
Universidade Estadual de Campinas

Instituto de Química

**ASPECTOS QUÍMICOS DA POLINIZAÇÃO DE ESPÉCIES DO
GÊNERO *CLUSIA* E SÍNTESE DA (+) - CIS - NORTAILORIONA E
7S - ISOTIOCIANO - 7,8 - DI - HIDRO - α - BISABOLENO.**

Cecília Maria Alves de Oliveira

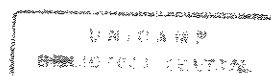
TESE DE DOUTORADO

ORIENTADORA

Dra. Anita Jocelyne Marsaioli

Campinas

0811482



INICIADE	BC
L ^a CHAMADA:	Unicamp
	2002
Ex	33480
	395198
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/05/98
L ^a CPD	

CM-00110698-6

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

OL4a

Oliveira, Cecília Maria Alves de

Aspectos químicos da polinização de espécies do gênero *clusia* e síntese da (+) - cis - nortailoriona e 7 S - isotiocianato - 7,8 - di -hidro - α - bisaboleno / Cecília Maria Alves de Oliveira. - Campinas, [SP : s.c.], 1997.

Orientador: Anita Jocelyne Marsaioli

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

1. Produtos naturais. 2. Identificação. 3. Isolamento.
I. Marsaioli, Anita Jocelyne. II. Universidade Estadual
de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Agradecimentos

- À professora Anita Marsaioli pelos anos agradáveis que passamos trabalhando juntas, pela compreensão nos momentos difíceis, pelo apoio, incentivo e principalmente por tudo que aprendi ao longo desses anos.
- Ao Volker e à Maria do Carmo pela grandiosa colaboração neste trabalho, mas principalmente pela amizade.
- A Universidade Federal de Goiás pela liberação para o Doutorado e ao diretor do Instituto de Química, Professor Celso Machado, pelo apoio em todos estes anos.
- Aos meus colegas da Química Orgânica, Pedro, Sílvio, Dori, Luciano, Nivaldo, Nelcício, Susana, Arsonval, e aos colegas Ersanta, Maria do Carmo e Alberto, pela convivência, apoio e compreensão.
- A Unicamp e ao Instituto de Química pela acolhida.
- A CAPES/PICD pela bolsa de estudo.
- A Cleide pela impagável ajuda ao longo destes anos. Não saberia como agradecer!
- A d. Maria pela ajuda e, principalmente, pela docilidade com que sempre nos trata.
- A Paula e a Sônia, mais pela amizade que pelos espectros.
- A Sônia (HPLC) pela amizade e ajuda. Seu apoio foi de grande importância na execução de parte deste trabalho.
- A amiga Cleuza pelo carinho e pelas amostras dos derivados isotiocianicos.
- Aos funcionários do IQ/Unicamp e Goiânia. Principalmente à Paula e Iara pelos trabalhos de xerox.
- Aos professores, alunos e funcionários do bloco A-6, pela agradável convivência todos estes anos.
- Aos meus amigos em geral, que tornam minha vida mais agradável e me ajudam a viver melhor. A todos meu agradecimento mais que especial.

- As famílias Chaves da Rocha e Tavares de Oliveira, pela amizade e carinho com que me receberam em Goiânia.

- Ao André, pela amizade e pela ajuda com os testes de bioautografia, com os posters, com a preparação de algumas amostras, etc.

- Ao Renato pela amizade, paciência e ajuda com o computador.

- Ao Bira, pela amizade e por alguns espectros.

- Aos outros colegas e amigos, Domingos, Péricles, Vera, Paulo, Laverde, Gelson, Clarinha, Denise, Cláudio e Regina, pela amizade.

- Aos colegas e amigos do laboratório, Valéria, Carlos e Marise (obrigada pela ajuda nos testes de bioautografia).

- Por fim, quero agradecer, de maneira muito especial, meus pais, irmãos, sobrinhos e cunhados, todo apoio e carinho que tenho recebido ao longo de todos estes anos. Sou muito grata e feliz por tê-los ao meu lado.

Abreviações e símbolos

CC:	cromatografia de coluna.
CCD:	cromatografia em camada delgada.
CG:	cromatografia gasosa.
CG/EM:	cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa.
COSY:	espectro bidimensional de correlação homonuclear (HxH) a uma ligação.
DEPT:	melhoramento sem distorção por transferência de polarização.
d:	dublete.
dd:	duplo dublete.
dq:	duplo triplete.
E:	espectro.
EM:	espectro de massas.
EV:	elétron volt.
HETCOR¹:	espectro bidimensional de correlação (CxH) a n ($n = 1 \dots n$) ligações.
IV:	infravermelho.
J:	constante de acoplamento.
k_{assoc}:	constante de velocidade de associação.
k_{dissoc}:	constante de velocidade de dissociação.
k_{ioniz}:	constante de velocidade de ionização.
K_N:	constante de velocidade de formação do isotiocianato.
k_S:	constante de velocidade de formação do tiocianato.
m:	multiplete.
M⁺:	íon molecular.
MeCN:	acetonitrila.
MHz:	megahertz.

¹ No texto, a sigla COLOC é utilizada para designar as correlações (CxH) quando $n > 1$

m/z :	relação massa carga.
NOEDIF:	efeito Overhauser nuclear.
pf.:	ponto de fusão.
p-TsOH:	ácido para tolueno sulfônico.
RMN ¹³C:	ressonância magnética nuclear de carbono treze.
RMN ¹H:	ressonância magnética nuclear de hidrogênio.
s:	singlete.
S_N1:	substituição nucleofílica unimolecular.
t:	triplete.
t.a:	temperatura ambiente.
THF:	tetrahidrofurano.
TMS:	tetrametilsilano.
T_r :	tempo de retenção.
UV:	ultra violeta.
δ:	deslocamento químico em partes por milhão.
[α]_D	rotação ótica específica.

Índice

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
PARTE I - ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DAS RESINAS E ÓLEOS FLORAIS E O PAPEL DOS MESMOS NA POLINIZAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>CLUSIA</i>.	
1.1 - Introdução.....	2
1.1.1- Fitoquímica das Espécies do Gênero <i>Clusia</i>	4
1.1.2 - As Resinas Florais e a Ecologia da Polinização.....	8
1.2 - Objetivos.....	11
1.3 - Resultados e Discussão.....	14
1.3.1 - Análise das resinas florais.....	14
1.3.2 - Análise e quantificação de resinas por CLAE e CG/EM.....	40
1.3.2.1 - Curva de calibração para a Nemorosona 17	43
1.3.3 - Análise dos óleos estaminais.....	48
1.3.4 -Ensaio bioautográficos com resinas florais de <i>Clusia</i>	51
1. 4 - Conclusão	52
PARTE II - DETECÇÃO, SÍNTESE E DETERMINAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO ABSOLUTA DA (+) - CIS - NORTAILORIONA	
2.1 - Introdução.....	55
2.2 - Objetivos	58
2.3 - Discussão.....	59
2.3.1 - Desenvolvimento da Rota sintética A para a obtenção da (+)- cis - nortailoriona 38.....	62
2.3.2 - Desenvolvimento da Rota sintética B para a obtenção da (+) - cis - nortailoriona 38.....	67
2.3.3 - Síntese da nor - tailoriona quiral via metodologia de Pauson - Khand	70

**PARTE III - ASPECTOS MECANÍSTICOS DA ADIÇÃO DE HNCS À DUPLA LIGAÇÃO E
SÍNTESE DO PRODUTO NATURAL 7*S*-ISOTIOCIANATO-7,8-DI-HIDRO- α - BISABOLENO.**

3.1 - Introdução	78
3.1.1 - O ácido Isotociânico/tiociânico (HNCS/HSCN).....	80
3.1.2 - Adição de HNCS / HSCN às duplas ligações.....	80
3.1.3 - Isomerização de Tiocianatos a Isotiocianatos.....	82
3.1.4 - Estudo de adição direta de HNCS a terpenos.....	84
3.2 - Objetivos.....	87
3.3 - Discussão.....	89
3.3.1 - Estudo cinético da adição de HNCS ao limoneno e di - hidrolimoneno terpineol.....	90
3.3.2- Estudo da adição de HSCN a cadinóis e ao bisabolol.....	93
3.3.3 - Adição de HNCS ao cadineno 90.....	99
3.3.4 - Síntese do produto natural 7 <i>S</i> - isotiocianato - 7,8 - di - hidro - α - bisabolenol (84)	100
3.4 - Conclusão.....	105

PARTE EXPERIMENTAL

1 - Materiais e Método.....	107
2 - Isolamento e Identificação das Substâncias Naturais.....	109
2.1 - Composto 17	110
2.2 - Composto 19	111
2.3 - Composto 21	112
2.4 - Composto 23.....	113
2.5 - Composto 25.....	114
2.6 - Composto 27	116
3 - Sínteses.....	117
3.1 - Bromoolefina 46.....	117

3.2 - Bromoolefina acetal 46a.....	118
3.3 - Alcino 40a.....	119
3.4 - Nortailoriona acetal 38a.....	120
3.5 - (+) - Nortailoriona 38.....	121
3.6 - Ácido 47	122
3.7 -Ácido acetal 47a.....	122
3.8 - Álcool acetal 48.....	123
3.9 - ($\pm$) - γ_2 - cadinóis <u>80a</u> e <u>80b</u>	124
3.10 - Cadinol protegido <u>8</u>	125
3.11- Isotiocianatos <u>86a</u> e <u>86b</u> e tiocianatos <u>87a</u> e <u>87b</u>	125
3.12- Isotiocianato 88 e tiocianato 89.....	126
3.13 -Isotiocianoterpenos 91a e 91b.....	127
3.14- Bisabolenos 83a, 83b e 83c.....	128
3.15 - 7 <i>S</i> -isotiocianato-7,8-di-hidro- α - bisabolenos 84a e seu diastereoisômero 84b.....	129
REFERÊNCIAS	130 - 133
ESPECTROS	134 - 263

Índice de tabelas

Tabela 1: deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para os compostos 17, 19 e 21 (CDCl ₃).....	29
Tabela 2: deslocamentos químicos de RMN ¹ H e RMN ¹³ C para os compostos 23, 25 e 27 (CDCl ₃).....	39
Tabela 3: ácidos e hidrocarbonetos presentes em espécies do gênero <i>Clusia</i> e detectados por CG/EM.....	41
Tabela 4: concentrações de soluções padrões do composto 17 e as respectivas áreas.....	43
Tabela 5: áreas referentes ao composto 17 nas amostras de resinas das espécies de <i>Clusia</i>	44
Tabela 6: resultados obtidos na quantificação de todas as substâncias isoladas, nas resinas de <i>Clusia</i> por CLAE.....	46
Tabela 7: monitoramento por CG da mistura de limoneno e di - hidrolimoneno na presença de HNCS.....	90
Tabela 8: monitoramento por CG da mistura de terpineol e di-hidrolimoneno na presença de HNCS.....	93

Índice de Figuras

Figura 1 e 1a - espécie de <i>Clusia</i> da seção <i>Chlamydoclusia</i>	3
Figura 2 e 2a - espécie de <i>Clusia</i> da seção <i>Cordylandra</i>	3
Figura 3: benzofenonas poliisopreniladas encontradas em espécies de plantas pertencentes ao gênero <i>Clusia</i>	6
Figura 4: benzofenonas poliisopreniladas modificadas encontradas nas espécies de plantas pertencentes ao gênero <i>Clusia</i>	7
Figura 5: espécies de <i>Clusia</i> encontradas na fazenda Sta. Elisa e estudadas neste trabalho.....	13
Figura 6: compostos isolados de resinas florais de espécies de plantas pertencentes ao gênero <i>Clusia</i>	15
Figura 7: unidades estruturais presentes no composto 17 na frutos de <i>C. grandiflora</i>	17
Figura 8: isômeros 17 e 18.....	18
Figura 9 : proposta de fragmentação para o composto 17.....	20
Figura 10: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1...n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D para o composto 17.....	21
Figura 11: proposta de fragmentação para o composto 19.....	24
Figura 12: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1...n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D para o composto 19.....	25
Figura 13: proposta de fragmentação para o composto 21.....	27
Figura 14: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1...n$) ligações observadas no espectro de RMN2D para o composto 21.....	28
Figura 15: comparação entre os deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C e principais correlações observadas no espectro RMN 2D para os compostos 17 e 23	31
Figura 16: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1...n$) ligações observadas no espectro de RMN2D para o composto 23.....	32
Figura 17: configuração relativa no C - 7. H - 7 na equatorial e C_5H_9 na axial.....	34

Figura 18: conformação barco sugerida para o composto 25.....	34
Figura 19: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1...n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D para o composto 25.....	35
Figura 20: deslocamentos químicos de RMN ^{13}C para o composto 27.....	37
Figura 21: proposta de fragmentação para o composto 27.....	37
Figura .22: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1...n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D para o composto 27.....	38
Figura 23: cromatograma da resina metilada da <i>C. rosea</i> (CG).....	41
Figura 24: cromatograma da resina metilada da <i>C. nemorosa</i> masculina (CG).....	41
Figura 25: cromatograma da resina metilada da <i>C. grandiflora</i> feminina (CG).....	42
Figura 26: cromatograma da resina metilada da <i>C. nemorosa</i> hermafrodita (CG).....	42
Figura 27: cromatograma da resina metilada da <i>C. grandiflora</i> masculina (CG).....	42
Figura 28: curva de calibração (área x mg) obtida para o composto 17.....	44
Figura 29: cromatograma da resina metilada da <i>C. grandiflora</i> masculina (CLAE).....	46
Figura 30: cromatograma da resina metilada da <i>C. grandiflora</i> feminina (CLAE).....	47
Figura 31: cromatograma da resina metilada da <i>C. nemorosa</i> masculina (CLAE).....	47
Figura 32: cromatograma da resina metilada da <i>C. rosea</i> (CLAE).....	47
Figura 33: cromatograma da resina metilada da <i>C. nemorosa</i> hermafrodita (CLAE).....	48
Figura 34: cromatograma do óleo estaminal <i>C. nemorosa</i> hermafrodita (CG).....	49
Figura 35: cromatograma do óleo estaminal <i>C. nemorosa</i> masculina (CG).	49
Figura 36: diálcool 28.....	51
Figura 37: substâncias presentes no óleo essencial da <i>Artemisia annua</i>	56
Figura 38: exemplo da clivagem oxidativa do ledeno.....	57
Figura 39: rota sintética para a obtenção da ($\pm$)- <i>cis/trans</i> -nortailoriona 38.....	59
Figura 40 : separação em coluna quiral 4 isômeros <i>cis/trans</i> da nortailoriona.....	60
Figura 41: rota sintética A para a obtenção da (+)- <i>cis</i> - nortailoriona 38.....	62
Figura 42: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para a bromoolefina protegida (-)-46.....	64
Figura 43: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para a bromoolefina protegida 46a....	65
Figura 44: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o alcino protegido (+)-40a.....	66

Figura 45: rota sintética B para a obtenção da (+) - <i>cis</i> - nortailoriona 38.....	67
Figura 46 : deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o ácido 47.....	68
Figura 47: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o álcool 48.....	69
Figura 48 : mecanismo da reação de Pauson - Khand.....	71
Figura 49 : regioseletividade da reação de Pauson - Khand.	72
Figura 50: reação do complexo formado por um alcino terminal e etileno.....	72
Figura 51: síntese da nortailoriona protegida a partir do alcino 40a.....	73
Figura 52: atribuições dos sinais de RMN ^1H e RMN ^{13}C para a <i>cis</i> -nortailoriona 38a.....	74
Figura 53: atribuições dos sinais de RMN ^1H e ^{13}C e dados de correlação RMN 2D para o composto (+) - <i>cis</i> - nortailoriona 38.....	75
Figura 54: coinjeção da mistura ($\pm$) <i>cis</i> / <i>trans</i> 38 com o padrão quiral (+) - <i>cis</i> - nortailoriona 38 (1°S).....	75
Figura 55: coinjeção do óleo essencial de <i>Artemisia annua</i> com o padrão sintético (+) - <i>cis</i> - 38.	76
Figura 56: espectro de massas de (+) - <i>cis</i> - 38 sintético e espectro de massas do produto natural presente no óleo.....	76
Figura 57 : isotiocianatos isolados de organismos marinhos.....	79
Figura 58: adição de HNCS ao metilpropeno.....	81
Figura 59: adição de NHCS ao estireno.....	81
Figura 60: adição de HNCS a esteróide.....	82
Figura 61: isomerização de tiocianatos via par iônico íntimo.....	83
Figura 62 : adição de HNCS a terpenos.....	85
Figura 63: adição de HNCS ao cadinol axial 80a.....	86
Figura 64: alinhamento do nucleófilo na adição do HSCN ao cadinol axial 80a.....	86
Figura 65 : rota sintética para a síntese do produto natural 84.....	88
Figura 66 : deslocamentos químicos de RMN ^1H para o éter 85.....	94
Figura 67: proposta de fragmentação para os compostos 86a, 86b, 87a e 87b.....	95
Figura 68: adição de HNCS ao cadinol equatorial 80b.....	96
Figura 69: adição de HNCS ao α - bisabolol 82.....	97
Figura 70 : deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o composto 88.....	98

Figura 71: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o composto 89.....	98
Figura 72 : auxílio anquimérico do grupo OH formação do derivado tiociânico.....	98
Figura 73: adição do HNCS ao cadineno 90.....	99
Figura 74 : pico base para os dois epímeros 91a e 91b.....	100
Figura 75: mistura de bisabolenos 83 (terminal, E e Z) obtida na desidratação do bisabolol 82.....	102
Figura 76: deslocamento químicos de RMN ^{13}H para os bisabolenos 83 (a,b,c).....	102
Figura 77: deslocamento químicos de RMN ^{13}C para os bisabolenos 83 (a,b,c).....	102
Figura 78: compostos 84a e 84b.....	103
Figura 79: deslocamentos químicos de RMN ^1H para os isotiocianatos 84a e 84b.....	103
Figura 80: deslocamentos químicos de RMN ^{13}C para os diastereoisômeros 84 a e 84b.....	104
Figura 81: comparação ente os deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H do produto natural (+) - 84 e do composto 84b	104

RESUMO

Aspectos químicos da polinização do gênero *Clusia* e síntese da (+) - *cis* - nortailoriona e 7S - isotiociano - 7,8 - di - hidro - α - bisabolenos.

Cecilia Maria Alves de Oliveira

Professora Anita J. Marsaioli

Este trabalho foi dividido em dois tópicos principais:

a) Isolamento de produtos naturais. Neste primeiro tópico desenvolvemos um estudo fitoquímico menos tradicional no que diz respeito a identificação dos constituintes de óleos e resinas florais de espécies do gênero *Clusia*. Buscávamos não somente o isolamento de novas substâncias de interesse biológico, mas queríamos, através da investigação química, entender o papel das resinas e dos óleos no fenômeno de polinização e na vida das abelhas. Concentramos nossa atenção nas resinas e óleos florais de *Clusia* pertencentes à secção *Chlamydoclusia* e concluímos que as resinas são compostas principalmente de benzofenonas poliisopreniladas, enquanto que os óleos são constituídos de derivados de ácidos graxos. Neste trabalho reportamos a identificação de 5 novas benzofenonas poliisopreniladas e um xantona já descrita na literatura. Desvendamos a química deste sistema biológico e esclarecemos que as abelhas coletam resinas para construir seus ninhos e também para protegê-los de certos microorganismos. Neste processo de coleta de óleos e resinas as abelhas polinizam as flores do gênero *Clusia*. Um importante aspecto a ser mencionado é que as resinas florais são recompensas extremamente raras oferecidas pelas flores no processo de polinização.

b) Na segunda parte deste trabalho, a síntese orgânica foi utilizada em duas abordagens distintas. Na primeira parte foi determinada a configuração absoluta do novo produto natural (+) - *cis* - nortailoriona {(1'S)- *cis* - 2 - [2', 2'- dimetil - 3(3"oxobutil)-ciclopropil] ciclopent - 2 - en - ona}, previamente detectado no óleo essencial da *Artemisia annua*. A configuração relativa e absoluta da (+) - *cis* - nortailoriona foi

determinada por CG e CG/EM equipados com coluna quiral e coinjeção do óleo essencial com padrões sintéticos (racêmico e homoquiral). O padrão racêmico foi previamente sintetizado e nós obtivemos o padrão homoquiral a partir do (+)- 2- careno, usando a reação de Pauson-Khand como etapa chave da síntese.

Finalmente, o 7S -isotiociano - 7,8 - di - hidro - α - bisabolenos foi sintetizado a partir da reação do bisabolenos com HNCS. Adicionalmente a esta síntese, alguns aspectos da cinética da adição de do HNCS à duplas ligações foram também investigados.

ABSTRACT

CHEMICAL ASPECTS OF THE *CLUSIA* POLLINATION AND SYNTHESIS OF (+)-NORTAILORIONE AND 7*S*-ISOTHIOCYANATE-7,8-DIHI-DRO- α -BISABOLENE

Cecília Maria Alves de Oliveira

Prof. Anita J. Marsaioli

This work has been divided in two main topics:

a) Natural product isolation. In the first topic we have developed a non traditional phytochemical research concerning the identification of the constituents of floral oils and resins and their role in the *Clusia* polination phenomenon as well as their importance in the pollinating bee's life. We have focused on the floral resins and oils of *Clusia* belonging to the *Chlamydoclusia* subgroup, which are mainly composed by poliisoprenylated benzophenones while the staminal oil constituents are fatty acid derivatives. We report here the identification of 5 novel poliisoprenylated benzophenones and a known xanthone. Having accomplished the identification we became involved with their ecological aspects and biological activity. We have thus brought light into the chemistry behing this ecological system where the bees collect the resins to build theirs nests and also to protect them from certain microorganisms and in this process they pollinate the *Clusia* flowers. One should mention that the type of reward (the floral resin) in not very usual.

b) The second part focus organic synthesis from two different aspects. One envolves the determination of the absolute configuration of a new natural product, the (+) - nortailoriona {(1'*S*) - *cis* - 2 - [2', 2' - dimethyl - 3'(3''- oxobutyl)-ciclopropyl]ciclopent -2- en -1- ona}, previously detected in the essential oil of *Artemisia annua*. This was accomplished by GC and GC/MS using a chiral fused silica capillary column and racemic and homochiral synthetic standard of the compound. The racemic standard had been previously synthetized and we have obtained the homochiral standard from (+)-2-carene using the Pauson-Khand reaction in the key step of the synthetic pathways . Finally we have synthetized the natural 7*S*-isotiocianato-7,8-di-hidro- α -bisabolene as a consequence of a synthetic study on the chemio and regioselectivity of the HSCN addition to terpene double bonds

PARTE I

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DAS RESINAS E ÓLEOS FLORAIS E O PAPEL DOS MESMOS NA POLINIZAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *CLUSIA*.

estaminódios em volta do ovário e também produzem resina (Figura 1 e 1A);

b) espécies onde o pólen encontra-se misturado a uma resina fluida nas flores masculinas. As flores femininas destas espécies, apresentam a superfície estigmática umedecida por um óleo e quando ocorre a polinização este óleo mistura-se ao pólen e à resina. Podemos citar como exemplo a espécie *C. renggerioides* (secção *Cordylandra*). (Figura 2 e 2A).

A importância econômica das Guttiferae é limitada³. Só algumas espécies possuem frutos comestíveis e as plantas, por serem arbustos, podem servir para confecção de móveis trançados. Algumas espécies dos gêneros *Clusia* e *Vismia* são importantes colonizadores de ambientes degradados na Amazônia e na Venezuela, já que apresentam muito pouca exigência quanto a qualidade do solo.

As plantas do gênero *Clusia*, como quase todos os membros da família Guttiferae, caracterizam-se pela presença de látex em seus tecidos⁴. O látex de algumas espécies de *Clusia* e de outros gêneros da família é utilizado na medicina popular como cicatrizante de feridas e analgésico, no tratamento de doenças da pele e reumatismo. É ingerido por índios da Colômbia como fortificante e como purgativo para mulheres grávidas ou ainda como contraceptivo. Os índios da Amazônia também utilizam as raízes e os frutos de plantas pertencentes a vários gêneros da família Guttiferae para o tratamento de úlcera de pele, em inalações para aliviar dores e febres, ou ainda, como diuréticos⁵.

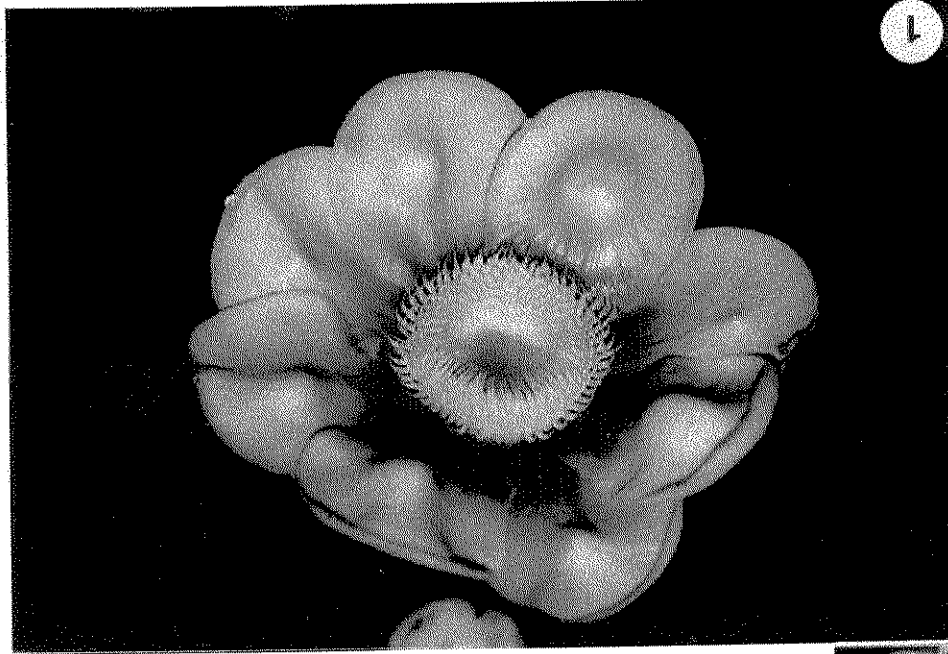


Figura 1: *C. gandiflora* masculina representando o grupo da secção *Chlamydoclusia* caracterizado por apresentar flores onde a resina encontra-se separada do óleo estaminal.

óleo estaminal

resina floral

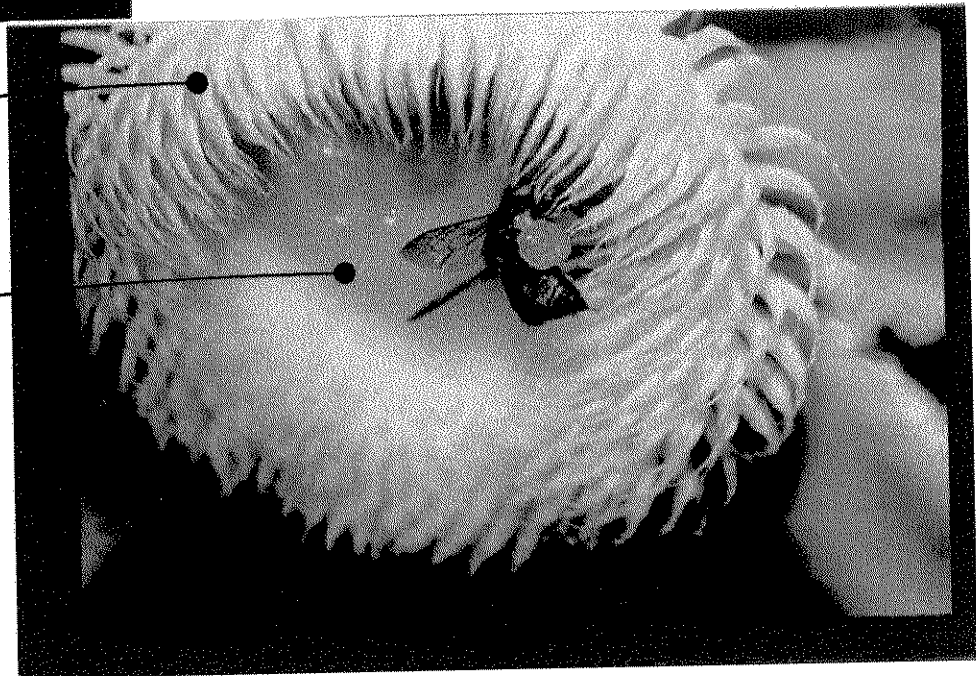


Figura 1A: detalhe da flor masculina com abelha solitária coletando resina floral.

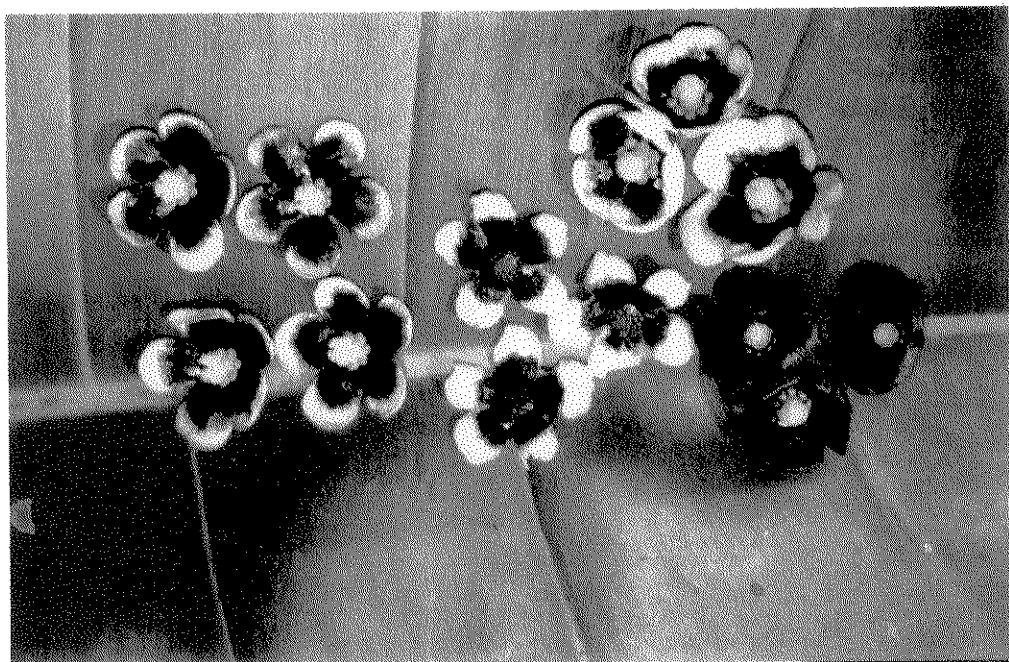


Figura 2: espécies de *C. renggerioides* masculina e feminina representando o grupo secção *Cordylandra* caracterizado por apresentar flores onde a resina encontra - se fisicamente misturada ao óleo estaminal.

óleo estaminal e resina

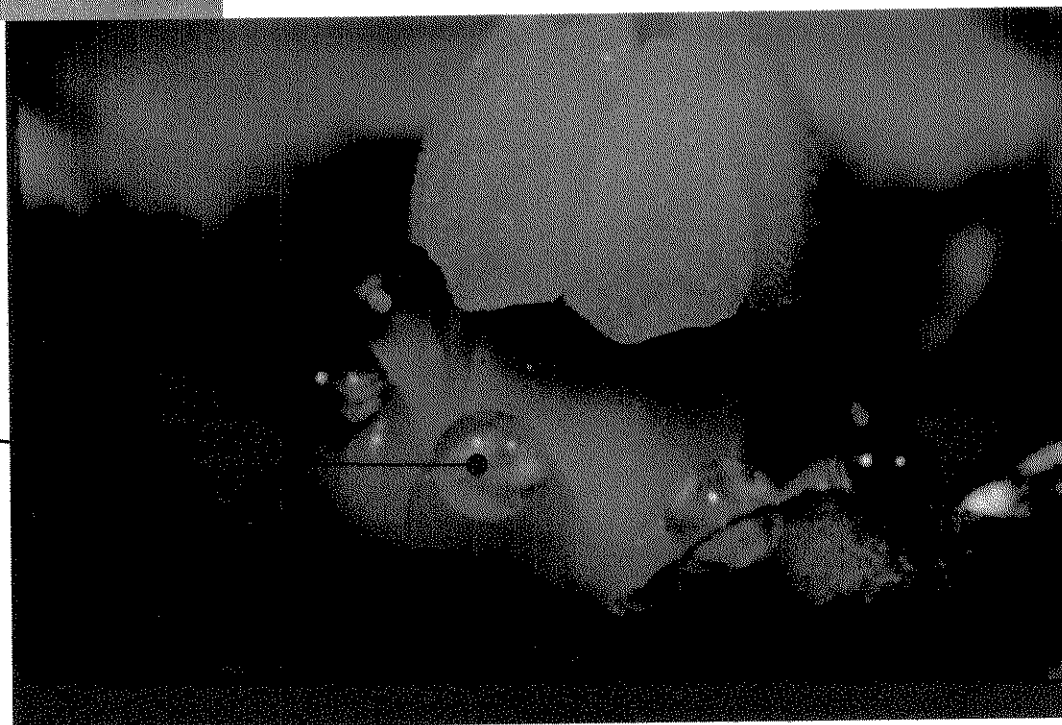


Figura 2A: detalhe da flor de *C. renggerioides* feminina

1.1.1 - Fitoquímica das espécies do gênero *Clusia*

Os dados fitoquímicos obtidos para inúmeras espécies da família Guttiferae revelam a presença de uma grande diversidade de classe de compostos que inclui flavonóides, xantonas, lactonas, ácidos fenólicos e sesquiterpenos⁶. Espécies do gênero *Clusia*, em particular, mostraram uma predominância de diversos tipos de benzofenonas poliisopreniladas, encontradas no extrato orgânico de folhas, frutos e raízes.

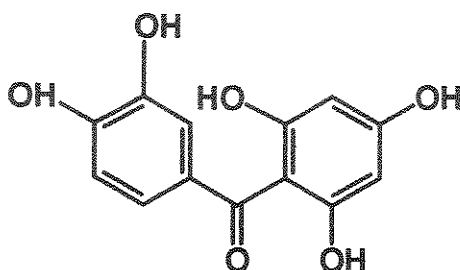
Investigação química dos frutos da *C. nemorosa*⁷ levou, predominantemente, ao isolamento das benzofenonas poliisopreniladas 1 e 2 e nemorosol 3, o qual foi também encontrado nos frutos da *C. multiflora*⁸. A alquilfenilcetona 4 pertence a uma classe de metabólitos caracterizados por uma unidade triciclo-[4.3.1.0^{3,7}]-decano-2,9-diônica e é um exemplo típico de benzofenonas poliisopreniladas modificadas, encontradas em espécies de *Clusia*.

Extrato orgânico de folhas de *C. rosea*⁹, submetido a ensaios de atividade anti-HIV, apresentou inibição ao vírus. A separação dos constituintes do extrato ativo levou à obtenção das benzofenonas, gutiferona 5 e xantoquimol 6. O estudo dos frutos de *C. sandinensis*¹⁰ levou ao isolamento de duas benzofenonas dipreniladas 7 e 8 e da clusianona 9, uma benzofenona também encontrada nas raízes da *C. congestiflora*¹¹(figura 3).

Mais recentemente, novos derivados de benzofenonas isopreniladas foram isolados de *C. portlandiana* e *C. multiflora*. O estudo do extrato hexânico das folhas e galhos de *C. portlandiana*¹², levou ao isolamento de um par de tautômeros que incorporam um novo esqueleto oxatricíclico na estrutura básica da benzofenona (compostos 10 e 11). A formação desses hemicetais é uma interessante variação no modo de ciclização dos precursores comuns de benzofenonas destas espécies. Um par de regioisômeros 12 e 13 derivados do citrilideno, foram também isolados da *C. multiflora*⁸ (figura 4).

De um ponto de vista biogenético¹³, as benzofenonas poliisopreniladas tais como os compostos 5 e 6, podem ter sua origem a partir de um mesmo precursor, a

maclurina (2, 4, 6, 3',4'- penta - hidroxibenzofenona), no qual um dos anéis benzênicos é modificado para um biclico-[3.3.1]-nonano-2,4,9-triona, através da intervenção de vários radicais isoprenilas, sucessivas ciclodesidrogenações e diferentes modos de ciclizações.



Maclurina 14

Outra classe de compostos encontrada nos frutos da *C. grandiflora*¹⁴ são os ácidos 15 e 16 derivados do δ -tocotrienol, os quais possuem uma das metilas terminais (*cis* e *trans*, respectivamente) substituídas por um grupo carboxila.

Uma observação peculiar sobre o gênero *Clusia* é, aparentemente, a ausência das xantonas, tão comumente encontradas em espécies de outros gêneros da família Guttiferae próximos ao gênero *Clusia* como *Tovomitia*, *Garcinia*, *Vismia*, etc¹⁵.

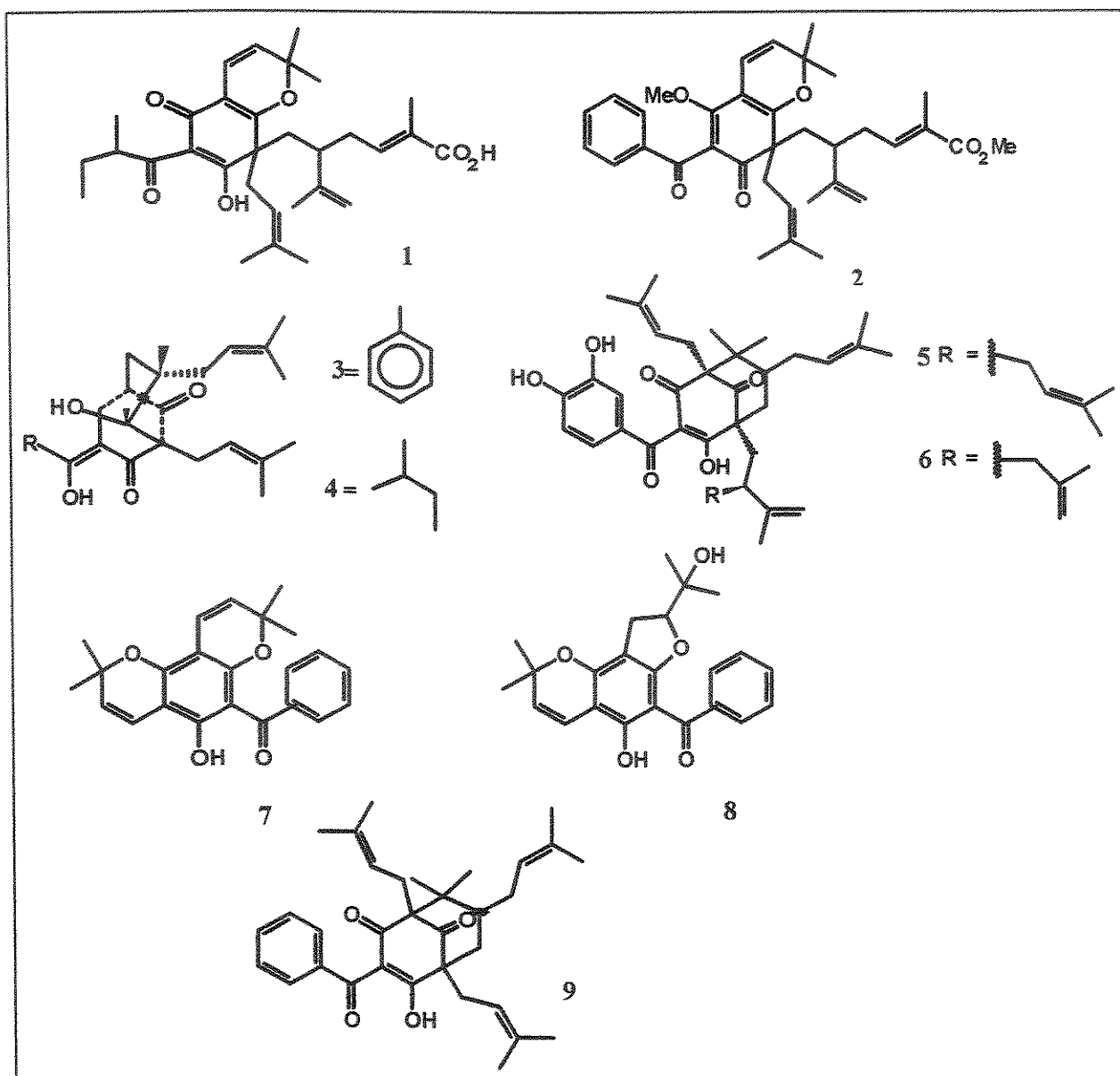


Figura 3: benzofenonas poliisopreniladas encontradas em espécies de plantas pertencentes ao gênero *Clusia*.

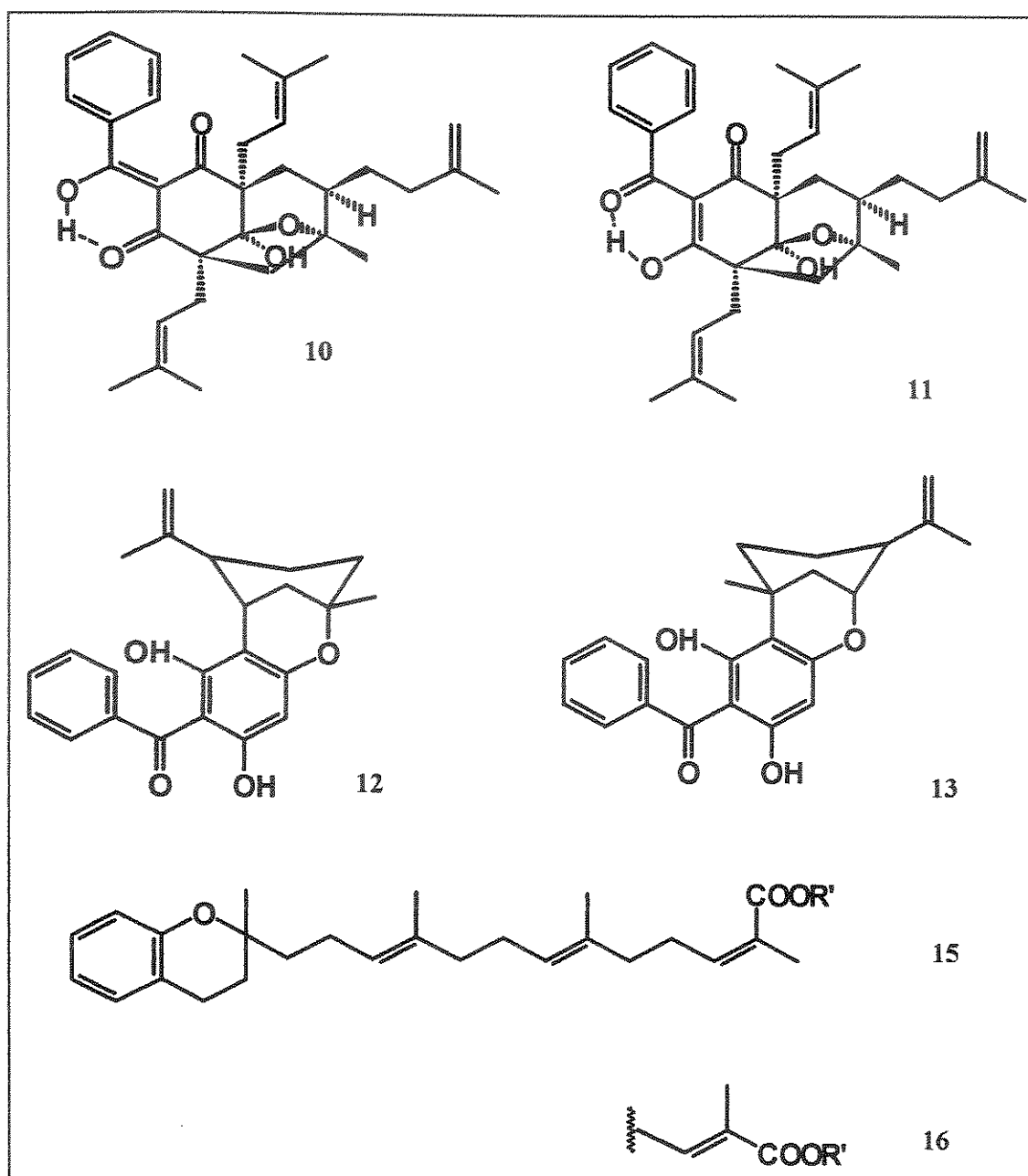


Figura 4: benzofenonas poliisopreniladas modificadas encontradas nas espécies de plantas pertencentes ao gênero *Clusia* (10, 11, 12 e 13) e derivados do δ -tocotrienol (15 e 16) encontrados na frutos de *C. grandiflora*.

1.1.2 - As resinas florais e a ecologia da polinização.

As Angiospermas são caracterizadas por flores que possuem um ovário protegendo os óvulos os quais, depois da fecundação, transformam-se em sementes¹⁶. A maioria destas plantas reproduzem-se, especialmente as dióicas, como as *Clusias*, através do processo de polinização cruzada, que pode ser uma consequência da ação de agentes abióticos como o vento e a água, ou ainda de agentes bióticos como, por exemplo, insetos e pássaros que geralmente visitam as flores em busca de alimentos como o pólen e o néctar. Características da flor como o odor, a cor e o valor nutricional do pólen e do néctar atraem animais, estabelecendo uma parceria polinizador - flor onde ambos os parceiros envolvidos beneficiam-se mutuamente. Neste sistema mutualístico desenvolvem-se relações ecológicas únicas, onde cada espécie vegetal possui um ou poucos polinizadores específicos¹⁷.

Sabe-se, no entanto, que alguns insetos, que também agem como polinizadores, coletam outros recursos naturais das plantas como cera, sucos de frutas, resinas, sementes, tricomas entre outros, com o objetivo de, além do recurso calórico, prover suas larvas, construir e defender seus ninhos.

Com base nestas observações, nas últimas décadas, os ecologistas têm demonstrado um crescente interesse em investigar e entender melhor outras "recompensas", além do néctar e do pólen, oferecidas aos polinizadores pelas plantas no processo de polinização.

A presença de resinas florais é um fenômeno extremamente raro e só é conhecido em 3 gêneros de plantas : No gênero *Clusia* (Guttiferae), no gênero *Dalechampia* L. (Euphorbiaceae) e *Clusiella* Planch.& Triana (Guttiferae). Armbruster e Webster¹⁸ registraram a coleta de resina de dois gêneros de plantas, *Clusia* e *Dalechampia*, por abelhas femininas solitárias *Megachilidae* da tribo *Euglossini* e sociais das tribos *Meliponini* e *Trigonini*, e observaram que muitas espécies ofereciam estas resinas florais como recompensa às abelhas polinizadoras. Todas as abelhas que já foram observadas coletando resinas florais, aparentemente, usam o material em alguma fase da construção de seus ninhos. Estas resinas podem ser usadas tanto como

matéria-prima principal ou tão somente para fechar os ninhos, ou ainda para construir as células. Em outra instância, foi observado que algumas abelhas contornam somente a entrada dos ninhos com resina, indicando que, de alguma forma, este material pode prevenir ou reduzir a infestação de microorganismos ou outros agentes predadores.

Apesar das especulações sobre o uso de resina pelas abelhas e a importância da mesma na construção dos ninhos, pouco é conhecido sobre a sua química e sua importância na polinização. Vários autores têm levantado a hipótese de que as resinas, assim como os óleos, serviriam somente para facilitar o transporte do pólen, ou seja, o pólen seria o único motivo que levaria a abelha a pousar na flor das espécies de *Clusia*. Eles acreditam que o fato desta resina ser um material pegajoso, a mesma facilitaria o transporte e a coleta do pólen. Esta hipótese foi completamente descartada por Armbuster, pois ele argumenta que este pólen não seria útil à polinização já que o mesmo é muito pegajoso e não liberaria os grãos de pólen com facilidade.

Outros autores levantam a hipótese de que estas resinas possuem alto valor energético (nutritivo) e que as mesmas serviriam de alimento para as abelhas. Não há registro de nenhuma abelha alimentando-se de resina, até o momento. Outra discussão baseia-se no fato de que, por ser a resina um material a prova d'água, os ninhos aéreos seriam construídos com este material apenas para proteção das larvas e armazenamento dos alimentos.

Investigações sobre a constituição química da resina floral de uma espécie de *Dalechampia*¹⁸, indicou que a mesma é constituída de 2 a 6 triterpenos oxigenados e que, aparentemente, a resina de uma espécie não identificada do gênero *Clusia* teria constituição similar.

Um outro trabalho sobre resinas florais do gênero *Clusia*¹⁹ estabelece uma relação direta entre estas resinas e o própolis tropical produzido na Venezuela. Os autores relatam o perfil fenólico de 38 amostras de própolis produzido por abelhas melíferas e concluíram, sem grandes evidências químicas, que parte dos constituintes do própolis tropical provinham das resinas de espécies do gênero *Clusia*.

Como já foi mencionado anteriormente, as flores de algumas espécies do gênero *Clusia* (secção *Chlamydoclusia*) produzem não só resina, mas secretam óleo que se

localiza nos estames (figura 1 e 1A). O óleo exudado pelas espécies de *Clusia* teria, supostamente, a única função de fixar melhor o pólen seco no corpo dos visitantes. Como o óleo está nos estames e estes circundam os estaminódios onde se encontra a resina, quando as abelhas pousam na flor para coletar resina ou mesmo o pólen, besuntam-se involuntariamente e levam o pólen aderido ao óleo. Como a maioria das abelhas coletam o pólen da flor para alimentar suas larvas, esses óleos misturados ao pólen são conseqüentemente ingeridos e devem ser inócuos a estes insetos.

A relação entre todas estas observações acerca do comportamento das abelhas e os dados preliminares sobre a composição química das resinas, deu origem a um promissor campo de pesquisa onde muitas perguntas podem ser respondidas a partir da investigação química. A descoberta dos componentes químicos das resinas e dos óleos poderia auxiliar de forma decisiva no entendimento das interações ecológicas abelha-flor e, conseqüentemente, na descoberta de novos produtos naturais de interesse biológico.

1. 2 - OBJETIVOS

Interessados no estudo fitoquímico das resinas e dos óleos florais de espécies do gênero *Clusia*, restringimos nossas investigações a uma secção particular dentro do gênero, a secção *Chlamydoclusia* (= *Eucleusia*). Nesta secção todas as espécies possuem as resinas separadas dos óleos estaminais.

Foram investigadas 4 espécies de *Clusia* desta secção (Figura 5) que estão disponíveis na fazenda Sta. Elisa do Instituto Agrônomo de Campinas - IAC:

C. grandiflora masc. e fem.

C. nemorosa masc. e hermafrodita

C. insignis fem.

C. rósea fem. (espécie apomíctica, só plantas femininas são conhecidas).

O estudo fitoquímico das resinas florais das espécies do gênero *Clusia*, teve como objetivo não só o isolamento de substâncias inéditas, mas também auxiliar no entendimento do papel biológico destas resinas. Nossos principais objetivos foram:

- a) investigar a composição química das resinas das diferentes espécies da secção *Chlamydoclusia*, tanto das flores masculinas, como das flores femininas e hermafroditas, comparando-as entre si. Observar qual a classe de compostos predominante, comparando-os com os já encontrados em folhas, frutos e raízes de espécies do gênero;
- b) comparar os compostos encontrados nesta secção com os compostos encontrados em espécies de outra secção do gênero *Clusia* (*Cordylandra*), cujo trabalho vem sendo desenvolvido paralelamente em nosso laboratório²⁰. Esta investigação seria de importância taxonômica;
- c) verificar se estas espécies possuem xantonas na sua composição química;
- d) finalmente, a partir da informação química, procurar entender melhor o interesse das abelhas pelas resinas florais.

Sabendo-se que vários óleos encontrados nas espécies do gênero estão relacionados à polinização, nosso objetivo foi, também, elucidar a composição dos

óleos das espécies da secção *Chlamydoclusia* (= *Euclusia*) e compará-los com os óleos encontrados na secção *Cordylandra*. Esta comparação seria tanto de interesse taxonômico como funcional. A função dos óleos estaminais no processo de polinização poderia ser melhor entendido a partir da determinação da composição química dos mesmos.

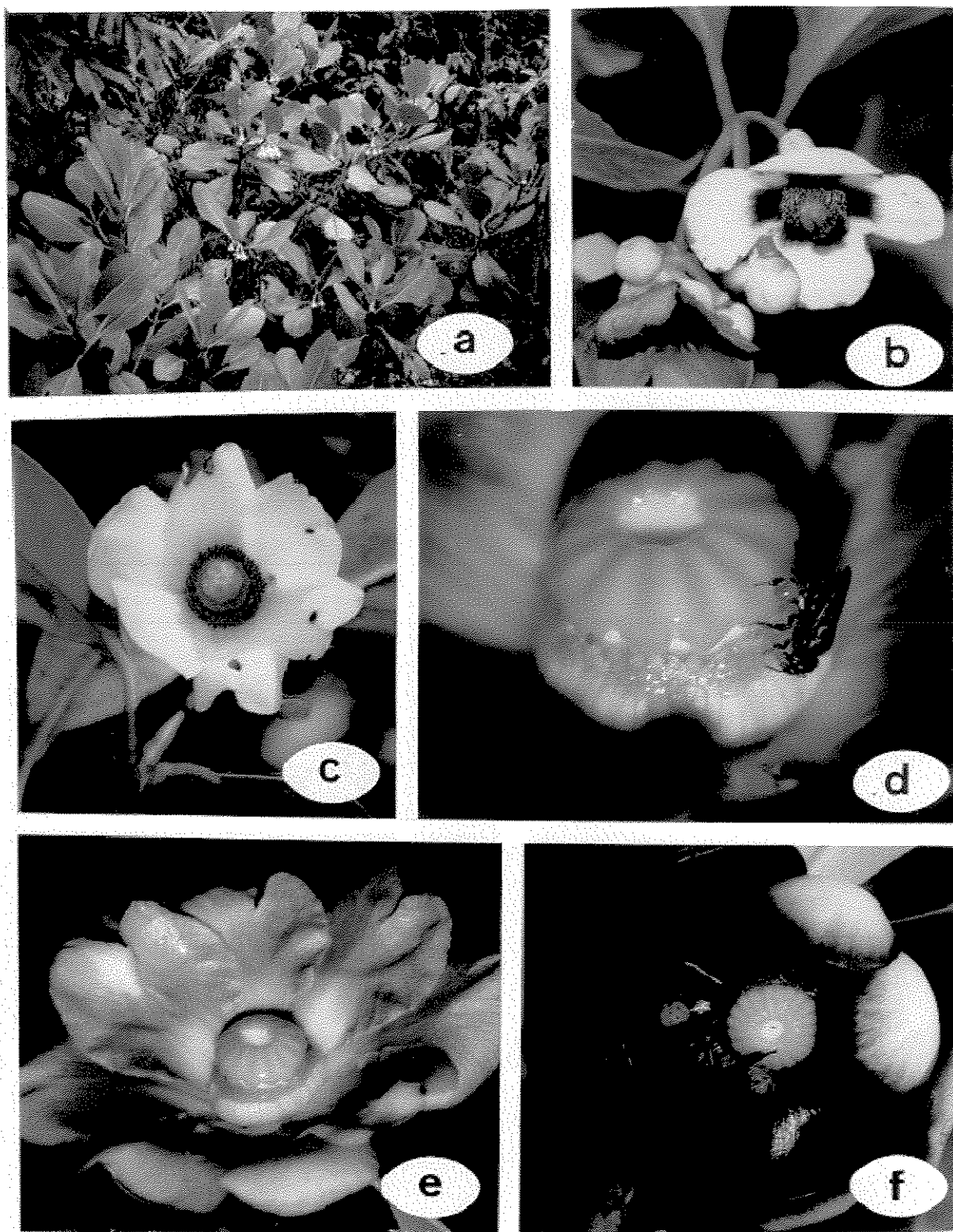


Figura 5 - Espécies de *Clusia* estudadas neste trabalho: a) arbusto com flores de *C. nemorosa* masculina. b) flor de *C. nemorosa* masculina com abelha coletando resina. c) flor de *Clusia nemorosa* hermafrodita. d) detalhe de flor de *C. grandiflora* feminina com abelha coletando resina. e) flor de *C. grandiflora* feminina. f) flor de *C. insignis* com abelha coletando resina.

1.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.3.1 - Análise das resinas florais.

A primeira etapa do nosso trabalho esteve relacionada ao desenvolvimento de uma metodologia adequada para a coleta das resinas florais, na qual houvesse pouca perda e nenhuma transformação química do material. O método mais adequado foi o uso de bastonetes de vidro ou espátulas de metal para raspar a resina, colocando-as diretamente dentro de um vidro com solvente orgânico (éter etílico ou diclorometano, etc).

Numa primeira tentativa de separação dos constituintes por cromatografia de coluna em sílica gel, observamos que o material, antes amarelo-ouro, aos poucos mudava de coloração até tornar-se totalmente preto. Mesmo assim, um único componente foi isolado, mas se decompôs em poucas horas. O espectro de RMN ^1H da substância isolada revelou a presença de dois grupos de sinais semelhantes, com pequenas diferenças no deslocamento químico e em proporções distintas, indicando um possível equilíbrio ceto-enólico. Optamos, então, pelo pré-tratamento das resinas com CH_2N_2 .

Os derivados metilados dos constituintes das resinas mostraram-se mais estáveis que os constituintes da resina bruta, facilitando o isolamento e caracterização por técnicas espectroscópicas de RMN 1D e 2D (COSY, HETCOR, COLOC), UV, IV, EM e quantificação por CLAE.

As espécies estudadas forneceram as benzofenonas poliisopreniladas inéditas 17, 19, 21, 23, 25 e uma xantona 27 (figura 6), a qual já havia sido isolada de espécies do gênero *Garcinia* (Guttiferae). A determinação estrutural das substâncias isoladas foi realizada através de análise dos dados espectrais dos derivados metilados, cuja discussão foi feita separadamente para cada composto isolado.

É importante esclarecer que as benzofenonas inéditas, as quais são encontradas na resina bruta, são as hidroxiladas e não os derivados metilados.

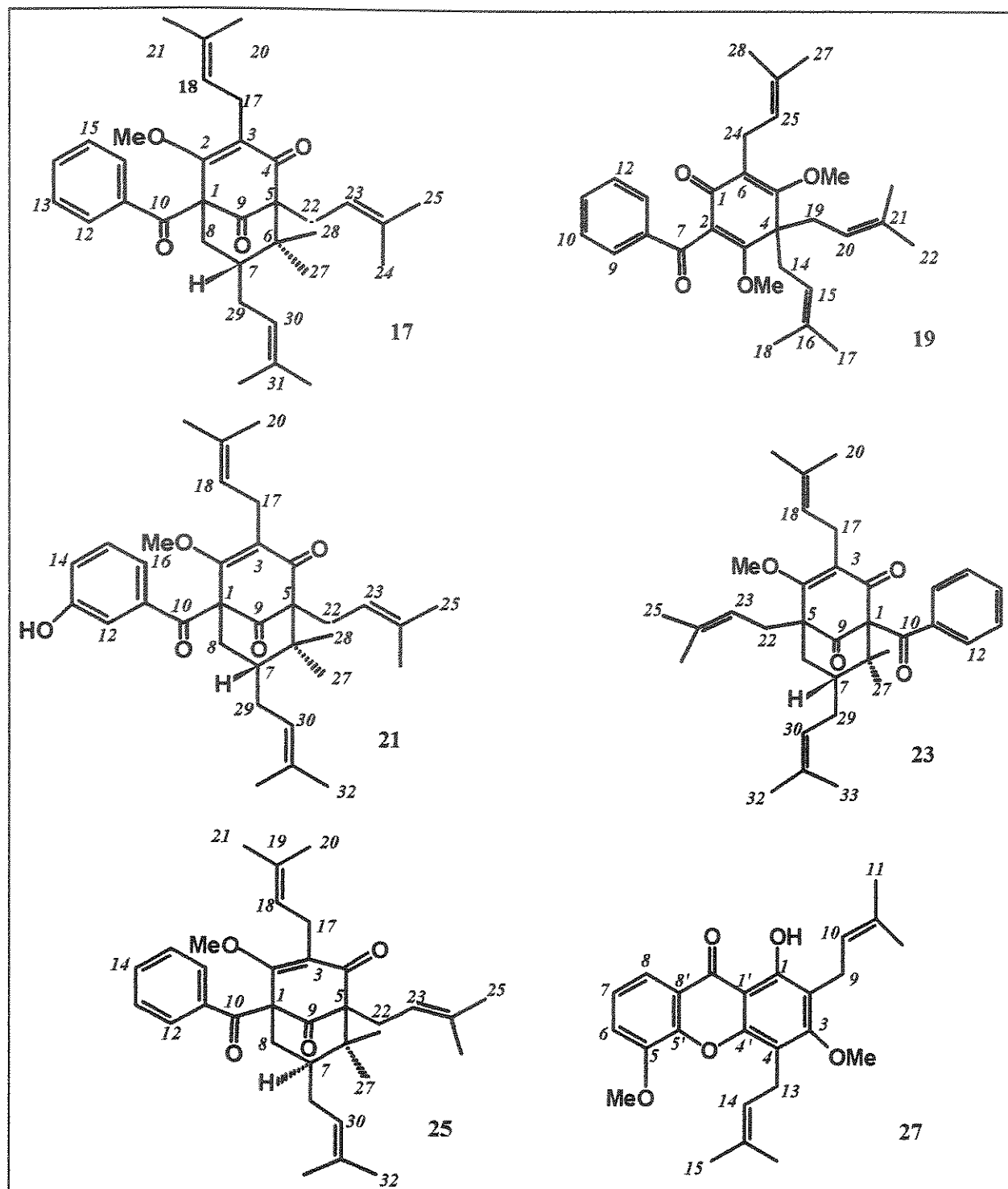
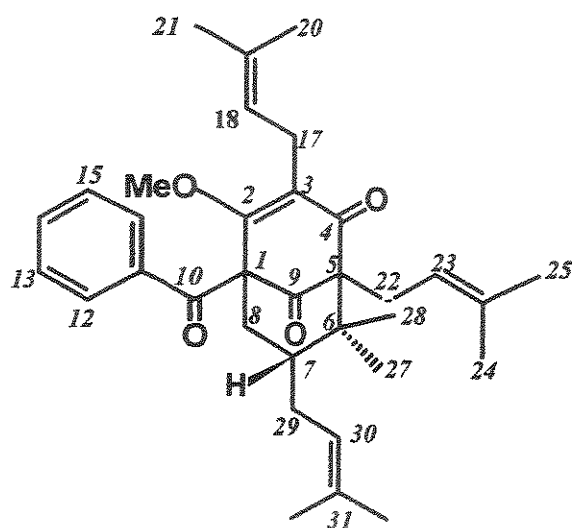


Figura 6: compostos isolados de resinas florais de espécies plantas pertencentes ao gênero *Clusia*.

• Composto 17



A resina metilada da *Clusia grandiflora* masculina foi inicialmente cromatografada em sílica gel e uma mistura de dois componentes foi extraída por eluição com hexano: acetato de etila (90:10). O espectro de RMN ^1H exibiu dois grupos de sinais semelhantes, com uma pequena diferença nos deslocamentos químicos e numa proporção de 6:1, confirmando a presença

de dois compostos provenientes da metilação dos tautômeros do equilíbrio ceto-enólico já observado anteriormente.

Novamente a mistura foi cromatografada em sílica gel e a eluição com hexano: acetato de etila (95 : 5) forneceu o composto majoritário, na forma de um sólido incolor, opticamente ativo $[\alpha]_D^{20} = + 150^\circ$ (MeOH, c 8.0) de ponto de fusão $88-91^\circ\text{C}$.

A estrutura proposta para o composto 17, foi baseada nos dados espectroscópicos de IV, EM, UV e, principalmente, nos dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C (tabela 1) e nas correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a uma e a várias ligações observadas nos espectros de RMN 2D.

As absorções no ultravioleta (E - 22) em 250 nm em 280 nm foram atribuídas à presença de cromóforos do tipo acetofenônico (lit. 240 nm e 278 nm)²¹ e cetona α,β -insaturada (lit. 245 nm). O espectro no IV (E - 21) apresentou bandas intensas para carbonilas não conjugada (1720 cm^{-1}) e conjugada (1654 cm^{-1} e 1702 cm^{-1}).

O espectro de massas (E - 20) apresentou um íon molecular de m/z 516 e exibiu um fragmento de m/z 105 (29,6%) consistente com a unidade benzofenônica presente na molécula (figura 9). A análise elementar (C 78%; H 8,2 %, O 13,8 %) foi compatível com a composição elementar $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_4$ (valor calculado: C 79%; H 8,5%; O 12,5%).

O espectro de RMN ^1H (E - 01 e E -02) indicou a presença de sinais correspondentes a unidades isoprenilas caracterizados por: três hidrogênios em δ 5,00 (2H, m) e δ 4,97 (1H, m); metilas vinílicas em δ 1,66 (15H, s) e δ 1,55 (3H, s) e 5 hidrogênios alílicos, dos quais 4 aparecem como duplos dubletes em δ 3,34 - 3,25 ($J = 6,8$ e 16 Hz) e δ 2,56 - 2,50 ($J = 7,1$ e $13,7$ Hz) e um multiplete em δ 2,10.

Hidrogênios aromáticos em δ 7,62 (2H, dd, $J = 8$ e 1 Hz); δ 7,44 (1H, tt, $J = 8$ e 1 Hz) e δ 7.32 (2H, t, $J = 8$ Hz) foram observados como um típico sistema AA'BXX', coerente com o grupamento benzofenônico, cuja integração referente a 5 hidrogênios é compatível com um anel monossustituído.

O espectro de RMN ^{13}C (E - 03 a E - 07) confirmou a presença das carbonilas conjugadas (δ 197,1 e 193,1) e não conjugada (δ 207,9).

Todas informações acima, mais os centros quaternários δ 65,1, δ 74,4, δ 47,8; uma metoxila δ 61,6, e duas metilas em δ 24,4 e δ 16,1, juntamente com os dados de correlação ^{13}C , ^1H no espectro de RMN 2D (HETCOR, E -10 a E - 13, figura 10), sugeriram que o composto 17 poderia ser uma benzofenona poliisoprenilada com as mesmas unidades estruturais (figura 7) presentes na clusianona 9 (figura 3), cujo isolamento (frutos *C.sandinensis* e raízes de *C. congestiflora*)¹¹ e determinação estrutural já havia sido relatada na literatura.

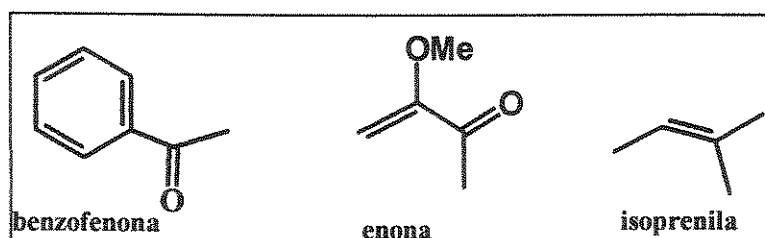


Figura 7: unidades estruturais presentes no composto 17.

Porém, estas informações não foram suficientes para indicar a estrutura correta do composto 17, pois alguns isômeros constitucionais da clusianona 9 poderiam ser construídos com base nestes dados.

O espectro no UV da clusianona 9 ($\lambda = 194$ e 250 nm)²⁰ apresentou uma banda de absorção a menos que o composto 17 ($\lambda = 194$, 250 e 280 nm), indicando que os cromóforos do composto 9 e 17 eram diferentes.

Por outro lado, um dos grupos de hidrogênios alílicos do composto 17 (δ 3,25 - 3,34), pertencentes a uma das unidades isoprenílicas, apresentavam-se mais desprotegidos que os hidrogênios alílicos observados na clusianona 9. Adicionalmente, a correlação ^{13}C , ^1H a longa distância observada no espectro de RMN 2D (COLOC, E - 14 a E - 17, figura 10) entre aqueles hidrogênios em δ 3,20 - 3,35 e o carbono em δ 123,2, confirmou a existência de uma unidade isoprenílica ligada a um carbono sp^2 .

As outras correlações ^{13}C , ^1H a longa distância, permitiram a atribuição dos carbonos quaternários, tanto da cabeça de ponte quanto do sistema enol-éter, favorecendo principalmente, a atribuição inequívoca dos carbonos C - 1 (correlação com os prótons sobre C - 8); C - 5 (correlação com as metilas geminais sobre o C - 6).

As correlações ^1H , ^1H no espectro de RMN 2D (COSY, E - 08 e E - 09, figura 10) entre os hidrogênios δ 5,00 e os hidrogênios alílicos em δ 3,20 - 3,35 e δ 2,50 - 2,56 auxiliaram na atribuição correta dos hidrogênios vinílicos. A correlação entre o hidrogênio alílico em δ 2,10 e os sinais em δ 1,66, permitiram concluir que o deslocamento químico de H - 7 é δ 1,66 (sobrepuesto pelo sinal atribuído às metilas vinílicas).

Todas estas informações, porém, foram insuficientes para decidir qual a estrutura correta dentre os dois isômeros estruturais (figura 8).

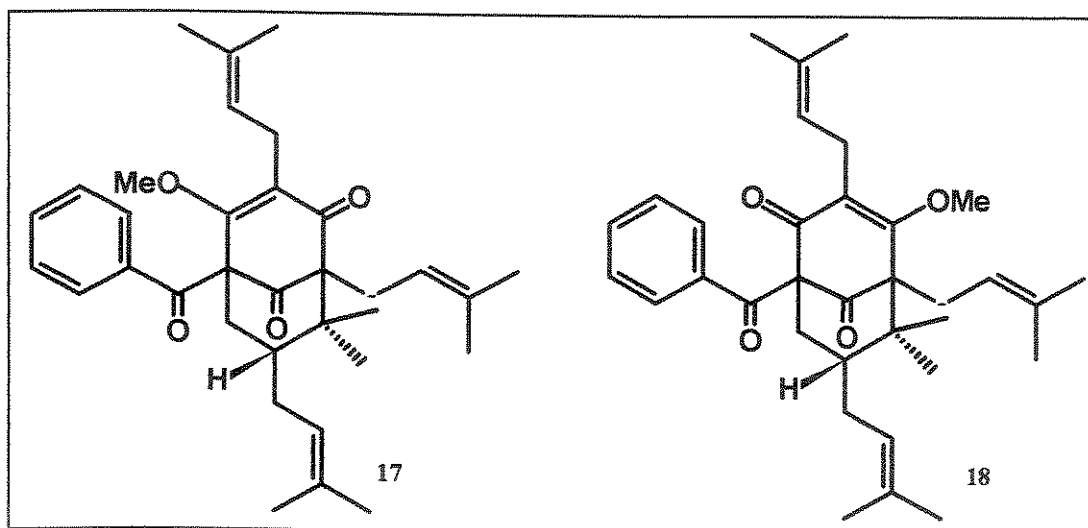


Figura 8: isômeros 17 e 18.

O isômero 17 teve sua estrutura confirmada por experimentos de NOEDIF (E - 18), irradiando-se o grupo metoxila e observando-se incrementos positivos no grupo metileno alílico em δ 3,25-3,34 (1,3%); grupo vinílico δ 5,00 (2,1%) e nos hidrogênios aromáticos δ 7,62 (1,4%).

O **composto 17**, na forma hidroxilada, é uma benzofenona poliisoprenilada inédita na literatura, isolada também das resinas da *C. nemorosa* masculina, *C. nemorosa* hermafrodita, *C. rosea* feminina e *C. grandiflora* feminina.

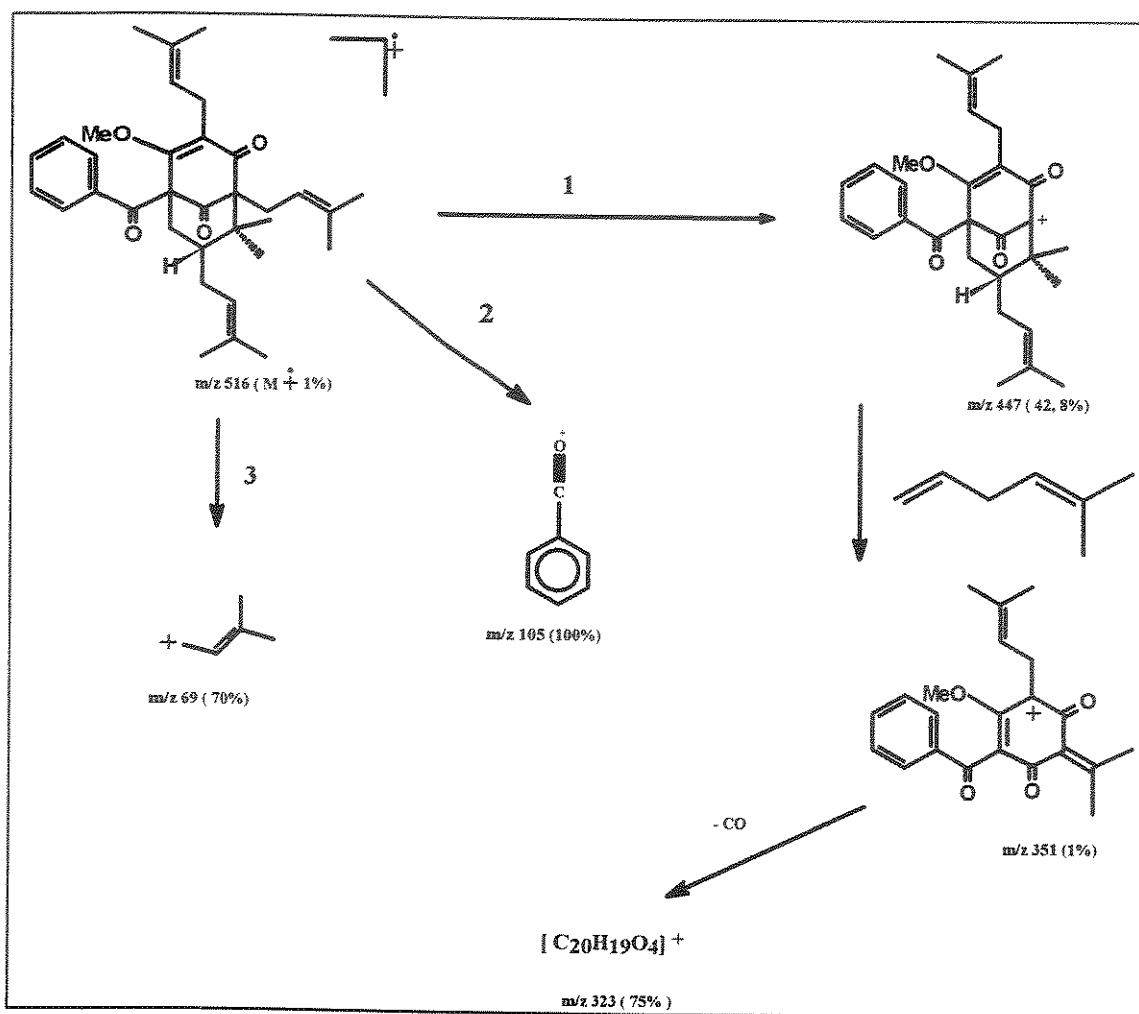


Figura 9 : proposta de fragmentação para o composto 17.

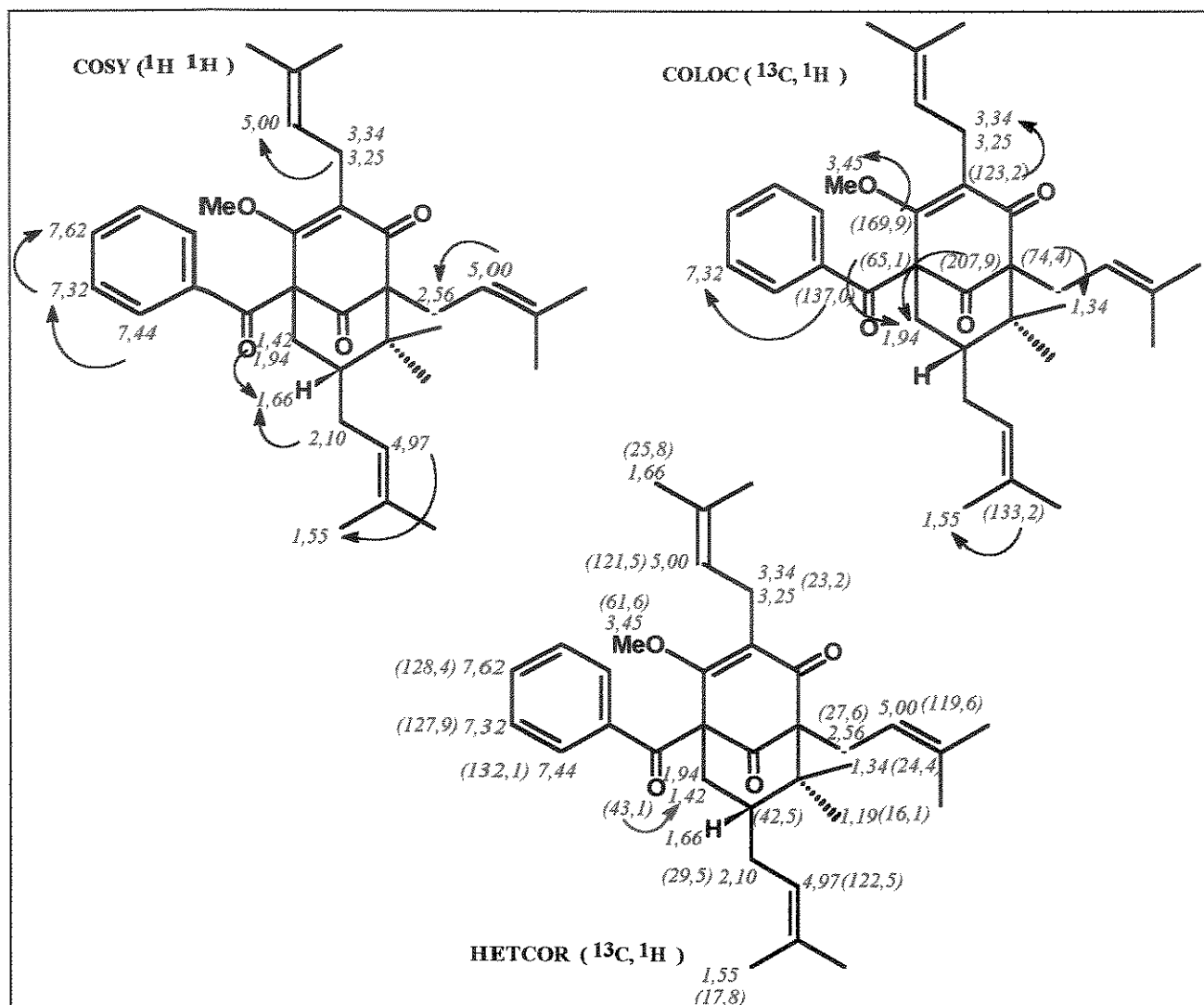
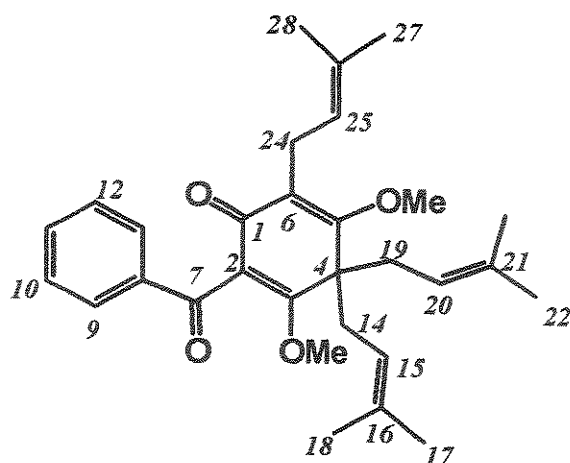


Figura 10: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1 \dots n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D (COSY, COLOC e HETCOR) para o composto 17.* Os deslocamentos químicos dos sinais de ^{13}C estão entre parêntesis.

• Composto 19



A cromatografia de coluna em sílica gel da resina metilada da *C. grandiflora* masculina forneceu um segundo componente, composto 19, o qual eluiu com hexano:éter (90:10), na forma de um líquido amarelo sem atividade óptica.

O composto apresentou um espectro no UV (E - 41) com banda intensa em 250 nm e banda muito fraca em 280 nm, cujo perfil diferia do perfil típico das benzofenonas bicíclicas. Porém os espectros de RMN ^{13}C (E - 25 a E - 30) e RMN ^1H (E - 23 e E - 24) exibiram um perfil muito semelhante ao perfil dos compostos que caracterizam a classe das benzofenonas poliisopreniladas.

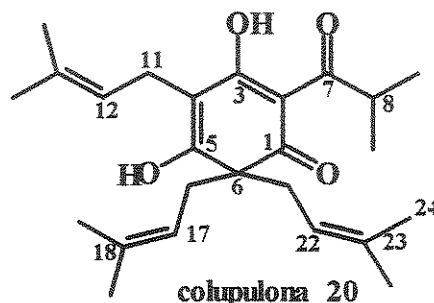
O espectro de massa de alta resolução (E - 39) apresentou íon molecular de m/z 462,2770 compatível coma composição elementar $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_4$ (valor calculado: 462,27701) e exibiu um pico de m/z 105,1 (85%) coerente com o fragmento $[\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO}]^+$, indicativo de uma unidade benzofenônica na molécula (figura 11).

A análise dos dados espectroscópicos de RMN ^1H e ^{13}C (tabela 1) auxiliaram na caracterização do composto 19, revelando que o mesmo apresentava as mesmas unidades estruturais que o composto 17, não sendo, no entanto, um sistema bicíclico.

Os hidrogênios aromáticos em δ 7,89 (2H, dd, $J=7,4$ e $1,0$ Hz), δ 7,42 (2H, t, $J=7,4$ Hz) e δ 7,45 (1H, t, $J=7,4$ Hz), que formam um sistema de 5 spins AAB'XX', confirmaram a presença da unidade benzofenônica na estrutura.

Três hidrogênios vinílicos em δ 5,04 (2H, m) e em δ 4,96 (1H, m), juntamente com 4 sinais de metilas vinílicas em δ 1,65 (6H), δ 1,54 (6H), δ 1,58 (3H), δ 1,57 (3H) e prótons alílicos em δ 3,14 - 2,62 (6H, m), foram atribuídos a presença de três unidades isoprenilas no sistema.

Distintamente dos outros sistemas bicíclicos discutidos anteriormente, o composto 19 apresentou duas metoxilas (δ 3,57 e 3,92) e pela análise do espectro de RMN ^{13}C , observamos a presença de somente um carbono quaternário sp^3 (δ 53,8). O conjunto de dados espectrais até aqui resumidos, permitiu-os sugerir uma relação entre o composto 19 e a colupulona (20)²² já descrita na literatura. Esta relação estrutural foi confirmada, principalmente, pela presença dos sinais atribuídos ao sistema enol-éter em δ 188,0 (C-1), δ 123,4 (C-2), δ 169,6 (C-3) e δ 170,7 (C-5). A simetria e a presença de dois grupos isoprenilas geminais, foram confirmados pela intensidade dos sinais de RMN ^{13}C referentes aos carbonos da unidade isoprenila em δ 17,9, δ 25,9, δ 35,8, δ 118,7, δ 134,6 e pela integração dos sinais correspondentes a esta mesma unidade no espectro de RMN ^1H .



As correlações homonucleares ^1H , ^1H (COSY, E - 31 e E - 32, figura 12) e heteronuclear ^{13}C , ^1H { HETCOR (E - 33 a E - 35) e COLOC (E - 36 a E - 38), figura 12} observadas no espectro de RMN 2D, permitiu a completa atribuição dos sinais de hidrogênios e carbonos e confirmaram a estrutura sugerida para o composto 19.

O composto 19, na forma hidroxilada, é inédito na literatura e está presente nas espécies *C. grandiflora* masculina e *C. grandiflora* feminina.

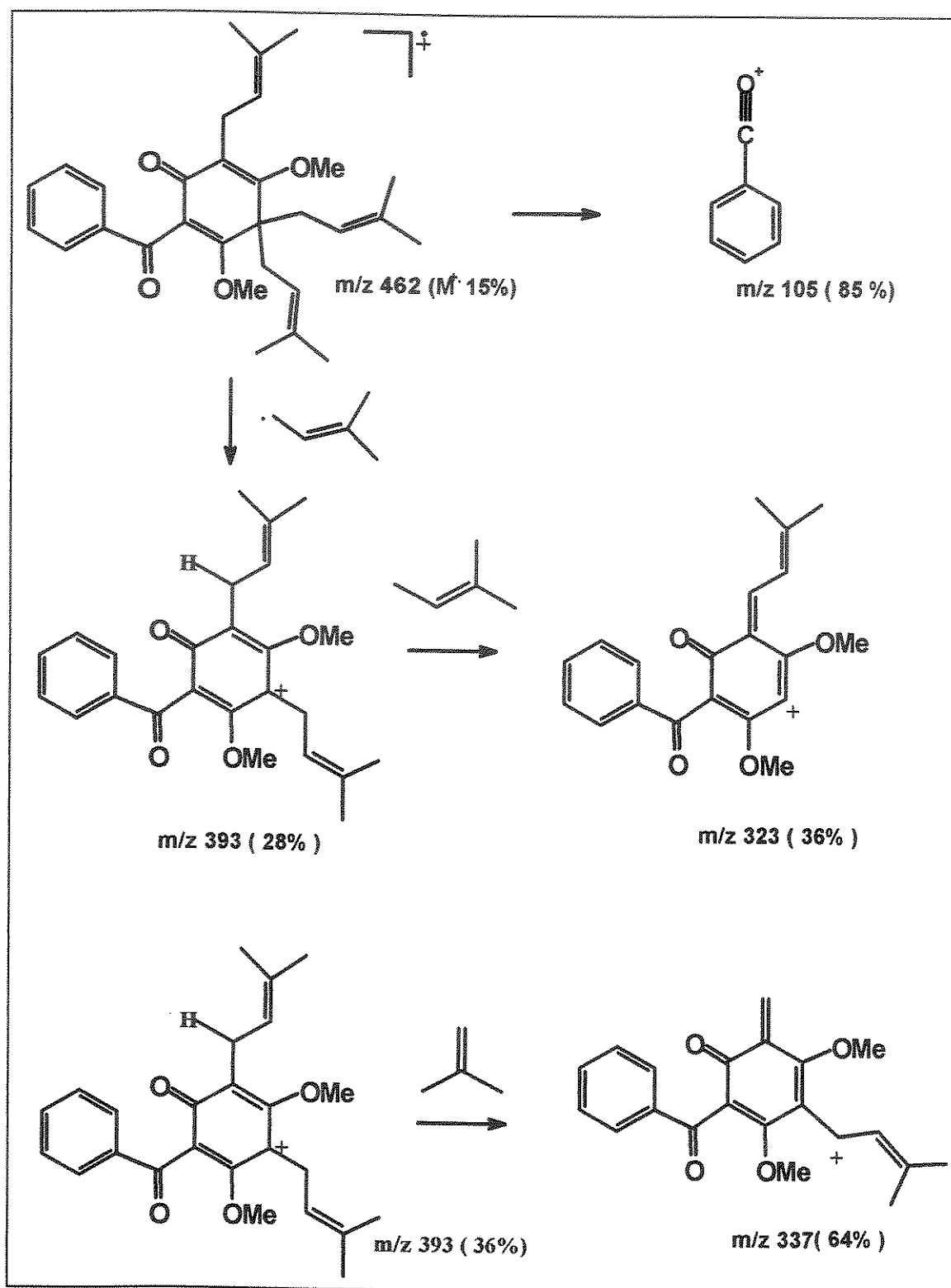


Figura 11: proposta de fragmentação para o composto 19.

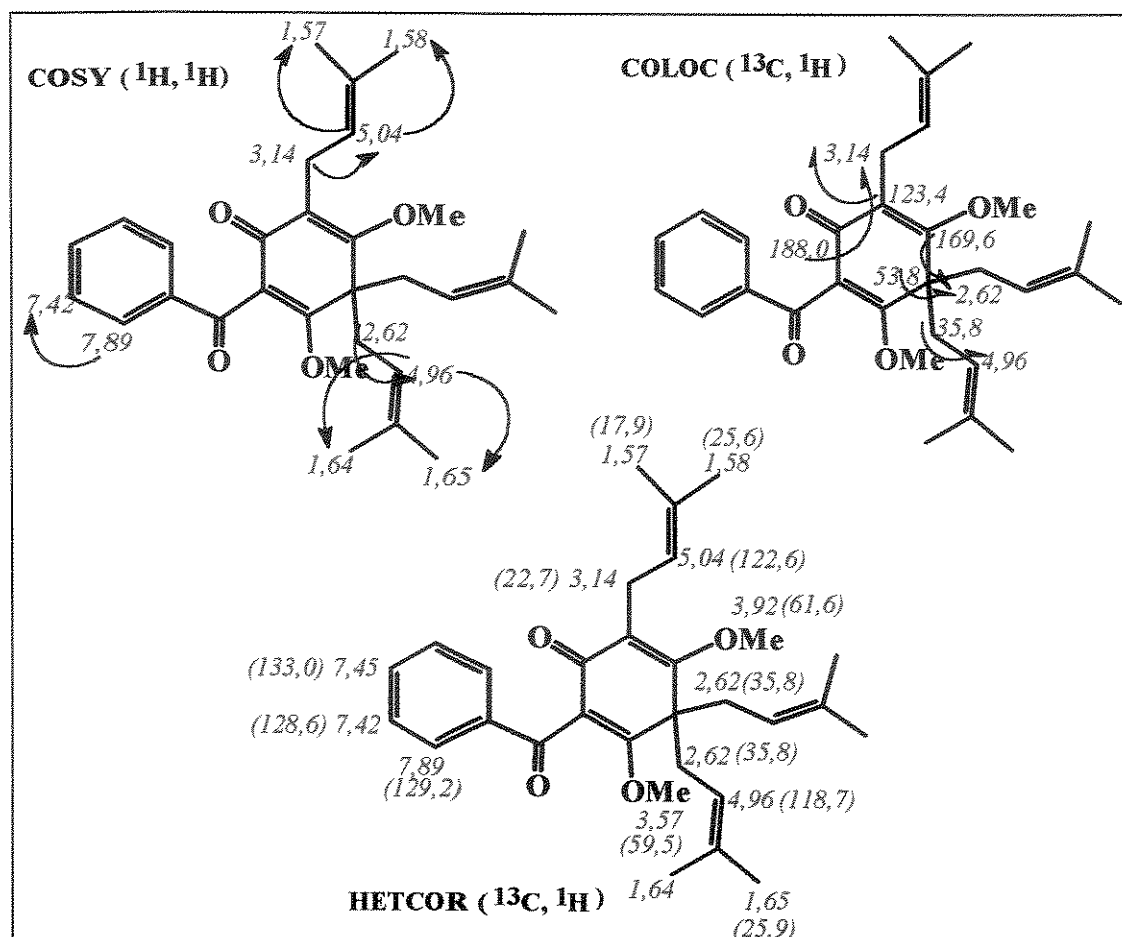
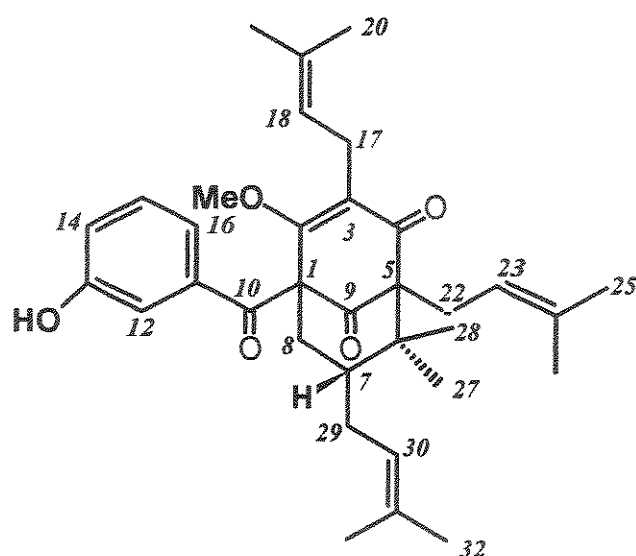


Figura 12: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H ($n = 1 \dots n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D (COSY, COLOC e HETCOR) para o composto 19. *Os deslocamentos químicos dos sinais de ^{13}C estão entre parêntesis.

• Composto 21



A cromatografia da resina metilada de *C. nemorosa* hermafrodita forneceu, por eluição com hexano-éter (70 : 30) o **composto 21**, na forma de um sólido incolor opticamente ativo com $[\alpha]_{20}^D = +142^\circ$ (MeOH, c.7,0) e pf. 134 - 136°C. As absorções no UV (E - 58) em 250 nm em 280 nm revelaram a presença de cromóforos idênticos aos do composto

17. O espectro no IV (E - 57) apresentou bandas intensas para carbonilas conjugada (1720 cm^{-1} e 1702 cm^{-1}) e não conjugada (1654 cm^{-1}) e banda larga intensa em (3365 cm^{-1}), que poderia indicar a presença de um grupo hidroxila no sistema.

O espectro de massa de alta resolução (E - 56) apresentou um íon molecular m/z 532,3188 compatível com a composição elementar $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_5$ (valor calculado: 532,31887) e exibiu um fragmento m/z 121 (34,7 %) (figura 13), consistente com a presença de uma unidade hidroxibenzofenônica na molécula.

Os espectros de RMN ^1H (E - 42 e E - 43) e RMN ^{13}C (E - 44 a E - 48) apresentaram o mesmo perfil já observado para composto 17, porém exibiam uma diferença, tanto nos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e RMN ^1H (tabela 1), como de integração (4H) para os hidrogênios do grupo benzofenônico. Estas observações foram indicativas de que a única diferença entre o composto 17 e 21 era referente a substituição do anel aromático.

A presença de um singlete largo em δ 6,12 e a correlação ^1H , ^{13}C a várias ligações no espectro RMN 2D (COLOC, E - 52 a E - 54, figura 14) deste sinal com os sinais em δ 119,4 e δ 115,2, confirmou a presença do grupo hidroxila no anel aromático.

Por fim, uma confirmação adicional da estrutura proposta foi feita por comparação dos sinais de RMN ^{13}C do composto 21 com os sinais do espectro de

RMN ^{13}C para o ácido 3 - hidróxi - benzóico²³. Com esta comparação, concluímos que o sistema apresentava um padrão de substituição *meta* para o grupo hidroxila ligado ao anel aromático. Os dados de correlação $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ observados nos espectros RMN 2D (HETCOR, E - 49, figura 14), confirmaram a estrutura da hidroxinemorosona 21. O composto 21 é inédito na literatura e foi isolado somente da resina de *C. nemorosa* hermafrodita.

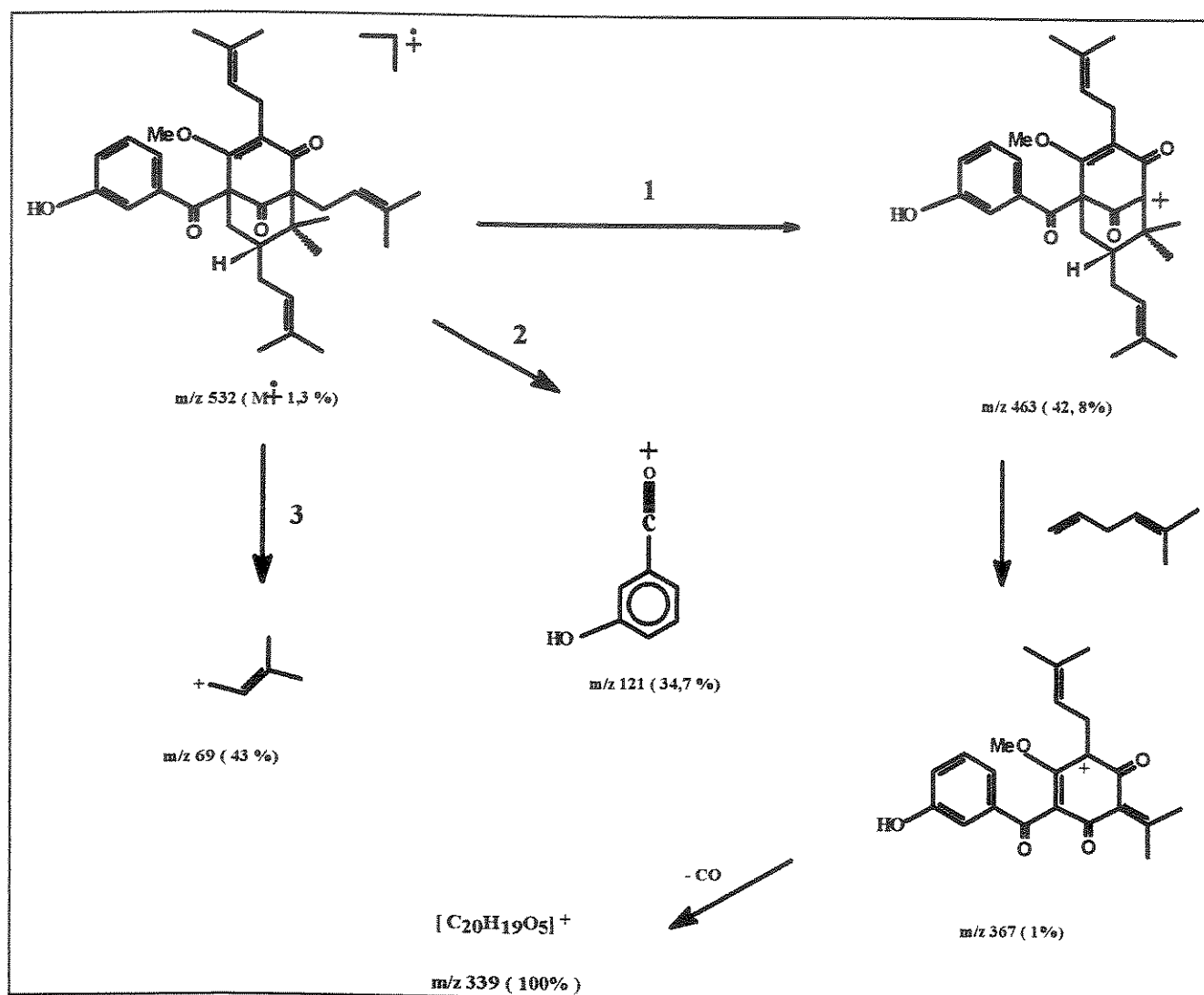


Figura 13: proposta de fragmentação para o composto 21.

