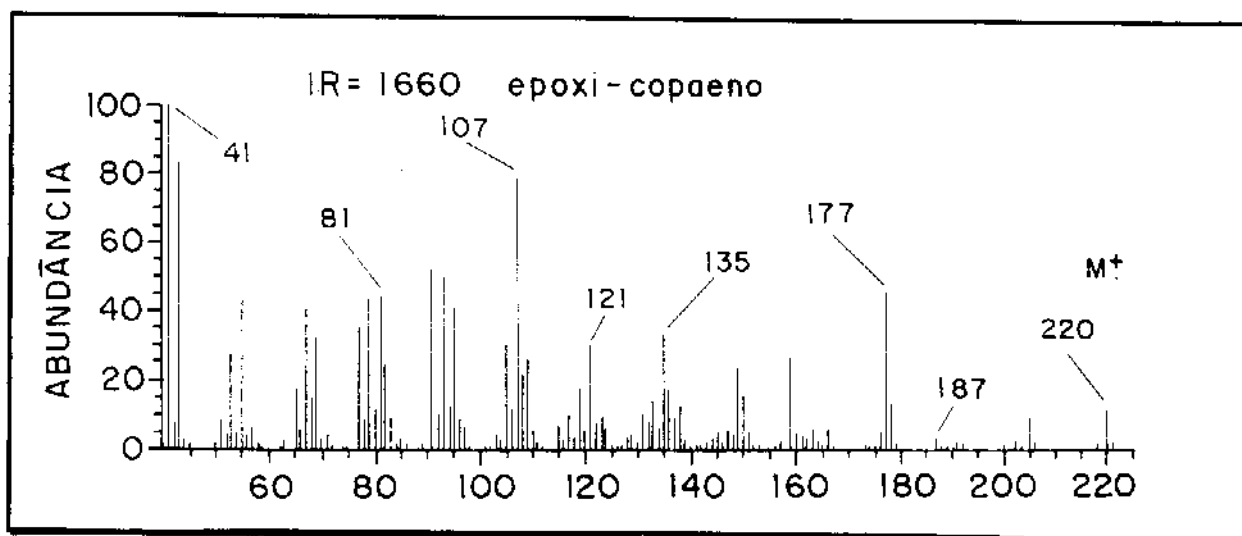


E COSY-4: Espectro da correlação H, H do α -gurjuneno oxidado **21b**

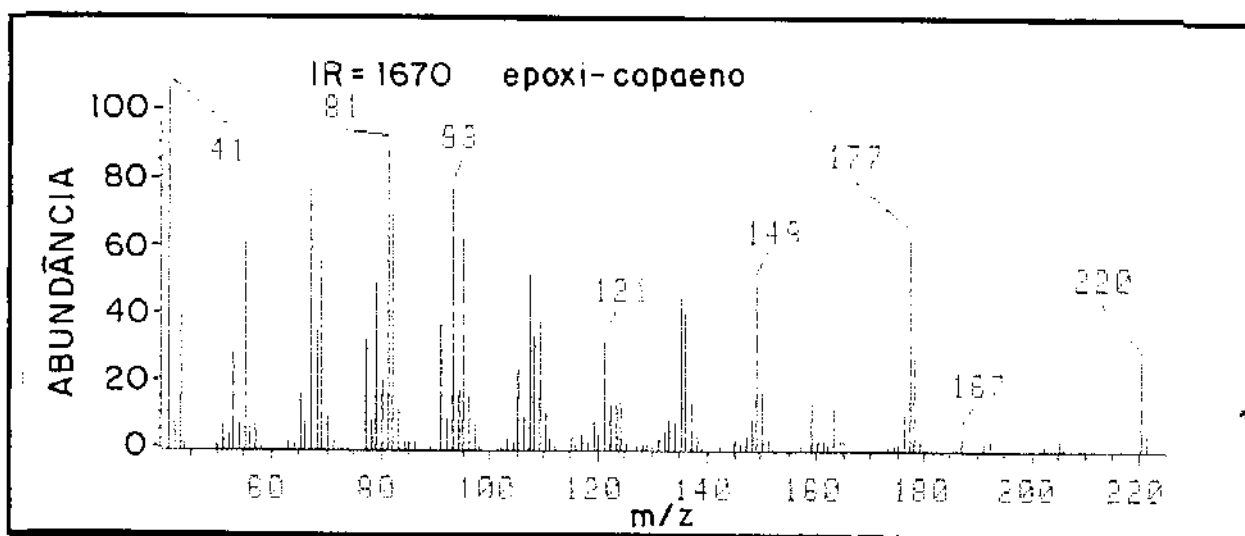


E COSY'-4: Espectro da expansão da correlação H, H do α -gurjuneno oxidado **21b**

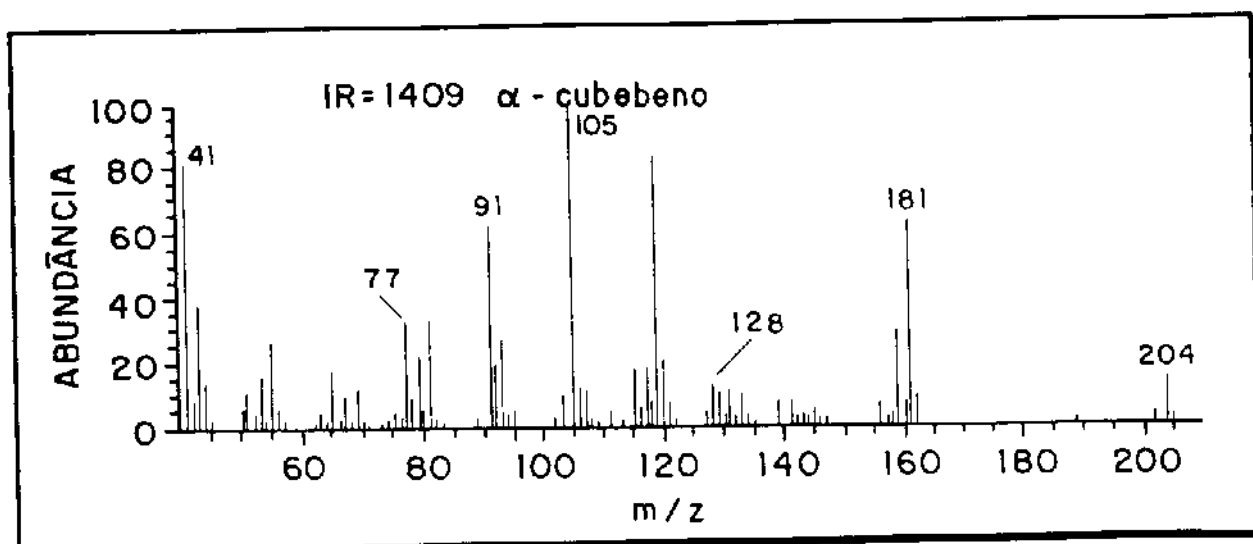
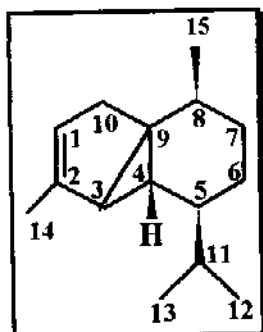
Espectro do α -Copaeno 19EM-8: Espectro de massas do α -copaeno 19Espectros dos epóxidos do α -Copaeno 19a e 19b

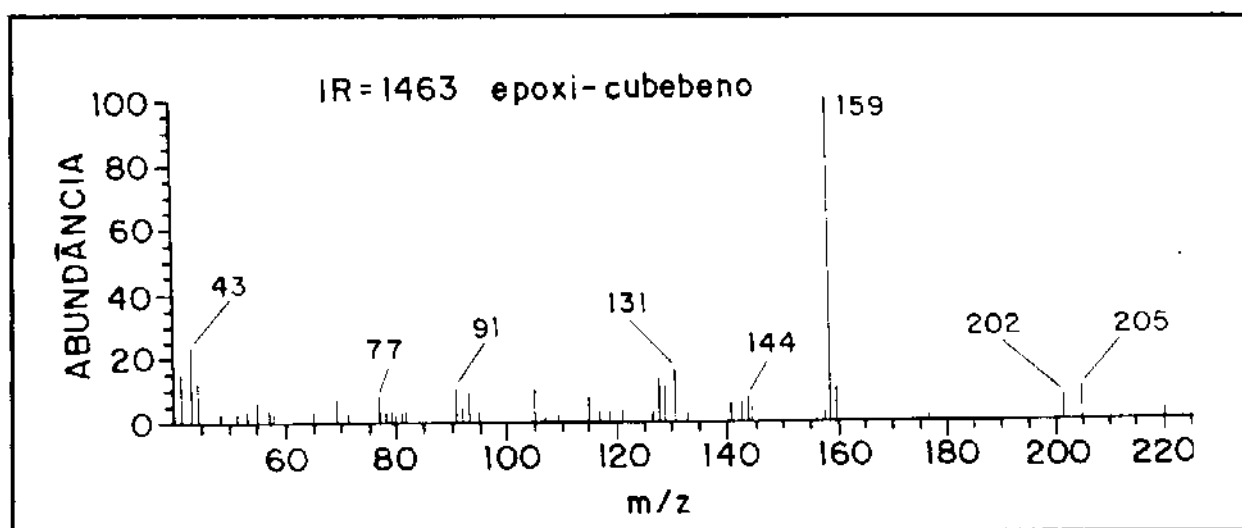
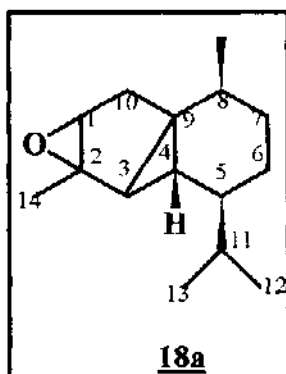