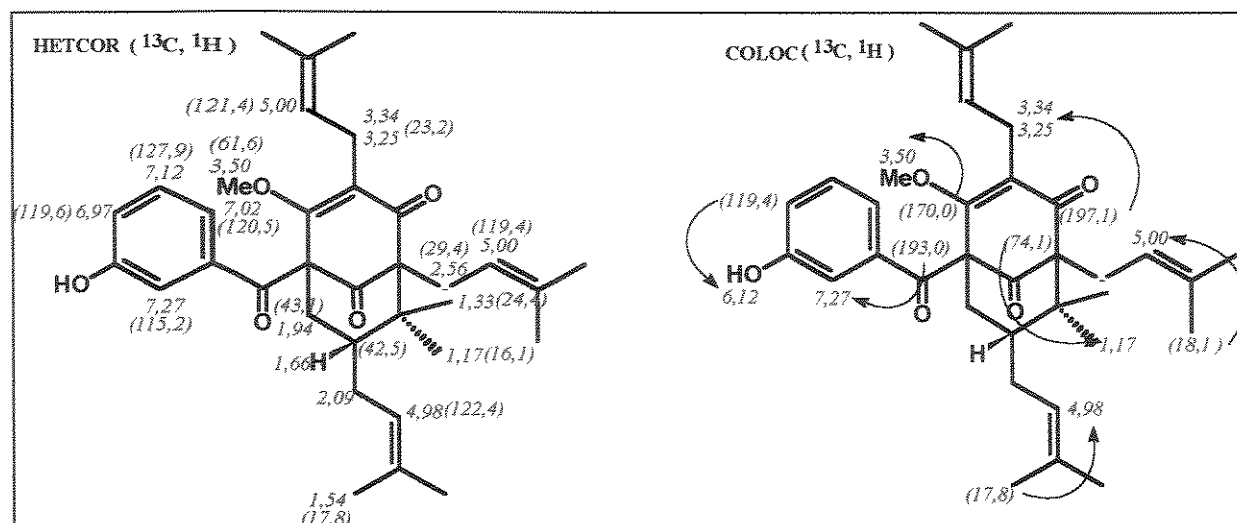
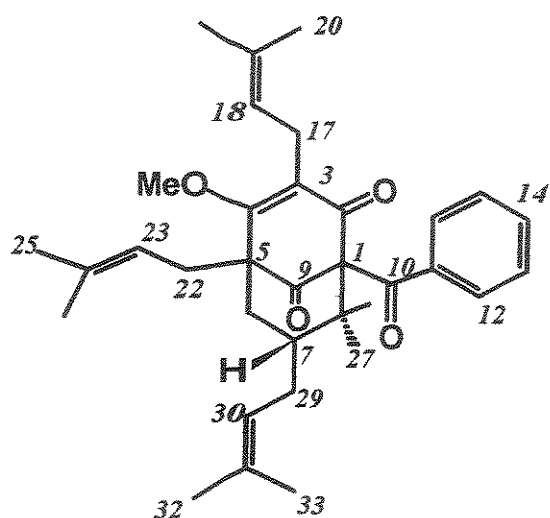


Figura 14: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1 \dots n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D (COLOC e HETCOR) para o composto 21.* Os deslocamentos químicos dos sinais de ^{13}C estão entre parêntesis.

Tabela 1: deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para os compostos 17, 19 e 21 (CDCl_3)

19			17			21		
C#	^{13}C	$^1\text{H}(\delta)$	^{13}C	$^1\text{H}(\delta)$	^{13}C	$^1\text{H}(\delta)$		
1	188,0	-	65,1	-	65,2	-		
2	123,4	-	169,9	-	170,0	-		
3	169,6	-	123,2	-	123,0	-		
4	53,8	-	193,1	-	193,0	-		
5	170,7	-	74,4	-	74,1	-		
6	118,0	-	47,8	-	47,9	-		
7	196,5	-	42,5	1,66 (1H, overlap)	42,4	1,66(1H, overlap)		
8	138,5	-	43,1	1,94 (1H, dd, J=3,4 e 12,6Hz eq); 1,42(1H, t, J=12,6Hz, axial)	43,1	1,94(1H, dd, J=3,4 e 12,6Hz eq) 1,42 (1H, t, J= 12,6 Hz axial)		
9	129,2	7,89 (1H, dd, J=7,4 e 1Hz)	207,9	-	207,9	-		
10	128,6	7,42 (1H, t, J=7,4 Hz)	197,1	-	197,4	-		
11	133,0	7,45 (1H, t, J=7,4 Hz)	137,0	-	138,3	-		
12	128,6	7,42 (1H, t, J=7,4 Hz)	128,4	7,62(1H, dd, J=8 e 1Hz)	115,2	7,27 (1H, sl)		
13	129,2	7,89 (1H, dd, J=7 e 1Hz)	127,9	7,32(1H, t, J=8Hz)	155,9	-		
14	35,8	2,62 (2H, m)	132,1	7,44(1H, tt, J=8 and 1 Hz)	119,4	6,97 (1H, dl, J=7,7 Hz)		
15	118,7	4,96 (1H, m)	127,9	7,32(1H, t, J=8Hz)	128,9	7,12 (1H, t, J=7,7Hz)		
16	134,6	-	128,4	7,62(1H, dd, J=8 e 1Hz)	120,5	7,02 (1H, dd, J=7,7e 1 Hz)		
17	25,9	1,65 (3H, s)	23,2	3,25(1H, dd, J=16 e 6,8Hz); 3,34(1H, dd, J=16 e 6,8Hz)	23,2	3,20(1H,dd,J=16 e 6,4 Hz); 3,35(1H, dd, J=16 e 6,4 Hz)		
18	17,9	1,54 (3H, s)	121,5	5,00(1H, m)	121,4	5,00 (1H, m)		
19	35,8	2,62 (2H, m)	134,4	-	134,5	-		
20	118,7	4,96 (1H, m)	25,8	1,66(3H,s)	25,8	1,66 (3H, s)		
21	134,6	-	18,0	1,66(3H, s)	17,9	1,66 (3H, s)		
22	25,9	1,65 (3H, s)	29,5	2,50(1H, dd, J=13,7, e 7,1Hz); 2,56 (1H, dd, J=13,7 e 7,0Hz)	29,4	2,47(1H, dd,J= 12,9 e 7 Hz); 2,57 (1H, dd, J=12,9 e 7 Hz)		
23	17,9	1,54 (3H, s)	119,6	5,00(1H, m)	119,6	5,00 (1H, m)		
24	22,7	3,14 (2H, d, J=6Hz)	133,0	-	133,1	-		
25	122,6	5,04 (1H, m)	25,6	1,66 (3H, s)	25,6	1,66 (3H, s)		
26	131,6	-	18,1	1,66 (3H, s)	18,1	1,66 (3H, s)		
27	25,6	1,58 (3H,s)	24,4 eq.	1,34 (3H, s)	24,4 eq.	1,33 (3H, s)		
28	17,9	1,57 (3H,s)	16,1 axial	1,19(3H,s)	16,1 axial	1,17 (3H,s)		
29	-	-	27,6	2,10(1H,m); 1,66(1H, overlap)	27,6	2,09 (1H, m); 1,66 (1H, overlap)		
30	-	-	122,5	4,97(1H,m)	122,4	4,98 (1H, m)		
31	-	-	133,2	-	133,2	-		
32	-	-	26,0	1,66(3H, s)	25,9	1,66 (3H, s)		
33	-	-	17,8	1,55 (3H, s)	17,8	1,54 (3H,s)		
OMe	61,6 59,5	3,92(3H, s) 3,57(3H, s)	61,6	3,45 (3H, s)	61,6	3,50(3H,s)		
OH						6,12(1H, sl)		

• Composto 23



A cromatografia da resina metilada da *Clusia rosea* feminina forneceu, além do composto 17, um segundo componente que foi eluído com uma mistura de hexano : acetato de etila (90:10), como um líquido incolor, com rotação óptica $[\alpha]_{20}^D = + 48,6$ (c. 1,4; CHCl_3). O espectro de UV (E-78) apresentou as mesmas absorções e mesmo perfil do UV do composto 17 (250 nm e 280 nm). O espectro de IV (E-

77) apresentou bandas fortes para os grupos carbonilas conjugada (1646 cm^{-1} e 1700 cm^{-1}) e não conjugada (1724 cm^{-1}).

O espectro de massa de alta resolução (E - 76) apresentou íon molecular m/z 516,3239 compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_4$ (valor calculado: 516,32395) e apresentou a mesma fragmentação observada no espectro de massa do composto 17 (figura 9), diferindo somente na intensidade dos íons.

Por análise dos dados de RMN ^1H (E - 59 e E - 60, tabela 2), RMN ^{13}C (E - 61 a E - 66, tabela 2) e pelas correlações ^1H , ^{13}C inferidas a partir do espectro de RMN 2D (HETCOR, E - 70 a E - 71, figura 16), observamos que o composto 23 apresentava todas as unidades estruturais já identificadas no composto 17 (figura 7) e que os dois compostos eram isômeros constitucionais, apresentando como diferença fundamental a inversão na posição dos grupos isoprenila e benzofenona ligados ao biciclo-[3.3.1]-nonano - 2, 4, 9 - triona.

As principais diferenças que fundamentam esta afirmativa são especificadas a seguir. Em primeiro lugar, o sinal dos hidrogênios vinílicos das unidades isoprenílicas aparece em δ 5,03, distintamente do sistema observado para o composto 17 cujos hidrogênios vinílicos aparecem como dois sinais distintos em δ 5,00 e δ 4,97.

17 cujos hidrogênios vinílicos aparecem como dois sinais distintos em δ 5,00 e δ 4,97.

As metilas aparecem com deslocamentos distintos (δ 1,69, δ 1,68, δ 1,67, δ 1,65, δ 1,63 e δ 1,50) enquanto que no espectro do composto 17 observamos somente um sinal em δ 1,66.

A comparação entre os deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C , mais alguns dados de correlação ^{13}C , ^1H a várias ligações observadas no espectro de RMN 2D (figura 15), para o composto 23 e o composto 17, evidenciam alterações nos deslocamentos químicos dos carbonos que estão em ponte na porção bicíclica dos dois sistemas. No composto 17, o C - 1 (δ 65,1) e o C - 5 (δ 74,4) apresentam como substituintes os radicais benzofenona e isoprenila, respectivamente. Já para o composto 23 os deslocamentos químicos alteram-se para C - 1 (δ 79,2) e o C - 5 (δ 59,8). Estes efeitos de proteção e desproteção observados quando comparamos os dois compostos, foram atribuídos à inversão na posição dos substituintes.

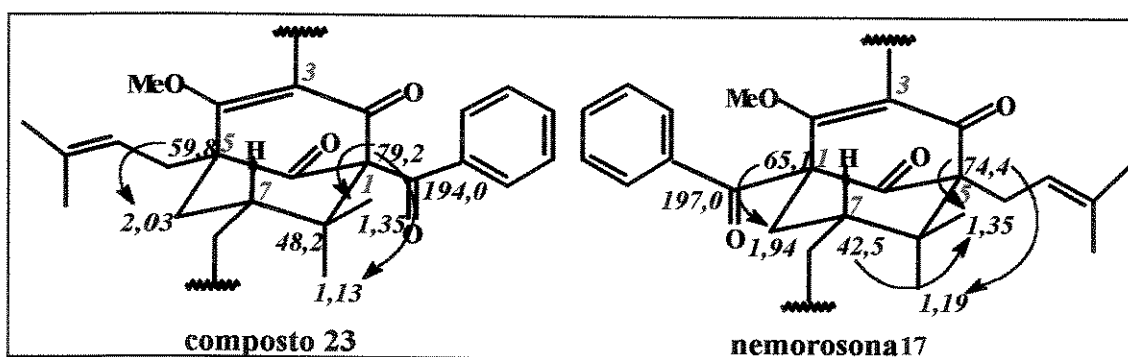


Figura 15: comparação entre os deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C e principais correlações a longa distância ^1H , ^{13}C (COLOC) observadas no espectro RMN 2D entre o composto e o composto 23.

As outras correlações homonucleares ^1H , ^1H (COSY, E - 67 a E - 69, figura 16) e heteronuclear ^{13}C , ^1H (COLOC, E - 73 a E - 75, figura 16) observadas no espectro de RMN 2D, permitiram a completa atribuição dos sinais de hidrogênios e carbonos e confirmaram a estrutura sugerida para o composto 23.

Neste ponto de nossa análise uma importante observação se faz necessária. Se compararmos a numeração do composto 17 e do composto 23, podemos observar que o substituinte benzofenona está sobre o carbono C - 1 nas duas estruturas

propostas, mas os grupos vizinhos próximos ao C - 1, para cada composto, são diferentes.

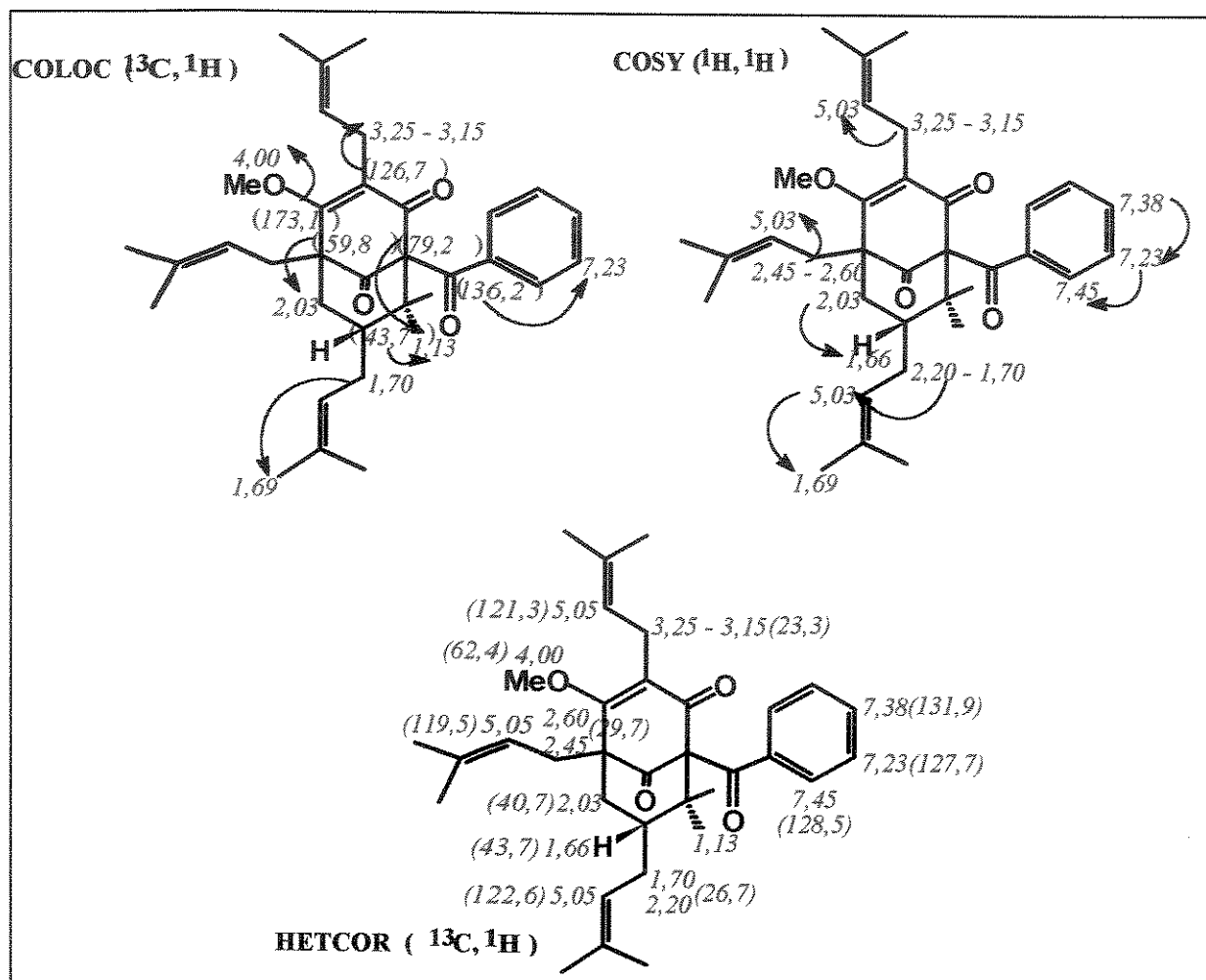
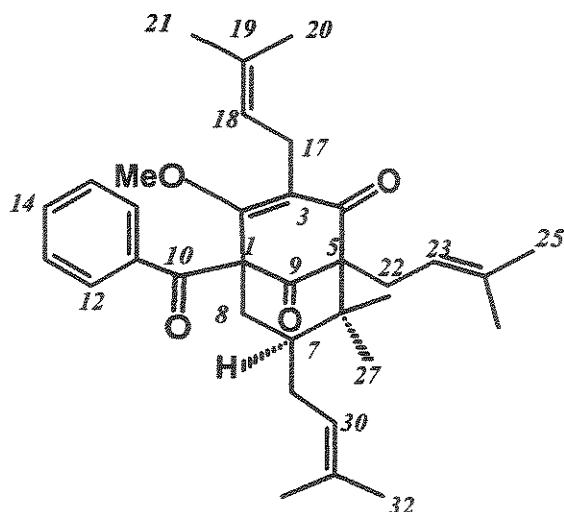


Figura 16: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n (n = 1...n) ligações observadas no espectro de RMN2D (COSY, HETCOR e COLOC) para o composto 23. * Os deslocamentos químicos dos sinais de ^{13}C estão entre parêntesis.

• Composto 25



A cromatografia em sílica gel da resina metilada de *C. nemorosa* masculina forneceu, além do composto 17, o composto 25, que foi extraído com hexano : éter (95 : 5) na forma de um sólido branco, com $[\alpha]_{20}^D = +140,7$ (CHCl_3 ; $c.3,1$). O perfil e as absorções no espectro de UV (E - 96) são idênticas as do composto 17, com absorções máximas em 250 nm e 280 nm. O espectro

de IV (E - 95) apresentou bandas de carbonilas conjugada (1654 cm^{-1} e 1702 cm^{-1}) e não conjugada em (1722 cm^{-1}). O íon molecular de m/z 516,3239 exibido pelo espectro de massa de alta resolução (E - 94) é compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_4$ (valor calculado: 516,32395). As fragmentações observadas nos espectros de massas do composto 17, do composto 23 e composto 25 são análogas (figura 9), indicando que os três compostos são isômeros entre si.

Com base nesta observação, na análise dos dados de RMN ^{13}C e RMN ^1H (tabela 2) e nas correlações de ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H inferidas a partir dos espectros de RMN 2D {COSY (E - 86 e E - 87), HETCOR (E - 88 a E - 90) e COLOC (E - 91 a E - 93), figura 19}, concluímos que o composto 25 possuía os mesmos grupos estruturais e a mesmas correlações já observados para o composto 17, diferindo somente no que se refere à configuração relativa do centro assimétrico C- 7. As diferenças que fundamentam esta conclusão serão discutidas abaixo.

O espectro de RMN ^1H (E - 79 a E - 81) exibiu sistemas muito semelhantes àqueles do composto 17, com exceção dos hidrogênios vinílicos que absorvem na forma de 3 sinais em δ 4,87, δ 4,94, δ 5,03; hidrogênios alílicos H - 29 (δ 2,28 e δ 1,90) e um dos hidrogênios metilênicos H - 8 (δ 1,90) que aparecem mais desprotegidos que os seus correspondentes no composto 17.

O espectro de RMN ^{13}C mostrou que o C-7 em δ 48,6 está bem mais desprotegido que o C-7 no composto 17 (δ 42,5). O espectro de RMN 2D (HETCOR) mostra

uma correlação ^{13}C , ^1H entre o C - 7 (δ 48,6) e o hidrogênio em δ 1,38, indicando que o hidrogênio H-7 aparece mais protegido no composto 25 que no composto 17 (δ 1,66). A alteração de deslocamento químico do H - 7 e C - 7 poderia ser atribuído a uma alteração na configuração do C - 7 (figura 17).

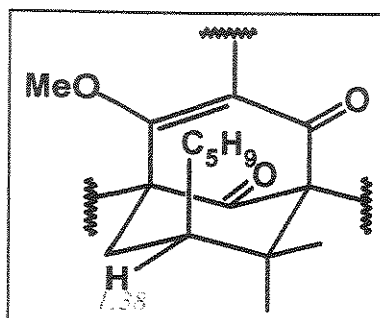


Figura 17: configuração relativa no C - 7. H - 7 na equatorial e C_5H_9 na axial.

Porém, a estrutura proposta seria muito instável porque apresenta interações desfavoráveis do tipo 1,3-diaxial com o bicyclo [3.3.1]. Buscando uma estrutura onde estas interações fossem minimizadas e o grupo isoprenila permanecesse na posição equatorial, sugerimos uma mudança na conformação do anel. A conformação cadeira característica do composto 17, alterar-se-ia para uma conformação barco ou barco retorcido (figura 18). Esta conformação poderia explicar adequadamente o deslocamento do hidrogênio H-7 que, nesta posição, estaria no cone de proteção da carbonila, aparecendo mais protegido no espectro de RMN ^1H .

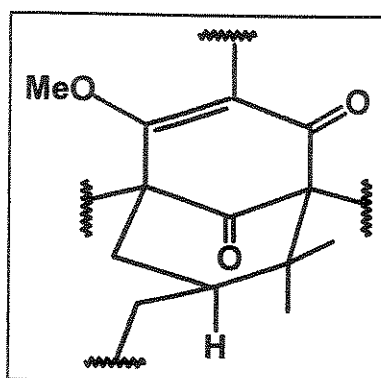


Figura 18: conformação barco sugerida para o composto 25

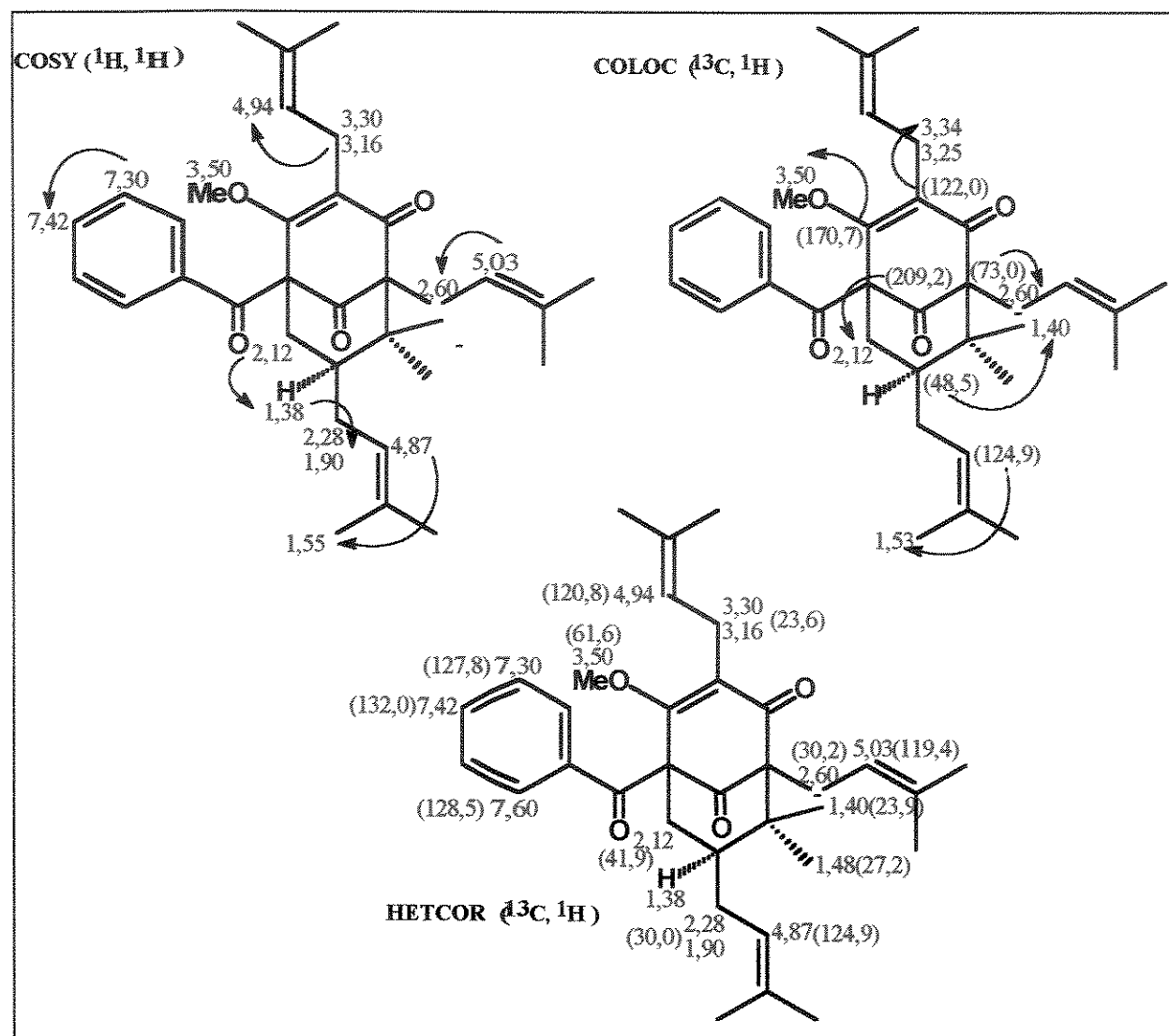
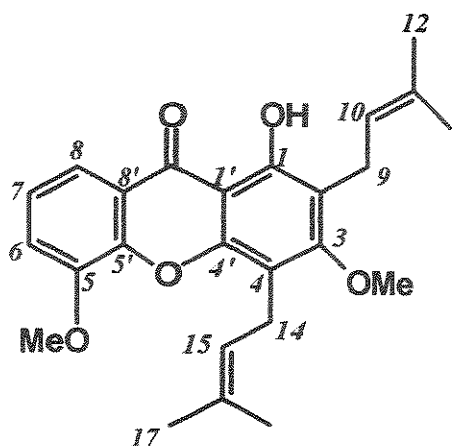


Figura 19: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n (n = 1...n) ligações observadas no espectro de RMN 2D (COSY, COLOC e HETCOR) para o composto 25.* Os deslocamentos químicos dos sinais de ^{13}C estão entre parêntesis.

Composto 27



A cromatografia de coluna em sílica gel da resina metilada de *C. nemorosa* hermafrodita forneceu, além do composto 21, por eluição com hexano: acetato de etila (85: 15), um sólido amarelo, opticamente inativo, com ponto de fusão 89 - 91°C. O perfil do espectro no UV (E - 108) mostrou-se muito distinto do das benzofenonas poliisopreniladas, exibindo absorções máximas em 245 nm, 260 nm e 315 nm.

Espectro de massa de alta resolução (E - 106) apresentou um íon molecular de m/z 408,19331 compatível com a fórmula molecular $C_{25}H_{28}O_5$ (valor calculado: 408,19337), apresentando como um dos principais fragmentos m/z 365 (95%), resultante da perda de uma unidade $\cdot CH_3 CO$ (figura 21).

Por análise do espectro de RMN 1H (E - 97 e E - 98, tabela 2), observamos sinais que indicavam a presença de duas unidades isoprenilas: a) multiplete em δ 5,30 (2H) que foi atribuído aos hidrogênios vinílicos; b) dois dubletes em δ 3,42 (2H, d, $J = 6,6$ Hz) e δ 3,60 (2H, d, $J = 6,9$ Hz) os quais foram atribuídos aos hidrogênios alílicos; c) quatro singletes em δ 1,60, δ 1,70, δ 1,82, δ 1,90 compatíveis com as metilas vinílicas.

Na região de hidrogênios aromáticos observamos sinais correspondendo a 3 hidrogênios adjacentes: um duplo dublete com típico acoplamento *orto* (δ 7,83 $J = 9$ Hz), integrando para um hidrogênio, e dois outros hidrogênios formando um sinal múltiplo em δ 7,23.

Os sinais referentes aos carbonos quaternários, presentes no espectro de RMN ^{13}C (E - 99 a E - 101) em δ 181,9, δ 152,8, δ 146,7, δ 113,5, δ 106,1, foram coincidentes com o padrão de sinais do esqueleto básico das xantonas²⁴ (figura 20).

Com as duas informações acima, pudemos concluir que o composto 27 era uma xantona poliisoprenilada, porém precisávamos definir a posição dos radicais isoprenilas no esqueleto básico da xantona.

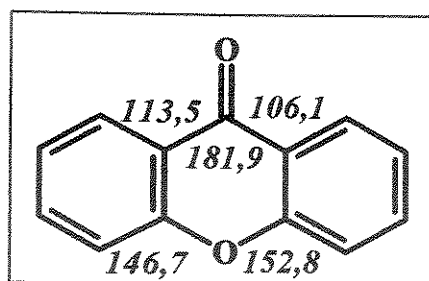


Figura 20: deslocamentos químicos de ^{13}C para os carbonos C - 1', C - 4', C - 5', C - 8' e para a carbonila.

A correlação ^{13}C , ^1H a longa distância no espectro de RMN 2D (COLOC, E - 111 e E - 112, figura 22) entre o C-1 (δ 158,90) e o grupo - OH (δ 12,97); entre o C - 4' (δ 152,8) e os hidrogênios alílicos H - 13 (δ 3,42) e entre o C - 3 (δ 163,8) e a metoxila (δ 3,84), permitiram atribuir a posição correta tanto do grupo isoprenila quanto da hidroxila presentes no sistema. Todas estas observações e mais os dados de correlação ^1H , ^1H (COSY ^{13}C , E - 102 a E - 105, figura 22) e ^{13}C , ^1H (HETCOR, E - 109 e E - 110, figura 22) inferidas a partir do espectro de RMN 2D, permitiram uma conclusão inequívoca sobre a estrutura do composto 27.

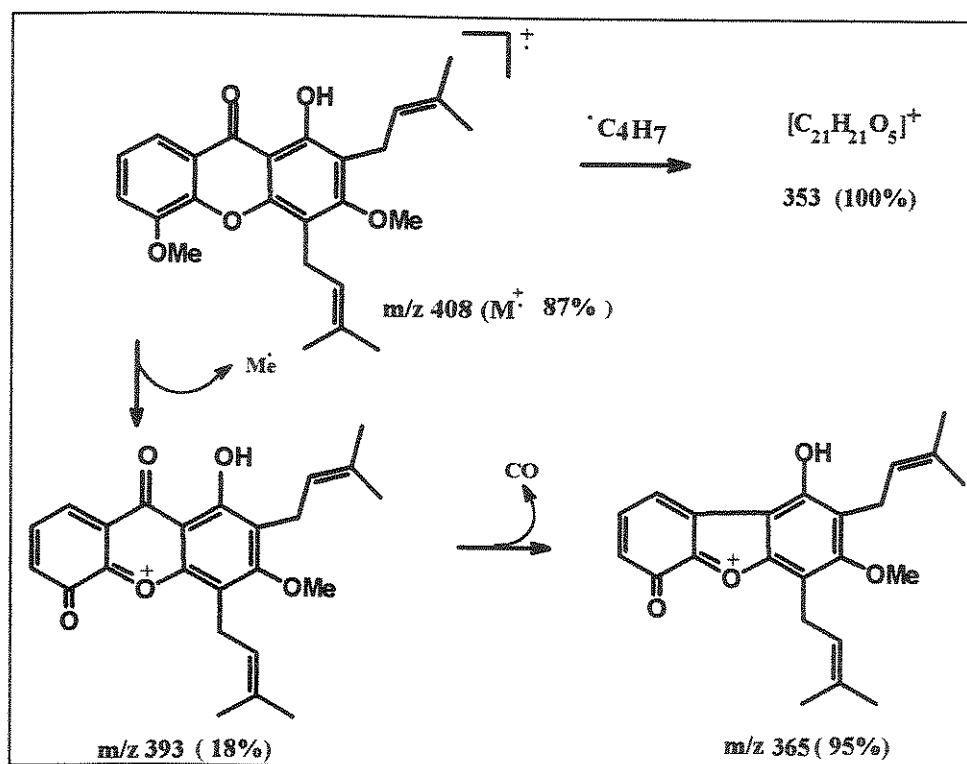


Figura 21: proposta de fragmentação para o composto 21

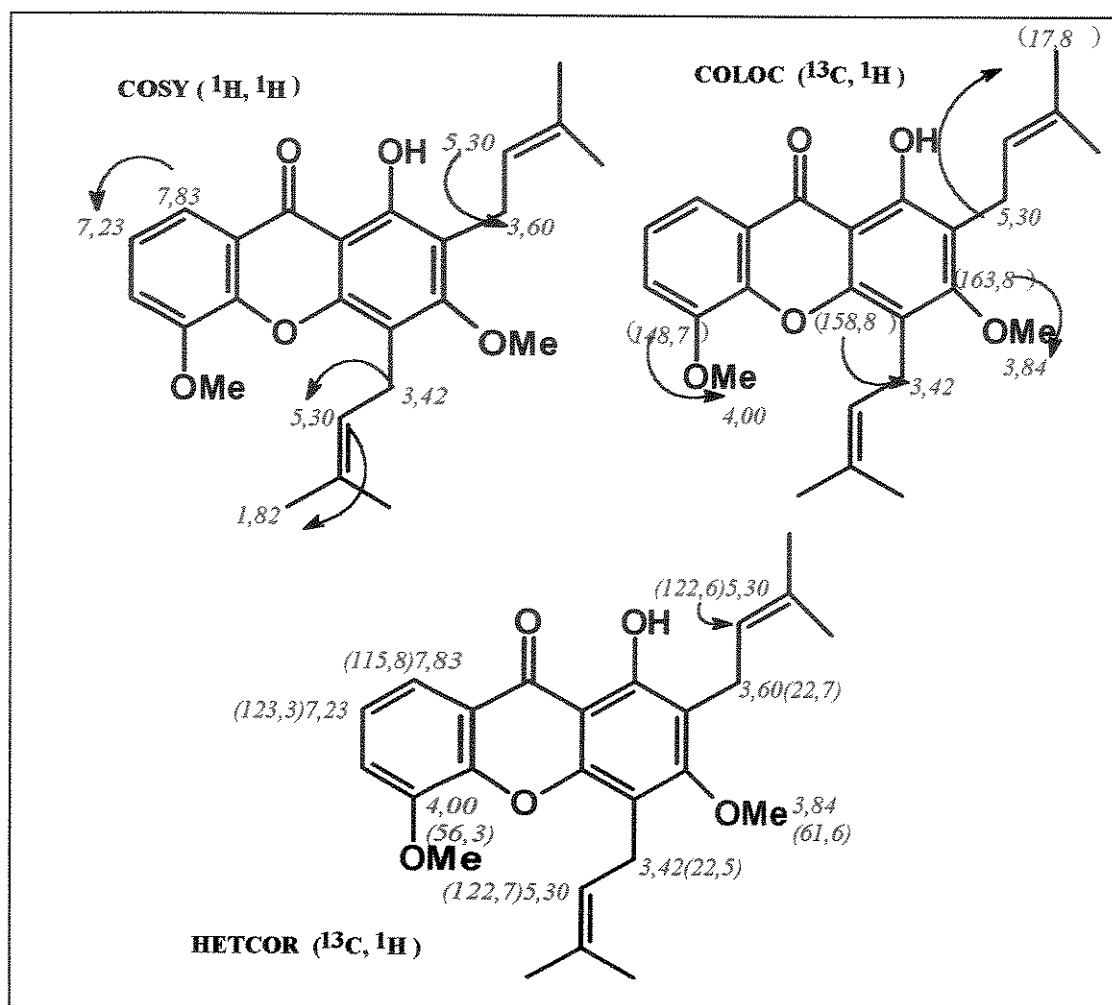


Figura 22: correlações ^1H , ^1H e ^{13}C , ^1H a n ($n = 1 \dots n$) ligações observadas no espectro de RMN 2D (COSY, COLOC e HETCOR) para o composto 27.* Os deslocamentos químicos dos sinais de ^{13}C estão entre parêntesis.

Tabela 2 : deslocamentos químicos de RMN ^1H e RMN ^{13}C para os compostos 23, 25 e 27 (CDCl_3)

23				25		27	
C#	^{13}C	$^1\text{H}(\delta)$	^{13}C	$^1\text{H}(\delta)$	C#	^{13}C	
1	79,2	-	63,4	-	1	158,9	
2	193,1	-	170,7	-	1'	106,1	
3	126,8	-	122,0	-	2	121,1	
4	173,1	-	193,3	-	3	163,8	
5	59,8	-	73,0	-	4	117,2	
6	40,7	2,03 (1H, dd, J= 13,2 e 3,6 eq.) 1,50 (1H, t, J = 13,2, axial)	49,5		4'	152,8	
7	43,7	1,66 (1H, overlap)	48,6	1,38 (1H, m)	5	148,7	
8	48,8		41,9	2,12 (1H, m) 1,90(1H, m)	5'	146,7	
9	207,3		209,2	-	6	116,7	7,83 (1H, dd, J = 1,8 e 8,7 Hz)
10	194,0		197,8	-	7	123,3	7,23 (1H, m)
11	136,2		136,8	-	8	115,8	7,23 (1H, m)
12	128,5	7,45(1H, dd, J=9,6 e 1,6Hz)	128,5	7,62(1H, dd, J=8 e 1Hz)	8'	113,5	
13	127,7	7,23(1H, t, J = 7,4Hz)	127,8	7,32 (1H, t, J=8Hz)	9	22,7	3,60 (2H, d, J = 6,9 Hz)
14	131,9	7,38(1H, tt, J=7,8 e 1 Hz)	132,0	7,44 (1H, tt, J=8 e 1 Hz)	10	122,7	5,30 (1H, s)
15	127,7	7,23(1H, t, J = 7,4Hz)	127,8	7,32 (1H, t, J=8 Hz)	11	131,9	
16	128,5	7,45(1H, dd, J=9,6 e 1,6Hz)	128,5	7,62 (1H, dd, J=8 e 1Hz)	12	17,9	1,82 (3H, s)
17	23,3	3,15 (1H, dd, J=15 e 7,2Hz); 3,25 (1H, dd, J=15 e 7,2Hz)	23,6	3,16 (1H, dd, J=16 e 6,8Hz); 3,30 (1H, dd, J=16 e 6,8Hz)	13	25,8	1,70 (3H, s)
18	121,3	5,03 (1H, m)	120,8	4,94 (1H, tt, J = 6 e 1 Hz)	14	22,5	3,42 (2H, d, J = 6,6 Hz)
19	134,4		134,7	-	15	122,6	5,30 (1H, m)
20	17,9	1,66 - 1,69 (3H, s)	25,8	1,66 - 1,68 (3H,s)	16	131,8	
21	26,0	1,66 - 1,69 (3H, s)	18,0	1,66 - 1,68 (3H, s)	17	17,8	1,90 (3H, s)
22	29,7	2,45 (1H, dd, J = 14,0 e 6,9Hz) 2,60 (1H, dd, J = 14,0 e 6,9Hz)	30,2	2,50 (1H, dd, J= 21,0 e 7,8Hz); 2,60 (1H, dd, J= 21,0, 7.8 Hz)	18	25,7	1,60 (3H, s)
23	119,5	5,03 (1H, m)	119,4	5,03 (1H, tt, J = 6 e 1Hz)	OMe	61,8	4,00 (3H, s)
24	133,0		132,9	-	OMe	56,3	3,84 (3H, s)
25	25,6	1,66 - 1,69 (3H, s)	25,6	1,66 - 1,68 (3H, s)	OH		12,97 (1H, sl)
26	18,1	1,66 - 1,69 (3H, s)	18,1	1,66 - 1,68 (3H, s)			
27	23,4	1,35 (3H, s)	27,2 eq.	1,48 (3H, s)			
28	15,7	1,13 (3H, s)	23,9axial	1,38(3H,s)			
29	26,7	2,20(1H, m); 1,70 (1H, m)	30,0	2,28 (1H,m); 1,90 (1H, overlap)			
30	122,6	5,03 (1H, m)	124,9	4,87 (1H, tt, J = 6 e 1Hz)			
31	133,5	-	132,2				
32	25,8	1,66 - 1,69 (3H, s)	26,0	1,66 - 1,68(3H, s)			
33	17,9	1,66 - 1,69 (3H, s)	17,8	1,55 (3H, s)			
OMe	62,4	4,00 (3H, s)	61,4	3,50 (3H, s)			

1.3.2 - ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DE RESINAS POR CLAE E CG/EM:

Com o isolamento das substâncias descritas anteriormente, procuramos desenvolver um método analítico com o qual fosse possível identificar e quantificar estes compostos em todas as resinas das espécies da secção *Chlamydoclusia*. Buscávamos um método bastante sensível o qual permitisse, também, analisar os ninhos contruídos pelas abelhas a partir das resinas florais, a fim de verificar se os compostos isolados eram parte da composição química desses ninhos.

A primeira técnica a ser testada para este propósito foi CG/ EM, mas esta ferramenta analítica não se mostrou adequada para identificação das benzofenonas poliisopreniladas nas resinas. Os cromatogramas obtidos não apresentavam boa resolução e os picos correspondentes às benzofenonas eram disformes, sugerindo que as benzofenonas sofriam decomposição térmica. Entretanto, alguns sinais com tempo de retenção entre 5 - 25 min. (prog. nº 7) apresentavam-se bem definidos e não coincidiam com o tempo de retenção esperado para as benzofenonas poliisopreniladas.

Buscamos identificar estes compostos através da análise da fragmentação, comparação com espectros da biblioteca Wiley e, em alguns casos, índice de retenção²⁵. Com base nesta análise, pudemos concluir que parte das resinas estudadas eram constituídas, além de benzofenonas poliisopreniladas, por ácidos graxos de cadeia longa e hidrocarbonetos, os quais estão listados na tabela 3.

Por outro lado, é importante ressaltar que todas as resinas foram previamente metiladas e que, portanto, analisamos os ésteres metílicos derivados. Difícil afirmar, também, se algumas substâncias estariam originalmente na forma de éster metílico.

As figuras de 23 a 27 são referentes aos cromatogramas das resinas analisadas. As letras sobre cada um dos sinais identificam os compostos encontrados em cada uma destas resinas (tabela 3).

Tabela 3: ácidos e hidrocarbonetos presentes em espécies do gênero *Clusia* e detectados por CG/EM.

espécies de <i>Clusia</i>	composição química
<i>C. rosea</i>	ácido esteárico (c); 2,3 - dimetil - heptadieno (h)
<i>C. nemorosa</i> hermafrodita	ácido palmítico (a); ácido linoleico (d); ácido benzoico (e); citrato de trimetila (f); 2,3 - dimetil - heptadieno (h)
<i>C. nemorosa</i> masculina	ácido esteárico (c); ácido linoleico (d); citrato de trimetila (f) 2,3 - dimetil heptadieno (h)
<i>C. grandiflora</i> masculina	ácido palmítico (a); ácido esteárico (c); ácido araquidínico (b); 2,7 - dimetil - 1,6 - octadieno (g)
<i>C. grandiflora</i> feminina	ácido palmítico (a); ácido esteárico (c); ácido araquidínico (b); ácido benzóico (e)

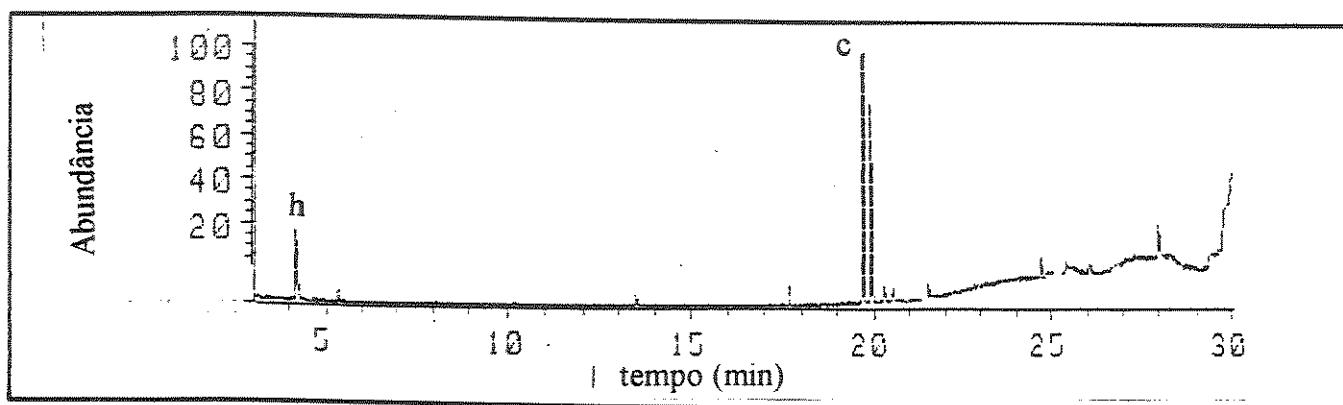


Figura 23: cromatograma da resina metilada da *C. rosea* (CG)

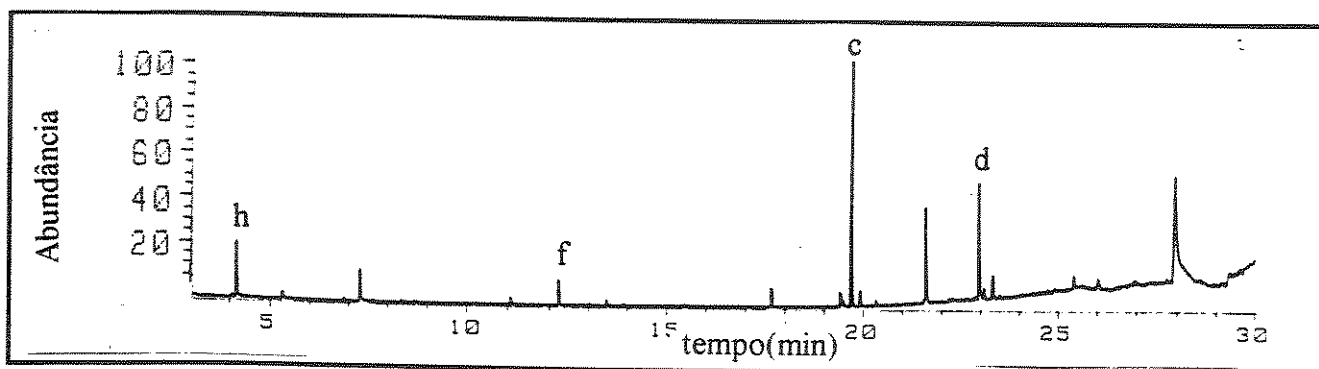


Figura 24: cromatograma da resina metilada da *C. nemorosa* masculina (CG).

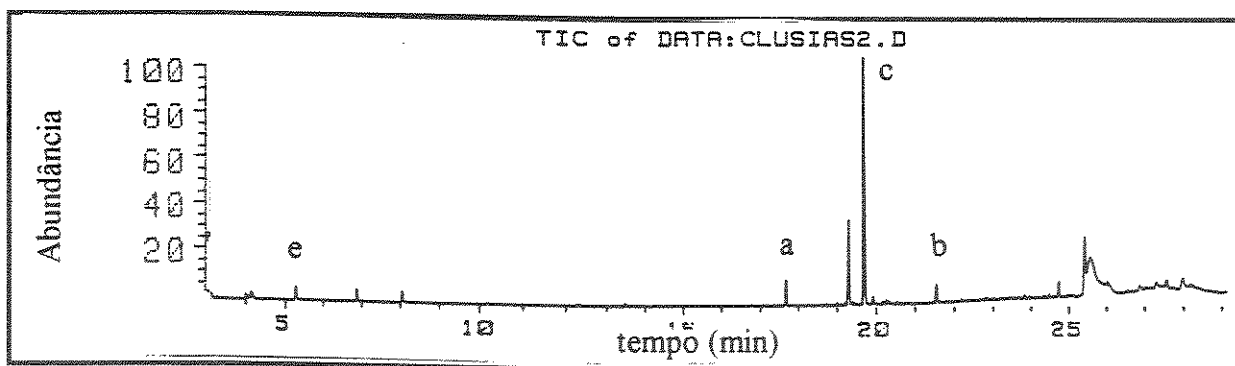


Figura 25: cromatograma da resina metilada da *C. grandiflora* feminina (CG)

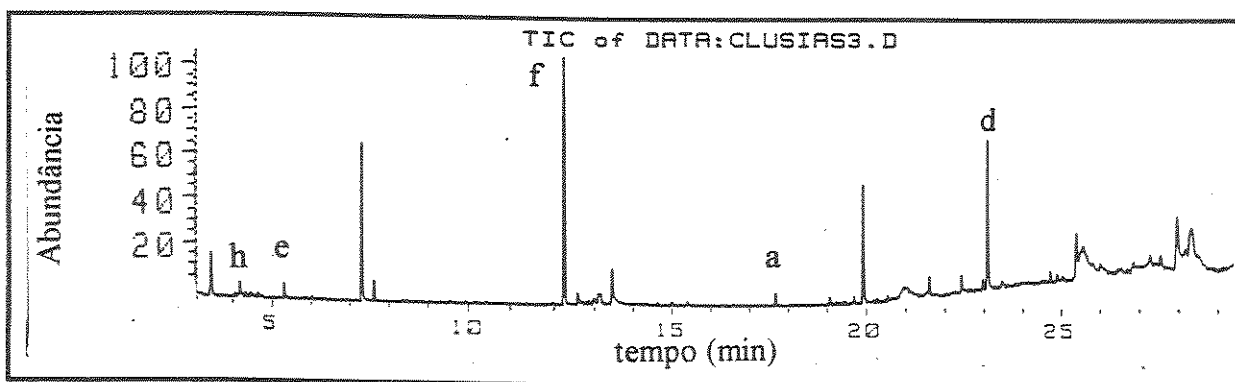


Figura 26: cromatograma da resina metilada da *C. nemorosa* hermafrodita (CG).

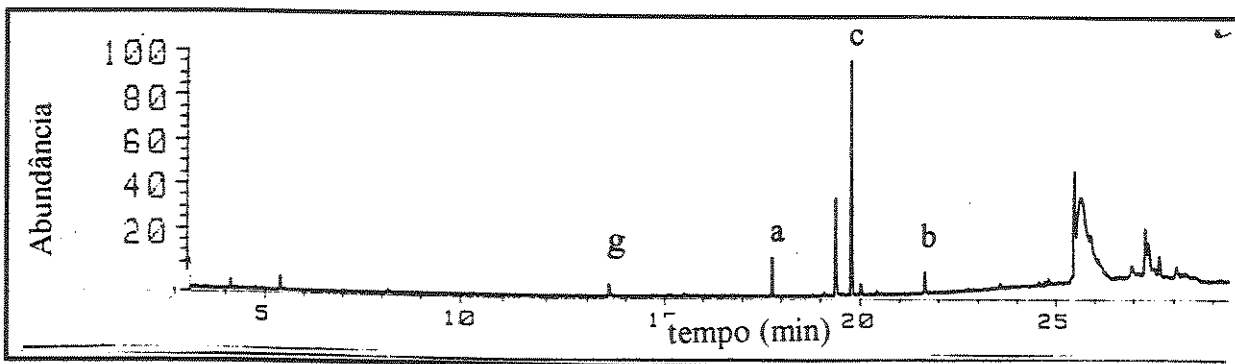


Figura 27: cromatograma da resina metilada da *C. grandiflora* masculina (CG).

Na impossibilidade de analisar e quantificar as benzofenonas nas resinas através de CG/EM, optamos pela análise via CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência). Ajustes nas condições de análise com respeito aos eluentes e concentração das amostras resultaram na escolha dos seguintes parâmetros:

Coluna de fase reversa: NOVAPAK C - 18

Fluxo: 1mL / min.

Pressão: 140 bar

Temperatura: 40°C

Fase móvel : CH₃CN : H₂O (60% : 40%) → (CH₃CN (100 %)(5 min).

Depois da escolha das condições de análise, fizemos a identificação de cada substância a ser quantificada, por comparação dos espectros no UV, tempo de retenção e, em alguns casos, por coinjeção das substâncias isoladas com amostras das resinas previamente metiladas.

A quantificação destes compostos foi feita pelo método de calibração externa. Este método baseia-se na construção de uma curva de calibração que relaciona concentrações conhecidas da substância que se deseja quantificar com as respectivas áreas, obtidas no cromatograma. Com o coeficiente linear que resulta da curva construída, pode-se calcular a percentagem de uma determinada substância relacionando -se área e massa total da amostra. Um exemplo de como foram feitas as quantificações é dado a seguir.

1.3.2.1 - Curva de calibração para o Composto 17 :

Para construir a curva de calibração (figura 28) foram relacionadas diferentes concentrações de uma amostra do composto 17, com as respectivas áreas obtidas a partir do cromatograma (tabela 4), injetando-se volumes iguais de solução.

Tabela 4 : concentrações de soluções padrões do composto 17 e as respectivas áreas.

concentrações (mg.mL ⁻¹)	área
5mg/5mL	8667
2,8mg/5mL	4644
1,4mg/5mL	1972
0,9mg/5mL	1506
0,5mg/5mL	368

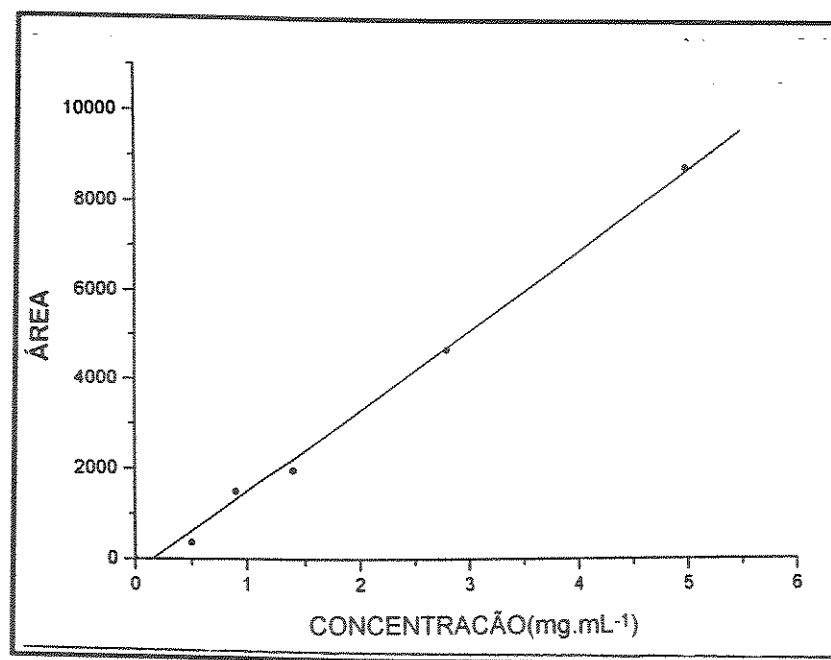


Figura 28: curva de calibração (área x mg) obtida para o composto 17.

A equação da curva obtida a partir da curva de calibração foi a seguinte:

$$Y = - 267,6753 + 1770,0992 \cdot x$$

onde, Y = área da substância a ser quantificada na amostra

x = concentração da substância na amostra.

Com a equação da curva, podemos calcular a percentagem de cada substância na resina a partir dos dados da tabela 5.

Tabela 5 : áreas referentes ao composto 17 nas amostras de resinas das espécies de *Clusia*.

resinas de <i>Clusia</i>	área	concentração da resina (mg.mL ⁻¹)
<i>C. grandiflora</i> masc.	1713	7,4 mg/5mL
<i>C. grandiflora</i> fem.	3763	10,0 mg/1mL
<i>C. nemorosa</i> herm.	3763	8,2 mg/5mL
<i>C. rosea</i>	7404	13 mg/5mL
<i>C. nemorosa</i> masc.	2472	14 mg/5mL

Aplicando a equação da reta, por exemplo, para calcular a percentagem do composto 17 na *C. grandiflora* masc. :

$$1713 = -267,6753 + 1770,0992.x$$

$$x = 1,24 \quad 7,4 \text{ mg} \rightarrow 100\%$$

1,24 $\rightarrow$ x x = 15,12% (percentagem do composto 17 na resina de *C. grandiflora* masculina)

Através deste método foi possível identificar e quantificar, em todas as resinas da secção estudada, cinco substâncias das seis isoladas e descritas anteriormente, já que apresentavam tempo de eluição distintos. No entanto, o composto 23, presente na resina da espécie de *C. rosea*, não pode ser quantificado porque apresentava tempo de eluição idêntico ao do composto 17.

A rápida identificação (figuras 29 a 33) e quantificação (tabela 6) das benzofenonas nas resinas por CLAE, significou uma economia de tempo de trabalho, mão-de-obra e reagentes. Cada substância quantificada (estruturas estão mostradas abaixo) nas espécies de *Clusias*, estão relacionadas e identificadas com o número, tanto na tabela como nos cromatogramas.

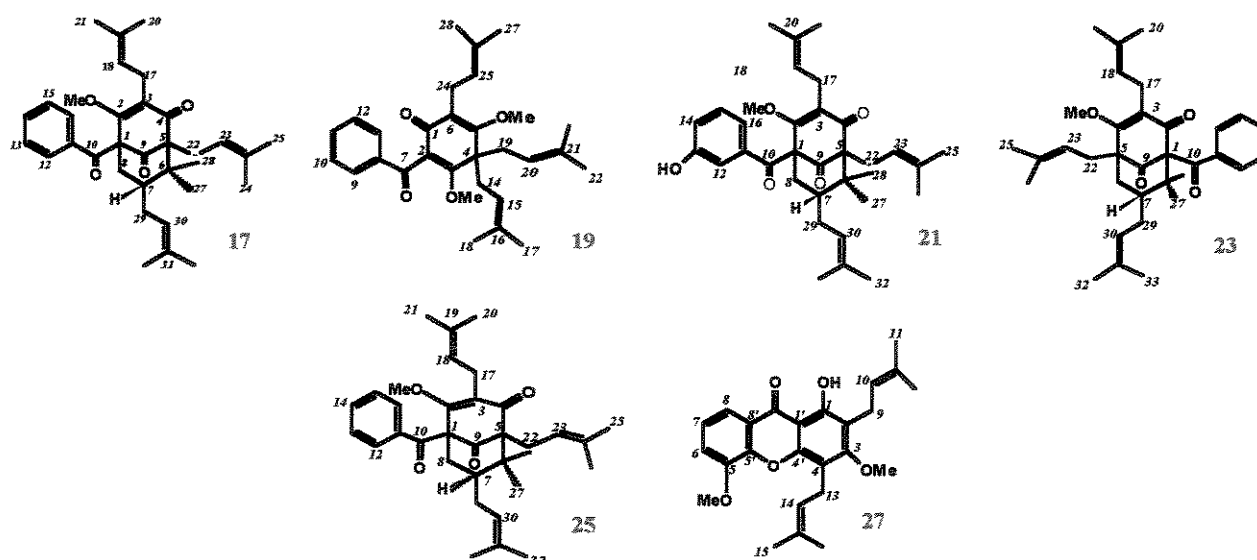


Tabela 6: resultados obtidos na quantificação de todas as substâncias isoladas, nas resinas de *Clusia* por CLAE.

Resinas florais de <i>Clusia</i>	composto 17	composto 21	composto 19	composto 23	composto 25	composto 27
<i>C. nemorosa</i> masc. (4mg / 5mL)	11,8%	-	-		47,6%	-
<i>C. nemorosa</i> herm. (8,2mg / 5mL)	28,5%	12%	-		-	6,4%
<i>C. grandiflora</i> masc.(7,4 mg / 5mL)	15,1%	-	6%		-	-
<i>C. rosea</i> (13mg / 5mL)	33%*	-	-	33%*	-	-
<i>C. grandiflora</i> fem. (10mg / 1mL)	70%	-	1%		-	-

* percentagem inclui o composto 17 e o composto 23.

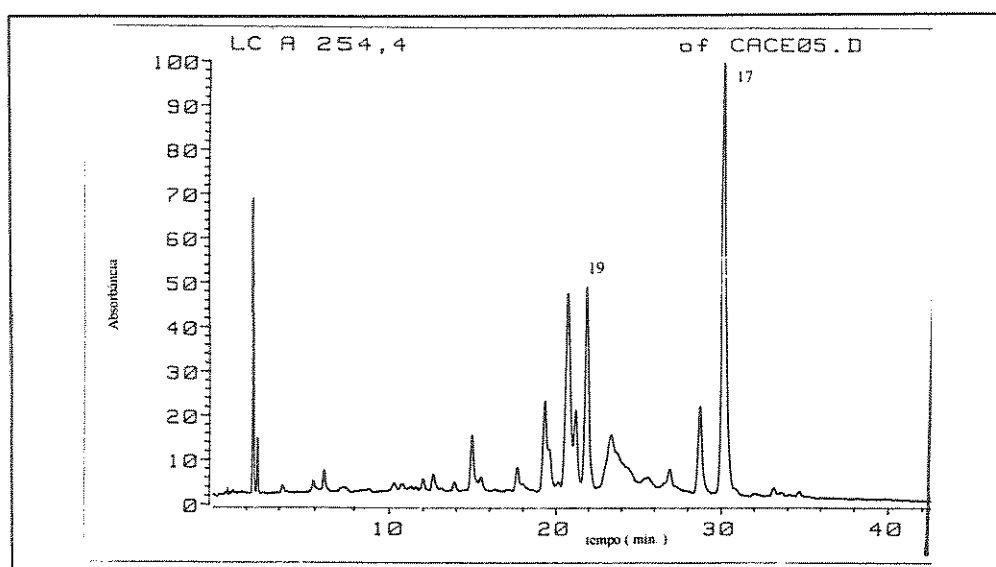


Figura 29: cromatograma da resina metilada da *C. grandiflora* masculina (CLAE).

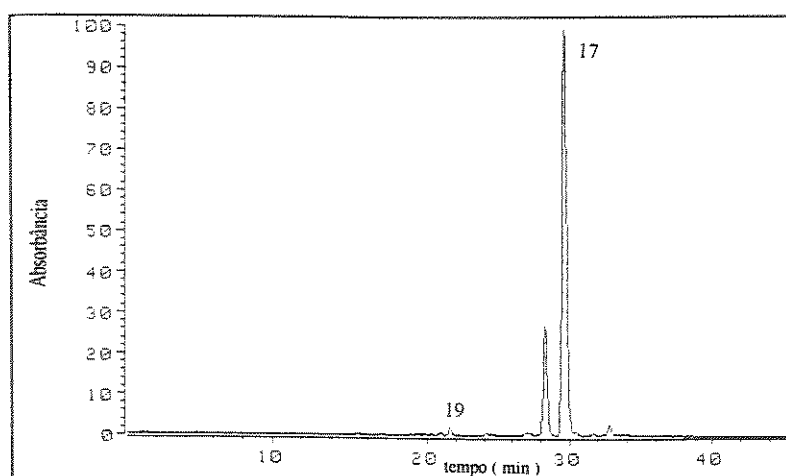


Figura 30: cromatograma da resina metilada da *C. grandiflora* feminina (CLAE).

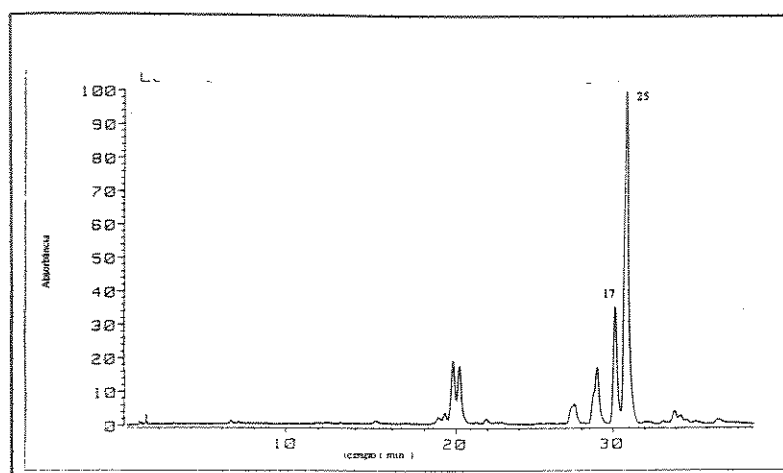


Figura 31: cromatograma da resina metilada da *C. nemorosa* masculina (CLAE).

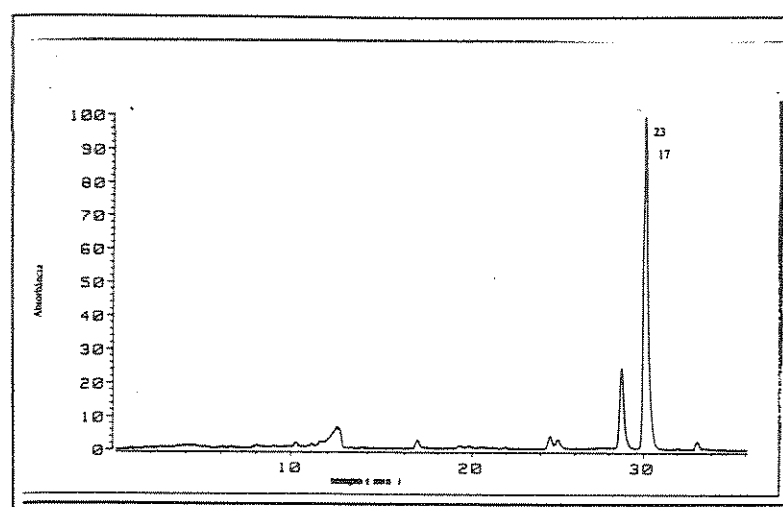


Figura 32: cromatograma da resina metilada da *C. rosea* (CLAE).

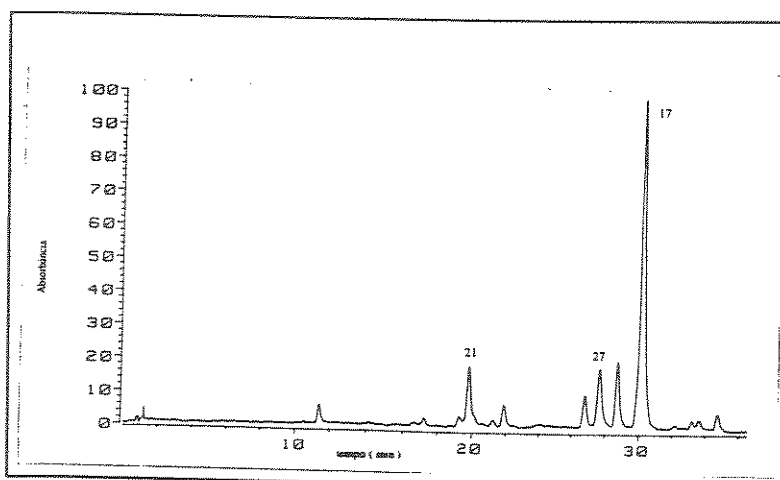


Figura 33: cromatograma da resina metilada da *C. nemorosa* hermafrodita (CLAE).

1.3.3 - ANÁLISE DOS ÓLEOS ESTAMINAIS

Além de investigar a composição química das resinas, era nosso objetivo também, investigar a composição química dos óleos estaminais produzidos por algumas espécies da secção *Chlamydoclusia*.

Para este propósito, os óleos produzidos nos estames das flores foram coletados de duas maneiras:

a) com o auxílio de um capilar e uma lente de aumento, as gotículas de óleo que se encontram sobre os estames foram coletadas e colocadas em um vidro com solvente (CCl_4 ou hexano, etc.);

b) com o auxílio de pequenos pedaços de papel de filtro, as gotículas de óleo foram absorvidas e o papel encharcado foi colocado dentro de um vidro com solvente.

Os óleos das espécies masculinas de *C. grandiflora*, *C. insignis* e espécies masculina e hermafrodita de *C. nemorosa* foram analisadas por CG/EM, e as substâncias foram identificadas por comparação com dados da biblioteca Wiley e índice de retenção, apresentando a seguinte composição:

C. nemorosa herm. - somente ácido oleico (figura 35);

C. nemorosa masc - ácido oleico, ácido esteárico, ácido palmítico (figura 34).

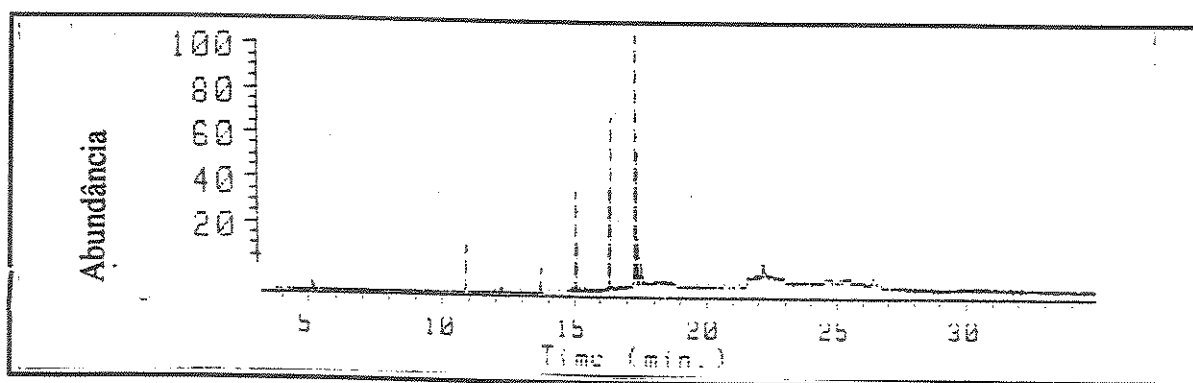


Figura 34: cromatograma do óleo estaminal de *C. nemorosa* masculina (CG).

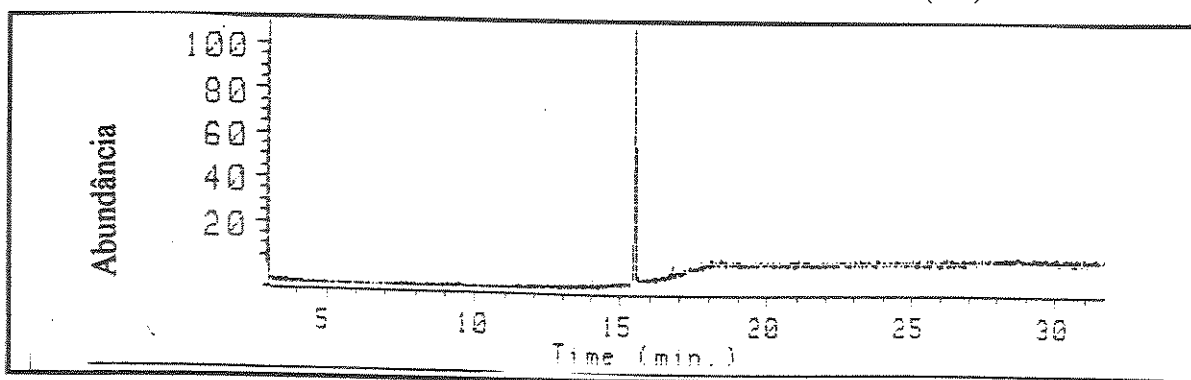


Figura 35: cromatograma do óleo estaminal *C. nemorosa* hermafrodita (CG).

O óleo estaminal das espécies de *C. grandiflora* masculina e *C. insignis* masculina, têm, aparentemente, a mesma composição (espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C são idênticos). Algumas reações foram feitas com o óleo estaminal (aparentemente o óleo destas duas espécies é constituído de somente uma substância) na tentativa identificar a sua estrutura. A análise dos dados espectroscópicos (E-189 a E-190) sugeriram a presença dos seguintes grupos funcionais:

- a) um grupo CH_2O que pode explicar o triplete em δ 3,65 no espectro de RMN ^1H , cuja presença é reiterada pelo sinal em δ 66,0 no espectro de RMN ^{13}C .
- b) um grupo $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$ que pode explicar o triplete em δ 2,40 no espectro de RMN ^1H . Sinais referentes a carbonos quaternários no espectro de RMN ^{13}C , entre δ 176 - 178 podem sugerir que a carbonila presente no sistema é de um grupamento éster.
- c) um grupamento olefinico, caracterizado pelo multiplete em δ 5,40 no espectro de RMN ^1H e pelo sinal em δ 130,0 presente no espectro de RMN ^{13}C .

Com base nestas observações, optamos pela redução da suposta carbonila, na tentativa de identificar a substância presente no óleo.

O resultado da redução com LiAlH_4 em condições clássicas²⁶ (figura 36), resultou no diálcool 28, cuja caracterização foi feita com base nos dados de RMN ^1H (E - 194) e RMN ^{13}C (E - 195 e E - 196).

O espectro de RMN ^1H mostrou uma absorção larga centrada em δ 1,15 que pode explicar a presença de uma cadeia longa de hidrocarbonetos na estrutura do álcool. Além disso, os sinais para hidrogênios olefinicos em δ 5,40 e para os hidrogênios do grupo CH_2OH δ 3,60, integrando para 2 e 4 hidrogênios, respectivamente, e o íon molecular de m/z 284 exibido pelo espectro de massas, confirmam a estrutura do diálcool simétrico 28.

A estrutura pode ser reiterada pelos sinais presentes no espectro de RMN ^{13}C em δ 130,0 e δ 63,6 que foram atribuídos ao carbonos olefinicos e ao carbono do grupo CH_2OH , respectivamente. A cadeia longa de hidrocarbonetos é justificada por absorções entre δ 36,0 - 26,0 e que aparecem com sinal invertido no espectro DEPT 90° e 135°.

Porém, a identificação do diálcool 28 obtido na redução, não foi suficiente para identificar a estrutura da substância presente no óleo. No entanto, parece-nos claro que a substância em questão sofreu uma clivagem redutiva resultando no diálcool 28 e mais uma outra substância que não pode ser isolada (talvez por ser uma substância volátil).

A partir destas informações, podemos inferir que o óleo é um éster que possui um grupamento olefinico e uma cadeia de hidrocarbonetos. A não identificação da estrutura, até o momento, é devido a dificuldade em estabelecer a posição correta destes grupamentos e como eles estariam ligados entre si.

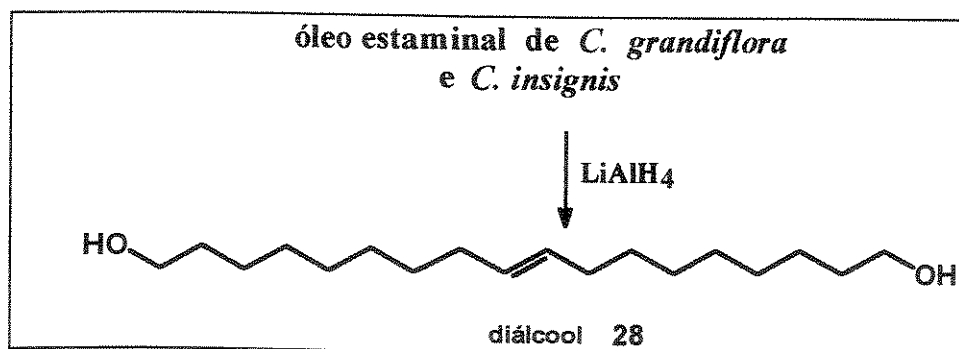


Figura 36: reação de redução com LiAlH_4 do óleo estaminal presente nas espécies de *C. grandiflora* e *C. insignis*.

1.3.4 - ENSAIOS BIOAUTOGRÁFICOS COM RESINAS FLORAIS DE *CLUSIA*

Como foi mencionado na introdução deste capítulo, algumas abelhas solitárias e sociais empregam as resinas das espécies de *Clusias* como principal matéria-prima na construção e proteção dos seus ninhos. Com base neste fato, várias hipóteses têm sido levantadas para explicar a atração das abelhas pelas resinas. Uma das hipóteses argumenta que o papel das resinas seria o de proteger o ninho contra a umidade e, além disso, proteger também contra a infestação de microorganismo. Este argumento pode ser fundamentado por duas importantes observações de campo:

- a) os ninhos são construídos em lugares úmidos e sujeitos ao ataque de microorganismos;
- b) as abelhas, mesmo depois de construírem seus ninhos, continuam a coleta sistemática de resina. É importante esclarecer que as resinas decompõem-se com o tempo e isto talvez justifique a frequência com que os insetos as coletam.

Diante destes fatos, optamos por justificar experimentalmente os argumentos expostos acima, investigando se as resinas possuem, de fato, alguma atividade biológica. Para realizar os testes de atividade biológica escolhemos, entre os vários métodos descritos na literatura, o da bioautografia.

A bioautografia²⁷ é uma técnica baseada na resposta biológica (crescimento ou inibição) de uma determinada substância em análise, quando a mesma é exposta a ação de microorganismos. A técnica é um método de detecção da atividade biológica em Cromatografia de Papel (CP) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD), através da visualização de halos que se formam sobre a superfícies, exatamente sobre as substâncias que inibem ou promovem o crescimento do microorganismo ao qual foi exposto.

As culturas de microorganismos empregados para estes testes, bem como os meios de cultura, foram adquiridos na Fundação Tropical André Tosello em Campinas. Os microorganismos escolhidos foram: *Escherichia coli*. (CCT 5050), *Bacillus subtilis* (CCT 0089), *Stafilococcus aureus* (CCT 4295) e o fungo *Candida albicans* (CCT 0776).

Os testes de atividade biológica revelaram que as resinas são ativas contra microorganismos somente quando estão na forma nativa e perdem atividade ao serem

metiladas. Foi comprovada a atividade contra *Bacillus Subtilis* e *Stafilococcus aureus* de algumas benzofenonas poliisopreniladas presentes nas resinas da secção estudada (página 52a e 52b).

Com relação a otimização do método de bioautografia, devo esclarecer que os mesmos foram realizados pelos alunos André M.Porto e Marize Nogueira (IQ - Unicamp). Maiores detalhes sobre a manipulação e execução deste trabalho estão descritos nas teses de mestrado e doutorado destes alunos.

1.4 - CONCLUSÃO:

Como conclusão deste capítulo podemos afirmar que a classe de compostos predominante, presente nas espécies do gênero *Clusia*, são as benzofenonas poliisopreniladas. Além das benzofenonas, as resinas são também constituídas de vários ácidos graxos de cadeia longa e alguns hidrocarbonetos.

Os resultados experimentais da nossa investigação química contribuíram para um melhor entendimento do papel das resinas na vida das abelhas. Baseados nestes resultados, pudemos concluir que a resina é um material que se polimeriza, endurece e decompõe ao longo do tempo. Esta propriedade polimérica e a comprovada atividade biológica das mesmas, podem ser as causas principais do uso destas resinas pelas abelhas.

A atividade biológica e a fácil decomposição pode também explicar a averse e a frequência com que as abelhas coletam as resinas. O objetivo da coleta sistemática seria o de sempre repor as substâncias ativas.

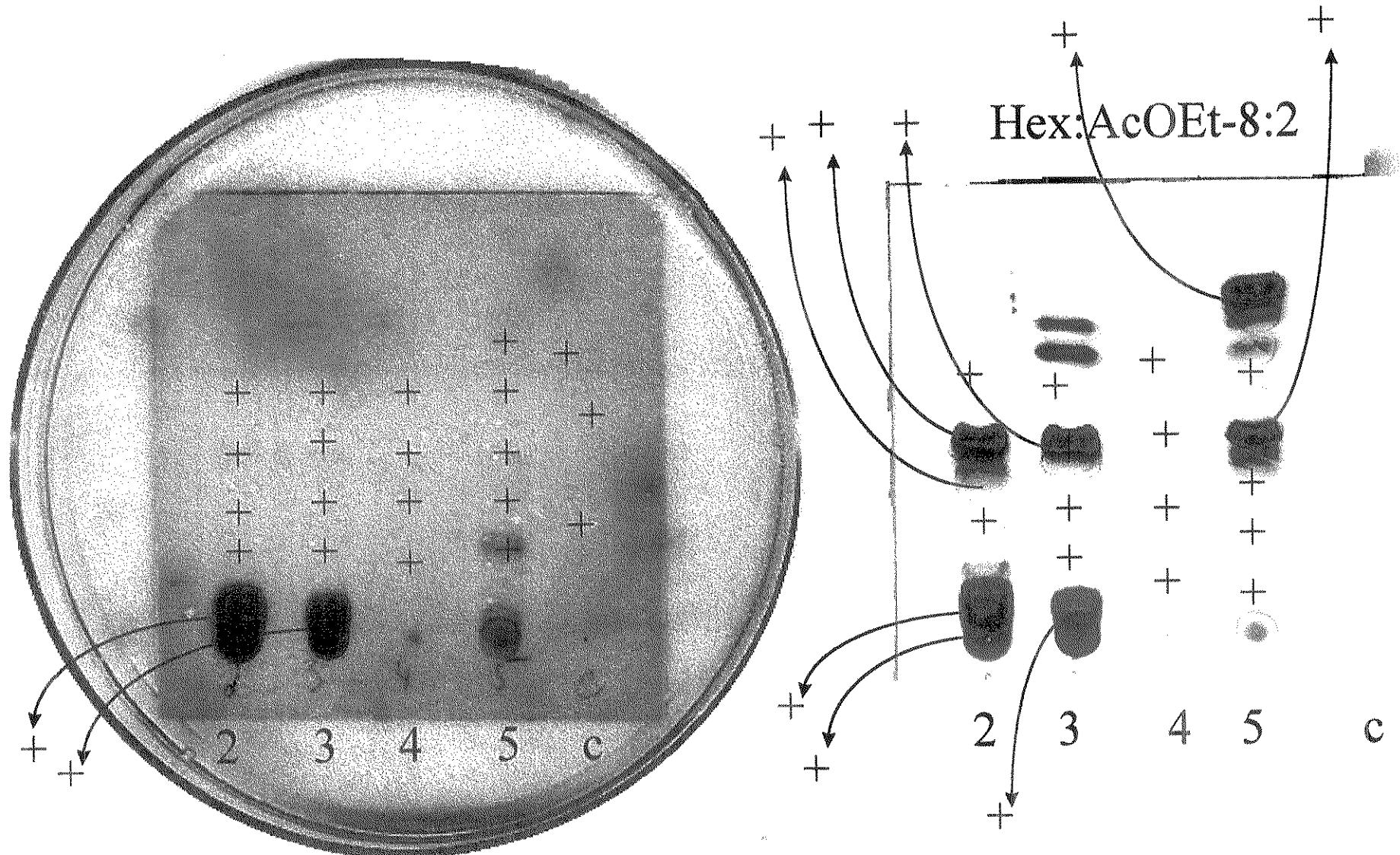
O cruzamento dos dados obtidos para as diferentes espécies da secção mostrou, principalmente, a presença do **composto 17** em todas as resinas como componente majoritário. Exceto para *C. nemorosa* masculina, que apresentou como principal componente o **composto 25**.

O **composto 23**, só foi isolado das espécies de *C. rosea* e, infelizmente, não pode ser quantificado por CLAE separadamente, pois apesar de várias modificações introduzidas no sistema de eluentes, não foi possível separá-lo do **composto 17**.

Bacillus subtilis-resinas de *Clusias*

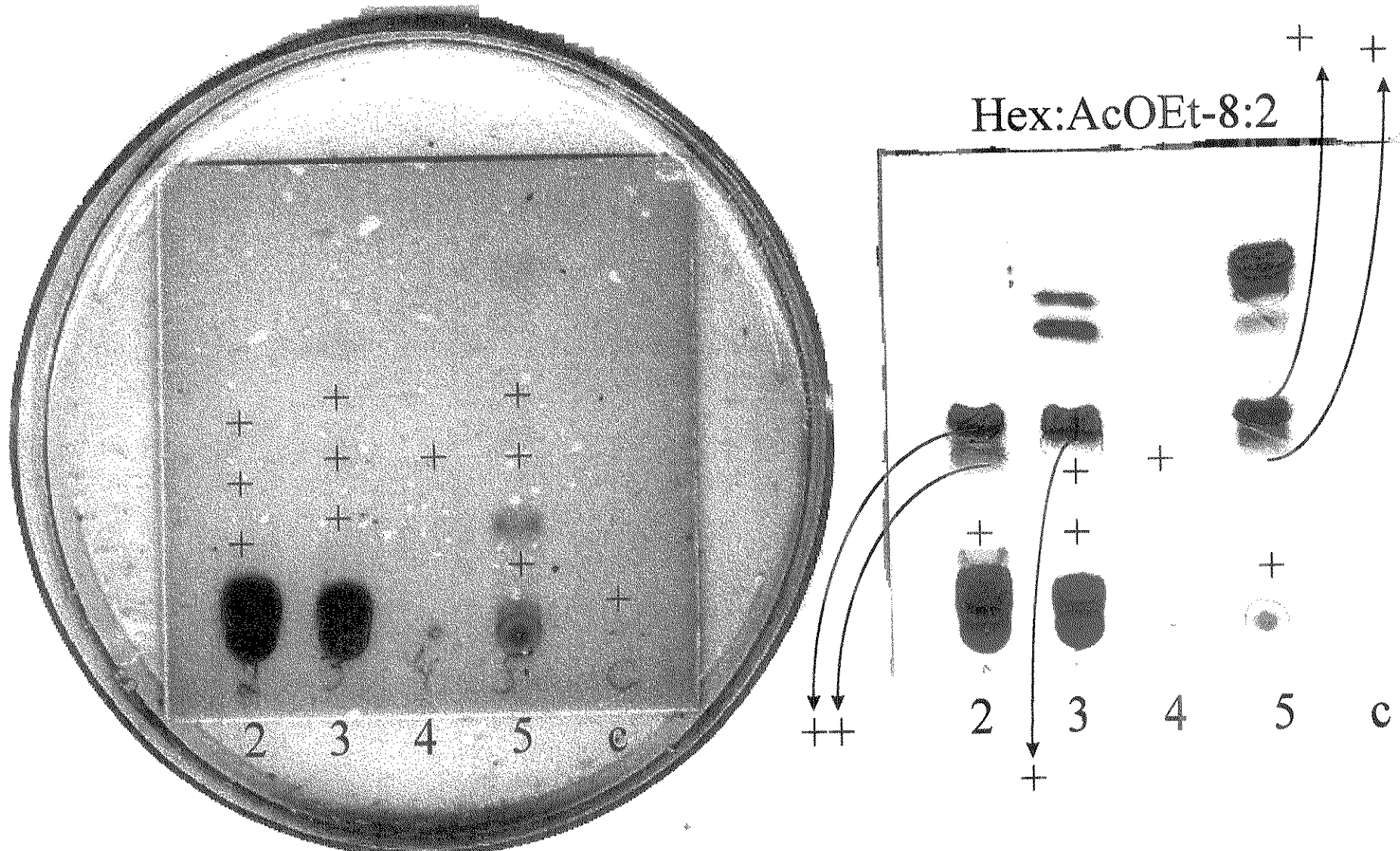
c=cloranfenicol; 2=*C. grandiflora* masculina; 3=*C. grandiflora* femenina;

4=*C. insignis*, 5= *C. nemorosa* hermafrodita.



Stafilococcus aureus-resinas de *Clusias*

c=cloranfenicol; 2-*C. grandiflora* masculina; 3-*C. grandiflora* femenina; 4-*C. insignis*, 5-*C. nemorosa* hermafrodita.



A comparação do perfil das resinas florais desta secção com as resinas florais das espécies da secção *Cordylandra* permitiu concluir que somente dois componentes, **composto 23** e **composto 25**, aparecem nas duas secções do género *Clusia*. As espécies da secção *Chlamydoclusia* mostraram, no entanto, componentes muito polares que, infelizmente, não puderam ser identificados nas resinas devido a rápida decomposição dos mesmos. A **xantonina 27**, única encontrada nas espécies do género, só foi detectada na resina da *C. nemorosa* hermafrodita.

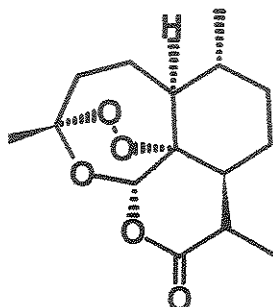
Porém, diferentemente da **clusianona 9** isolada das espécies da secção *Cordylandra* e também detectada no ninho das abelhas, nenhuma das benzofenonas poliisopreniladas encontradas nas espécies da secção *Chlamydoclusia* foram identificadas nos ninhos. Pode-se supor, entretanto, que as benzofenonas isoladas das espécies desta secção seriam mais instáveis e mais suscetíveis a decomposição do que **clusianona 9**.

PARTE II

**DETECÇÃO, SÍNTESE E DETERMINAÇÃO DA CONFIGURAÇÃO
ABSOLUTA DA (+) - CIS - NORTAILORIONA**

2.1 - INTRODUÇÃO:

Artemisia annua L. é uma *Asteracea* originária da Ásia, conhecida pela produção de compostos anti - malária como a artemisinina 29 ²⁸.



artemisinina 29

A grande importância farmacológica desta espécie e os altos índices de mortalidade por malária ainda registrados nos países subdesenvolvidos, incentivaram pesquisadores a tentarem aclimatar esta planta no Brasil, a fim de obter uma melhor resposta no que diz respeito a produção do princípio ativo e a potencialidade econômica da mesma. Além de monitorar a produção da artemisinina, o propósito da pesquisa foi também determinar a composição química e a razão dos microconstituintes voláteis e não voláteis presentes na espécie aclimatada no Brasil.

Os constituintes voláteis da *Artemisia annua* L. estão presentes num óleo essencial de sabor amargo, aroma doce e refrescante e odor típico de gramínea com toques de cânfora que é utilizado como fragrância em produtos de perfumaria e cosméticos apresentando também, atividade antimicrobiana e antitumoral²⁹. Este óleo essencial tem sido estudado nas suas diferentes fases vegetativas e a análise química do óleo de plantas originadas da China e do Vietnã mostrou, principalmente, a presença de monoterpenos e sesquiterpenos como componentes majoritários.

O monitoramento da composição química do óleo, durante o processo de aclimação da planta no Brasil, mostrou a presença de vários constituintes já conhecidos, tais como canfeno (30), ledeno (31), 2-careno (32), borneol (33),

cubebeno (34), gurjuneno (35), entre outros³⁰ (figura 37). O óleo apresentou, também, como componentes minoritários várias substâncias com perfil cromatográfico de sesquiterpenos oxigenados, que, no entanto, não puderam ser identificados por comparação com os dados da literatura, biblioteca Wiley, nem por coinjeção com padrões já existentes.

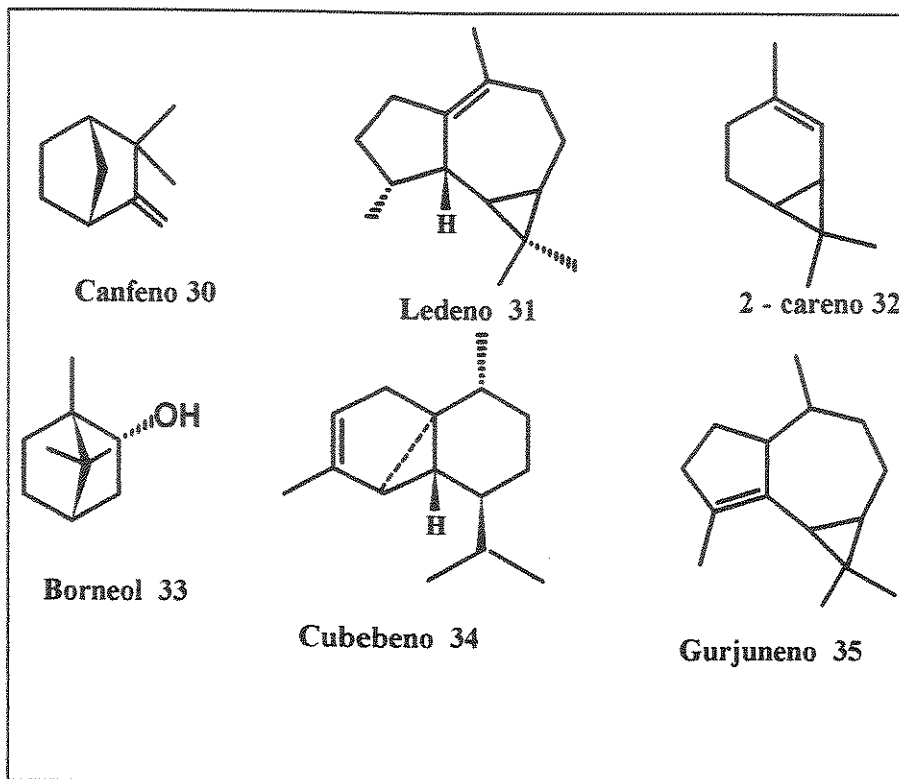
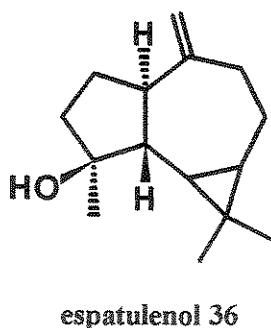


Figura 37: substâncias presentes no óleo essencial da *Artemisia annua*

Um destes componentes, em particular, mostrando um íon molecular de m/z 220 e um pico base de m/z 43, chamou atenção. O íon molecular foi compatível com o espatulenol (36)³¹, mas apresentava o espectro de massa e índice de retenção completamente distintos.



O pico base de m/z (43)³² foi tomado como um indício da presença de um grupamento metil cetona na estrutura. Várias estruturas foram sugeridas com base na fragmentação do espectro de massa e no índice de retenção relativo, mas nenhuma delas foi coerente com a fragmentação do composto encontrado no óleo essencial da *Artemisia annua*.

Buscando uma estrutura mais compatível com a fragmentação do espectro de massa da substância desconhecida, chegamos a estrutura 38, com base no fato de que o sistema enzimático da *Artemisia annua* é muito agressivo, e este composto poderia ter sido formado a partir da clivagem oxidativa de um derivado do ledeno (37). O sistema enzimático oxidativo da espécie pode ser exemplificado pela artemisinina 29 e o composto 39 (figura 38) que se formam a partir do ácido artemisinínico.

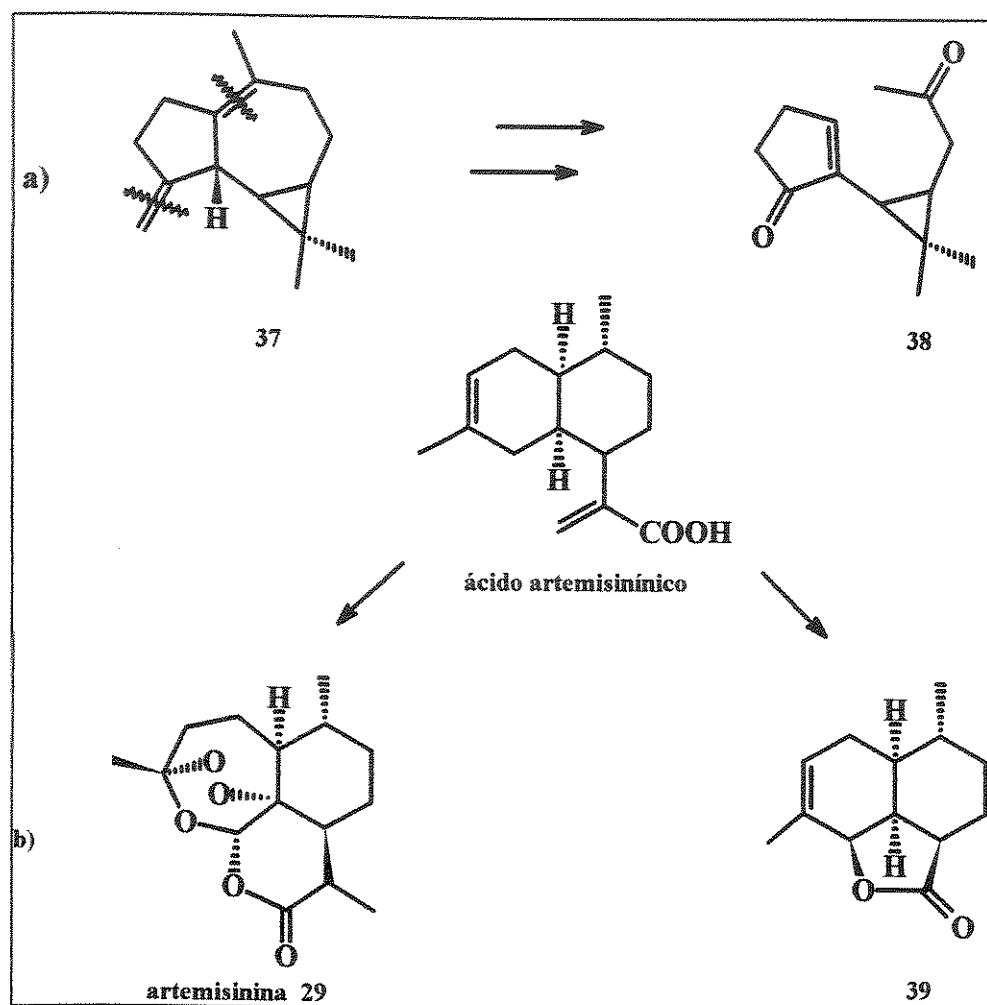


Figura 38: a) possível clivagem de um derivado do ledeno 37 levando ao composto 38.
b) exemplo do sistema enzimático oxidativo da *Artemisia annua*.