EM-9: Espectro de massas do epóxido do α -copaeno 19a

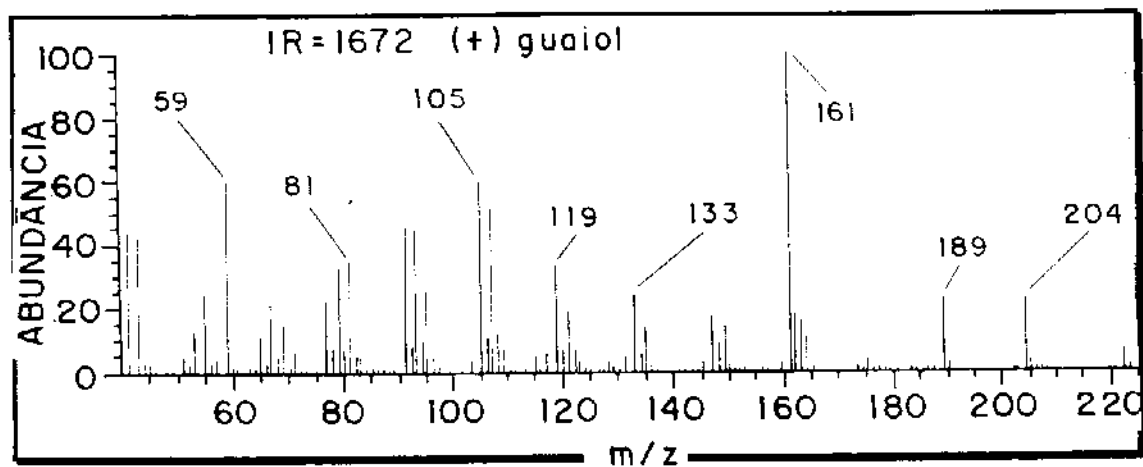
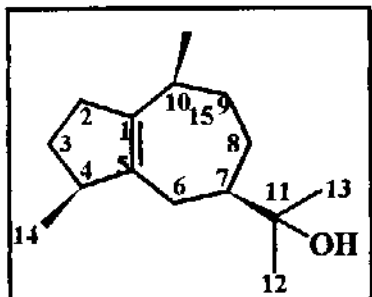
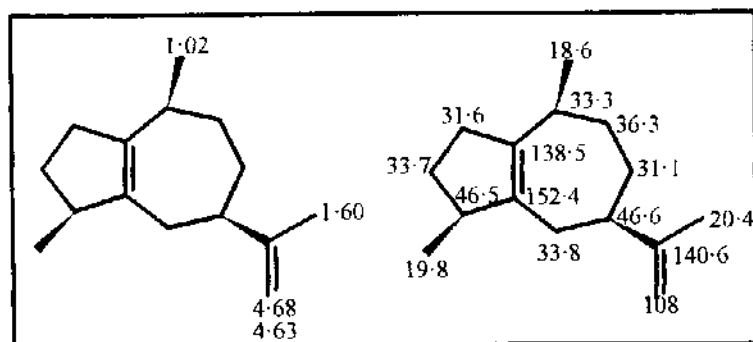


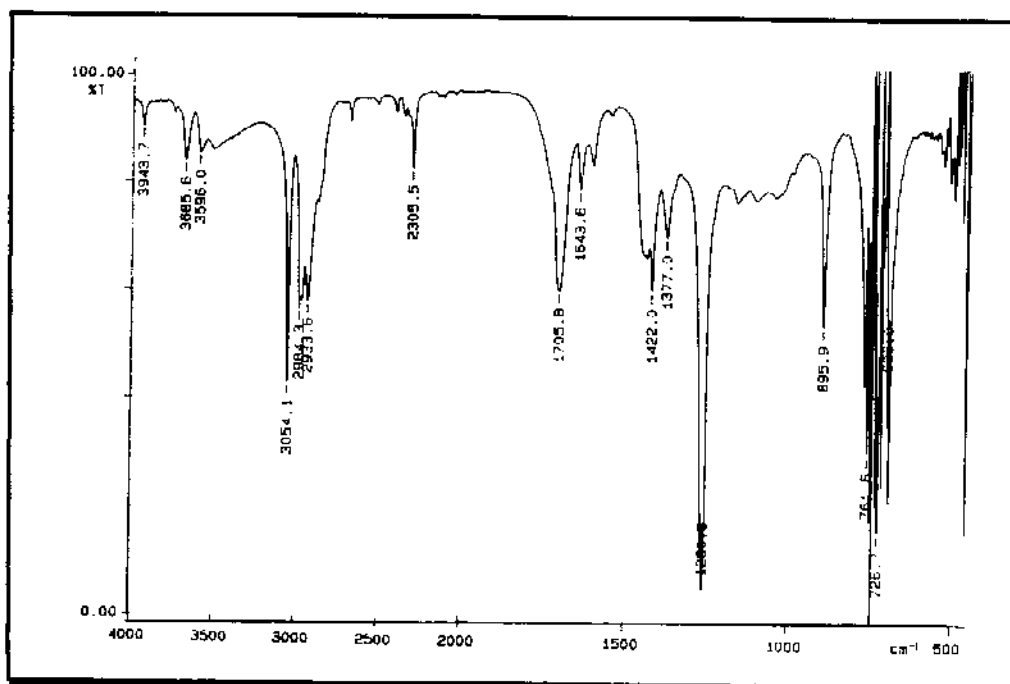
EM-9a: Espectro de massas do epóxido do α -copaeno 19b

Espectro do α -cubebeno 18EM-10 Espectro de massas do α -cubebeno 18

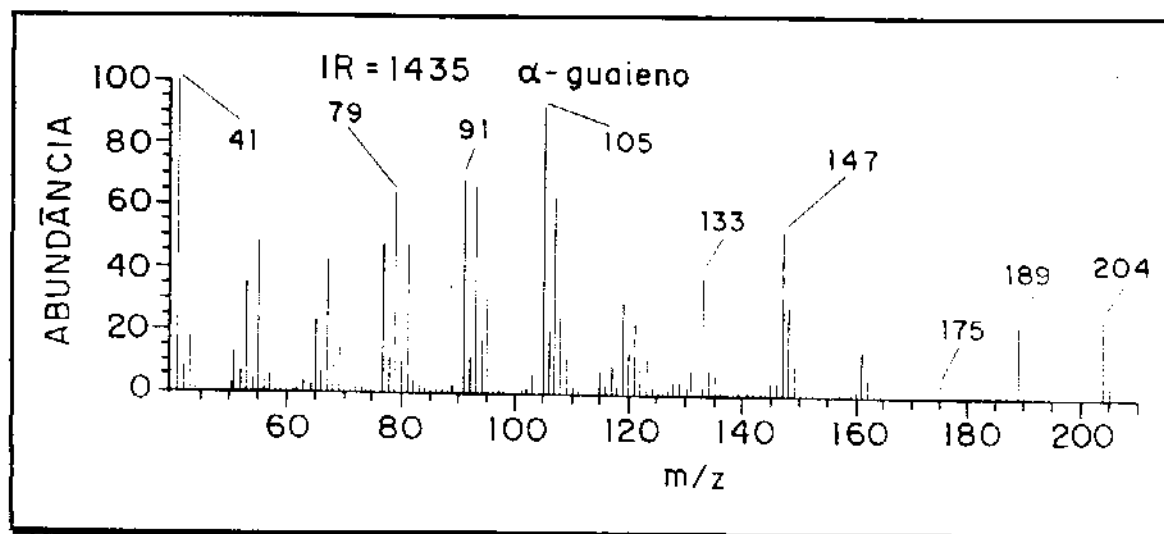
Espectros dos epóxidos do α -cubebeno **18a**EM-11: Espectro de massas do epóxido de α -cubebeno **18a**

Espectro do guaiol 40

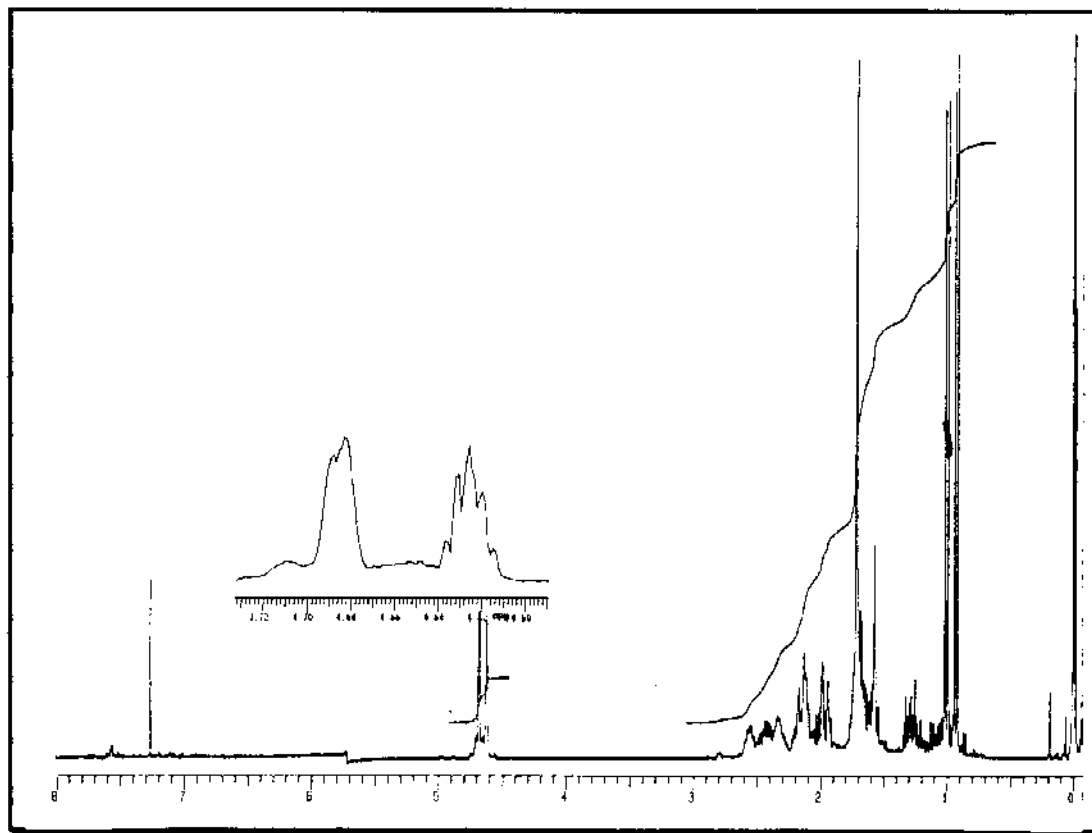
EM-12: Espectro de massas do guaiol 40Espectros do α -guaieno 40aRMN¹H e RMN¹³C do α -guaieno 40a



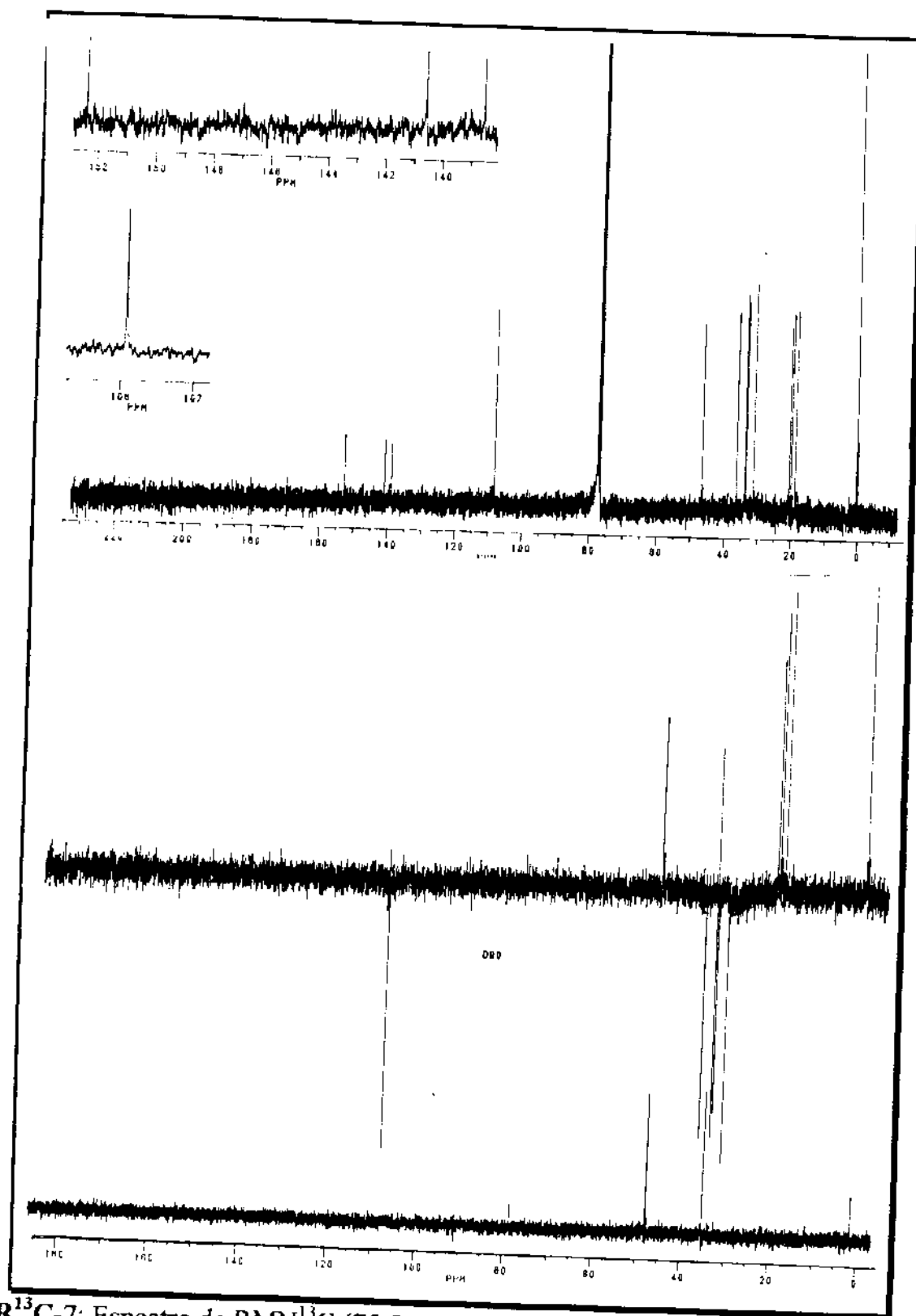
E IV-5: Espectro de IV (filme/KBr) do α -guaieno **40a**



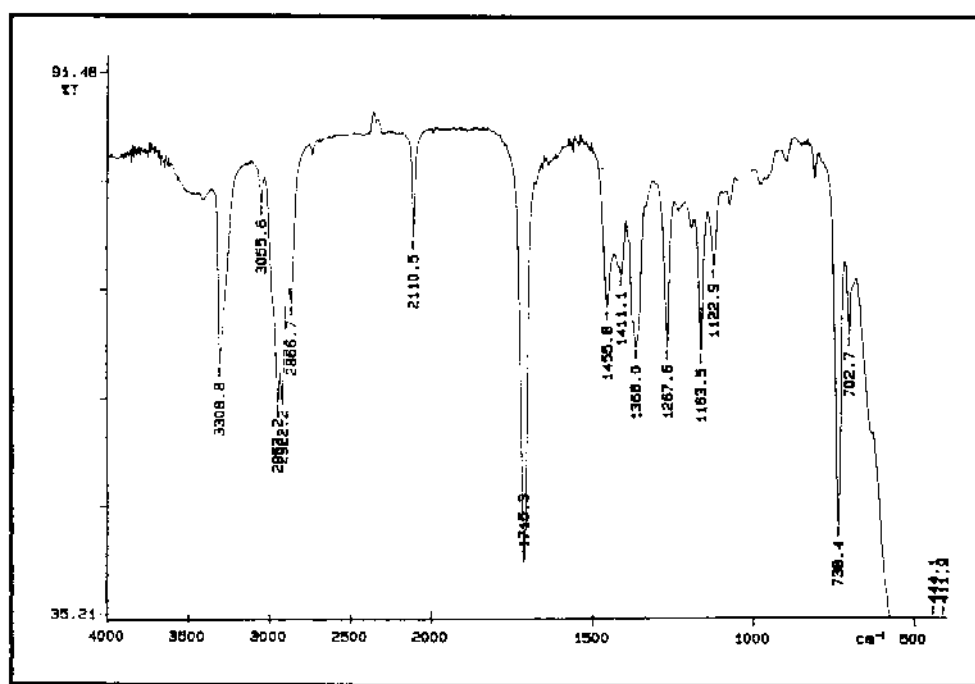
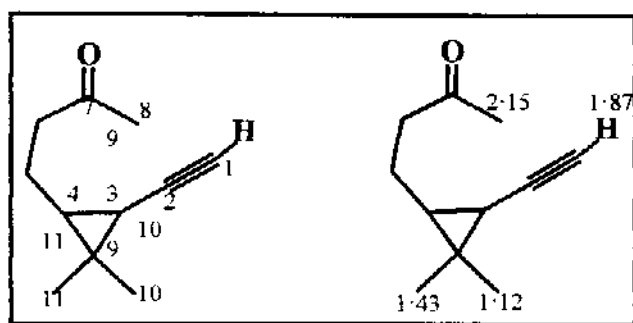
EM-13: Espectro de massas do α -guaieno **40a**

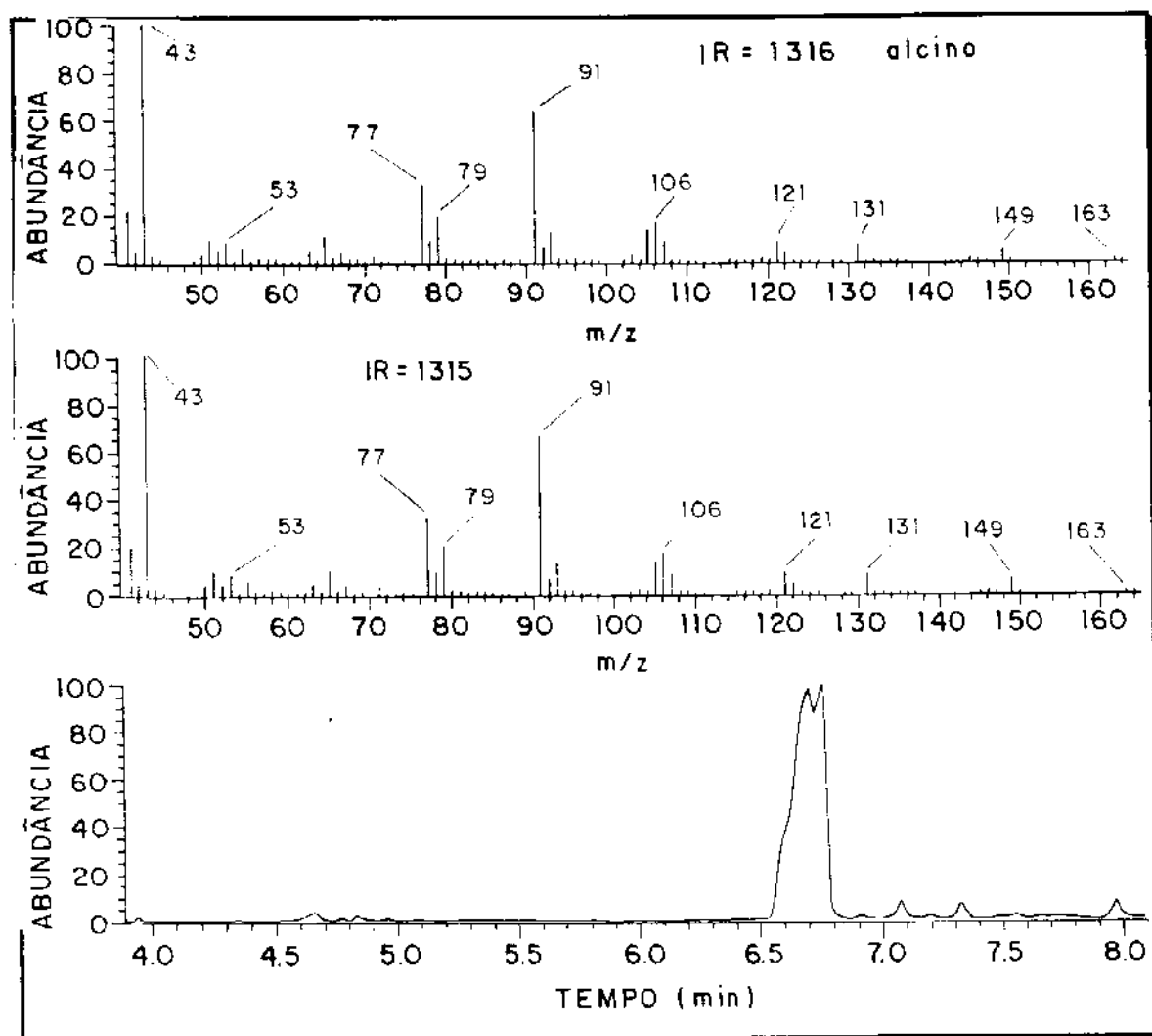


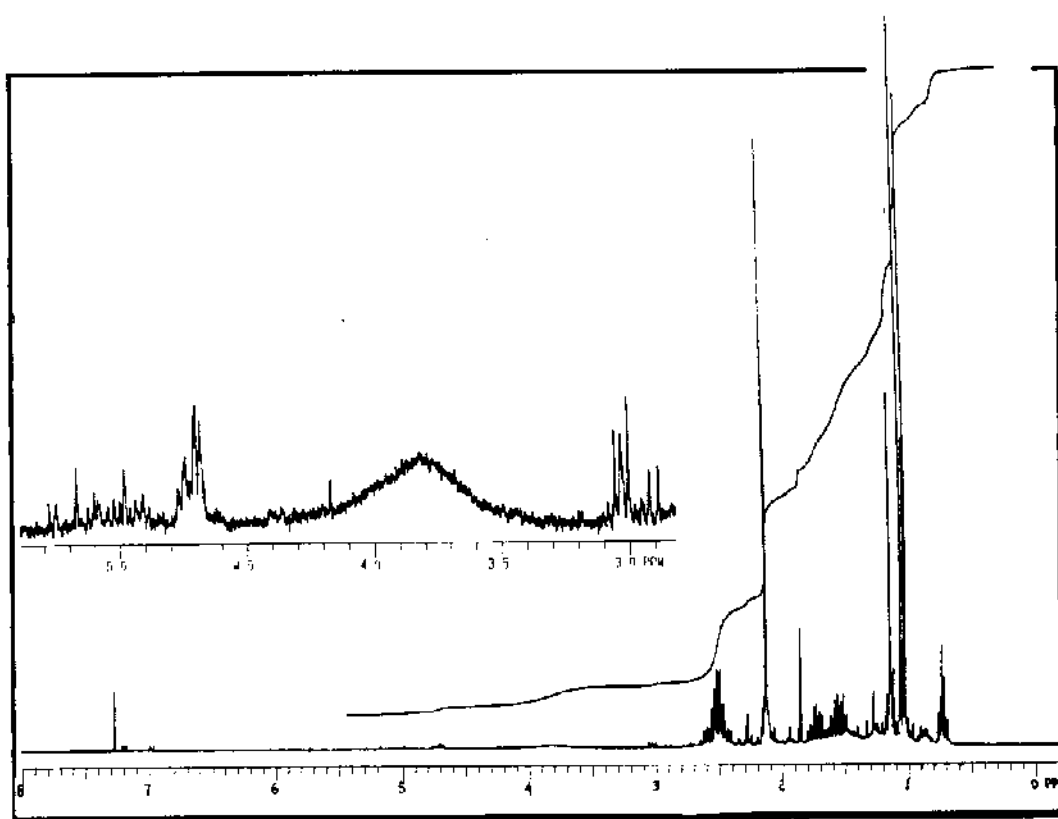
E R¹H-7: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do α -guaieno **40a**