2.2 - OBJETIVOS

A possibilidade de isolamento de 38 a partir do óleo essencial da *Artemisia annua* com o intuito de confirmar a estrutura sugerida, foi descartada, pois uma grande quantidade de óleo (1L) seria necessário para obtenção de uma quantidade mínima do composto. A abundância do mesmo no óleo é extremamente baixa (aproximadamente 0,01%). Devido a esta limitação, foi visualizada a síntese do produto natural, a qual seria muito mais viável que o isolamento do mesmo a partir do óleo essencial.

Tendo em vista que a maior ferramenta para identificação do composto era a técnica de CG/EM, elaboramos uma estratégia de síntese que permitisse a identificação estrutural inequívoca da substância natural com no máximo duas rotas sintéticas. Assim, optamos pela síntese e caracterização da mistura racêmica ($\pm$) *cis/trans* 38 onde, a partir de uma razão diastereoisomérica pré-determinada e coinjeção da mistura racêmica com o óleo essencial, poderíamos saber qual a configuração relativa da substância desconhecida, ou seja, se o produto natural era o isômero *cis* ou *trans*.

Com a definição da configuração relativa do composto 38 e a separação da mistura racêmica *cis/trans* em coluna quiral, consideramos que a configuração absoluta do produto natural emergiria automaticamente da síntese homoquiral de um dos isômeros *cis* ou *trans* (previamente determinado) e pela coinjeção do mesmo com o óleo essencial.

2.3 - DISCUSSÃO

A mistura ($\pm$) *cis* / *trans* de 38 (figura 39) foi sintetizada pela Dra.Vera L. Ferracini,³³ a partir do alcino racêmico 40 que era um intermediário comum a outras tentativas de síntese de esqueletos sesquiterpênicos desenvolvidas em nosso laboratório. A mistura ($\pm$) *cis* / *trans* (3 : 1) da nortailoriona 38 foi obtida a partir de uma mistura ($\pm$) *cis* / *trans* de alcino 40 (2 : 1) via uma reação de Pauson-Khand e foi caracterizada por espectrometria de massas de alta resolução e por espectroscopia de RMN ^1H e RMN ^{13}C .

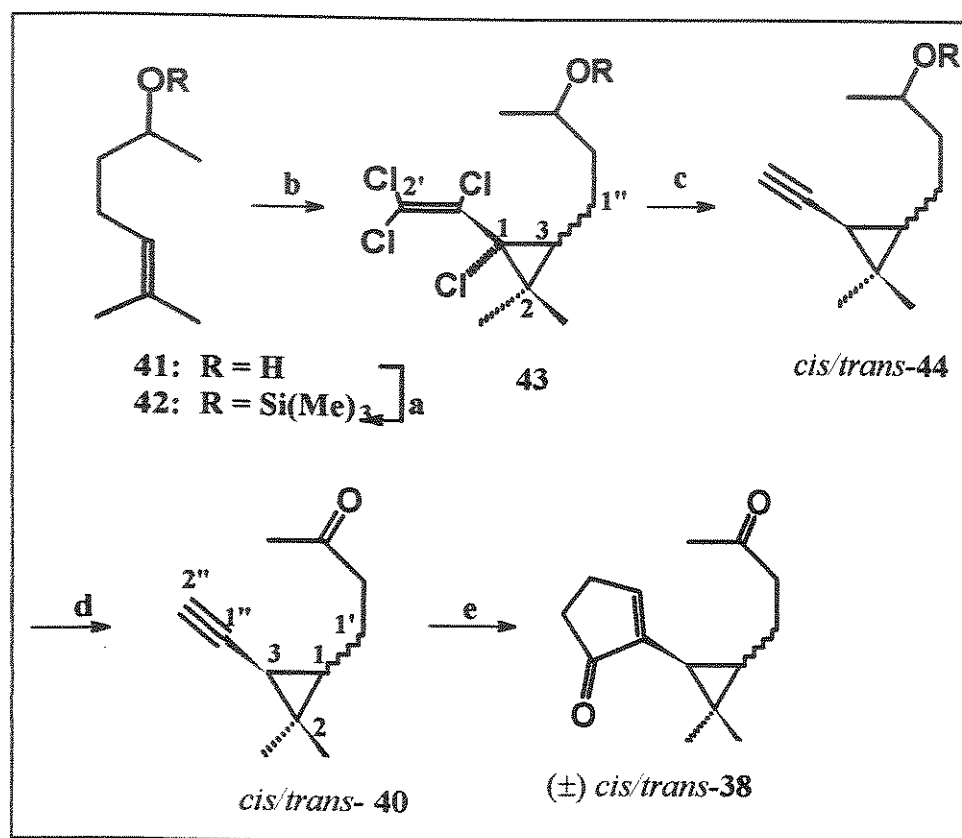


Figura 39: rota sintética para a obtenção da ($\pm$)-*cis/trans*-nortailoriona 38 a) HMDS/TMSCl (77%); b)TCCP, 170 °C, 16h (55%); c) BuLi, éter anidro, -78 °C; d) CrO₃, H₂SO₄, acetona t.a, 1h (88 % duas etapas); e) Co₂(CO)₈, PhMe, t.a., 5h; então CO, eteno, PhMe, 90°C, 48 h (43 %).

Por cromatografia gasosa, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 da J&W Scientific, a mistura sintética ($\pm$)-*cis/trans*-nortailoriona 38 (esta coluna associada a uma programação de temperatura adequada, possibilitou uma perfeita separação dos isômeros *cis* e *trans*), juntamente com o óleo essencial da *Artemisia*

annua foram injetadas pela Dra. Mary Ann Foglio³⁰ e uma perfeita coeluição do produto natural presente no óleo com o sinal referente ao isômero *cis* foi observada. O perfil do composto sintético e da substância natural no espectro de massas eram idênticos, confirmando a estrutura proposta para o terpeno inédito 38.

Com a determinação da configuração relativa - a conclusão foi de que a substância natural era um dos isômeros *cis* - a próxima etapa seria a determinação da configuração absoluta. Para este propósito, inicialmente a mistura ($\pm$)-*cis/trans* 38 foi resolvida em coluna quiral heptakis-(2,6 - metil - 3 - pentil)-(- ciclodextrina) e os 4 picos referentes aos 4 isômeros (os isômeros *cis* apresentaram uma melhor separação que os isômeros *trans*) foram observados (figura 40). Os índices de retenção foram obtidos a partir da coinjeção da mistura *cis* / *trans* com uma série normal de alcanos e calculados pela equação de van den Dool e Kratz²⁵: 1909 (*trans*); 1910(*trans*); 1927(*cis*); 1932 (*cis*).

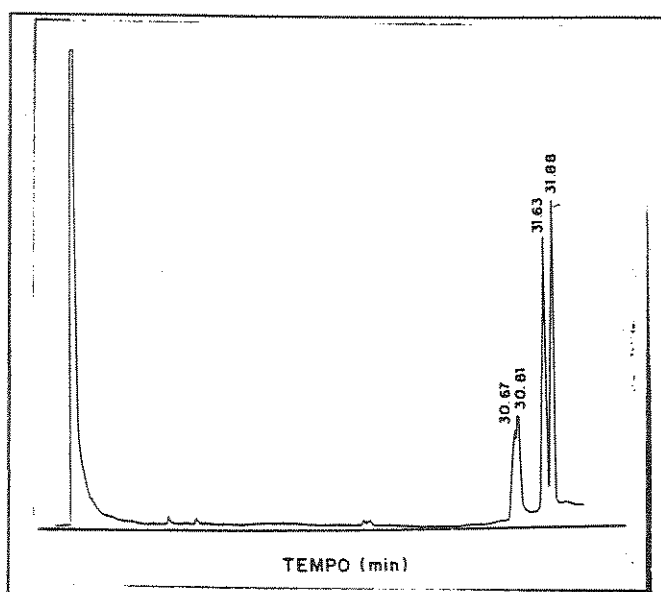


Figura 40 : separação em coluna quiral 4 isômeros *cis/trans* da nortailoriona.

Com a certeza de que os 2 isômeros *cis* podiam ser separados em coluna quiral, a síntese de um dos isômeros *cis* da nortailoriona foi idealizada, considerando-se três pontos essenciais :

- a) uma rota sintética cujo caminho levasse ao intermediário chave, o alcino quiral 38. O alcino ($\pm$)-*cis/trans* 40 já havia sido utilizado na síntese racêmica e

e mostrou-se um excelente substrato para a formação da ciclopentenona através da metodologia de Pauson - Khand;

b) uma rota sintética a partir de um substrato possuindo os centros assimétricos referentes ao ciclopropano, já definidos;

c) e ainda, considerando-se principalmente os aspectos estereoquímicos, propusemos uma rota sintética onde supunhamos, nenhuma transformação ocorreria nos centros quirais referentes ao ciclopropano.

Todos estes aspectos foram considerados na escolha da rota sintética para obtenção da *cis*-nortailoriona quiral 38. Devido a dificuldades encontradas no desenvolvimento da rota A, outra rota alternativa foi visualizada (rota B) e somente depois da obtenção do alcino 40a pela rota B, a rota A foi otimizada.

A seguir serão descritas as duas rotas sintéticas que levaram a obtenção da *cis*-nortailoriona 38, tendo como intermediário comum às duas rotas desenvolvidas o alcino 40a (alcino protegido)

2.3.1 - Desenvolvimento da rota sintética A para a obtenção da (+) - *cis* - nortailoriona 38

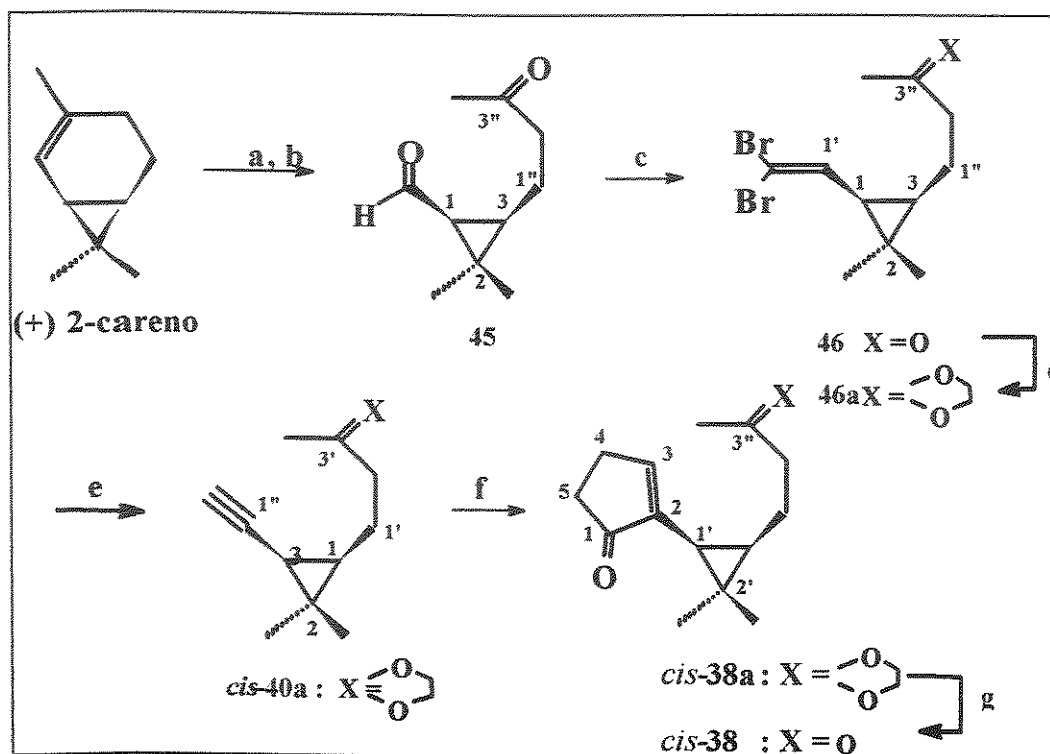


Figura 41: rota sintética A para a obtenção da (+)-*cis* - nortailoriona 38a) O₃, CH₂Cl₂, -78° b) PPh₃; c) CBr₄/ PPh₃, CH₂Cl₂, 0°C (42% nas duas etapas); d) (CH₂OH)₂, p - TsOH, benzeno (100%); e) BuLi, THF, -78° (85%); f) Co₂(CO)₈, tolueno, em seguida CO, etileno, 70° (30%); g) H₂O, acetona e PPTS, t.a (98%).

Nesta rota sintética, visualizamos a síntese do intermediário chave, o alcino 40a, a partir do aldeído 45 através da metodologia de Corey-Fuchs³⁴. O aldeído 45 foi obtido através de uma reação de ozonólise que foi otimizada com base em método descrito na literatura³⁵.

Ozônio foi borbulhado em uma solução de (+)-2-careno em diclorometano durante 2 hs a - 78 °C e a reação foi interrompida antes que a cor azul, típica do excesso de ozônio no meio reacional fosse observada. Em seguida, N₂ foi borbulhado através da solução e Ph₃ P foi adicionada ao meio reacional. Devido a grande instabilidade do aldeído obtido, o mesmo não pode ser isolado e foi utilizado diretamente na etapa seguinte da reação.

O aldeído 45 foi adicionado à solução do complexo CBr₄/PPh₃, em diclorometano a 0° C, e após 10 min. de reação, o solvente foi evaporado. A

purificação do produto bruto por cromatografia em coluna forneceu a bromoolefina 46 { $[\alpha]_{20}^D = -39,4$ (CHCl_3 , c . 4,0) } em 42% de rendimento.

A identificação deste composto foi feita com base nos dados espectroscópicos (figura 42). O espectro de RMN ^1H (E - 113), exibiu dois hidrogênios em δ 6,10 (dublete) e δ 1,40 (triplete) com acoplamento $J = 8,6$ Hz, e com integração proporcional a um hidrogênio cada. Estes sinais puderam ser atribuídos ao hidrogênio olefinico H - 1' e a um dos hidrogênios do ciclopropano H - 1.

O espectro de RMN ^{13}C (E - 115) mostrou a presença de um sinal em δ 88,1 correspondente a um carbono quaternário. Por comparação com sistemas similares descritos na literatura³⁶, este sinal pode ser atribuído ao carbono sp^2 ligado aos dois átomos de bromo (C - 2').

O sinal em δ 208,9 foi atribuído ao grupo carbonila, cuja presença na estrutura foi também confirmada pela banda de absorção em 1715 cm^{-1} no espectro de IV (E - 117) e pelo pico base de m/z 43 presente no espectro de massas (E - 118).

A presença das duas metilas geminais sobre o carbono C - 2 foram confirmadas também pelos sinais em δ 1,12 e δ 1,00 no espectro de RMN ^1H , os quais foram atribuídos por comparação com as metilas geminais também presentes no substrato de partida.

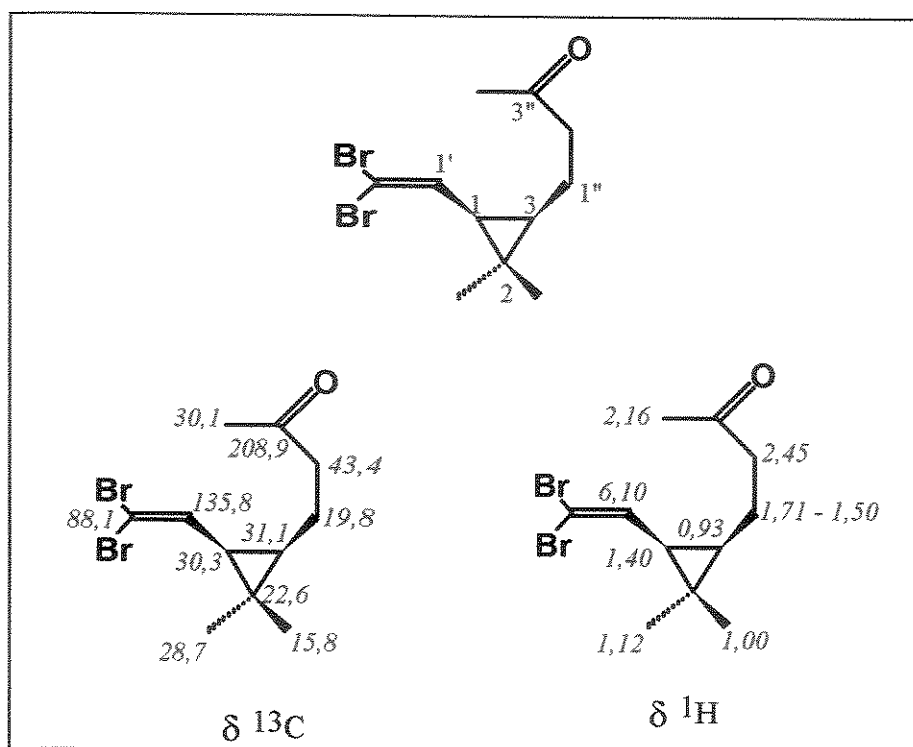


Figura 42: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para a bromoolefina (-) - 46

Na etapa posterior, a carbonila da bromoolefina precisou ser protegida e o grupo protetor escolhido deveria satisfazer as seguintes exigências :

- a) ser suficientemente estável e compatível com as etapas posteriores de formação do alcino e com a metodologia da cicloadição de Pauson Khand;
- b) ser eficientemente removível de modo a permitir a regeneração da carbonila na última etapa de reação.

A proteção com etileno glicol em benzeno, na presença de p - TSOH²⁶, surgiu como a alternativa mais viável . A mistura reacional foi aquecida a refluxo durante 5 horas num balão munido de um condensador Dean-Stark e o produto 46a (100% de rendimento), após filtração em sílica gel, foi caracterizado através da análise dos dados espectroscópicos (figura 43).

O espectro de RMN ^1H (E - 119) apresentou um singlete largo em δ 3,95 com integração referente a 4 hidrogênios, atribuídos ao grupo $(\text{CH}_2\text{O})_2$. A presença deste grupo na estrutura pode ser também confirmada pelo sinal no espectro de RMN ^{13}C (E - 121) em δ 64,5 para carbonos metilênicos.

O espectro de IV, mostrou a ausência da banda absorção referente à carbonila (1715 cm^{-1}) presente no composto anterior, confirmando a presença do grupo protetor na molécula.

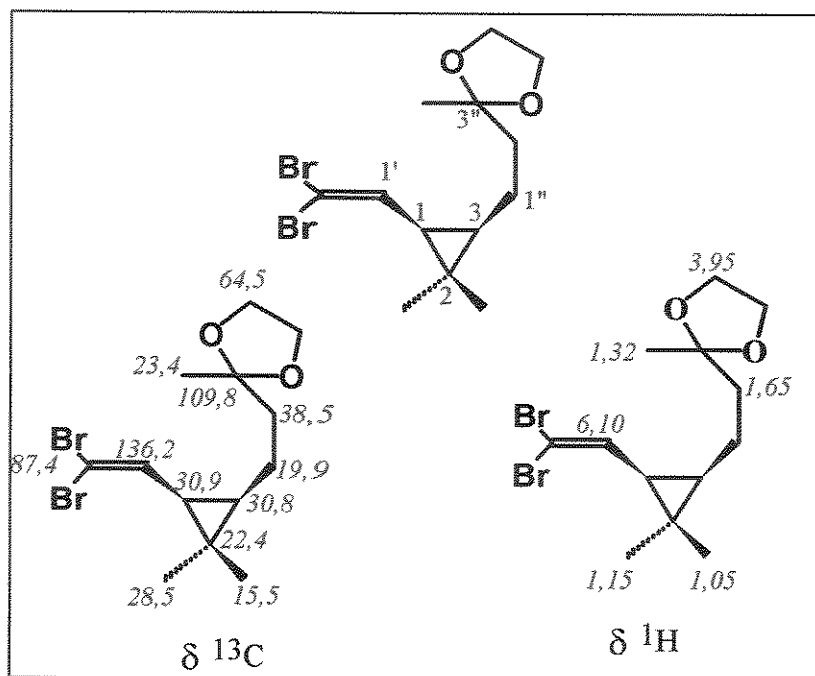


Figura 43: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para a bromoolefina protegida 46a.

A bromoolefina protegida 46a em solução de tetraidrofurano, foi tratada com uma solução de BuLi em pentano, sob atmosfera inerte de N_2 e a -78°C , obtendo-se o alcino 40a após 2h de reação. Purificação do produto bruto por cromatografia de coluna forneceu o composto 40a $\{ [\alpha]_{20}^D = +2,8 (\text{CHCl}_3, c.3,0) \}$ em 85% de rendimento, cuja caracterização estrutural foi feita com base nos dados espectroscópicos (figura 44) e por comparação com os dados de literatura.³⁷

O espectro de IV (E - 129) evidenciou a presença de uma banda correspondente à absorção de ligações triplas (2110 cm^{-1}) e o desaparecimento da banda intensa em 766 cm^{-1} , característica da ligação C - Br.

O espectro de RMN ^1H (E - 125) apresentou um dublete em $\delta 1,89$ ($J = 2,4\text{ Hz}$) e um duplo dublete em $\delta 1,16$ ($J = 2,4$ e $8,4\text{ Hz}$) com integração proporcional a um hidrogênio cada. Estes hidrogênios puderam ser atribuídos ao hidrogênio sobre a tripla ligação (H - 2'') e a um dos hidrogênios do ciclopropano (H - 3), respectivamente.

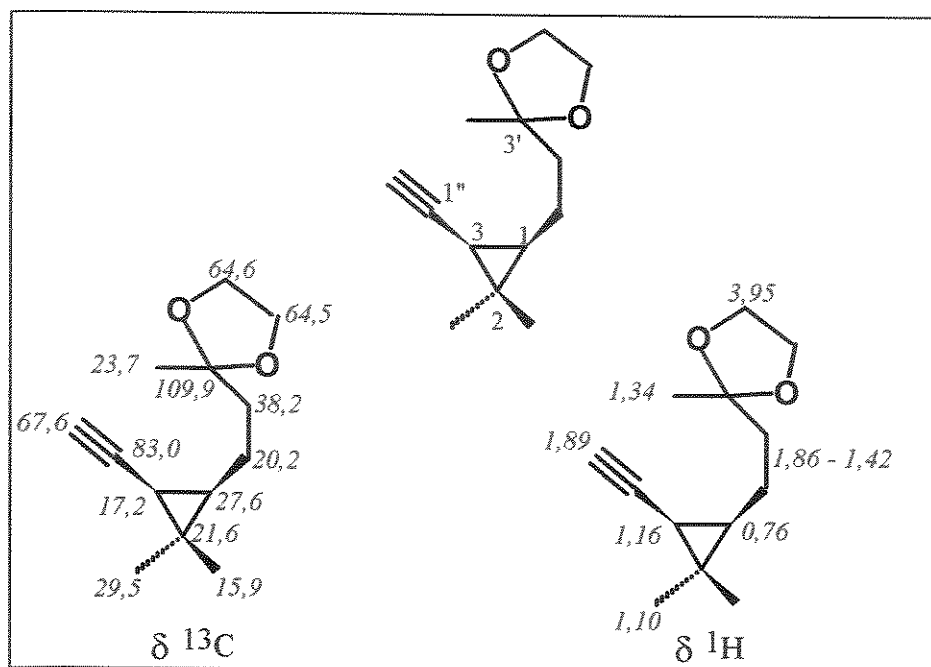


Figura 44: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o alcino protegido (+)-40a.

2.3.2 - Desenvolvimento da rota sintética B para a obtenção da (+) - *cis* - nortailoriona 38.

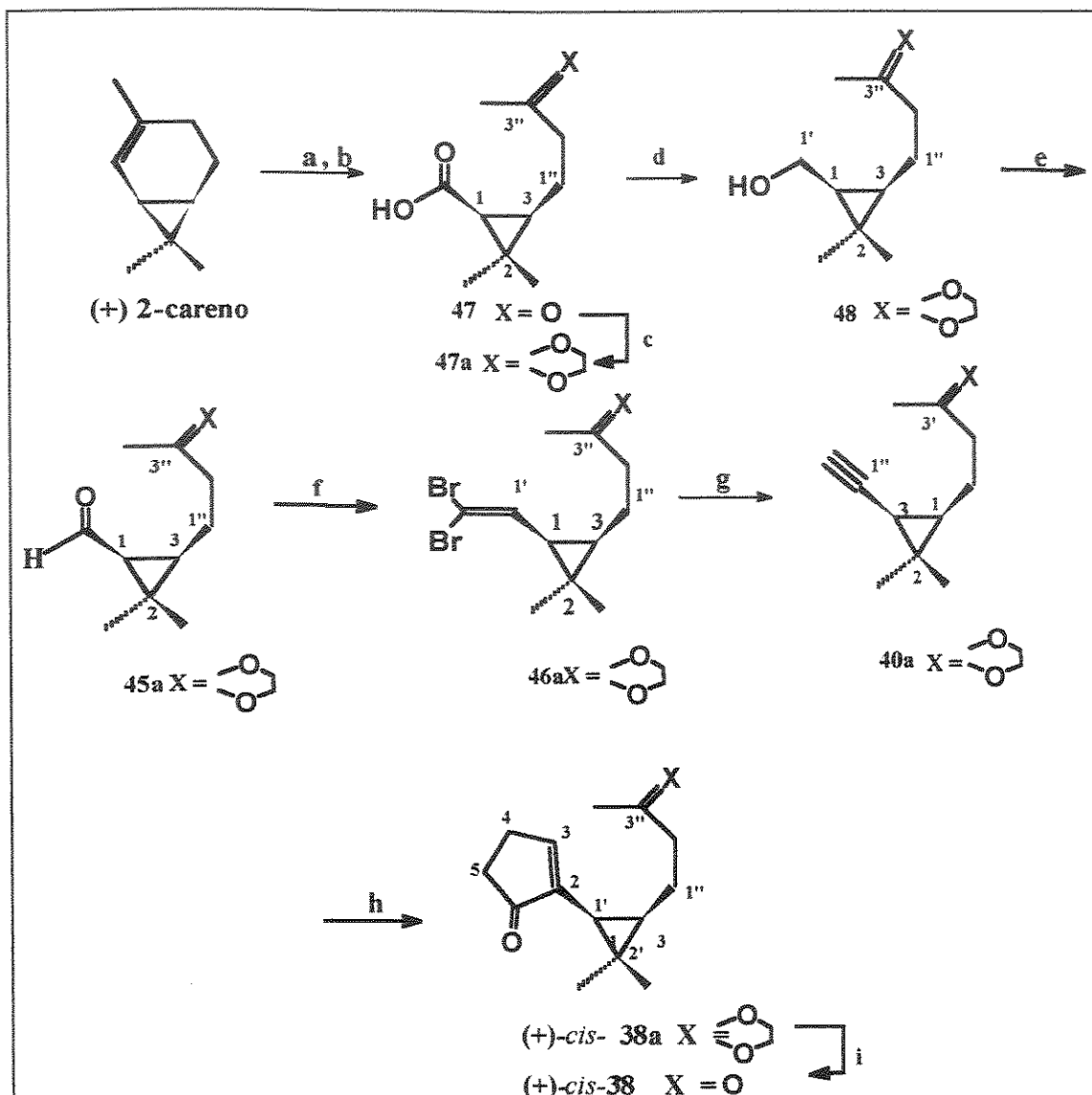


Figura 45: rota sintética B para a obtenção da (+) - *cis* - nortailoriona 38: a) O_3, CH_2Cl_2 ; -78° b) Me_2S (89%); c) $(CH_2OH)_2$, p - $TsOH$, benzeno; refluxo (100%); d) $LiHAL_4$, THF; 0° (64%) e) Periodinano (Reagente de Dess - Martin); f) CBr_4 / PPh_3 , CH_2Cl_2 , 0°C (31% nas duas etapas); g) $BuLi$, THF, -78° (80%) ; h) $Co_2(CO)_8$, tolueno, em seguida CO , etileno, 70° (30%) ; i) H_2O , acetona e PPTS (98%)

O (+)- *cis* - nortailoriona 38 foi também obtido através da rota sintética B. A rota alternativa foi desenvolvida como consequência da dificuldade na obtenção do aldeído 45, muito instável, via ozonólise do (+) - 2 - careno. Durante a otimização das condições de ozonólise, ao invés do aldeído obtinhamos sempre o ácido carboxílico 47 em altos rendimentos. Com uma grande quantidade de ácido

disponível e diante da impossibilidade de obtenção do aldeído diretamente da ozonólise, optamos por um outro caminho de síntese (figura 45) através do qual o aldeído 45a foi obtido via oxidação do álcool 48. O ácido carboxílico 47 foi obtido³⁸ borbulhando-se ozônio numa solução metanólica de (+) - 2 - careno durante 3hs, a - 78° C até a solução tornar-se ligeiramente azulada. Em seguida, N₂ foi borbulhado através da solução para eliminar o excesso de ozônio e Me₂S foi adicionado ao meio reacional. A evaporação do solvente e a filtração em sílica gel, conduziu ao ácido 47 em 90% de rendimento, cuja caracterização foi feita a partir de dados espectroscópicos e por comparação com dados da literatura (figura 46).

O espectro de RMN ¹H (E - 131) evidenciou a formação do ácido e exibiu um singlete largo em δ 8,26 referente ao hidrogênio do grupo carboxila. A presença deste mesmo grupo na molécula foi confirmada pelo sinal de carbonila no espectro de RMN ¹³C (E - 133) em δ 178,0 e pela banda larga de absorção em 3422 cm⁻¹ (E - 137) no espectro de IV.

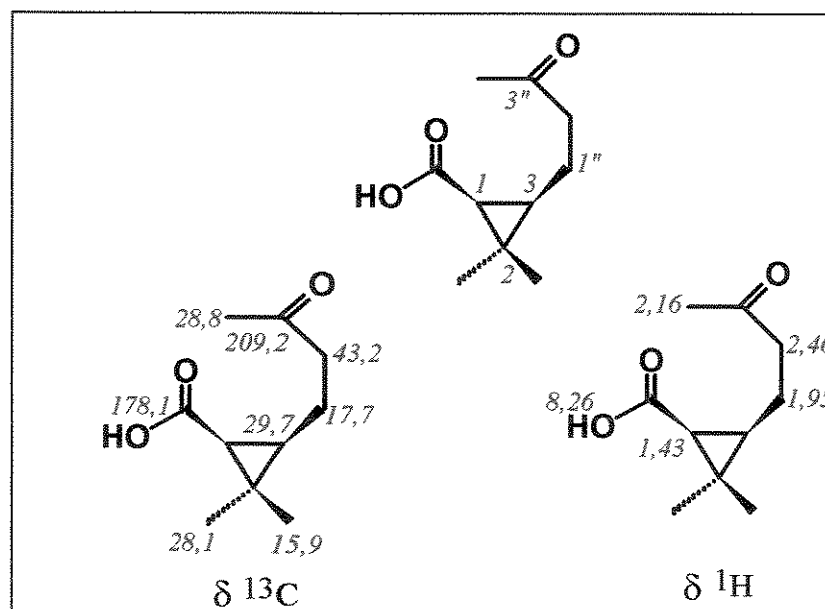


Figura 46 : deslocamentos químicos de RMN ¹H e ¹³C para o ácido 47

A proteção da carbonila sobre o C - 3'' se fez necessária, já que na etapa seguinte desejávamos reduzir somente a carbonila do ácido carboxílico. A carbonila foi então protegida com etileno glicol em benzeno, na presença de uma quantidade catalítica de p-TSOH e forneceu o ácido protegido 47a em 100% de rendimento.

O espectro de RMN ^1H mostrou a presença de hidrogênios metilênicos em δ 3,95 evidenciando a presença do grupo protetor $(\text{CH}_2\text{O})_2$ na estrutura.

O ácido protegido 47a foi submetido à uma reação de redução sob condições clássicas com LiAlH_4 ²⁶, fornecendo o álcool 48 em 64% de rendimento, após purificação com hexano : acetato de etila (70 : 30). A redução da carbonila do ácido foi confirmada por análise do espectro de RMN ^1H (E-138) onde verificamos o aparecimento de um duplo dublete em δ 3,60 ($J = 2,4$ e $7,5$ Hz) condizente com o sinal esperado para os hidrogênios metilênicos ligados ao grupo OH. Todos os demais dados espectroscópicos de RMN ^1H estão coerentes com a transformação efetuada. Os dois quartetos em δ 0,82 e δ 0,58 puderam ser atribuídos aos hidrogênios H - 1 e H - 3, respectivamente, por comparação com sistemas semelhantes encontrados na literatura³⁹.

O sinal em δ 59,8 observado no espectro de RMN ^{13}C (E - 141) e atribuído ao grupo CH_2OH , reitera a formação do álcool primário 48.

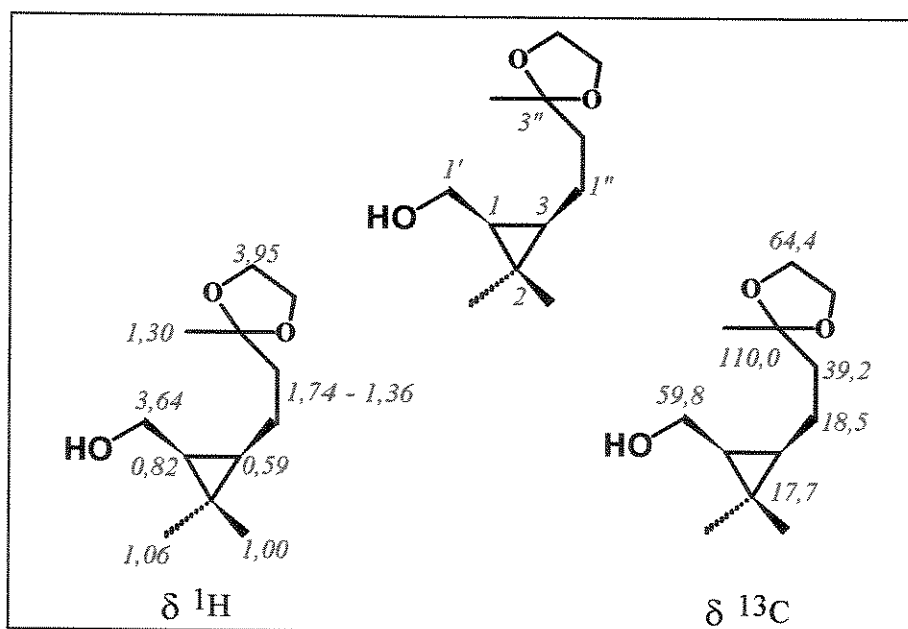


Figura 47: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o álcool 48.

Em continuação a síntese proposta, o álcool 48 foi transformado no aldeído 45a através da metodologia de Dess-Martin⁴⁰ que utiliza periodinano como agente

oxidante. A reação foi conduzida a 0° C sob atmosfera inerte de N₂, usando - se como solvente CH₂Cl₂ anidro.

O aldeído 45a, devido a instabilidade mencionada anteriormente, não foi isolado. A solução resultante da oxidação do álcool foi tratada com NaHCO₃ e em seguida adicionada ao complexo CBr₄/ PPh₃, resultando na bromoolefina 46a em 31% de rendimento, calculados com base no número de moles do álcool 48.

O alcino (+) 40a foi, então, obtido da mesma forma já descrita anteriormente.

2.3.3 - Síntese da (+) - *cis* - nortailoriona 38 via metodologia de Pauson - Khand

A reação de Pauson-Khand é uma cicloadição que envolve alcinos, alcenos e monóxido de carbono (CO) para gerar ciclopentenonas em um processo de cicloadição [2 + 2 + 1]⁴¹. Esta metodologia publicada em detalhes pela primeira vez em 1973 por Ihsan U. Khand e Peter L. Pauson, foi descoberta a partir de um estudo de preparação e caracterização de complexos de alcenos e alcinos com octacarbonila - dicobalto [Co₂(CO)₈].

Em termos gerais, a reação ocorre por aquecimento de uma mistura de alceno com um complexo de alcino-Co₂(CO)₆ em solução de hidrocarbonetos ou éter. O mecanismo da reação envolve, primeiramente, a formação do complexo Co₂(CO)₆ . R₁C≡CR₂ com consequente complexação do alceno por um dos átomos de cobalto e perda de uma molécula de CO. Na sequência, ocorre migração de uma ligação Co - CO, adição de outra molécula de CO, eliminação redutiva de Co(CO)₃. A perda do fragmento Co₂(CO)₆ completa o processo (figura 48).

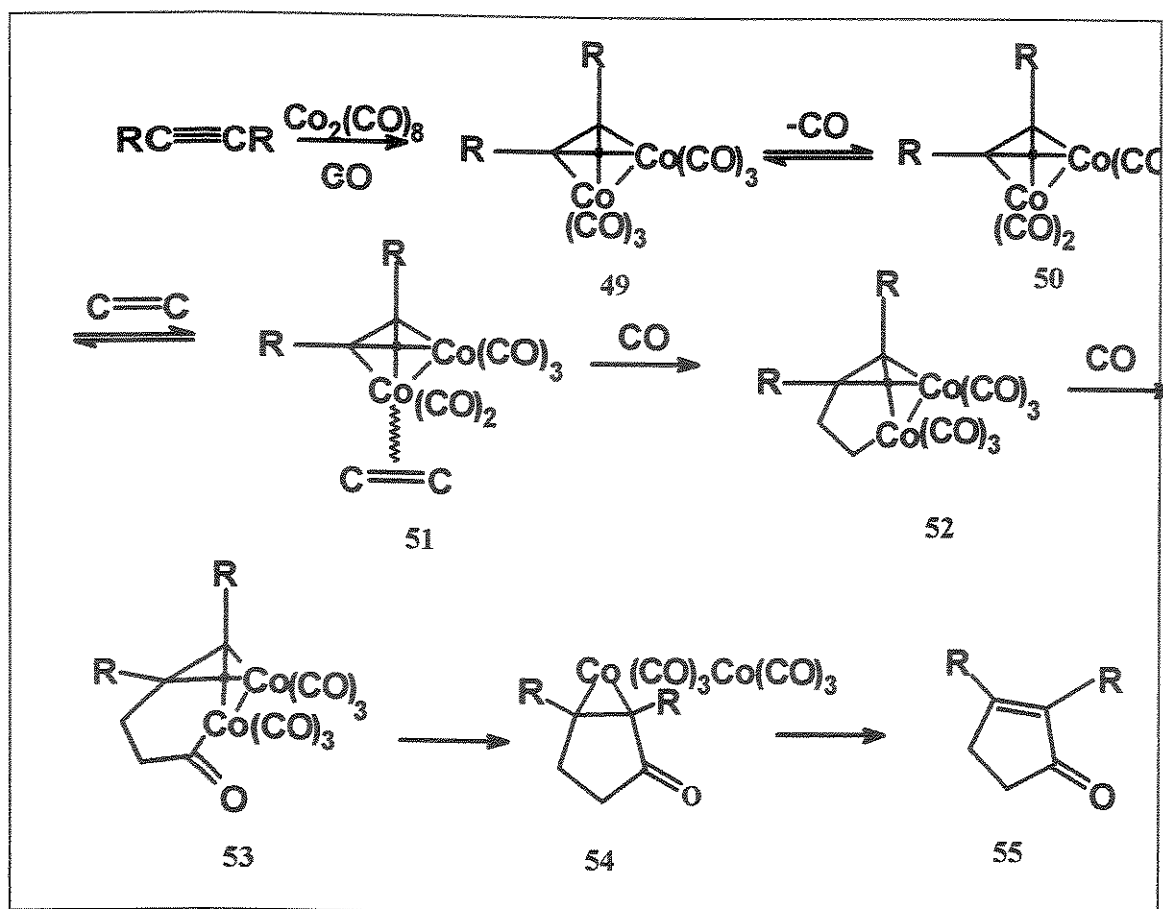


Figura 48 : mecanismo da reação de Pauson - Khand.

A reação de Pauson-Khand é um meio bastante eficiente de obtenção de ciclopentenonas onde um controle da regio e estereosseletividade é possível. A regioseletividade em relação ao alceno é determinada por fatores estéreos e dependendo do tamanho dos substituintes do alceno, a conformação preferencial do complexo alceno - alcino - $Co_2(CO)_6$ é sempre orientada de tal forma que os substituintes mais pesados do alceno alinhem-se na direção de um dos grupos carbonila e longe da ligação formada pelos carbonos do alcino (figura 49). Esta conformação fixa a regioseletividade do substituinte do alcino, colocando-o na posição 2 do anel ciclopentenona.

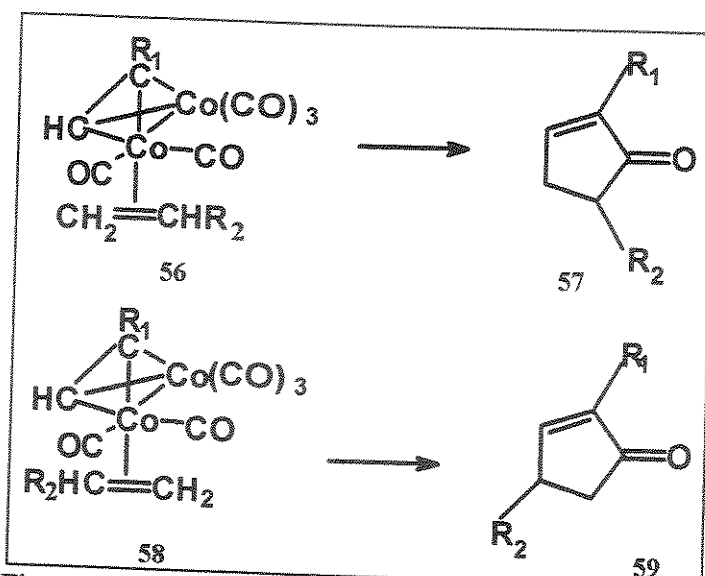


Figura 49 : regiosseletividade observada em relação ao alceno.

O complexo formado por alcinos terminais e $\text{Co}_2(\text{CO})_6$ reage lentamente com etileno à temperatura ambiente⁴², mas melhores resultados são alcançados em condições mais drásticas tais como, temperatura entre $80^\circ - 160^\circ\text{C}$, pressão entre 50 - 120 atm em autoclave. Os alcinos terminais fornecem predominantemente cetonas 2-substituídas (figura 50) e os fatores que determinam a regiosseletividade da reação em relação ao alcino não são claramente determinados.

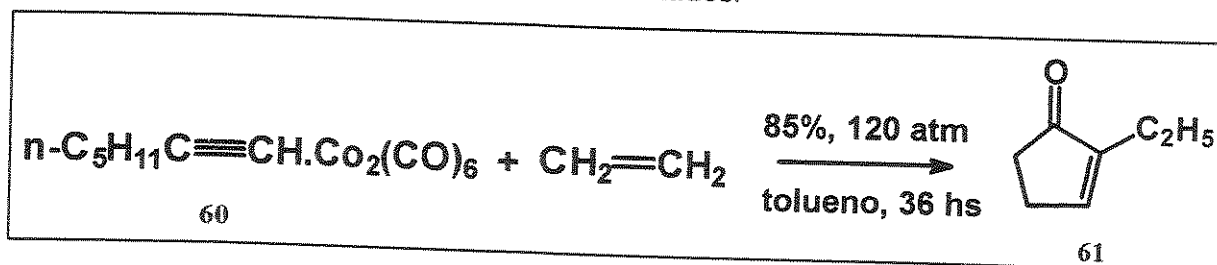


Figura 50: reação do complexo formado por um alcino terminal e etileno.

Esta metodologia nos pareceu bastante adequada para a síntese do (+) - *cis* -38 partindo-se de um alcino terminal (alcino 40a) e um alceno não substituído (etileno), em presença de monóxido de carbono.

A reação do alcino quiral 40a com hexacarbonila-dicobalto, levou inicialmente à formação do complexo 40b (figura 51). Depois de formado, o complexo 40b foi filtrado em alumina neutra, dissolvido em tolueno, colocado numa ampola de vidro e CO e etileno foram borbulhados, concomitantemente, na solução durante 10 min. A ampola foi então selada e aquecida durante 48 hs a 70°C . Em seguida, o solvente

foi evaporado e o produto bruto purificado por cromatografia de coluna, fornecendo *cis* - nortailoriona 38a em 40% de rendimento.

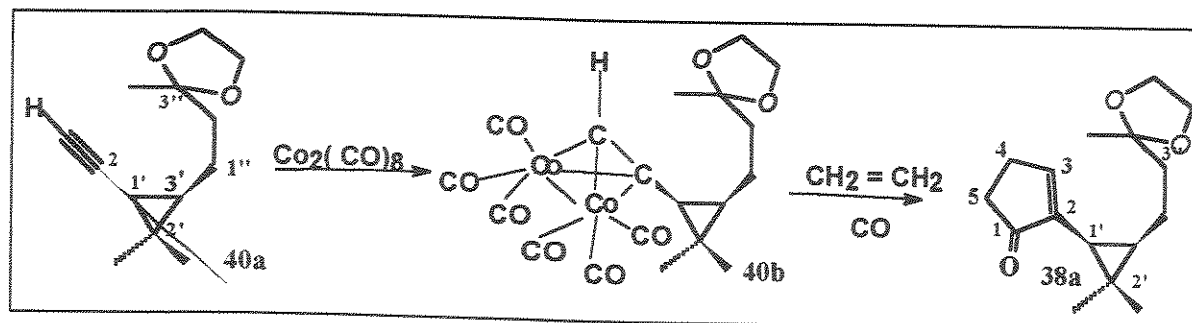


Figura 51: síntese da nortailoriona protegida a partir do alcino 40a.

A estrutura proposta foi totalmente caracterizada pelos dados espectroscópicos de IV, RMN ^1H , RMN ^{13}C , e EM.

O espectro no IV (E - 150), comparativamente ao alcino 40a de partida, mostrou o desaparecimento da banda em 2110 cm^{-1} e o aparecimento de uma absorção forte em 1684 cm^{-1} evidenciando a presença de uma carbonila conjugada no sistema.

O espectro de RMN ^1H (E - 144) mostrou dois multipletes em $\delta\ 2,58$ e $\delta\ 2,36$ ambos integrando para dois hidrogênios, que foram atribuídos ao H - 4 e H - 5 da ciclopentenona formada. Pelo mesmo espectro podemos verificar o aparecimento de um multiplete em $\delta\ 7,25$, com integração referente a um hidrogênio, o qual foi atribuído ao hidrogênio vinílico do anel de cinco membros formado.

A formação do anel foi também confirmada pela presença de um sinal no espectro de RMN ^{13}C (E - 146 a E - 149) em $\delta\ 210,9$, atribuído à carbonila (C - 1) e pela presença do sinal referente ao carbono quaternário em $\delta\ 143,2$ atribuído ao C - 2.

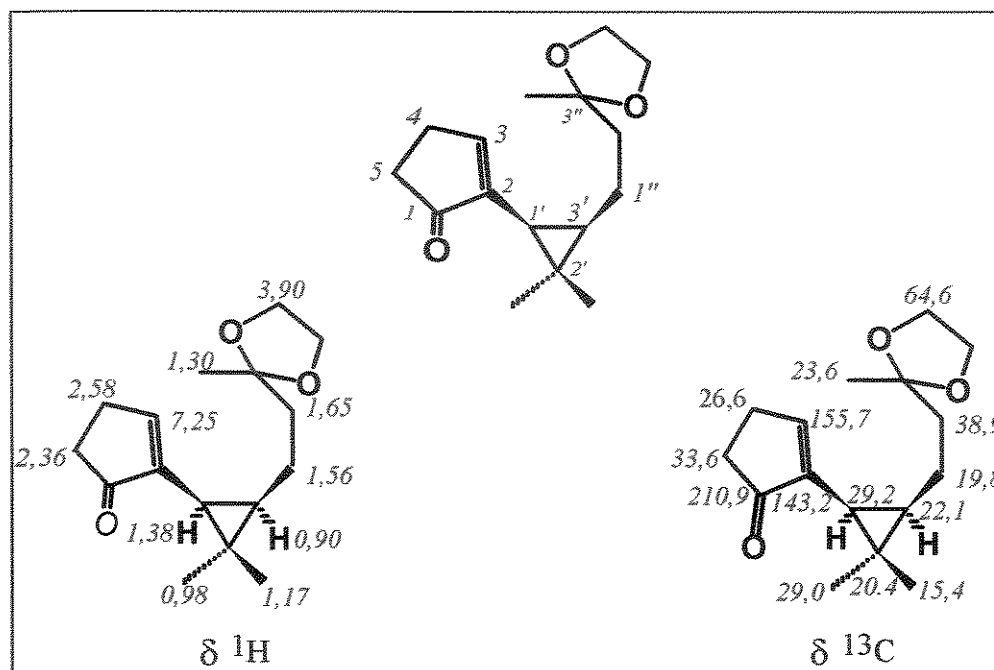


Figura 52: atribuições dos sinais de RMN ^1H e RMN ^{13}C para a cis-nortailoriona 38a.

A cis-nortailoriona 38 foi obtida adicionando-se uma quantidade catalítica de PPTS⁴³ e gotas de água em uma solução do composto 38a em acetona. Depois de três horas de reação, o solvente foi evaporado, o resíduo dissolvido em éter etílico, lavado com H_2O e seco sobre Na_2SO_4 . A solução foi filtrada sobre sílica gel fornecendo a nortailoriona 38 { $[\alpha]_{20}^D = +26$; (CHCl_3 , c.1,0) }

A desproteção foi confirmada pela ausência dos hidrogênios metilênicos ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$) no espectro de RMN ^1H (E - 151) e pela presença da banda de absorção no IV em 1707cm^{-1} . As correlações H^1 , H^1 (COSY, E - 158, figura 53) e C^{13} , H^1 (HETCOR, E - 156, figura 53) observadas no espectro de RMN 2D, confirmaram a estrutura do composto (+) - cis - nortailoriona 38.

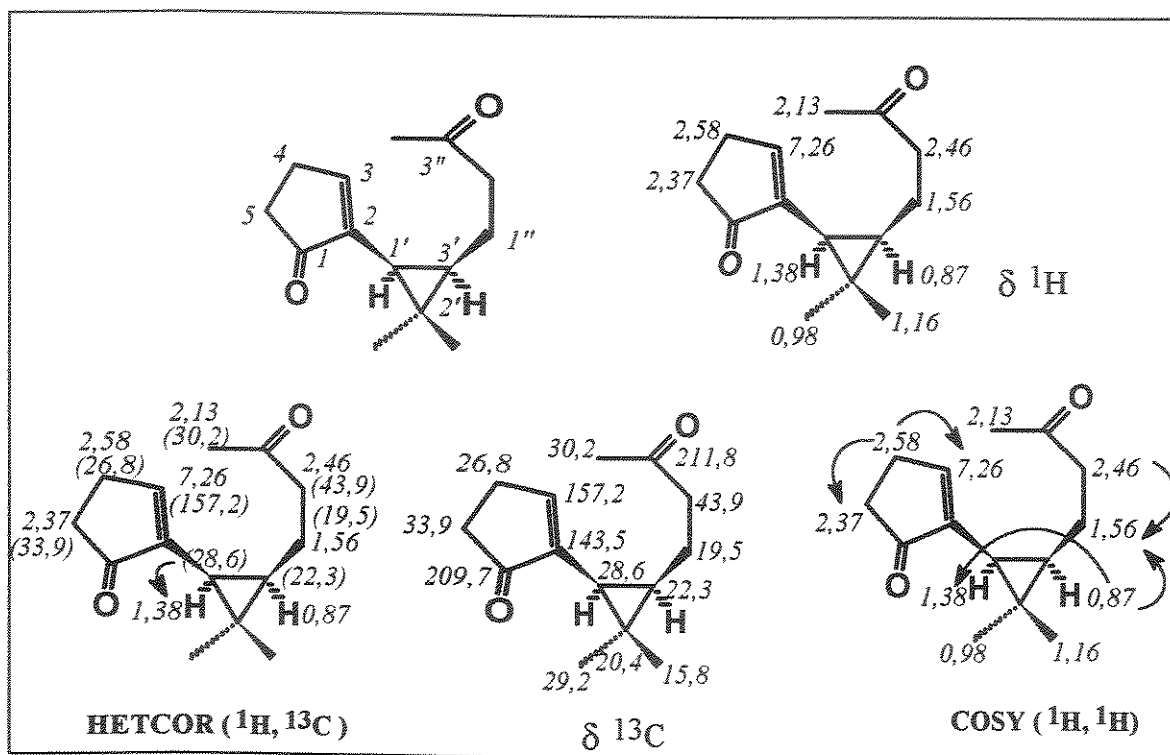


Figura 53: atribuições dos sinais de RMN ^1H e ^{13}C e dados de correlação ^1H , ^1H (COSY) Hetcor (^{13}C , ^1H) de RMN 2D para o composto (+) - *cis* - nortailoriona 38 (1'S).

Coinjeção de (+) - *cis* - nortailoriona 38 (1'S) com a mistura ($\pm$) *cis* / *trans* 38 (figura 54) em coluna quiral heptakis - (2,6 - metil - 3 - pentil) - β - ciclodextrina, revelou que este composto coeluiu com o isômero que apresentava índice de retenção IR = 1932. Com base nesta coinjeção, pôde-se garantir que o composto com IR = 1927 era o outro isômero (-) - *cis* - 38 (1' R).

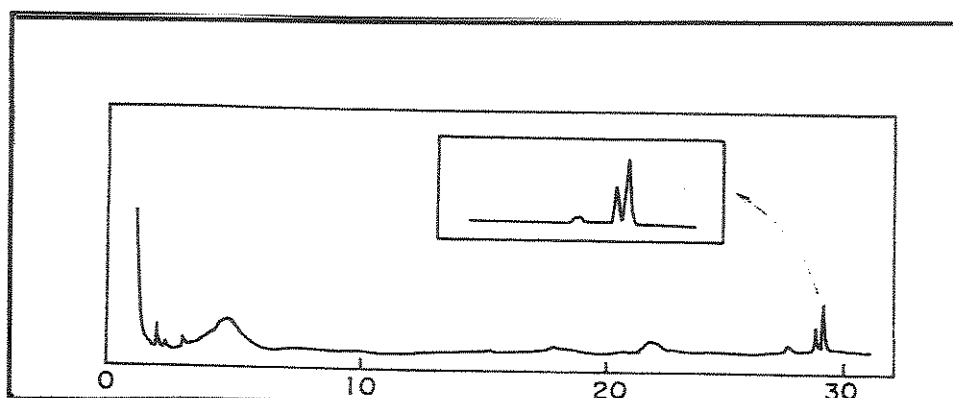


Figura 54: coinjeção da mistura ($\pm$) *cis* / *trans* 38 com o padrão quiral (+) - *cis* - nortailoriona 38 (1'S).

Finalmente, coinjeção do óleo *Artemisia annua* com o padrão revelou que a substância natural era o (+) - *cis* - 38 (1' S) (figura 55). Na figura 56 podemos comparar o espectro de massas de (+) - *cis* - 38 (1' S) com o espectro de massas do produto natural presente no óleo.

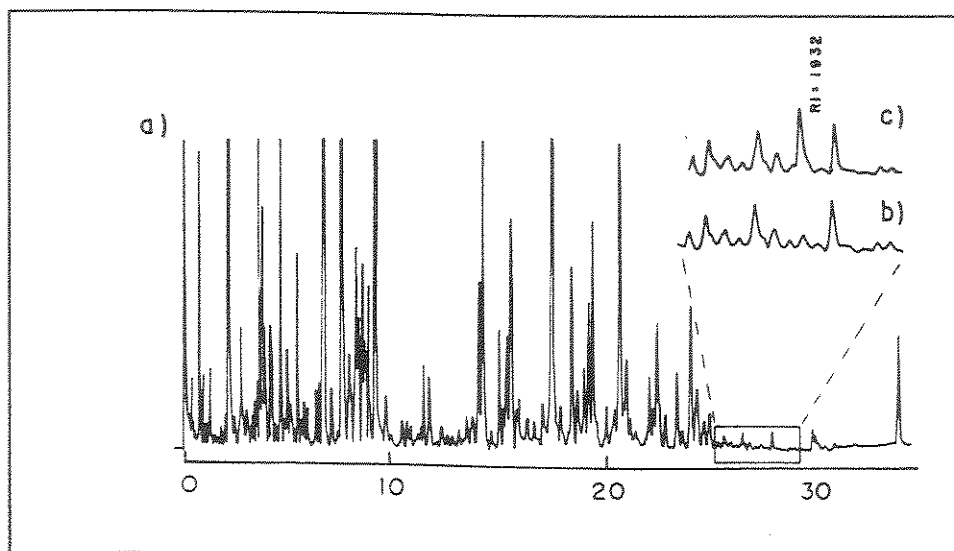


Figura 55: a) óleo essencial de *Artemisia annua*; b) expansão do cromatograma ; c) coinjeção do óleo essencial com o padrão sintético (+) - *cis* - 38.

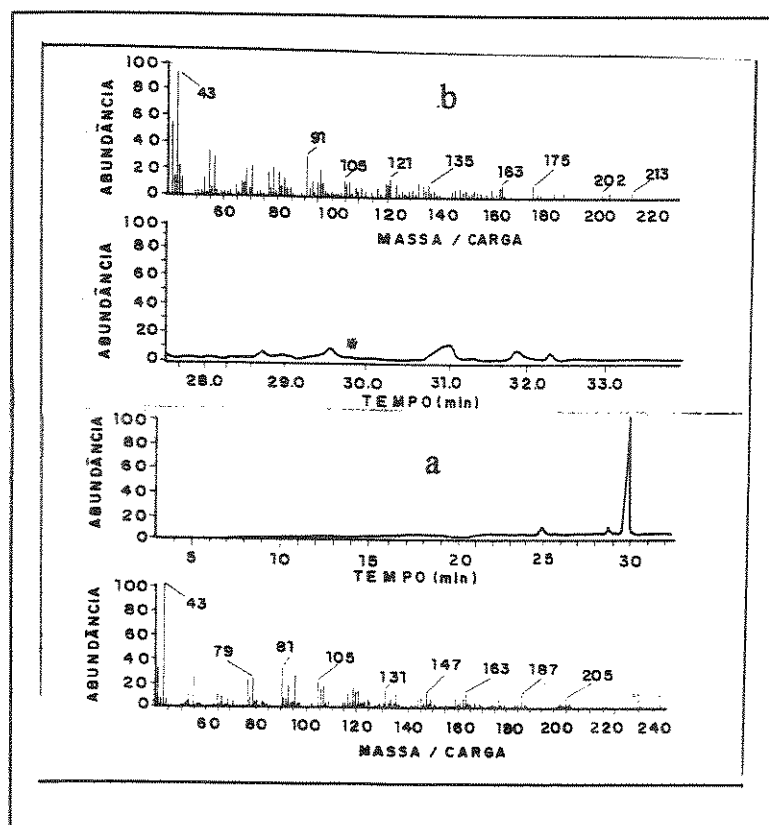


Figura 56: a) espectro de massas de (+) - *cis* - 38 sintético; b) espectro de massas do produto natural presente no óleo.

PARTE III

**ASPECTOS MECANÍSTICOS DA ADIÇÃO DE HNCS À DUPLA LIGAÇÃO
E SÍNTESE DO PRODUTO NATURAL 7*S*-ISOTIOCIANATO-7,8-DI-
HIDRO- α -BISABOLENO.**

3.1 - INTRODUÇÃO

No século passado muitos compostos de enxofre de origem vegetal atraíram a atenção pelas propriedades e habilidade dos mesmos de prevenir o apodrecimento de comida e sucos de frutas. Duas dessas substâncias foram identificadas como sendo isotiocianatos, sendo este o primeiro registro da ocorrência natural dessa classe de compostos orgânicos.

Os isotiocianatos ocorrem na forma de glicosinatos em plantas de famílias das Angiospermas, principalmente da família Cruciferae. Estes compostos são liberados junto com a *D*-glucose e os hidrogenossulfatos durante a hidrólise enzimática dos glicosinatos⁴⁴.

Por outro lado, uma variedade de isotiocianatos terpênicos de origem marinha vem sendo isolados principalmente de esponjas da ordem das *Halicondrida*, *Axinellida*, *Littristida* e caracterizam-se por possuírem uma marcante atividade anticâncer, antielmíntica, antimicrobiana, antinutricional, citotóxica e ictiotóxica⁴⁵. A maioria desses compostos possuem fórmula molecular $C_{16}H_{25}NS$ e estão, invariavelmente, relacionados aos correspondentes sesquiterpenos isolados de organismos terrestres tais como isoprenóides, cadinanos, amorfanos, aromadendrano e bisabolanos⁴⁶. Observa-se também que a inserção do grupo NCS está sempre associada a um carbono terciário onde, nos sesquiterpenos isolados de espécies vegetais, encontram-se hidroxila ou duplas ligações. Os isotiocianatos alifáticos de cadeia longa⁴⁷ são raros e os isotiocianatos olefinicos⁴⁸ são os primeiros não terpênicos isolados de organismos marinhos (figura 57).

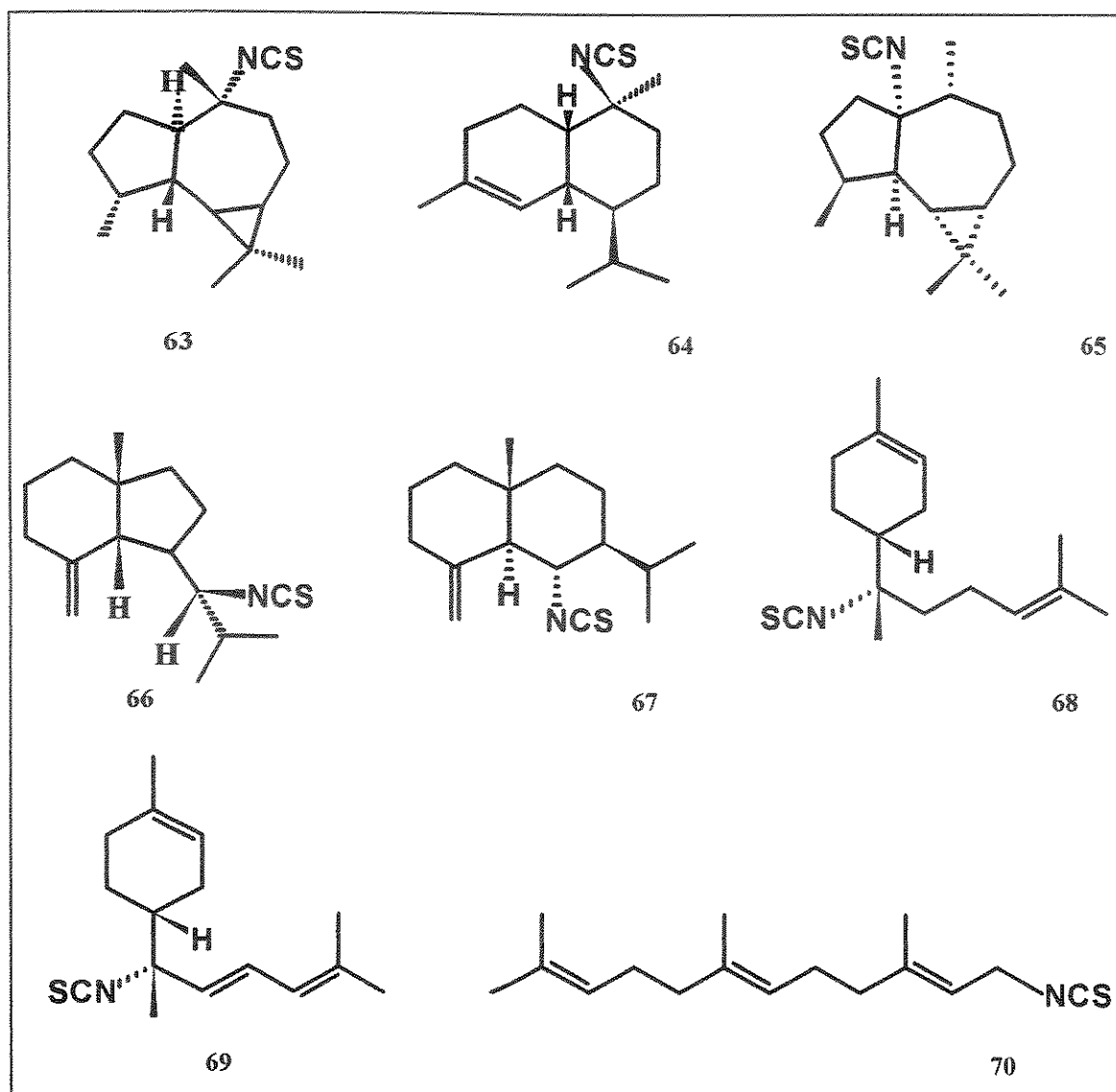


Figura 57 : isotiocianatos isolados de organismos marinhos.

As sínteses desses produtos naturais relatadas na literatura estão voltadas, principalmente, para a formação dos esqueletos terpênicos, dando muito pouca ênfase à introdução do nitrogênio terciário para a construção do grupo isotiocianato. As tentativas de síntese destas substâncias por introdução de um nitrogênio terciário nos esqueletos básicos de sesquiterpenos mostraram-se longas e ineficientes.

O trabalho desenvolvido em nosso grupo de pesquisa pela Dra. Cleuza C. Silva⁴⁹, tinha como objetivo principal a síntese de isotiocianoterpenos fácil e direta, que permitisse obter quantidades razoáveis de produto com a finalidade de auxiliar pesquisadores na determinação das estruturas e na realização de ensaios

biológicos. A busca de uma metodologia que permitisse introduzir diretamente a função nitrogenada na forma de isotiocianato (NCS), revelou que a reação de adição de HSCN às duplas ligações era a opção mais adequada e eficiente para a síntese de isotiocianoterpenos. Esta reação já havia sido amplamente estudada na literatura, mas só foi utilizada mais recentemente, na síntese de produtos naturais.

Alguns aspectos sobre o mecanismo e alguns exemplos da aplicação desta metodologia serão relatados a seguir.

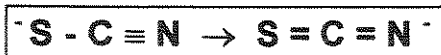
3.1.1 - O ácido Isotiocianico/tiocianico (HNCS/HSCN).

O ácido tiocianico é um composto volátil cujo valor de pKa é bastante discutido na literatura⁵⁰. O ácido existe nas formas tautoméricas $\text{H} - \text{S} - \text{C} \equiv \text{N}$ e $\text{H} - \text{N} = \text{C} = \text{S}$, com predominância do tautômero isotiocianico e polimeriza-se facilmente formando uma variedade de compostos heterocíclicos.

3.1.2 - Adição de HNCS / HSCN às duplas ligações

O ácido tiocianico comporta-se como eletrófilo na reação com alcenos, adicionando-se à dupla ligação da mesma forma que os haletos de hidrôgeno.

O ânion tiocianato/isotiocianato difere do ânion haleto, por ser um nucleófilo bidentado, devido à ressonância :



a qual resulta na estrutura híbrida e na distribuição de carga mostrada abaixo :



Consequentemente, as reações do íon tiocianato com compostos orgânicos podem levar ou a derivados tiocianatos, através do ataque do átomo de enxofre, ou a derivados isotiocianatos, através do ataque do átomo de nitrogênio, ou ainda à

mistura de ambos. A nucleofilicidade relativa do enxofre e do nitrogênio dependem de fatores como a natureza do contra-íon, catalisador, concentração, temperatura e estrutura do substrato. Tendo em vista estes fatores, a adição de HNCS à duplas ligações é regiosseletiva, obtendo-se uma mistura de derivados tiocianatos e isotiocianatos, com orientação segundo Markovnikoff.

A primeira reação de adição de HNCS à dupla ligação foi feita com metilpropeno à temperatura ambiente e levou à formação de 62% do derivado isotiocianato e de 32 % do derivado tiocianato⁵¹.

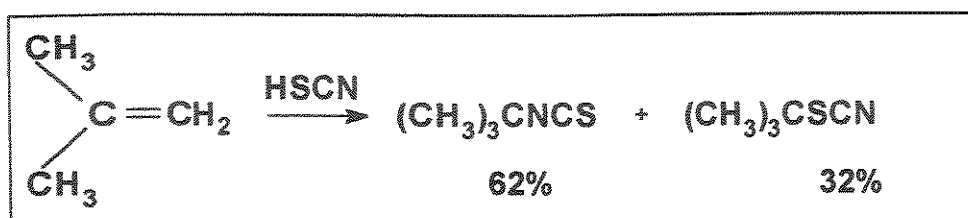


Figura 58: adição de HNCS ao metilpropeno.

Entretanto, a reação de adição de HNCS ao estireno levou, exclusivamente, a formação do derivado isotiocianato :

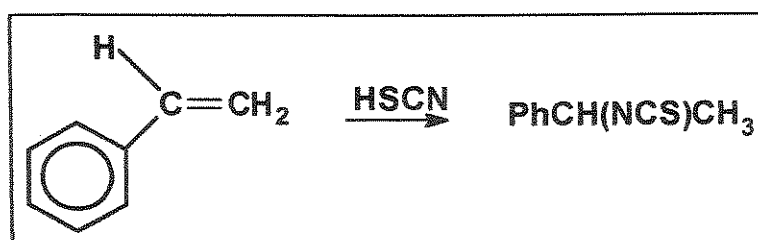


Figura 59: adição de NHCS ao estireno.

HNCS adiciona-se também, regiosseletivamente, em duplas α, β - insaturadas de compostos carbonílicos dando ou isotiocianatos, tiocianatos ou uma mistura dos dois, de acordo com a natureza dos substratos. Um exemplo típico é mostrado abaixo com cetonas esteroidais α, β - insaturadas.

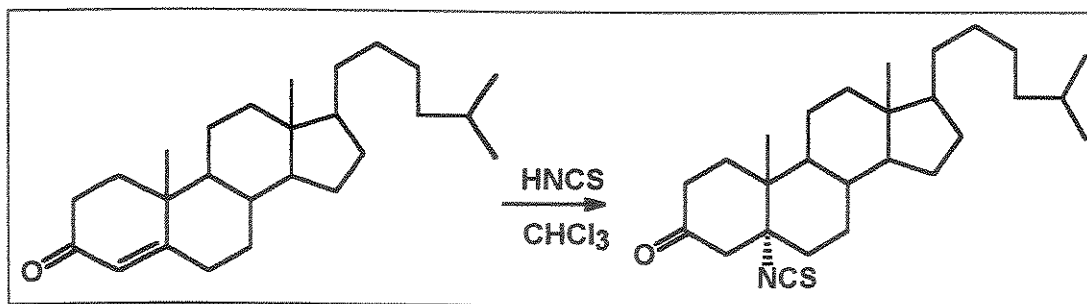


Figura 60: adição de HNCS a esteróide.

3.1.3 - Isomerização de Tiocianatos a Isotiocianatos.⁵²

Com já foi mencionado anteriormente, a regiosseletividade é consequência do caráter ambíguo do íon bidentado NCS que reage com um determinado substrato levando a isotiocianatos (R - NCS), tiocianato (R - SCN) ou a ambos, dependendo das condições de reação e da natureza do substrato. Neste ponto, é importante ressaltar que, em muitos casos, o átomo de enxofre comporta-se como um melhor nucleófilo que o átomo de nitrogênio (mais básico) e, como resultado disso, temos a formação de tiocianatos como os produtos cinéticos em muitas reações.

Por outro lado, é sabido também, que uma das reações mais comuns envolvendo tiocianatos é a isomerização a isotiocianatos. Esta isomerização é consequência da alta labilidade da ligação C - S que tem como força diretora a formação da ligação C - N que é mais estável e mais forte.

Vários experimentos têm suportado o processo de isomerização de tiocianatos a isotiocianatos. Estudos cinéticos e experimentos com trocas isotópicas, evidenciaram que esta conversão ocorre por diferentes mecanismos, dependendo intimamente da natureza do radical orgânico presente na molécula.



Os tiocianatos saturados e benzílicos, secundários e terciários, isomerizam-se através de ionização e recombinação via mecanismo S_N1, já que têm a capacidade de formar carbênios. No caso de tiocianatos saturados secundários a isomerização ocorre na presença de um catalisador, que pode ser um ácido de Lewis, e sob aquecimento. Os terciários isomerizam-se também sob catálise, mas à temperatura ambiente. Os tiocianatos benzílicos, porém, não necessitam de

catálise ácida para a isomerização. Pode-se dizer, então, que a facilidade de isomerização está associada à estabilidade do íon carbênio resultante da quebra da ligação lábil C - S.

De acordo com a discussão acima acerca da labilidade da ligação C-S, do caráter mais nucleofílico do enxofre e da facilidade de isomerização de tiocianatos a isotiocianatos, podemos concluir que, em geral, os tiocianatos (R-SCN) são os produtos cinéticos e os isotiocianatos (R-NCS) são os produtos termodinâmicos de reações envolvendo o íon bidentado ($\text{NCS}^- \leftrightarrow \text{SCN}^-$).

Sobre o mecanismo da isomerização, estudos cinéticos mostraram que a reação é de primeira ordem e que a isomerização é tanto mais efetiva quando maior for a polaridade do solvente. Estudos com moléculas marcadas evidenciaram que quando ocorre a quebra da ligação C - S não há uma completa dissociação entre o carbênio livre e o nucleófilo, e conseqüentemente, a isomerização não ocorre pelo ataque nucleofílico do íon tiocianato ao carbênio livre, mas sim através de um par iônico íntimo (figura 60). Ou seja, as duas espécies estariam muito próximas e facilmente poderiam sofrer uma recombinação interna.

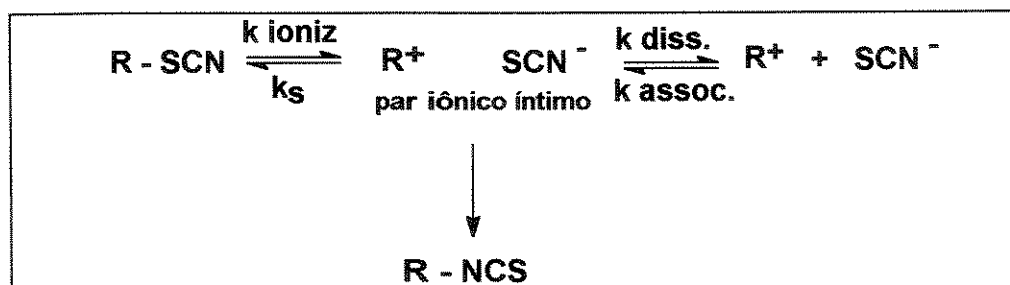


Figura 61: isomerização de tiocianatos via par iônico íntimo.

Pela proximidade das duas espécies que formam o par iônico íntimo (íon carbênio e íon bidentado), é mais provável que a isomerização ocorra pelo ataque do átomo de nitrogênio no mesmo lado da saída do íon tiocianato. Isto resultaria na retenção de configuração do produto formado. Estudos estereoquímicos realizados com (-)-tiocianato de clorobenzidril, mostraram que a isomerização ocorreu com 100% de retenção de configuração.

3.1.4 - Estudo de adição direta de HNCS a terpenos.

Como mencionado anteriormente, a adição direta de HNCS foi pela primeira vez aplicada à síntese de produtos naturais em nosso grupo de pesquisa pela Dra. Cleuza C. da Silva. Inicialmente esta metodologia foi aplicada por ela a monoterpenos (limoneno, di-hidrolimoneno e terpineol).

A adição de HNCS ao limoneno (figura 62) levou a uma mistura de isotiocianatos e tiocianatos. Além da regioseletividade (formação do derivado isotiocianato como produto majoritário) já esperada, foi observada uma quimiosseletividade no que diz respeito à adição preferencial do ácido na dupla terminal do limoneno.

A reação do ácido HNCS com o di-hidrolimoneno (figura 62) levou à formação de produtos de adição à dupla trissubstituída.

A quimiosseletividade exibida pela dupla ligação e observada pela primeira vez nas reações de adição de HNCS às duplas ligações, foi interpretada como decorrente da menor reatividade da dupla endocíclica.

Os resultados obtidos a partir da adição de ácido HNCS ao terpineol (figura 62) confirmou o que já havia sido reportado na literatura. A presença de grupos polares no substrato interfere na adição do ácido à dupla ligação.

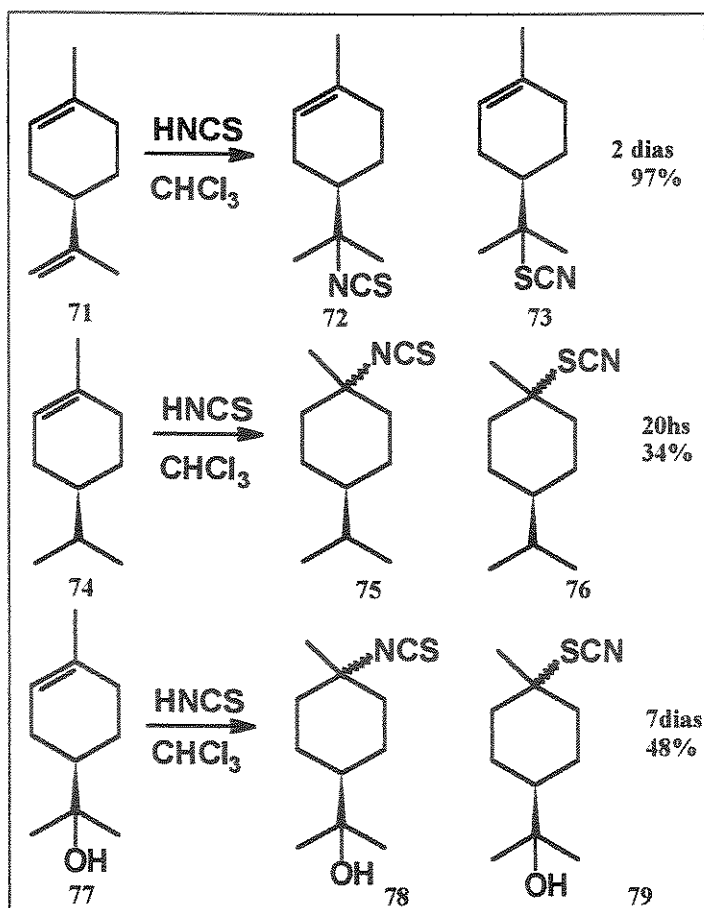


Figura 62 : adição de HNCS a terpenos.

Estes resultados revelaram que a reação de adição do ácido tiocianico à duplas ligações é tanto regio como quimiosseletiva no que diz respeito a adição preferencial à dupla terminal. Além disso, a presença de grupos polares no sistema foi fator determinante na velocidade da reação.

Ainda buscando confirmar a interferência de grupos polares na cinética da reação, foram realizados experimentos com o cadinol 80a (figura 63) e foram observados somente a formação dos produtos cinéticos 81(a e b).

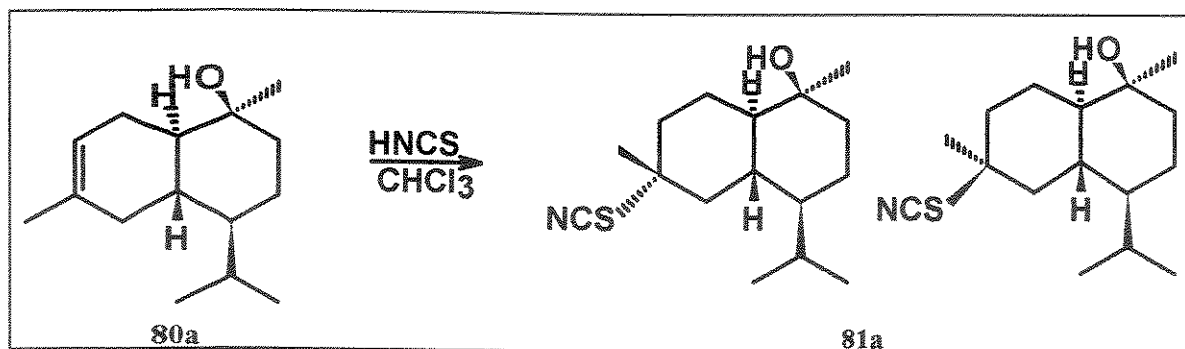


Figura 63: adição de HNCS ao cadinol axial 80a.

Estes resultados foram interpretados como sendo consequência da assistência anquimérica do grupo vizinho OH (figura 64) que, apesar de ser um grupo polar que comprovadamente interfere na cinética da reação, neste caso auxiliou na formação do produto. Este auxílio anquimérico foi atribuído a ligação de hidrogênio entre o grupo OH e o nitrogênio do nucleófilo ambidentado, que se alinha ao carbênio, possibilitando o ataque do enxofre.

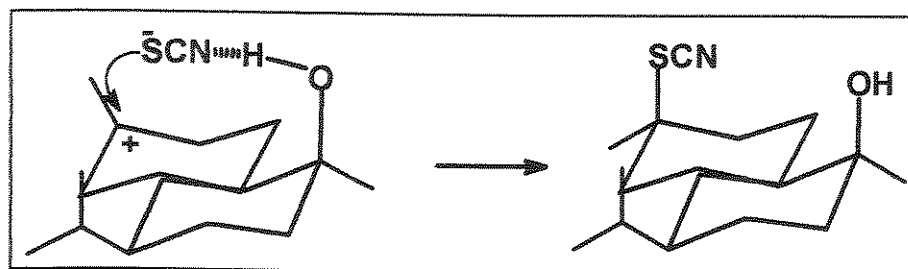


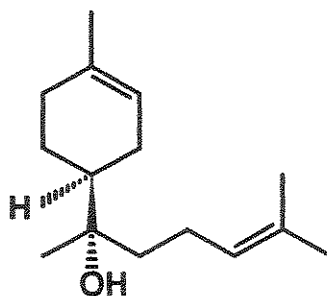
Figura 64: alinhamento do nucleófilo na adição do HSCN ao cadinol axial 80a.

3.2 - OBJETIVOS.

Estas observações preliminares sobre o comportamento do ácido tiociânico em relação às duplas ligações em sistemas terpênicos, mereceram uma investigação mais profunda, tanto em relação à cinética de reação quanto ao seu mecanismo.

Portanto, nossos objetivos foram:

- investigar melhor a cinética da reação de adição do HNCS às duplas ligações dissustituídas e trissustituídas;
- confirmar a interferência dos grupos polares na adição direta do ácido HNCS;
- com respeito aos resultados experimentais com o cadinol 80a, pretendemos verificar se o auxílio anquimérico era, de fato, responsável pela formação de produtos cinéticos, exclusivamente. Por outro lado, pretendíamos observar o comportamento da reação de adição do ácido em sistemas como o (-)-bisabolol 82⁵³, onde temos uma dupla substituída e um grupo polar, ambos *exo* ao anel;



(-) - Bisabolol 82

- nosso objetivo era, também utilizar esta metodologia para sintetizar o produto natural 84⁵⁴, a partir de outro produto natural abundante na natureza, o bisabolol 82, através da rota sintética descrita abaixo:

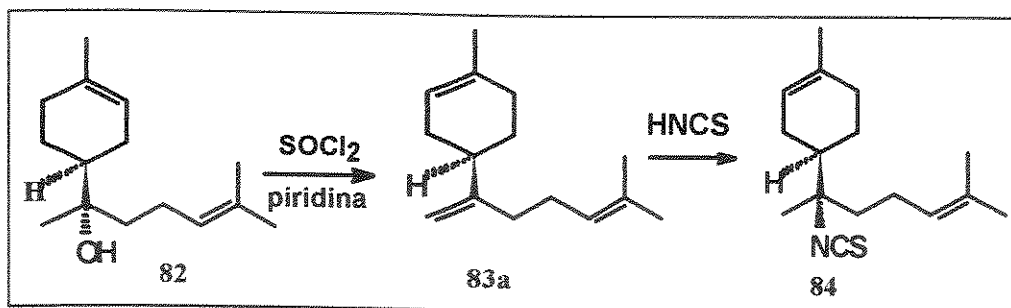


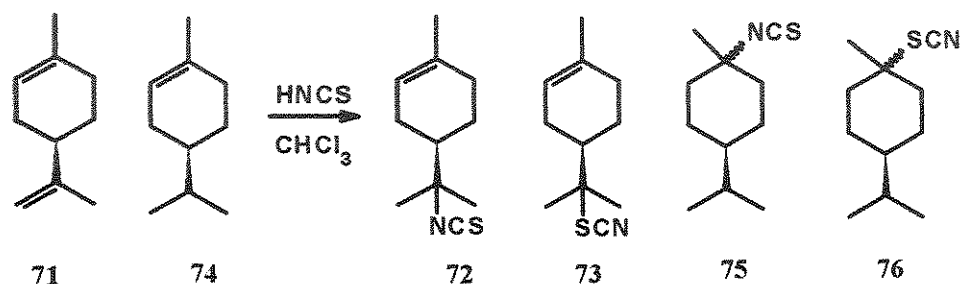
Figura 65: rota sintética para a síntese do produto natural 84.

3.3 - DISCUSSÃO

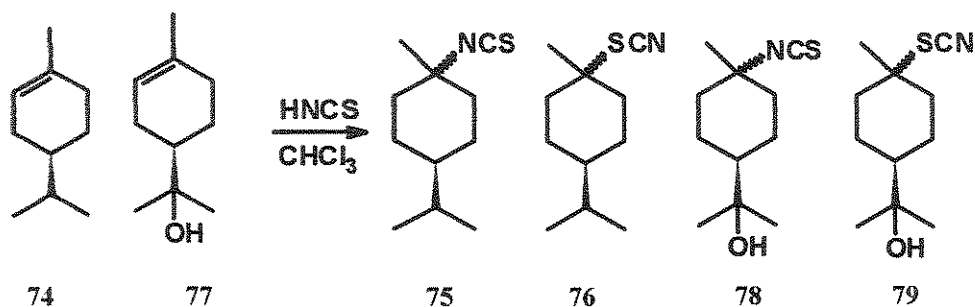
3.3.1 - Estudo cinético da adição de HNCS ao limoneno, di-hidrolimoneno e terpineol.

Para confirmar a quimiosseletividade e a interferência de grupos polares na cinética da adição do ácido HNCS às duplas ligações, dois experimentos foram idealizados :

a) Monitoramento por CG da mistura de limoneno e di-hidrolimoneno em presença de HNCS. Com este experimento queríamos não só confirmar, mas também quantificar a preferência da adição do ácido na dupla terminal em relação à dupla endocíclica trissubstituída do di-hidrolimoneno:



b) Monitoramento por CG da adição de HNCS à mistura de di-hidrolimoneno e terpineol. Os dois compostos apresentam dupla ligação endocíclica trissubstituída, mas o terpineol possui um grupo OH *exo* ao anel:



No primeiro experimento, a mistura de quantidades equimolares de limoneno e di-hidrolimoneno foi colocada para reagir com um excesso (1:10) de uma solução de HNCS em CHCl_3 ⁵⁵ e alíquotas foram analisadas em tempos regulares. Na tabela estão expressos a concentração relativa dos produtos e reagentes para cada intervalo de tempo.

Tabela 7: monitoramento por CG da mistura de limoneno e di - hidrolimoneno na presença de HNCS

	5 min	35 min	65 min	80 min
Limoneno	40,75 %	14,27%	7, 61%	5,02%
Dihidrolimoneno	39,8%	39,19%	39,7%	39,2%
composto 72	9,27%	27,61%	36,19%	28,40%
composto 73	1,76%	7,78%	4,35%	6,11%
composto 75	-	1,35%	2,35%	3,05%
composto 76	-	1,23%	1,73%	1,75%

Com base nos dados cromatográficos, parecia-nos óbvio que havia uma diferença significativa nas velocidades relativas de adição do HNCS à dupla terminal em relação à dupla trissubstituída, entretanto era necessário interpretar numericamente o que era observado experimentalmente.

Para quantificar a diferença entre as velocidades relativas, buscamos na literatura um método que permitisse medir a reatividade relativa sem grandes manipulações da amostra. Vale aqui esclarecer que, embora a metodologia sintética desenvolvida seja muito simples e direta, os isotiocianatos e tiocianatos resultantes são extremamente tóxicos e a extensa exposição aos mesmos produz reações alérgicas variadas.

Diante de tais fatos, evitamos utilizar métodos que incluíssem manipulação dos derivados de ácido HNCS como por exemplo, curvas de calibração ou medidas de conversão.

Levando em consideração as limitações mencionadas, fizemos um levantamento na literatura sobre métodos analíticos modernos utilizados para determinar diferentes cinéticas de reação. Dentro deste contexto, encontramos vários métodos de determinação de resolução cinética e, entre eles, o método de Rabels⁵⁶ nos pareceu particularmente atraente pelo fato de determinar a resolução cinética de uma reação enzimática sem dados de conversão.

A equação utilizada para calcular a razão entre as velocidades é:

$$E = \frac{\ln \left[\frac{1 - e_s}{1 + e_s} \right]}{\ln \left[\frac{1 + e_p}{1 - e_p} \right]}$$

onde,

$e_s = \frac{\text{diferença da concentração dos substratos}}{\text{soma das concentrações dos substratos.}}$

$e_p = \frac{\text{diferença da concentração dos produtos}}{\text{soma da concentração dos produtos.}}$

$E = \text{razão entre as velocidades (varia de 0 a 50, sendo 50 o valor de máxima resolução).}$

Fazendo-se um paralelo entre uma reação onde ocorre resolução cinética enzimática e a reação de adição do ácido HNCS em limoneno e di-hidrolimoneno identificamos aspectos comuns nos dois sistemas, tais como :

- os dois sistemas são de pseudo-primeira ordem;
- as reações, tanto a resolução cinética quanto a adição de ácido à dupla, são irreversíveis;
- os produtos de resolução enzimática são enantiômeros. O limoneno e di - hidrolimoneno não são isômeros, mas são muito semelhantes, apresentando somente pequenas diferenças estruturais. Pode-se dizer, portanto, que cromatograficamente (em relação à resposta do detector) esta diferença seria insignificante se comparada à grande diferença observada entre a cinética de adição na dupla terminal e na dupla ligação.

Adaptando-se a equação mostrada acima, à reação de adição de HNCS a mistura de limoneno 71 e di - hidrolimoneno 74, temos:

$$e_s = S = \frac{X - Y}{X + Y}$$

onde, $X = \text{concentração relativa do limoneno no intervalo de tempo } x.$

$Y = \text{concentração relativa do di-hidrolimoneno no intervalo de tempo } x.$

$$E_p = P = \frac{Z - W}{Z + W}$$

onde, Z = concentração relativa dos produtos 72 e 73 no tempo de reação x.

W = concentrações relativas dos produtos 75 e 76 no intervalo de tempo x.

Assim a equação pode ser reescrita :

$$E = \frac{\ln \left[\frac{1 - \frac{S}{P}}{1 + \frac{S}{P}} \right]}{\ln \left[\frac{1 + S}{1 + \frac{S}{P}} \right]}$$

Exemplo (ver dados da tabela):

$$S = \frac{39,2 - 14,3}{14,3 + 39,2} = 24,9 / 53,5 = 0,46$$

$$P = \frac{35,4 - 2,6}{35,4 + 2,6} = 32,8 / 38,0 = 0,86$$

$$E = \frac{\ln \left[\frac{1 - \frac{0,46}{0,86}}{1 + \frac{0,46}{0,86}} \right]}{\ln \left[\frac{1 + 0,46}{1 + \frac{0,46}{0,86}} \right]} \cong 20$$

Aplicando-se estes mesmos cálculos a todas as concentrações relativas obtidas para cada intervalo de tempo, obtivemos:

$E \sim 20$ ou seja, razão entre as constantes de velocidade de adição do HNCS a limoneno e di-hidrolimoneno é de aproximadamente 20 quando a reação está em regime estacionário (30 → 60 min.).

O segundo experimento foi executado, adicionando-se um excesso de HNCS a uma mistura de di-hidrolimoneno 74 e terpineol 77. Monitoramento por CG da mistura reacional, mostrou que depois de 24 horas somente produtos da adição de HNCS no di-hidrolimoneno foram observados (tabela 8).

Tabela 8: monitoramento por CG da mistura de terpineol e di-hidrolimoneno na presença de HNCS :

	0 h	3,0 h	6,0h	9,0h	24 h
dihidrolimoneno74	43,52%	39,44%	40,00%	36,25%	34,68%
terpineol 77	27,43%	32,36%	46,59%	43,72%	45,10%
composto 75	-	-	-	-	3,35%
composto 76	-	-	-	-	2,48%

Com este experimento, foi pois, possível comprovar que a quimiosseletividade está intimamente associada a um fator cinético. Para justificar a ausência de compostos bifuncionalizados foi necessário comprovar que, a velocidade de reação dos compostos contendo grupos polares e a velocidade de reação dos compostos não funcionalizados, eram significativamente distintas.

Vale ressaltar, no entanto, que reações muito lentas (adição à dupla ligação do terpineol, por exemplo) não resultam na formação de produto, pois é conhecido que o ácido HNCS polimeriza-se e perde sua atividade no meio reacional antes que a reação de adição possa ocorrer.

3. 3. 2 - Estudo da adição de HSCN a cadinóis e ao bisabolol.

Como já foi mencionado anteriormente, reação com o sesquiterpeno 80a resultou nos dois diastereoisômeros 81 (a e b). A obtenção dos produtos cinéticos sugeriu que o grupo -OH na posição axial influenciou na orientação de adição do HSCN. Para verificar se o auxílio anquimérico era, de fato, responsável pela formação do produto, idealizamos dois experimentos:

a) proteção do grupo OH com o intuito de sacrificar a assistência anquimérica. O objetivo seria o de verificar se a seletividade na formação dos produtos cinéticos está atrelada à ligação de hidrogênio entre o grupo OH e o grupo NCS;

b) adicionar HNCS ao bisabolol 82, o qual possui um grupo OH e uma dupla exocíclica e endocíclica ambas trissubstituídas) e observar se, neste caso, a assistência anquimérica também determina a formação dos produtos.

Para o primeiro experimento, o cadinol axial 80a foi protegido na forma de éter metílico correspondente utilizando-se hidreto de sódio e iodeto de metila⁵⁷ como agente alquilante. O éter 85 foi obtido em 100% de rendimento e foi caracterizado por análise do espectro de RMN ¹H (E - 160), o qual apresentou um singlete em δ 3,09 atribuído à metila sobre o oxigênio, confirmando a proteção do grupo OH. Os outros sinais foram atribuídos por comparação com o espectro do cadinol 80a.

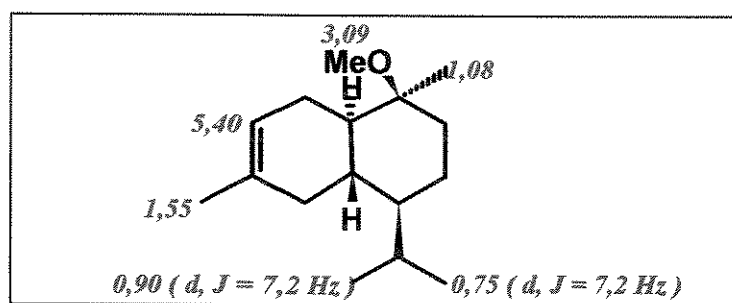
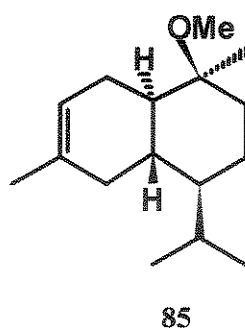
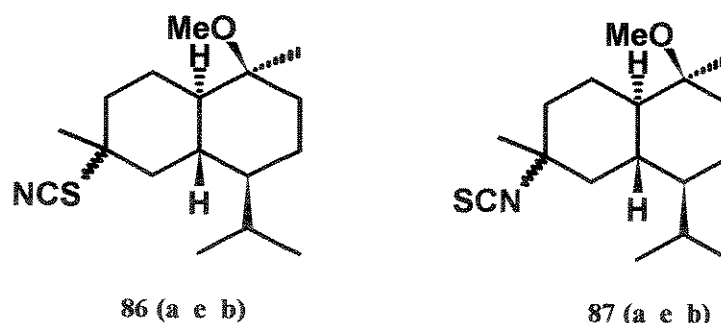


Figura 66 : deslocamentos químicos de RMN ¹H para o éter 85

O éter 85 foi submetido à reação com o ácido HNCS, resultando em traços dos quatro isômeros 86 (a e b) e 87 (a e b), detectados por GC/EM (E - 161):



Nos espectros de massa dos 4 isômeros, dois derivados isotiocianatos (87a e 87b) e os dois derivados tiocionatos (86a e 86b), os íons moleculares de m/z 295 aparecem com intensidade 1% e os principais fragmentos estão mostrados na figura 66.