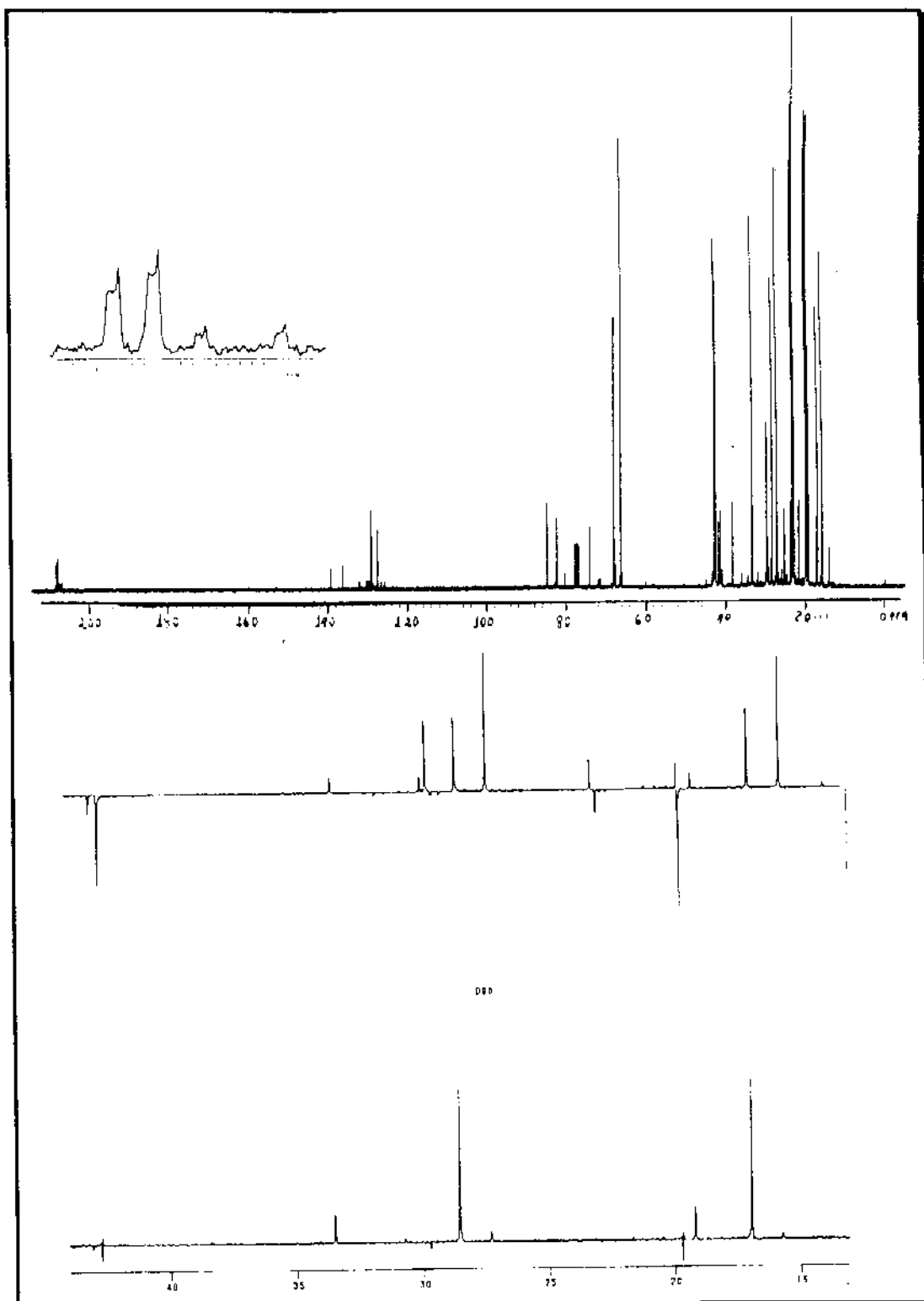
E R^{13}C -7: Espectro de RMN^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do α -guaíeno **40a**.

Espectros do cetoalcino 64E IV-6: Espectro de IV (filme/KBr) do cetoalcino 64

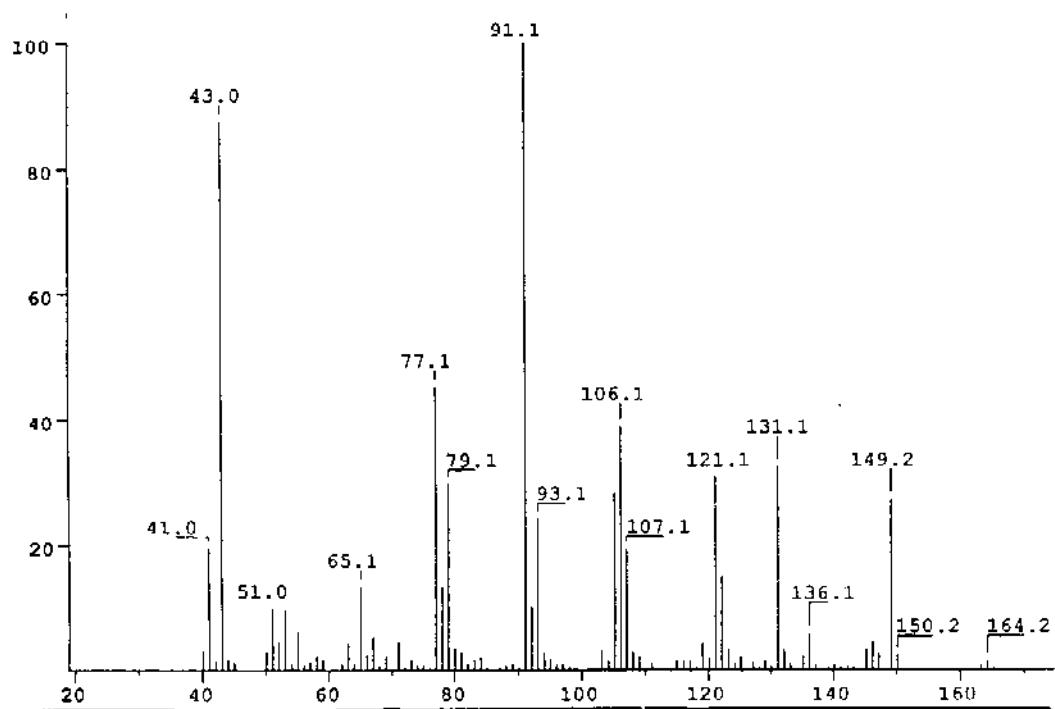
EM-14: Espectro de massas do cetoalcino 64



E RMN¹H-8: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do cetoalcino **64**

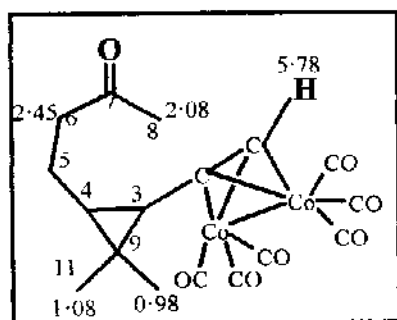


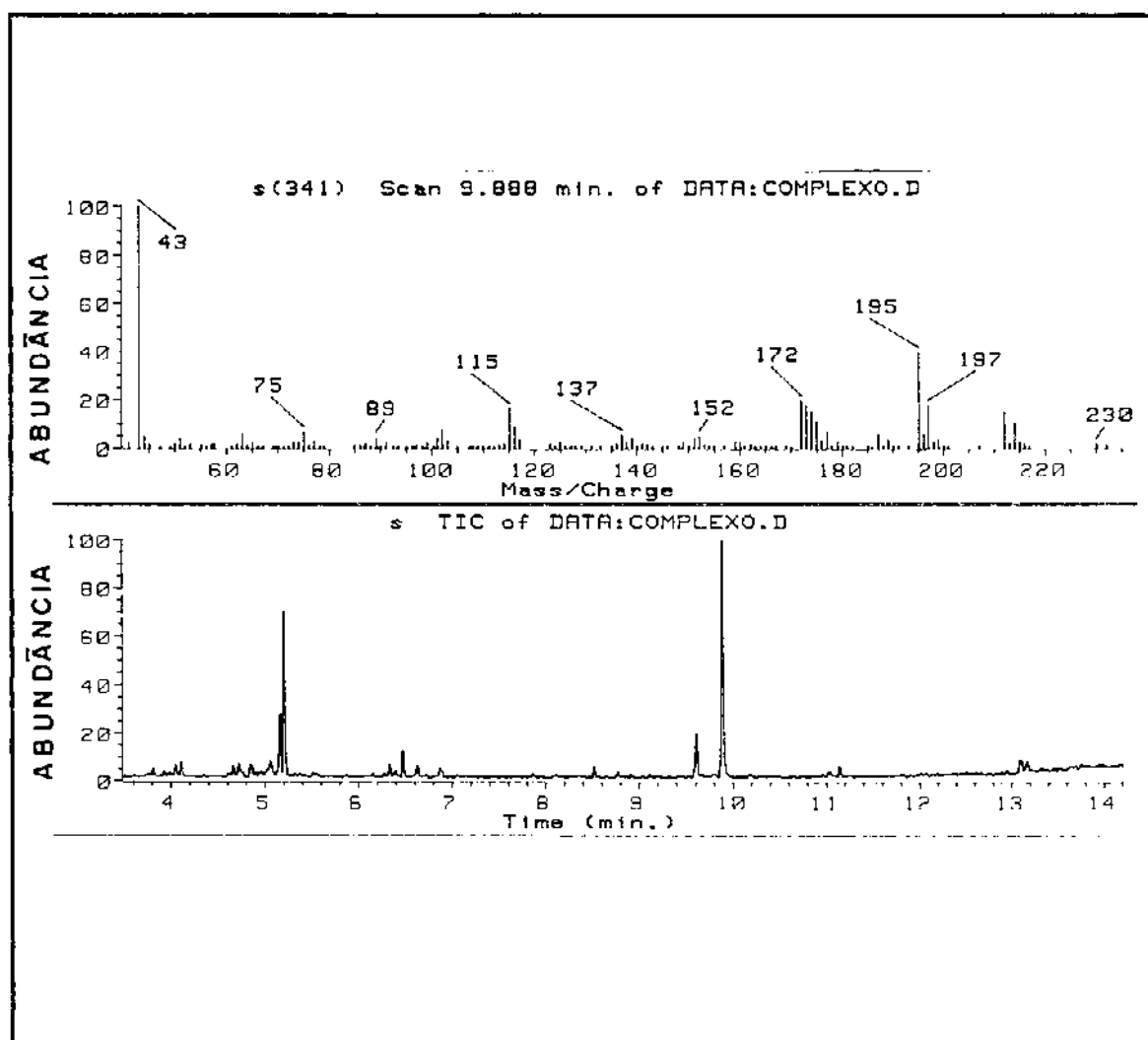
E RMN ^{13}C -8: Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do cetoalcino **64**



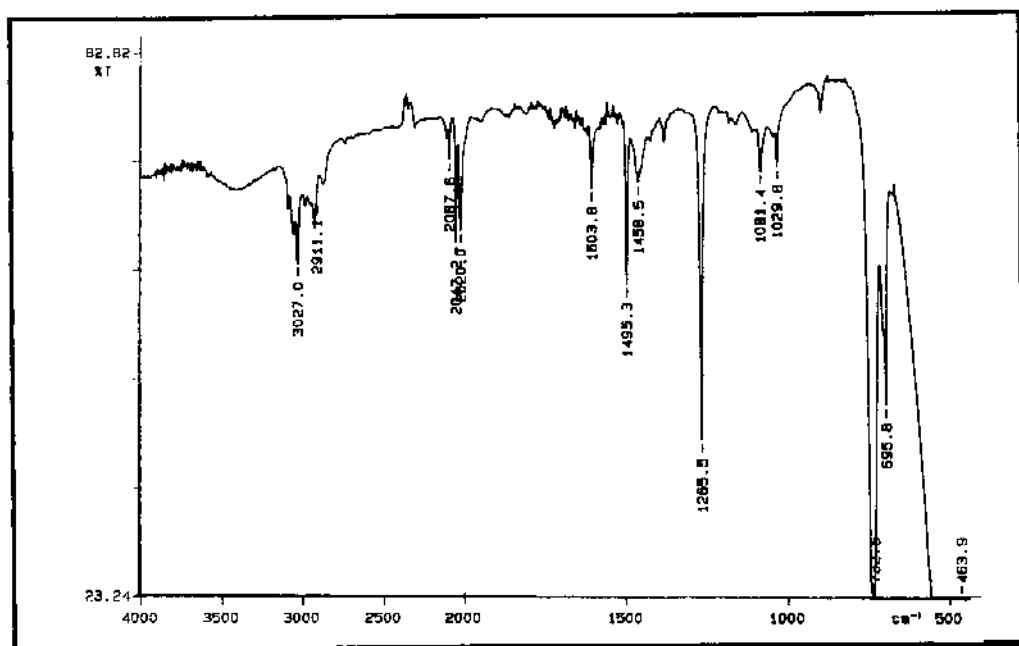
EM-1 : Espectro de massas do cetoalcino 73

Espectros do complexo 65

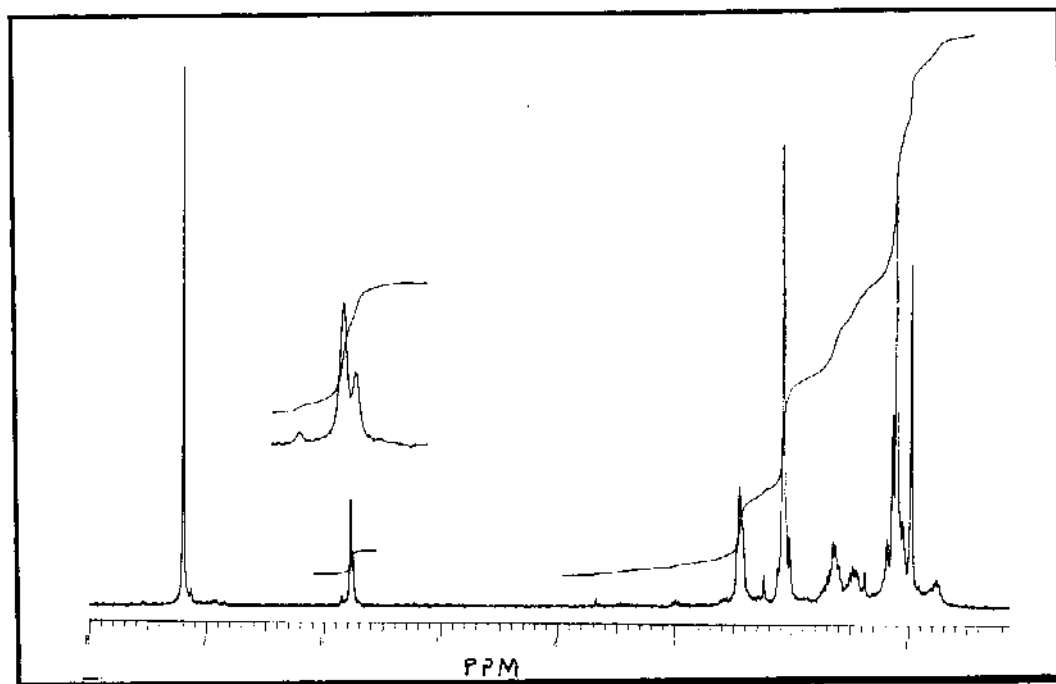




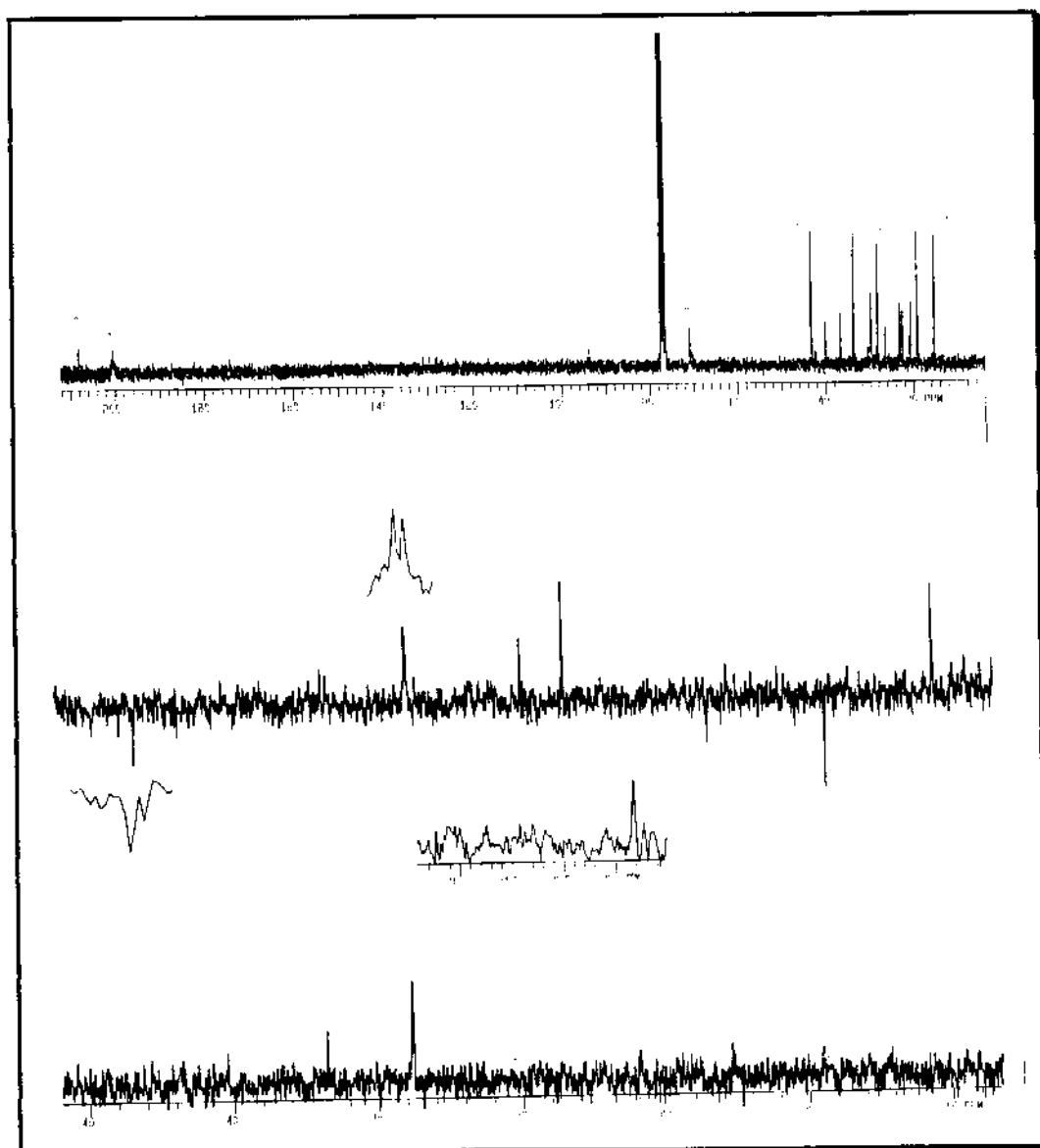
EM-15: Espectro de massas do complexo 65



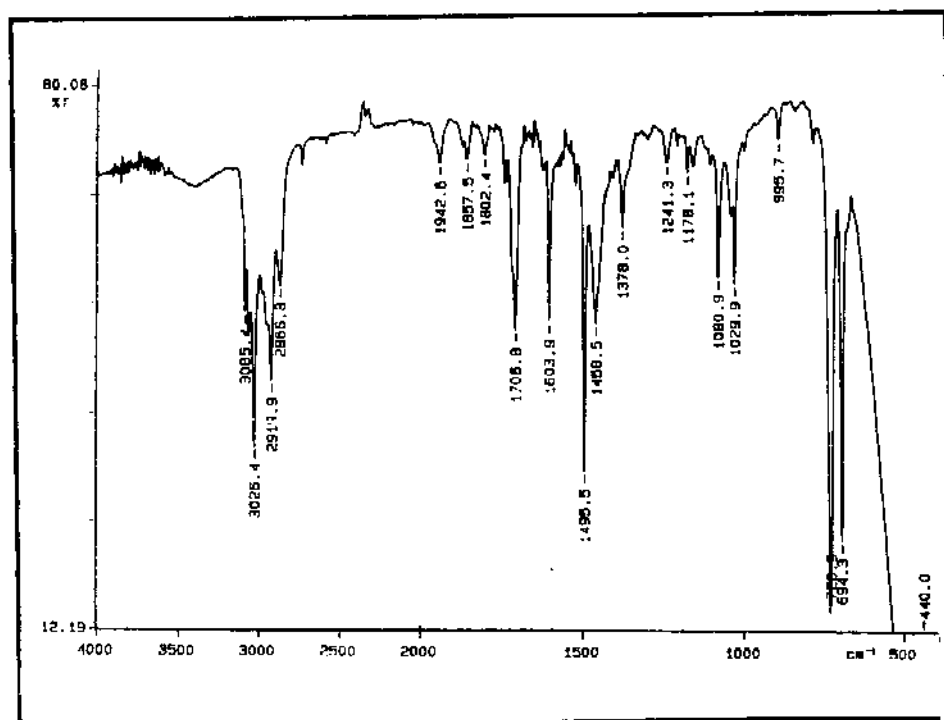
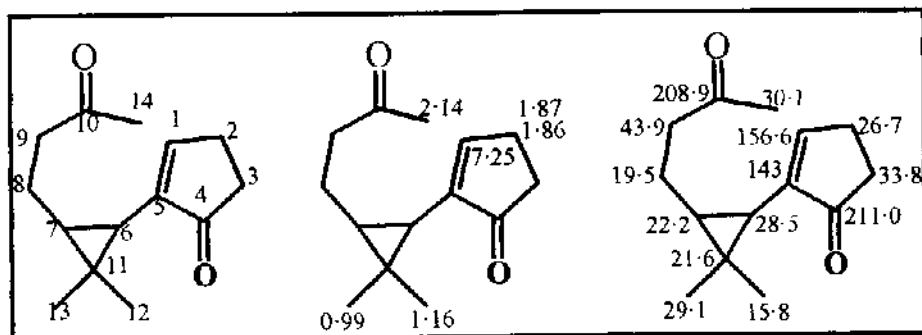
E IV-7: Espectro de IV (filme/KBr) do complexo **65**