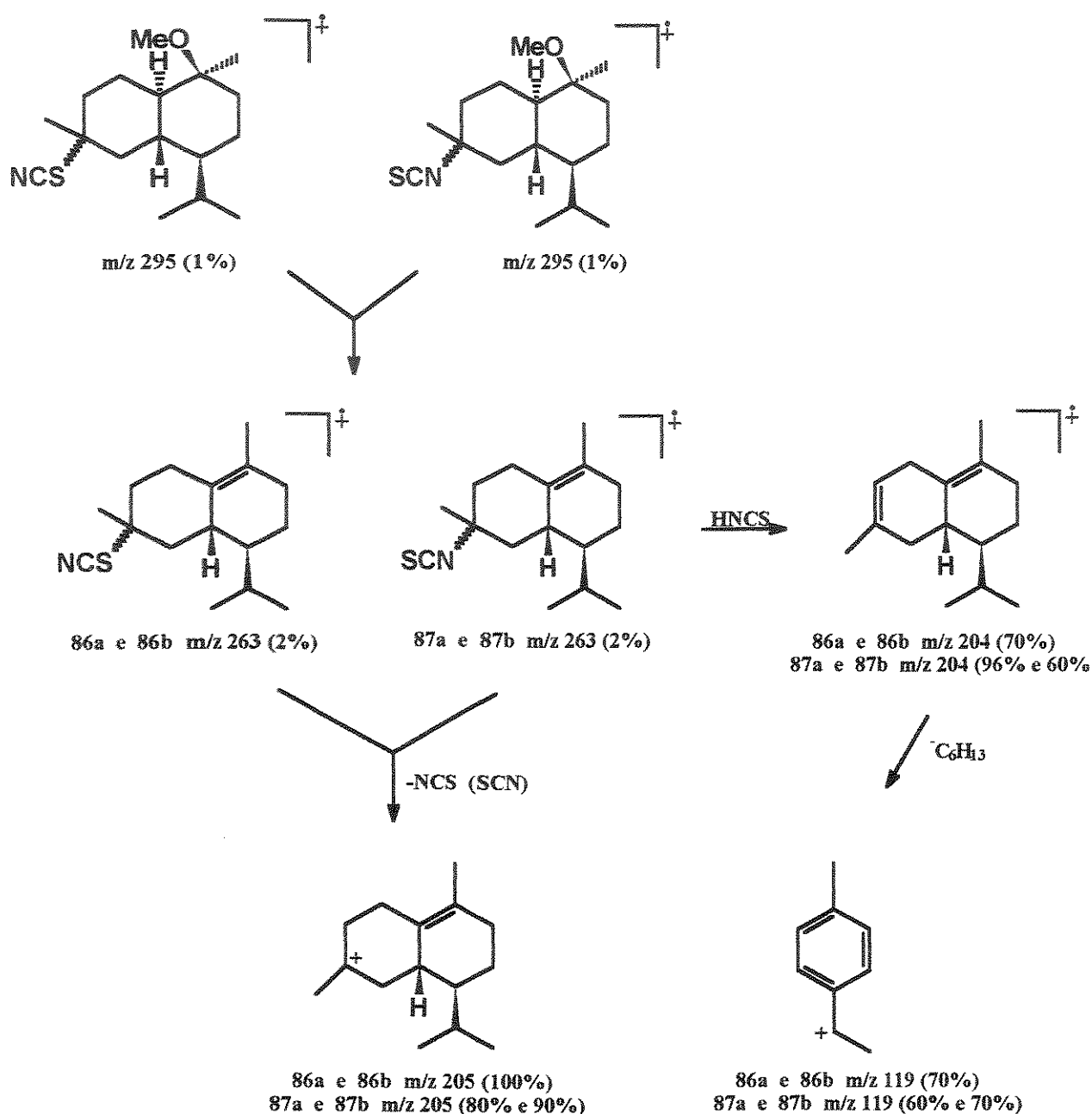


Figura 67: proposta de fragmentação para os compostos 86a, 86b, 87a e 87b.

Buscando ainda confirmar o efeito do -OH na formação dos produtos, o cadinol equatorial 80b foi também submetido à reação com HNCS e após 7 dias de reação, não se observou a formação de produtos.

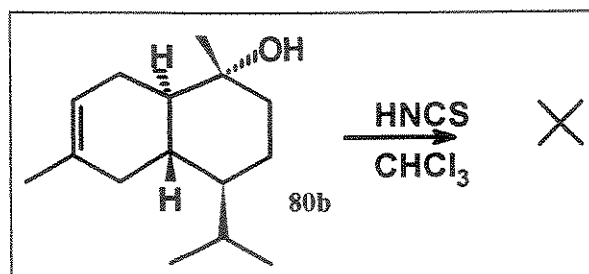


Figura 68: adição de HNCS ao cadinol equatorial 80b.

O conjunto de experimentos com os cadinóis 85 e 80b confirmaram o auxílio anquimérico da hidroxila na formação dos produtos de adição de HNCS à duplas ligações.

A reação de cadinol 85 com o HNCS resultou, como esperado, na formação dos derivados tiocianatos e isotiocianatos. A proteção do grupo OH desfavoreceu a ligação de hidrogênio (ver cadinol 80a; figura 63) e o grupo OMe (novo grupo polar presente no sistema) interferiu na formação dos produtos que, neste caso, ocorrem em baixíssimo rendimento (traços).

A reação com o cadinol equatorial 80b não levou a formação de produtos. Neste caso, o grupo OH não se encontra em posição adequada para auxiliar a formação da ligação de hidrogênio.

A interferência de grupos polares foi também observada pela adição seletiva de HSCN à dupla exocíclica do α - bisabolol 82.

Controle da reação por CCD revelou que depois de 6 dias, ainda existia material de partida, mas a reação foi interrompida neste estágio. O produto bruto da reação foi purificado por coluna cromatográfica e a eluição com hexano : acetato de etila 20 % forneceu o isômero 88 em 24 % de rendimento. Eluição com hexano: acetato de etila 25 % forneceu o isômero 89 em 12 % de rendimento.

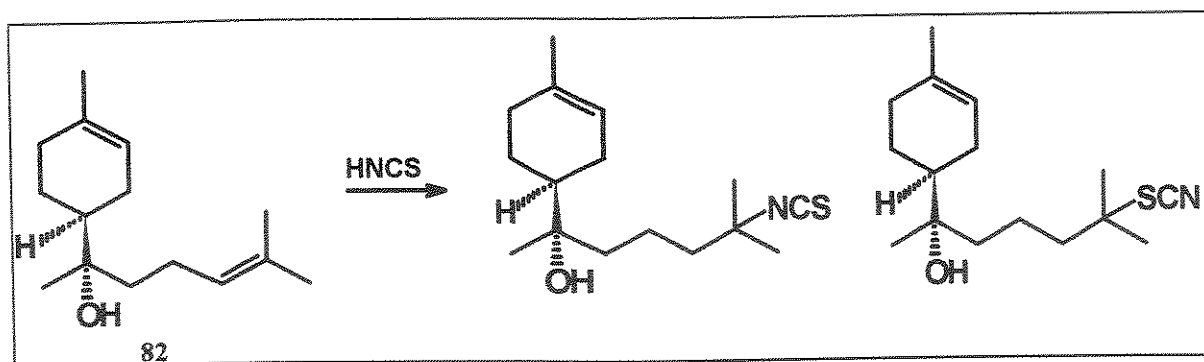


Figura 69: adição de HNCS ao α - bisabolol 82.

A análise dos dados de RMN ^1H (E - 162) para o composto 88 revelou a presença de somente um hidrogênio olefínico em δ 5,35 que pode ser atribuído ao hidrogênio sobre a dupla endocíclica. A presença do sinal em δ 1,38 com integração referente a 6 hidrogênios foram consistentes com as metilas sobre o carbono ao qual está ligado o grupo NCS, indicando que a adição de HNCS ocorreu na dupla exocíclica do bisabolol.

A confirmação da estrutura proposta foi obtida por análise do espectro de RMN- ^{13}C (E - 163) :

- a) sinal em δ 130,3 foi associado ao carbono insaturado do grupo NCS;
- b) sinal em δ 61,3 foi associado ao carbono saturado ligado diretamente ao grupo NCS;
- c) sinal em δ 28,9 foi associado às metilas ligadas diretamente ao carbono ao qual está ligado o grupo NCS. Este fato pode ser confirmado pela correlação observada no espectro de RMN (HETCOR, E - 168) com o sinal em δ 1,38.

A análise dos dados de RMN ^1H (E - 170) para o composto 89 mostrou os mesmos sinais e deslocamentos que o composto 88, com exceção do deslocamento das metilas ligadas no carbono sobre o qual se encontra o grupo SCN. Observa-se uma variação no deslocamento que passa de δ 1,38 (derivado isotiocianato 88) para δ 1,50 (derivado tiocianato 89).

A estrutura do derivado tiociânico 89 pode ainda ser reiterada pelos dados de RMN ^{13}C (E - 171), cujos sinais em δ 111,9 e δ 56,0 podem ser atribuídos,

respectivamente, ao carbono insaturado do grupo SCN e ao carbono saturado ao qual se encontra ligado o grupo SCN.

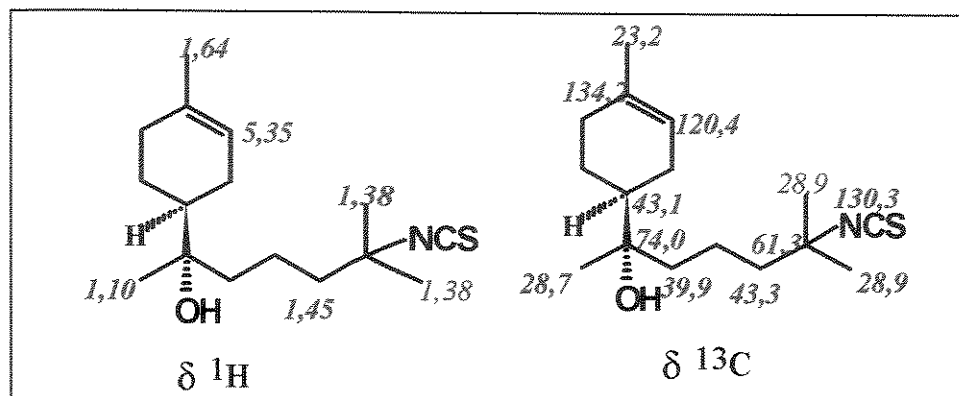


Figura 70 : deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o composto 88.

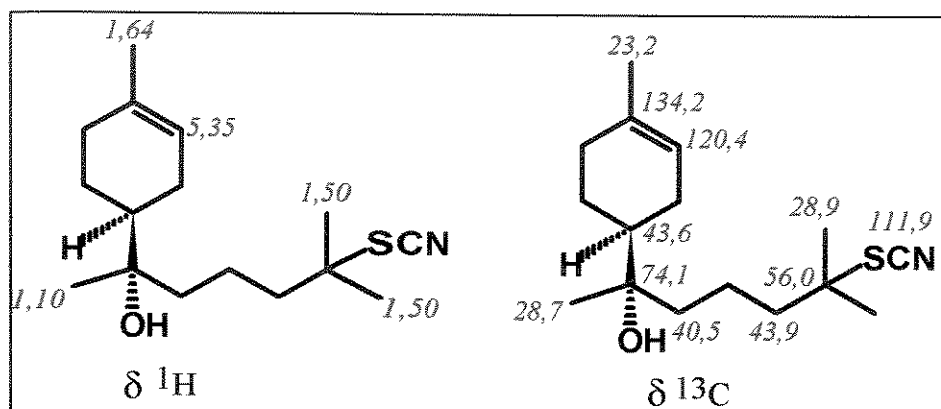


Figura 71: deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C para o composto 89.

A adição de HNCS à dupla exocíclica do bisabolol 82, resultando na formação dos produtos em rendimento razoável (35%), pode ser interpretada como uma consequência do auxílio anquimérico do grupo OH presente no sistema (figura 72).

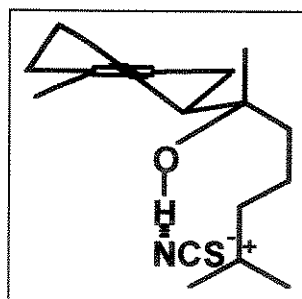


Figura 72 : auxílio anquimérico do grupo OH na formação do derivado tiocianico.

O resultado obtido a partir da adição de ácido HNCS ao bisabolol 82 difere do resultado obtido com o cadinol axial 80a. No experimento com o cadinol 80a observamos somente a formação do produto cinético 81(a e b), porém a reação com o bisabolol 82 levou a formação dos produtos cinético 89 e termodinâmico 88. Diante desses resultados pode-se concluir que a assistência anquimérica auxilia a formação dos produtos, porém não determina a formação de somente produtos cinéticos. A formação de produtos cinéticos na reação com o cadinol axial pode ser consequência da polimerização de HNCS. Possivelmente, existe um compromisso entre o tempo de formação dos produtos termodinâmicos e a polimerização do HNCS, ou seja, antes que o produto cinético converta-se em produto termodinâmico, o ácido polimeriza-se e perde seu potencial ativo no meio reacional. Esta hipótese pode ser confirmada através do experimento descrito abaixo.

3.3.3 - Adição de HNCS ao cadineno 90.

Neste experimento, depois de 24hs de reação, o resíduo proveniente da polimerização do ácido tiociânico foi eliminado por filtração e mais HNCS foi adicionado ao meio reacional. Depois de mais 48 horas de reação somente os produtos 91a e 91b foram detectados por CG/EM (E - 177). Os compostos 91a e 91b foram caracterizados como sendo os dois isômeros isotiociânicos por comparação com padrões disponíveis em nosso laboratório.

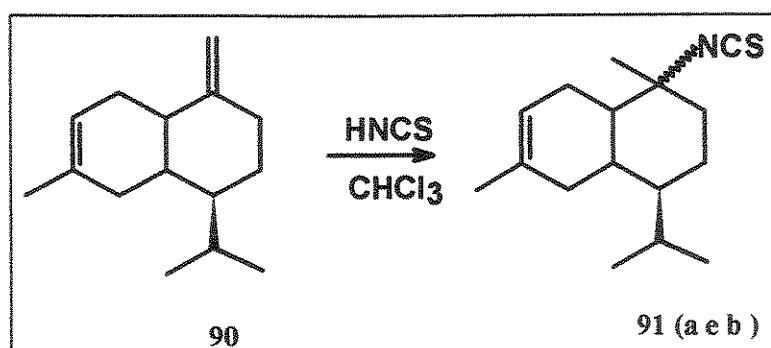


Figura 73: adição do HNCS ao cadineno 90.

Os espectros de massas (E - 177) de ambos os derivados 91a e 91b (t_r 11,2 e 11,7 respectivamente) apresentaram o íon molecular em m/z 263 com 37,5% e 12,5% de intensidade, cujo pico base para os dois epímeros estão mostrados abaixo:

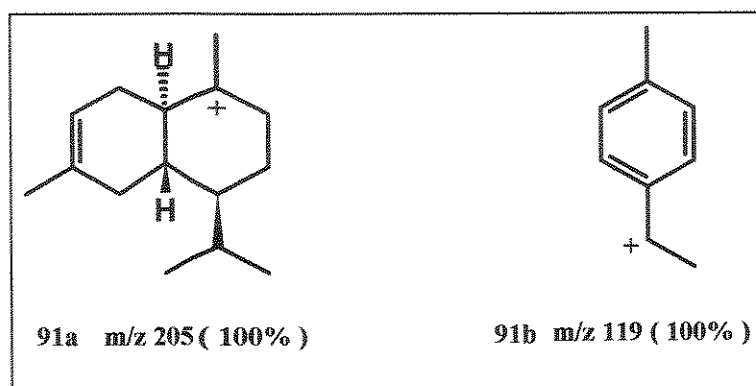
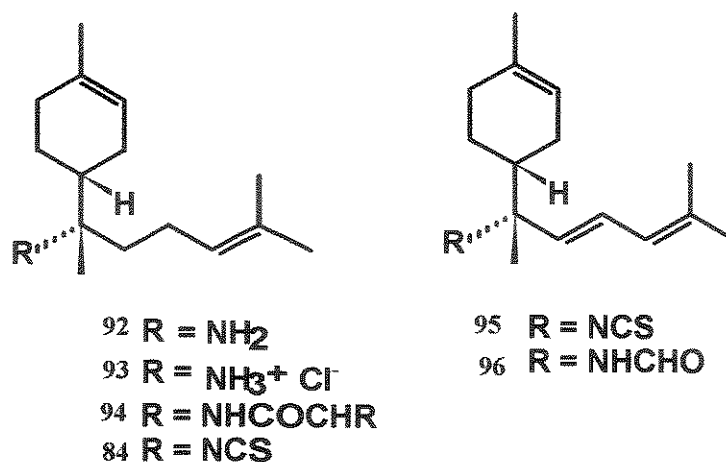


Figura 74 : pico base para os dois epímeros 91a e 91b

O experimento de adição do ácido HNCS ao cadineno 90, levou somente a formação de produtos termodinâmicos e permitiu concluir que a polimerização do ácido, com perda da atividade no meio reacional, pode ser o fator responsável pela formação de quantidades variáveis dos derivados isotiociantos e tiocianatos.

3. 3. 4 - SÍNTESE DO PRODUTO NATURAL 7S - ISOTIOCIANATO - 7,8 - DI - HIDRO - BISABOLENO (84)

Sesquiterpenos bisabolênicos de origem marinha ocorrem em esponjas da ordem *Thionella*, juntamente com as aminas e formamidas correspondentes. Estes compostos apresentam importante atividade antimicrobial, inibindo o crescimento de *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, etc⁵⁸.



A comprovação da quimio e regioseletividade da adição de HNCS à duplas ligações, permitiu também viabilizar a síntese do produto natural 84 através da adição direta do ácido tiociânico ao bisaboleno 83a (figura 65). O produto 7S - isotiocianato - 7,8 di - hidro - bisaboleno 84⁵⁴, juntamente com o seu diastereoisômero, foi obtido em duas etapas através da desidratação do bisabolol 82 e adição do HSCN à mistura dos 3 isômeros do bisaboleno 83 (a, b, c) (figura 75).

A desidratação do bisabolol foi conduzida segundo método descrito na literatura⁵⁹, com uma mistura de piridina/ $SOCl_2$ a 0°. Depois de 48 hs o produto foi extraído do meio reacional através de lavagens sucessivas com éter etílico e purificado por cromatografia em coluna para fornecer o produto em 56% de rendimento. Análise por CG, indicou a presença de dois picos em uma proporção de 1,5 : 1 que foram atribuídos à mistura de bisabolenos 83 (a,b,c).

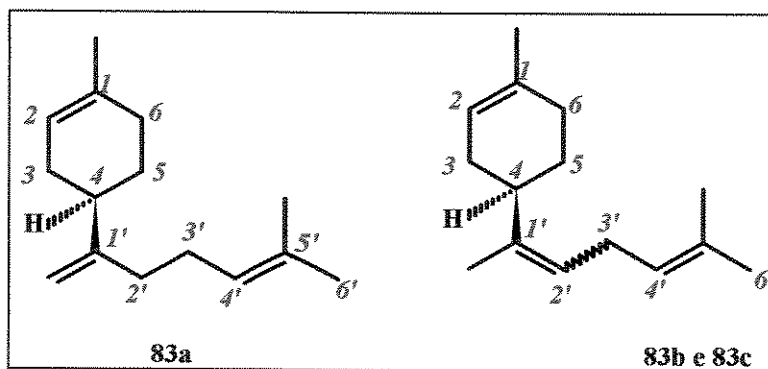


Figura 75: mistura de bisabolenos 83 (terminal, E e Z) obtida na desidratação do bisabolol 82

Os bisabolenos 83a, 83b e 83c não puderam ser separados e a mistura foi caracterizada por RMN ^1H (δ - 178) e RMN ^{13}C (179).

O sinal correspondente aos carbonos do grupo metilênico ($\text{H}_2\text{C} = \text{CRR}'$) aparece em δ 108,0. O valor do deslocamento e a inversão do sinal no espectro DEPT servem como indicação segura da formação do bisaboleno terminal. Adicionalmente a este fato, a presença do sinal em δ 4,73 ($J < 1,0$ Hz), reiteram esta afirmativa.

Os sinais referentes aos bisabolenos E e Z foram atribuídos por comparação com os dados da literatura para estes dois compostos⁶⁰.

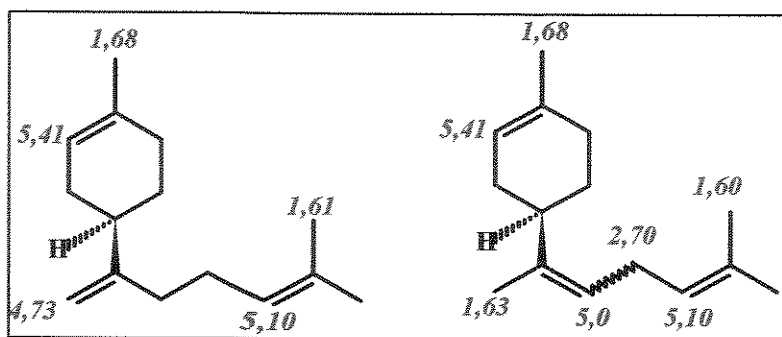


Figura76: Deslocamentos químicos de RMN ^1H para os bisabolenos 83 (a,b,c).

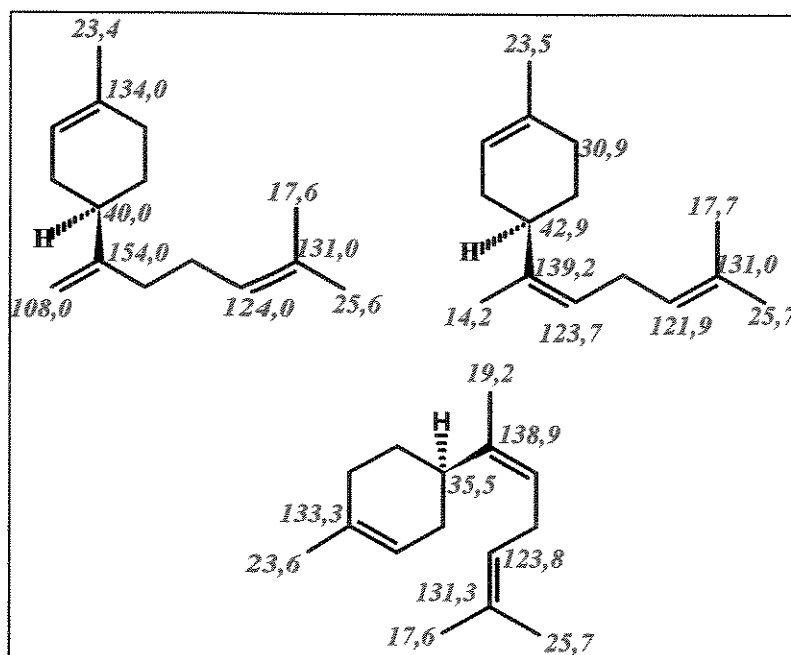


Figura 77: deslocamento químicos de RMN ^{13}C para a mistura de bisabolenos 83 (a,b,c).

A mistura de bisabolenos 83a, 83b e 83c foi submetida à reação com HNCS. Devido a quimiosseletividade da dupla terminal, obtém-se, depois de 2 horas de

reação, o composto 84a e seu diastereoisômero 84b (77,8% de rendimento referente a mistura dos dois compostos) que foram facilmente separados dos bisabolenos E e Z (83b e 83c) por eluição com hexano:éter 5%.

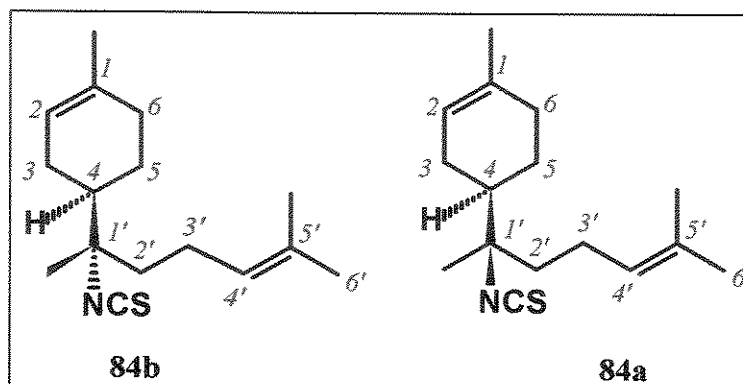


Figura 78: compostos 84a e 84b

A mistura dos dois diastereoisômeros 84a e 84b foi caracterizada através do espectro de RMN ^1H (E - 183), pela presença de duas metilas em $\delta 1,34$ e $\delta 1,32$. Todos os sinais relativos aos outros hidrogênios são coincidentes para os dois compostos.

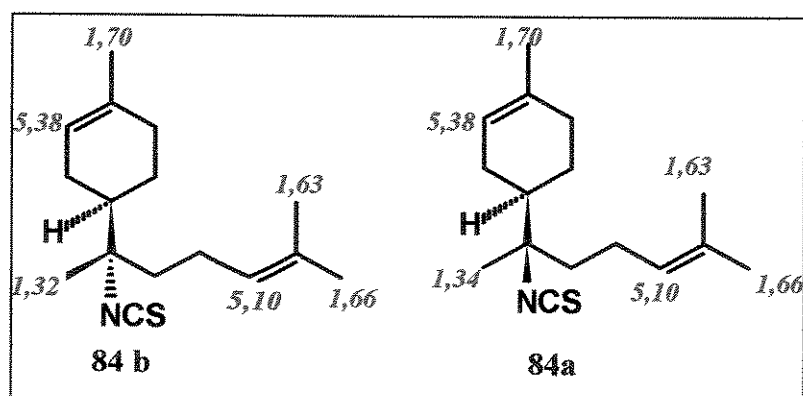


Figura 79: deslocamentos químicos de RMN ^1H para os isotiocianatos 84a e 84b.

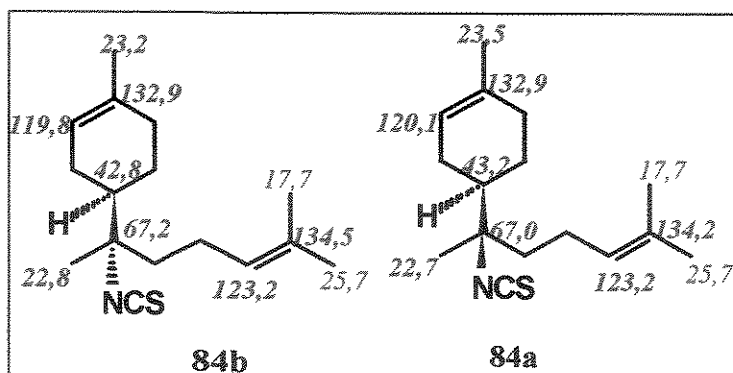


Figura 80: deslocamentos químicos de RMN ^{13}C para os diastereoisômeros 84 a e 84b.

O espectro de RMN ^{13}C (E - 185) apresentou uma duplicidade de sinais com diferenças sutis que puderam ser atribuídos por comparação com os deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e RMN ^1H , reportados na literatura para o produto natural (+)-84⁵⁵ ($[\alpha]_D^{20} = +60^\circ$). Na figura 81 estão comparados os dados espectroscópicos do produto natural e os dados espectroscópicos do composto 84a obtido na síntese. Apesar de várias tentativas, infelizmente até o momento não foi possível separá-lo o composto 84a do diastereoisômero 84b.

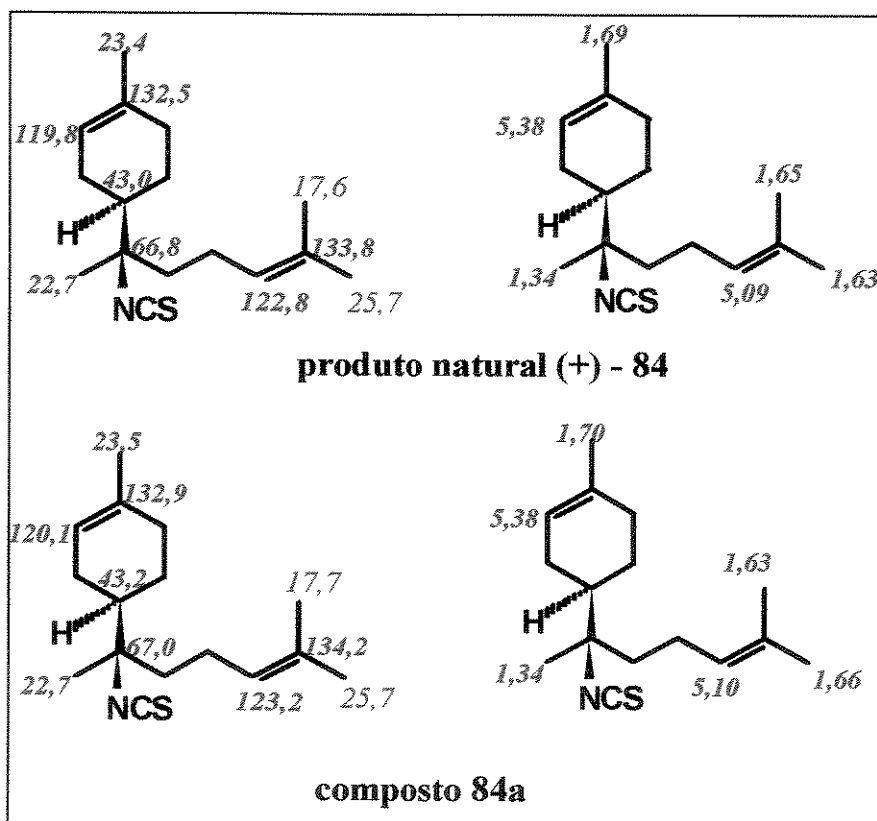


Figura 81 : comparação entre os deslocamentos químicos de RMN ^{13}C e ^1H do produto natural (+)-84 e do composto 84a obtido na síntese a partir do bisabolol 82.

3.4 - CONCLUSÃO :

Neste trabalho, pode-se contatar, através do monitoramento das reações por CG, a regioseletividade, quimiosseletividade e a interferência de grupos polares na velocidade de adição de HNCS à duplas ligações. A dupla terminal é, aproximadamente, 20 vezes mais reativa que a dupla ligação endocíclica trissubstituída e, muito provavelmente, a adição rápida de HNCS à dupla terminal está associada a efeitos estéreos. A comparação entre a dupla ligação trissubstituída do di - hidrolimoneno e a mesma dupla ligação trissubstituída no terpineol, confirmou a interferência dos grupos polares na cinética de reação.

O conjunto dos experimentos com os cadinóis 80 (a e b) e o bisabolol 82, confirmou o auxílio anquimérico da hidroxila na formação dos produtos de adição de HNCS à duplas ligações.

Fatores estereoeletrônicos, atrelados à presença de grupos polares no sistema como a hidroxila, controlam a reação auxiliando a formação dos produtos. Entretanto, os resultados do experimento com o cadineno 90, mostraram que a obtenção de diferentes proporções de produtos cinéticos e termodinâmicos é consequência da polimerização do HNCS no meio reacional antes que todo o produto cinético seja convertido em produto termodinâmico.

Finalmente, a metodologia foi aplicada à síntese do produto natural 84, através de uma rota sintética rápida, econômica e com bons rendimentos. A limitação da metodologia, neste caso, está relacionada à dificuldade de separação dos dois isômeros obtidos (84a e 84b).

PARTE EXPERIMENTAL

1. - MATERIAIS E MÉTODOS

Os pontos de fusão foram determinados em placa de aquecimento tipo Kofler, instalada em um microscópio modelo Thermopan (C . Reichert Optische Werke A . G.).

Os valores de rotação ótica foram determinados num polarímetro Polamat A - Polarímetro Automático Carl Zeiss com lâmpada de mercúrio com precisão de 0,050, utilizando-se CHCl_3 e MeOH como solventes.

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

$$[\alpha]_{\text{Hg}} = 1,17543 [\alpha]_{\text{Na}}$$

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

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{[\alpha]_{20\text{Hg}}}{1,17543c \times l}$$

onde: $[\alpha]_D^{20}$ = rotação específica

$[\alpha]_D^{20}$ = rotação ótica lida no aparelho

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

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

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em cela de KBr para líquidos (filme) ou pastilha de KBr para sólidos, em espectrofotômetro Perkin - Elmer 298 e 1600 FTIR utilizando-se como referência interna a absorção em 1601 cm^{-1} de filme de poliestireno.

Os espectros de RMN ^1H foram obtidos em espectrômetros Bruker AC (300 MHz) e Gemini 300 -Varian (300 MHz). Os deslocamentos químicos foram dados em

ppm utilizando o TMS ($\delta = 0,0$) ou o CHCl_3 ($\delta = 7, 23$) como referência interna. Os sinais foram caracterizados como s = singlete, d = dublete, t = triplete, q = quarteto, dd = duplo dublete, ddd = duplo duplo dublete, dt = duplo triplete, dq = duplo quarteto.

Os espectros de RMN ^{13}C foram obtidos em espectrômetros Brucker AC 300P (75,5 MHz) e Gemini 300-Varian (75,5 MHz). Os deslocamentos químicos foram dados em ppm, sendo $\delta = 0, 0$ para o TMS e $\delta = 77, 2$ para o CDCl_3 .

A interpretação dos dados foi realizada com a ajuda de técnica DEPT (135° e 90°) e confirmada por COLOC, COSY e HETCOR.

As análises por CG foram realizadas em cromatógrafo a gás Hewlet Packard - VCD 5890 A, com detector de ionização de chama, equipado com coluna capilar DB - 5 J & W Scientific (25m x 0,2 mm x 0,33 μm) ou coluna quiral heptakis - (2, 6 - metil - 3 - pentil) - β - ciclodextrina (20m x 0,25mm x 0,25 μm). Utilizou-se como gás de arraste o H_2 . A injeção foi da ordem de 0,1 μL de solução e as condições utilizadas foram: condição nº 1 = $55^\circ - 20^\circ \text{C} / \text{min.} - 120^\circ\text{C}$ (3min) - $1,5^\circ\text{C} / \text{min.} - 150^\circ \text{C}$ (10 min.) - $30^\circ \text{C} / \text{min.} - 200^\circ \text{C}$ (4 min.). Condição nº 2: 100°C (1 min.) - $30^\circ \text{C} / \text{min.} - 200^\circ \text{C}$ (10min.). Condição nº 3 : $100^\circ \text{C} - 2^\circ\text{C} / \text{min.} - 180^\circ \text{C}$. Condição nº 4 : $125^\circ \text{C} - 30^\circ \text{C} / \text{min.} - 150^\circ$. Condição nº 5 : $55^\circ \text{C} - 2^\circ \text{C} / \text{min.} - 80^\circ \text{C}$. Condição nº 6 : 70°C (3min.) - $20^\circ \text{C} / \text{min.} - 280^\circ \text{C}$ (15min.). Condição nº 7: 50°C (0,98 min.) - $10^\circ \text{C} / \text{min.} - 290^\circ \text{C}$ (20 min.).

As análises por CG/EM 70 eV foram realizadas em espectrômetro de massa HP 5790 - MSD conectado a cromatógrafo a gás Hewlet Packard - VCD 5890 A, equipado com coluna capilar DB - 5 J & W Scientific (25m x 0,2 mm x 0,33 μm) ou coluna quiral heptakis - (2, 6 - metil - 3 - pentil) - β - ciclodextrina (20m x 0,25mm x 0,25 μm). Utilizou - se Hélio como gás de arraste (1mL /min.) e a injeção foi da ordem de 0,1 μL de solução. As programações de temperatura são as mesmas utilizadas nas análises por CG.

As resinas florais das espécies de *Clusia* foram quantificadas por CLAE em cromatógrafo HP série II 1090, com detector de UV. Utilizou-se como eluente um gradiente de acetonitrila: água (60 % : 40 %) $\rightarrow$ acetonitrila 100% (5min.). A

quantificação foi feita usando-se curva de calibração, planiada a partir de várias concentrações da amostra e as suas respectivas áreas. A injeção foi da ordem de 10,0 µl de solução, um fluxo de 1,0 mL /min e uma pressão variando entre 1- 400 bar.

As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas utilizando-se sílica gel 60 da Merck, com granulometria 70 - 230 mesh ou Alumina neutra e os solventes somente destilados. O diâmetro interno e a altura das colunas variaram de acordo com a quantidade de material a ser separado.

Para a cromatografia em camada delgada (CCD) utilizou-se placas de vidro 5x20cm cobertas com uma camada de sílica gel HF ou CF₂₅₄ e com uma espessura de 0,25 mm. Utilizou-se também placas prontas de sílica sobre alumínio.

As frações coletadas nas CC foram controladas por CCD e a visualização dos compostos em CCD foi feita por irradiação com lâmpada de UV nos comprimentos de onda 254 e 366nm e por pulverização com revelador específico seguido de aquecimento.

Revelador de terpenos : p - anisaldeído/ H₂ SO₄/ HOAc (0,5:1,0: 0,5mL).

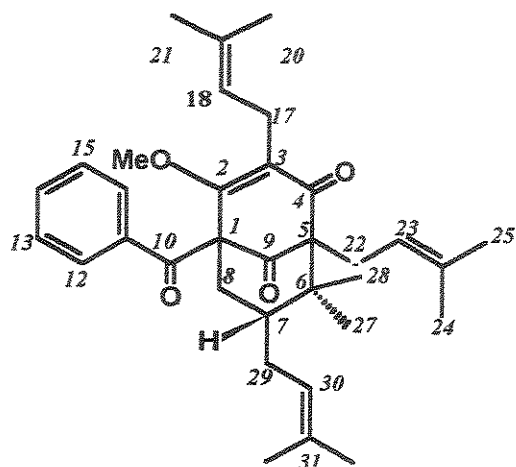
Os reagentes foram utilizados como adquiridos e os solventes foram purificados segundo Perrin e colaboradores⁶¹.

2 - ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS NATURAIS.

As resinas florais das espécies do gênero *Clusia* foram coletadas na Fazenda Santa Elisa do Instituto Agrônomo de Campinas, com a colaboração do biólogo Volker Bittrich.

Especimens Voucher estão depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Campinas por M.C.E. Amaral e V. Bittrich. V. Bittrich é responsável pelas identificações. *C. nemorosa* masculina (# 95/151), *C. nemorosa* hermafrodita (#95/150), *C. grandiflora* feminina (# 95/153), *C. grandiflora* masculina (#95/152) *C. rosea* (#95/154)

2.1 - Composto 17 (1-benzoil - 2- metoxi - 6,6 - dimetil - 3,5,7 - tris (3-metil -2 - butenil)-exo - biciclo [3.3.1] non - 2 - ene - 4,9 - diona) :



0,8 g de resina bruta de *C. grandiflora* masculina foram metiladas com 50 mL de uma solução etérea de CH_2N_2 recém preparado. Depois de 2hs de reação e da total eliminação do CH_2N_2 , o solvente foi evaporado e mais 25 mL de CH_2N_2 foi adicionado ao meio para garantir completa metilação da resina. O solvente foi novamente evaporado, o resíduo dissolvido em diclorometano e a solução seca com Na_2SO_4 anidro. Após filtração, a

solução foi concentrada e a resina metilada foi separada por cromatografia de coluna. O composto 17 puro foi eluído com uma mistura de hexano : éter 10% (200 mg, 25 % de rendimento).

Forma física : sólido incolor

Ponto de fusão : 88-91°C

$[\alpha]_D^{20} = +150$ (MeOH, c. 0,8)

IV (pastilha de KBr): ν_{max} 2966, 2916, 1720, 1702, 1654, 1604, 1241 cm^{-1}

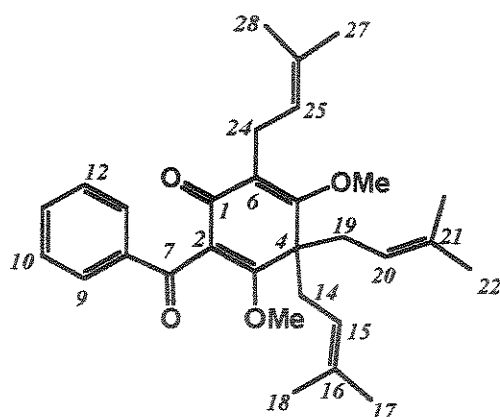
EM (70eV): íon molecular m/z 516 e principais fragmentos m/z (%) 447 (M^+ - C_5H_9 , 4), 298 (48), 87 (70,4), 74 (100).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 7,62 (2H, dd, $J=8$ e 1Hz, H -12 e H -16), 7,44(1H, tt, $J=8$ e 1 Hz, H - 14), 7,32 (2H, t, $J=8$ Hz, H - 13 e H - 15), 5,00 (2H, m, H - 18 e H - 23), 4,97(1H, m, H - 30), 3,34 - 3,25 (2H, dd, $J=16$ e 6,8 Hz), 2,56 - 2,50 (1H, dd, $J=13,7$, 7,0Hz), 2,10 (1H, m, H - 29), 1,94 (1H, dd, $J=3,4$ e 12,6 Hz eq., H - 8), 1,66 (18H, s, H - 7, H - 20, H - 21, H - 25, H - 26, H - 32), 1,55 (3H, s, H - 33), 1,42 (1H, t, $J=12,6$ Hz axial, H - 8), 1,34 (3H, s, H - 27), 1,19 (3H, s, H - 28).

RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 207,9 (C-9), 197,1 (C-10), 193,1 (C-4), 169,9 (C-2), 137,0 (C- 11), 134,4 (C- 19), 133,2 (C-31), 133,0 (C- 24), 132,1 (C - 14), 128,4 (C- 12 e C- 16), 127,9 (C-13 e C-15), 123,2 (C-3), 122,5 (C- 30), 121,5 (C-18), 119,6 (C-23), 74,4 (C- 5), 65,1 (C- 1), 61,6 (OMe), 47,8 (C - 6), 43,1 (C - 8), 42,5

(C - 7), 29,5 (C - 22), 27,6 (C - 29), 26,0 (C - 32), 25,8 (C - 20), 25,6 (C - 25), 24,4 (C - 27), 23, 2 (C - 17), 18,1 (C - 26), 18,0 (C - 21), 17,8 (C - 33), 16,1 (C - 28).

2.2 - Composto 19 - [(2 - benzoil - 3,5 - dimetoxi) - 4,4,6 - tris (3-metil - 2 - butenil) - 2,5-ciclohexadieno - 1 - ona] :



0,4 g de resina bruta de *C. grandiflora* masculina foram metiladas com 20 mL de uma solução eterea de CH_2N_2 recém preparada. Depois de 2hs de reação e da total eliminação do CH_2N_2 , o solvente foi evaporado e mais 20 mL de CH_2N_2 foi adicionado ao meio para garantir completa metilação da resina. O solvente foi novamente evaporado, o resíduo dissolvido em diclorometano e

a solução seca com Na_2SO_4 anidro. Após filtração, a solução foi concentrada e a resina metilada foi separada por cromatografia de coluna. A grandona pura foi eluída com uma mistura de hexano : éter 15% (25 mg, 6,25 % de rendimento).

Forma física : líquido amarelo

IV (pastilha de KBr): ν_{max} 2966, 2925, 1674, 1652, 1610, 1449 cm^{-1}

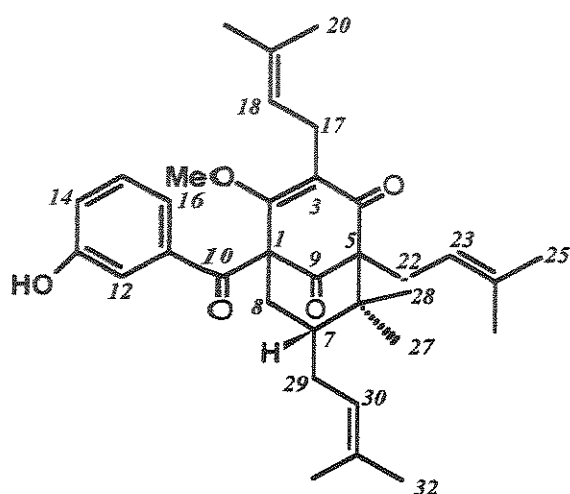
EM de alta resolução: íon molecular m/z 462,2770, calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_4$ 462,27701 e principais fragmentos 337,3(64), 323,3(36), 105,1(85), 41,0 (100).

Análise elementar calculada para $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_4$: C, 77,89%; H, 8,28 %; O, 13,83 %. Experimental: C, 77,68%; H, 8,20%; O, 14,12%.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 7,89 (2H, dd, $J=7,4$ e 1Hz, H - 9 e H - 13), 7,45 (1H, t, $J=7,4$ Hz, H - 11), 7,42 (2H, t, $J=7,4$ Hz, H - 10 e H - 12), 5,04 (1H, m, H - 25), 4,96 (2H, m, H - 15 e H - 20), 3,92 (3H, s, OMe), 3,57 (3H, s, OMe), 3,14 (2H, d, $J=6$ Hz, H - 24), 2,62 (4H, m, H - 14 e H - 19), 1,65 (6H, s, H - 17 e H - 22), 1,58 (3H, s, H - 27), 1,57 (3H, s, H - 28), 1,54 (6H, s, H - 18 e H - 23).

RMN ^{13}C (75,7MHz, CDCl_3/TMS) δ : 196,5 (C - 7), 188,0 (C - 1), 170,7 (C - 5), 169,6 (C - 3), 138,5 (C - 8), 134,6 (C - 16 e C - 21), 133,0 (C - 11), 131,6 (C - 26), 129,2 (C - 9 e C - 13), 128,6 (C - 10 e C - 12), 123,4 (C - 2), 122,6 (C - 25), 118,7 (C - 15), 118,0 (C - 6), 61,6 (OMe), 59,6 (OMe), 53,8 (C - 4), 35,8 (C - 14 e C - 19), 25,9 (C - 17 e C - 22), 25,6 (C - 27), 17,9 (C - 18, C - 23 e C - 28).

2.3 - Composto 21 [1 - (3'-hidroxi-benzoil) - 2 - metoxi - 6,6 - dimetil - 3,5,7 - tris (3-metil - 2 - butenil) - exo - biciclo[3.3.1] non - 2 - ene - 4,9 - diona].



2,6g de resina bruta de *C. nemorosa* hermafrodita foram metiladas com 100 mL de uma solução etérea de CH_2N_2 recém preparada. Depois de 2hs de reação, o solvente foi evaporado e mais 50 mL de CH_2N_2 foi adicionado ao meio para garantir completa metilação da resina. O solvente foi novamente evaporado, o resíduo dissolvido em diclorometano e a

solução seca sobre Na_2SO_4 anidro. Após filtração, a solução foi concentrada e a resina metilada foi separada por cromatografia de coluna. O composto 21 puro foi eluído com uma mistura de hexano : éter 30% (140 mg, 5,4 % de rendimento).

Forma física : sólido incolor

EM de alta resolução: íon molecular m/z 532,3188 calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_5$, 532,31887 e principais fragmentos m/z (%) 463,5 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_9$, 80), 339,3 ($\text{M}^+ - \text{C}_5\text{H}_9 - \text{C}_9\text{H}_{16}$, 100).

Ponto de fusão : 134-136 °C.

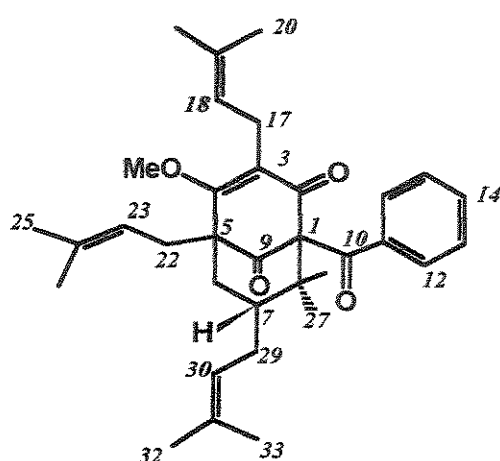
$[\alpha]_D^{20} = +142,8$ (MeOH, c . 0.7).

IV (pastilha de KBr): ν_{max} 3365, 2966, 2913, 1721, 1705, 1654, 1608, 1239 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 7,27 (1H, sl, H -12), 7,12 (1H, tt, $J=7,7\text{Hz}$, H - 15), 7,02 (2H, t, $J=7,7\text{Hz}$ e 1Hz, H - 16), 6,97 (1H, dl, H - 14), 6,12 (1H, sl, OH) 5,00 (2H, m, H - 18 e H - 23), 4,98 (1H, m, H - 30), 3,50 (3H, s, OMe), 3,35 - 3,20 (2H, dd, $J=16$ e 6,4Hz), 2,57 - 2,47 (2H, dd, $J=12,9$ e 7 Hz), 2,09 (1H, m H - 29), 1,94 (1H, dd, $J=3,4$ e 12,6 Hz eq., H - 8), 1,66 (17H, s, H - 7, H - 20, H - 21, H - 25, H - 26, H - 29, H-32), 1,54 (3H, s, H - 33), 1,42 (1H, t, $J=12,6$ Hz axial, H-8), 1,33 (3H, s, H - 27), 1,17 (3H, s, H - 28).

RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 207,9 (C-9), 197,4 (C-10), 193,0 (C-4), 170,0 (C-2), 138,3 (C-11), 134,5 (C-19), 133,2 (C-31), 133,1 (C-24), 155,9 (C-13), 128,9 (C-15), 123,0 (C-3), 122,4 (C-30), 121,4 (C-18), 120,5 (C-16), 119,6 (C-23), 119,4 (C-14), 115,2 (C-12), 74,1 (C-5), 65,2 (C-1), 61,6 (OMe), 47,9 (C-6), 43,1 (C-8), 42,4 (C-7), 29,4 (C-22), 27,6 (C-29), 25,9 (C-32), 25,8 (C-20), 25,6 (C-25), 24,4 (C-27), 23,2 (C-17), 18,1 (C-26), 17,9 (C-21), 17,8 (C-33), 16,1 (C-28).

2.4 - Composto 23: [1-benzoil - 4- metoxi - 8,8 - dimetil - 3,5,7 - tris (3-metil -2 - butenil)-exo - biciclo [3.3.1] non - 3 - ene - 2,9 - diona]



0,9 g de resina bruta de *C. rosea* foram metiladas com 50 mL de uma solução etérea de CH_2N_2 recém preparada. Depois de 2hs de reação, o solvente foi evaporado e mais 20 mL de CH_2N_2 foi adicionado ao meio para garantir completa metilação da resina. O solvente foi novamente evaporado, o resíduo dissolvido em diclorometano e a solução seca com Na_2SO_4 anidro. Após filtração, a solução 23 foi eluído com uma mistura de hexano: acetato de etila 5% (20 mg, 2,2 % de rendimento).

Forma física : óleo incolor

$$[\alpha]_D^{20} = +48.6 (\text{CHCl}_3, c.1.4)$$

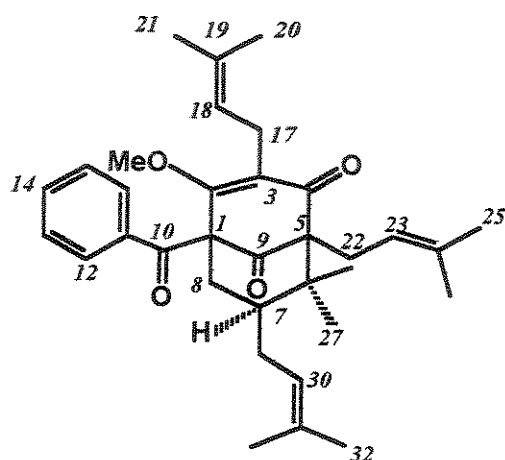
IV (filme): ν_{max} 3446, 1716, 1657, 1608, 1384 cm^{-1} .

EM de alta resolução: íon molecular m/z 516,3239 calculado para $C_{34}H_{44}O_4$ 516,32395 e principais fragmentos m/z (%) 447 ($M^+ - C_5H_9$, 28), 323 (45), 142 (29), 105 (24), 69 (100).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$ / TMS) δ : 7,45 (2H, dd, $J=9,6$ e $1,6$ Hz, H - 12 e H - 16), 7,38 (1H, tt, $J=7,8$ e 1 Hz, H - 14), 7,23 (2H, t, $J=7,4$ Hz, H - 13 e H - 15), 5,03 (3H, m, H - 18 e H - 23 e H - 30), 3,25 - 3,15 (2H, dd, $J=15$ e $7,2$ Hz), 2,60 - 2,45 (1H, dd, $J=14$ e $6,9$ Hz), 2,20 (1H, m H - 29), 2,03 (1H, dd, $J=3,6$ e $13,2$ Hz eq., H - 6), 1,70 (1H, m, H - 29), 1,69 - 1,67 (19H, s H - 7, H - 20, H - 21, H - 25, H - 26, H - 32 e H - 33), 1,50 (1H, t, $J=6,9$ Hz axial, H - 6), 1,35 (3H, s, H - 27), 1,13 (3H, s, H - 28).

RMN ^{13}C (75,5 MHz, $CDCl_3$ / TMS) δ : 207,3 (C-9), 194,0 (C-10), 193,1 (C-2), 173,1 (C-4), 136,2 (C-11), 134,4 (C-19), 133,5 (C-31), 133,0 (C-24), 131,9 (C-14), 128,5 (C-12 e C-16), 127,7 (C-13 e C-15), 126,8 (C-3), 122,6 (C-30), 121,3 (C-18), 119,5 (C-23), 79,2 (C-1), 59,8 (C-5), 62,4 (OMe), 48,8 (C-8), 43,7 (C-7), 40,7 (C-6), 29,7 (C-22), 26,7 (C-29), 26,0 (C-21), 25,8 (C-32), 25,6 (C-25), 23,4 (C-27), 23,3 (C-17), 18,1 (C-26), 17,9 (C-20 e C-33), 15,7 (C-28).

2.5 - Composto 25 [1-benzoil- 2- metoxi - 6,6 - dimetil- 3,5,7 - tris (3-metil -2 - butenil)-exo - biciclo [3.3.1] non - 2 - ene - 4,9 - diona].



1,8 g de resina bruta de *C. nemorosa* masculina foram metiladas com 80 mL de uma solução etérea de CH_2N_2 recém preparado. Depois de 2hs de reação, o solvente foi evaporado e mais 25 mL de CH_2N_2 foi adicionado ao meio para garantir completa metilação da resina. O solvente foi novamente evaporado, o resíduo dissolvido em diclorometano e a solução seca com Na_2SO_4 anidro. Após filtração, a solução foi concentrada e a resina metilada foi separada por cromatografia de coluna. O composto 25 foi eluído com uma mistura de hexano:éter 5% (400 mg, 23 % de rendimento).

Forma física : sólido incolor

$[\alpha]_D^{20} = 140,7$ (CHCl₃, c.3.1)

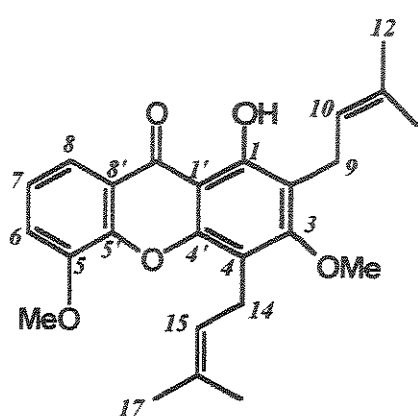
IV (pastilha de KBr): $\nu_{\max}$ 3423, 2964, 2924, 1722, 1702, 1654, 1607, 1240 cm⁻¹.

EM de alta resolução: m/z 516,3239 calculado para C₃₄H₄₄O₄ 516,32395 e principais fragmentos m/z (%) 447 (M⁺ - C₅H₉, 72), 323 (100), 281 (76), 105 (62), 69 (100).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/ TMS) δ : 7,62 (2H, dd, J= 8 e 1Hz, H -12 e H - 16), 7,44 (1H, tt, J=8 e 1 Hz, H - 14), 7,32 (2H, t, J= 8 Hz, H - 13 e H - 15), 5,03 (1H, tt, J = 6 Hz, H - 23), 4,94 (1H, tt, J = 6Hz, H - 18), 4,87 (1H, tt, J = 6Hz, H - 30), 3,30 - 3,16 (2H, dd, J=20 e 12 Hz, H - 17), 2,60 - 2,50 (2H, dd, J = 21 e 7,8 Hz, H - 22), 2,28 (1H, m H - 29), 2,12 (1H, m, H - 8), 1,90 (2H, m, H - 29 e H - 8), 1,68 -1,66 (18 H, s, H - 20, H - 21, H - 25, H - 26, H - 32), 1,53 (3H, s, H - 33), 1,48 (3H, s, H - 27), 1,38 (1H, m, t, H - 7), 1,40(3H, s, H - 28).

RMN ¹³C (75,7 MHz, CDCl₃/ TMS) δ : 209,2 (C-9), 197,8 (C-10), 193,3 (C-4), 170,7 (C-2), 136,8 (C- 11), 134,7 (C- 19), 132,9 (C-24), 132,2 (C- 31), 132,0 (C- 14), 128,5 (C- 12 e C- 16), 127,8 (C-13 e C-15), 124,9 (C- 30), 122,0 (C-3), 120,8 (C-18), 119,4 (C-23), 73,0 (C- 5), 61,4 (OMe), 63,4 (C- 1), 49,5 (C - 6), 48,6 (C - 7), 41,9 (C - 8), 30,2 (C - 22), 30,0 (C - 29), 27,2 (C - 27), 26,0 (C - 32), 25,8 (C - 20), 25,6 (C - 25), 23,9 (C - 28), 23, 6 (C - 17), 18,1 (C - 26), 17,9 (C -21), 17,8 (C - 33).

2.6 - Composto 27 - 1 - hidroxí - 3,5 - dimetoxi - 2,4 - di (3 - metil - 2 - butenil) - 9H - 9 - xantenona.



0, 24 g de resina bruta de *C. nemorosa* hermafrodita foram metiladas com 20 mL de uma solução etérea de CH_2N_2 recém preparado. Depois de 2hs de reação, o solvente foi evaporado e mais 10 mL de CH_2N_2 foi adicionado ao meio para garantir completa metilação da resina. O solvente foi novamente evaporado, o resíduo dissolvido em diclorometano e a solução seca com Na_2SO_4 anidro. Após filtração, a solução foi concentrada e a resina metilada foi separada por

cromatografia de coluna. O composto 27 foi eluído com uma mistura de hexano : éter 10 (30 mg, 4,2 % de rendimento).

Forma física : sólido amarelo

Ponto de fusão : 97 -99° C

IV (pastilha de KBr): ν_{max} 2966, 2924, 1641, 1610, 1497, 1253 cm^{-1} .

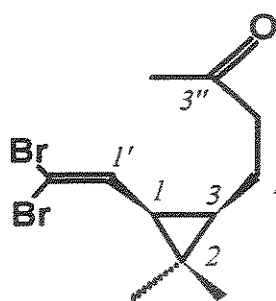
EM de alta resolução: íon molecular m/z 408,1933 calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_5$ 408,19337 principais fragmentos m/z (%) 353 (100), 283 (12), 263 (95), 105 (14).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) δ :12,97 (1H, singlete largo, OH), 7,83 (1H, dd, $J = 8$ e 1,8 Hz, H - 8), 7, 22 (2H, m, H - 7 e H - 6), 5,30 (2H, m, H - 10 e H - 15), 4,00 (3H, OMe), 3,84 (3H, OMe), 3, 60 (2H, d, $J = 6,9$ Hz, H-9), 3,42 (2H, d, $J = 6,6$ Hz, H - 14), 1,90 (3H, s, H - 17), 1,82 (3H, s, H - 12), 1,70 (3H, s, H - 13), 1,60 (3H, s, H - 18).

RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) δ :181,9 (C=O), 163,8 (C - 3), 158,9 (C - 1), 152,8 (C - 4'), 148,7 (C - 5), 146, 7 (C - 5'), 131,9 (C - 11), 131,8 (C - 16), 123,2 (C - 7), 122,7 (C - 10), 122,6 (C - 15), 121,2 (C - 2), 117,2 (C - 4), 116,7 (C - 6), 115,8 (C - 8), 113,5 (C - 8'), 106,1 (C - 1'), 61,8 (OMe), 56,3 (OMe), 25,8 (C - 13), 25,7 (C - 18), 22,7 (C - 9), 22,5 (C - 14), 17,9 (C - 12), 17,8 (C - 17).

3 - SÍNTESES

3.1 -Bromoolefina 46: (-) -1*S* - *cis* - 1 - (2',2'- dibromoetenil) - 2,2 - dimetil - 3 - (3''-oxobutil) ciclopropano.



Ozônio foi borbulhado em uma solução de (+) - 2 - careno (1g ; 7,34 moles) em CH_2Cl_2 (50 mL). Depois de 1h, antes que a reação se completasse, nitrogênio foi borbulhado na solução para eliminar o excesso de ozônio e, em seguida, PPh_3 (1,4 g) foi adicionado ao meio reacional. A reação foi deixada à temperatura ambiente até atingir 0°, o solvente foi parcialmente evaporado e o

resíduo foi adicionado a uma solução de PPh_3 (8,0 g ; 30,5 mmoles) e CBr_4 (4,8g ; 20,16 mmoles) em CH_2Cl_2 (50mL). Após 10 min. de reação, o solvente foi evaporado e a purificação do produto bruto em coluna cromatográfica, eluída com hexano: acetato de etila 30%, forneceu 1g da bromoolefina 46 (42 % de rendimento nas duas etapas).

Forma física : líquido marron

$[\alpha]_D^{20} = -39,4$ (CHCl_3 , c.4.0)

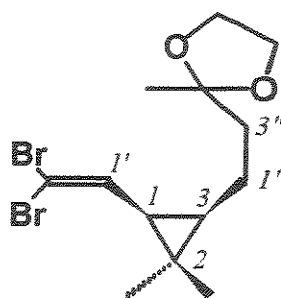
IV (filme): ν_{max} 2948, 2911, 1716, 1363, 1165, 766 cm^{-1} .

EM (70eV) íon molecular m/z 324 (ausente), principais fragmentos m/z (%) 253 (3), 266 (3), 185 (14), 119 (7), 106 (38), 43 (100).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 6,10 (1H, d, $J = 8,6$ Hz, H - 1'), 2,45 (2H, t, $J = 7,7$ Hz H - 2''), 2,16 (3H, s, H - 4''), 1,71 - 1,50 (2H, m, H - 1''), 1,40 (1H, t, $J = 8,6$ Hz, H - 1), 1,12 (3H, s, Me sobre C - 2), 1,00 (3H, s, Me sobre o C - 2), 0,93 (1H, q, $J = 8,6$ Hz, H - 3).

RMN ^{13}C (75,7MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 208,9 (C - 3''), 135,8 (C - 1'), 88,1 (C - 2'), 43,4 (C - 2''), 31,1 (C - 3), 30,3 (C - 1), 30,1 (C - 4''), 28,7 (Me sobre o C - 2), 22,6 (C - 2), 19,8 (C - 1''), 15,8 (Me sobre o C - 2).

3.2 - Bromoolefina acetal 46a



Uma quantidade catalítica de ácido *p* - toluenossulfônico foi adicionada a uma solução da bromoolefina 46 (1g, 3,08 mmoles) e etileno glicol (2mL) em benzeno (70 mL). A mistura reacional foi aquecida sob refluxo (5 hs) com contínua eliminação de água usando-se Dean - Stark. Et₂O (50mL) foi adicionado ao meio reacional e a solução resultante foi lavada com H₂O (3 x 100mL) e a fase orgânica seca sobre Mg₂SO₄ anidro. A solução foi concentrada em evaporador rotativo, fornecendo 1,2 g do composto 46a (100%)

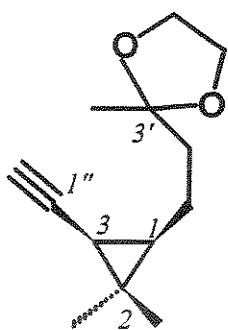
Forma física : sólido marron.

EM (70eV): íon molecular *m/z* 368 (ausente), principais fragmentos *m/z* 353 (3), 266 (3), 185 (14), 145 (5), 97 (100), 43 (98).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/ TMS) δ : 6,13 (1H, d, *J* = 8,7Hz, H - 1'), 3,95 (4H, m, OCH₂CH₂O), 1,65 (2H, m, H - 2'), 1,32 (3H, s, H - 4'), 1,50 - 1,30 (2H, m, H - 1'', H - 1), 1,15 (3H, s, Me sobre C - 2), 1,05 (3H, s, Me sobre o C - 2), 0,94 (1H, q, *J* = 8,5 Hz, H - 3).

RMN ¹³C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) δ : 136,2 (C - 1'), 109,8 (C - 3'), 87,4 (C - 2'), 64,5 (OCH₂CH₂O), 38,5 (C - 2''), 30,9 (C - 1), 30,8 (C - 3), 23,4 (C - 4'), 28,5 (Me sobre o C - 2), 22,4 (C - 2), 19,9 (C - 1''), 15,5 (Me sobre o C - 2).

3.3- Alcino 40a : (+) - 1*R* - *cis* - 3 - etinil - 2, 2 -dimetil-1-(3' - oxobutil) ciclopropano etileno acetal.



Uma solução de 2,36 M de *n*-BuLi (3,0 mL, 7,0 mmol) em pentano, foi adicionada a uma solução da bromoolefina 46a (1g, 2,99 mmoles) em THF (30 mL) a -78°C, sob atmosfera inerte de N₂. A mistura reacional foi deixada por 1h, sob agitação a -78°C e em seguida por mais 1h à temperatura ambiente. H₂O foi adicionada ao meio reacional e a solução foi extraída com éter (3 x 30mL). As frações orgânicas combinadas foram secas sobre MgSO₄ anidro,

filtradas e concentradas em evaporador rotativo. A purificação do produto bruto da reação em coluna cromatográfica eluída com hexano: acetato de etila 20%, forneceu 500mg (85%) do alcino 40a.

Forma física : óleo incolor

$[\alpha]_D^{20} = + 2,8$ (CHCl_3 , c. 3,0)

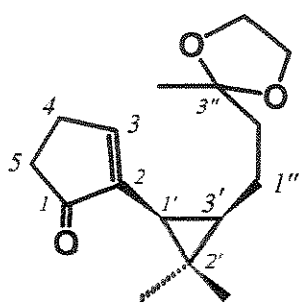
IV (filme): ν_{max} 3312, 2950, 2110, 1377 cm^{-1}

CG/EM (70 eV) íon molecular m/z 192 , principais fragmentos m/z (%) 165 (2), 105 (6), 43 (82).

RMN ^1H (300MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 3,95 (4H, sl, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1,89 (1H, d, $J=2,4$ Hz, H -2''), 1,86 - 1,42 (4H, m, H - 1' e H - 2'), 1,34 (3H, s, H - 4'), 1,16 (1H, dd, $J=8,4$ Hz e 2,5 Hz, H - 3), 1,10 (3H, s, Me sobre o C - 2), 0,76 (1H, ql, $J=8,4$, H - 1).

RMN ^{13}C (75,7MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 109,9 (C - 3'), 83,0 (C - 1''), 67,6 (C - 2''), 64,6 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 64,5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 38,2 (C - 2'), 29,5 (Me sobre C - 2), 27,6 (C - 1), 23,7 (C - 4'), 21,6 (C - 2), 20,2 (C - 1'), 17,2 (C - 3), 15,9 (Me sobre C - 2).

3.4 - nortailoriona acetal 38a.



Alcino 40a (120 mg, 0,58 mmol) foi adicionado a uma solução de $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (420 mg, 1,20 mmol) em tolueno seco (20 mL), sob atmosfera de argônio, à temperatura ambiente. A mistura reacional foi agitada durante uma noite na ausência de luz e, em seguida, foi filtrada sobre celite. A solução resultante foi concentrada em evaporador rotativo e o resíduo purificado sobre alumínia neutra em

coluna cromatográfica. O complexo $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ - alcino foi dissolvido em tolueno seco dentro de uma ampola de vidro e na solução foram borbulhadas CO e acetileno durante 10 min. Em seguida, a ampola foi lacrada e aquecida a 70°C por 52 horas. Evaporação do solvente e purificação do produto bruto em coluna cromatográfica eluída com hexano: acetato de etila 25% forneceu 45mg do derivado acetal 38a (30%).

Forma física : óleo incolor

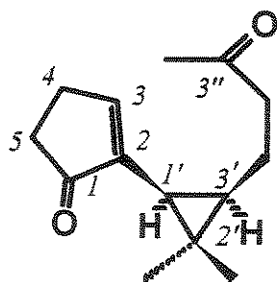
IV (filme) : $\nu_{\text{máx}}$ 1684, 1600, 1265, 730 cm^{-1} .

CG/EM (70eV): íon molecular m/z 264, principais fragmentos m/z (%) 249 (3), 221 (2), 203 (2), 177 (3), 133 (2), 115 (3), 87 (100), 43 (48).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 7,25 (1H, m, H-3), 3,90 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2,58 (2H, m, H-4), 2,36 (2H, m, H-4), 1,65 (2H, t, $J=8,7$ Hz, H-2''), 1,38 (3H, m, H-1' e H-1''), 1,30 (3H, s, H-4''), 1,17 (3H, s, Me sobre o C-2'), 0,98 (3H, s, Me sobre o C-2'), 0,90 (1H, q, $J=8,7$ Hz, H-3').

RMN ^{13}C (75,5 Hz, CDCl_3/TMS) δ : 210,9 (C-1), 155,7 (C-3), 143,2 (C-2), 109,8 (C-3''), 64,5 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 38,9 (C-2''), 33,6 (C-5), 29,2 (C-3'), 29,0 (Me sobre o C-2), 26,6 (C-5), 23,6 (C-4''), 22,1 (C-1'), 20,3 (C-2'), 19,8 (C-1'') e 15,4 (Me sobre o C-2).

3.5 - (+) - nortailoriona 38: (1'S) - cis - 2 - [2', 2'- dimetil 3' - (3''- oxobutil) ciclopropil] ciclopent - 2 - en - 1 - ona .



A uma solução de 38a (45 mg, 0,17 mmoles) em acetona (5 mL) e duas gotas de água, sob agitação, foi adicionada uma quantidade catalítica de PPTS. Depois de 3 horas de reação, o solvente foi removido em evaporador rotativo e o resíduo dissolvido em éter etílico (5 mL). A solução etérea foi lavada com H_2O (3 x 5 mL) e as frações orgânicas combinadas e secas sobre Na_2SO_4 . A solução

foi filtrada sobre sílica gel e concentrada em evaporador rotativo fornecendo 40 mg (98%) do composto 38.

Forma física : líquido incolor

$[\alpha]_D^{20} = +26$ (CHCl_3 , c. 1,0)

IV (filme): $\nu_{\text{máx}}$ 1707, 1604, 1495 cm^{-1}

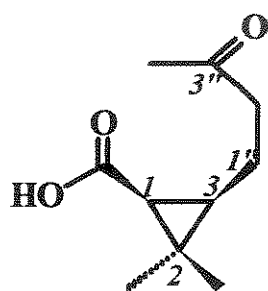
Índice de retenção (coluna quiral) : 1932

CG/EM (70 eV): íon molecular m/z 220, principais fragmentos m/z (%) 202 (4), 175 (8), 163 (8), 121(4), 105 (12), 91(30), 71(36), 43 (100).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 7,26 (1H, m, H - 3), 2,58 (2H, m, H - 4), 2,46 (2H, t, $J=8,7$ Hz, H - 2''), 2,37 (2H, m, H - 4), 2,13 (3H, s, H - 4''), 1,38 (1H, dm, H - 1'), 1,16 (3H, s, Me sobre o C - 2'), 0,98 (3H, s, Me sobre o C - 2'), 0,87 (1H, q, $J = 8,7$ Hz, H - 3').

RMN ^{13}C (75,5Hz, CDCl_3/TMS) δ : 211,8 (C - 3''), 209,7 (C - 1), 157,3 (C - 3), 143,5 (C - 2), 43,9 (C - 2''), 33,9 (C - 5), 30,2 (C - 4''), 29,2 (Me sobre o C - 2), 28,6 (C - 1'), 26,8 (C - 5), 22,3 (C - 3'), 20,4 (C - 2'), 19,5 (C - 1''), 15,8 (Me sobre o C - 2).

3.6 - Ácido 47 - ácido - 1 - carboxi - 2,2 - dimetil - 3 - (3''- oxobutil) - (1S, 3R) ciclopropano.



Uma solução de 2 - (+) - careno (1g, 7,34 mmoles) em CH_2Cl_2 (40 mL), sob agitação, a -78° , foi tratada com O_3 . A coloração azul indicou o final da reação (1h) e nitrogênio foi borbulhado através da solução para eliminar o excesso de ozônio. Me_2S (8 mL) foi adicionado ao meio reacional e a solução foi deixada à temperatura ambiente até atingir 0°C . O solvente foi evaporado e o composto

47 (1,20 g) foi obtido em 89% de rendimento e utilizado diretamente nas etapas posteriores.

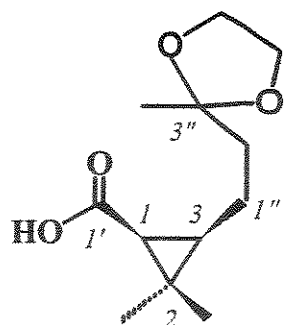
Forma física : óleo incolor

IV (filme): ν_{max} 2955, 1710, 1437 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 8,26 (1H, sl, OH), 2,46 (2H, t, $J = 7,30$ Hz, H - 2''), 2,16 (3H, s, H - 4''), 1,95 (2H, m, H - 1''), 1,43 (1H, d, $J = 8,42$ Hz, H - 1).

RMN ^{13}C (75,5Hz, CDCl_3/TMS) δ : 209,2 (C - 1'), 178,1 (C - 3''), 43,2 (C - 2''), 33,7 (C - 1), 29,7 (C - 3), 28,8 (C - 4''), 28,1 Me sobre o C - 2), 26,8 (C - 2), 17,7 (C - 1''), 13,9 (Me sobre o C - 2).

3.7 -Ácido acetal 47a

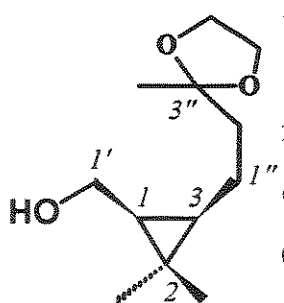


Uma quantidade catalítica de ácido p-toluenossulfônico foi adicionada a uma solução de ácido 47 (1,2g, 6,25 mmoles) e etileno glicol (2 mL) em benzeno (70 mL). A mistura reacional foi aquecida sob refluxo (5 hs) com contínua remoção de água, usando - se Dean - Stark . Et₂ O (50 mL) foi adicionado ao meio, a solução resultante foi lavada com H₂ O (3 x 100 mL), a fase orgânica seca sobre Mg₂SO₄ anidro e finalmente concentrada em evaporador rotativo, fornecendo 1,50 g (100%) de ácido 47a.

Forma física : óleo amarelo

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/ TMS) δ: 3, 95 (4H, sl, OCH₂CH₂O), 1,80 (4H, m, H - 2'' e H - 1''), 1,45 (1H, d, J = 8, 6 Hz, H - 1), 1,30 (3H, s, H - 4''), 1,25 (3H, s, Me sobre C - 2), 1,15 (3H, s, Me sobre o C - 2).

3.8 - Álcool acetal 48.



A uma solução de ácido protegido 47a (1g, 4,38 mmoles) em THF anidro (40 mL), sob agitação a 0° C, foi adicionado LiAlH₄ (600 mg). A mistura reacional foi agitada durante 12 hs e, em seguida o excesso de LiAlH₄ foi destruído por sucessivas adições de H₂ O (2 mL) e NaOH (3 mL). O precipitado formado foi removido por filtração sobre florisil e o filtrado foi concentrado em evaporador

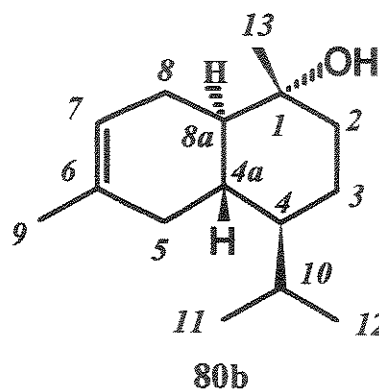
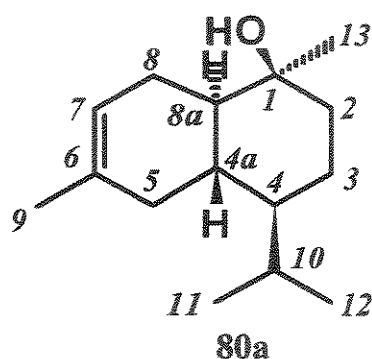
rotativo. Purificação do produto bruto da reação em coluna cromatográfica, eluída com hexano : acetato de etila 70 : 30 forneceu 600 mg (64 %) do álcool 48.

Forma física : líquido incolor

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/ TMS) δ: 3, 95 (4H, sl, OCH₂CH₂O), 3,64 (2H, dd, J = 2,4 e 7,5 Hz, H - 1'), 1,74 - 1,36 (4H, m, H - 1'' e H - 2''), 1,30 (3H, s, H - 4''), 1,06 (3H, s, Me sobre C - 2), 1,00 (3H, s, Me sobre o C - 2), 0,82 (1H, q, J = 8,7 Hz), 0,59 (1H, q, J = 7,5 Hz).

RMN ^{13}C (75,5Hz, CDCl_3 / TMS) δ : 110,0 (C - 3"), 64,4 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 59,8 (C - 1'), 39,2 (C - 2"), 17,7 (C - 2), 18,5 (C - 1").

3.9 - ($\pm$) - γ_2 - cadinóis **80a** e **80b**⁶²



Em uma solução de 0,10 g (0,48 mmol) de ($\pm$) - octalona *trans* em THF anidro (25 mL) a -78°C , sob agitação e em atmosfera inerte de argônio, adicionou-se lentamente 2 mL de uma solução de CH_3MgBr

(2,8 mmol). Após o término da reação (2 hs) gotejou-se lentamente no meio reacional uma solução de cloreto de amônio e extraiu-se com éter etílico. As fases orgânicas combinadas foram secas sobre Na_2SO_4 anidro e concentrada em evaporador rotativo.

A purificação do produto bruto em CC e eluição com hexano : éter 2% forneceu 60mg (56%) do cadinol axial **80a**. Eluição com hexano: éter 10% forneceu o 20mg (19%) do cadinol equatorial **80b**.

Cadinol axial **80a**

Forma física: óleo incolor

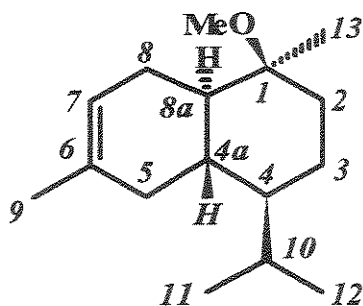
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 5,41 (1H, sl, H - 7), 1,64 (3H, s, H - 9), 1,44 (1H, ddd, $J = 1,3$ Hz, H - 4a), 1,19 (1H, ddd, $J = 5$ Hz, H - 8a), 1,17 (3H, s, H - 13), 0,92 (3H, d, $J = 7,4$ Hz, H - 11), 0,77 (3H, d, $J = 7,4$ Hz, H - 12).

Cadinol equatorial **80b**

Forma física: sólido incolor

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 5,43 (1H, sl, H - 7), 1,64 (3H, s, H - 9), 1,34 (1H, ddd, $J = 1,3$ Hz, H - 4a), 1,31 (1H, m, $J = 5$ Hz, H - 8a), 1,11 (3H, s, H - 13), 0,92 (3H, d, $J = 7,2$ Hz, H - 11), 0,75 (3H, d, $J = 7,4$ Hz, H - 12).

3.10- Cadinol protegido **85**:



Em uma solução de 60mg (0,27 mmoles) de cadinol axial 80a dissolvida em 5 mL de THF anidro e sob atmosfera de argônio, foram adicionados 70 mg (2,91 mmoles) de NaH e deixadas por 10 min. Em seguida 0,20 mL (2,81 mmoles) de iodeto de metila foram adicionados lentamente ao meio reacional e após o término da reação (2,5 hs, CCD), H₂O foi adicionada lentamente ao meio, a solução foi filtrada e evaporada. O resíduo foi dissolvido em 10mL de éter, lavado com H₂O (3 x 5 mL) e a fase orgânica foi seca sobre Na₂SO₄ e evaporada. Filtração do produto bruto em sílica gel, forneceu 60 mg (94%) do cadinol protegido 85.

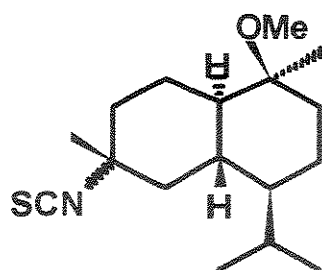
Forma física: óleo incolor

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃ / TMS) δ: 5,40 (1H, sl, H - 7), 3,09 (OMe), 1,55 (3H, s, H - 9), 1,08 (3H, s, H - 13), 0,90 (3H, d, J = 7,4 Hz, H - 11), 0,75 (3H, d, J = 7,4 Hz, H - 12).

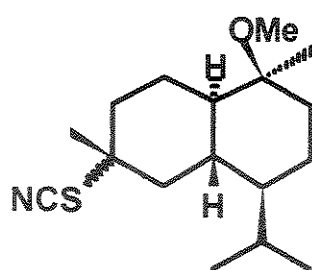
3.11- Isotiocianatos **86a** e **86b** e tiocianatos **87a** e **87b**

Preparação da solução de HNCS - CHCl₃.

Uma suspensão de 7,3 (0,26 moles) de KSCN, pulverizado, em CHCl₃(30mL) foi triturada com 11,2 (0,23 moles) de KHSO₄ por 5 min. Após decantar a solução de HNCS - CHCl₃, adicionou - se mais 5mL ao sólido remanescente e decantou - se novamente. As duas soluções foram combinadas para dar 12 mL (0,3 mmoles de HNCS). A proporção de solução de HNCS - CHCl₃ e substrato nas reações é de 10 : 1.



86(a e b)



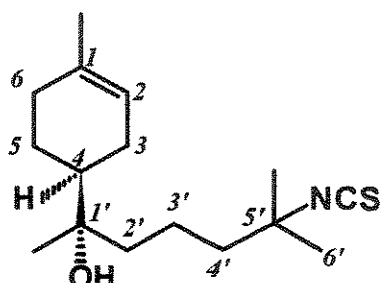
87(a e b)

30 mg (0,14 mmoles) do cadinol 85 e um excesso de solução de HNCS - CHCl_3 foram deixados à temperatura ambiente, sob agitação e protegidos da luz por 5 dias (controle por CCD). Após filtração dos resíduos de polimerização do ácido, o filtrado foi lavado com água, seco sobre Na_2SO_4 e o solvente evaporado em evaporador rotativo fornecendo 40 mg de produto bruto. A separação da mistura em coluna cromatográfica eluída com hexano forneceu 20 mg do cadinol protegido de partida. A eluição com hexano : acetato de etila 5% forneceu 10 mg de uma mistura de cadinol e dos isotiocianoterpenos 86a, 86b, 87a e 87 b que foram detectados por CG/EM (70eV) (condição n° 2):

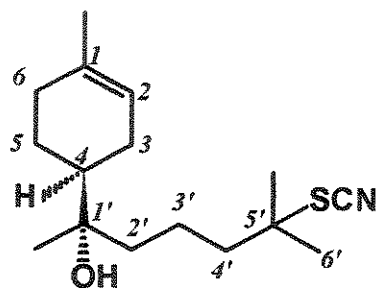
compostos 86a e 86b (t_r 9,23 e t_r 9,28) : íon molecular m/z 295, principais fragmentos m/z (%) 263 (2), 205 (100), 204 (70), 161 (98), 119 (70).

compostos 87a e 87b (t_r 11,0 e t_r 13,4) : íon molecular m/z 295, principais fragmentos m/z (%) 263 (2), 205 (80 e 90, respectivamente), 204 (96 e 60, respectivamente), 161 (85 e 100, respectivamente), 119 (60 e 70, respectivamente).

3.12- Isotiocianato 88 e tiocianato 89.



88



89

0,50g (0,0022moles) de bisabolol 82 e um excesso de HNCS/ CHCl_3 (20 mL, 0,025 moles) foram deixados à temperatura ambiente sob agitação por 6 dias (controle por CCD). Após filtração para

eliminar resíduos de polimerização do ácido, o filtrado foi lavado com H_2O , seco sobre Na_2SO_4 e evaporado em evaporador rotativo. A purificação do produto bruto

da reação em CC e eluição com hexano: acetato de etila 20% forneceu 134mg do isotiocianato 88 (24%). Eluição com hexano:acetato de etila 25% forneceu 67 mg do tiocianato 89 (11%)

Isotiocianato 88 :

forma física: óleo amarelo

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 5,35 (m, H - 2), 1,64 (s, Me sobre C - 1), 1,45 (t, H - 4'), 1,38 (s, Me sobre C - 5'), 1,10 (s, Me sobre C - 1').

RMN ^{13}C (75,5 Hz, CDCl_3 / TMS) δ : 134,2 (C - 1), 130,3 (NCS), 120,4 (C - 2), 74,0 (C - 1'), 61,3 (C - 5'), 43,3 (C - 4'), 43,1 (C - 4), 39,9 (C - 2'), 28,9 (C - 6'), 28,7 (Me sobre C - 1'), 23,2 (Me sobre C - 1).

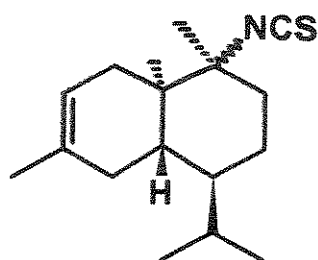
Tiocianato 89 :

Forma física : óleo amarelo

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 5,35 (m, H - 2), 1,64 (s, Me sobre C - 1), 1,50 (s, Me sobre C - 5'), 1,10 (s, Me sobre C - 1').

RMN ^{13}C (75,5Hz, CDCl_3 / TMS) δ : 134,2 (C - 1), 120,4 (C - 2), 111,9 (SCN), 74,1 (C - 1'), 56,0 (C - 5'), 43,9 (C - 4'), 43,6 (C - 4), 40,5 (C - 2), 28,9(C - 6'), 28,7 (Me sobre C - 1'), 23,2 (Me sobre C - 1).

3.13 -Isotiocianoterpenos 91a e 91b



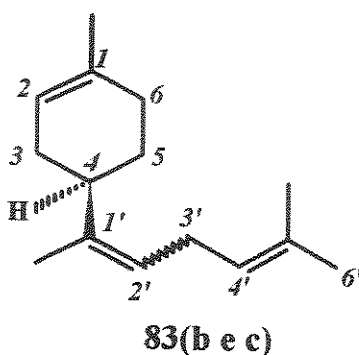
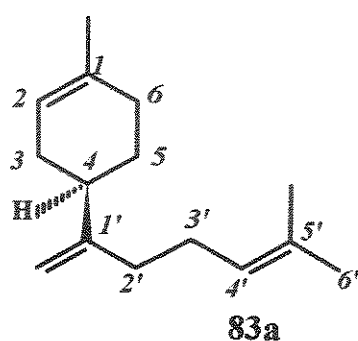
10mg (0,05 mmol) de (+/-) - γ - cadineno 90 e um excesso de solução de HNCS - CHCl_3 foram deixados à temperatura ambiente, sob agitação e protegidos da luz por 36 hs (controle por CCD). Depois deste tempo, a solução foi filtrada para eliminar os resíduos de polimerização do ácido. Novamente,

um excesso de solução de HNCS - CHCl_3 foi adicionado à solução filtrada e a reação foi deixada a temperatura ambiente, sob agitação por mais 12 hs. Em seguida, a solução foi filtrada e analisada por CG/EM (70eV, condição n° 6):

compostos 91a (t_r 11,2): íon molecular m/z 263, principais fragmentos 204 m/z (%) (20), 161 (80), 119(100), 41 (28).

composto 91b (t_r 11,8): íon molecular m/z 263, principais fragmentos m/z (%) 205 (100), 161 (74), 119 (74), 105 (88), 41 (58,4).

3.14- Bisabolenos 83a, 83b e 83c:



1,2g (5,3 mmoles) de bisabolol 82 foram dissolvidos em 0,5mL (3,0 mmoles) de piridina seca. A solução foi resfriada à 0° C e, sob agitação, 2,5 mL (6,3 mmoles) de SOCl₂ foram adicionados gota a gota ao

meio reacional durante 5 min. e após o término da reação (48hs), 50 mL de éter etílico foram adicionados ao meio e a mistura foi deixada sob agitação. Em seguida a fração etérea foi lavada com H₂O (3x 20mL), seca sobre Na₂SO₄ e concentrada em evaporador rotativo. A purificação do produto bruto em CC, eluída com hexano forneceu 600 mg (56%) da mistura dos bisabolenos 83a e 83 (b e c) numa proporção de 1,5 : 1 (CG - programação n° 1)

Bisaboleno terminal 83a :

Forma física : líquido incolor

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃ / TMS) δ: 5,41 (m, H - 2), 5,10 (m, H - 4'), 4,73 (2H, d, H₂ C =), 1,68 (s, Me sobre H-1), 1,61 (s, Me sobre H-5'), 1,60 (s, H-6').

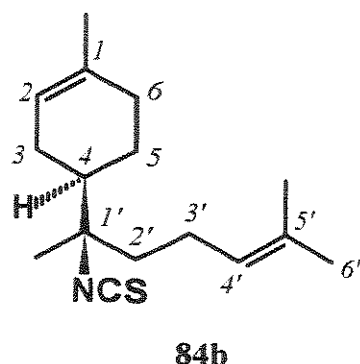
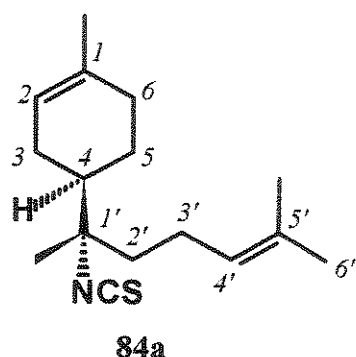
RMN ¹³C (75,5 Hz, CDCl₃/ TMS) δ: 154,0 (C - 1'), 134,0 (C - 1), 131,0 (C - 5'), 124,0 (C - 4'), 108,0 (H₂C =), 40,0 (C - 4), 35,0 (C - 3'), 25,6 (C - 6'), 23,4 (Me sobre C - 1), 17,6 (Me sobre C - 5').

Bisabolenos 83b e 83c:

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 5,41 (m, H - 2), 5,10 (m, H - 4' e H - 2'), 2,70 (t, H - 3'), 1,68 (s, Me sobre H - 1), 1,63 (s, Me sobre C - 1'), 1,61 (s, Me sobre H - 5'), 1,60 (s, H - 6').

RMN ^{13}C (75,5Hz, CDCl_3 / TMS) δ : 139,2 (C - 1' do E - bisabolenos), 138,9 (C - 1' do Z - bisabolenos), 133,5 (C - 1), 131,3 (C - 5'), 123,8 (C - 4' do Z-bisabolenos), 123,7 (C - 2'), 121,9 (C - 4' do E - bisabolenos), 42,9 (C - 4 do E - bisabolenos), 35,5 (C - 4 do Z - bisabolenos), 30,9 (C - 6), 19,2 (Me sobre C - 1' do Z - bisabolenos), 14,2 (Me sobre C - 1' do E - bisabolenos).

3.15 - Isotiocianatos 84a e 84b



0,10g (0,5 mmoles) da mistura dos bisabolenos 83 (a, b e c) e um excesso de solução de HNCS - CHCl_3 (10mL, 6,5 mmoles) foram deixadas à temperatura ambiente, sob agitação por 2 hs (controle da reação foi

feita por CG até o consumo total do bisabolenos terminal 83a). Após filtração para eliminar produtos da polimerização do ácido, o filtrado foi lavado com H_2O , seco com Na_2SO_4 e concentrado em evaporador rotativo. A purificação do produto bruto em CC e eluição com hexano:acetato de etila 5% forneceu a mistura de diastereoisômeros 84a e 84b em 77,8% de rendimento (calculado a partir do bisabolenos terminal 83a).

Forma física: líquido incolor

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3 / TMS) δ : 5,38 (m, H - 2), 5,10 (m, H - 4'), 1,69 (s, Me sobre C - 1), 1,64 (s, Me sobre C - 5'), 1,63 (s, H - 6'), 1,34 (s, Me sobre C - 1' do isômero 84a), (s, Me sobre C - 1' do isômero 84b).

RMN ^{13}C (75,5 Hz, CDCl_3 / TMS) δ : 134,5 (C - 5' dos isômeros 84b), 134,2 (C C- 5' do isômero 84a), 132,9 (C - 1 dos isômeros 84a e 84b), 123,2 (C - 4' dos isômeros 84a e 84b), 120,1 (C - 2 dos isômero 84a), 119,8 (C - 2 do isômero 84b), 67,2 (C - 1' do isômero 84b), 67,0 (C - 1' do isômero 84a), 43,2 (C - 4 do isômero 84a), 42,8 (C - 4 do isômero 84b), 23,5 (Me sobre C - 1 do isômero 84a), 23,2 (Me sobre C - 1 do isômero 84b), 22,8 (Me sobre C - 1' do isômero 84b), 22,7 (Me sobre o C - 1' do isômero 84a).

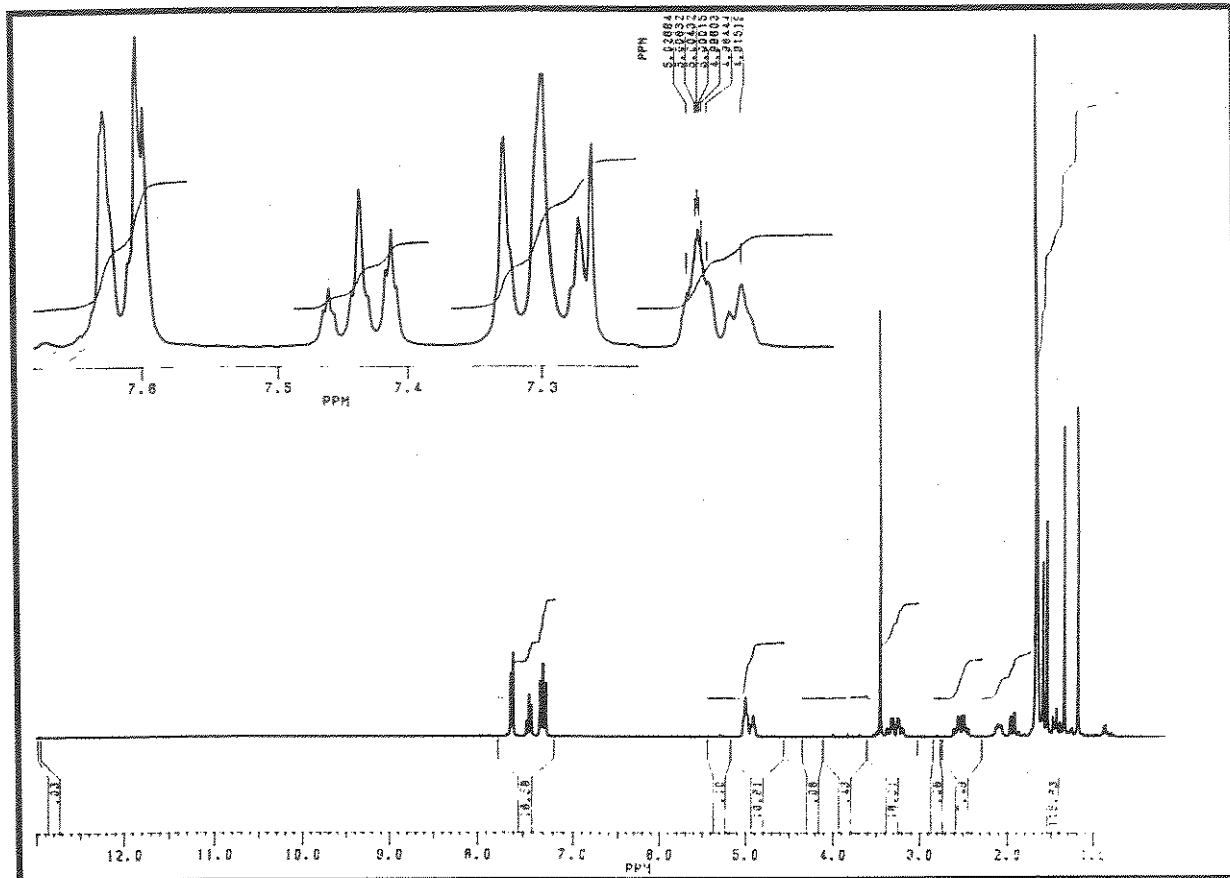
1. A. Engler, Guttiferae et Quinaceae In: C. F. P. von Martins . Flora Brasiliensis, Munchen, Frid. Fleisher **1888**, 12 (1), 381
2. V. Bittrich e M. C. E. Amaral, *Kew Bull.* 1996, 51, 681
3. N. Saddi, *Rev. Brasil. Biol.* **1989**, 49, 75
4. G. Mariz, *Mem. Inst. Bioc. Univ. Fed. Pernambuco* **1974**, 1, 249
5. J. C. Uphof, "Dictionary of Economic Plants", second edition, New York, **1968**.
6. P. G. Wateman, *Phytochemistry*, **1986**, 25, 3
7. S. Cerrini, D. Lamba, F. Delle Monache e R. M. Pinheiro *Phytochemistry*, **1993**, 32, 1023
8. J. G. Gonzalez, E. M. Olivares e F. Delle Monache, *Phytochemistry* **1995**, 38, 485
9. K.R. Gustafson, J. W. Blunt, M. H. G. Munro, R. W. Fuller, T. C. McKee, J.H. Cardelina, J. B. McMahon, G.M.Gragg e M. R. Boyd *Tetrahedron* **1992**, 48,10093
10. F. Delle Monache, G. Delle Monache e E.Gacs-Baitz, *Phytochemistry* **1991**, 30, 2003
11. L.E. McCandlish, J.C. Hanson and G.H. Stout, *Acta Cryst.* **1976**, B.32, 1793
12. G. E. Henry, A. Jacobs, S. McClean e W. F. Reynolds, *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, 4575
13. C. G. Karanjgoakar, A. V. Rama Rao e K. Venkataraman, *Tetrahedron Letters*, **1973**, 50, 4977
14. F. Delle Monache, M Marta, M M. Mac-Quhae e M Nicoletti, *Gazz. Chim. Ital.* **1984**, 114, 135.
15. G. J. Bennet e H - Huang Lee, *Phytochemistry* **1989**, 28, 867
16. H. C. Bold, "O Reino Vegetal", Ed. Edgard Blucher, **1972**.
17. G. F. Parth, "Insects and Flowers", Princeton, New Jersey, **1985**
18. W.S. Armbruster *Amer. J. Bot.*, **1984**, 71, 1149; D.W. Roubik, "Ecology and Natural History of Tropical Bees", Cambrige University Press, **1989**.
19. F.A. Tomás-Barberán, C. Garcia-Viguera, P. Vit-Olivier, F. Ferreres and . F. Tomás-Lorente, *Phytochemistry* **1993**, 34, 191
20. A. L. M. Porto, Tese de mestrado IQ/UNICAMP Campinas, SP **1997**

21. R. M. Silverstein, G. C. Bessler e T. C. Morrill, "Spectroscopic Identification of Organic Compounds, fifth edition, John Wiley & Sons, 1991
22. F. Borremans, M. de Potter e D. de Keukeleire, *Org. Magn. Res.* **1975**, 7, 415
23. E. Breitmaier e W. Voelter, "Carbon - 13 NMR Spectroscopy", New York, 1987
24. P.K. Agrawal, "Carbon -13 NMR of flavonoids", Elsevier Science, Amsterdam 1989
25. H. Van den Dool e P.D.J. Kratz, *J.Chromatogr.* **1963**, 11, 463.
27. V. Betina, *J. Chromatogr.* **1973**, 78, 41
26. G. B. Hammond, M. B. Cox e D. F. Wiemer, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 128
28. J. F. Sanz e J.A. Marco, *Phytochemistry* **1990**, 29, 2919.
29. H. J Woerdenberg, *Flavour and Fragrance Journal*, **1993**, 8, 131; B.M. Lawrence, *Perf. Flav.*, **1995**, 20, 52
30. M. A. Foglio, Tese de Doutorado IQ/UNICAMP Campinas, SP 1996.
31. R. Adams, "Identification of Essential Oil Components by gas Chromatography/Mass Spectroscopy" Allured Publishing Corporation Carol Stream IL 1995
32. F.W. MacLafferty e F. Turecek, "Interpretation of Mass Spectra" University Science Books 1991
33. V. L. Ferracinni, Tese de Doutorado, IQ/UNICAMP, Campinas SP 1995
34. E. J. Corey e P. L. Fuchs, *Tetrahedron Letters* **1972**, 36, 3769
35. D. R. Williams e F. D. Klingler, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2134
36. A. J. Weinheimer, T. Nishida e I. Flamint, "Progress in the Chemistry of Natural Products", Springer - Verlag, New York, 1979
37. E. Pretsch, J. Seibl, E. Simon e T. Clerc, "Tables of Spectral Data for Structure Determination of Organic Compounds", Springer - Verlag, 1983
38. M. D. Taylor, G. Minaskaran, K. N. Winzemberg, P. Santone e A. B. Smith, *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 3960.
39. F. Toda, T. Oshida, Y. Ishida, Y. Takemira e K. Saito, "Handbook of ¹³C NMR Spectra", Sankyo Publishing In. 1981
40. D. B. Dess e J. C. Martin, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 4155
41. Pauson, P.L. *Tetrahedron* **1985**, 41, 5855. Para uma revisão: Schore, N. E. in

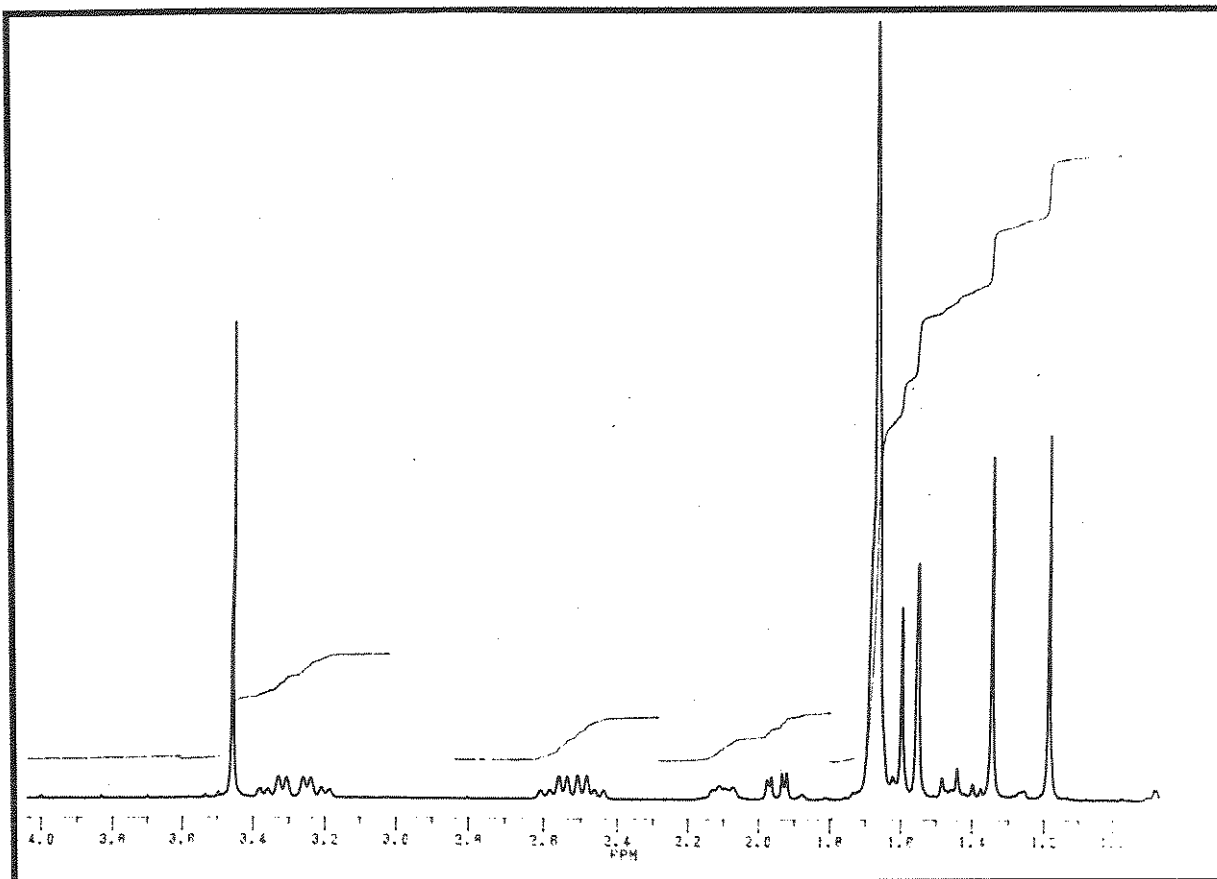
- Comprehensive Organic Synthesis* (Eds.: B.M. Trost, I. Fleming, L. A. Paquette), Pergamon Press, Oxford, Vol 5, 1991
42. N. E. Schore, "Organic Reactions"
43. R. Sterzycki, *Synthesis* 1979, 724
44. R. Bright e C. R. Hauser, *J. Am. Chem. Soc.* 1939, 61, 618
45. M. S. Edenborough, R. B. Herbert, *Nat. Prod.* 1988, 229; D. J. Faulkner, *Nat. Prod.* 1994, 355; *ibid* 1993, 497; *ibid*, 1992, 323; *ibid*, 1991, 97; *ibid*, 1990, 269; *ibid*, 1988, 613; B. M. Fraga, *Nat. Prod. Rep.* 1994, 533
46. K. E. Kassuhlke, B. C. M. Potts e D. J. Faulkner, *J. Org. Chem.* 1991, 56, 3747
47. S. J. Wratten e D. J. Faulkner, *Tetrahedron Letters* 1978, 16, 1391
48. P. Karuso e P. J. Scheuer, *Tetrahedron Letters* 1987, 28, 4633
49. C. C. da Silva, V. Almagro e A. J. Marsaioli, *Tetrahedron Letters* 1993, 34, 6717
50. T. I. Crowel, M. G. Hankins, *J. Phys. Chem.* 1969, 73, 1380; S. Tribalat e J. M. Caldero, *Bull. Soc. Chem. France*, 1966, 774; J. H. Boughton e R. N. Keller, *J. Inorg. Chem.* 1966, 28, 2851; T. D. B. Morgan e P. A. E. Whincap, *J. Chem. Soc.* 1965, 4813
51. M. S. Kharasch, E. M. May e F. R. Mayo, *J. Am. Chem. Soc.* 1937, 59, 1580
52. A. Fava, "The Chemistry of Organic Sulfur Compounds", vol II, N. Kharasch, C. Meyers, Pergamon Press, Ltd, NY 1966
53. H. Nemoto, M. Shiraki, M. Nagamoschi e K. Fukamoto, *Tetrahedron Letters* 1993, 34, 4939
54. B. W. Sullivan, D. J. Faulkner, K. T. Okamoto, M. H. M. Chen e J. Clardy, *J. Org. Chem.* 1986, 51, 5134
55. K. Takeda, T. Kubota, J. Kawanam, *Chem. Pharm. Bull.* 1960, 8, 615
56. J. L. Rakels, A. J. J. Straathof e J. J. Heijnin, *Enzyme Microb. Technol.* 1993, 15, 1051
57. B. A. Stoochnoff e N. L. Benoiton, *Tetrahedron Letters* 1973, 1, 21
58. N. K. Guvita, E. D. de Silva, M. R. Hagadone, P. Karuso, P. J. Scheuer e J. Clardy,

- J. Org. Chem.* **1986**, 51, 5136
59. J. E. Dubois, J. S. Lomas, *Tetrahedron Letters*, **1971**, 7, 599
60. F. Delay e G. Ohllof, *Helvetica Chem. Acta.* **1979**, 62, 369
61. D. D. Perrin, W. L. F. Armacego e D. R. Perrin, "Purification of Laboratory Chemicals", second edition, A. Wheaton & Co. Ltd. Great Britain, **1980**
62. C. L. Queiroga, tese de doutoramento, IQ/Unicamp, **1994**

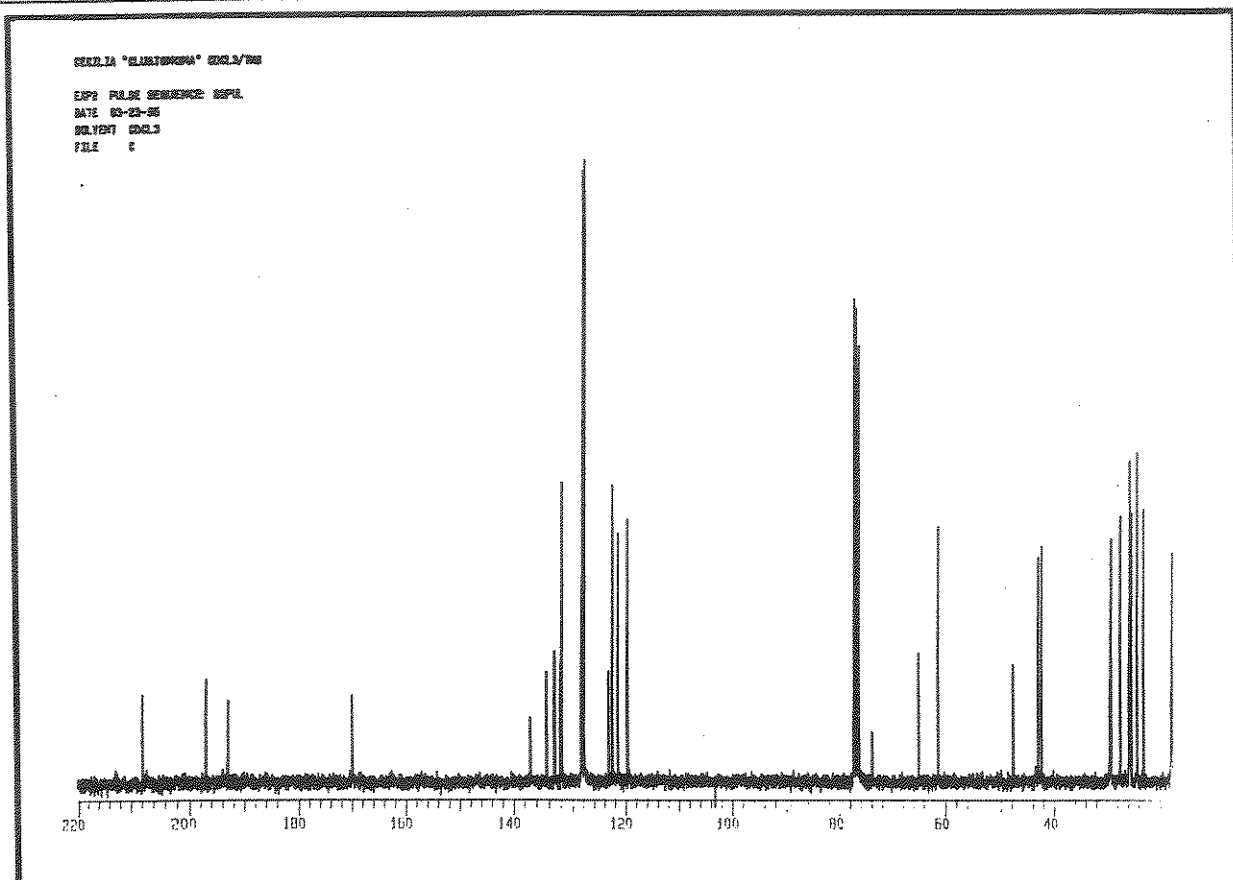
ESPECTROS



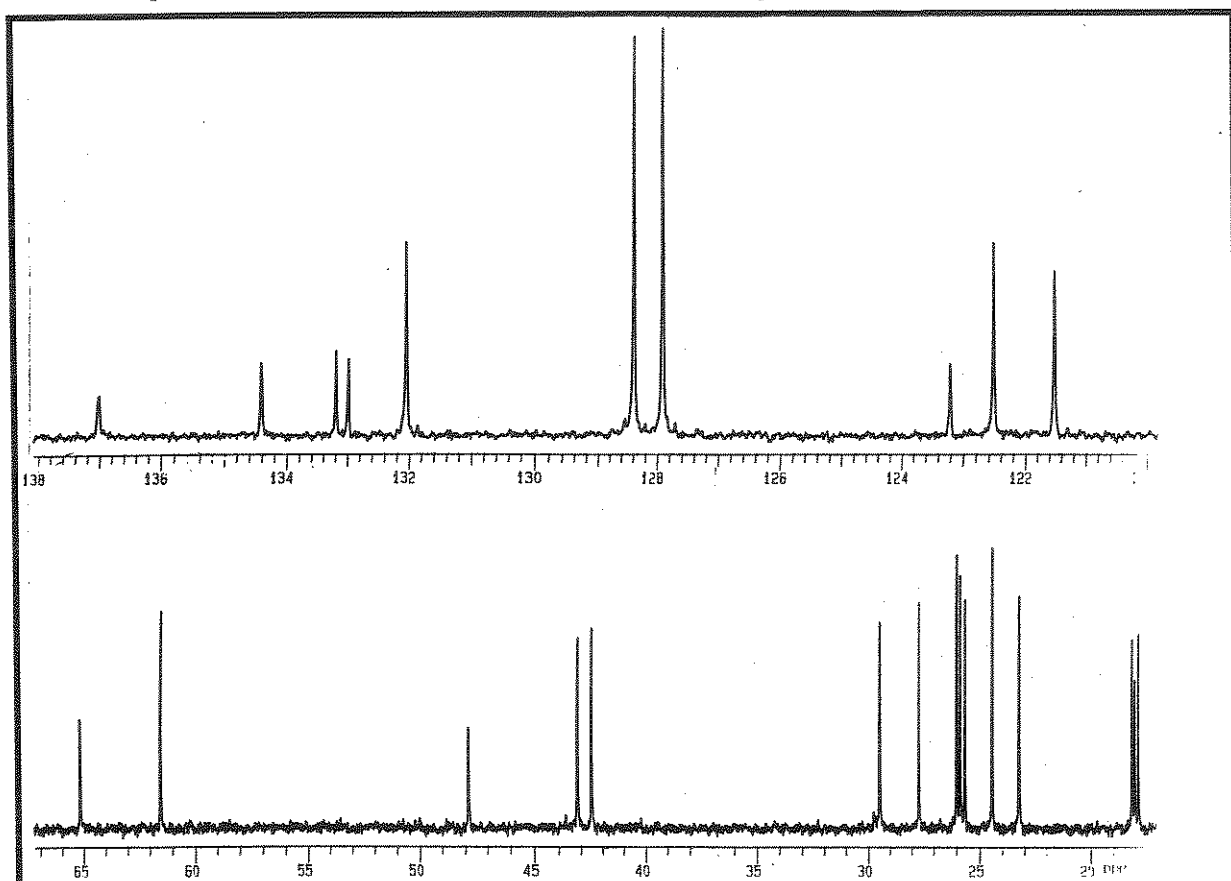
E 01 - Espectro de RMN¹ H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 17.



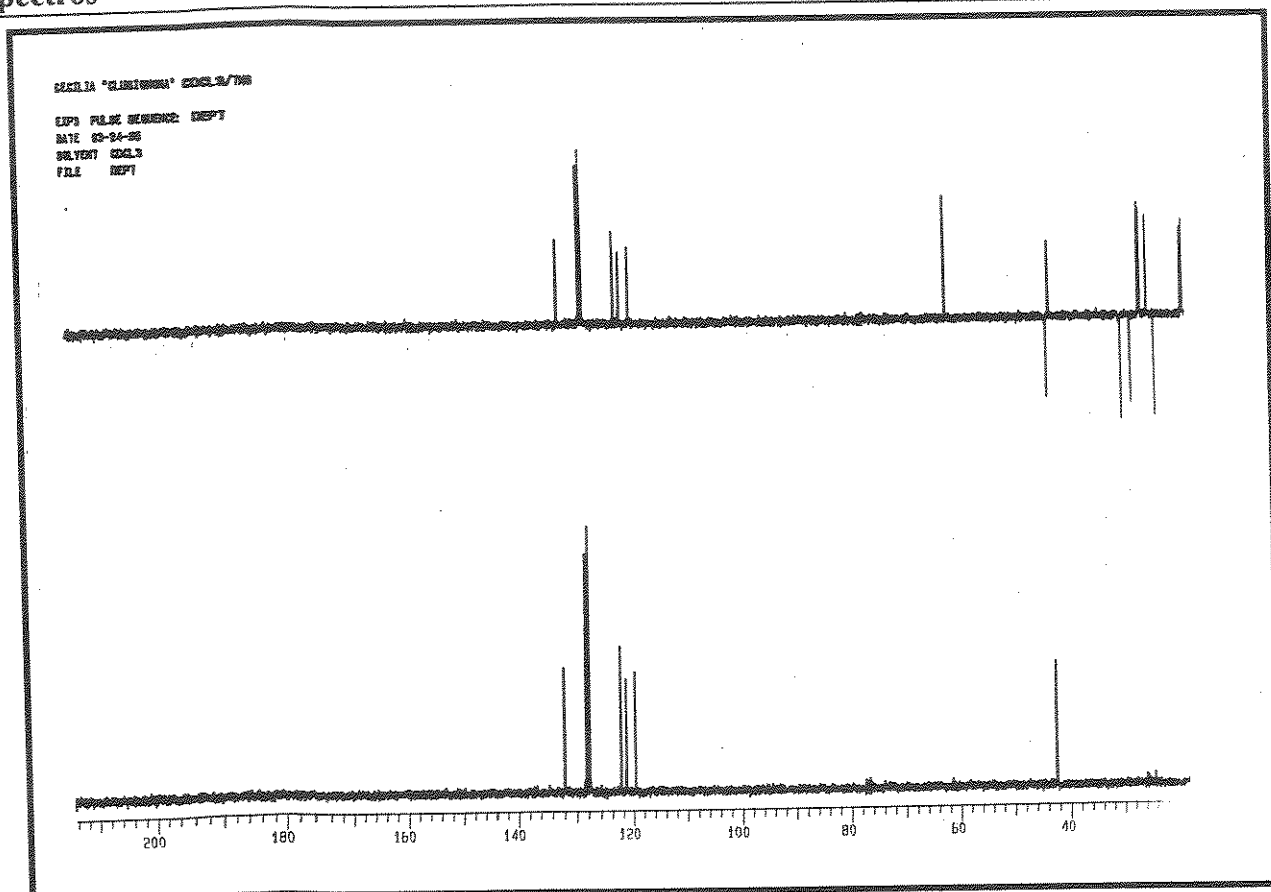
E 02 - Expansão do espectro E-01 (δ 0,5 - 40) do produto natural 17.



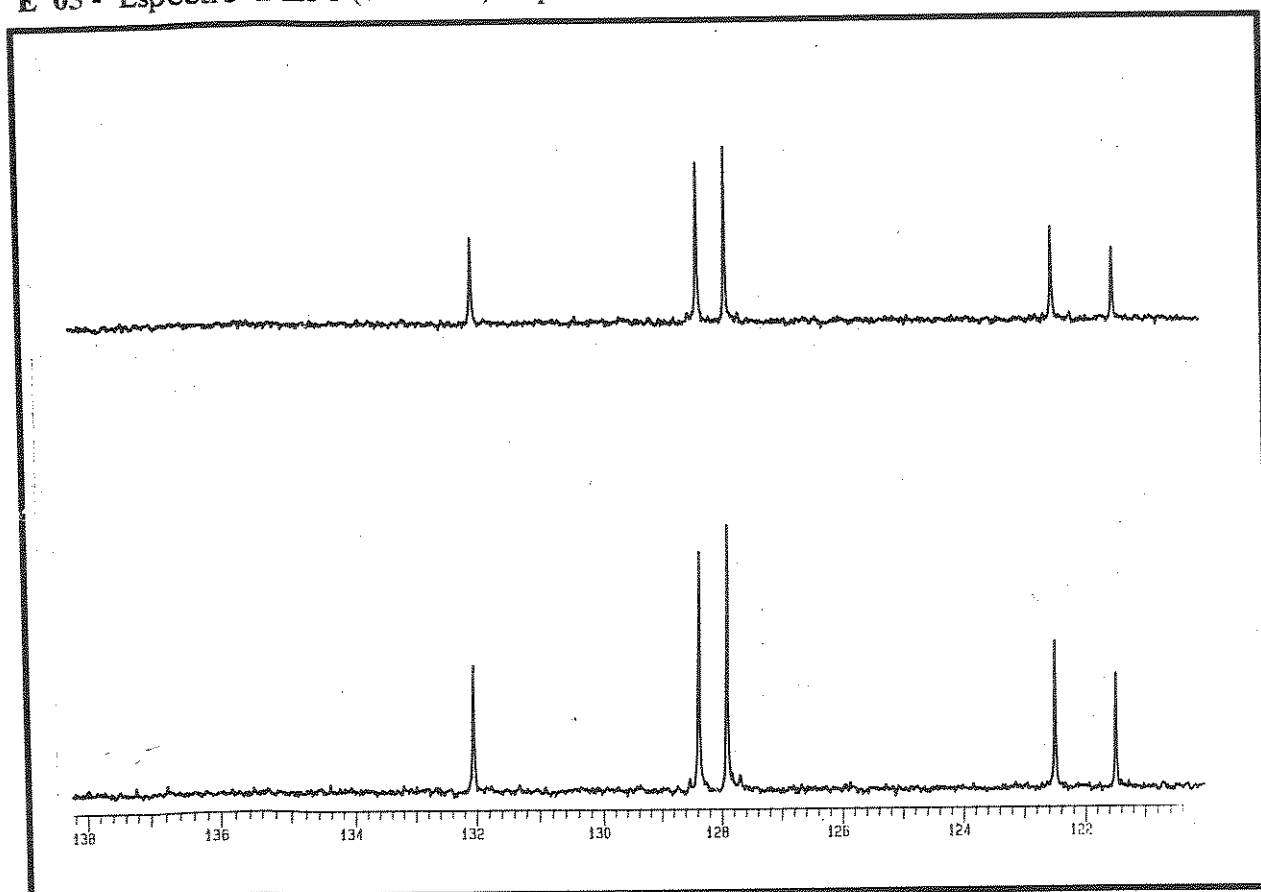
E 03 - Espectro de RNM¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 17.



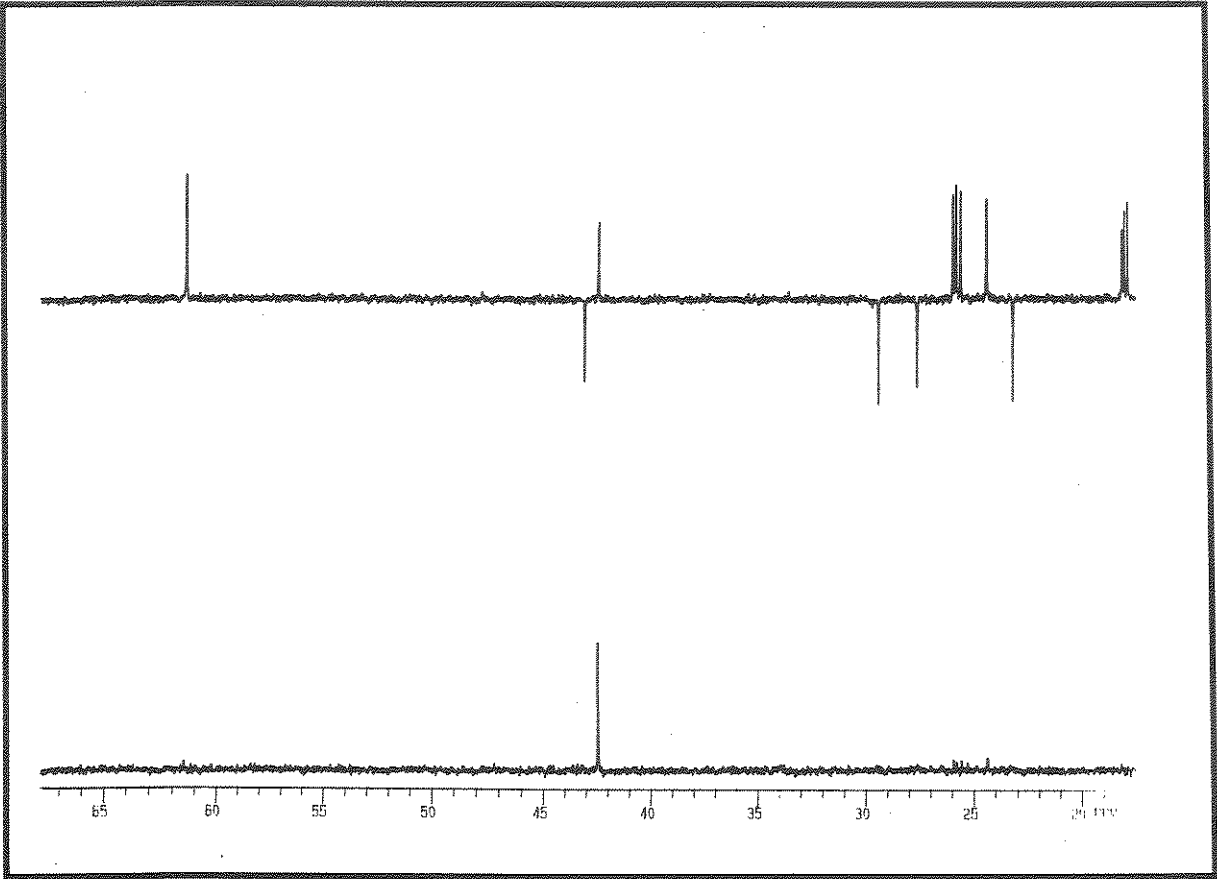
E 04 - Expansão do espectro E-03 (δ 15 - 65) do produto natural 17.



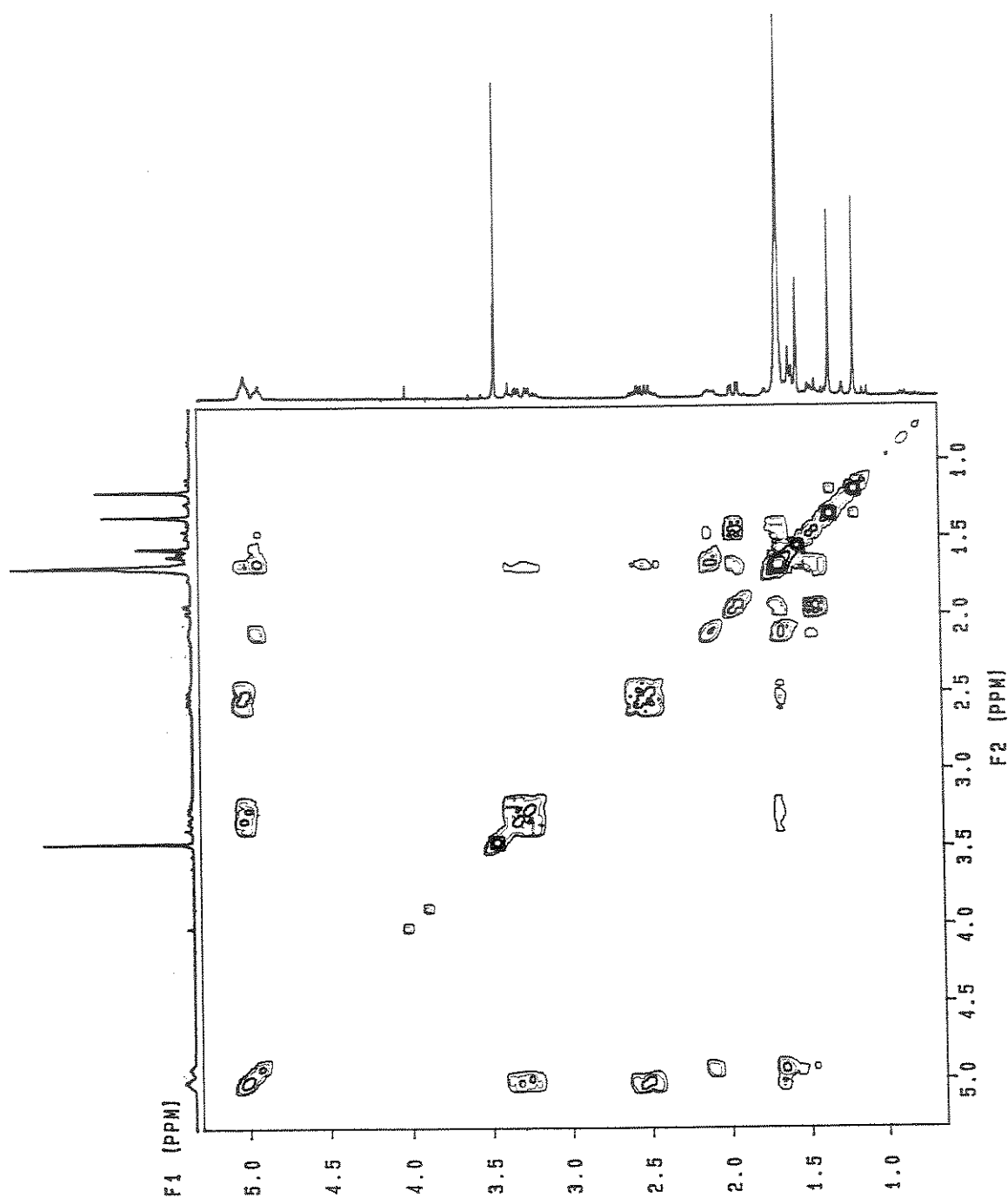
E 05 - Espectro DEPT (135° e 90°) do produto natural 17.



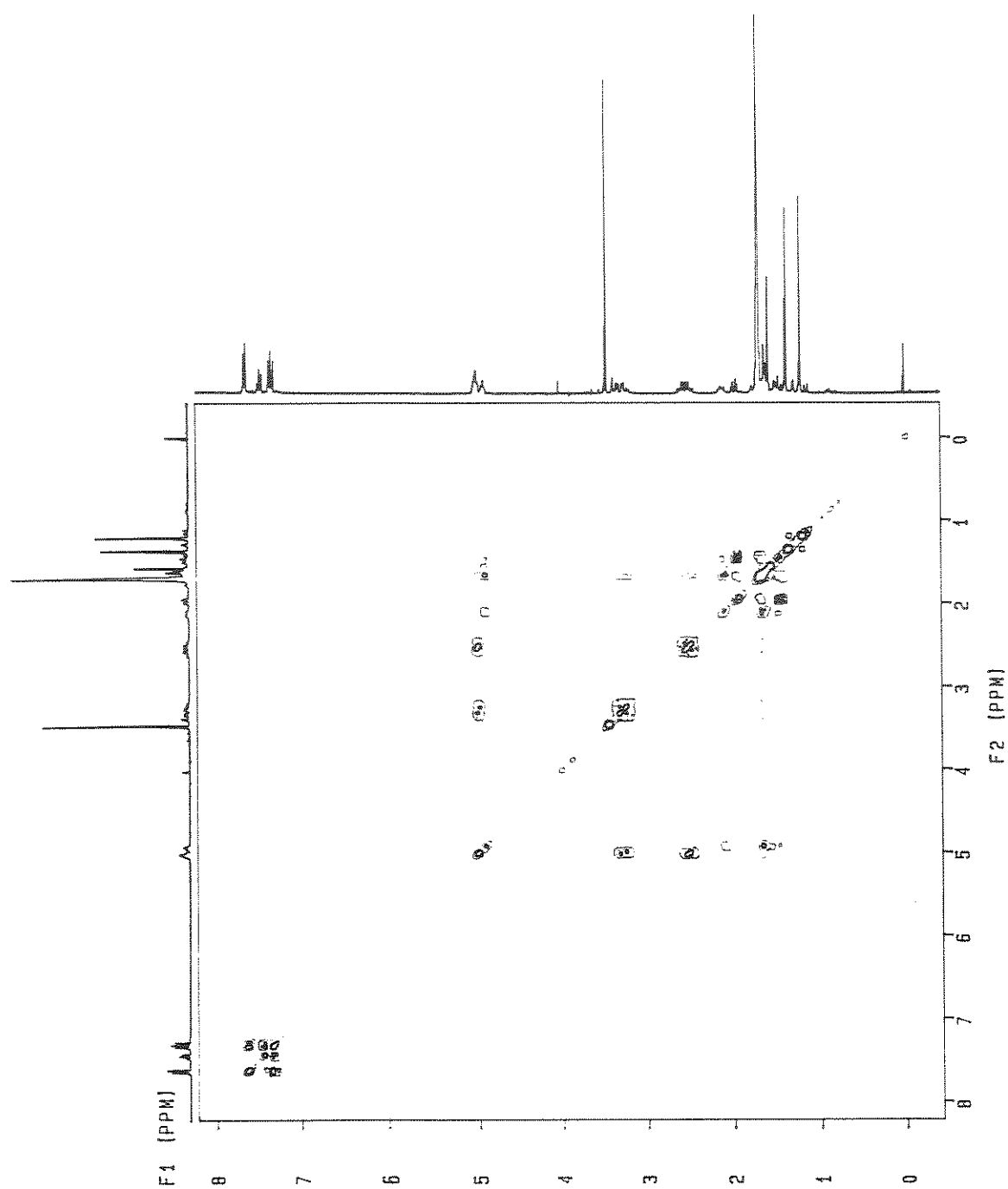
E 06 - Expansão do espectro E-05 (δ 120 -138) do produto natural 17.



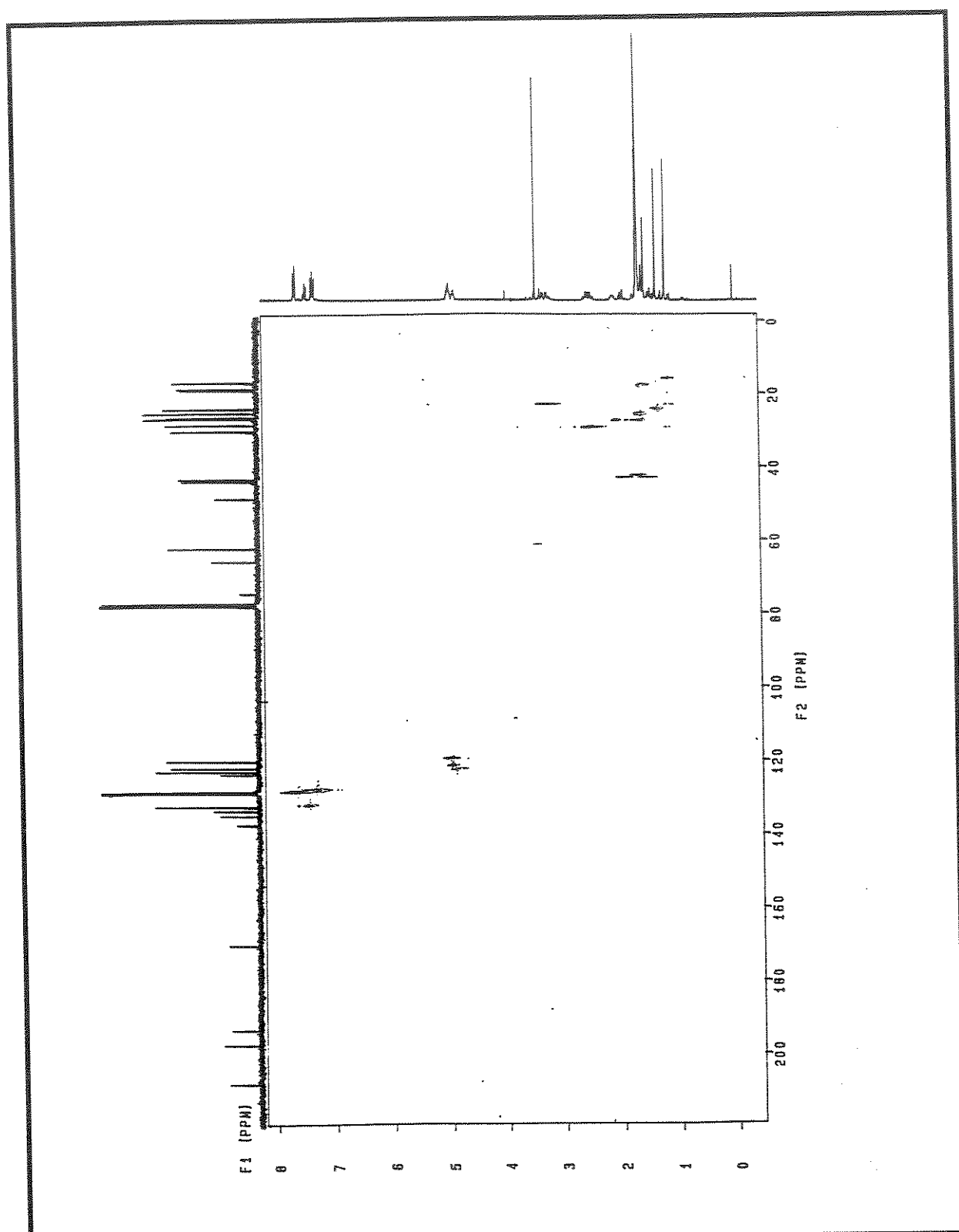
E 07 - Expansão do espectro E-05 (δ 15 - 65) do produto natural 17.



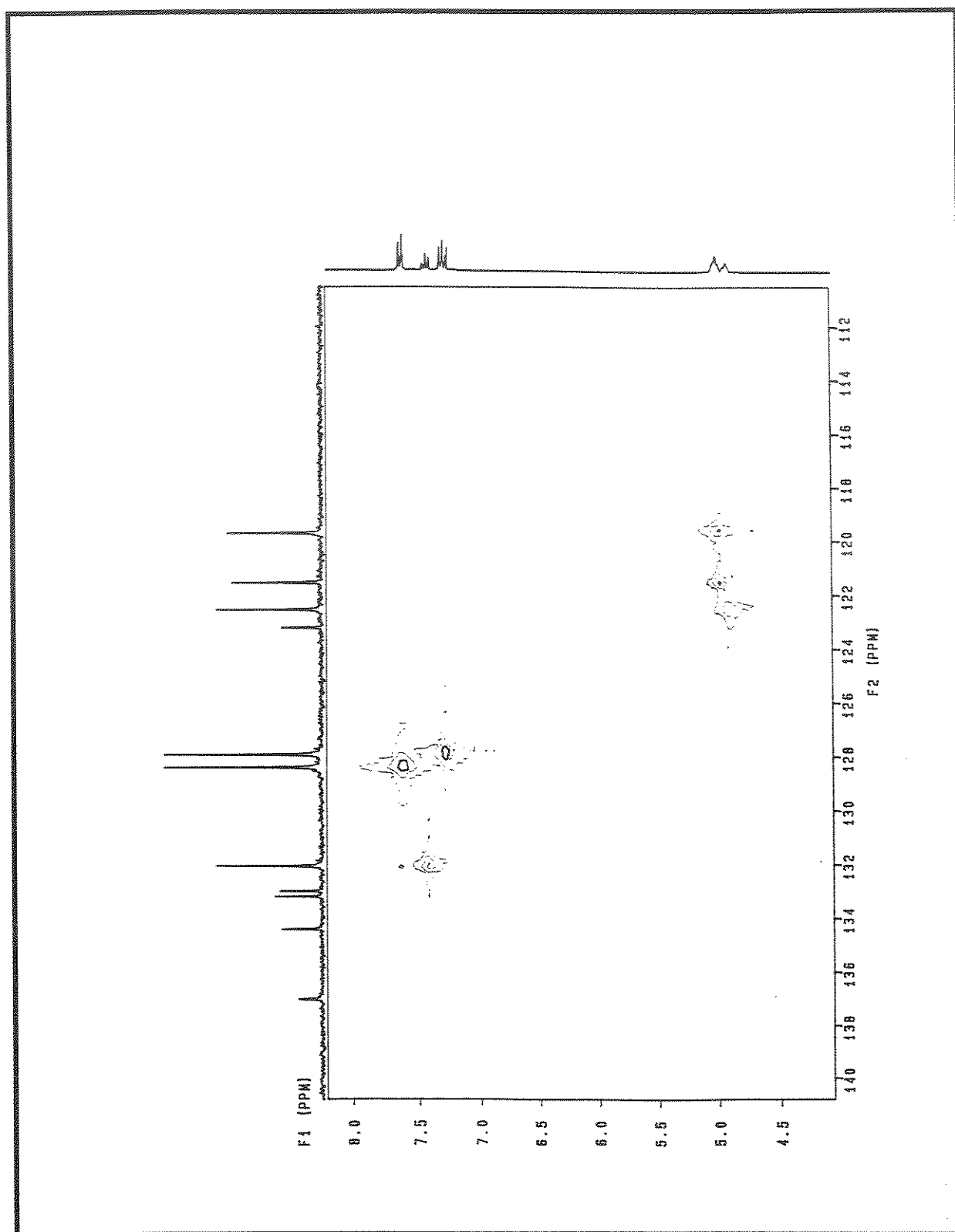
E 08 - Espectro 2D (^1H , ^1H -COSY) do produto natural 17.



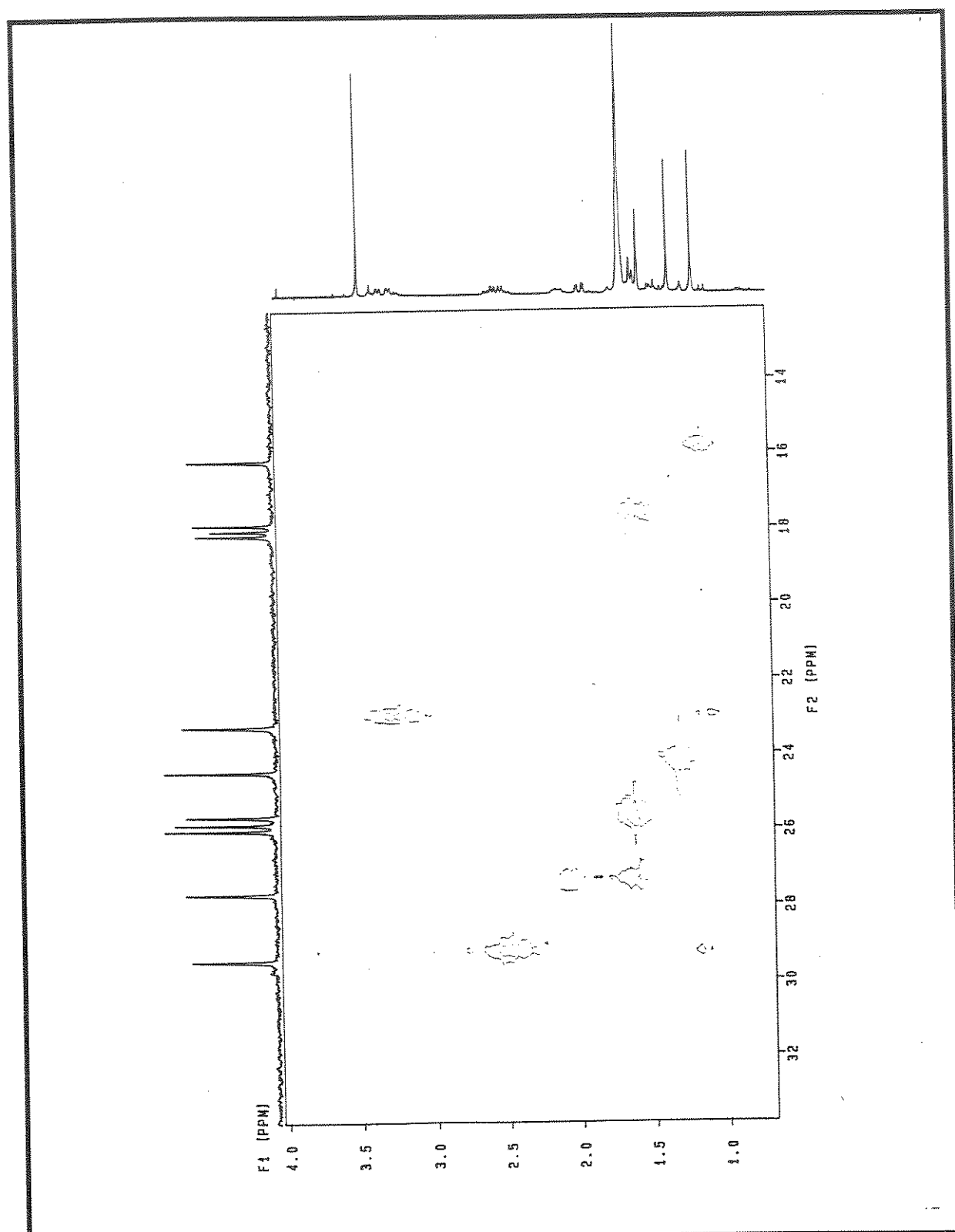
E 09 - Expansão do espectro E-08 do produto natural 17.



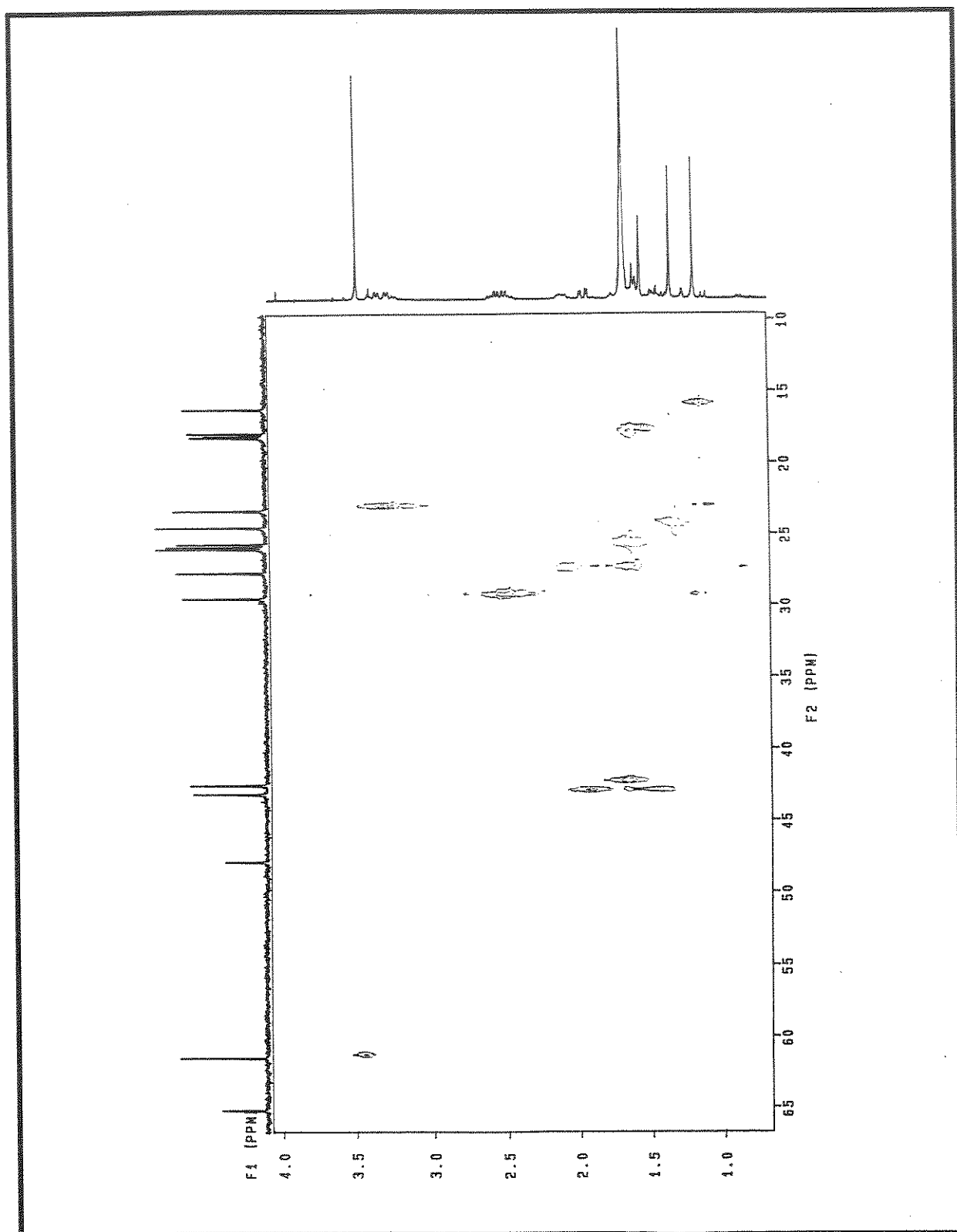
E 10 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - HETCOR) do produto natural 17.



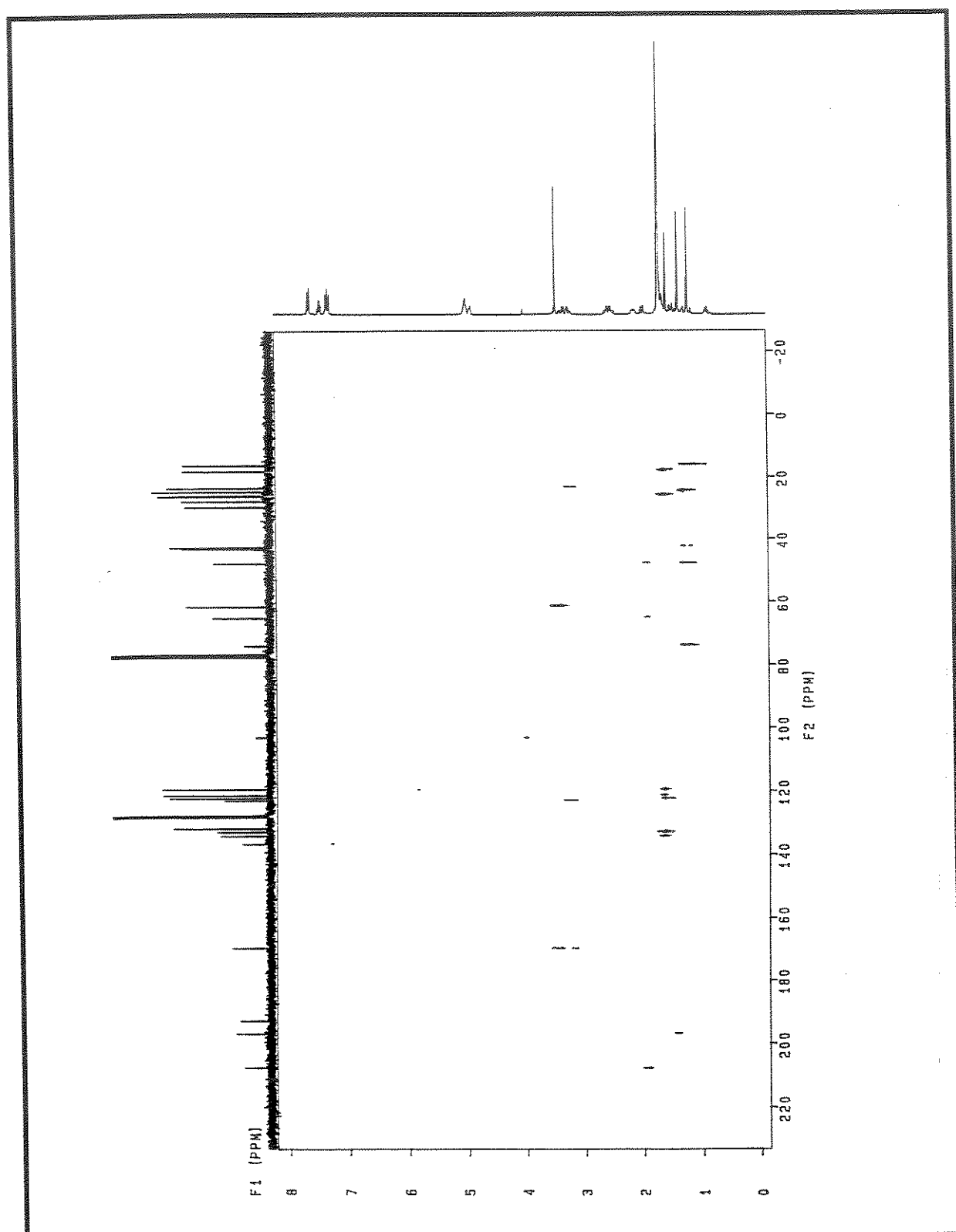
E 11 - Expansão do espectro E-10 do produto natural 17.



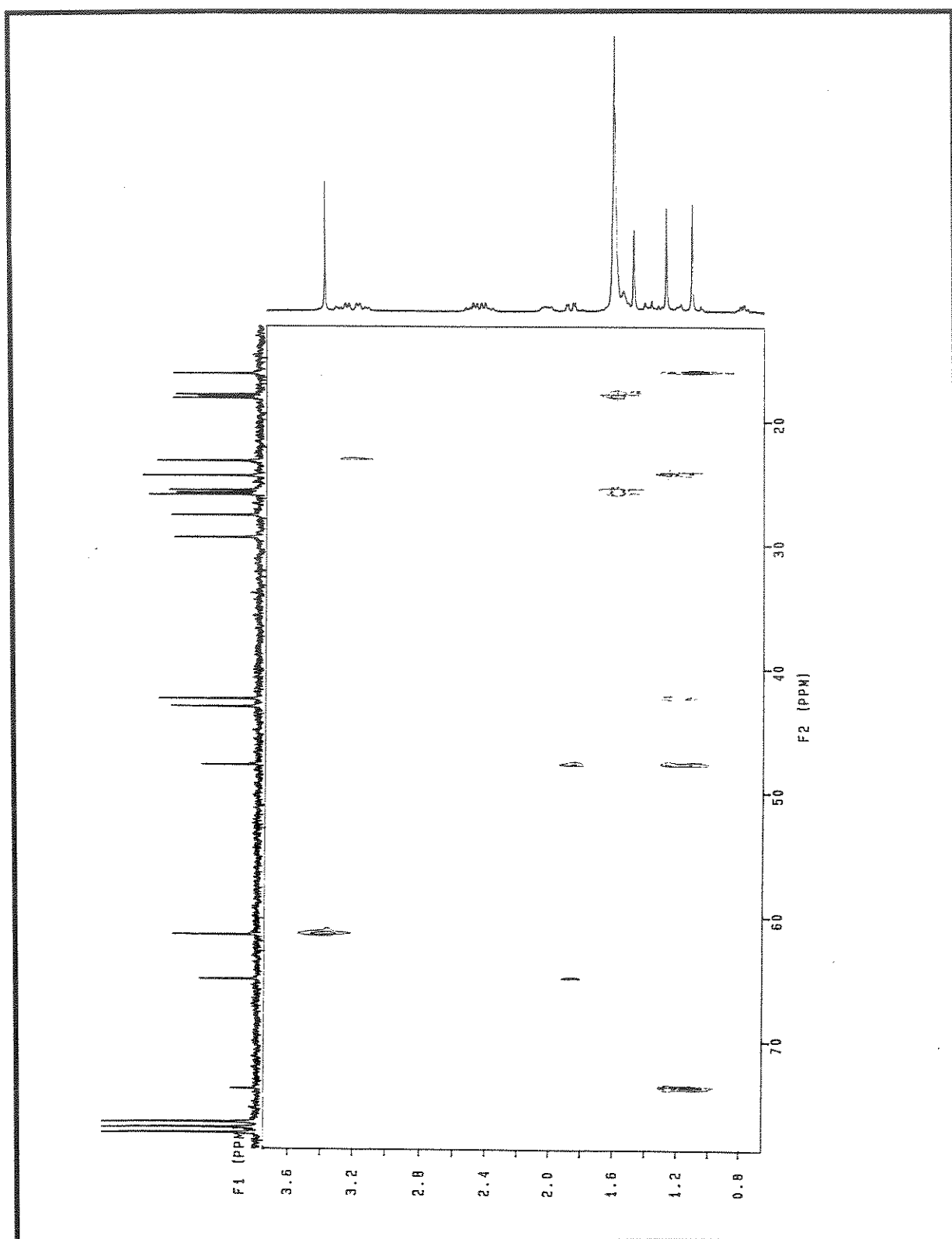
E 12 - Expansão do espectro E-10 do produto natural 17.



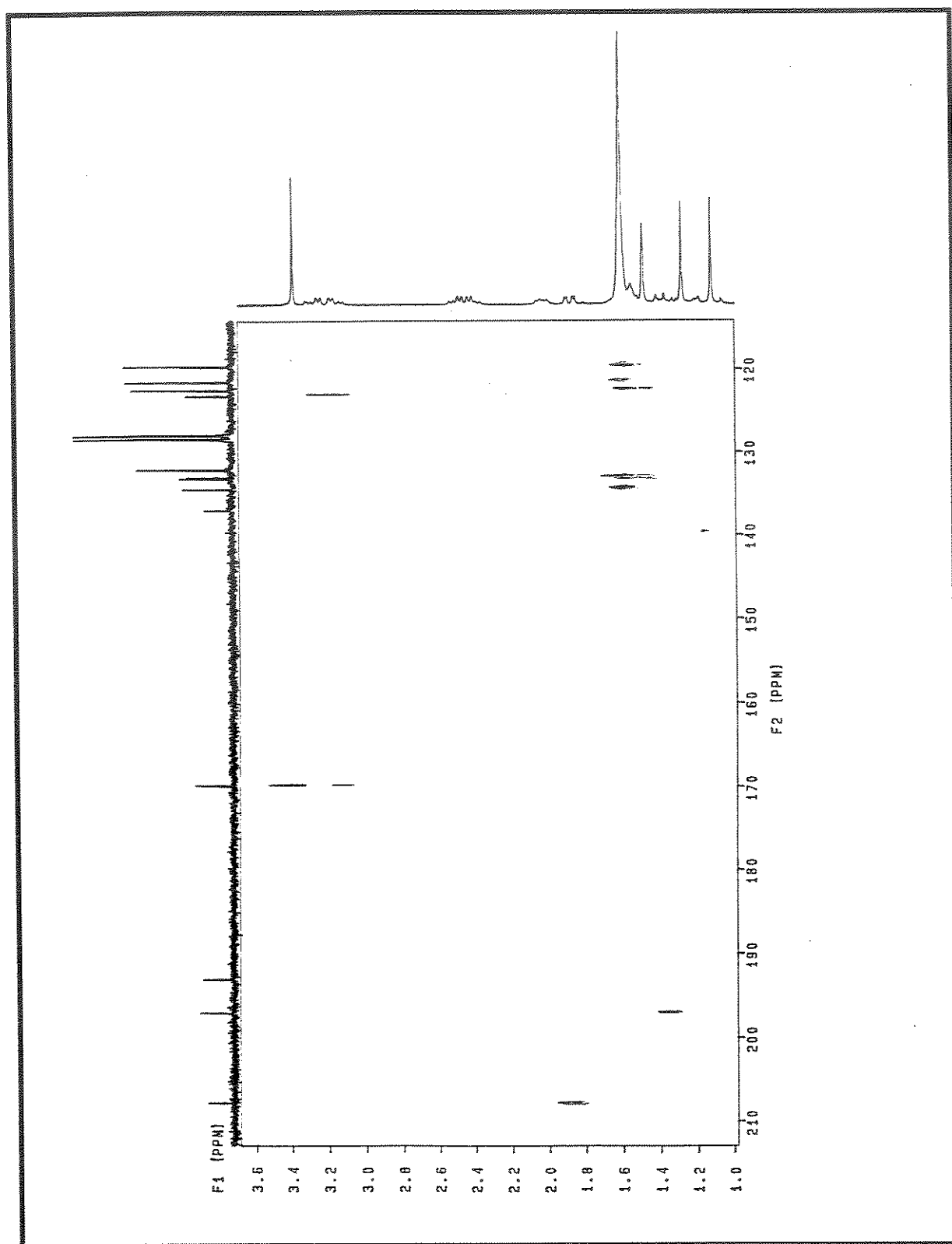
E 13 - Expansão do espectro E-10 do produto natural 17.



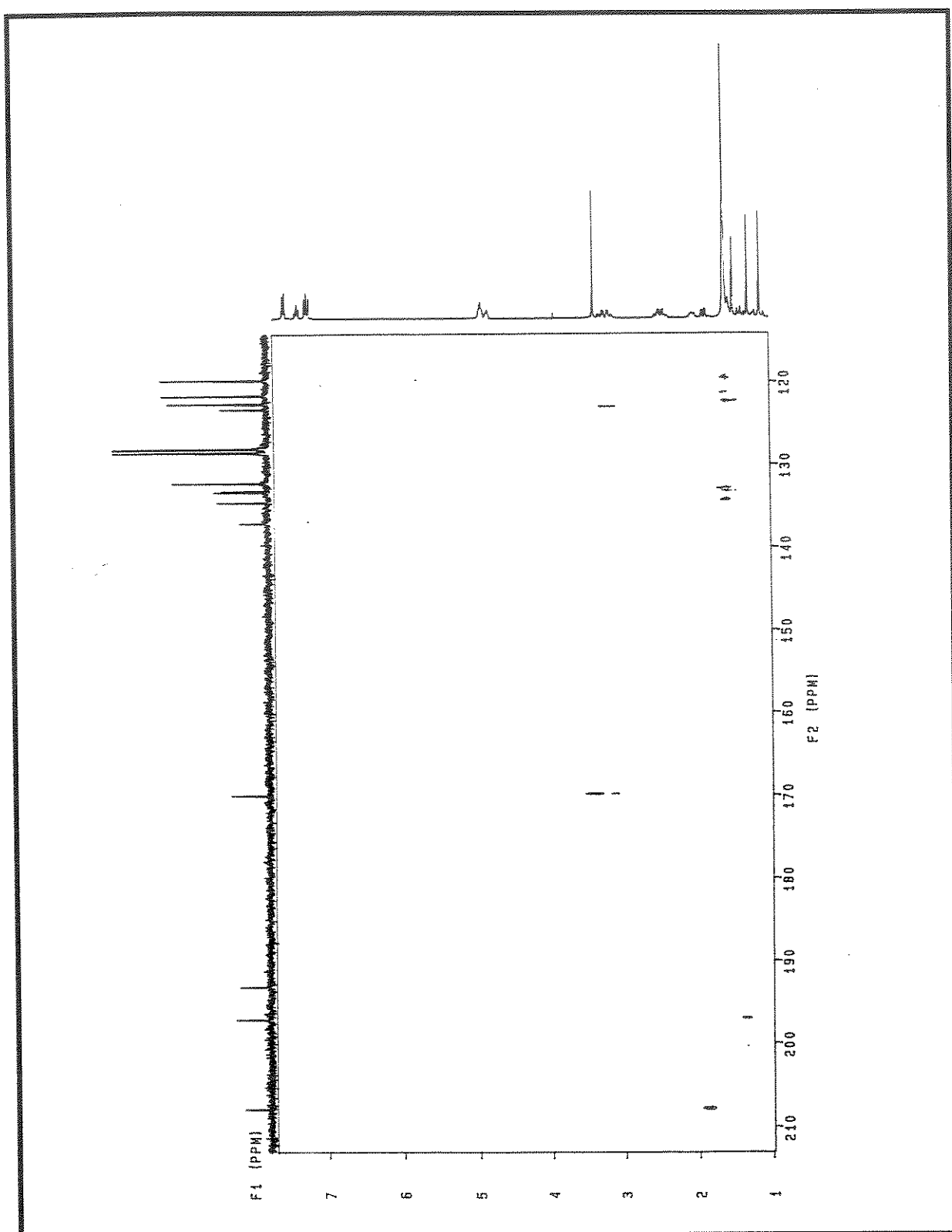
E 14 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - COLOC) do produto natural 17.



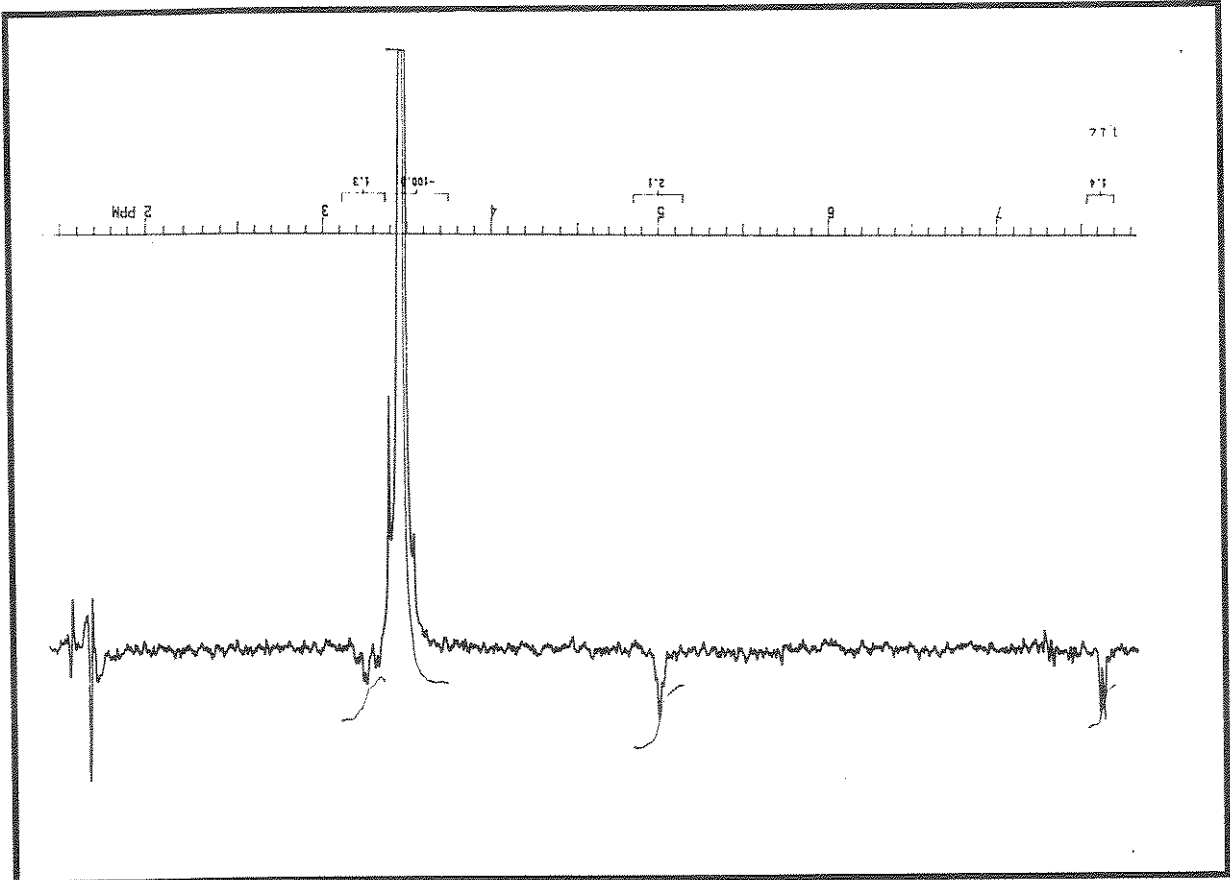
E 15 - Expansão do espectro de E-14 do produto natural 17.



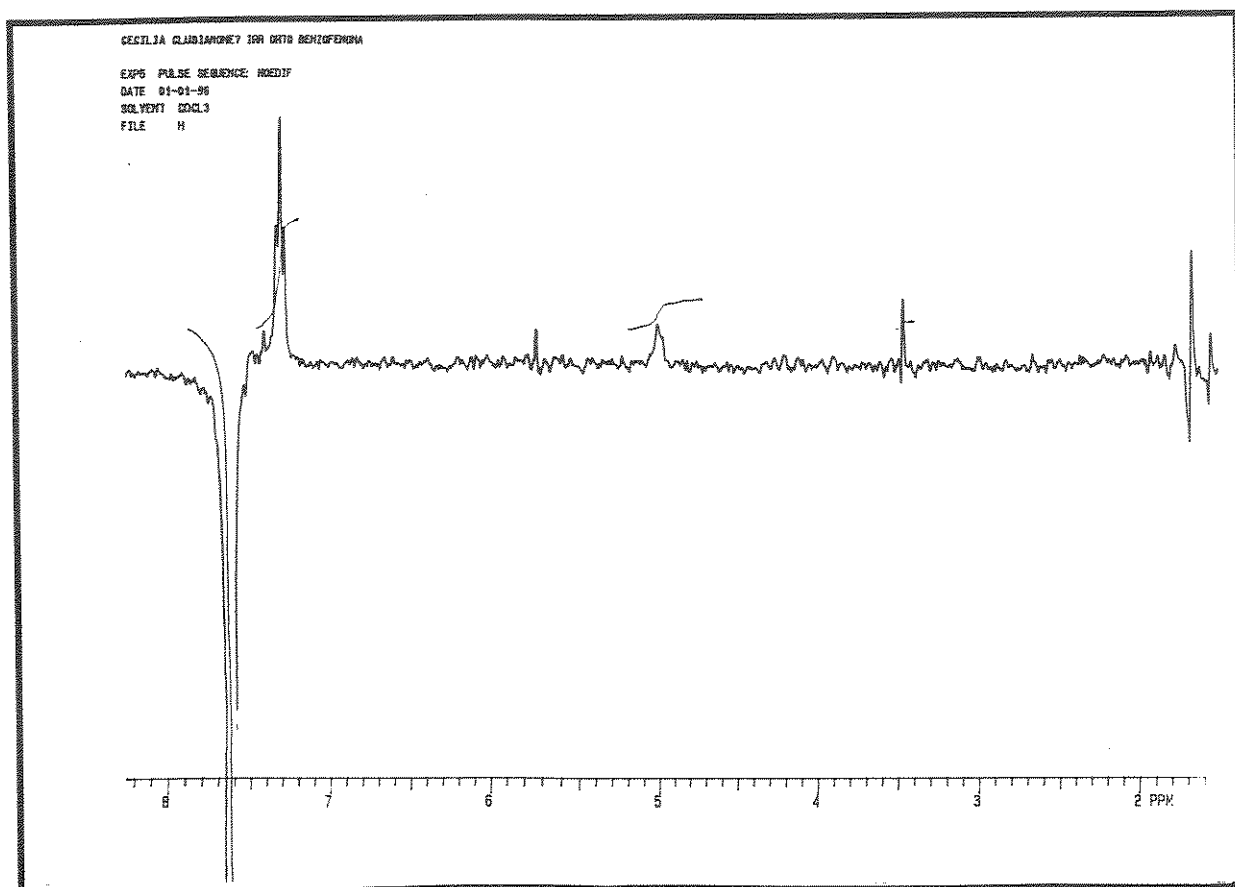
E 16 - Expansão do espectro de E-14 do produto natural 17.



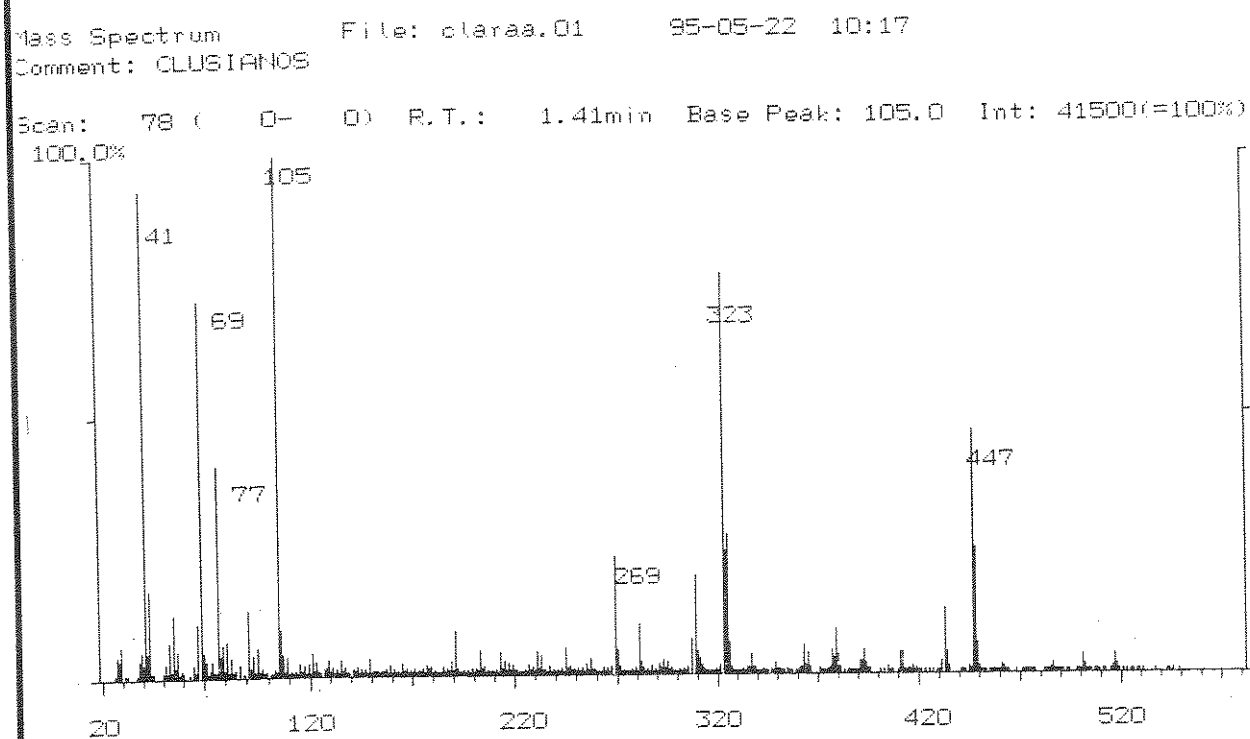
E 17 - Expansão do espectro de E-14 do produto natural 17.



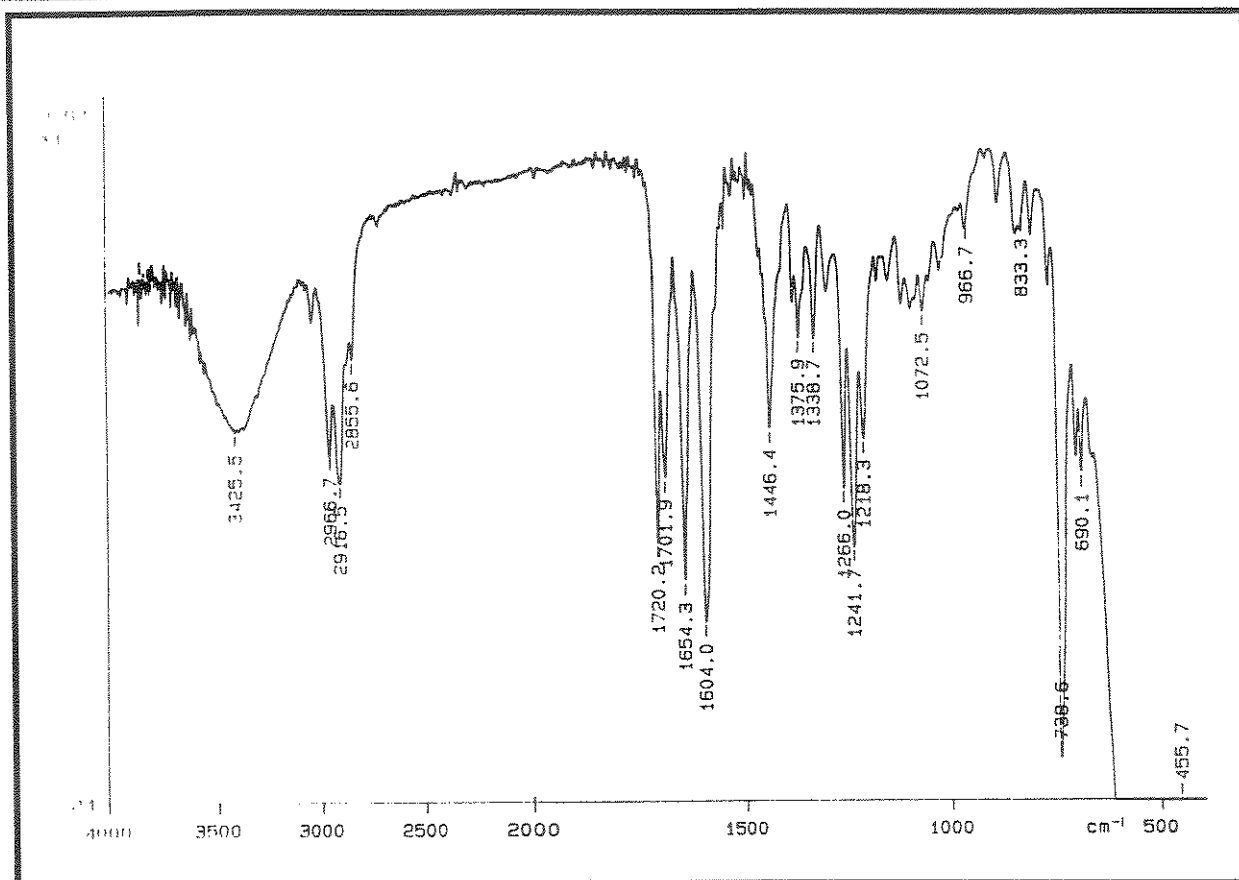
E 18 - Espectro de diferença de NOE do composto 17.



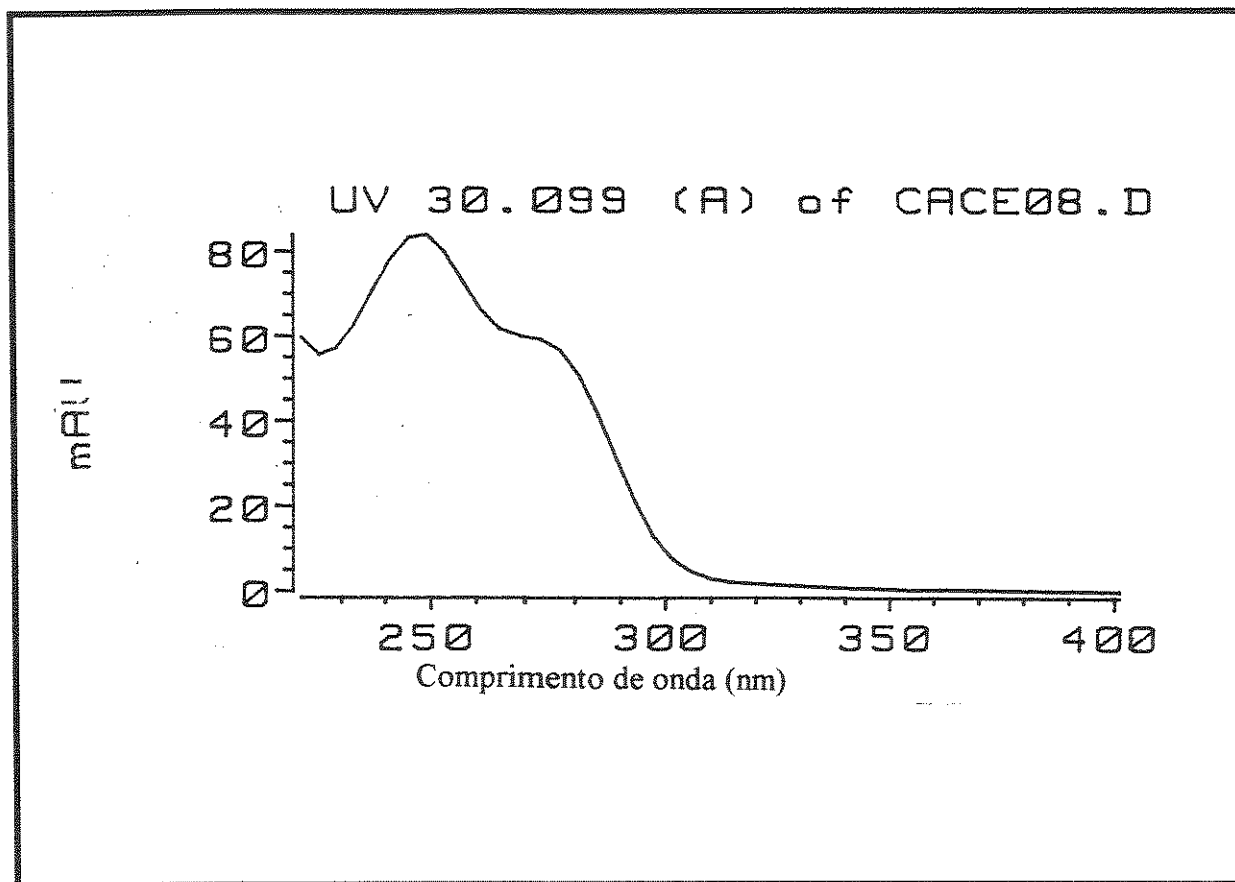
E 19 - Espectro de diferença de NOE do composto 17.

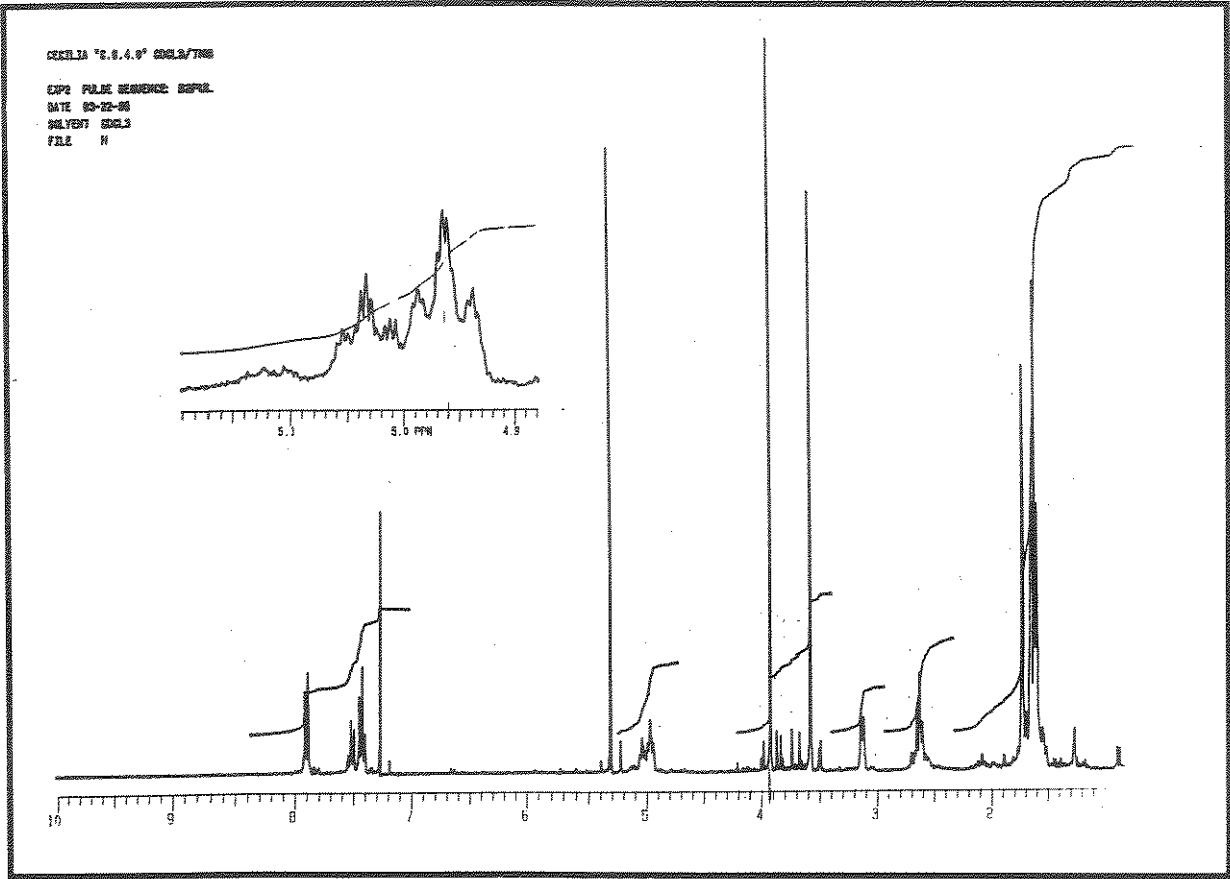


E 20 - Espectro de massas (70 eV) do produto natural 17.

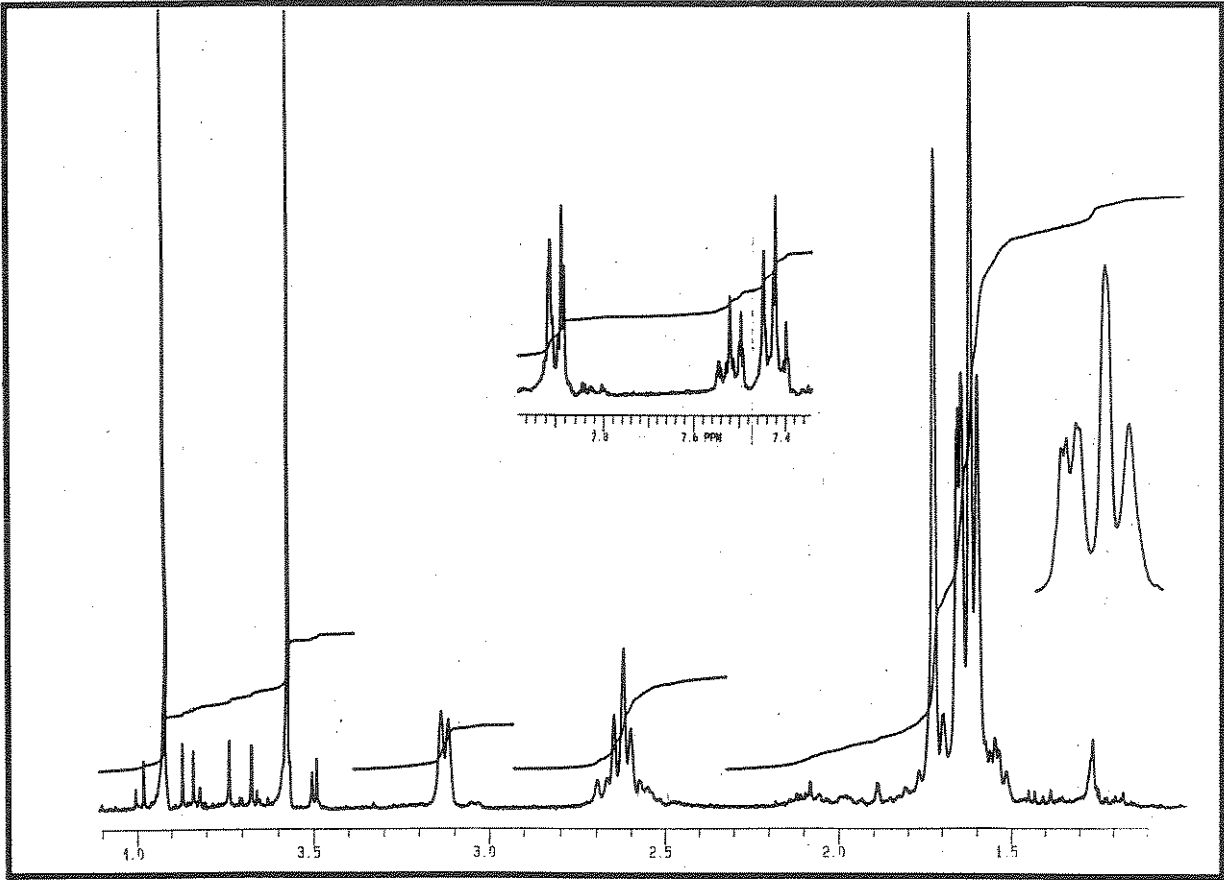


E 21 - Espectro no IV (filme) do produto natural 17.

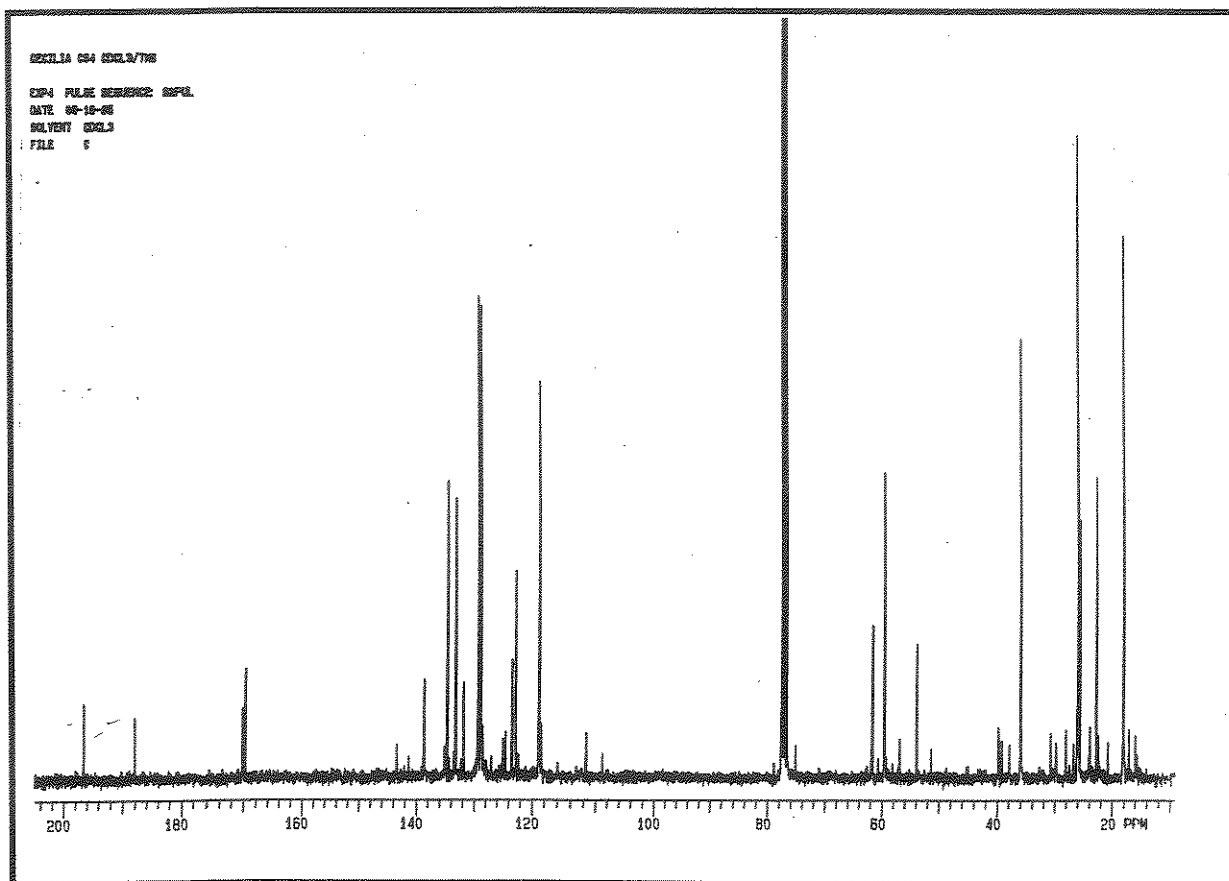
E 22 - Espectro no UV (CH_3CN) do produto natural 17.



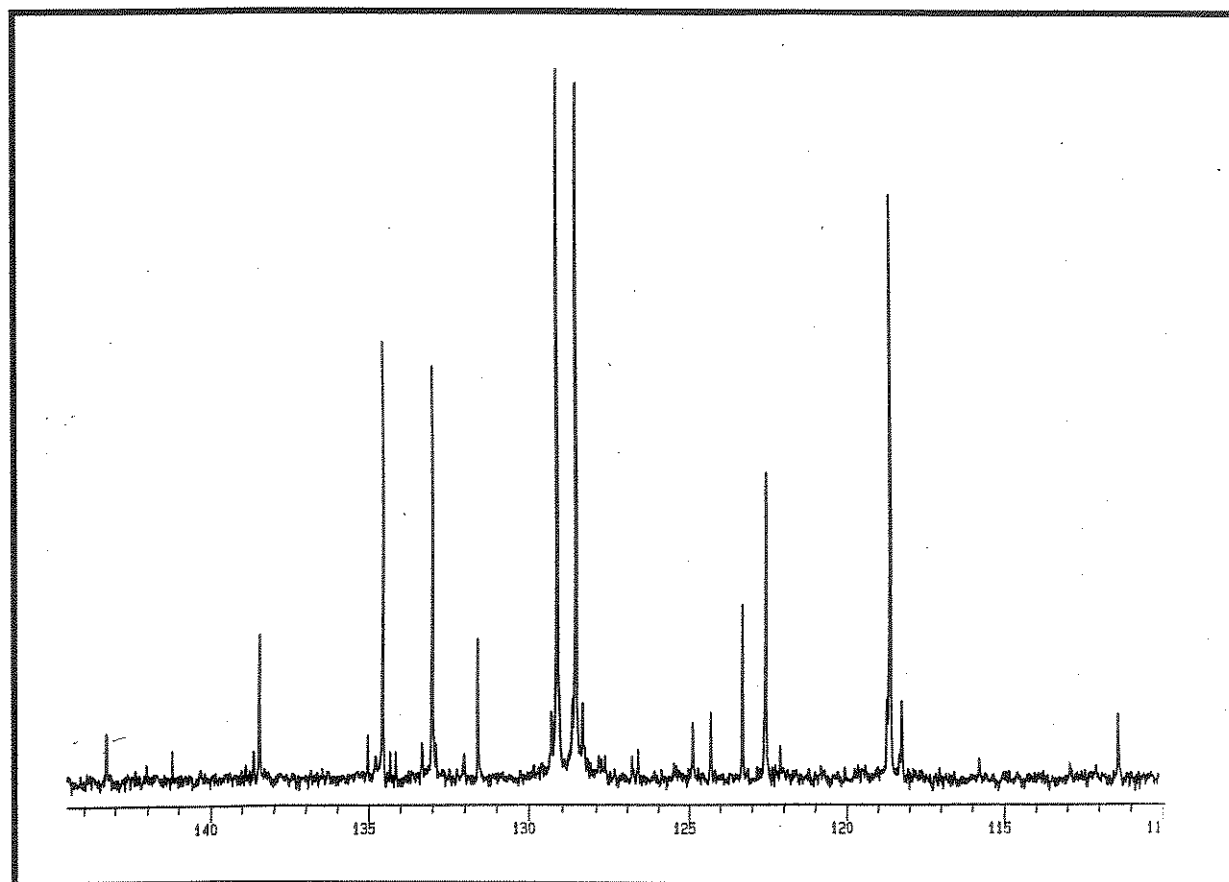
E 23 - Espectro de RMN¹ H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 19.