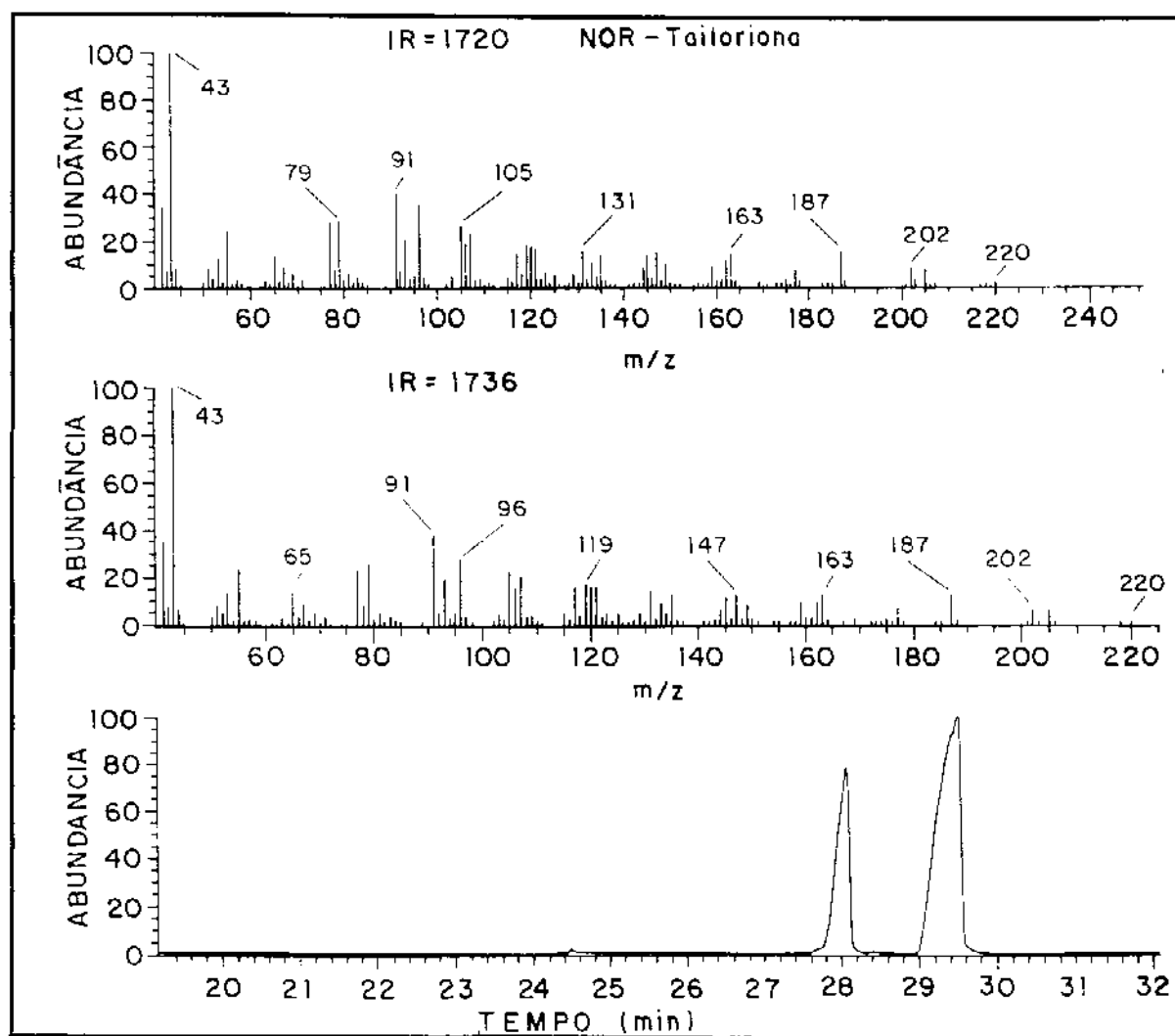


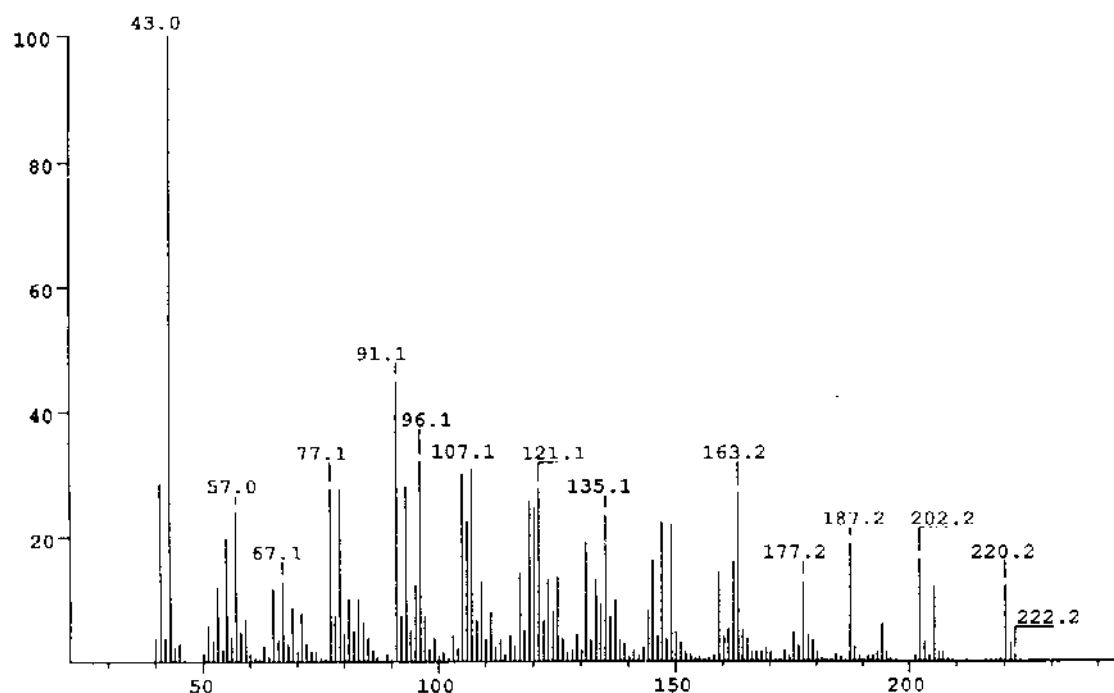
E RMN¹H-9: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do complexo **65**



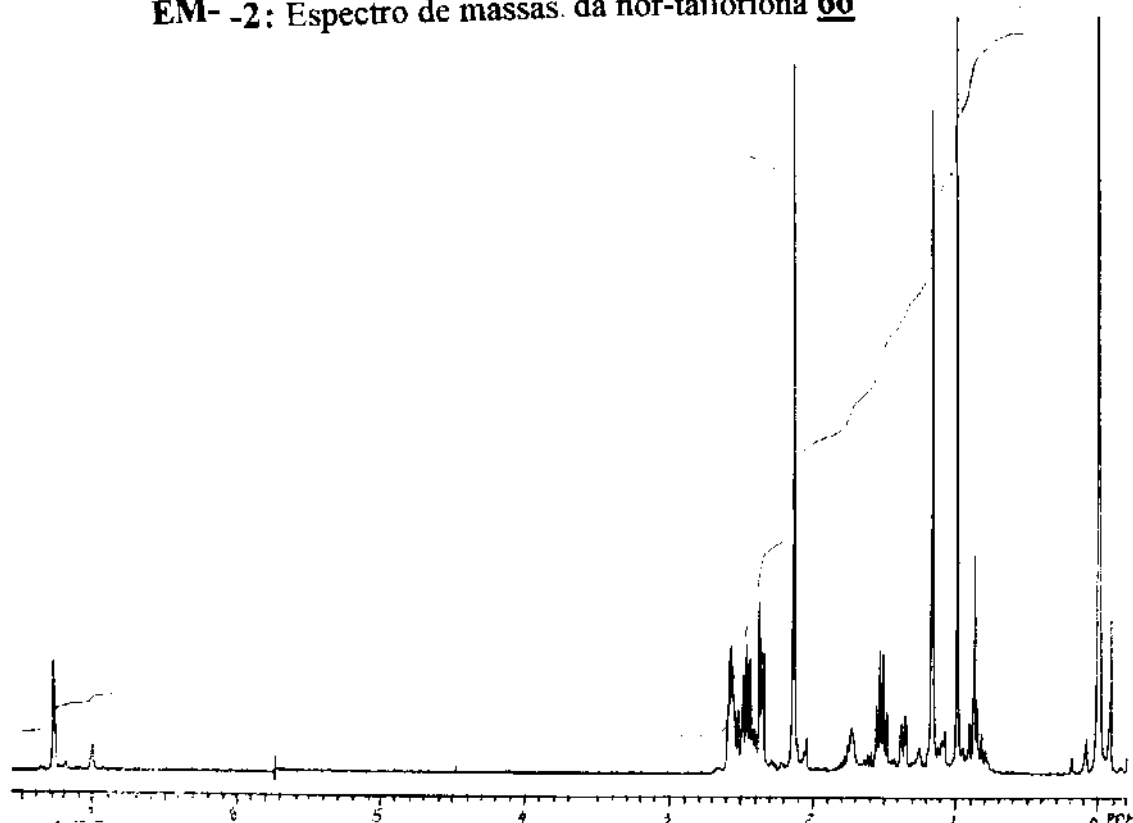
E RMN ^{13}C -9: Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do complexo **65**

Espectros da Nor-Tailoriona 66E IV-8: Espectro de IV (filme/KBr) da nor-tailoriona 66