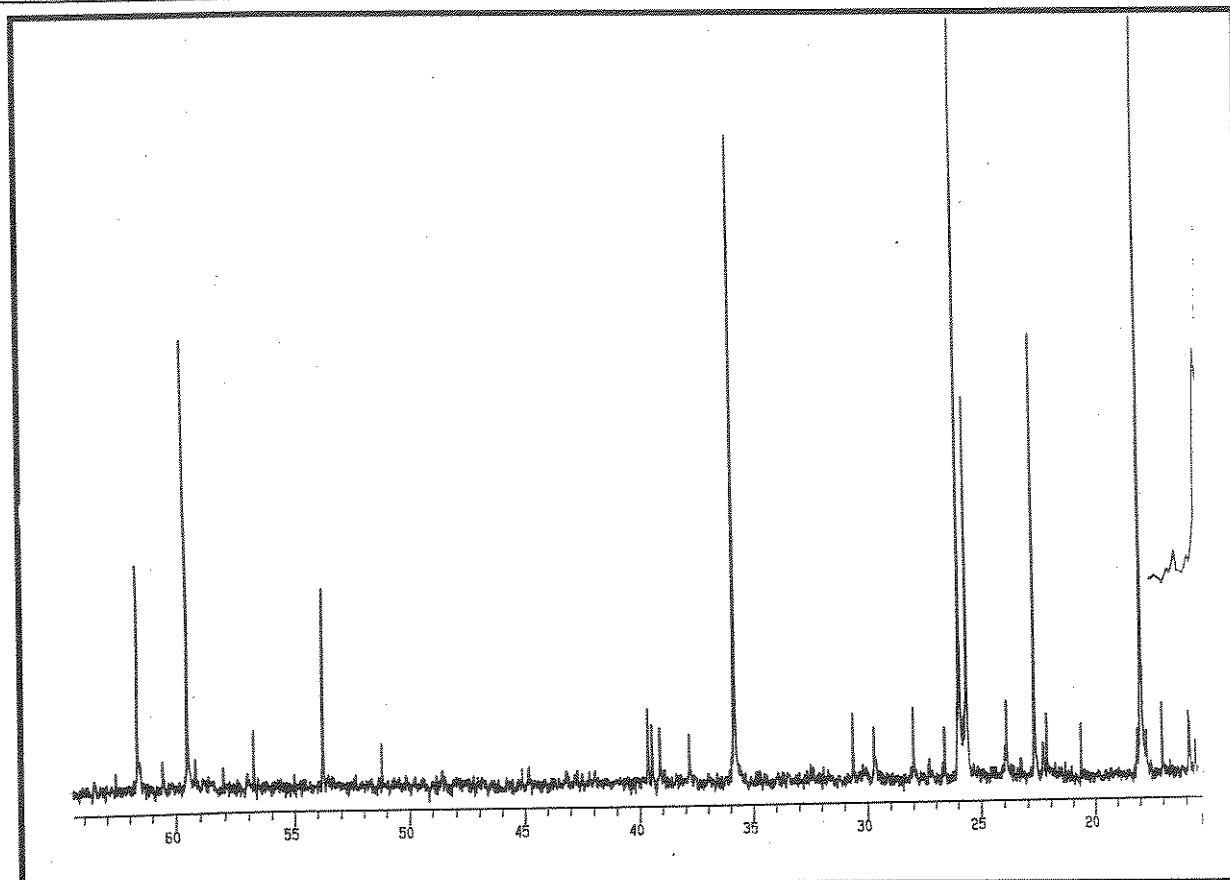
E 24 - Expansão do espectro E-23 (δ 1,0 - 4,0) do produto natural 19.



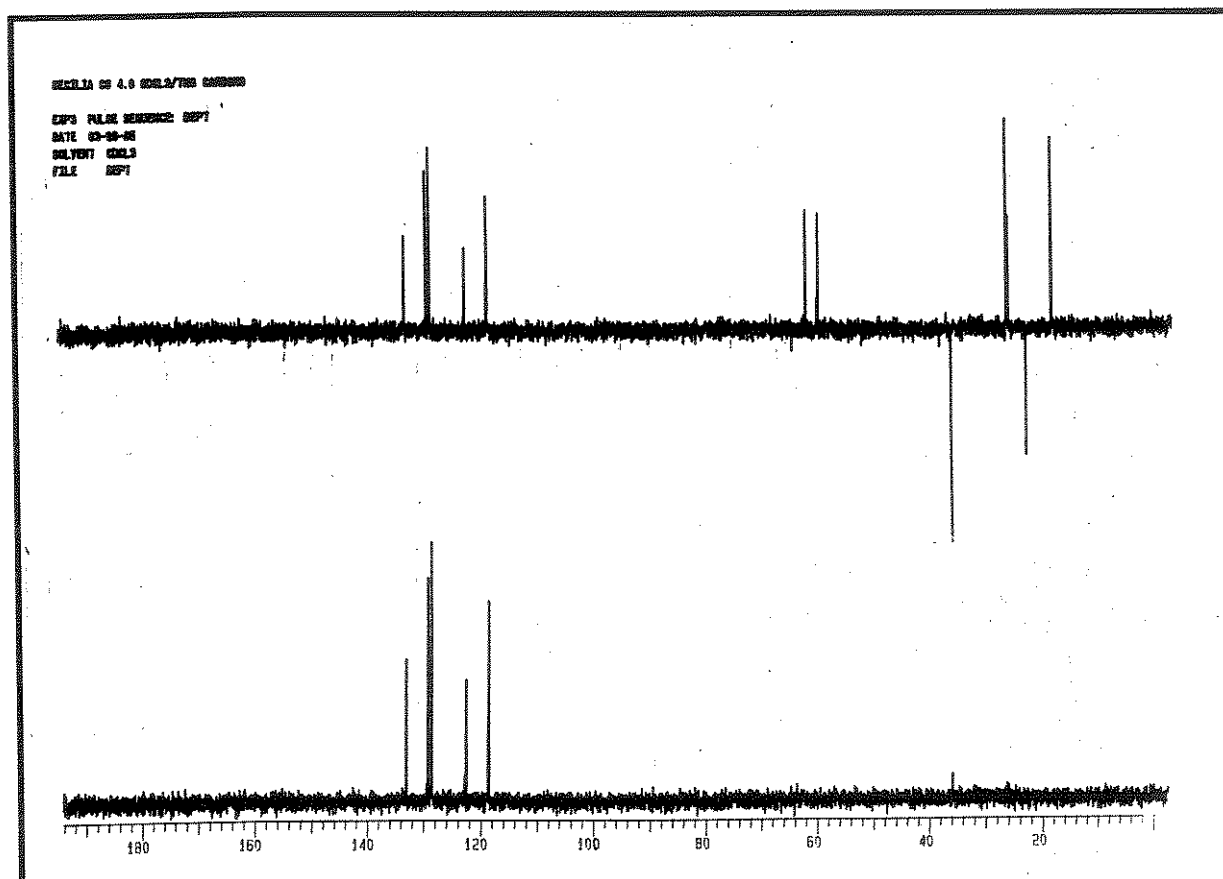
E 25 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 19.



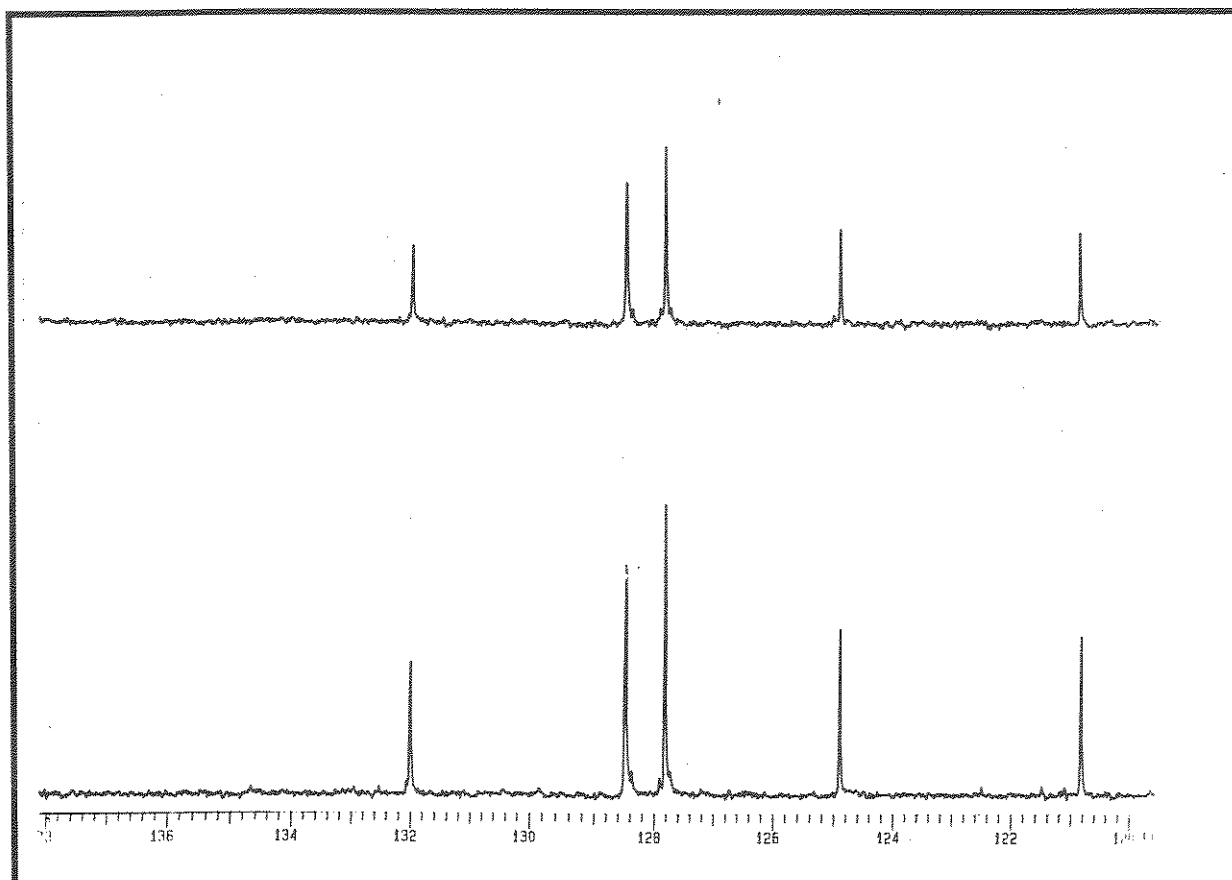
E 26 - Expansão do espectro E-25 (δ 110 - 145) do produto natural 19.



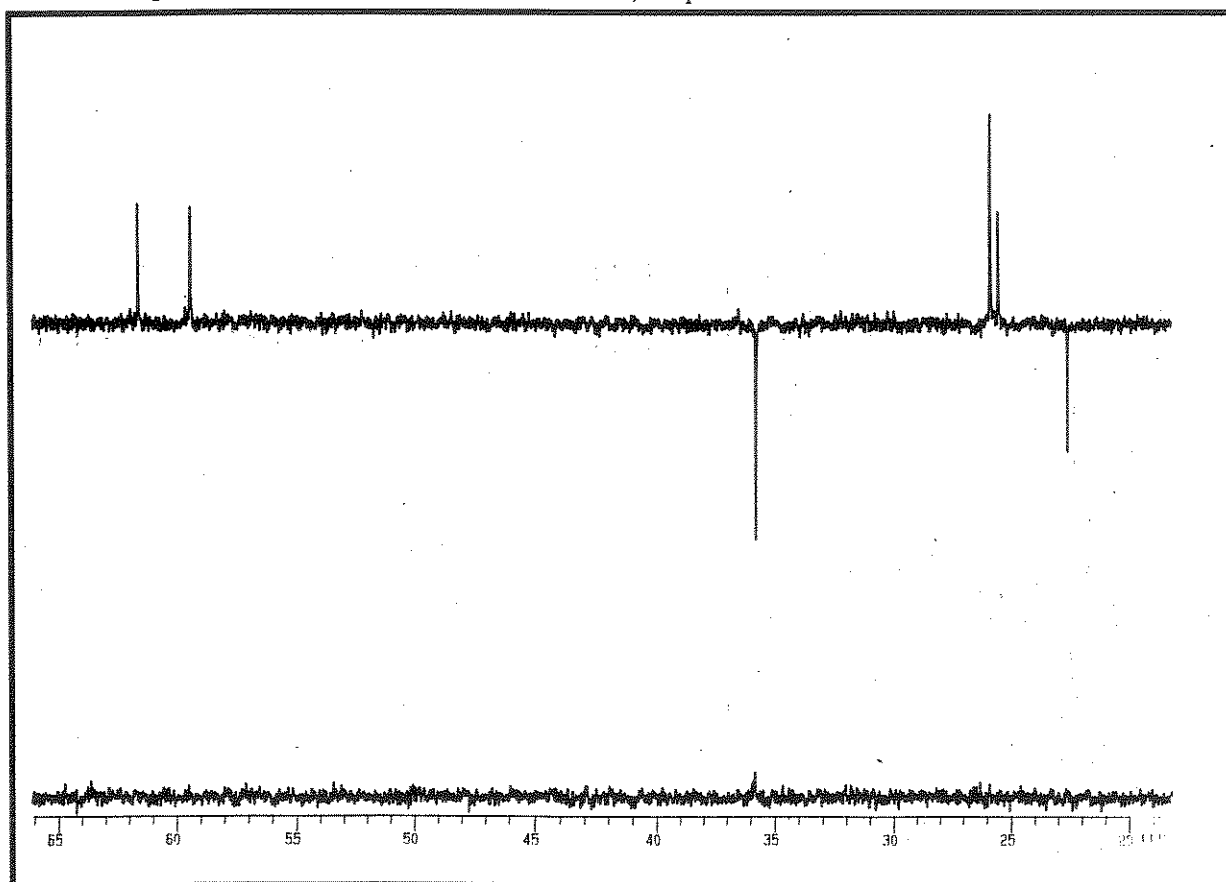
E 27 - Expansão do espectro E-25 (δ 15 - 65) do produto natural 19.



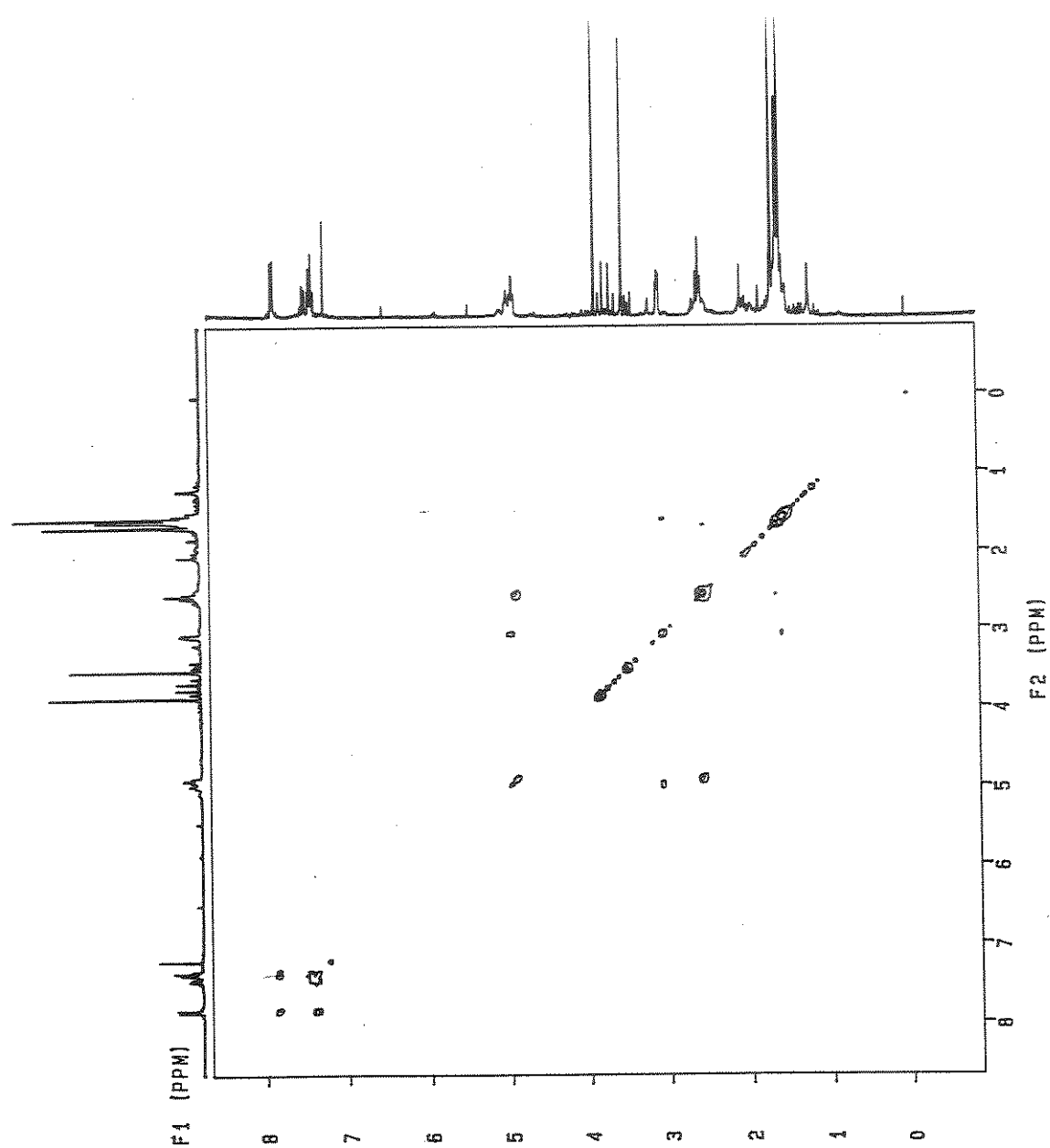
E 28 - Espectro de DEPT (135° e 50°) do produto natural 19.



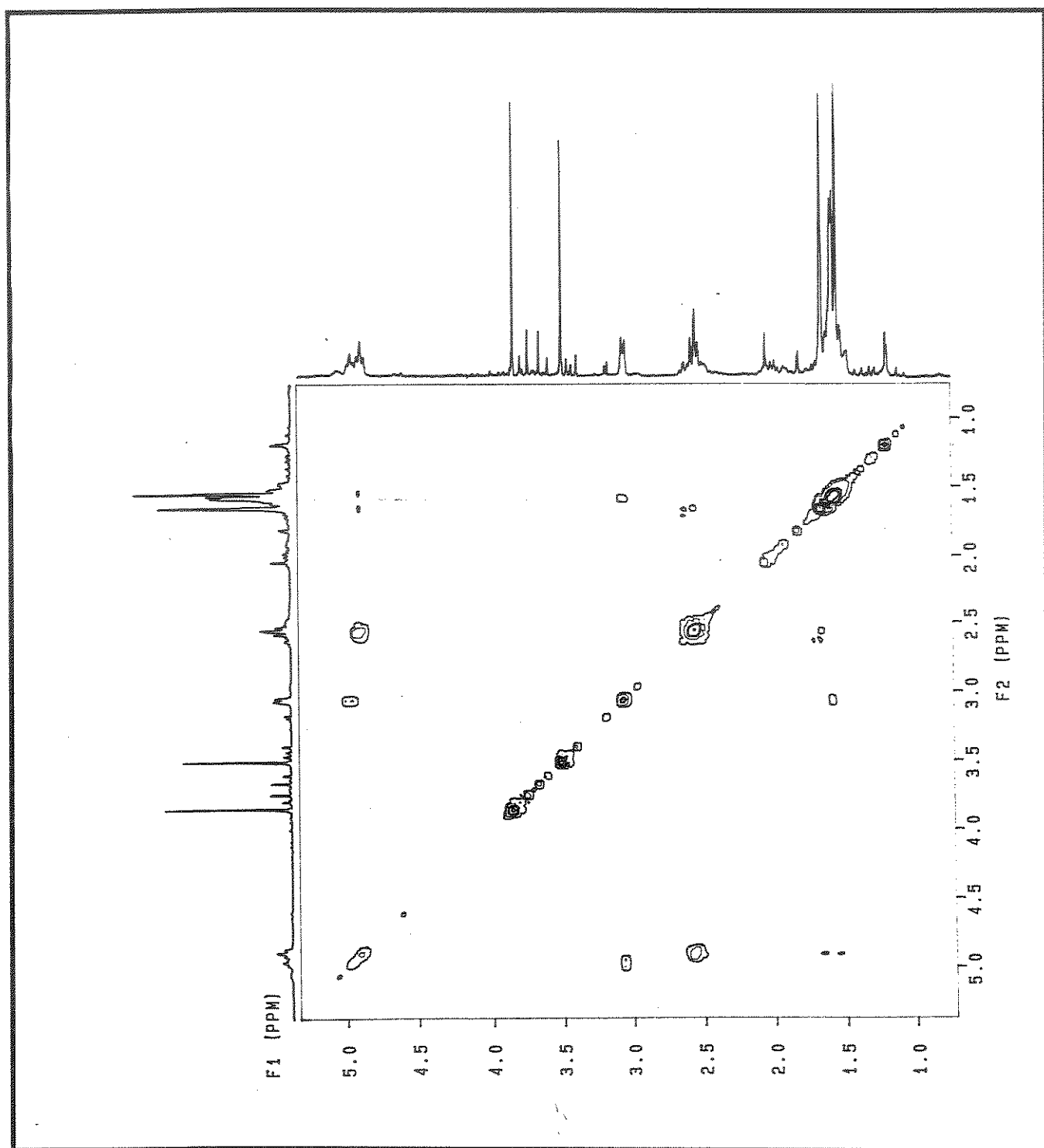
E 29 - Expansão do espectro E-28 (δ 120 - 138) do produto natural 19.



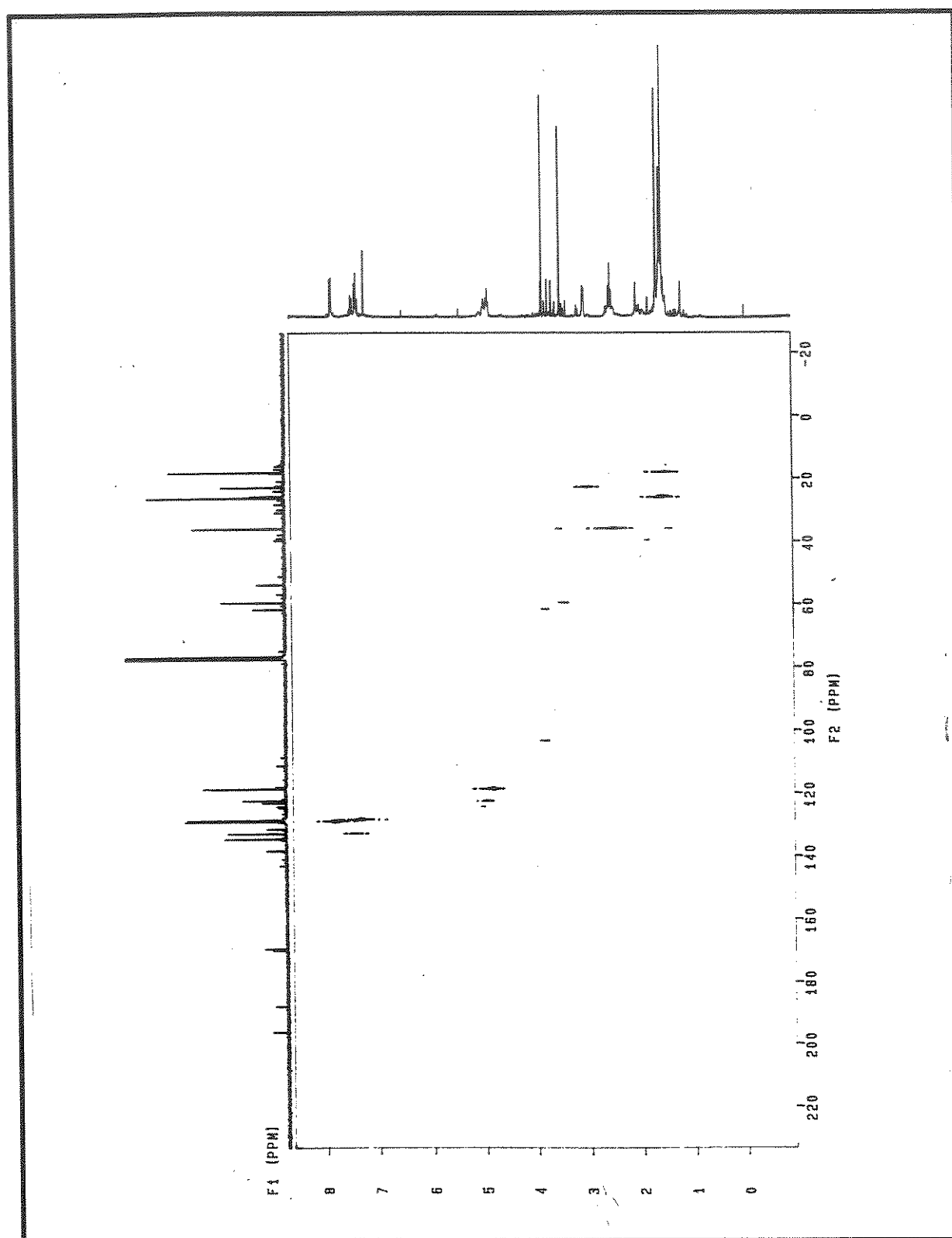
E 30 - Expansão do espectro E-28 (δ 20 - 65) do produto natural 19.



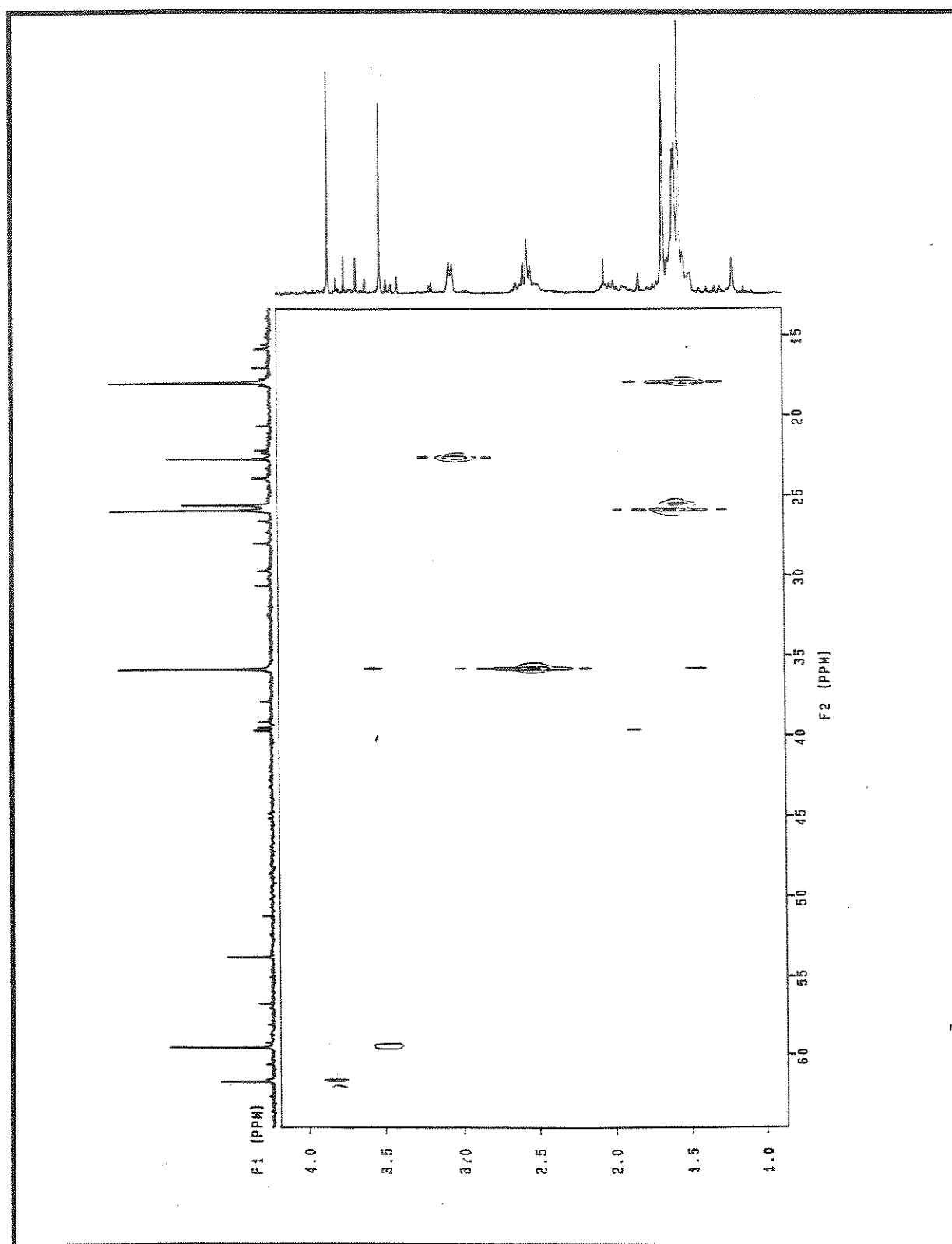
E 31 - Espectro 2D (^1H , ^1H -COSY) do produto natural 19.



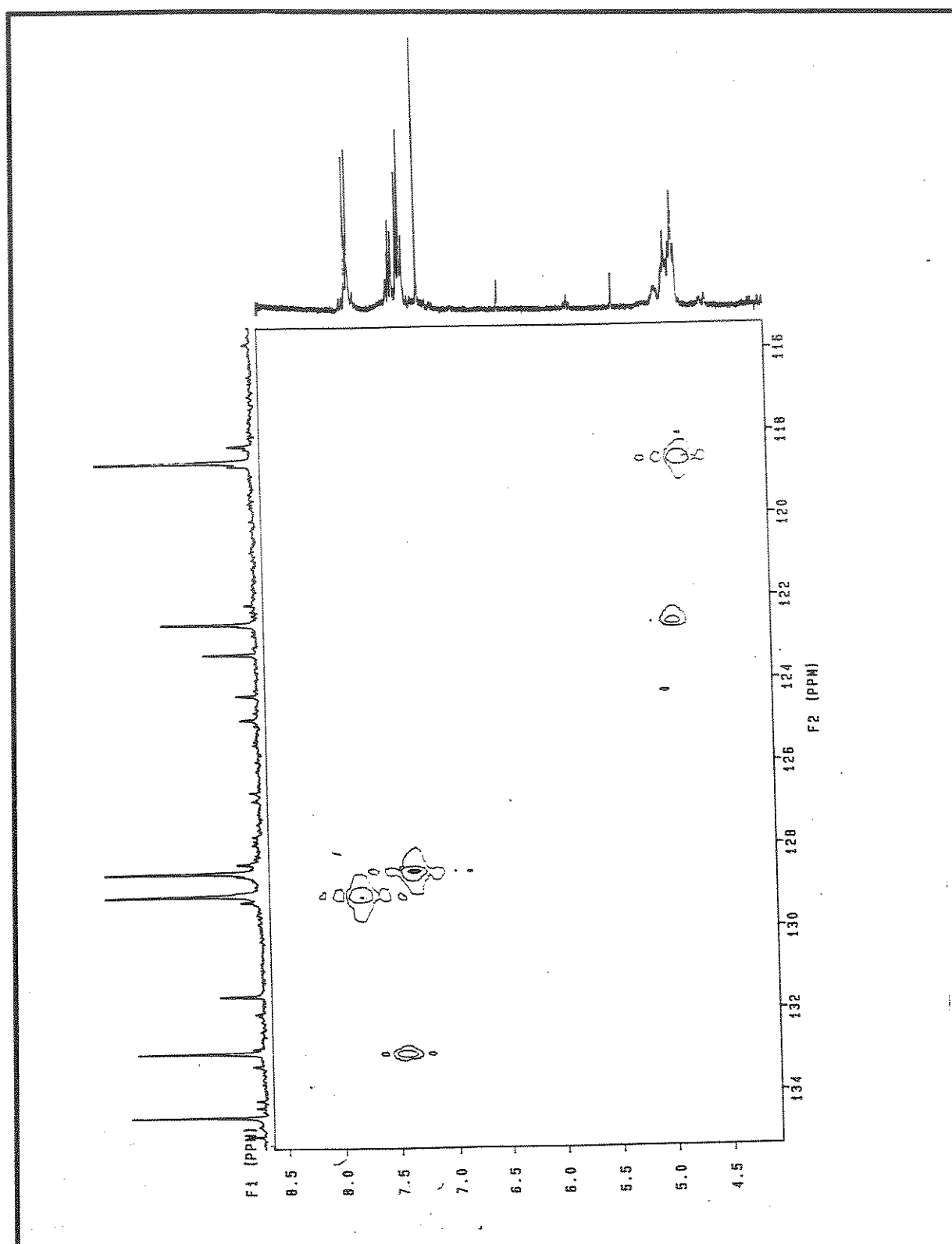
E 32 - Expansão do espectro E-31 do produto natural 19.



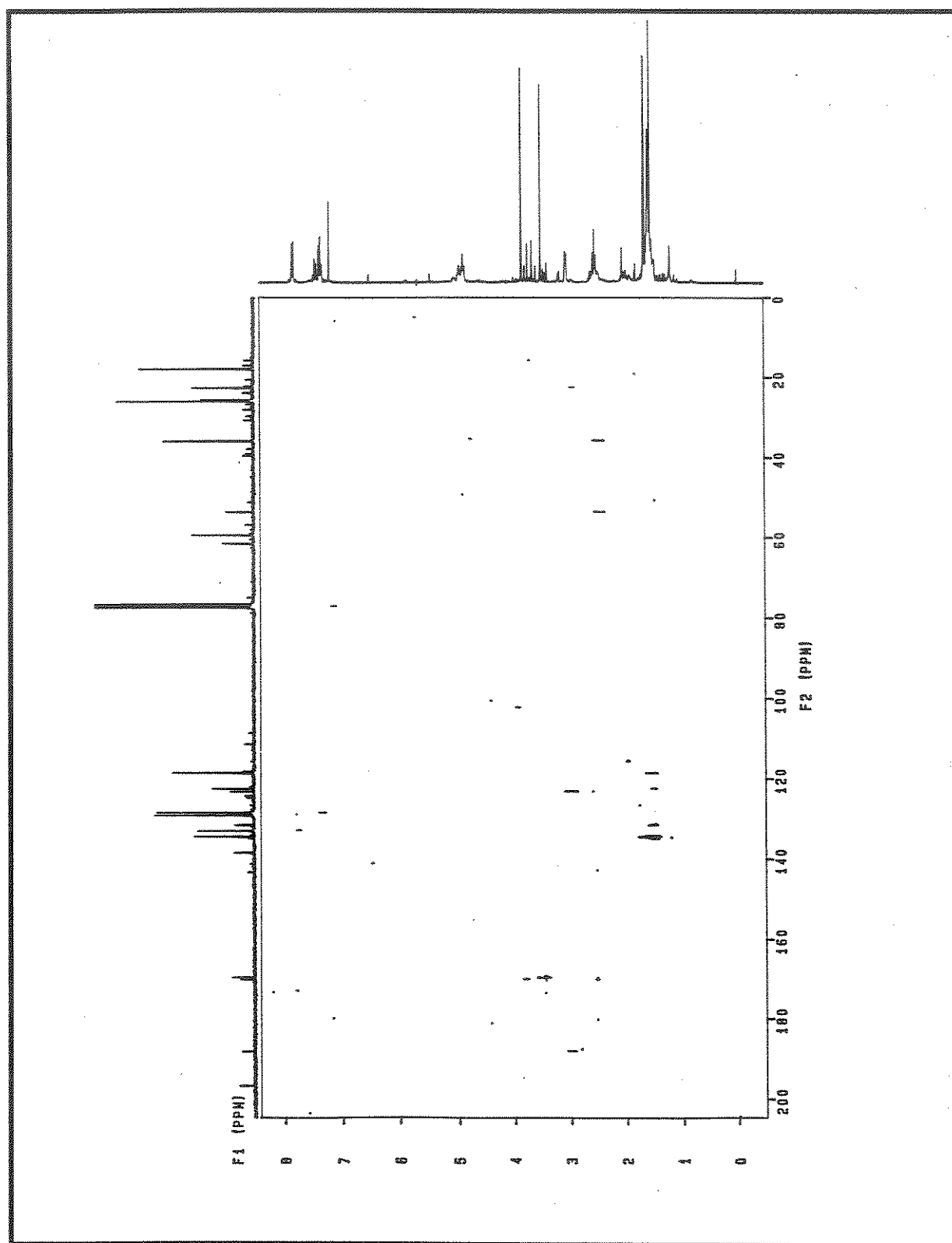
E 33 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C -HETCOR) do produto natural 19.



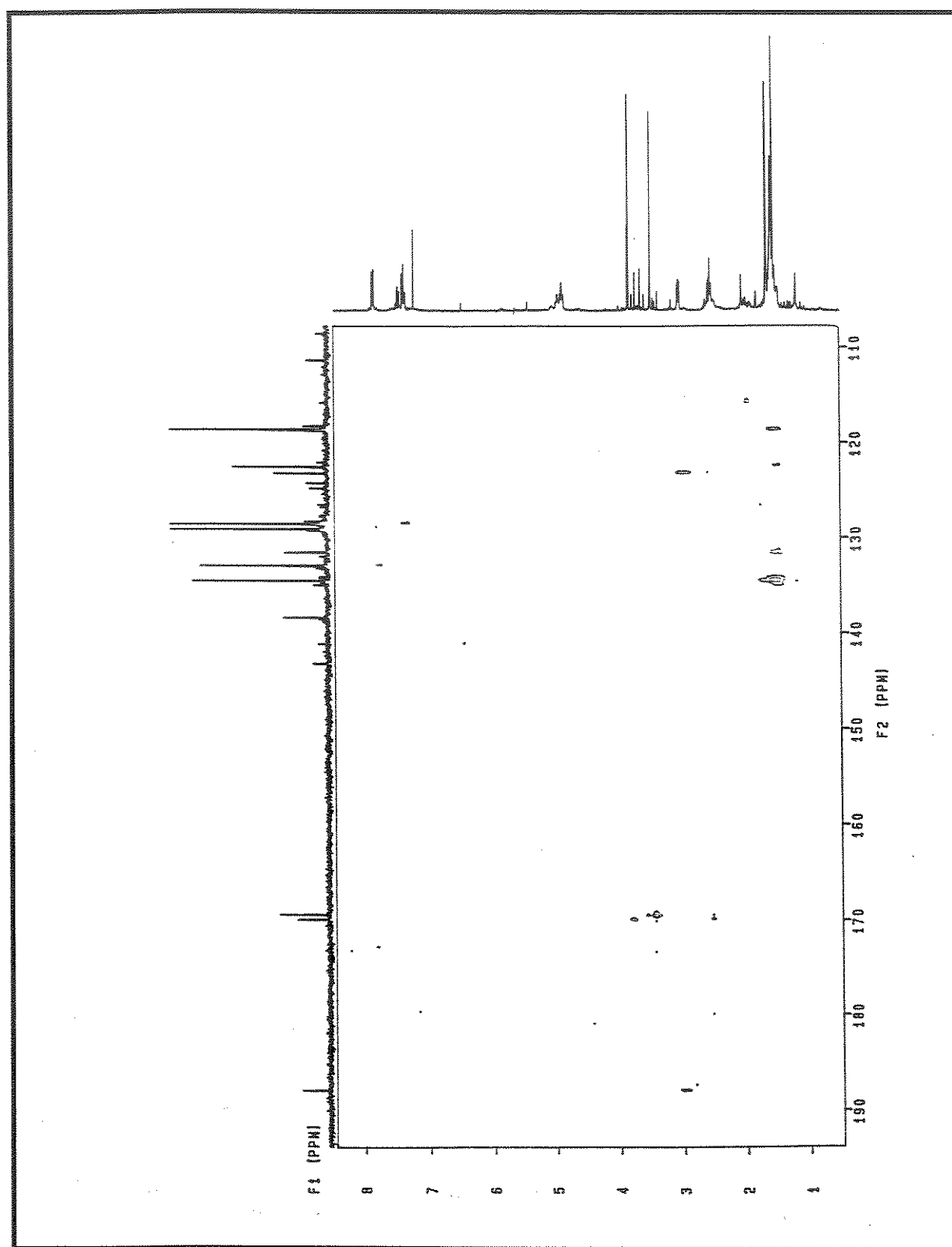
E 34 - Expansão do espectro E-33 do produto natural 19.



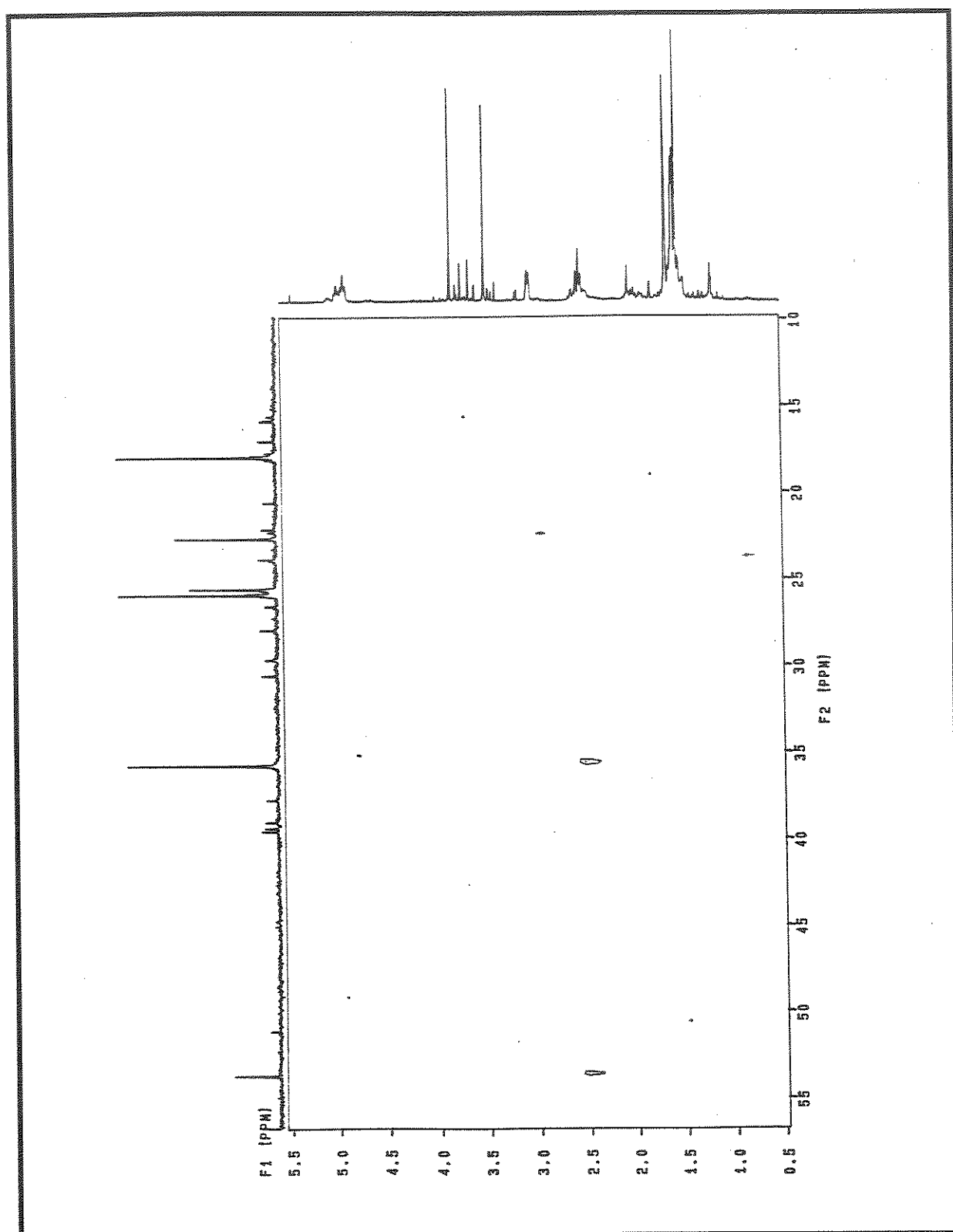
E 35 - Expansão do espectro E-33 do produto natural 19.



E 36 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C -COLOC) do produto natural 19.



E 37 - Expansão do espectro E-36 do produto natural 19.

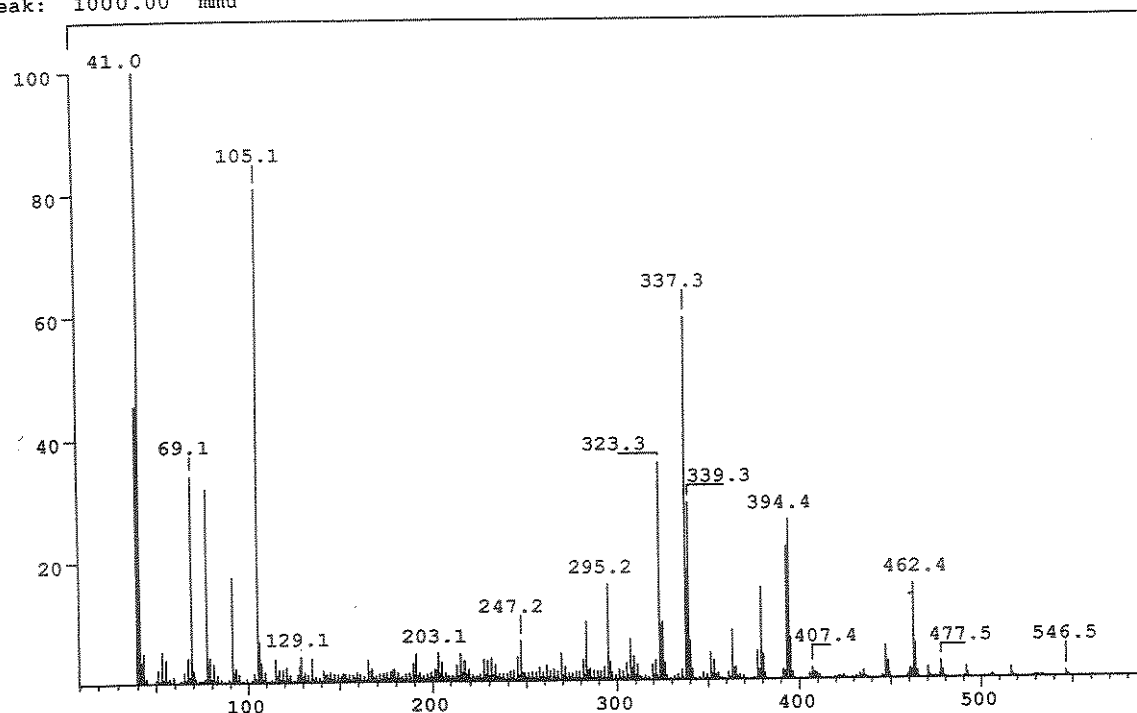


E 38 - Expansão do espectro E-36 do produto natural 19.

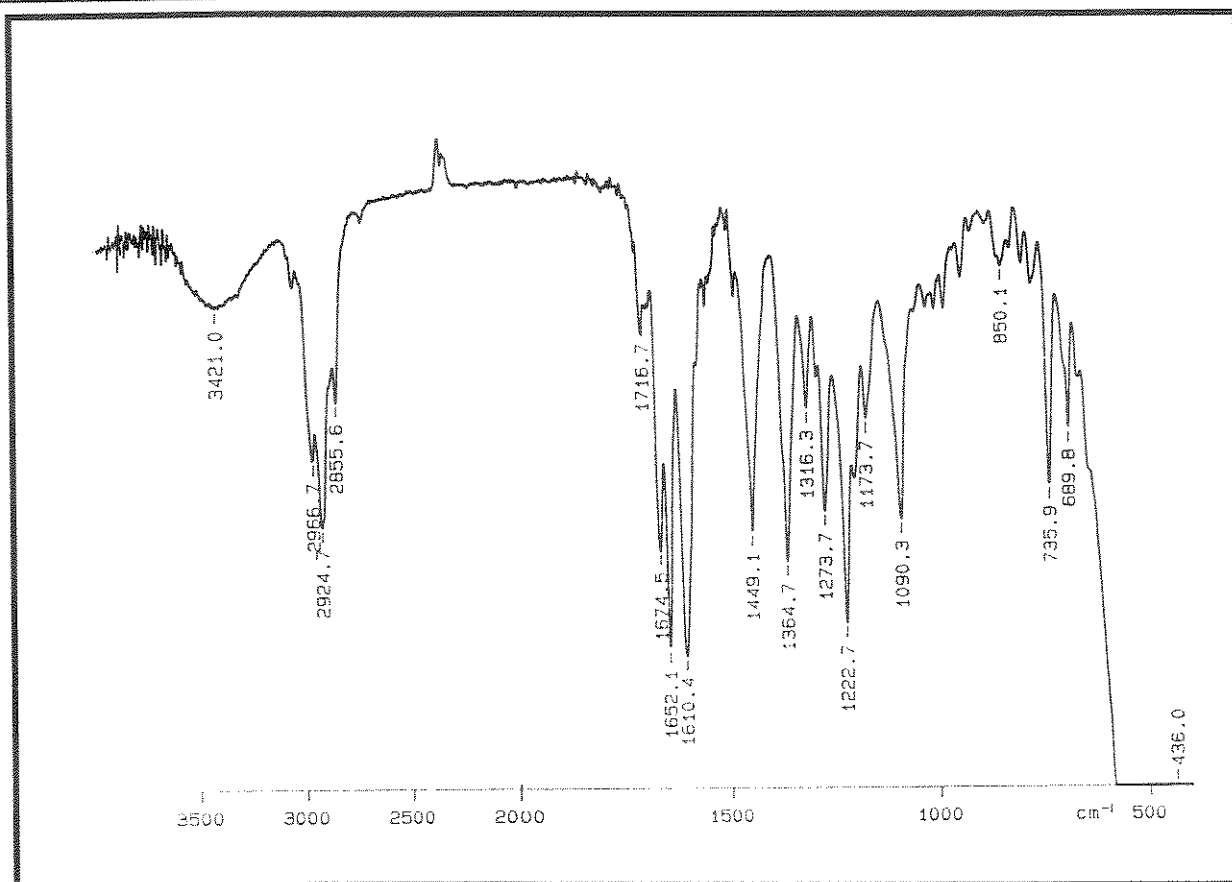
Samp: Rauch C-3
Mode: EI +VE +LMR BSCAN (EXP) UP LR
Oper: ReUd-GOE
Base: 41.0
Norm: 41.0
Peak: 1000.00 mmu

Inten : 7700955
RIC : 82723615

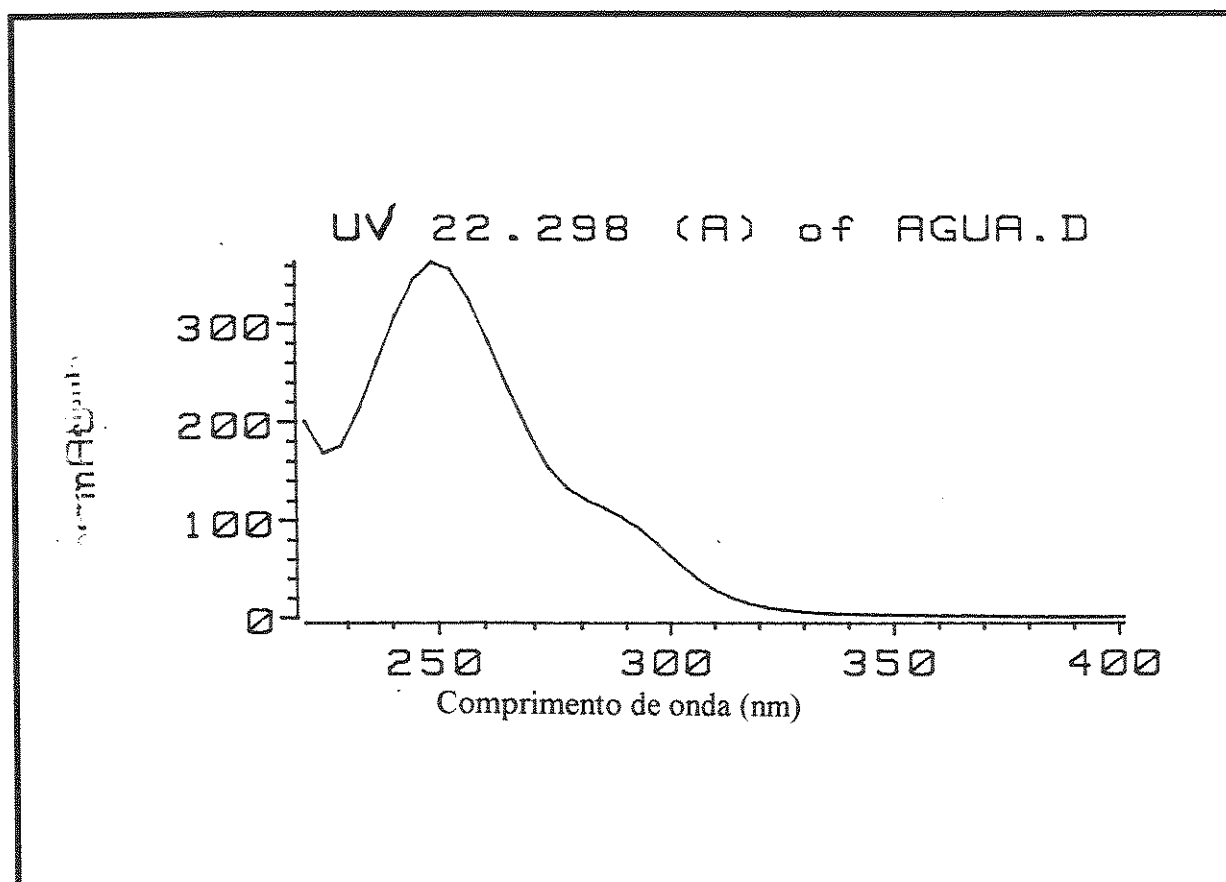
Start : 08:53:14 13
Inlet :
Masses: 40 > 1000
#peaks: 580

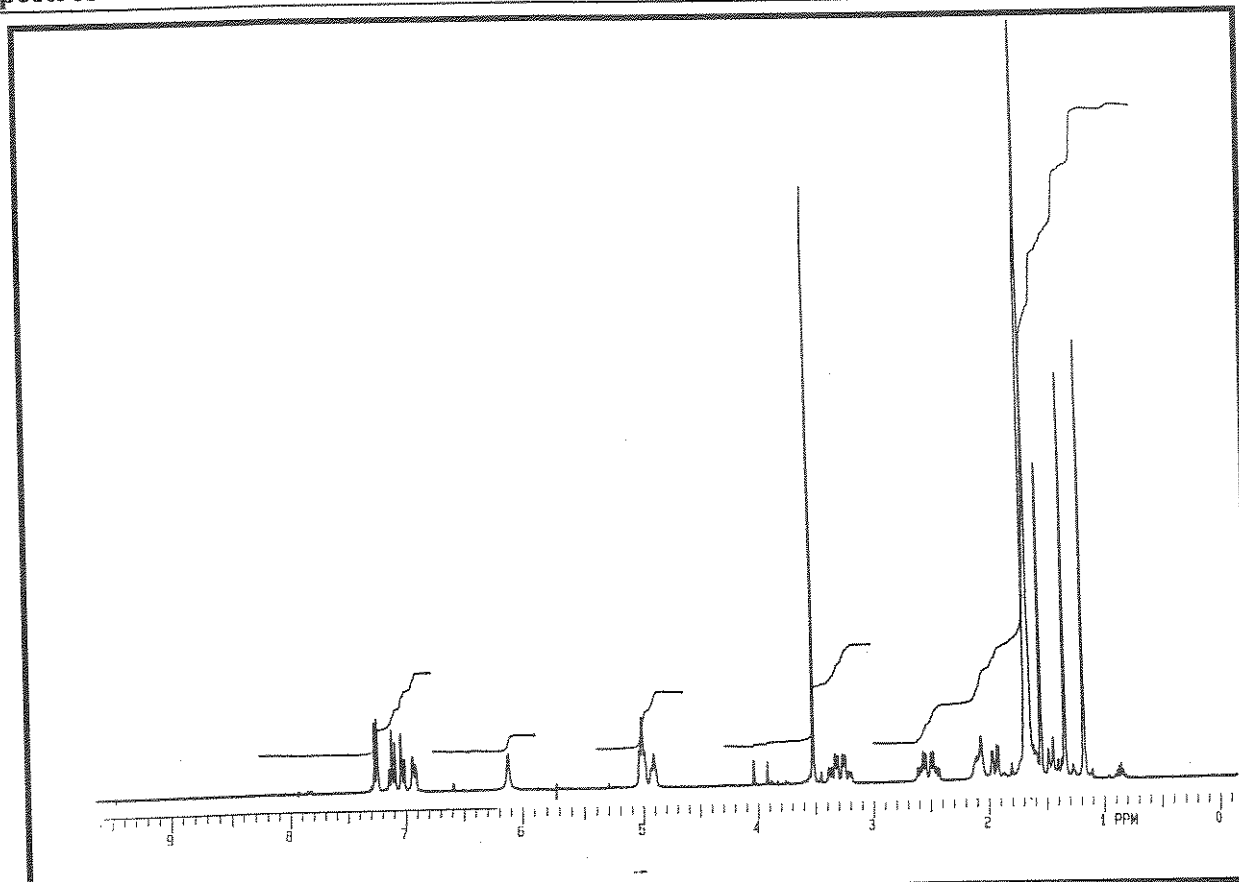


E 39 - Espectro de massas (70 eV) do produto natural 19.

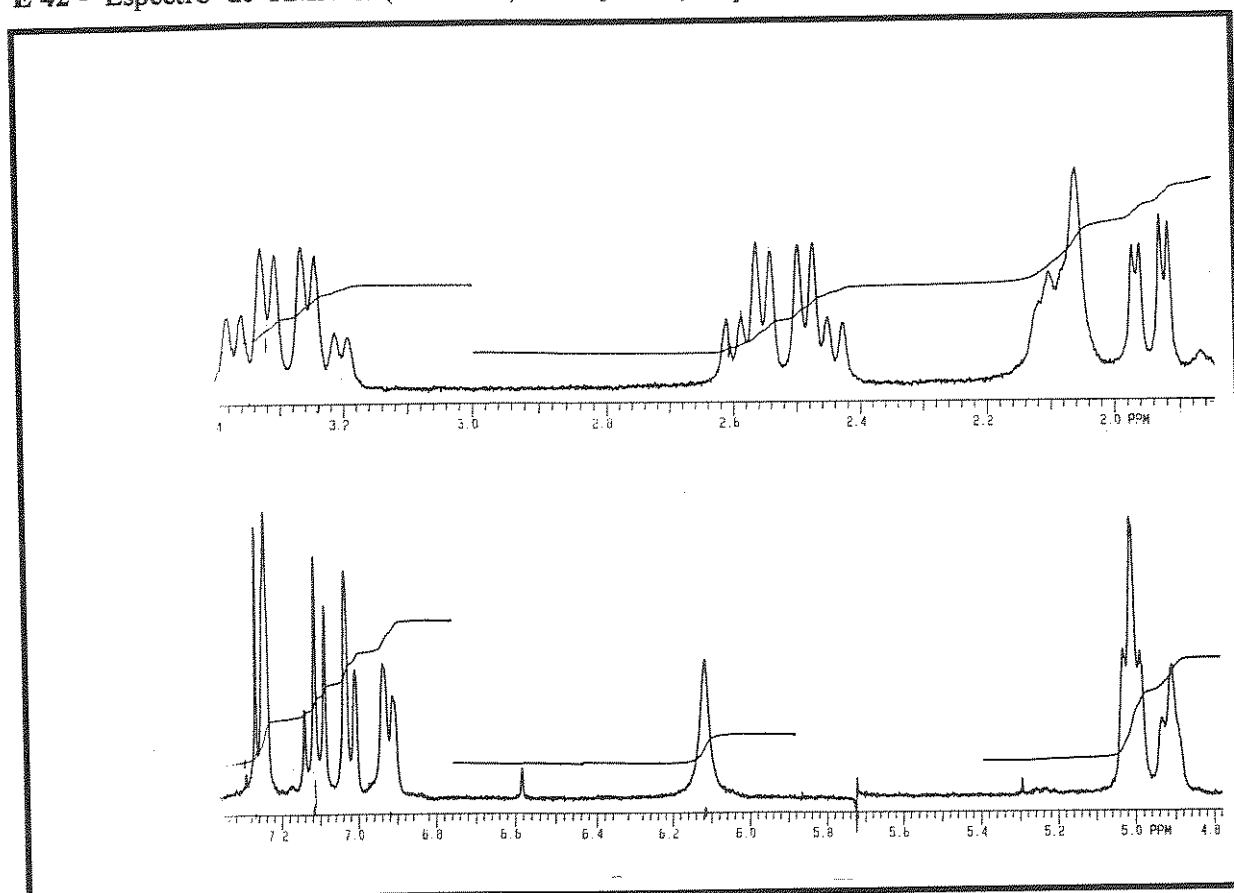


E 40 - Espectro no IV (filme) do produto natural 19.

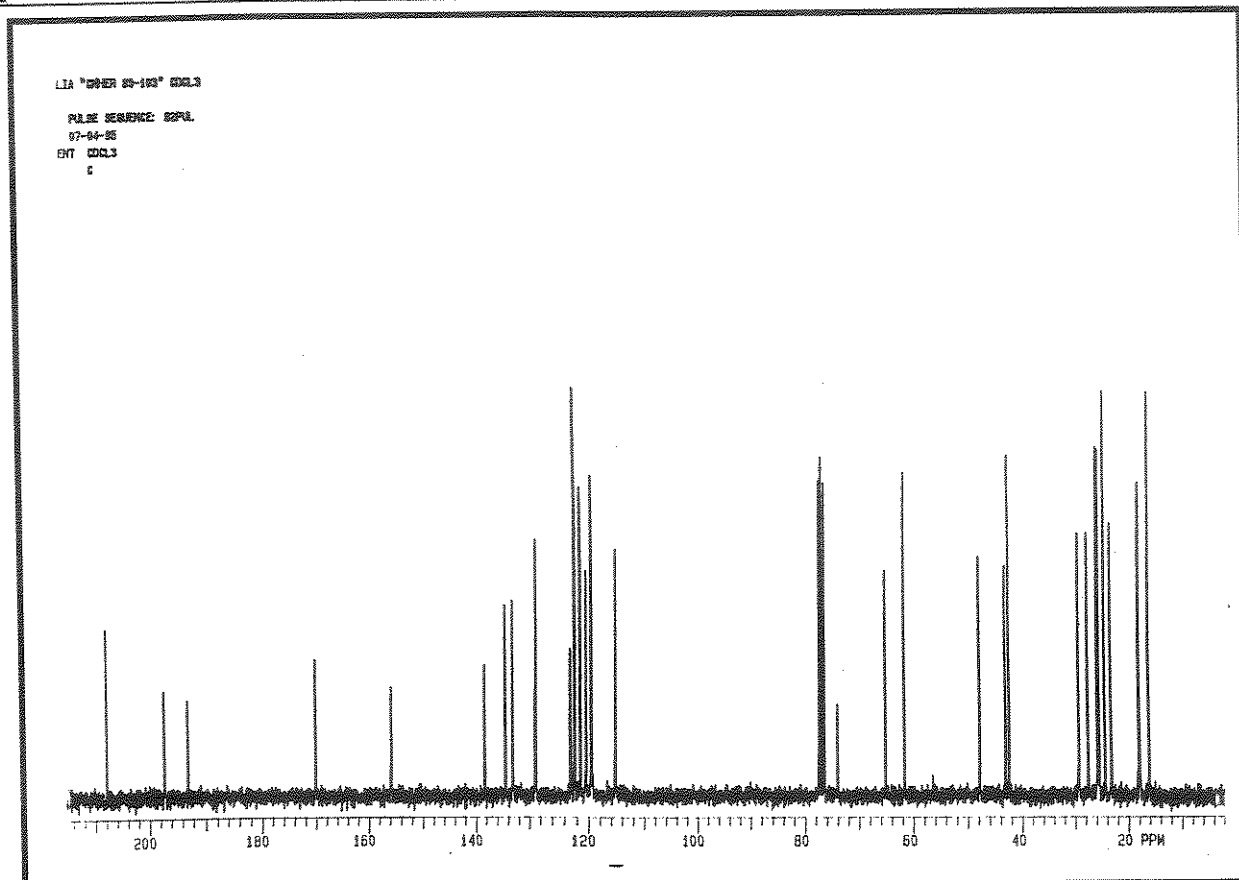
E 41 - Espectro no UV (CH_3CN) do produto natural 19.



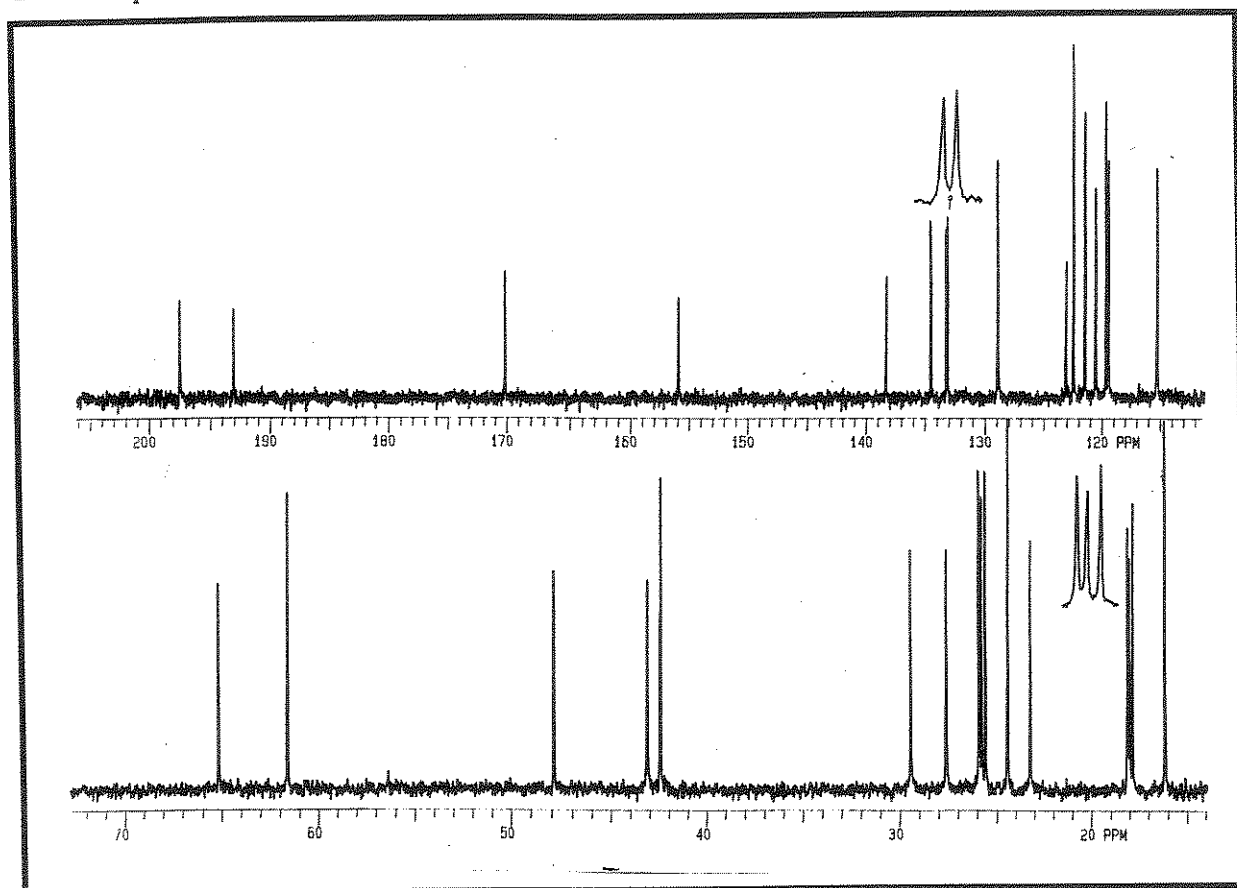
E 42 - Espectro de RMN^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do produto natural 21.



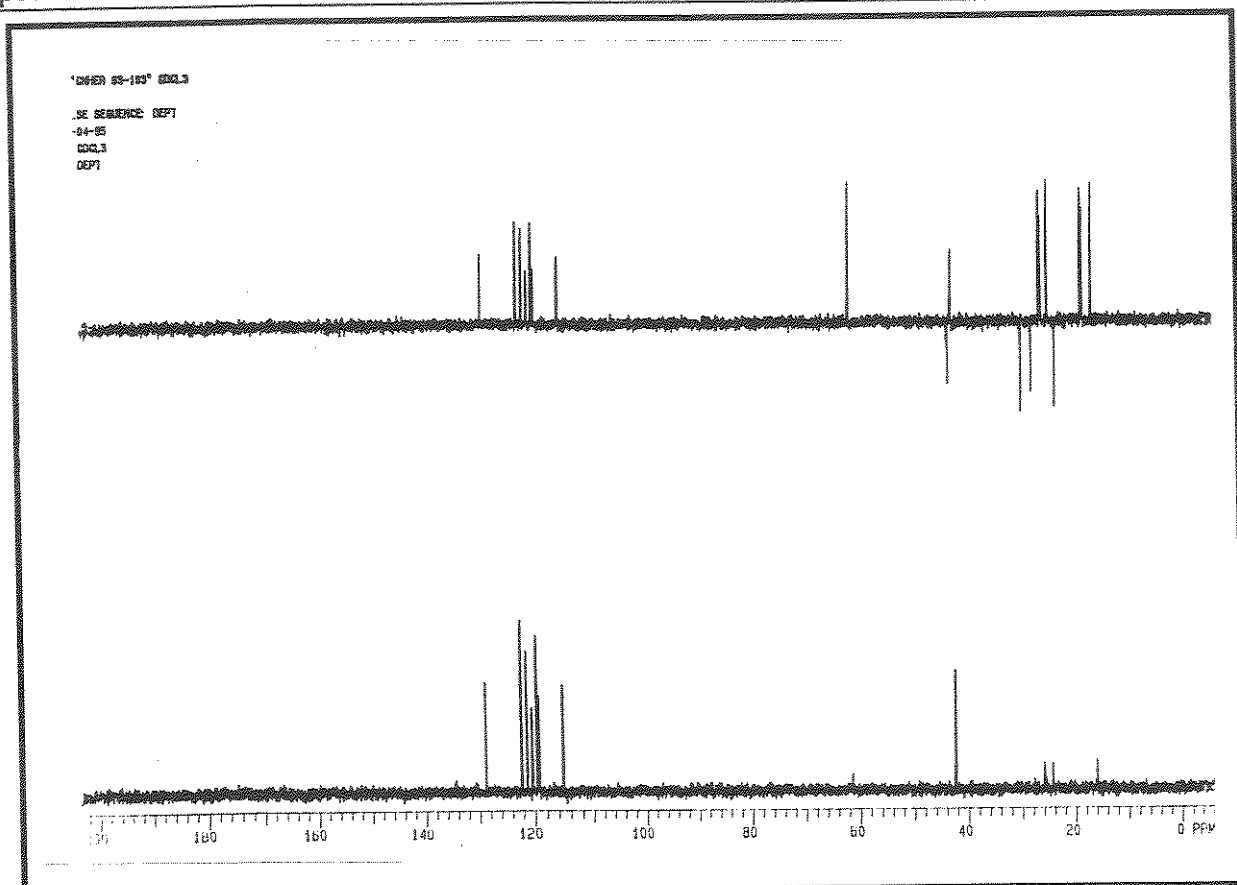
E 43 - Expansão do E-42 (δ 7,3 - 2,1) do produto natural 21.



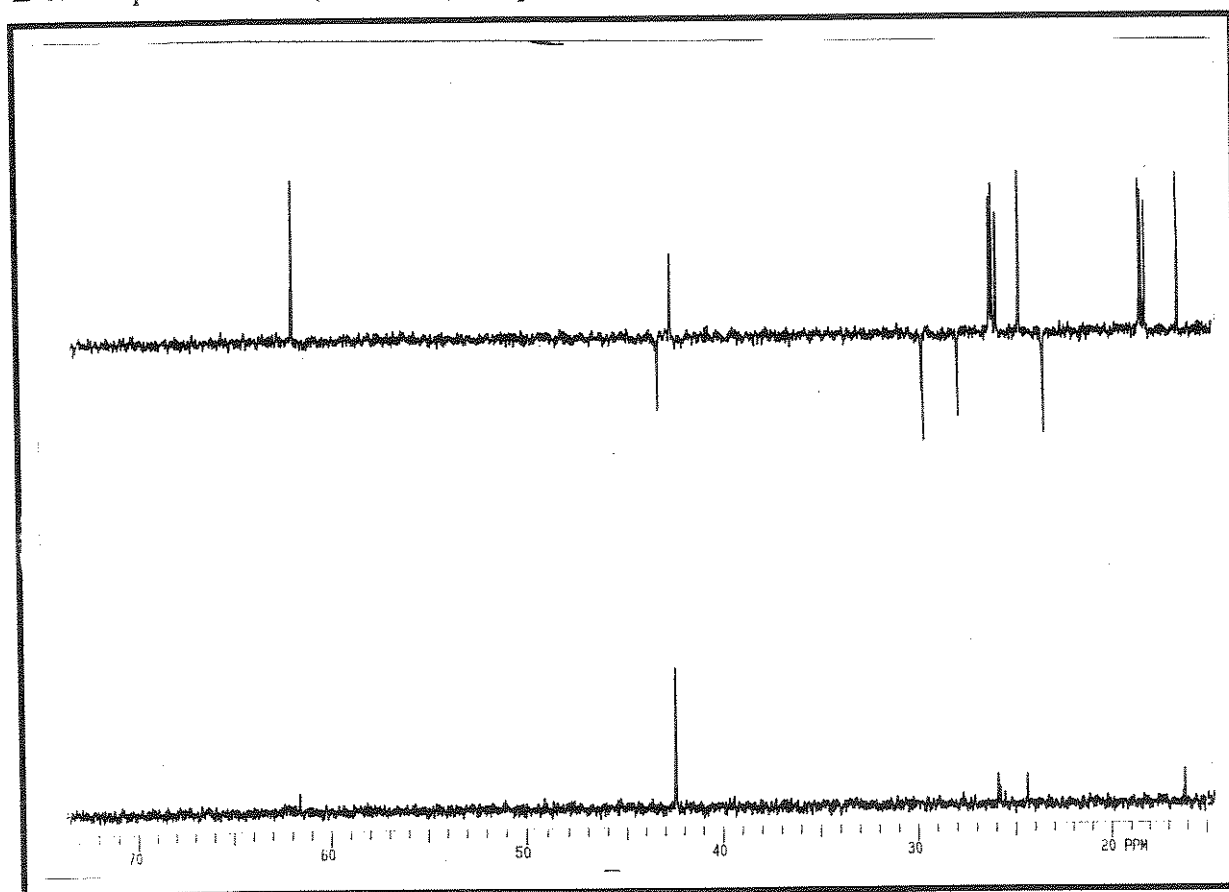
E 44 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 21.



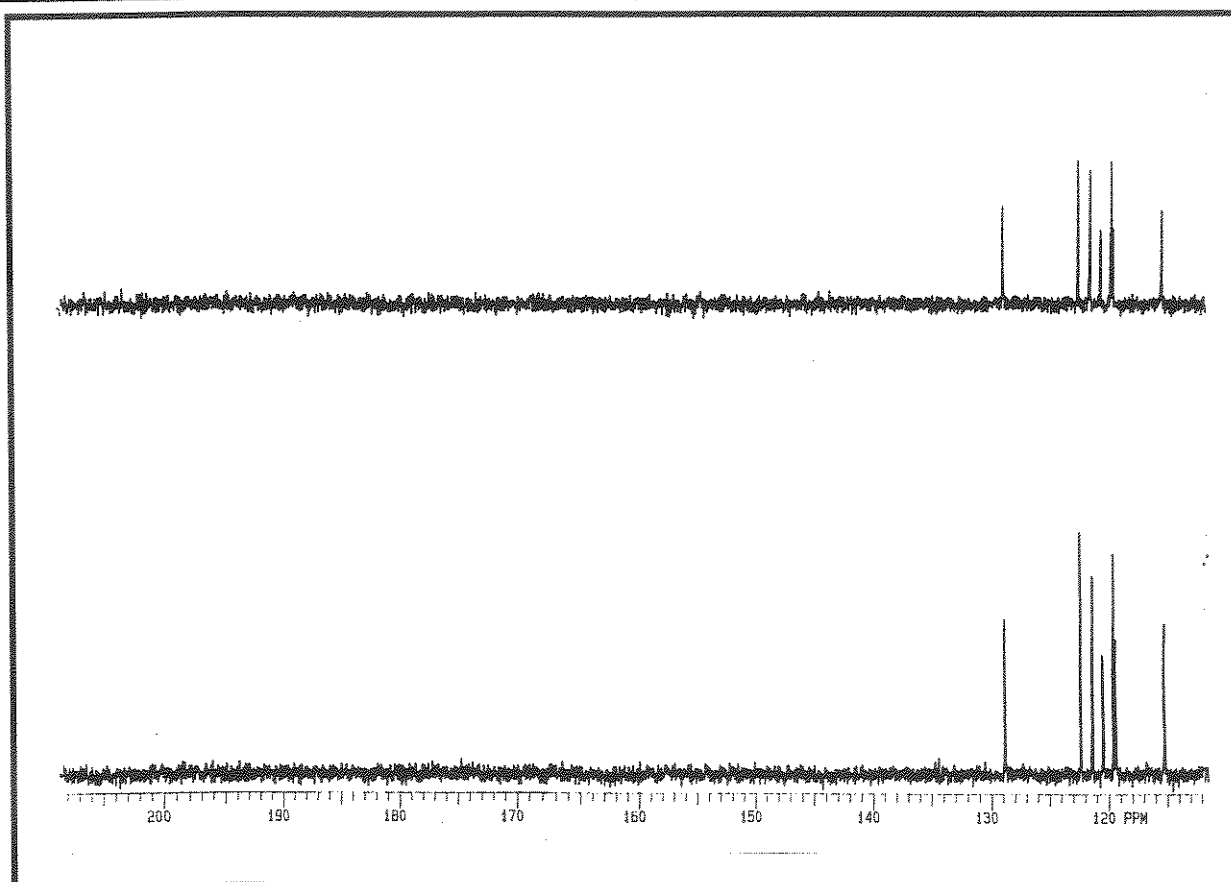
E 45 - Expansão do espectro E-44 do produto natural 21.



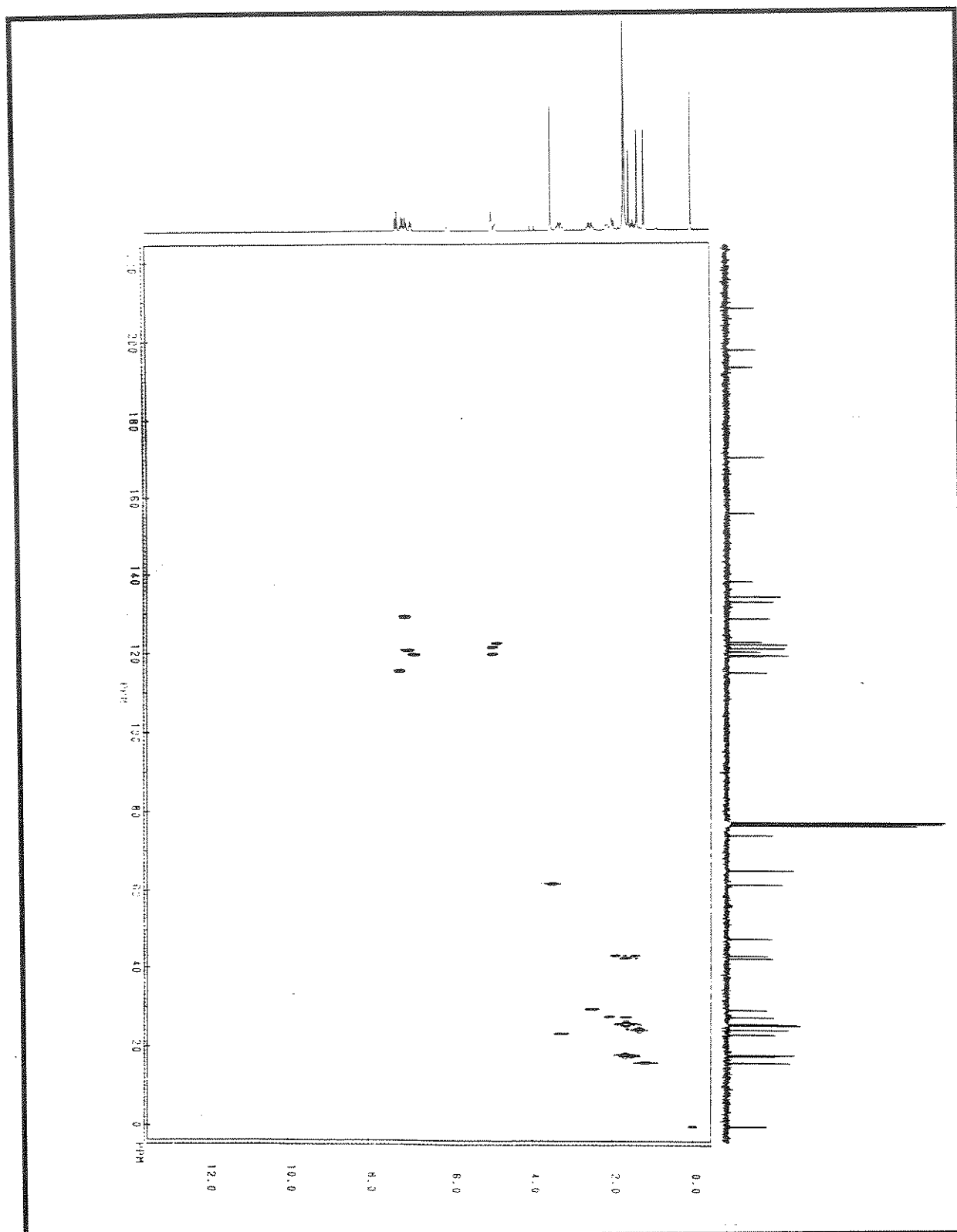
E 46 - Espectro DEPT (135° e 90°) do produto natural 21.



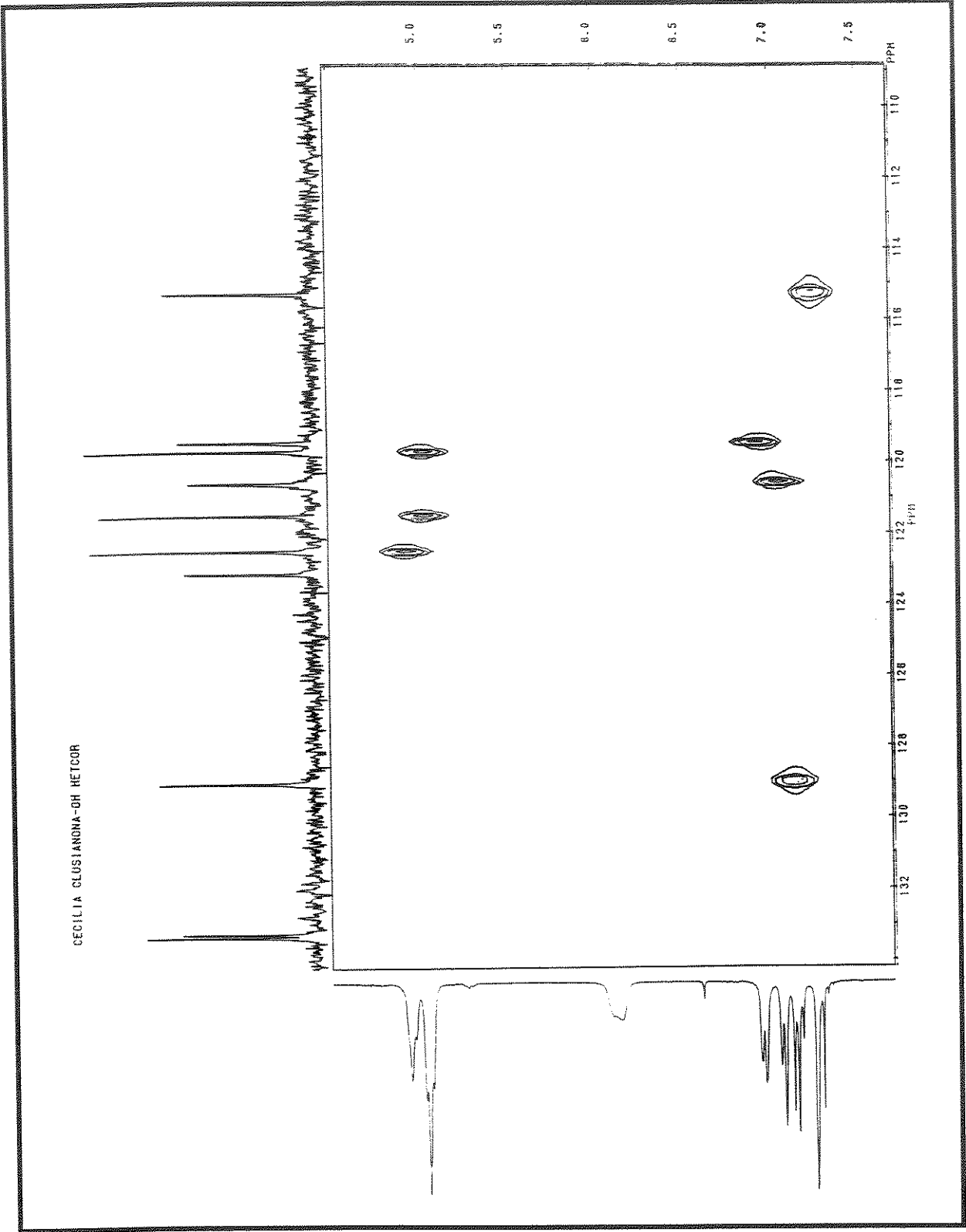
E 47 - Expansão do espectro E-46 (δ 75 - 25) do produto natural 21.



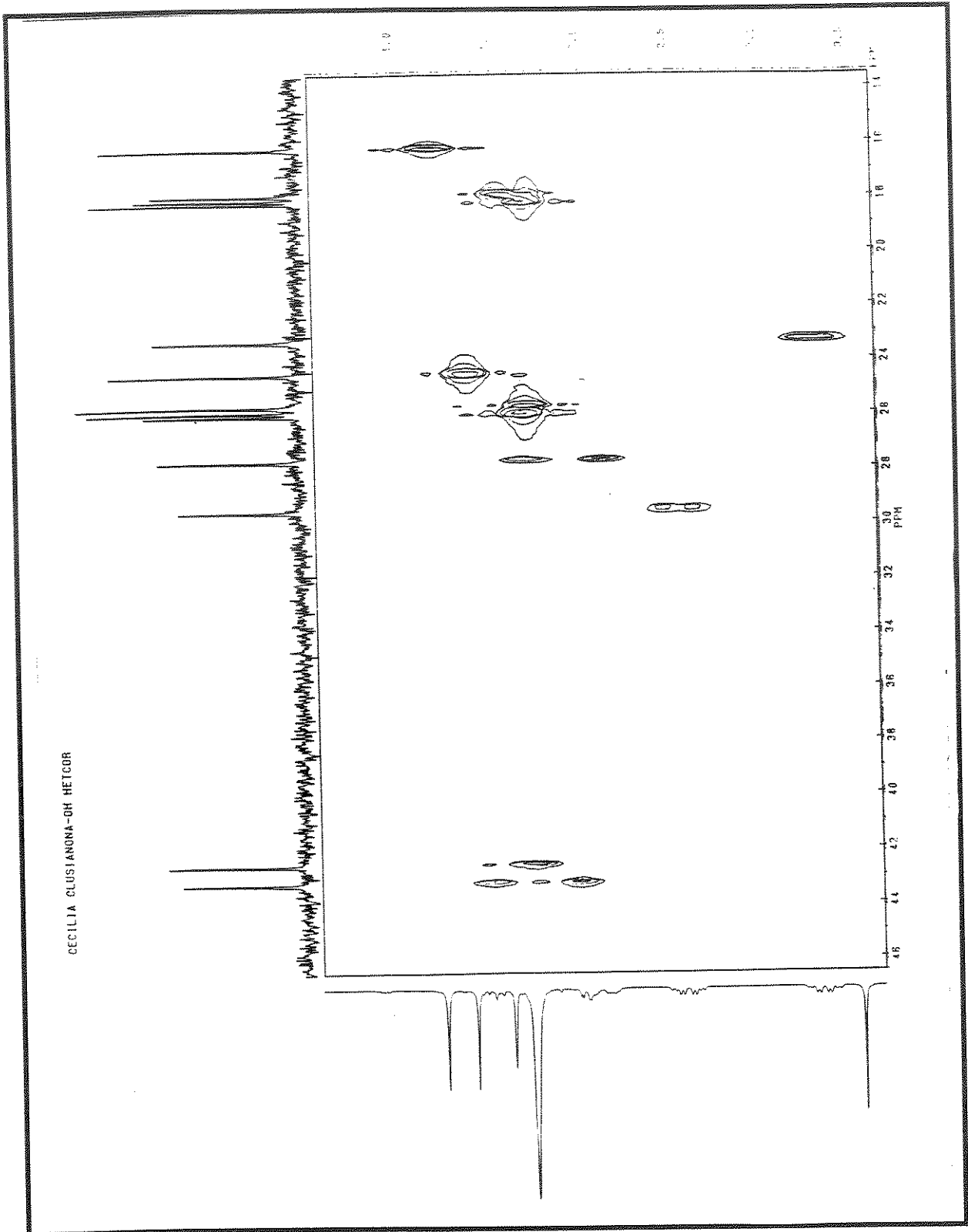
E 48 - Expansão do espectro E-46 (δ 210 - 110) do produto natural 21.



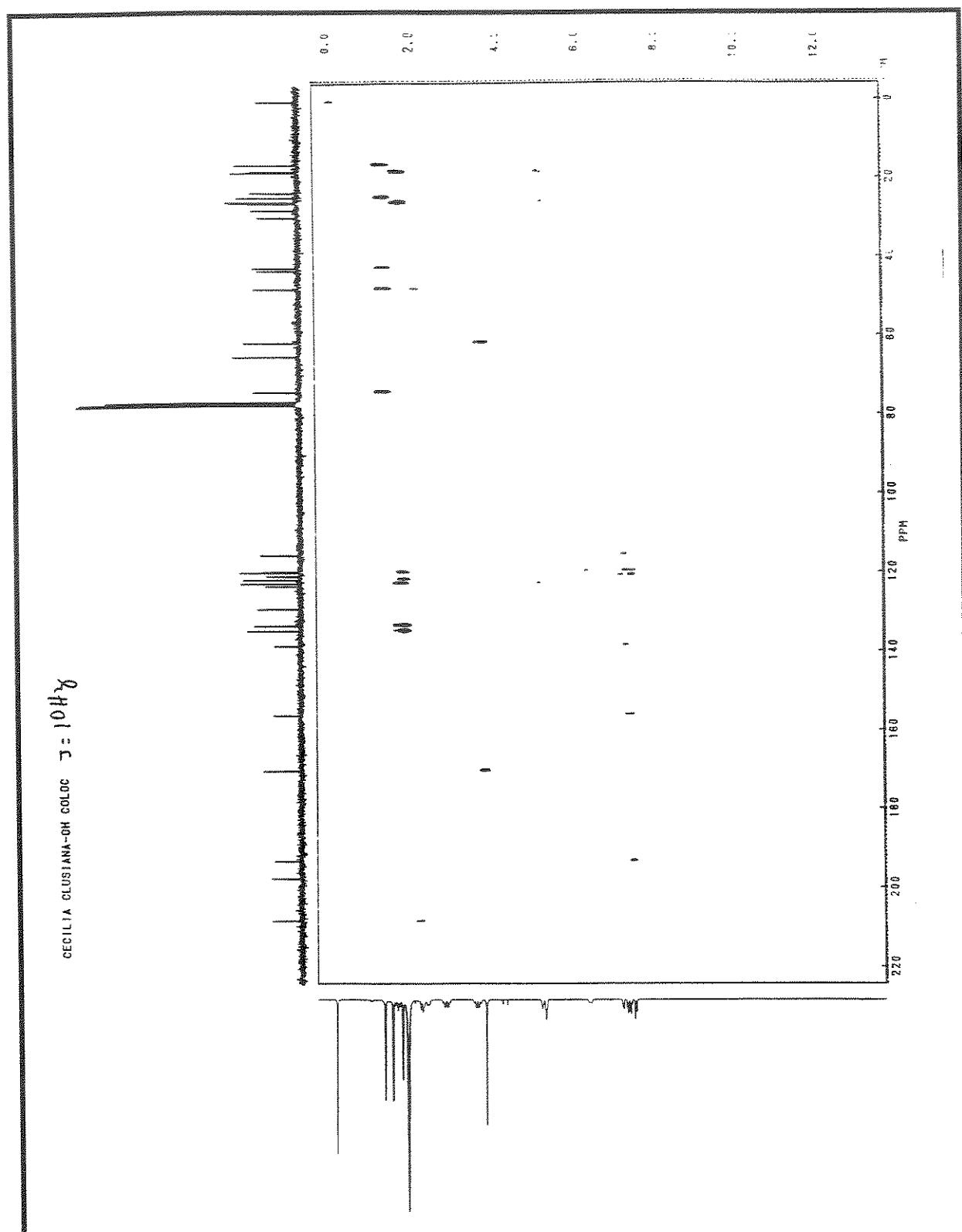
E 49 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C -HETCOR) do produto natural 21.



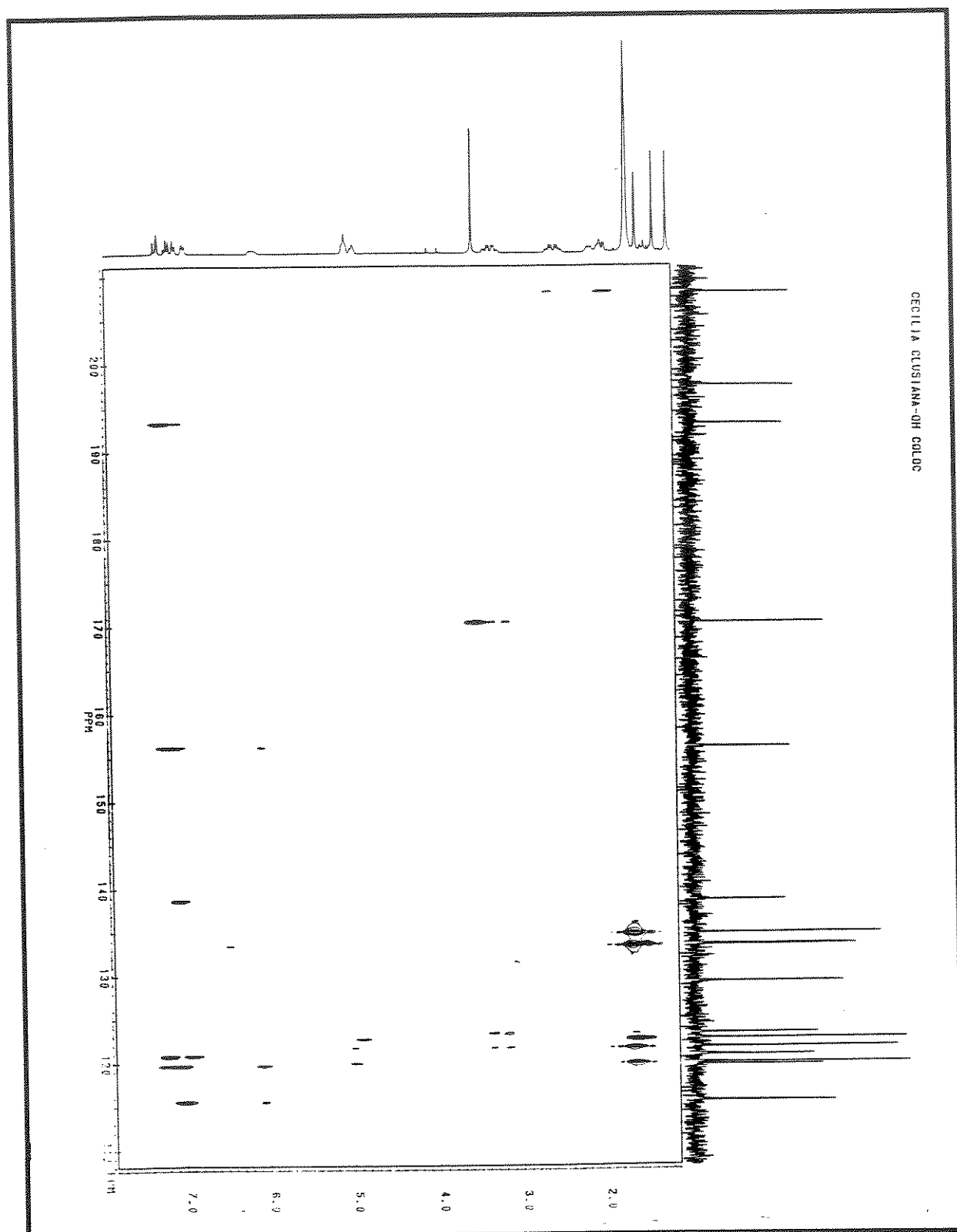
E 50 - Expansão do espectro E-49 do produto natural 21.



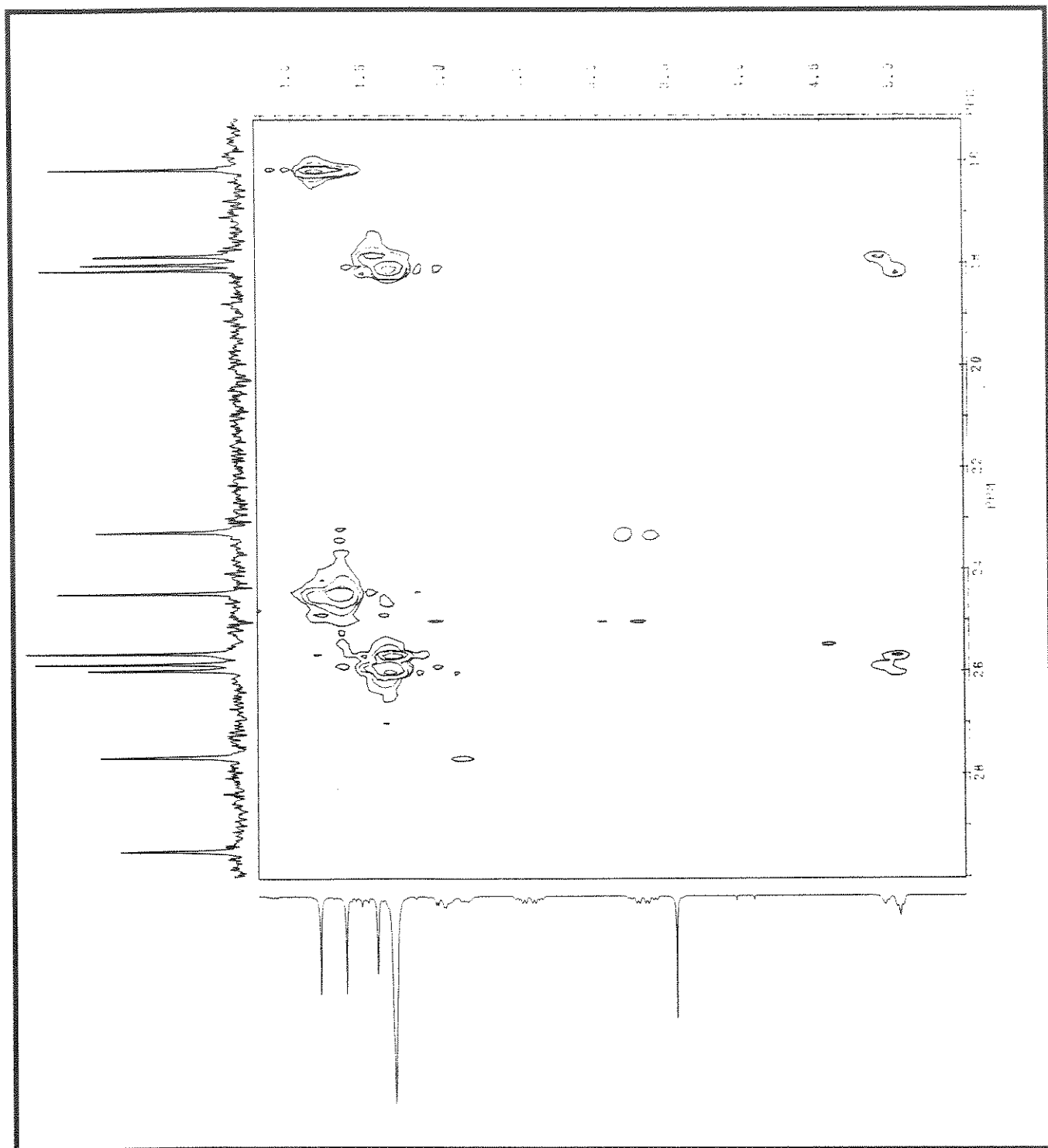
E 51 - Expansão do espectro E-49 do produto natural 21.



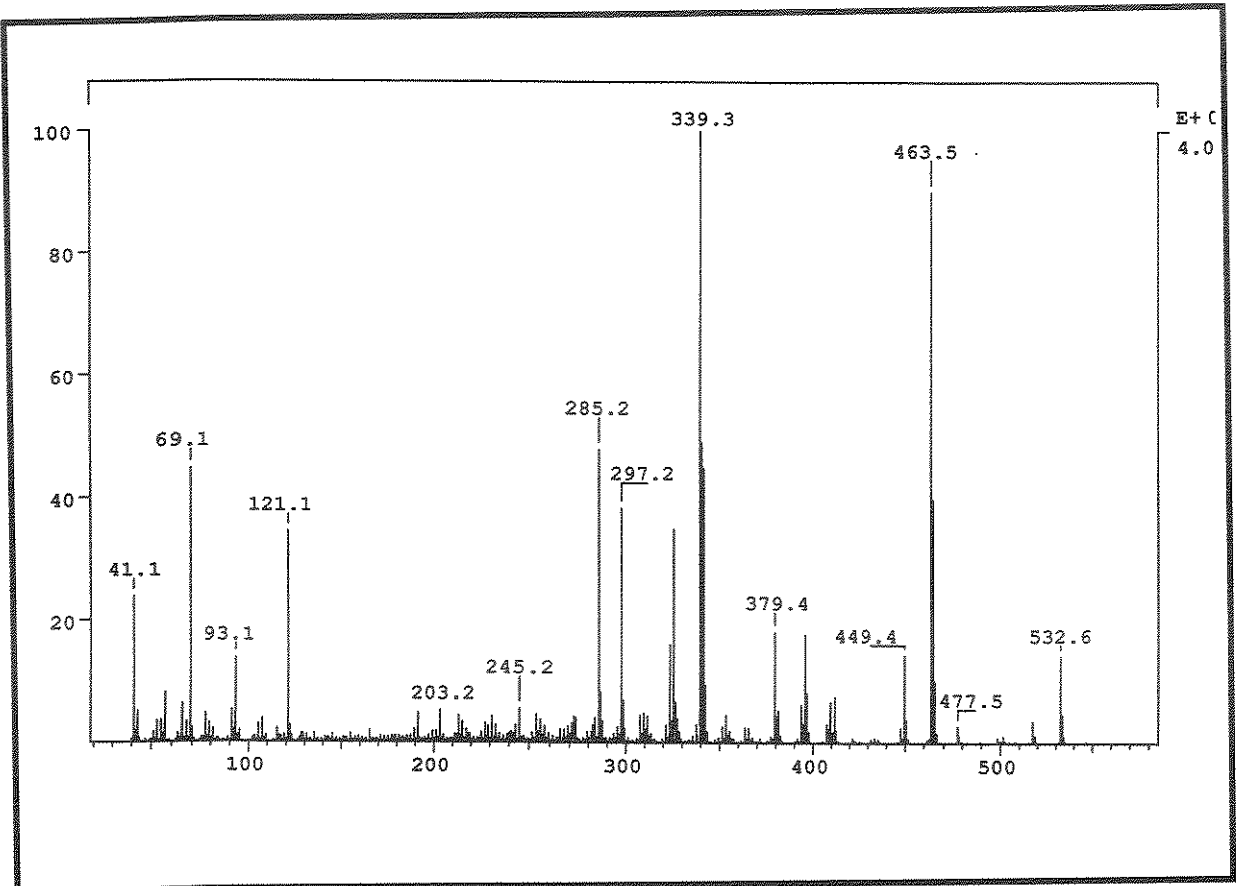
E 52 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C -COLOC) do produto natural 21.



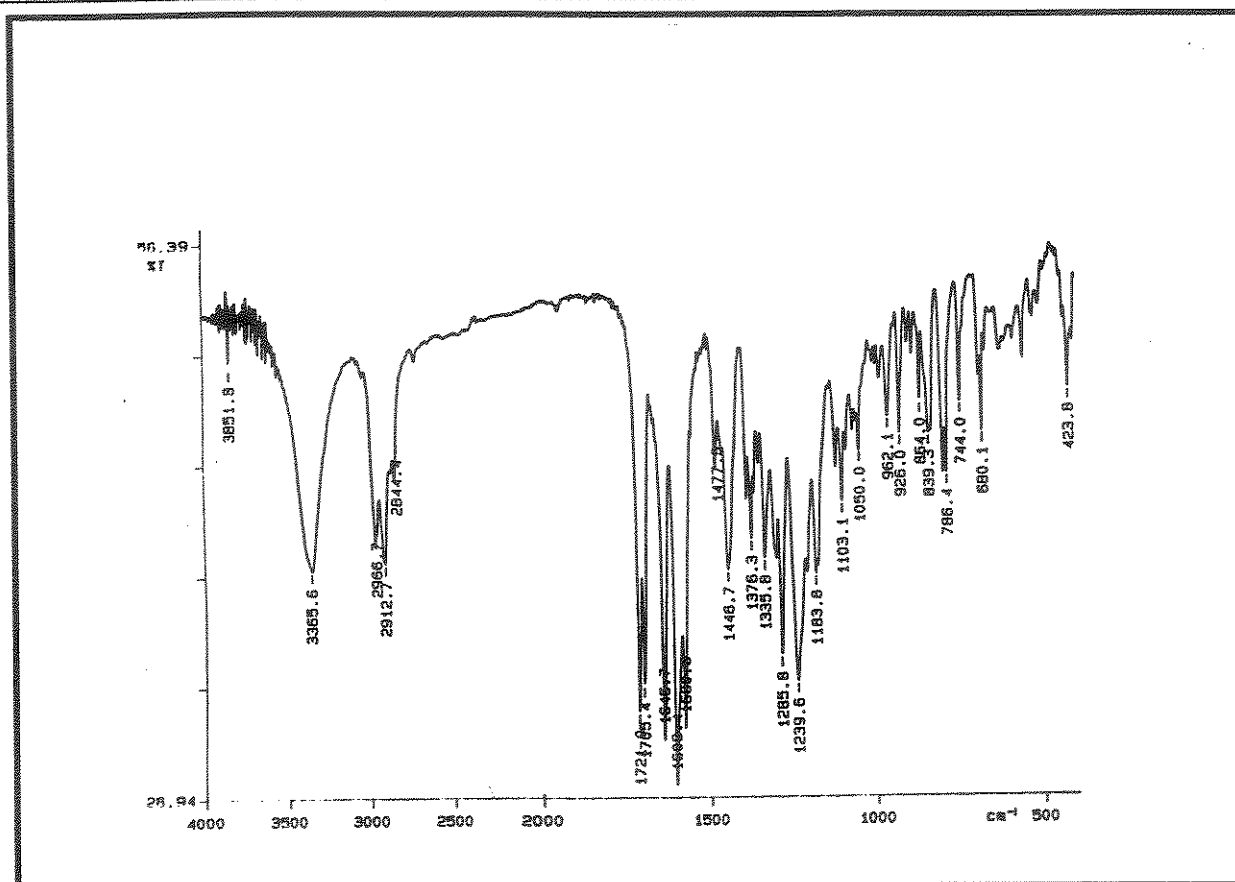
E 53 - Expansão do espectro E-52 do produto natural 21.



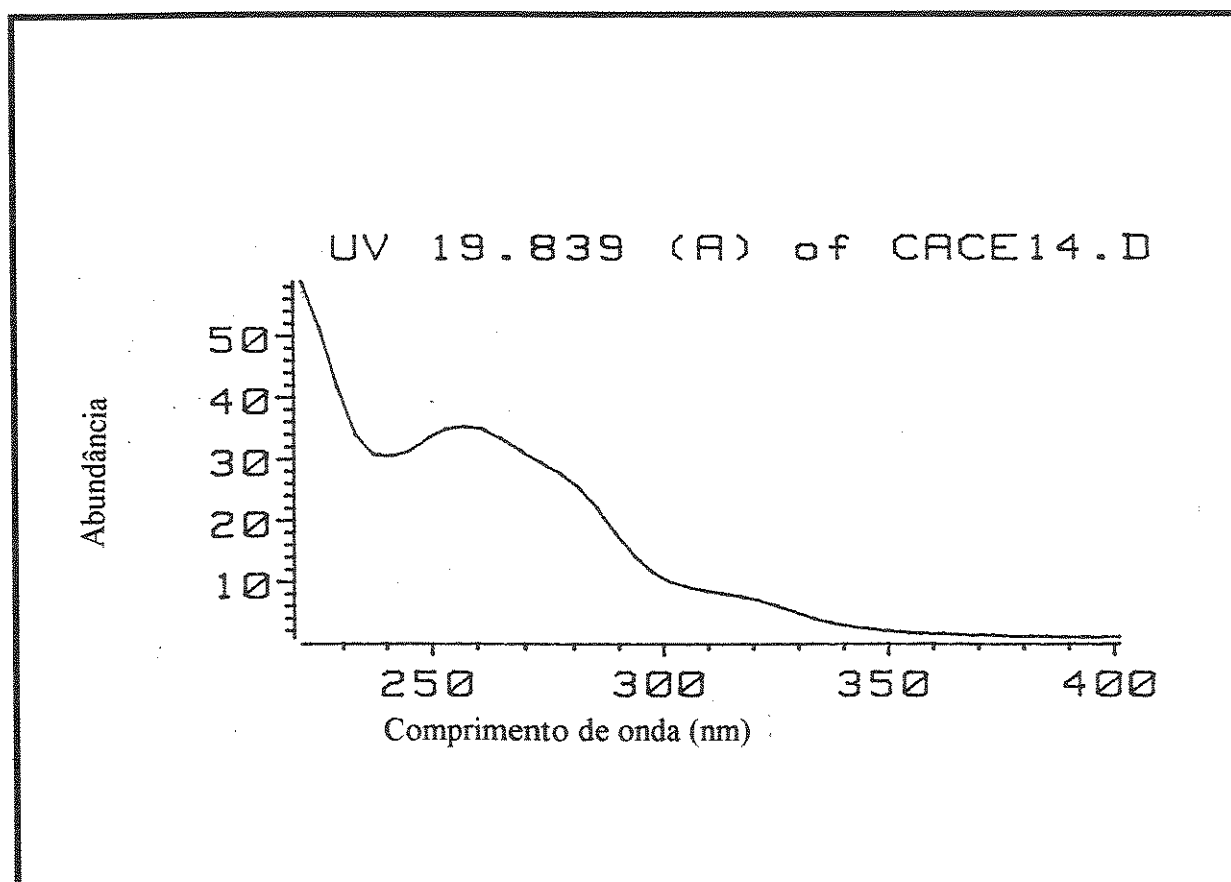
E 54 - Expansão do espectro de E-52 do produto natural 21.

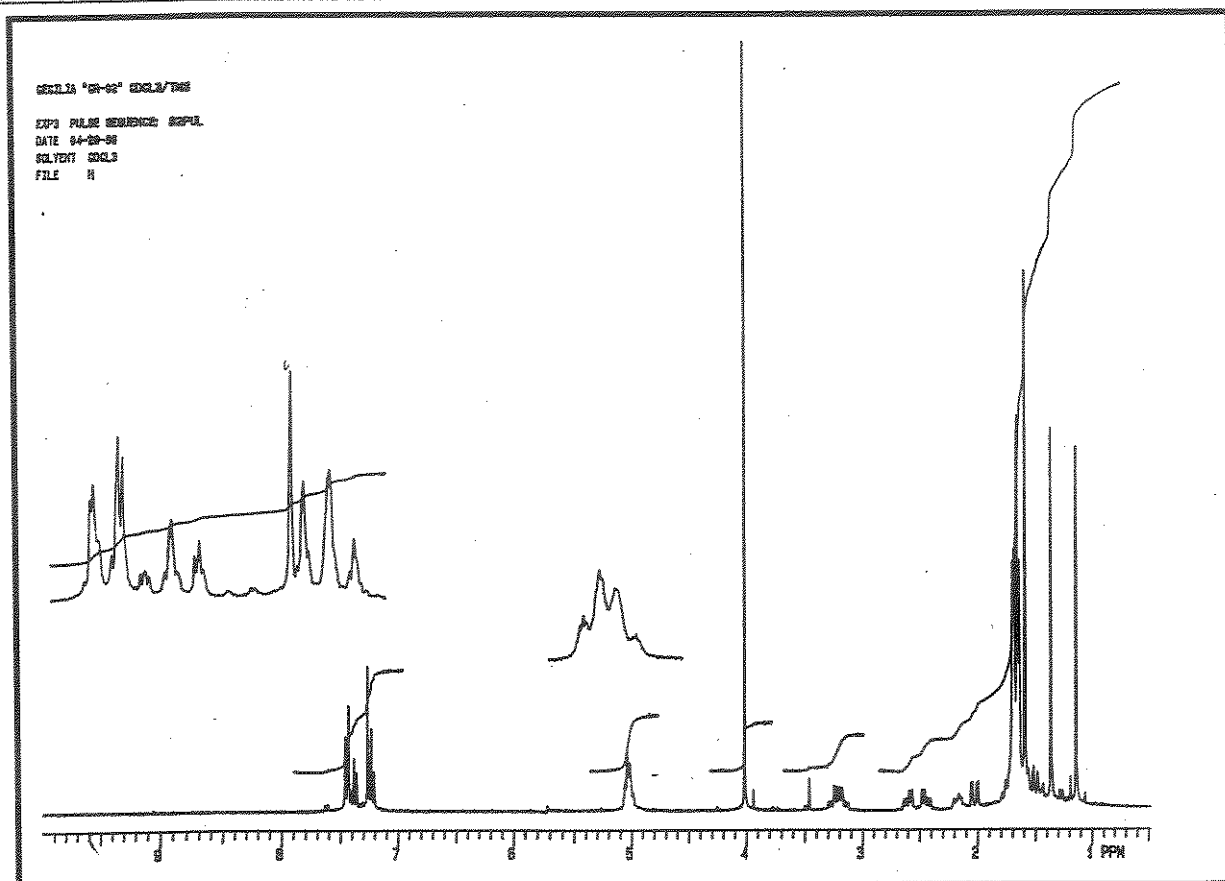


E 55 - Espectro de massas (70eV) do composto 21

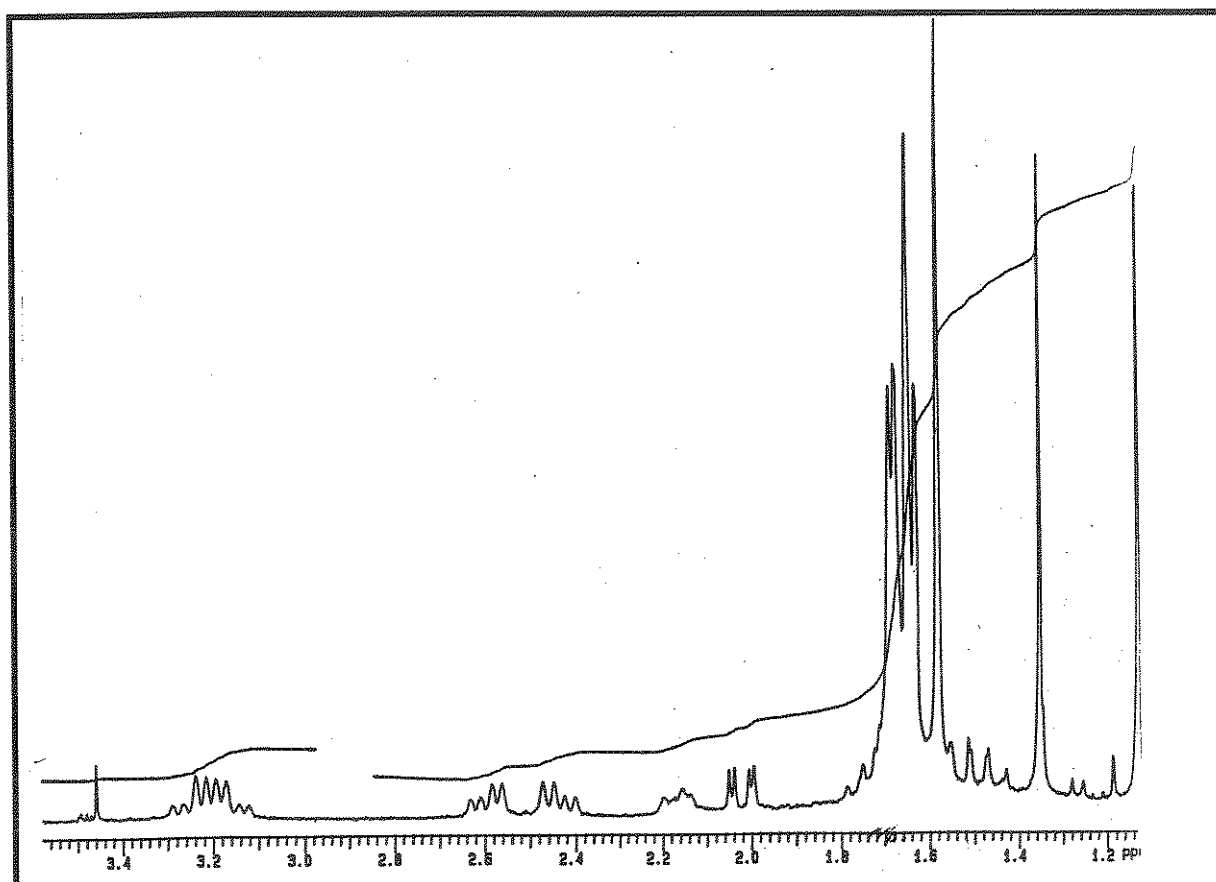


E 57 - Espectro no IV (filme) do produto natural 21.

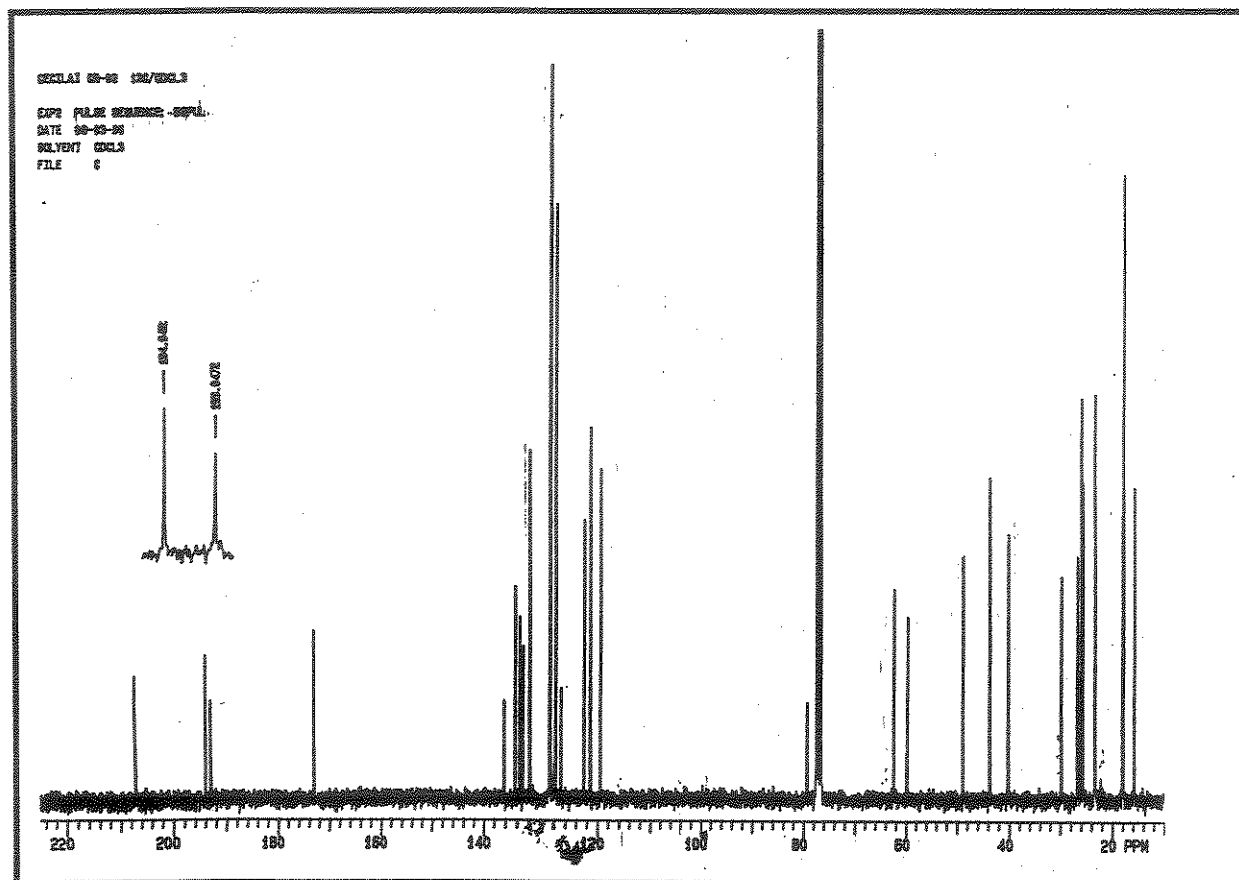
E 58 - Espectro no UV (CH_3CN) do produto natural 21.



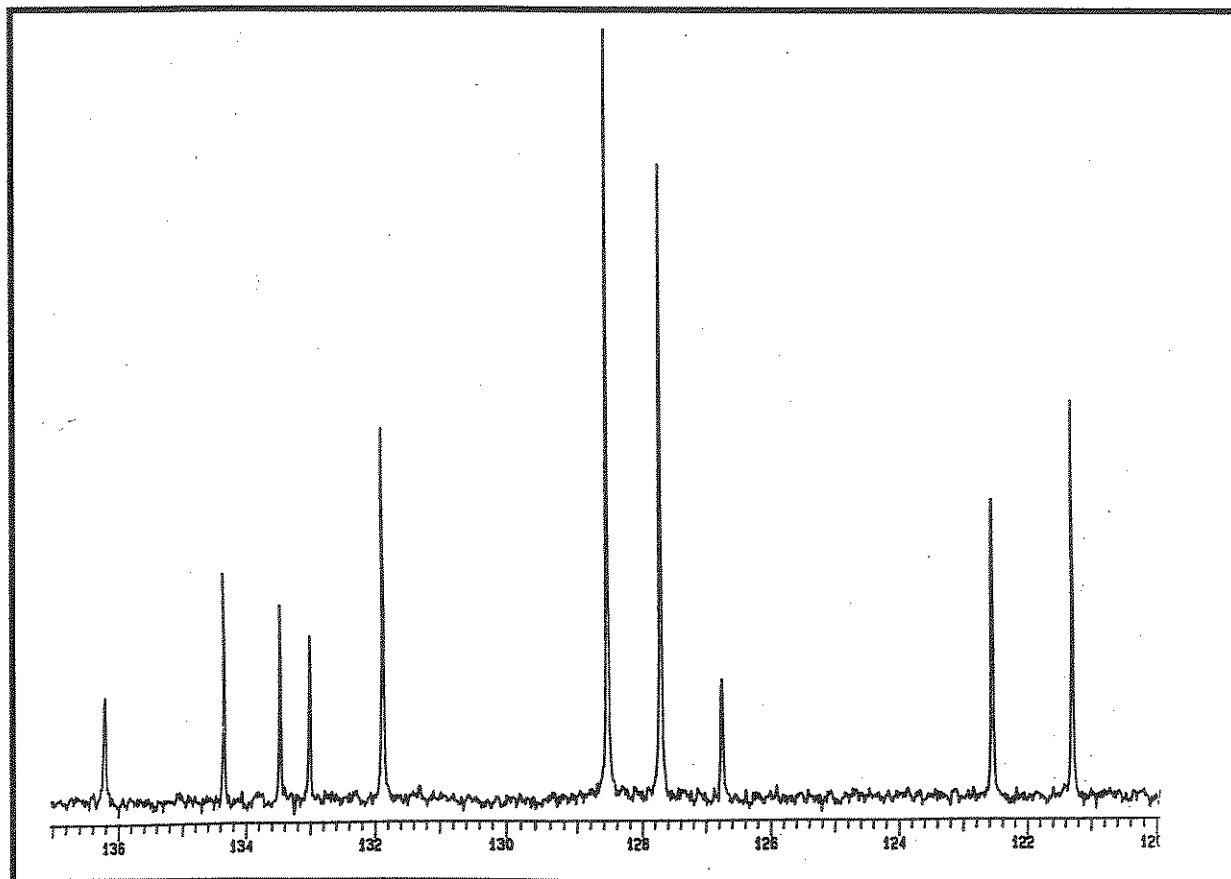
E 59 - Espectro de RMN¹ H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 23.



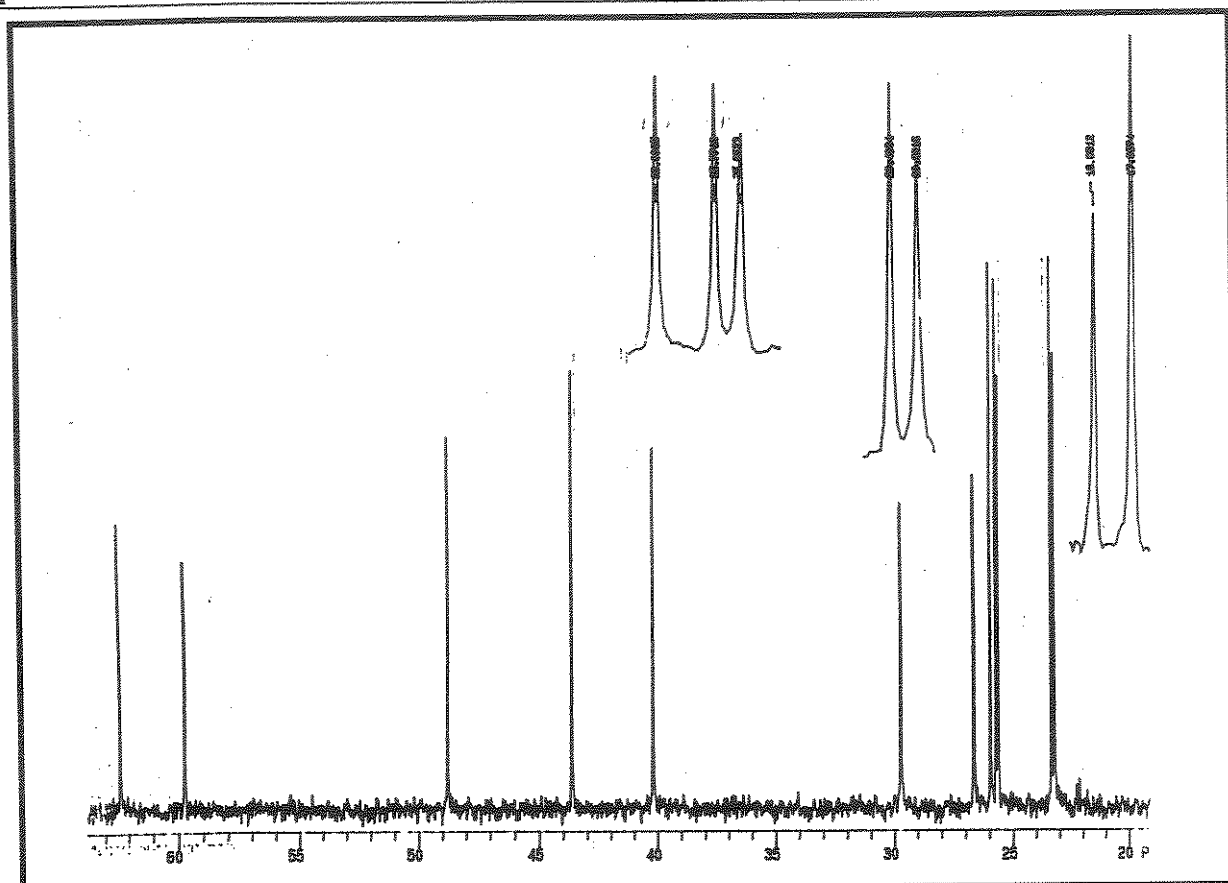
E 60 - Expansão do espectro E-59 (δ 1.0 -3.5) do produto natural 23.



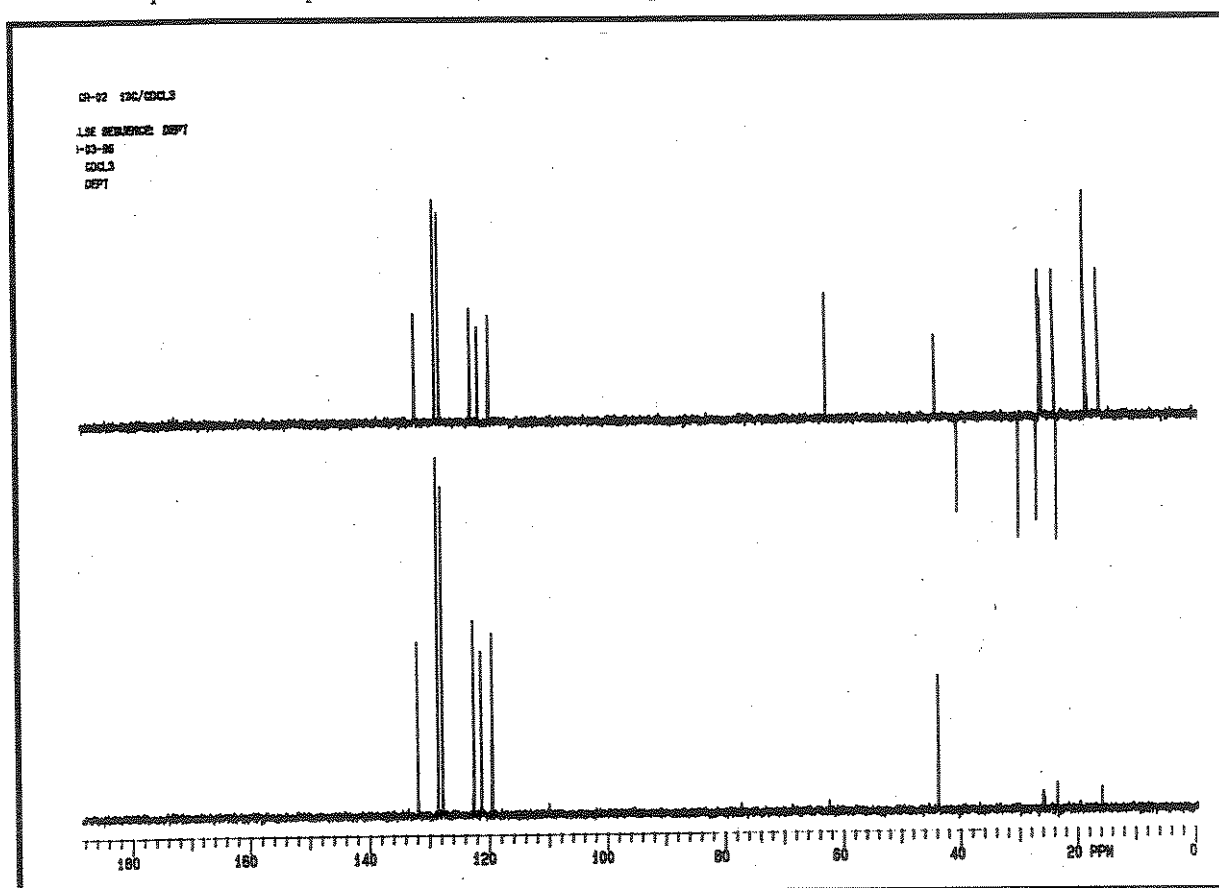
E 61 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 23..



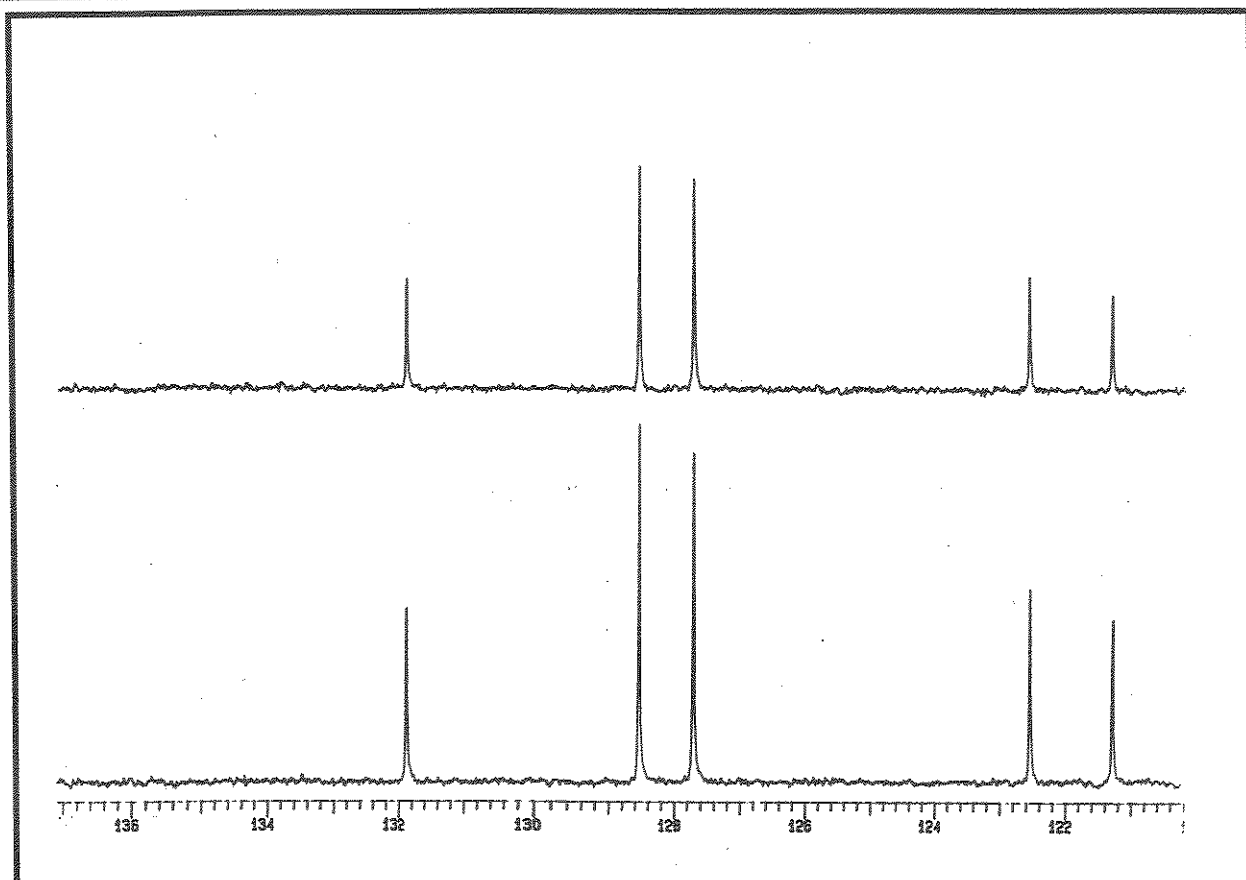
E 62 - Expansão do espectro E-61 (δ 137 - 120) do produto natural 23.



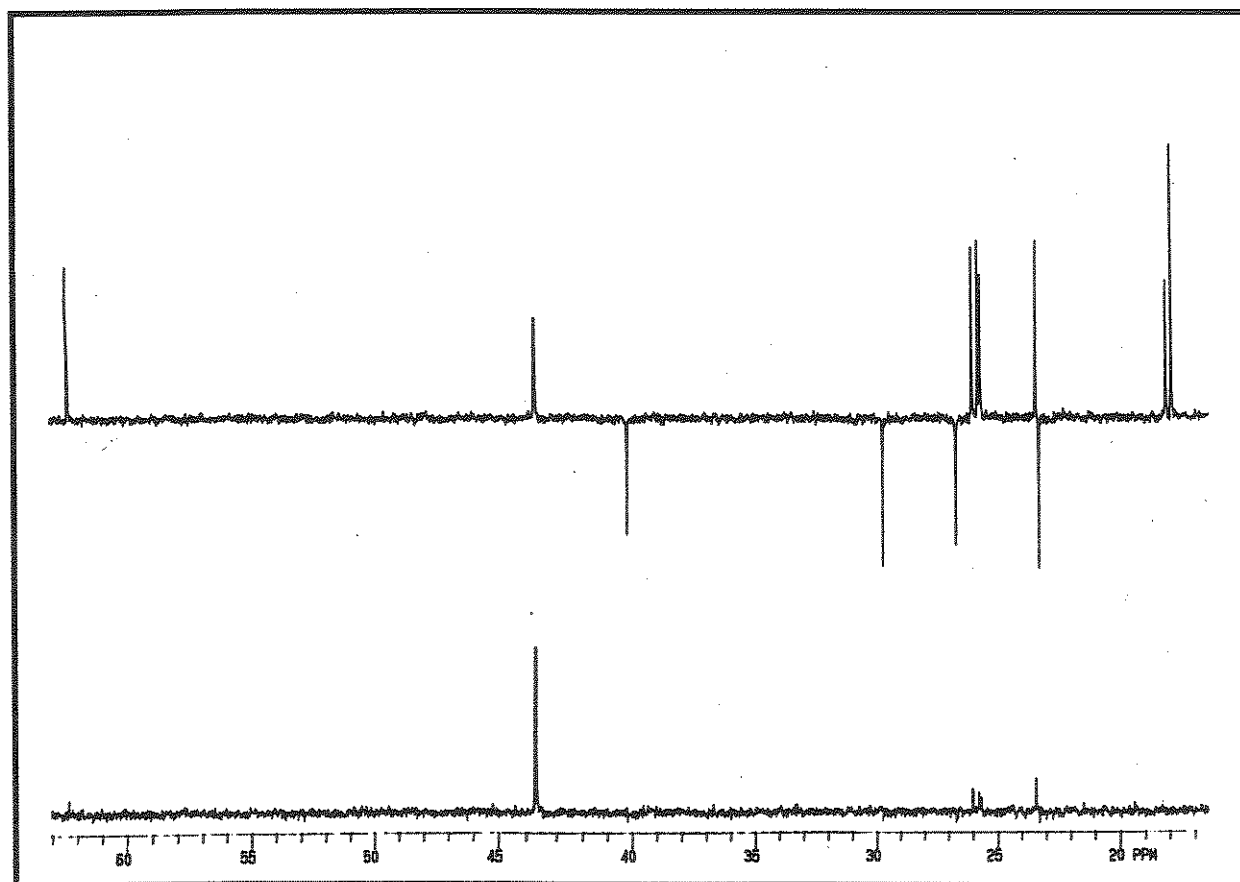
E 63 - Expansão do espectro E-61 (δ 63 -20) do produto natural 23.



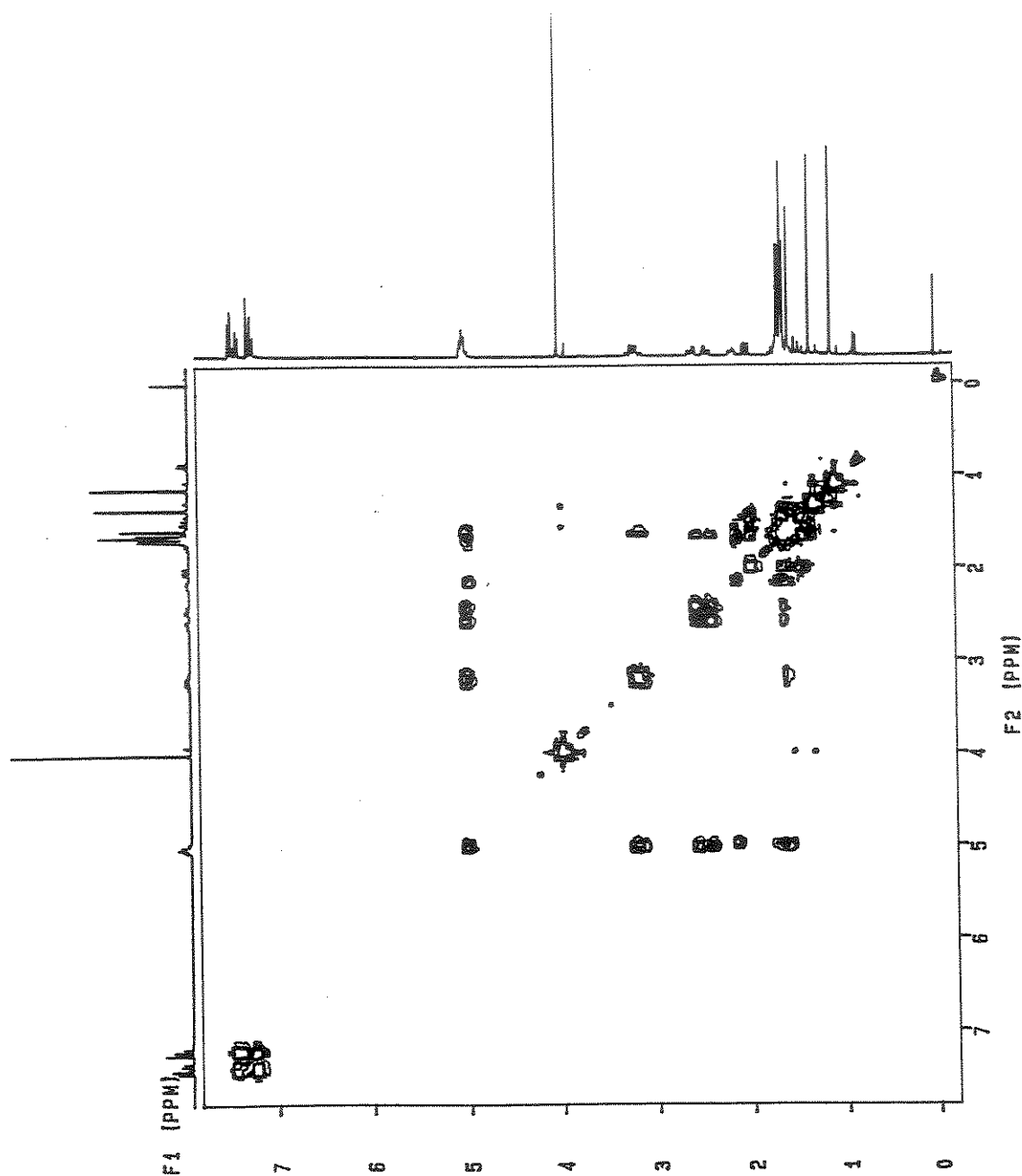
E 64 - Espectro DEPT (135° e 90°) do produto natural 23.



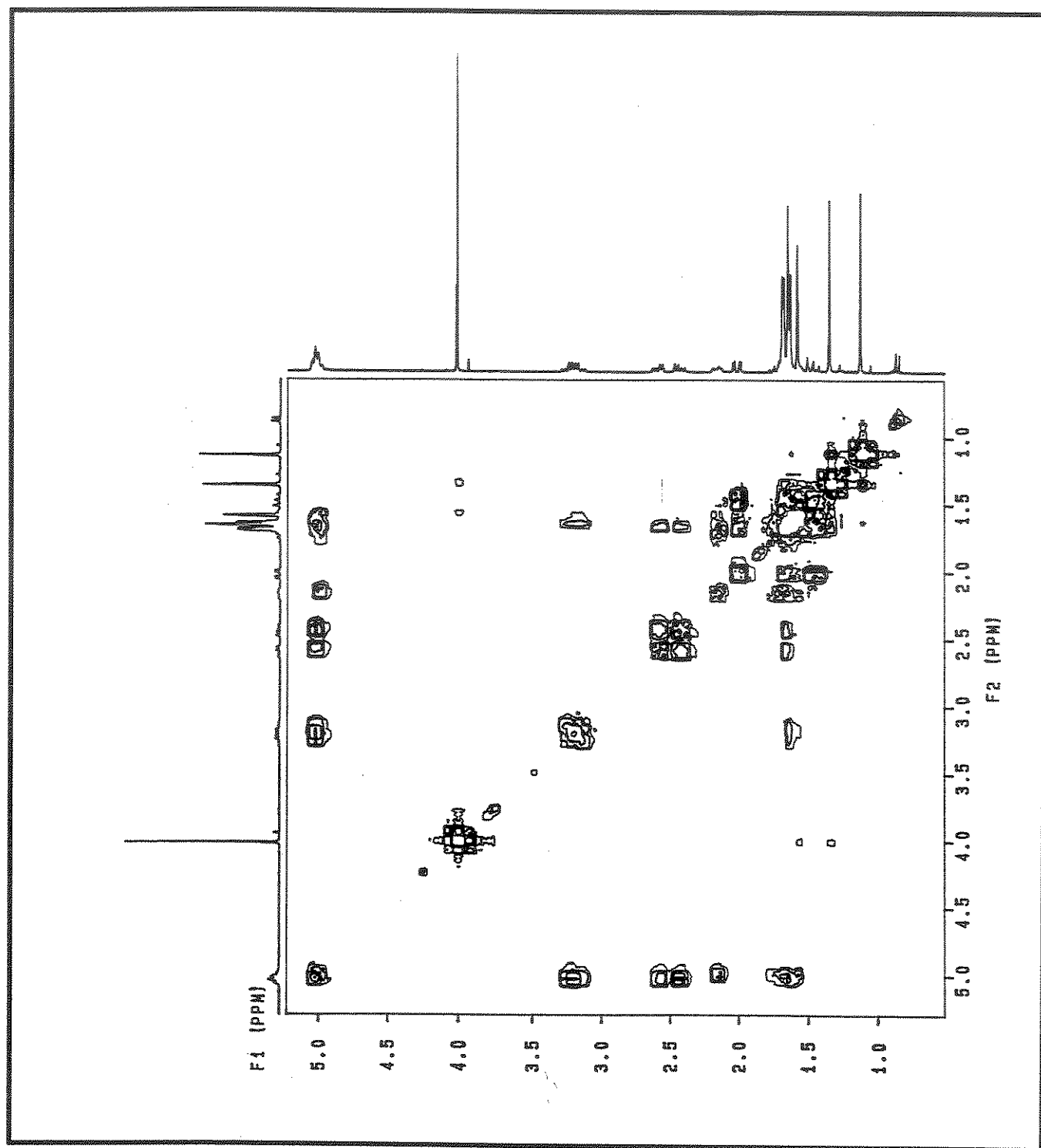
E 65 - Expansão do espectro E-64 (δ 137 - 120) do produto natural 23.



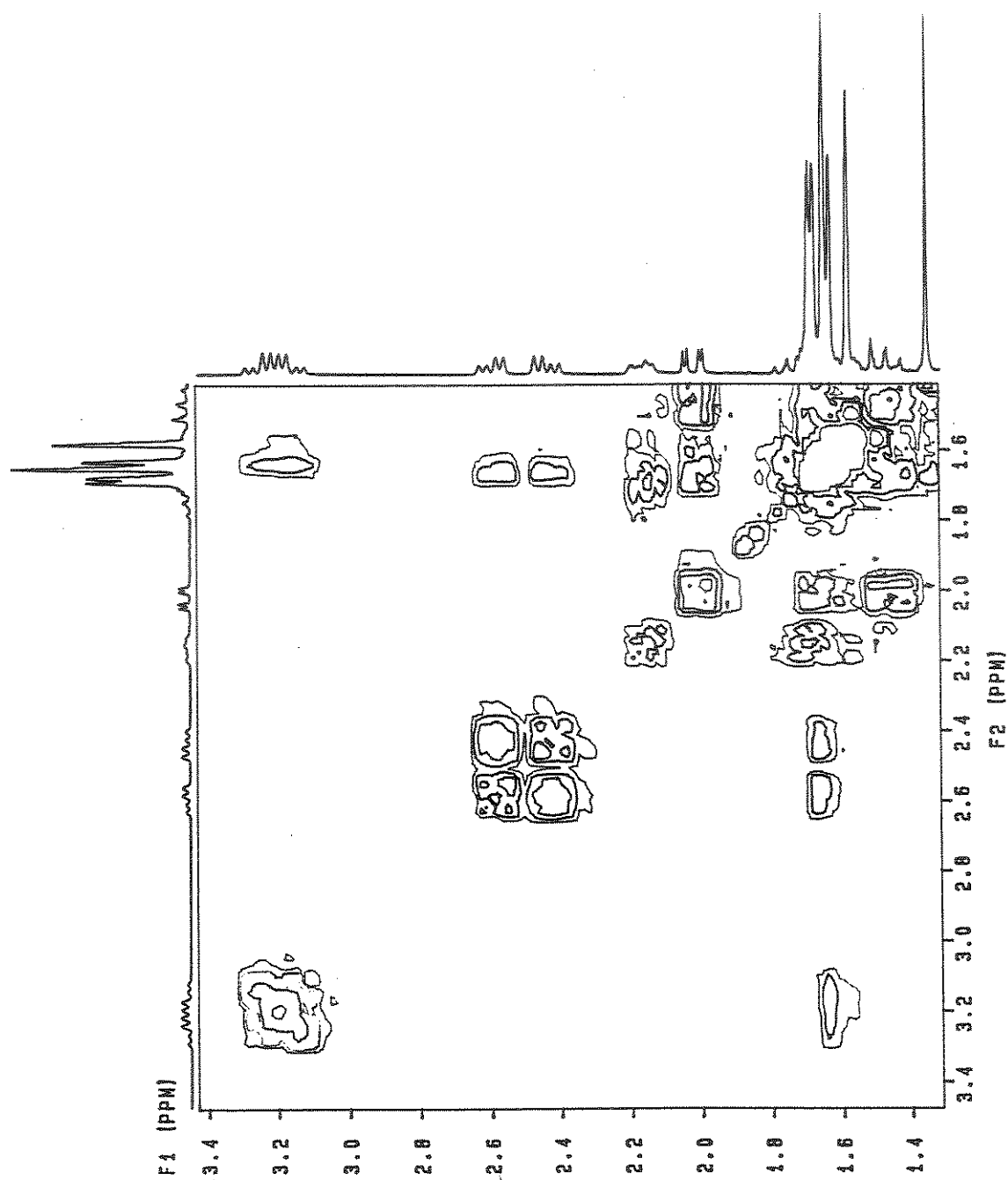
E 66 - Expansão do espectro do E-64 (δ 65 -15) do produto natural 23.



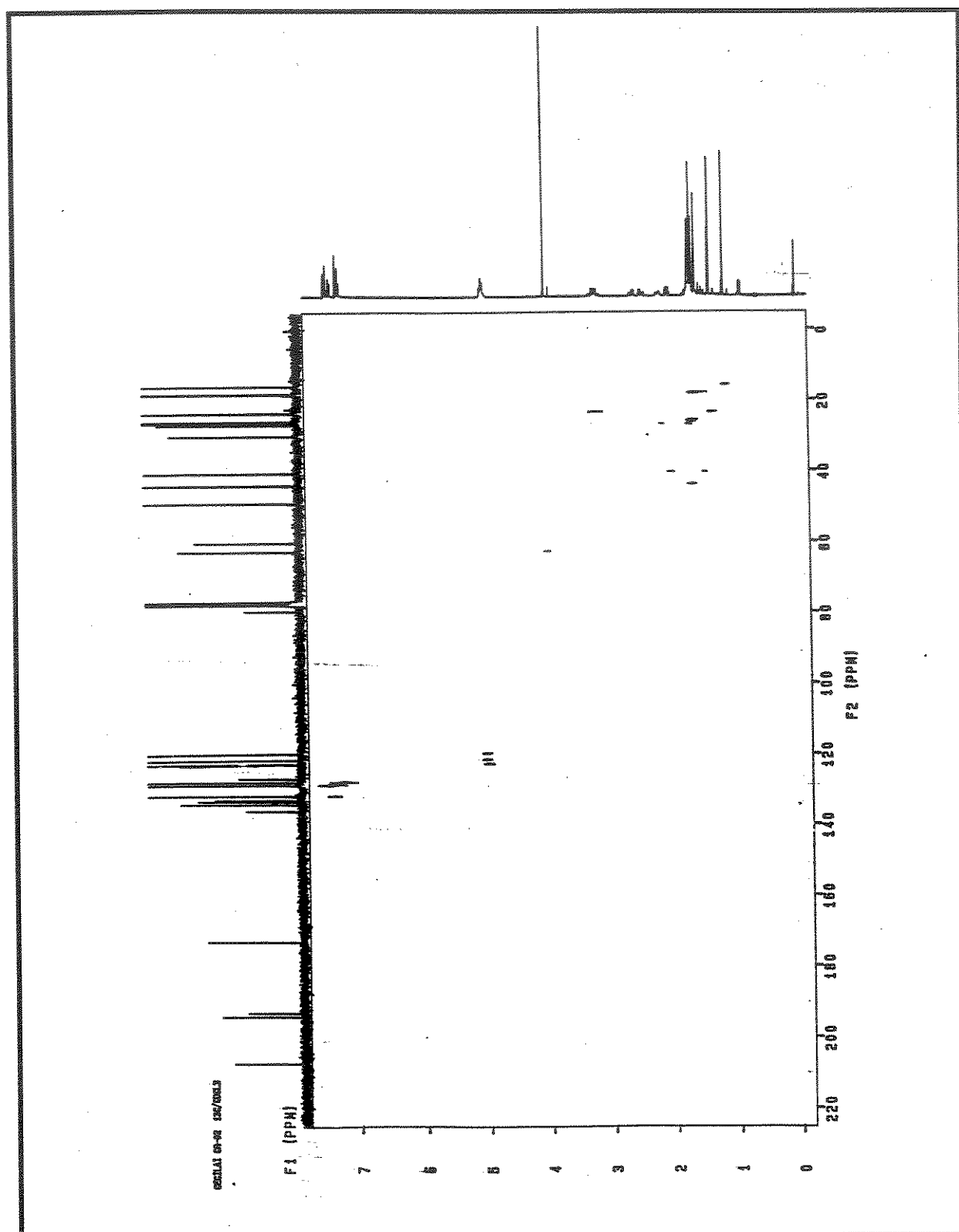
E 67 - Espectro 2D (^1H , ^1H -COSY) do produto natural 23.



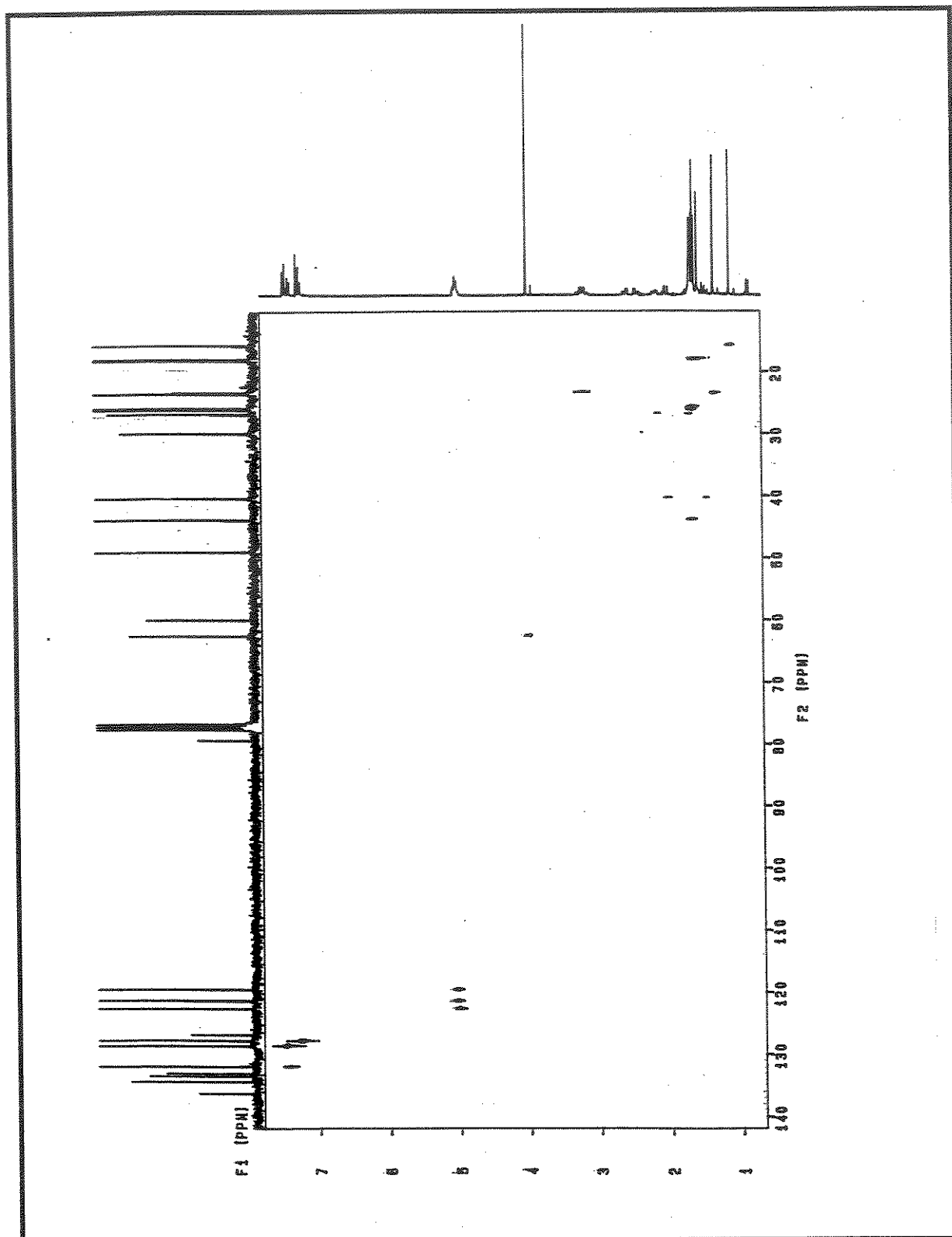
E 68 - Expansão do espectro E-67 do produto natural 23.



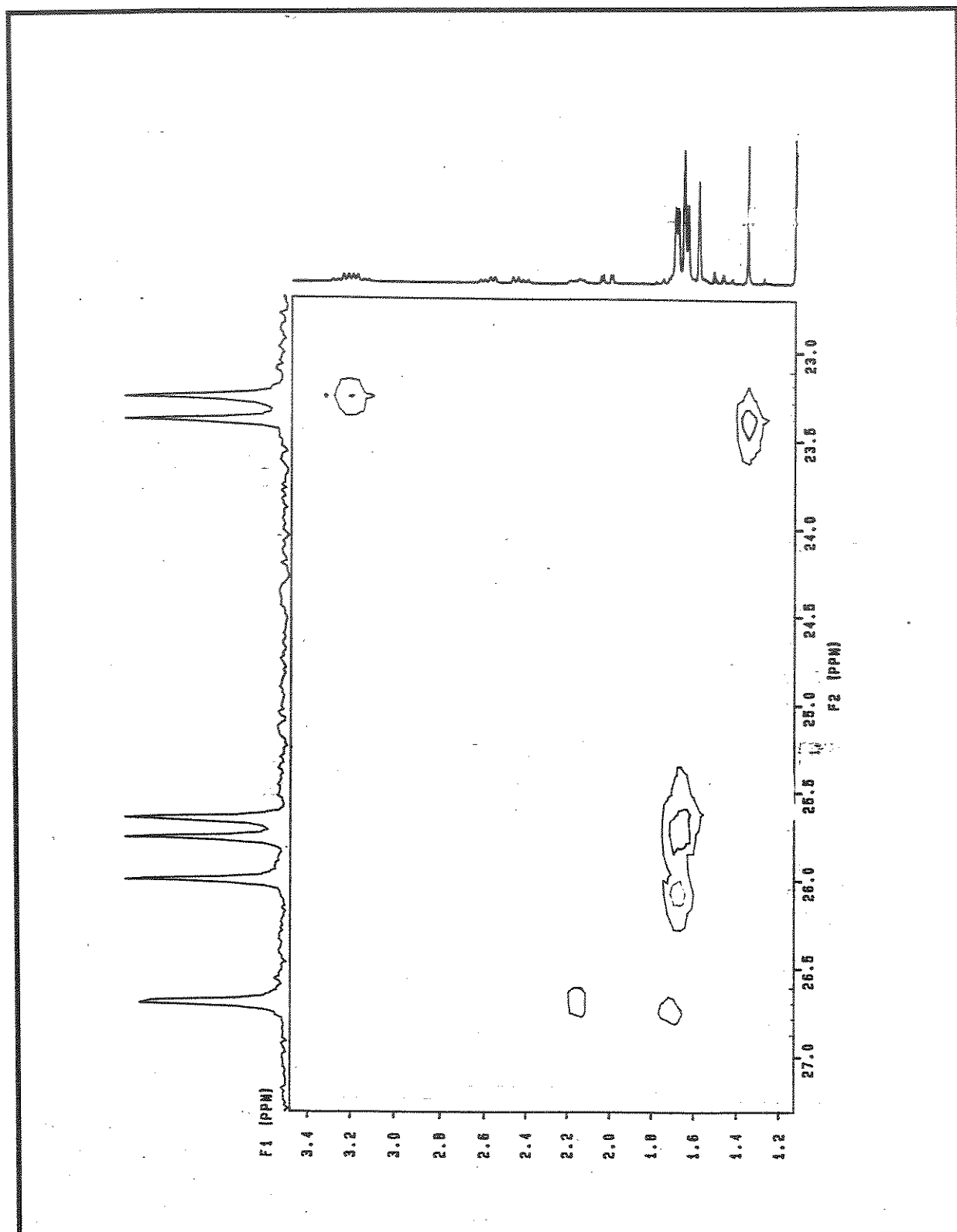
E 69 - Expansão do espectro E-67 do produto natural 23.



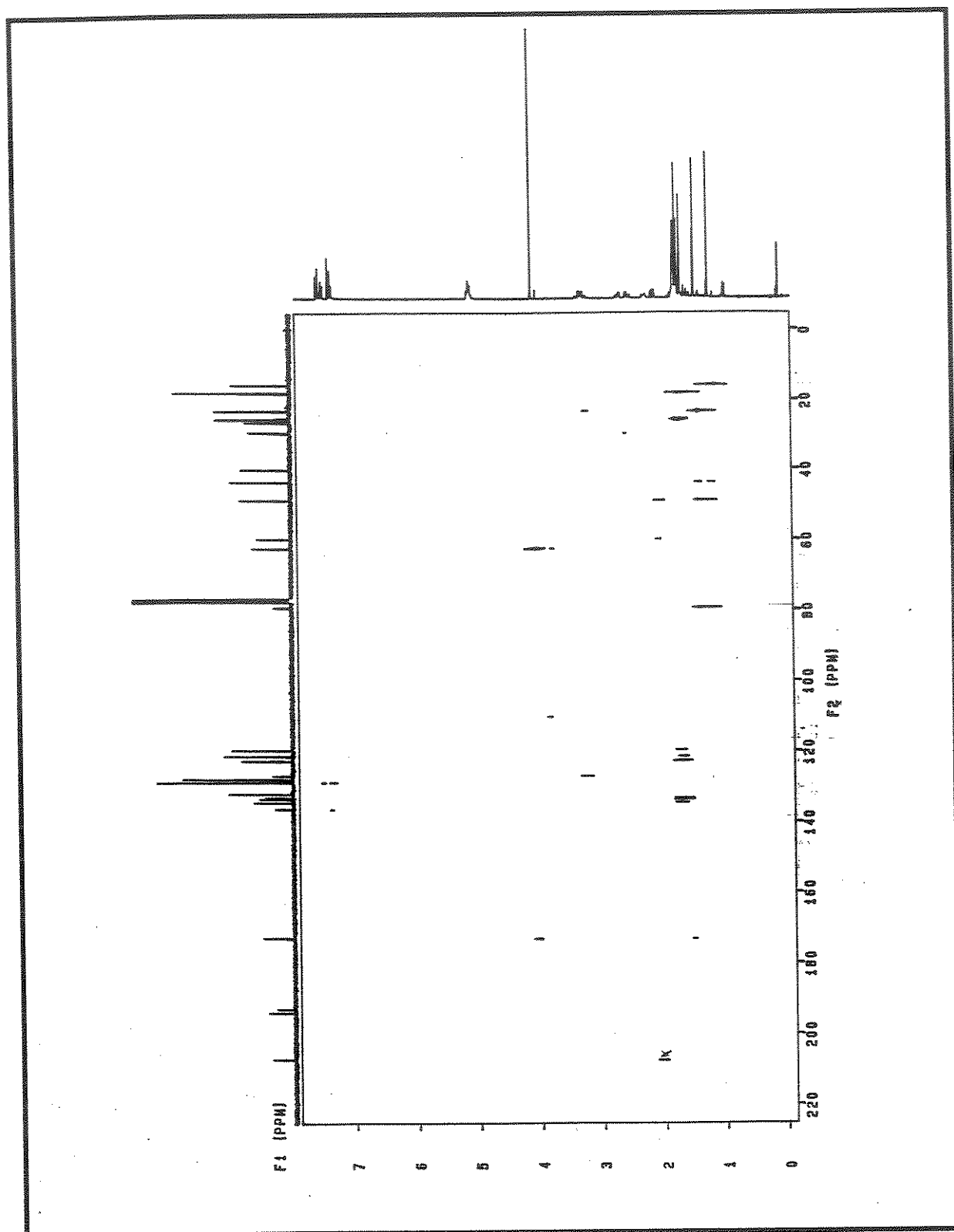
E 70 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - HETCOR) do produto natural 23.



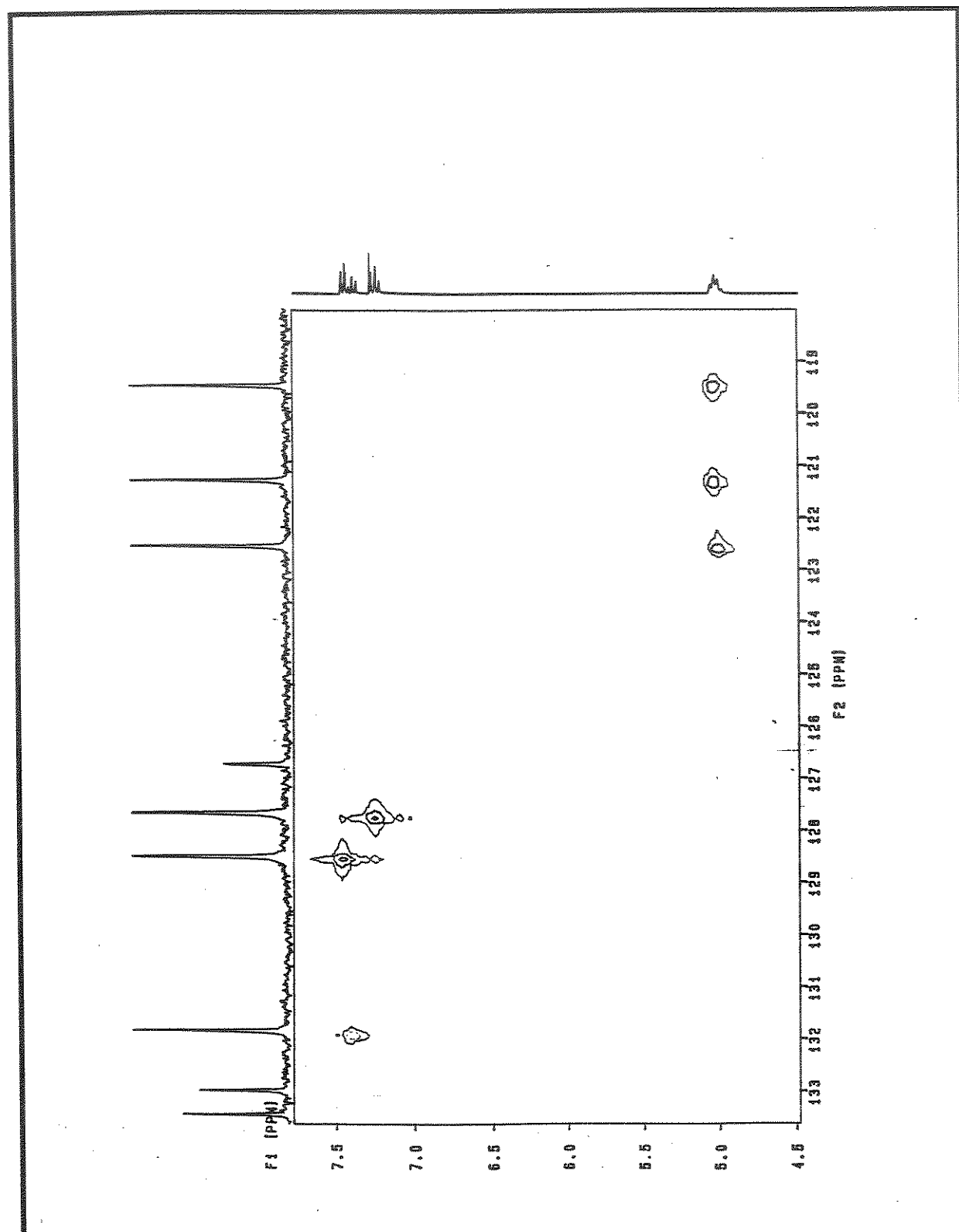
E 71 - Expansão do espectro E-70 do produto natural 23.



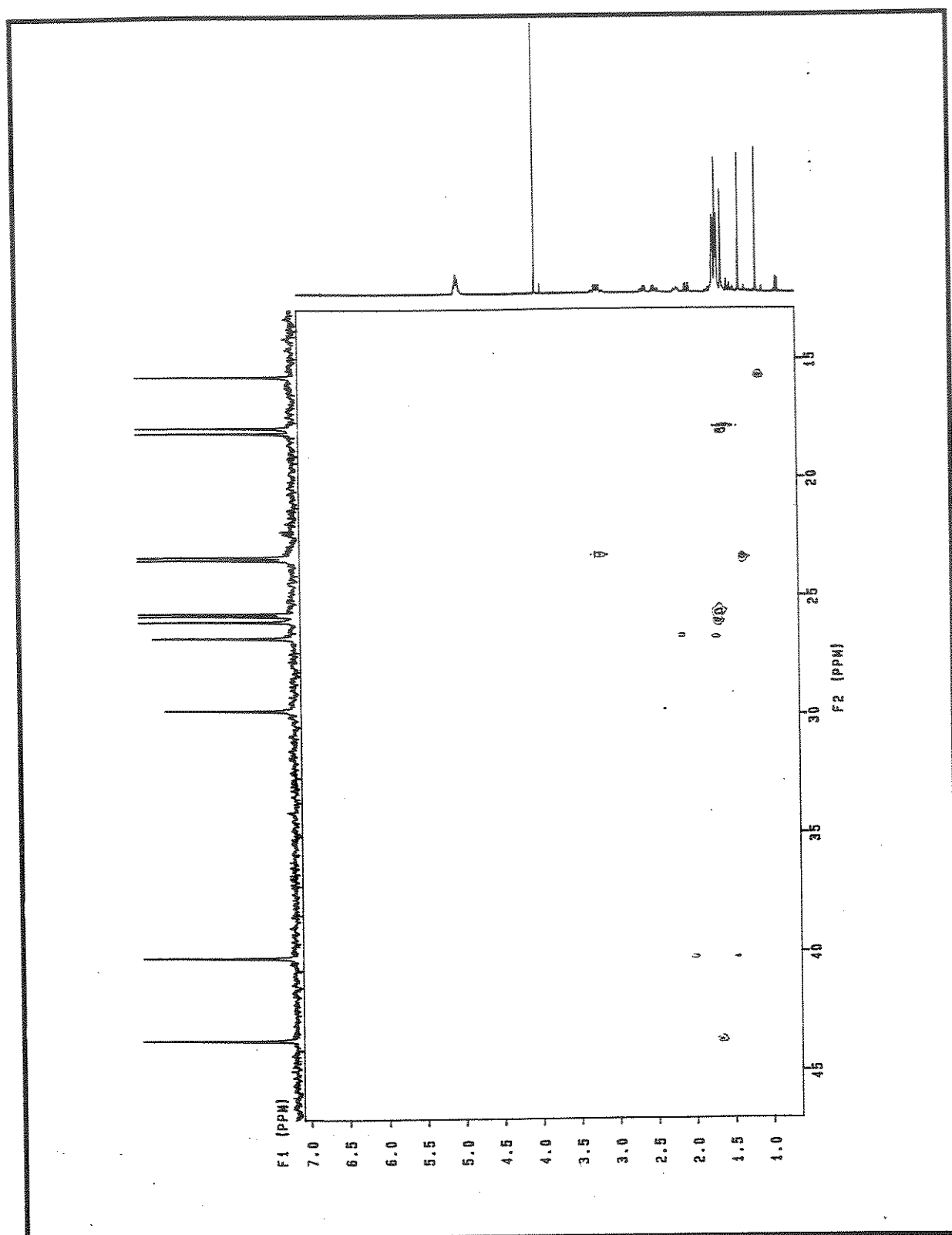
E 72 - Expansão do espectro E-70 do produto natural 23.



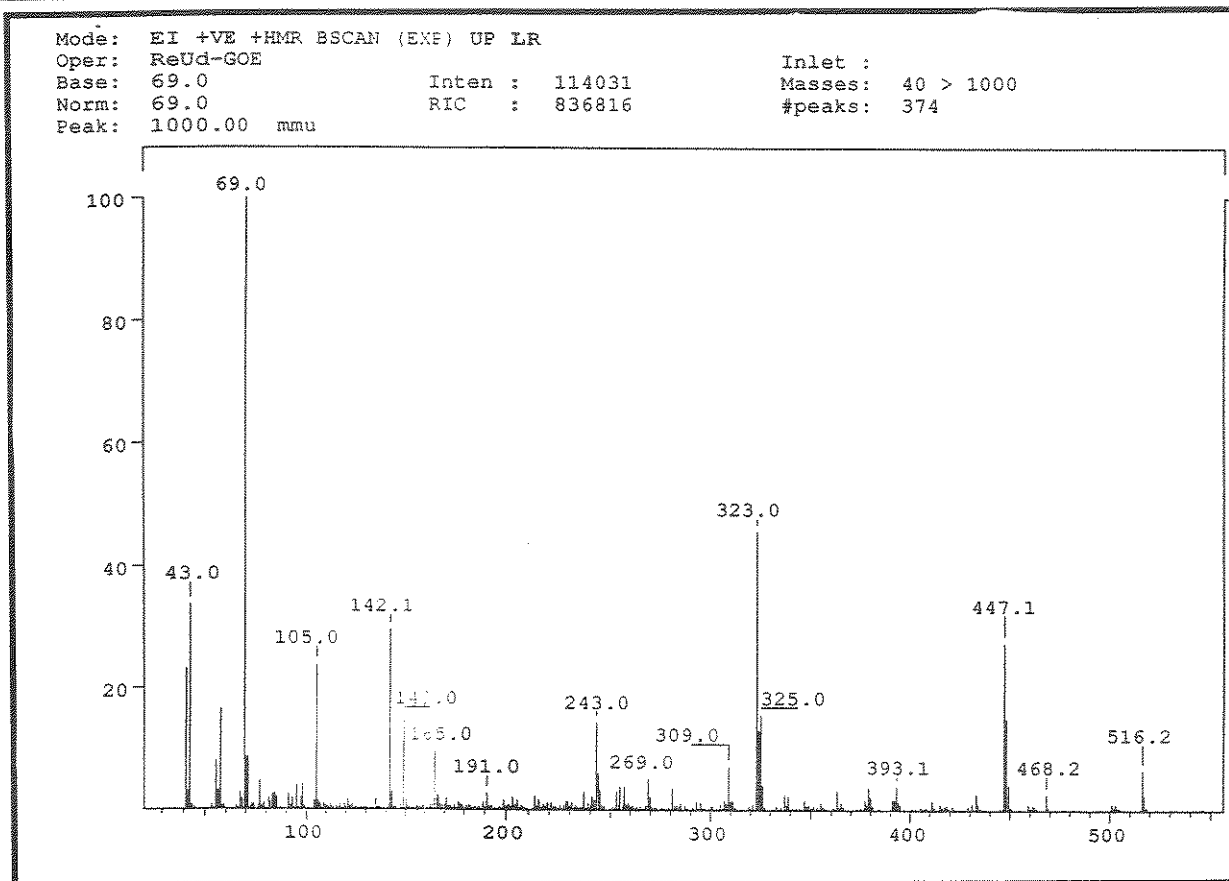
E 73 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - COLOC) do produto natural 23.



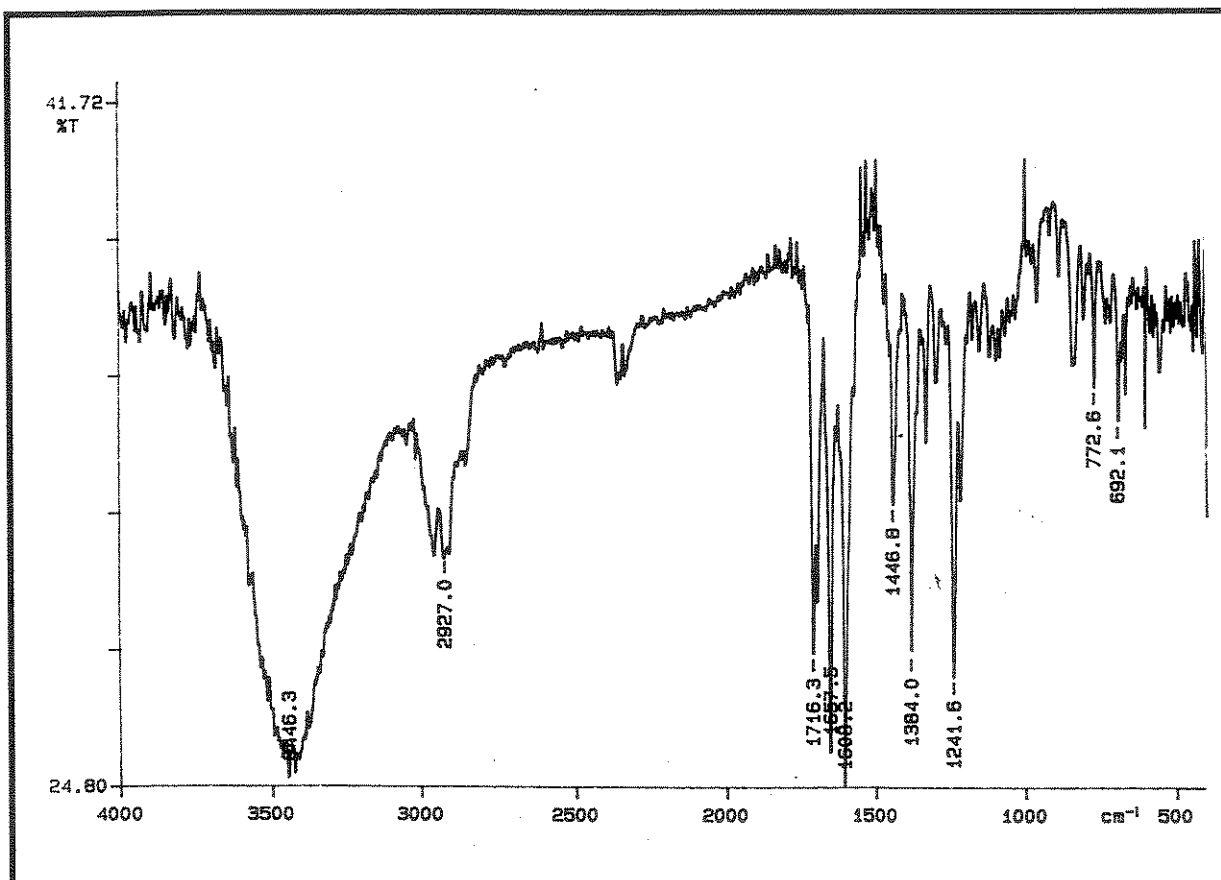
E 74 - Expansão do espectro E-72 do produto natural 23.



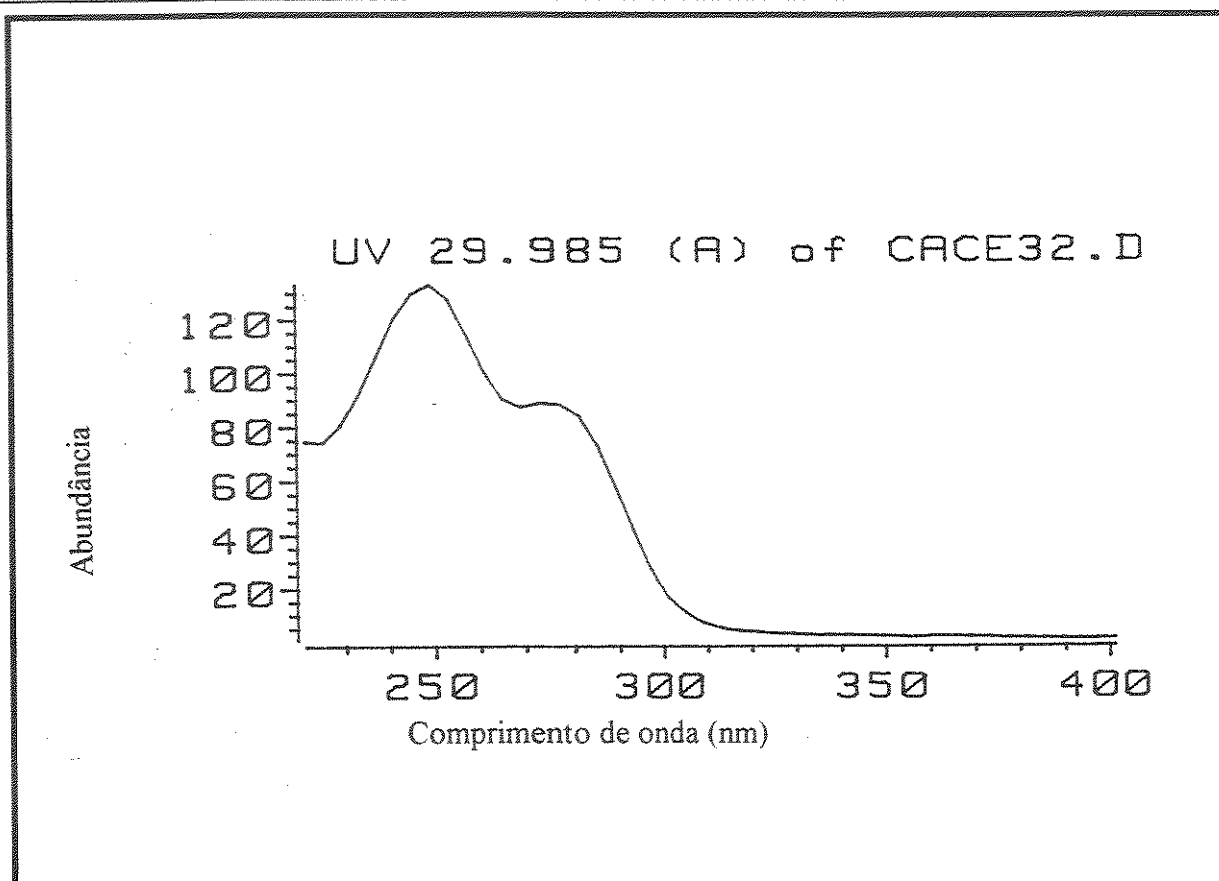
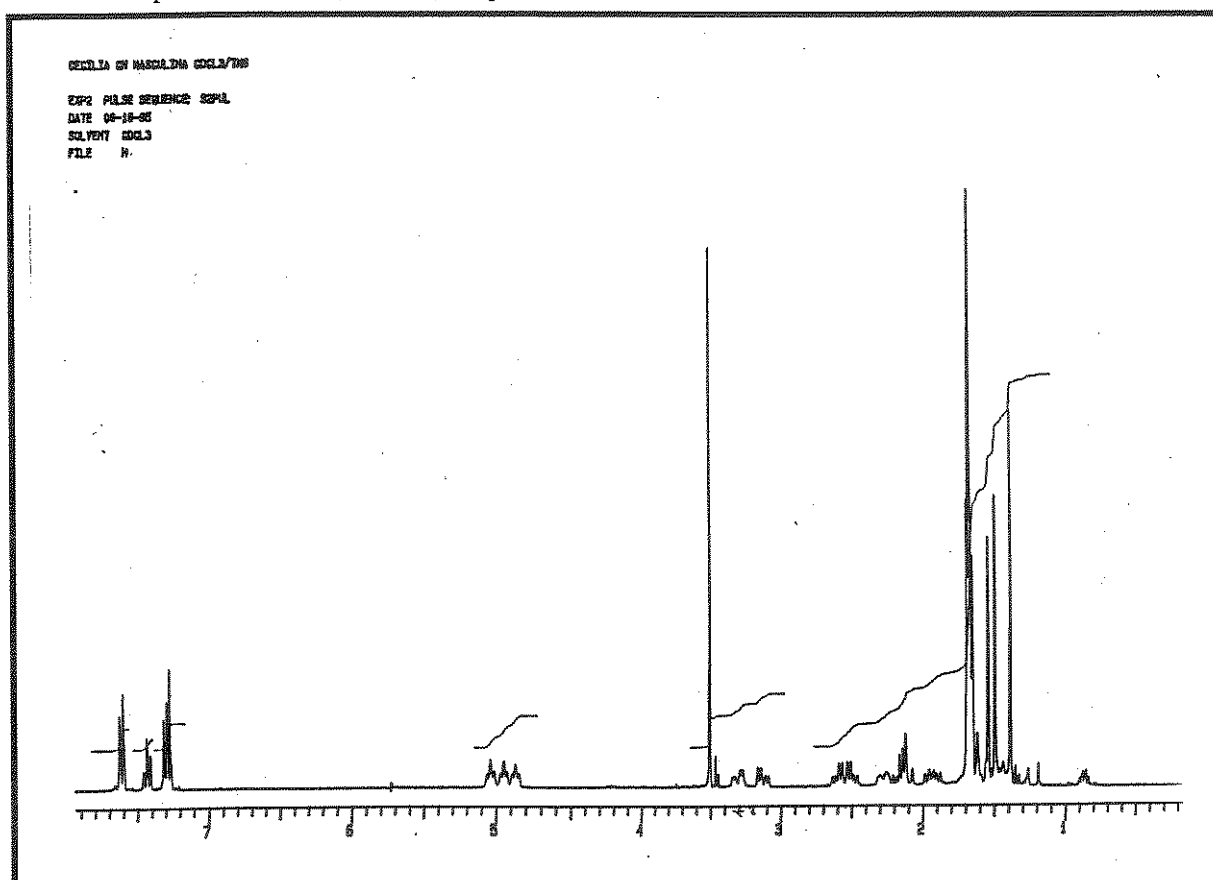
E 75 - Expansão do espectro E-72 do produto natural 23.

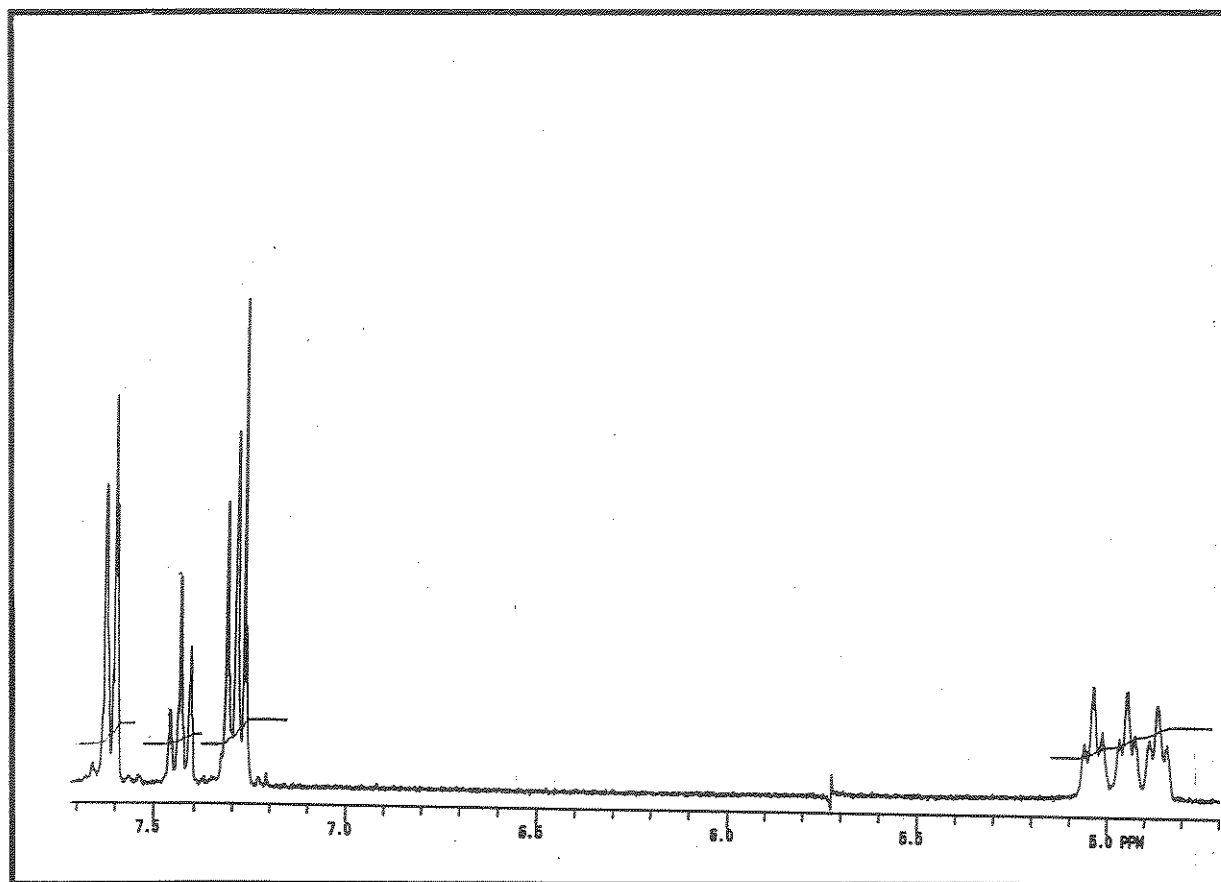


E 76 - Espectro de massas (70 eV) do produto natural 23.

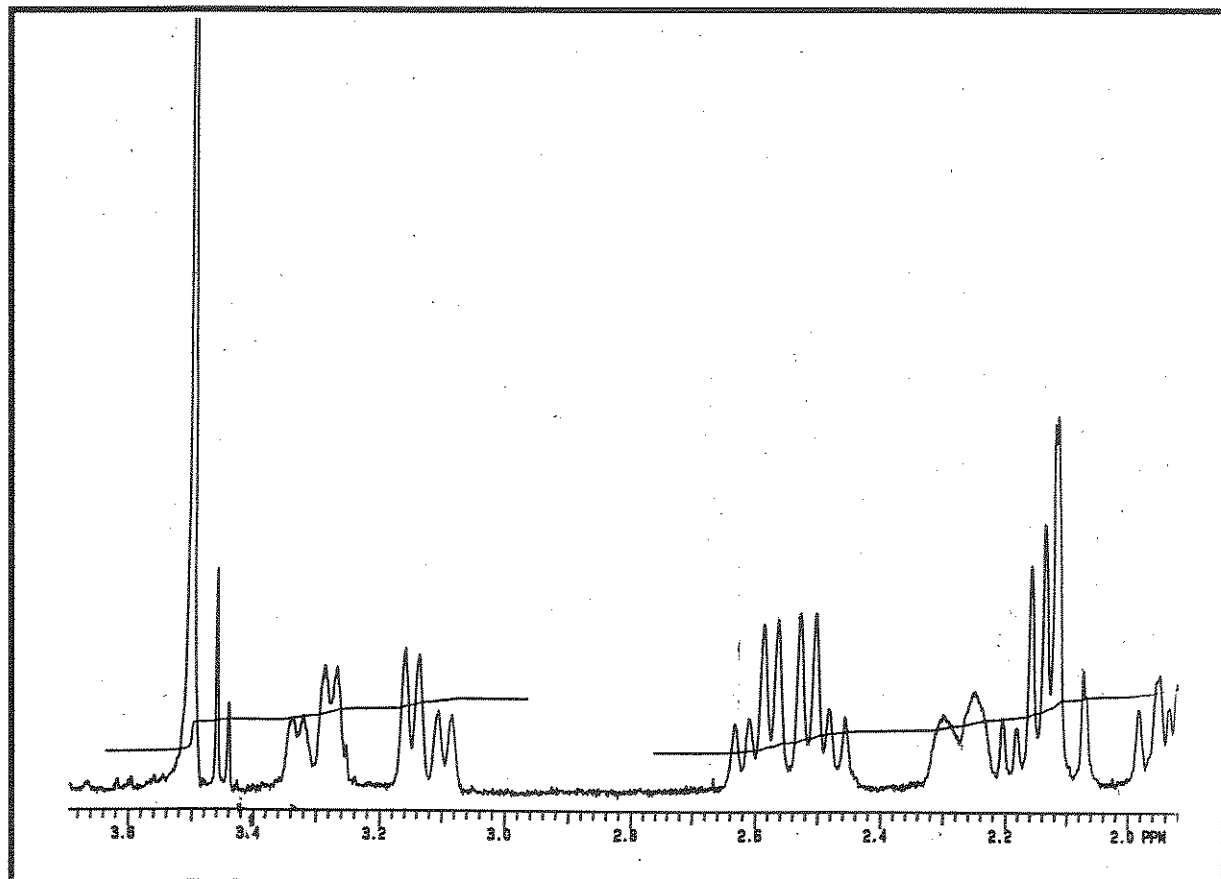


E 77 - Espectro no IV (filme) do produto natural 23.