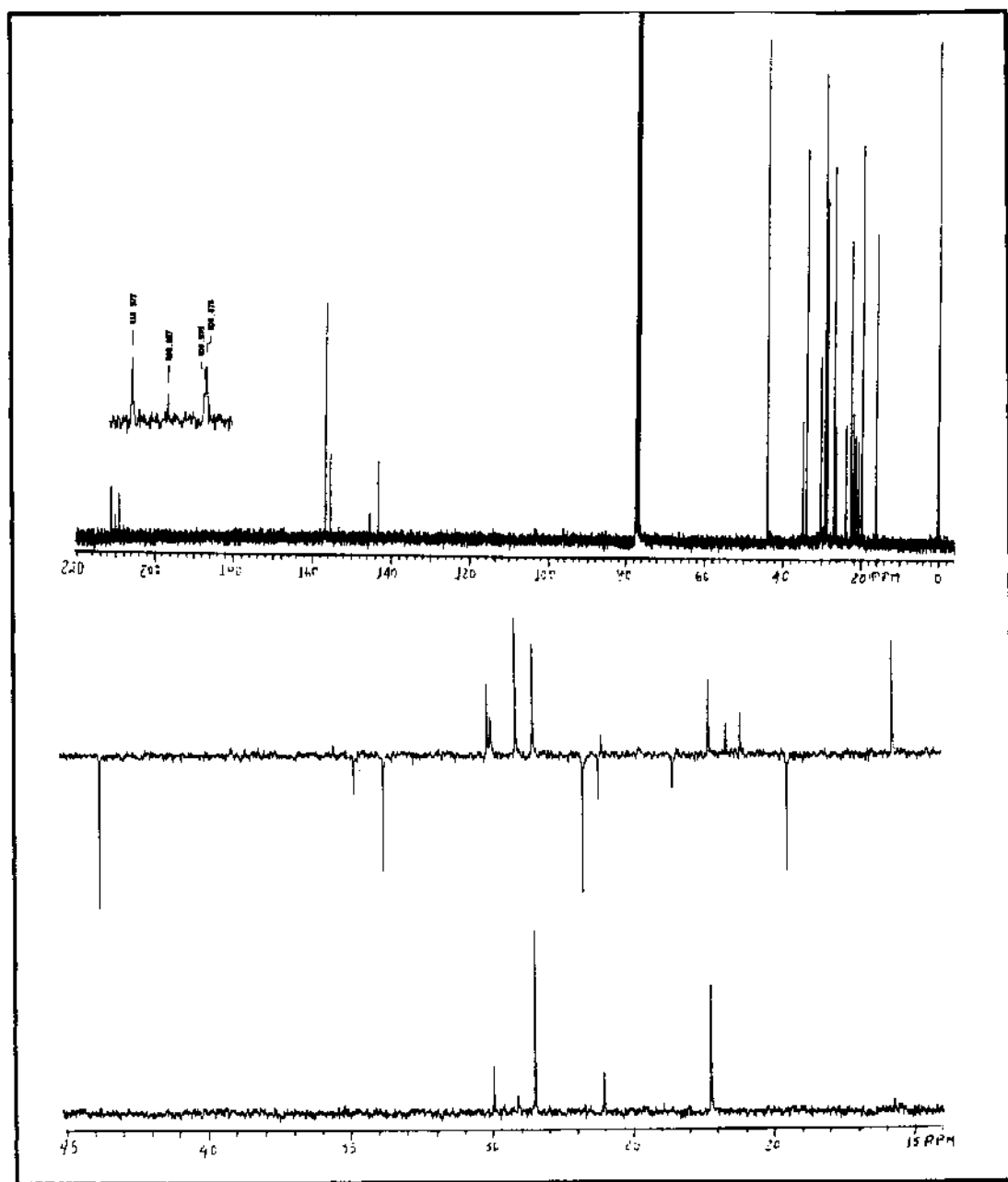
EM-16: Espectro de massas da nor-tailoriona 66



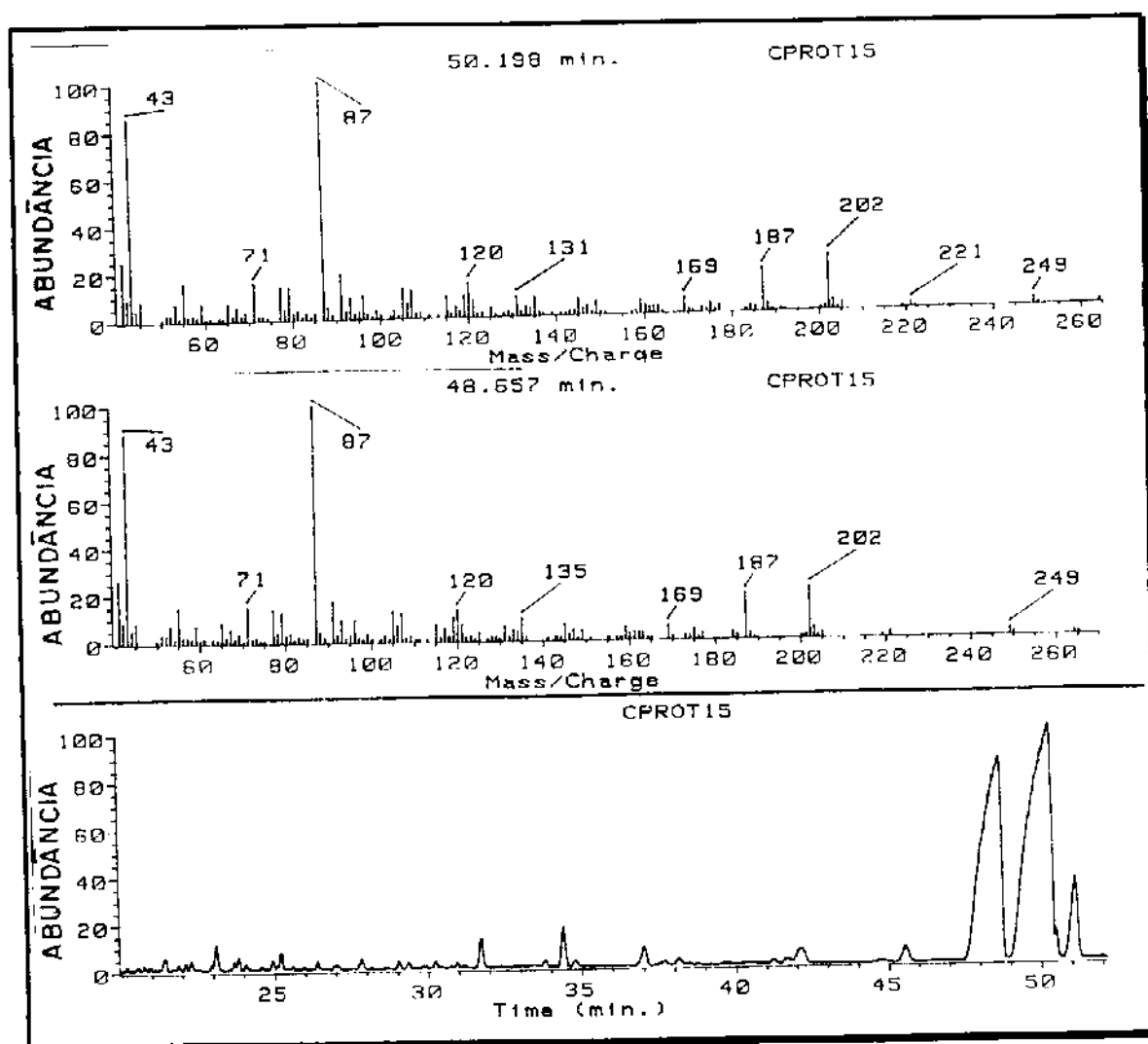
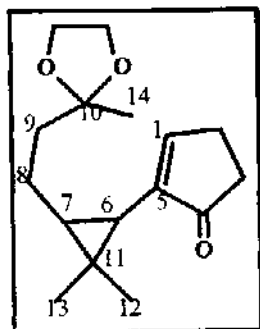
EM- -2: Espectro de massas. da nor-tailoriona **66**

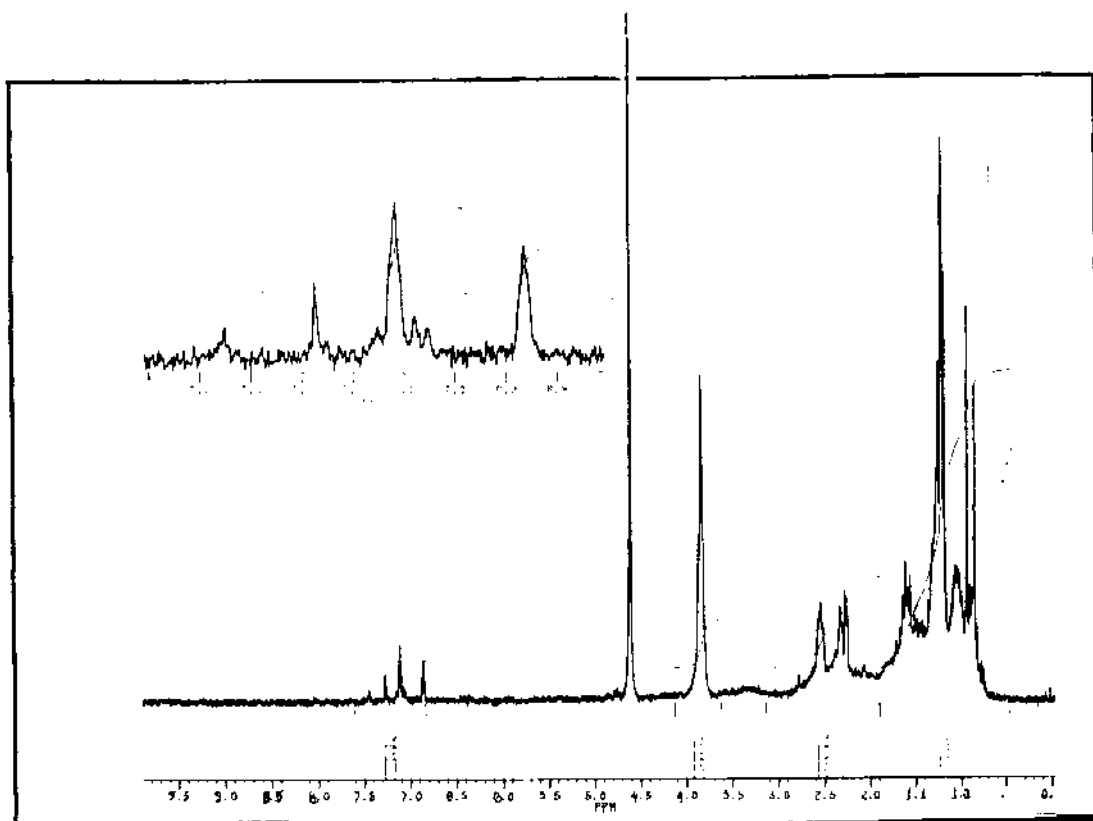


E RMN ^1H -10: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) da nor-tailoriona **66**



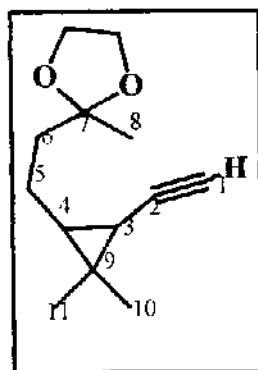
E RMN ^{13}C -10: Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) da nor-tailoriona **66**

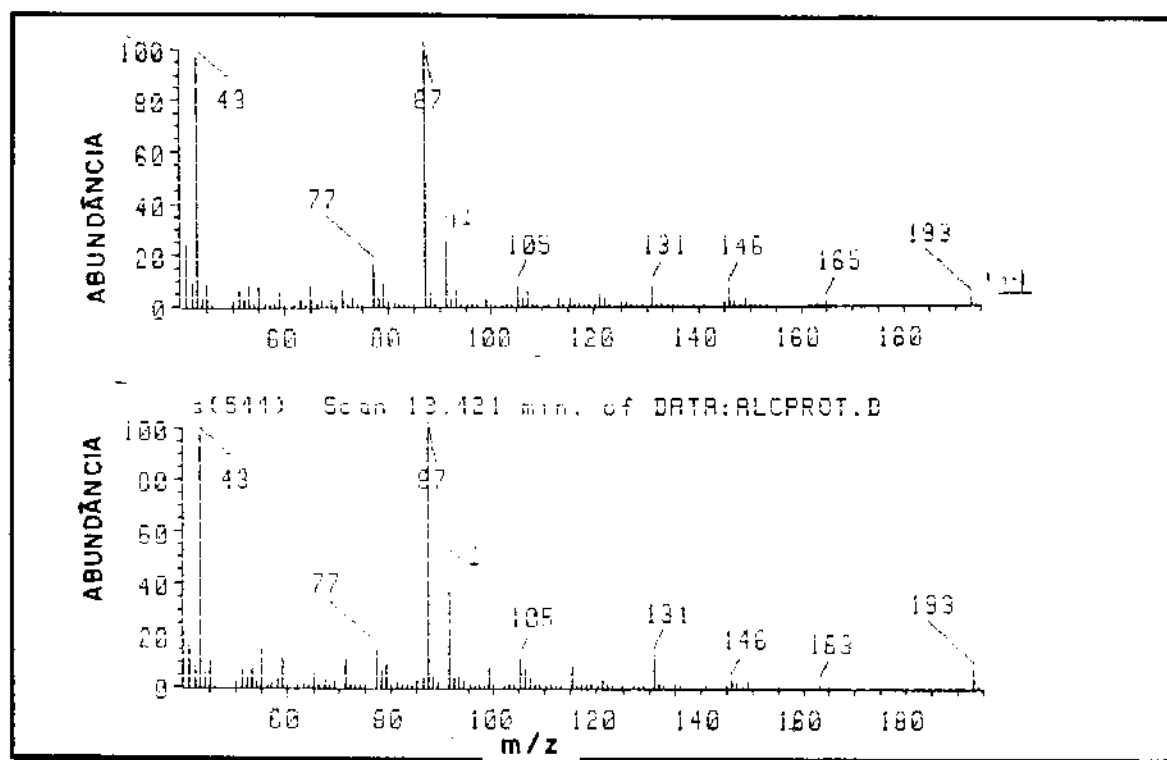
Espectros da Nor-Tailoriona protegida 66aEM-16: Espectro de massas da nor-tailoriona protegida 66a



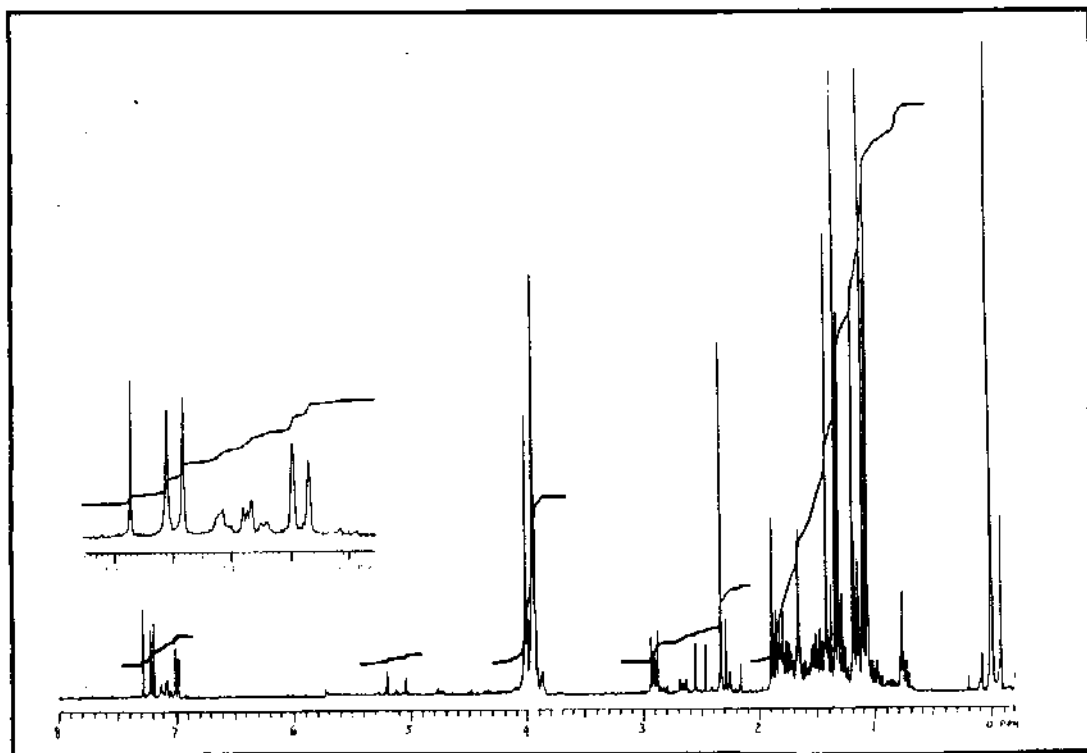
E RMN¹H-10: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CCl_4/TMS) da nor-tailoriona protegida **66a**

Espectro do cetoalcino protegido **64a**

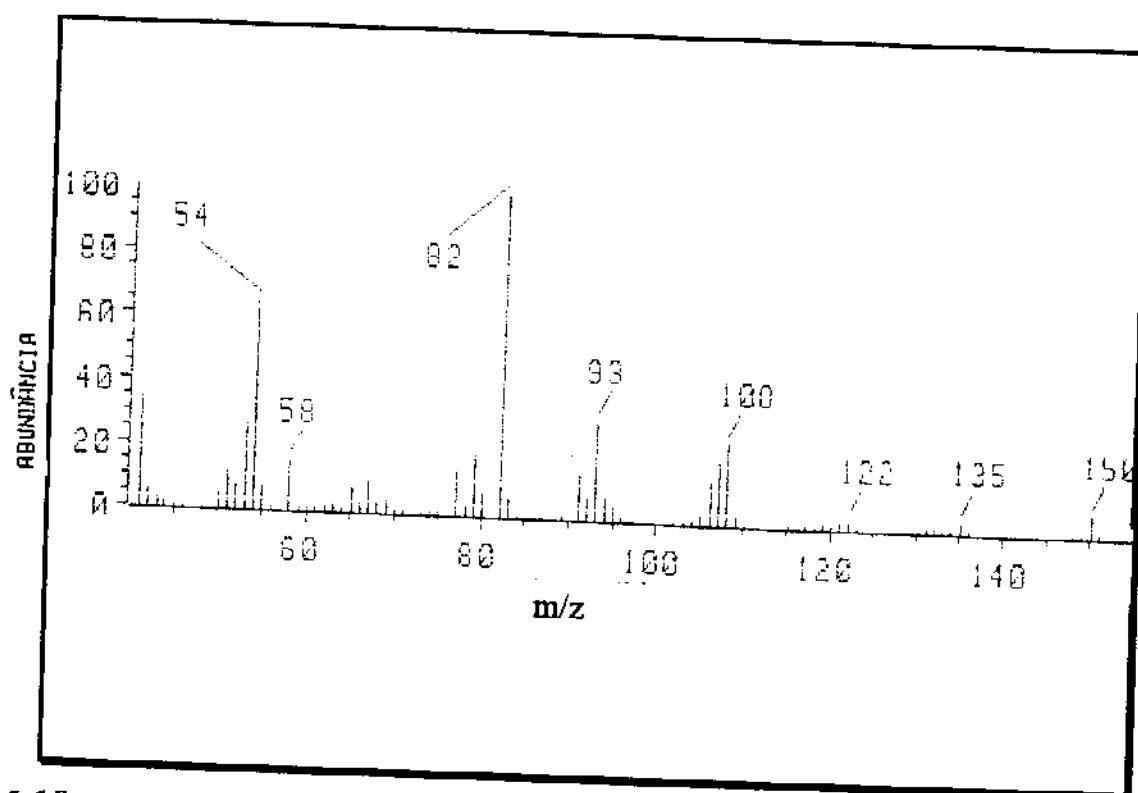


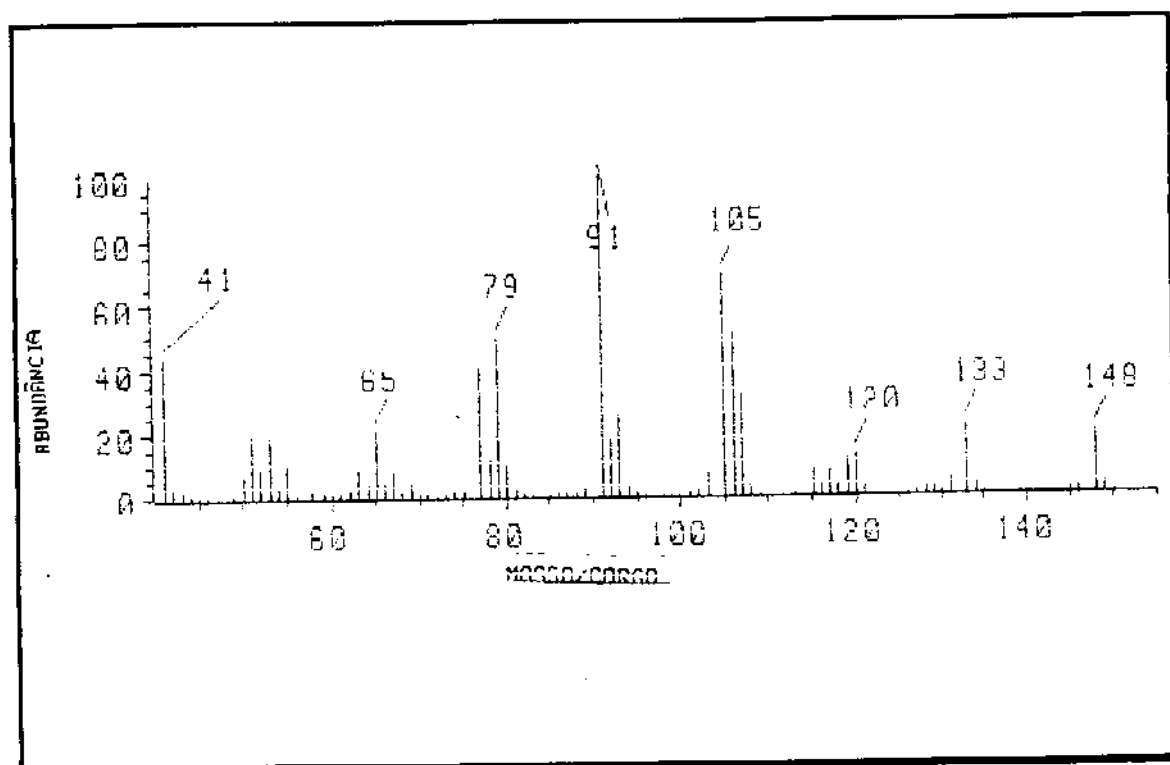


EM-17: Espectro de massas do cetoalcino protegido 64a



E RMN¹H-11: Espectro de RMN¹H (300 MHz, CCl_4/TMS) do cetoalcino protegido **64a**

Espectro da carvona 67EM-18: Espectro de massas da carvona 67

Espectro da homo carvona 68**EM-19: Espectro de massas da homo carvona 68**