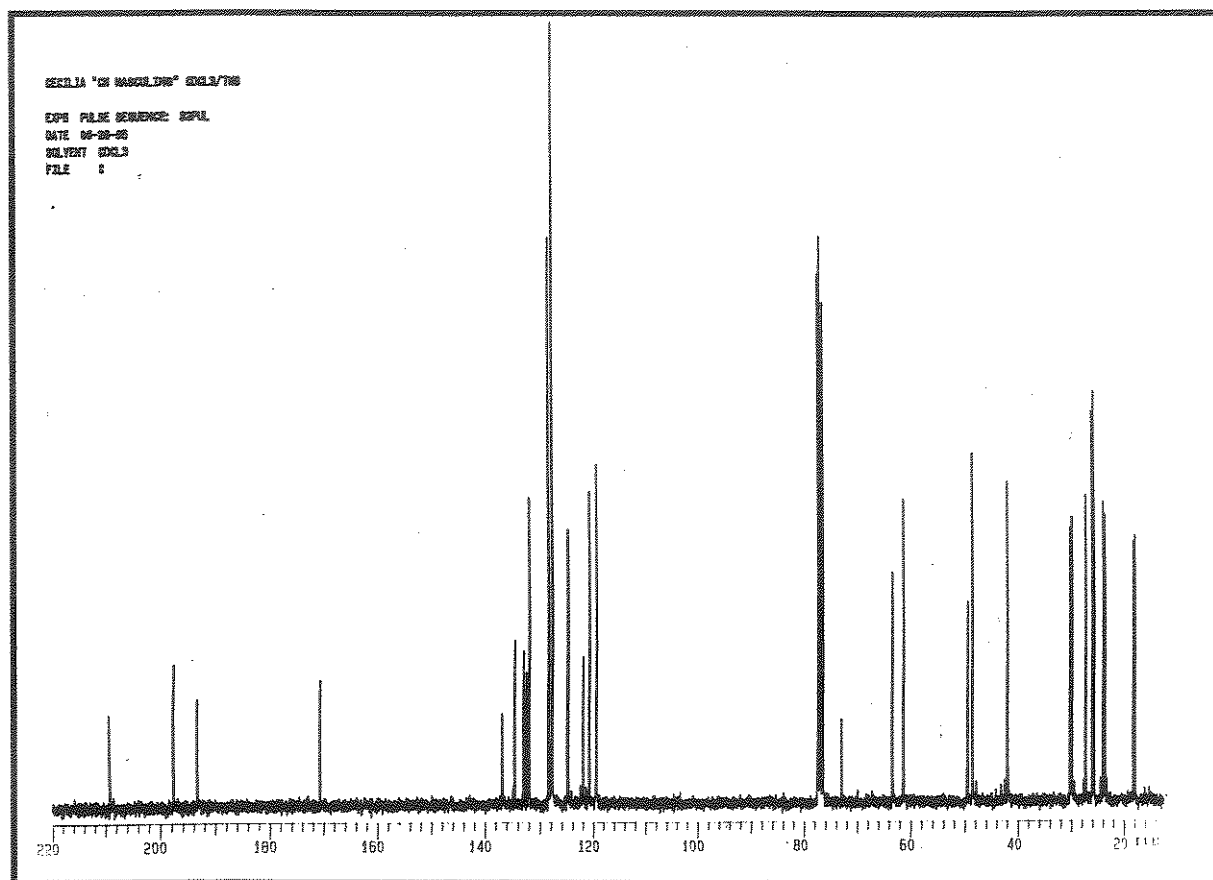
E 78 - Espectro no UV (CH_3CN) do produto natural 23.E 79 - Espectro de RMN^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do produto natural 25.



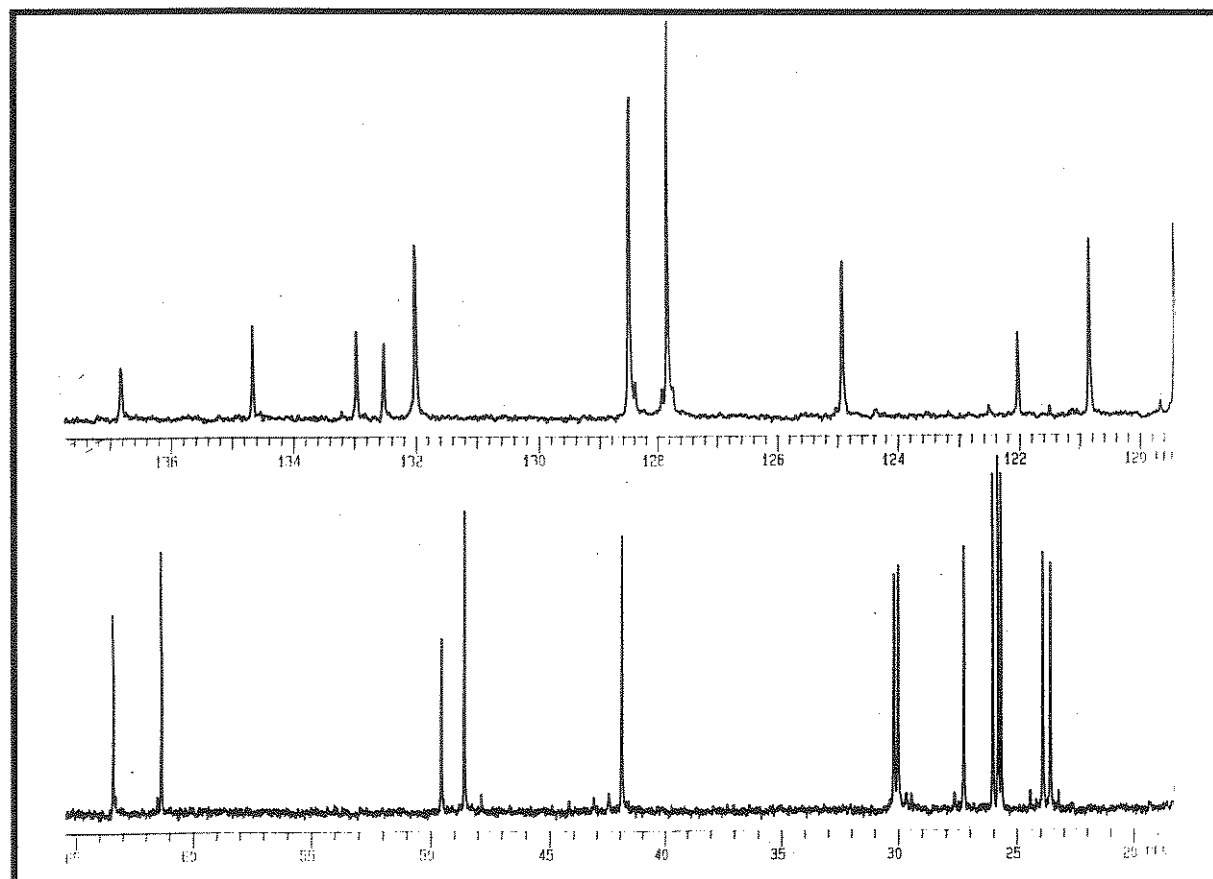
E 80 - Expansão do espectro E-79 (δ 7,7 - 4,6) do produto natural 25.



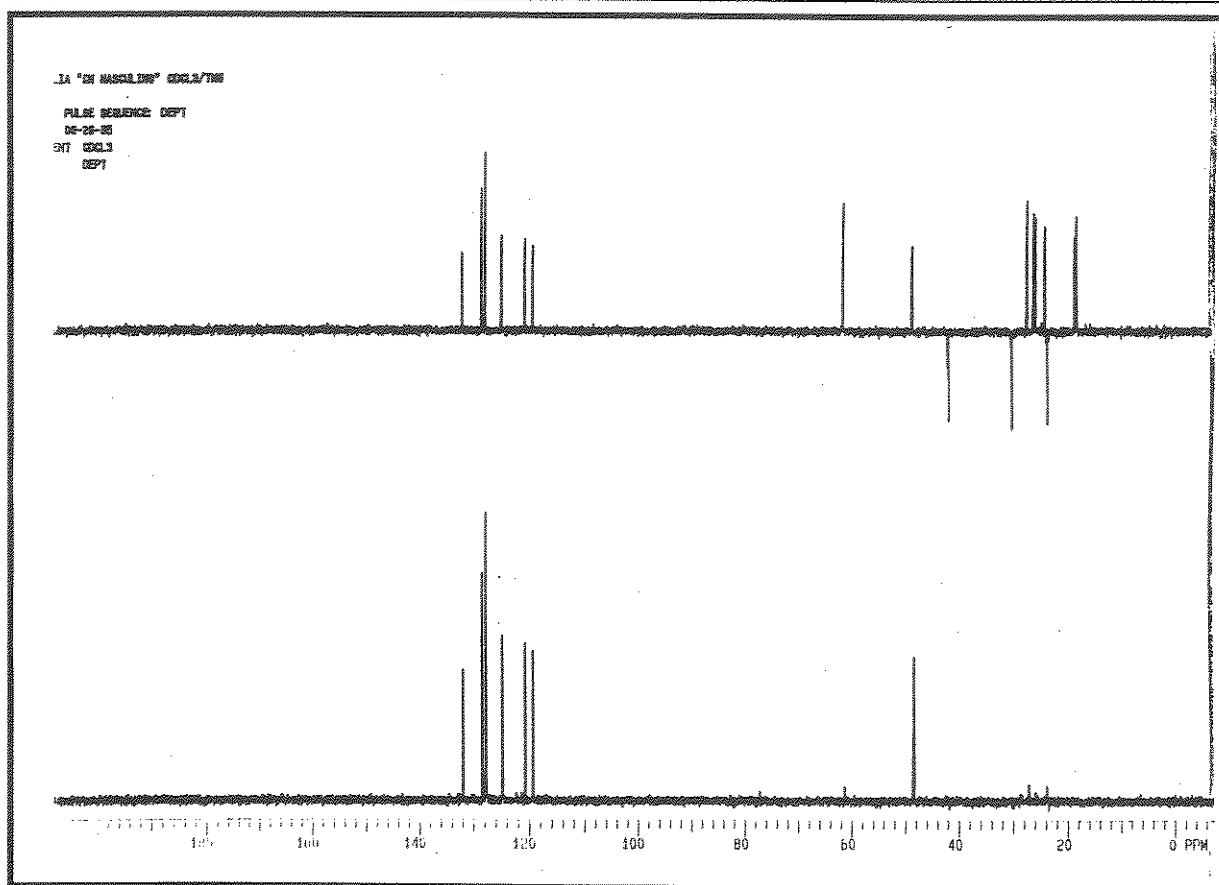
E 81 - Expansão do espectro E-79 (δ 2,0 - 3,7) do produto natural 25.



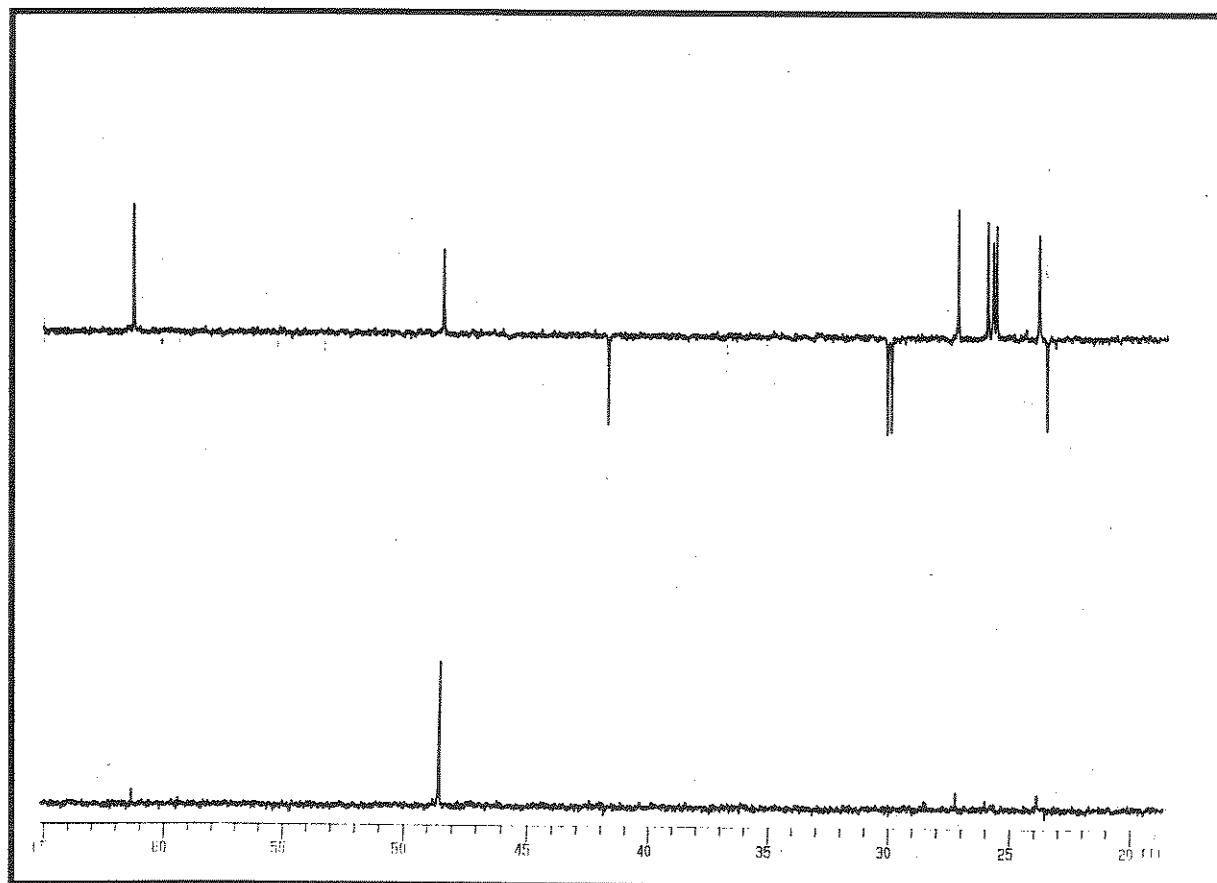
E 82 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do produto natural 25.



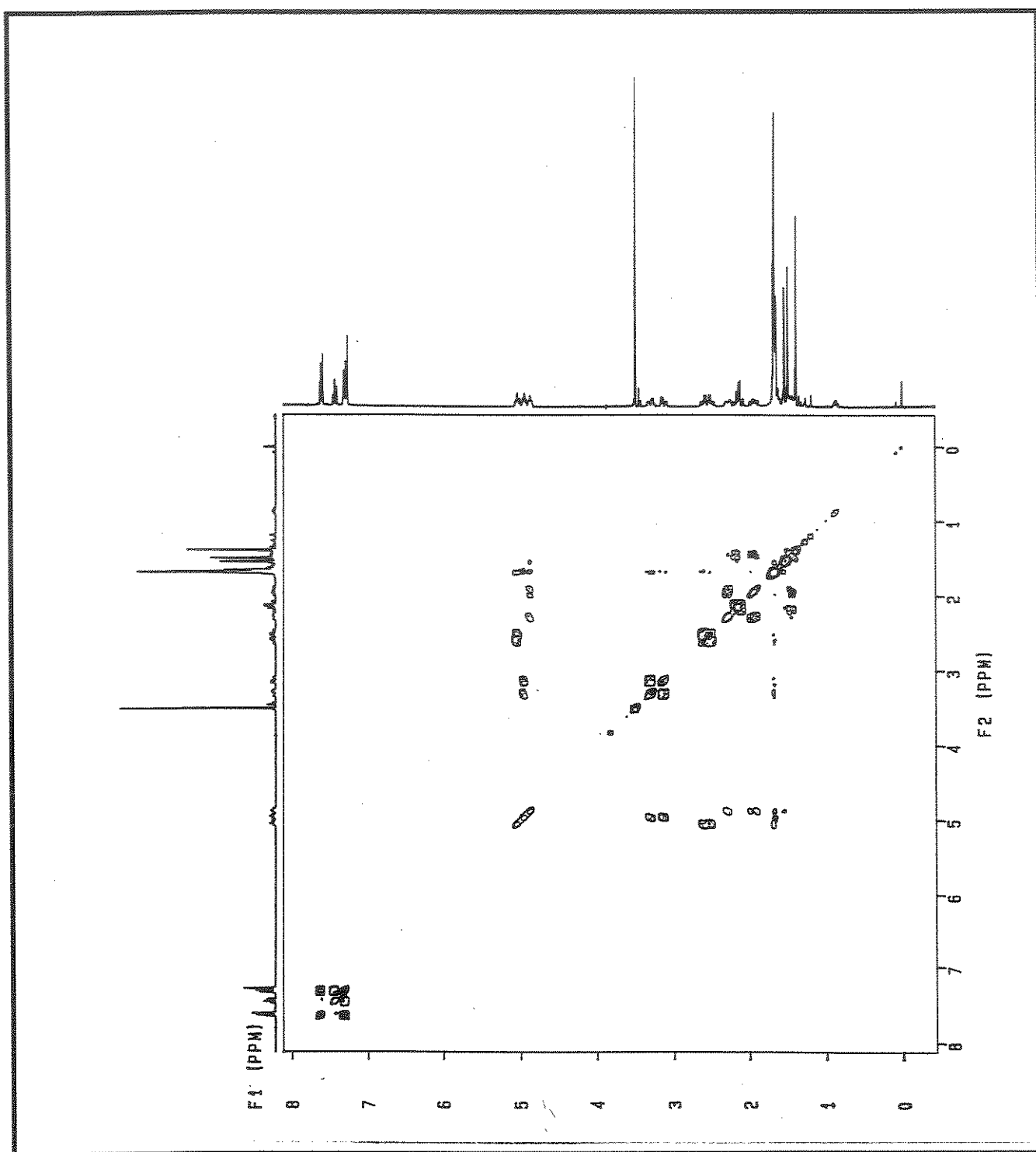
E 83 - Expansão do espectro E-82 do produto natural 25.



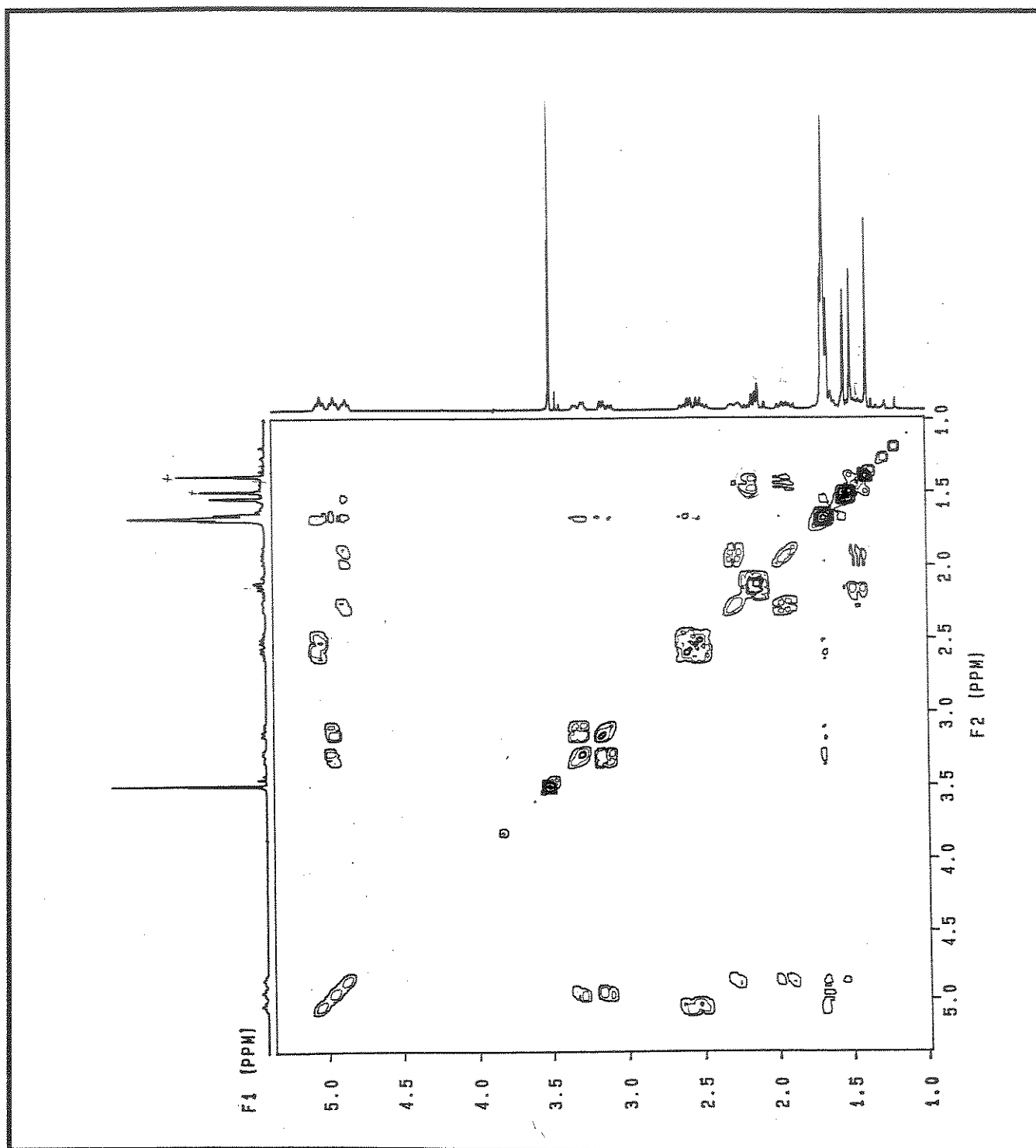
E 84 - Espectro DEPT (135° e 90°) do produto natural 25.



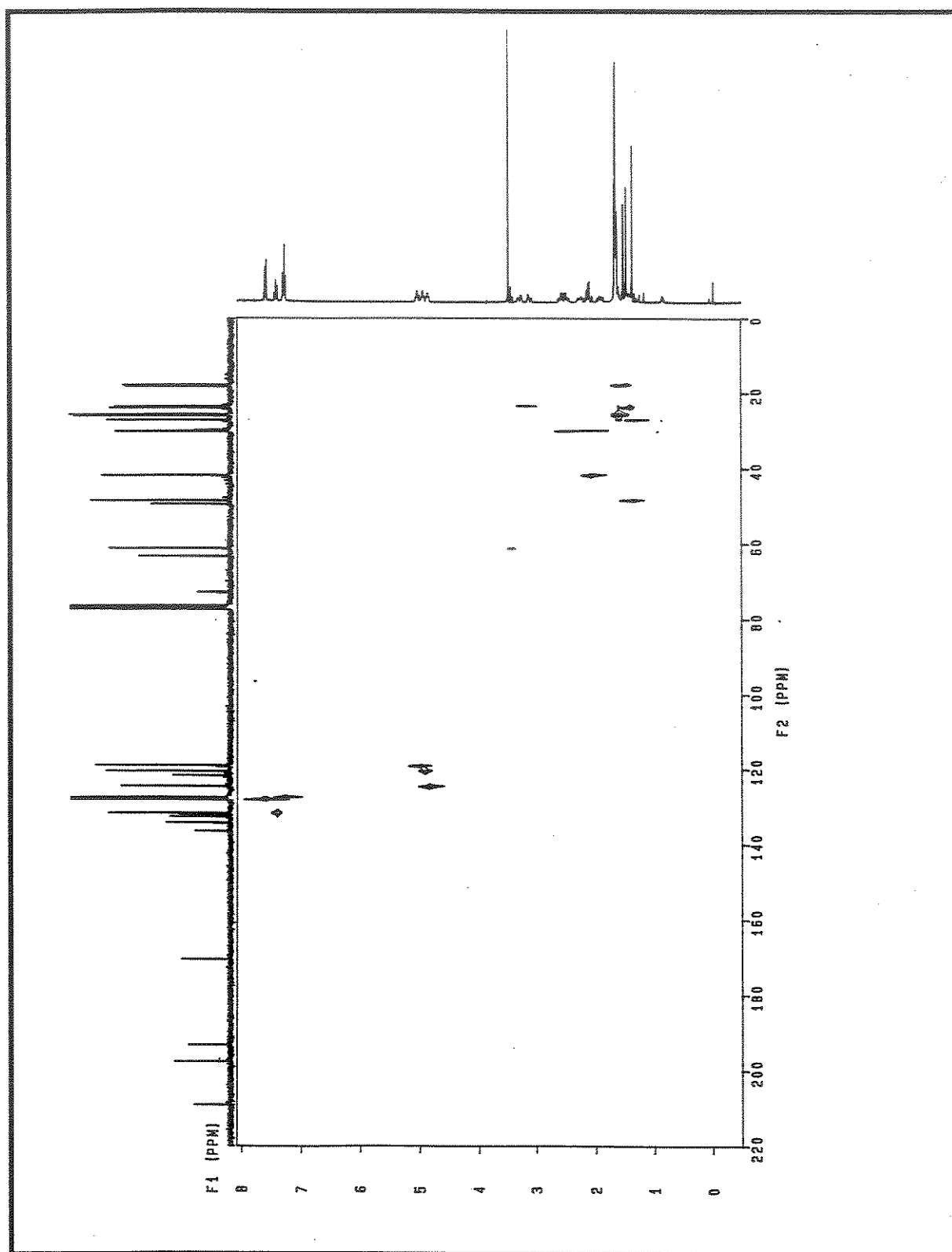
E 85 - Expansão do espectro E-84 (δ 75 - 20) do produto natural 25.



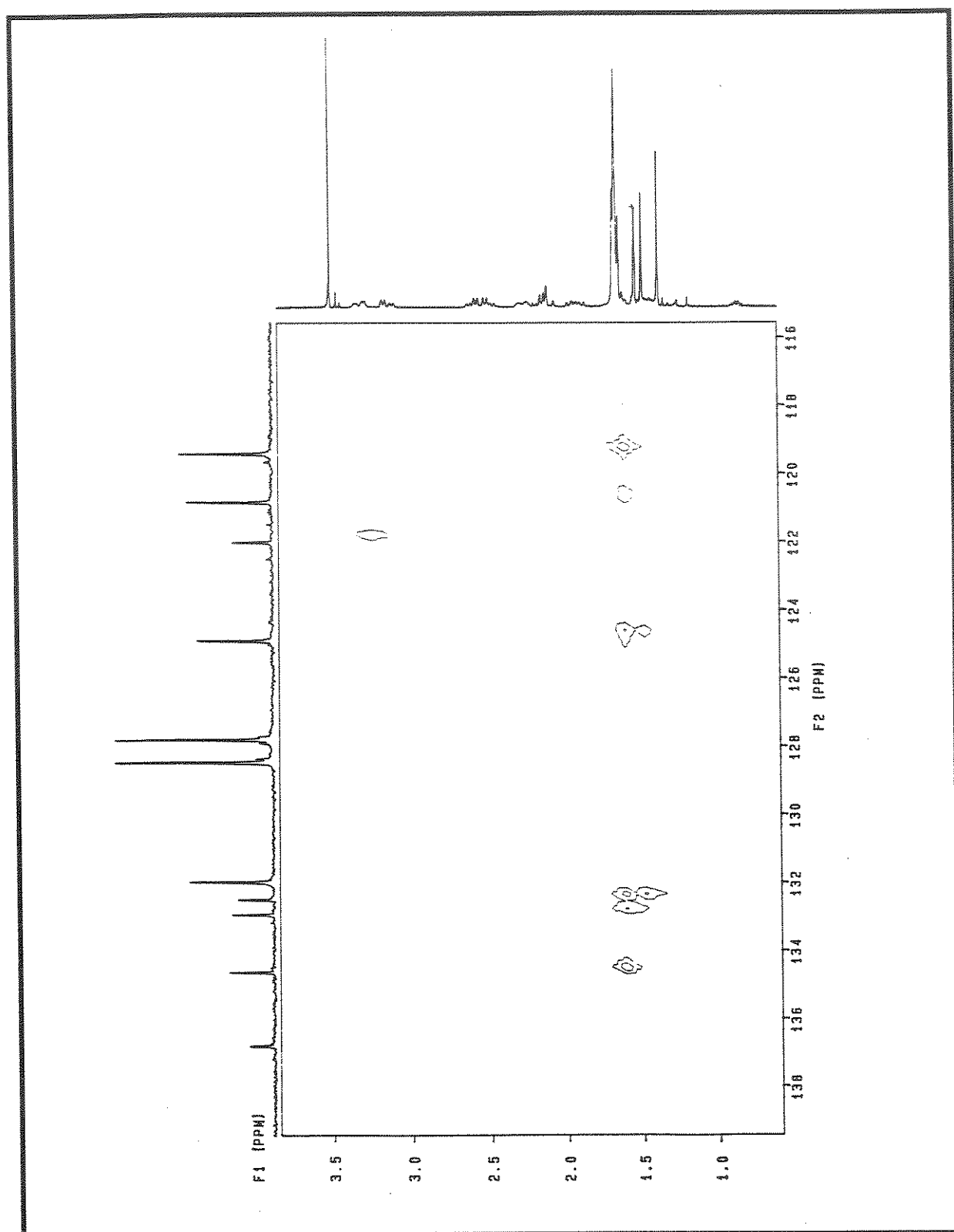
E 86 - Espectro 2D (^1H , ^1H - COSY) do produto natural 25.



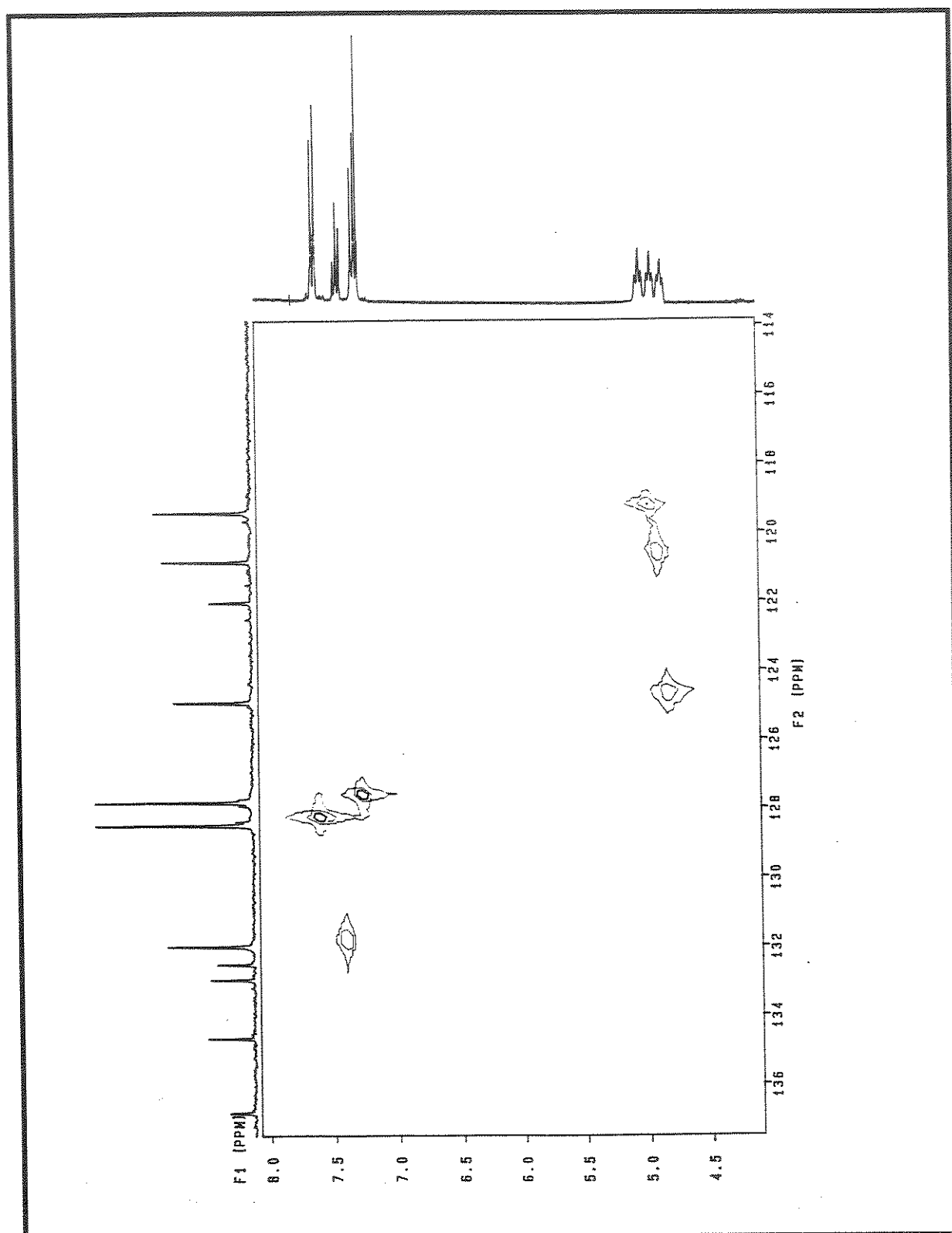
E 87 - Expansão do espectro E-86 do produto natural 25.



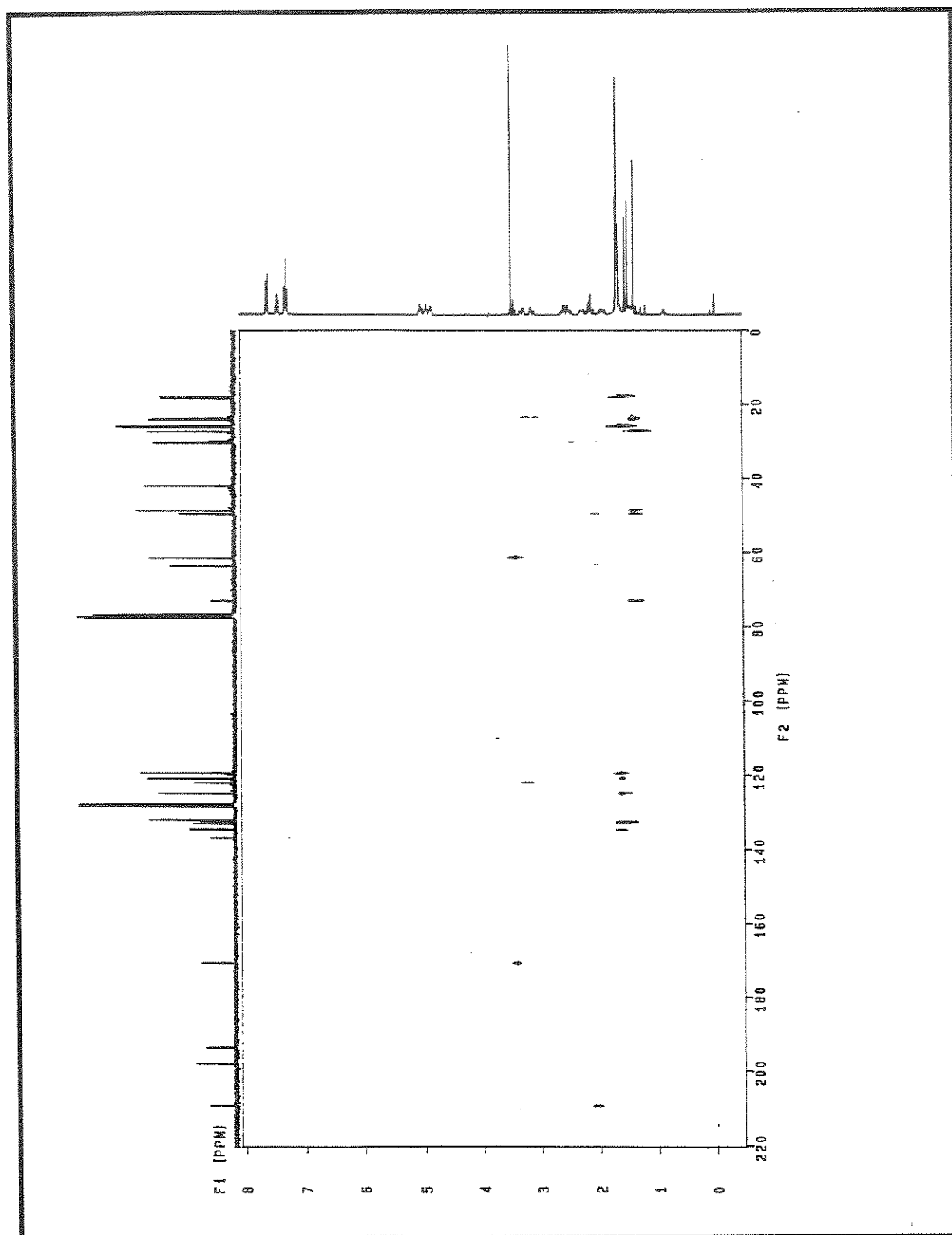
E 88 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - HETCOR) do produto natural 25.



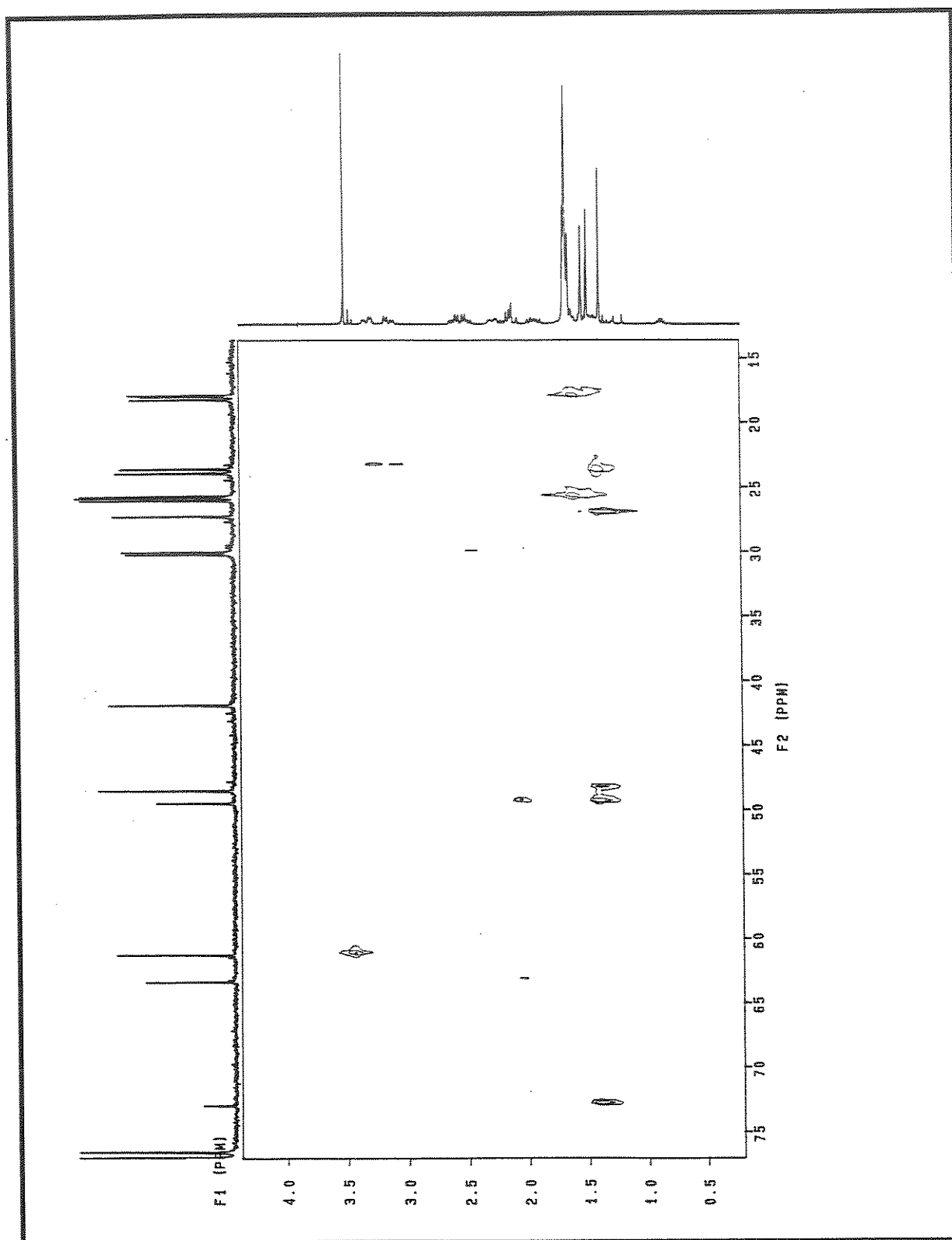
E 89 - Expansão do espectro E-88 do produto natural 25.



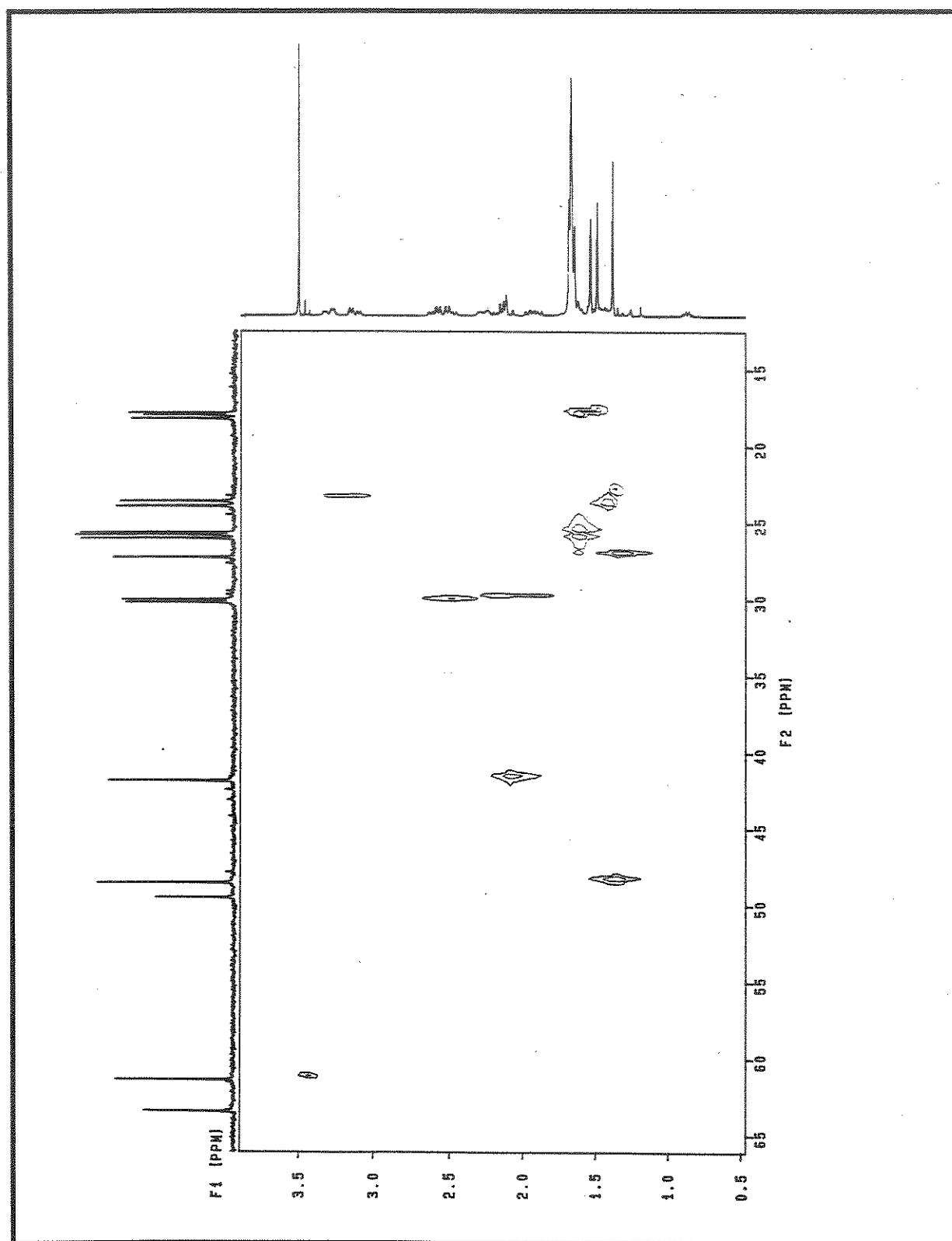
E 90 - Expansão do espectro E-88 do produto natural 25.



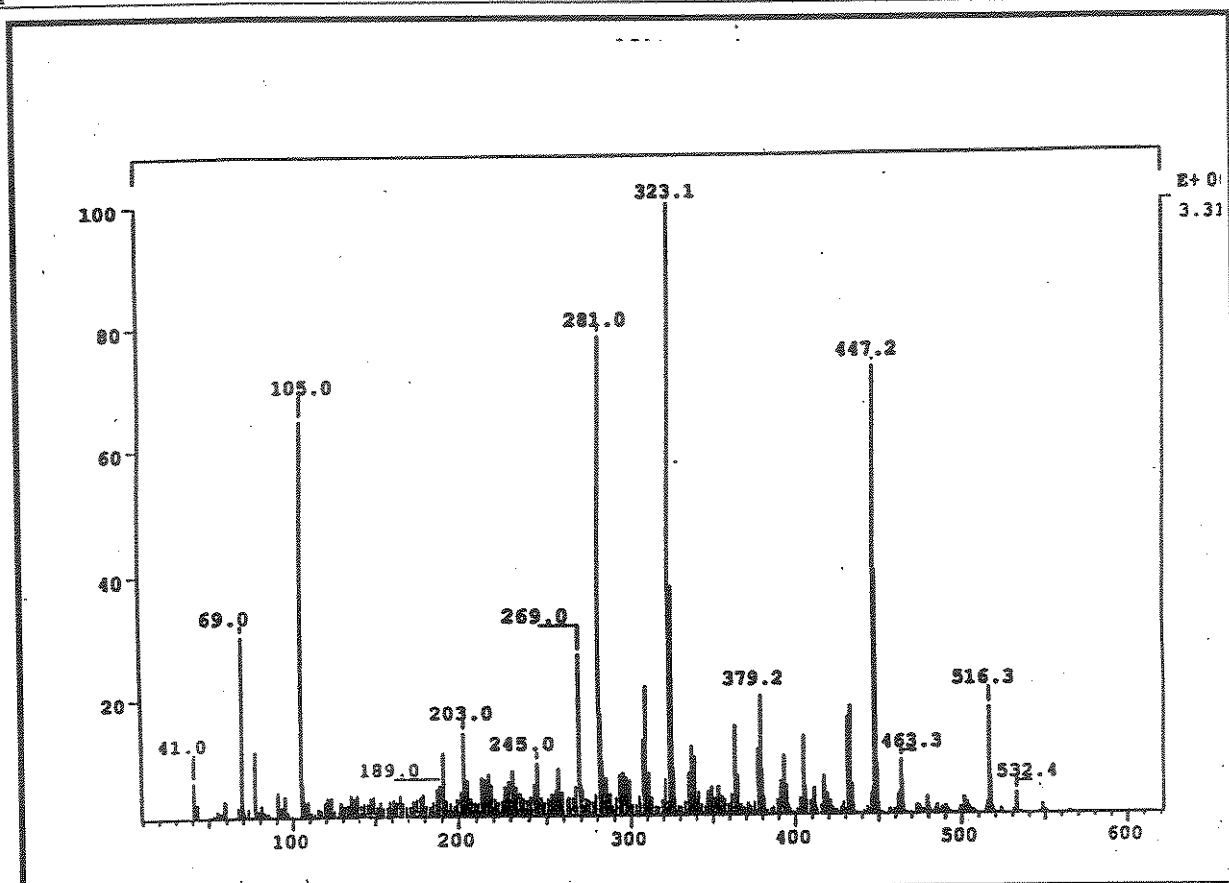
E 91 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - COLOC) do produto natural 25.



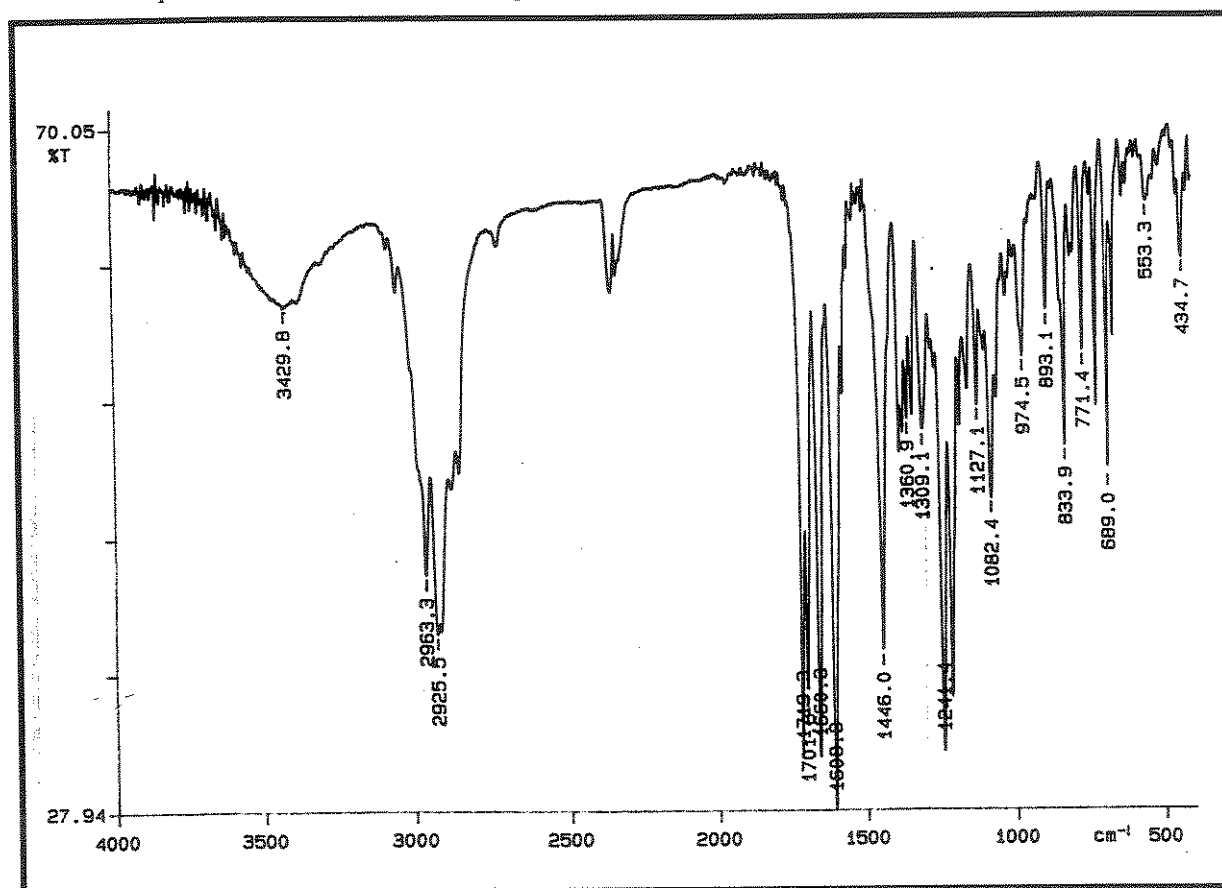
E 92 - Expansão do espectro E-91 do produto natural 25.



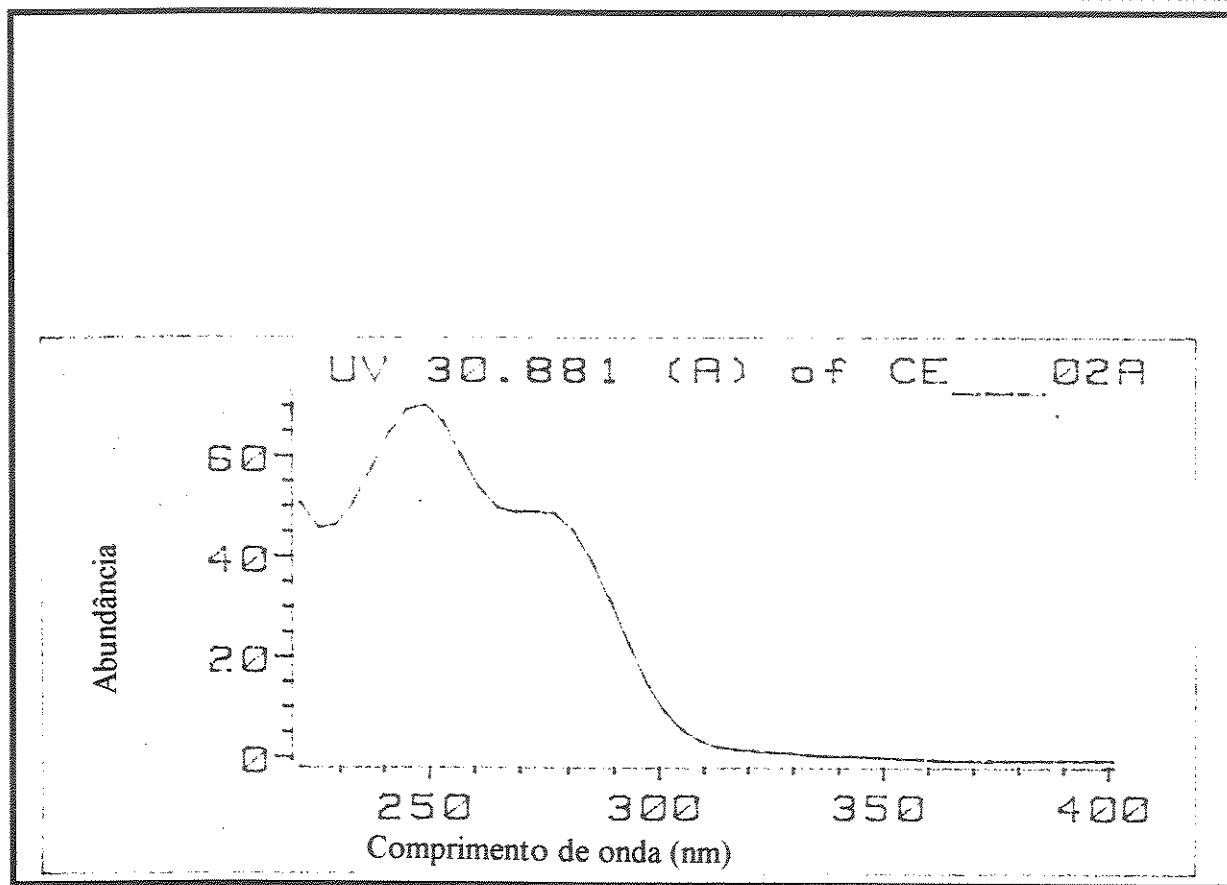
E 93 - Expansão do espectro E-91 do produto natural 25.



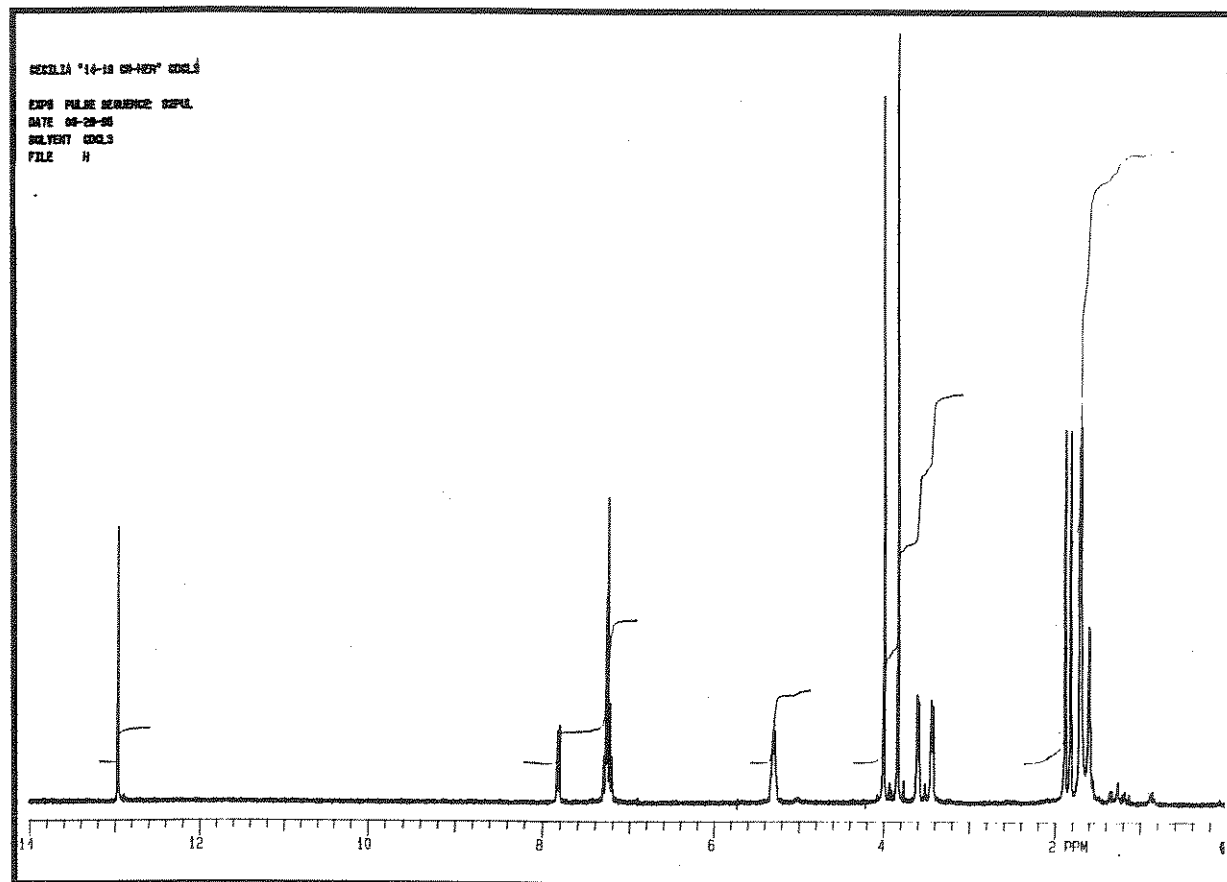
E 94 - Espectro de massas (70 eV) do produto natural 25.



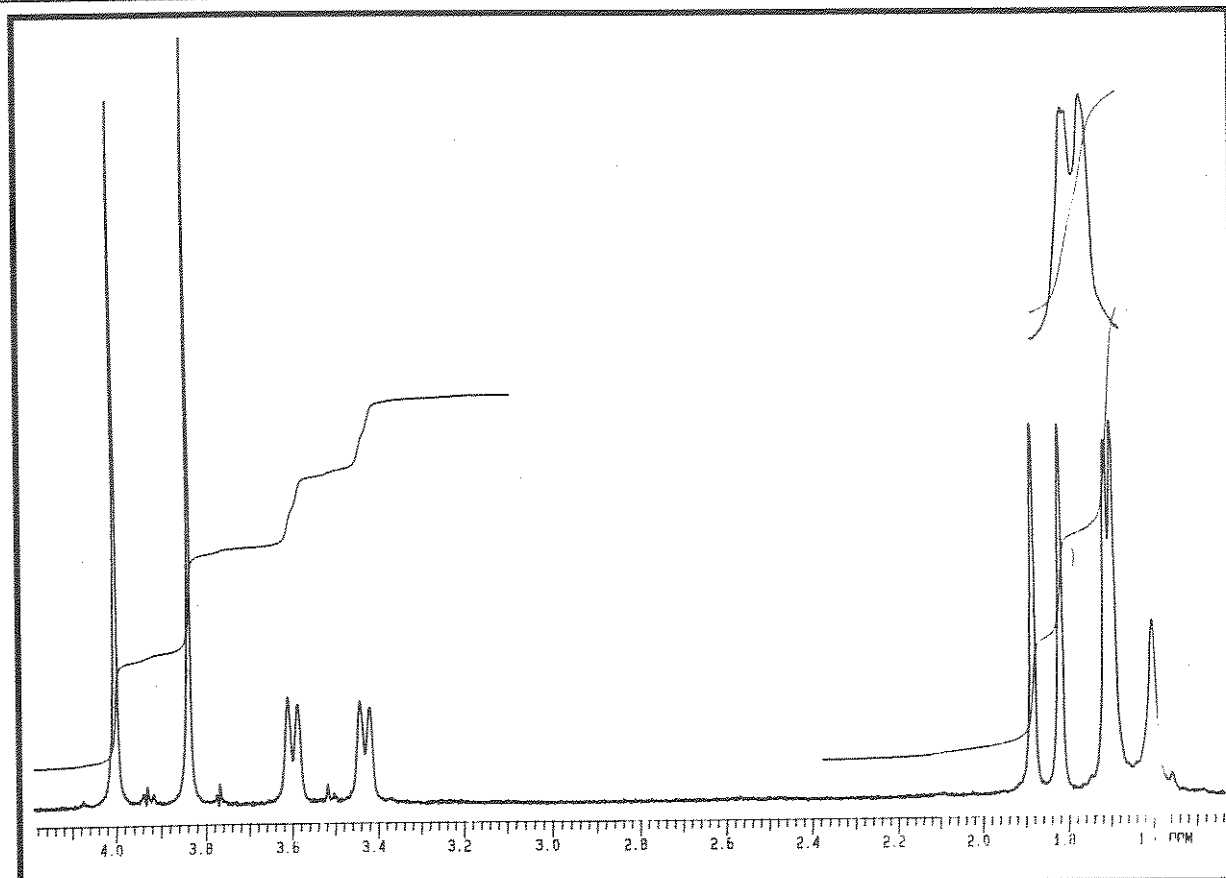
E 95 - Espectro no IV (filme) do produto natural 25.



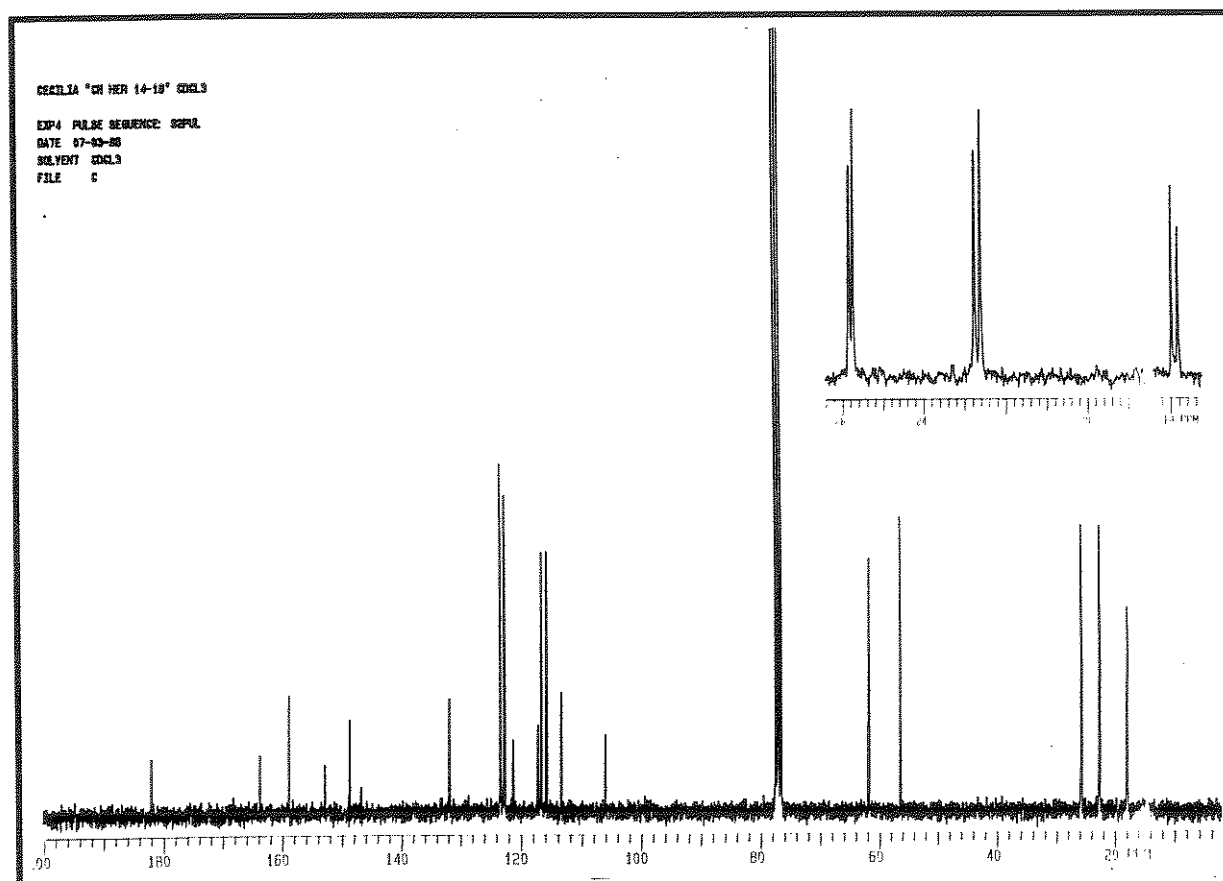
E 96 - Espectro no UV (CH_3CN) do produto natural 25.



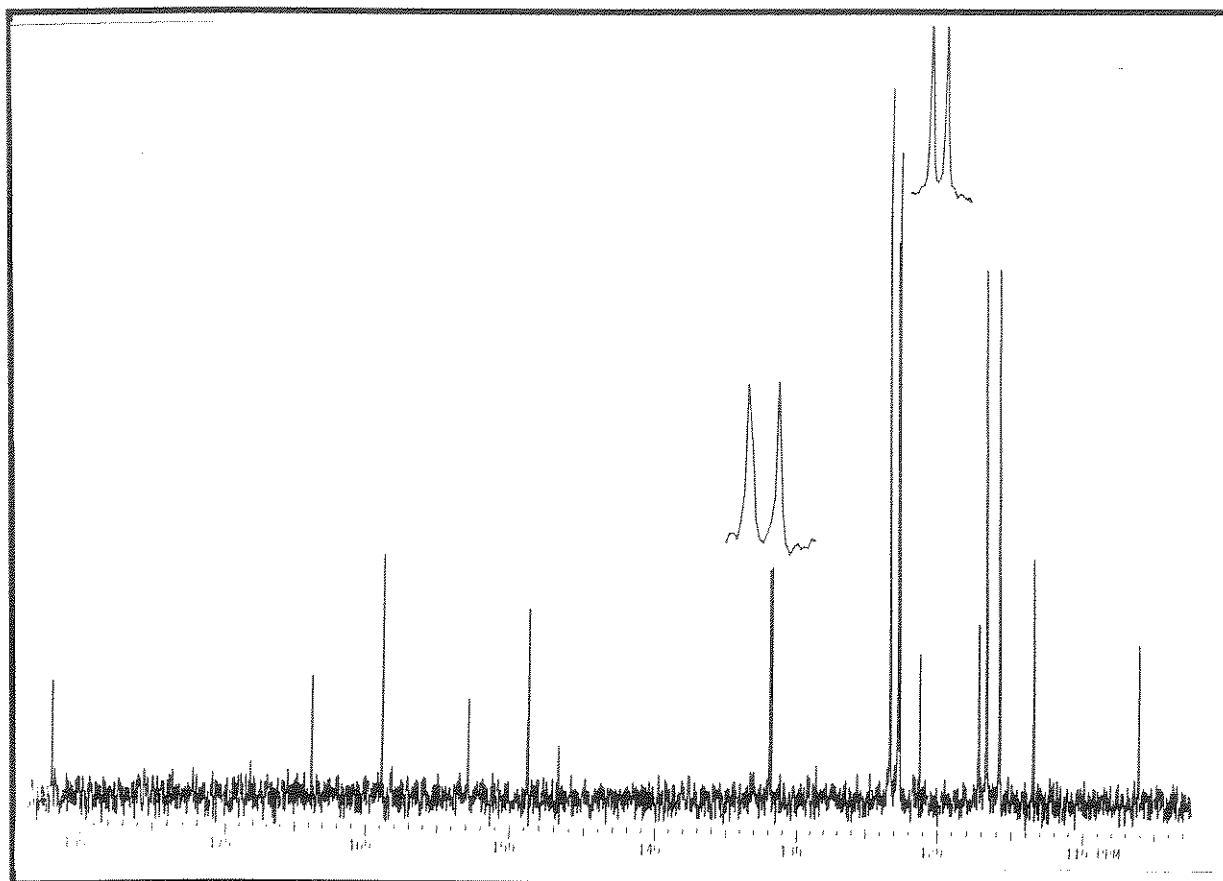
E 97 - Espectro de RMN^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do produto natural 27.



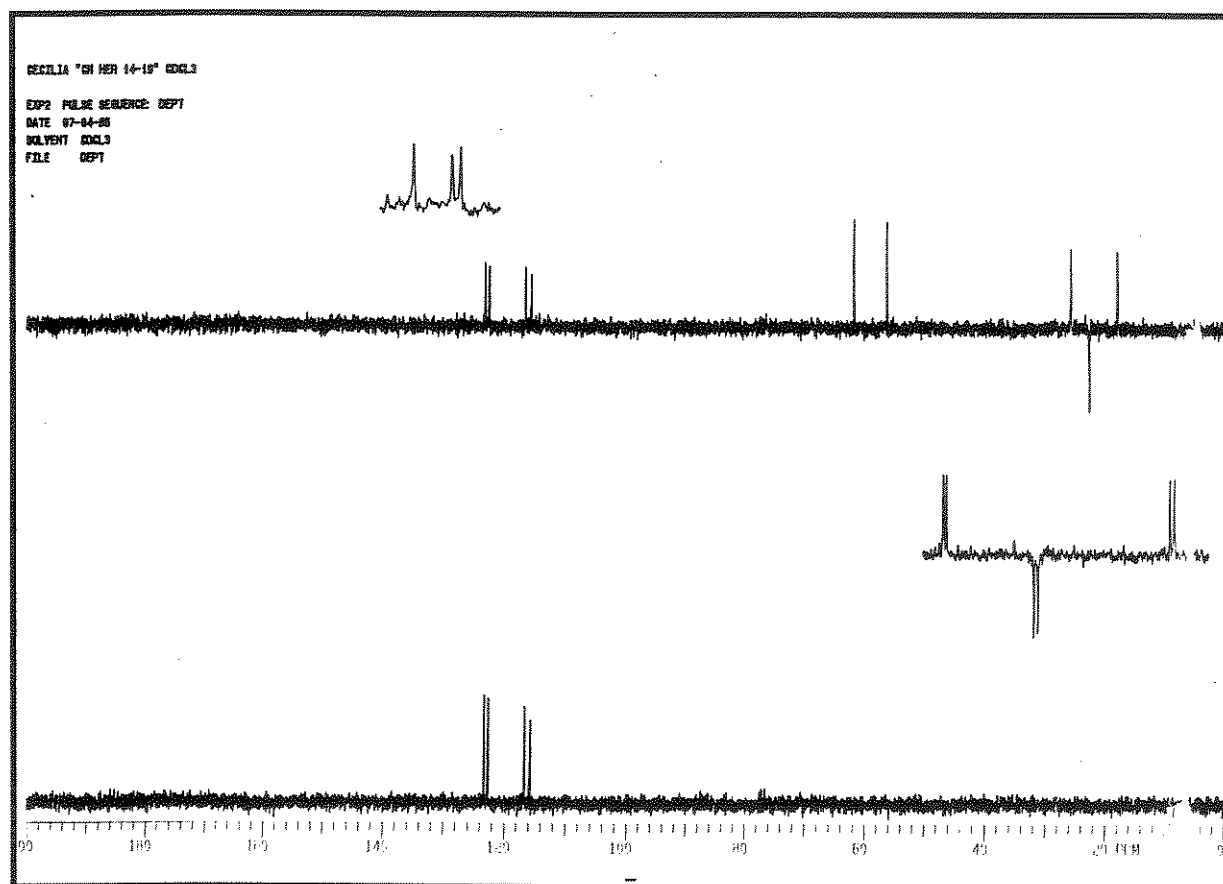
E 98 - Expansão do espectro E-97 (δ 4,2 - 1,5) do produto natural 27.



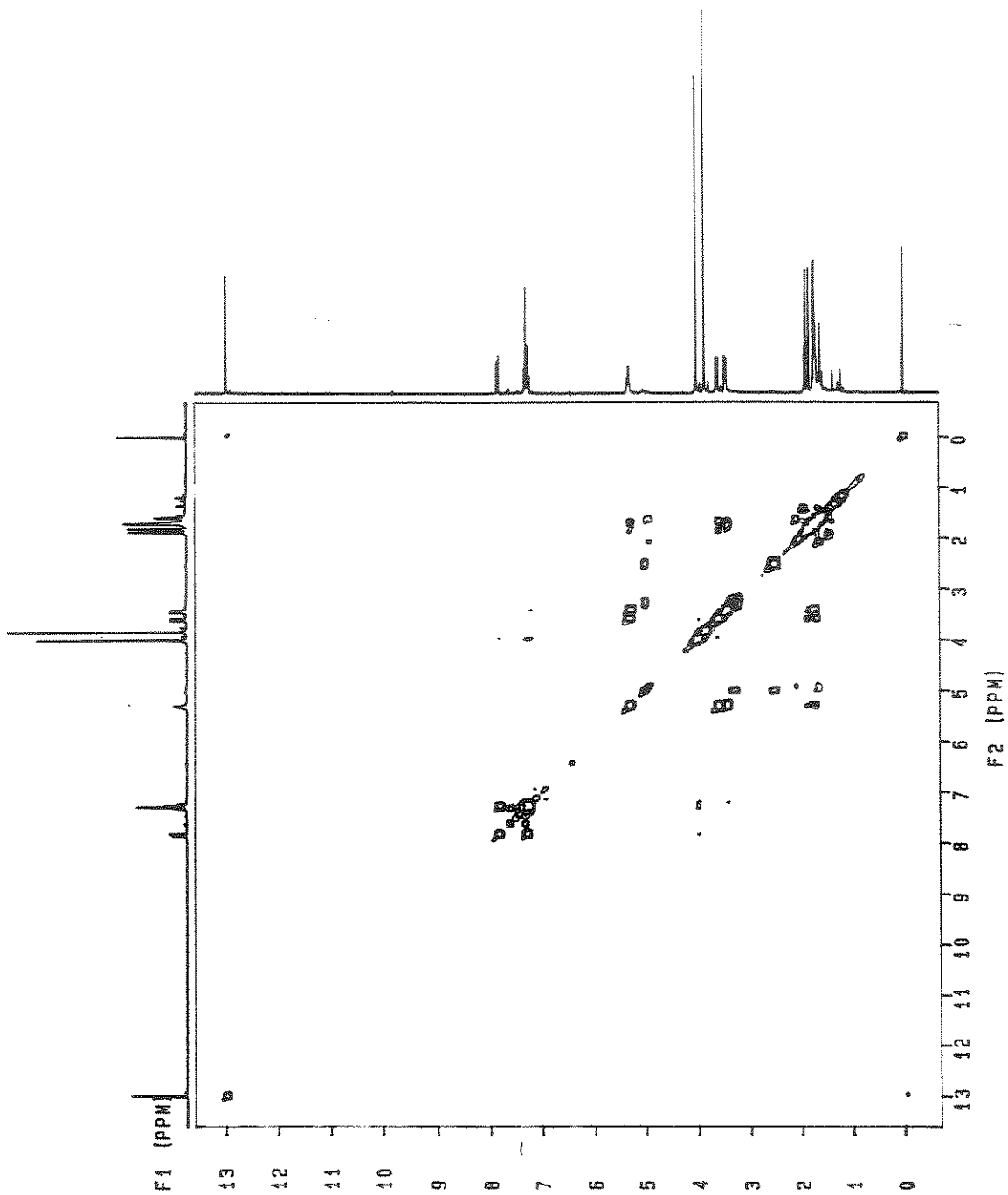
E 99 - Espectro de RMN^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do produto natural 27.



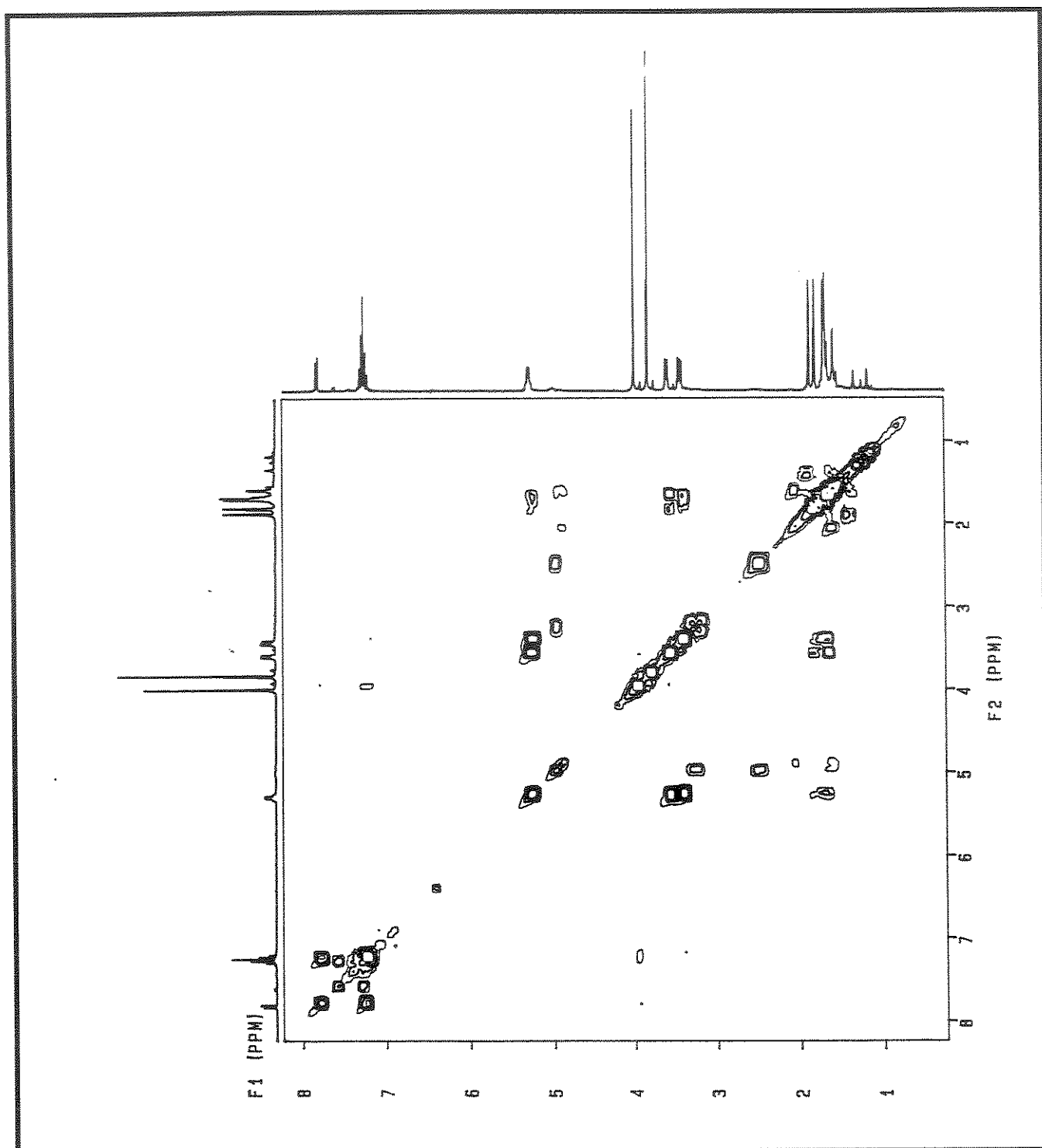
E 100 - Expansão do espectro E-99 do produto natural 27.



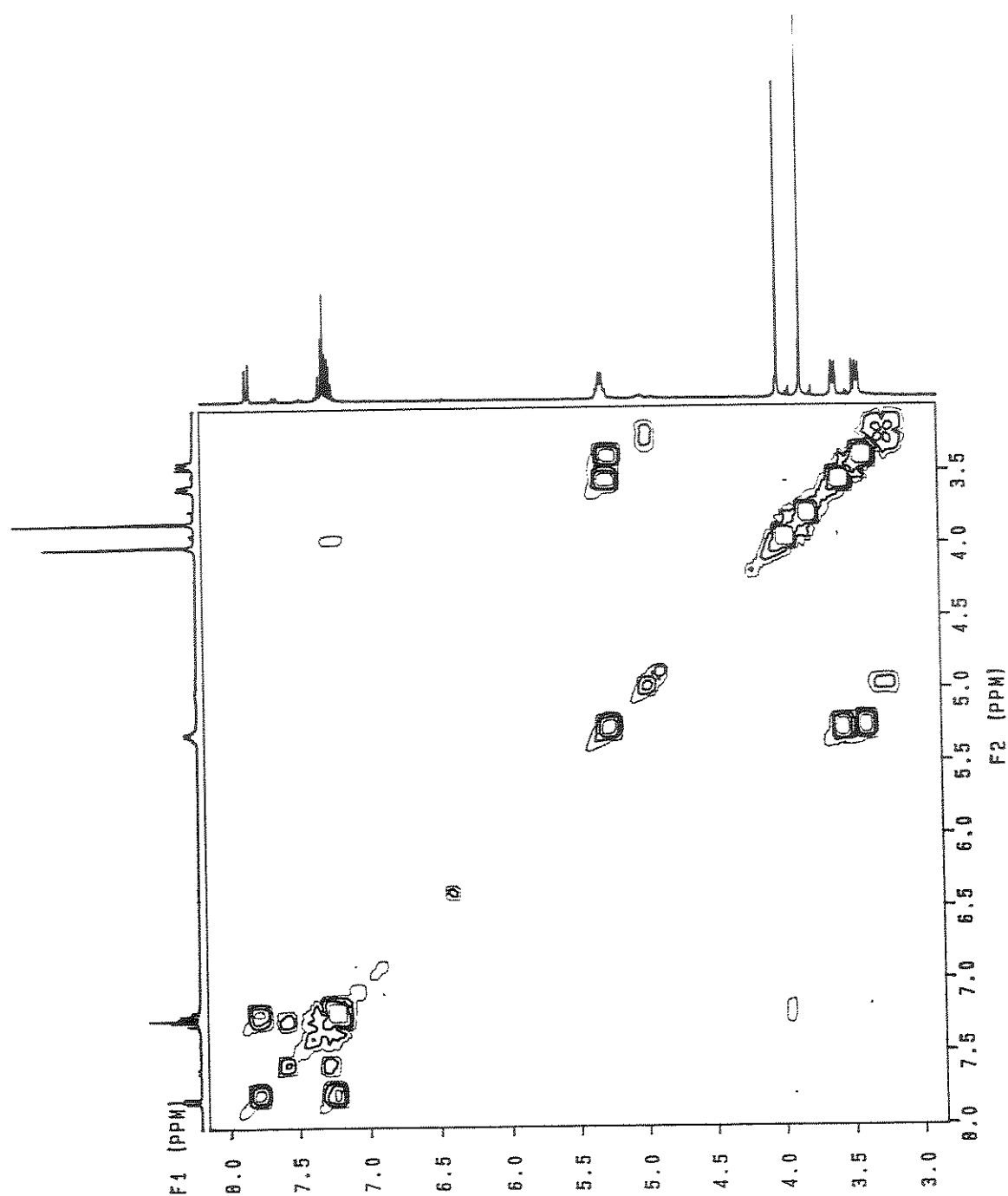
E 101 - Espectro DEPT (135° e 90°) do produto natural 27.



E 102 - Espectro 2D (^1H , ^1H -COSY) do produto natural 27.

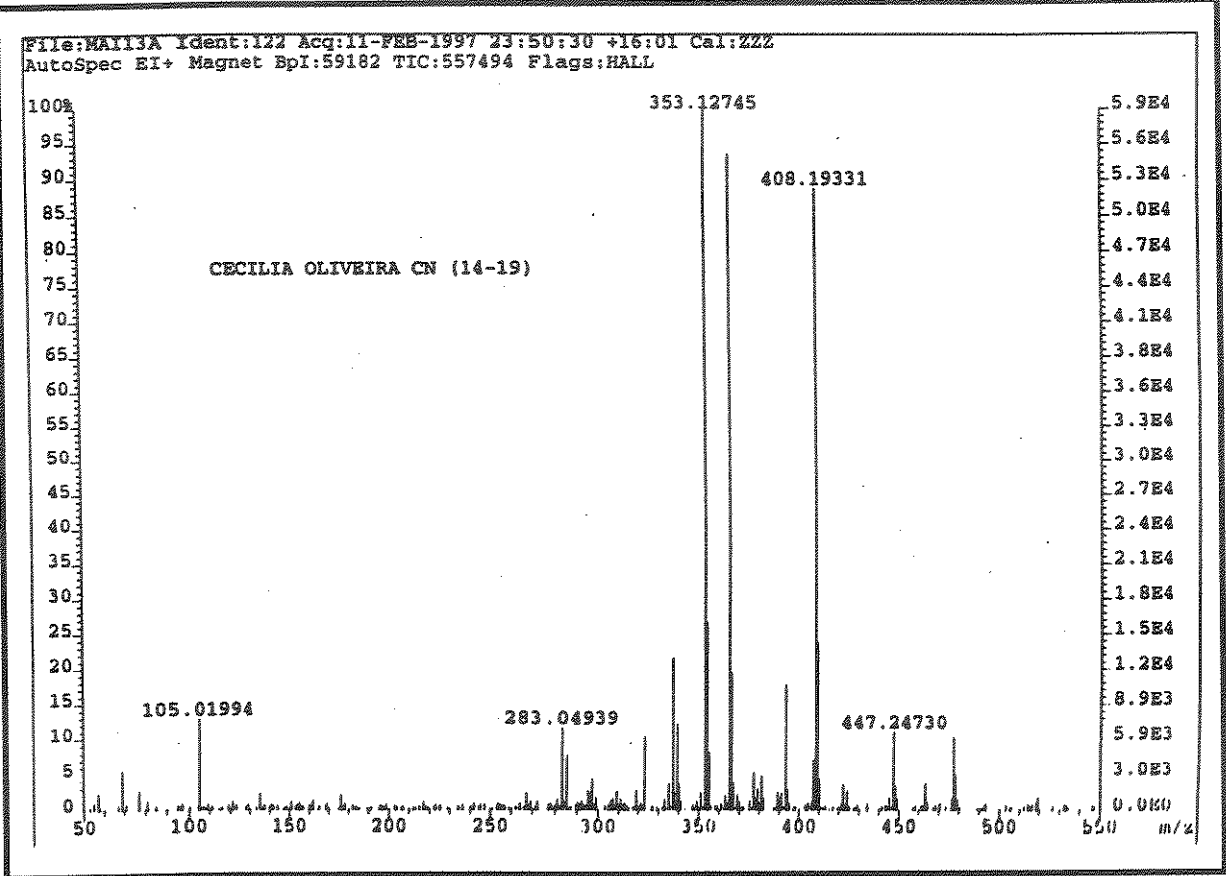


E 103 - Expansão do espectro E-102 do produto natural 27.

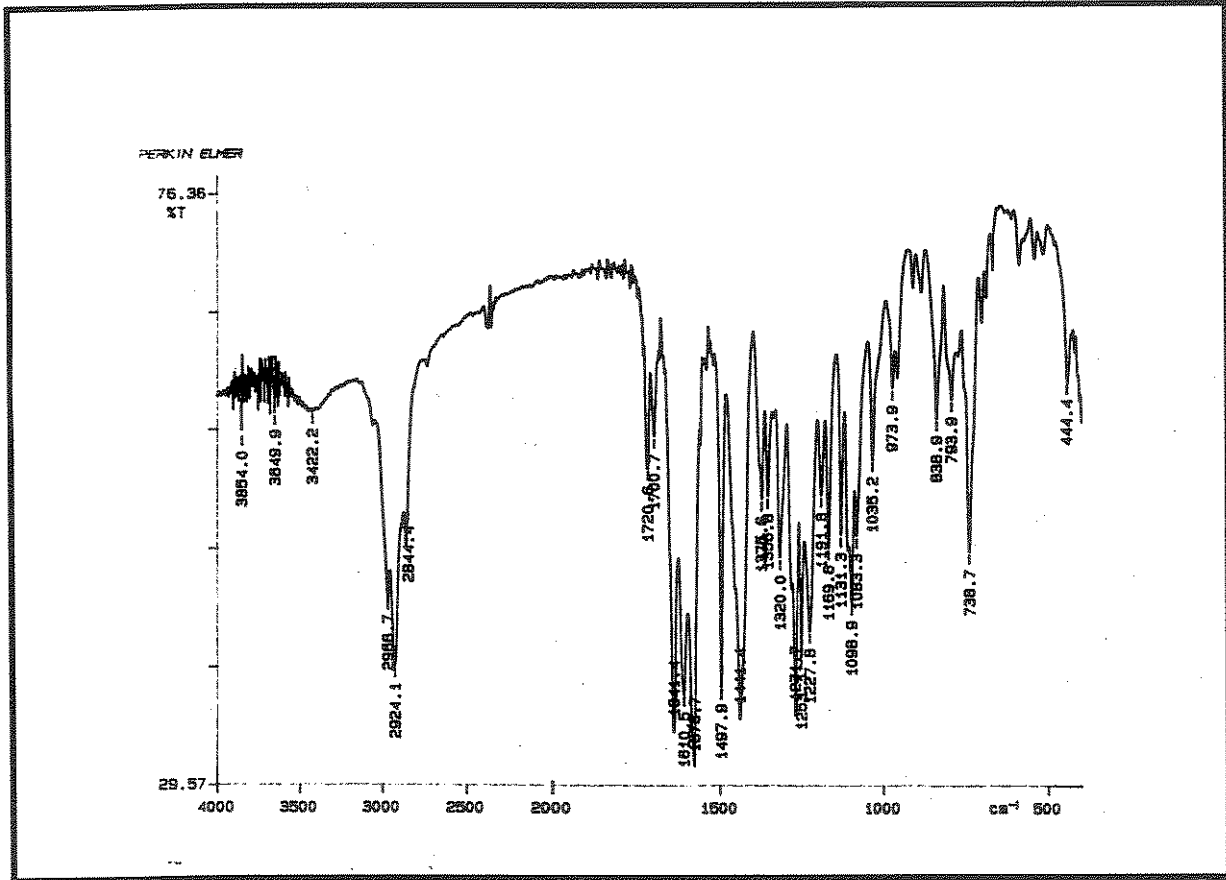


E 104 - Expansão do espectro E-102 do produto natural 27.

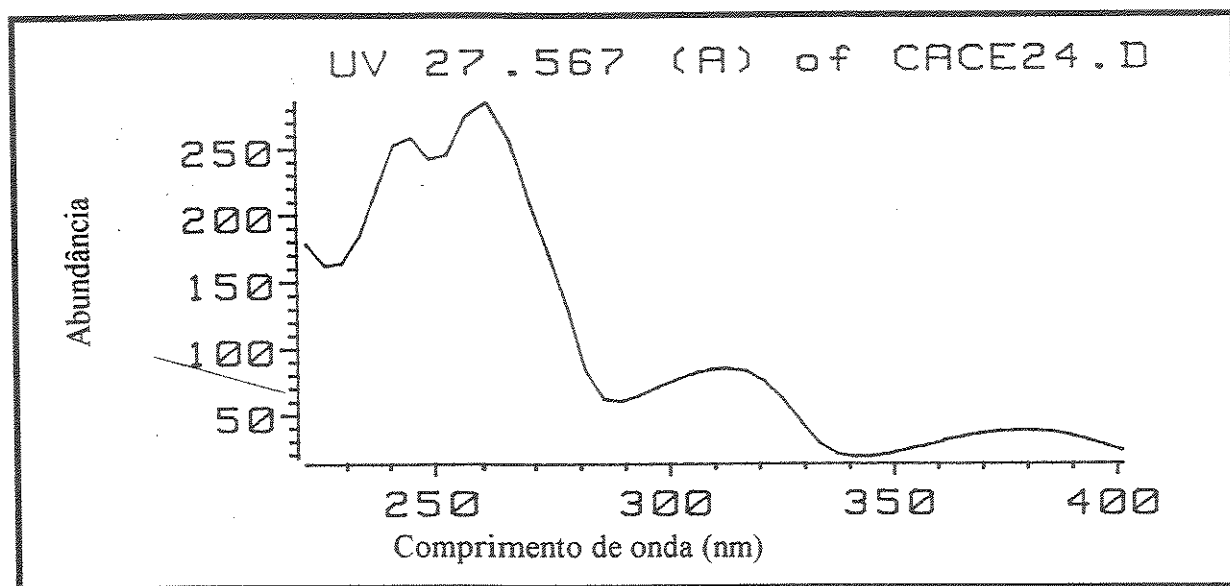




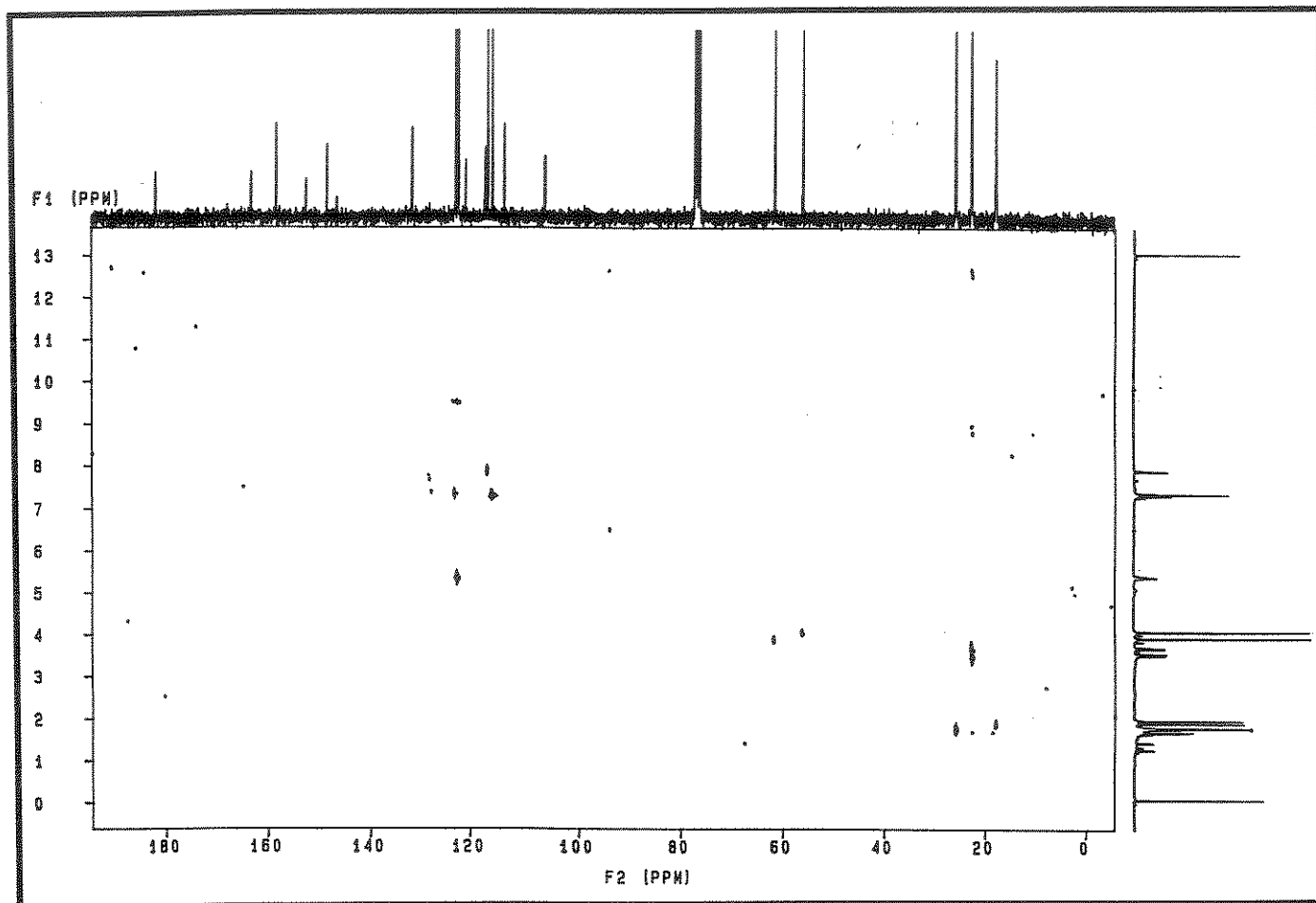
E 106 - Espectro de massas (70 eV) do produto natural 27.



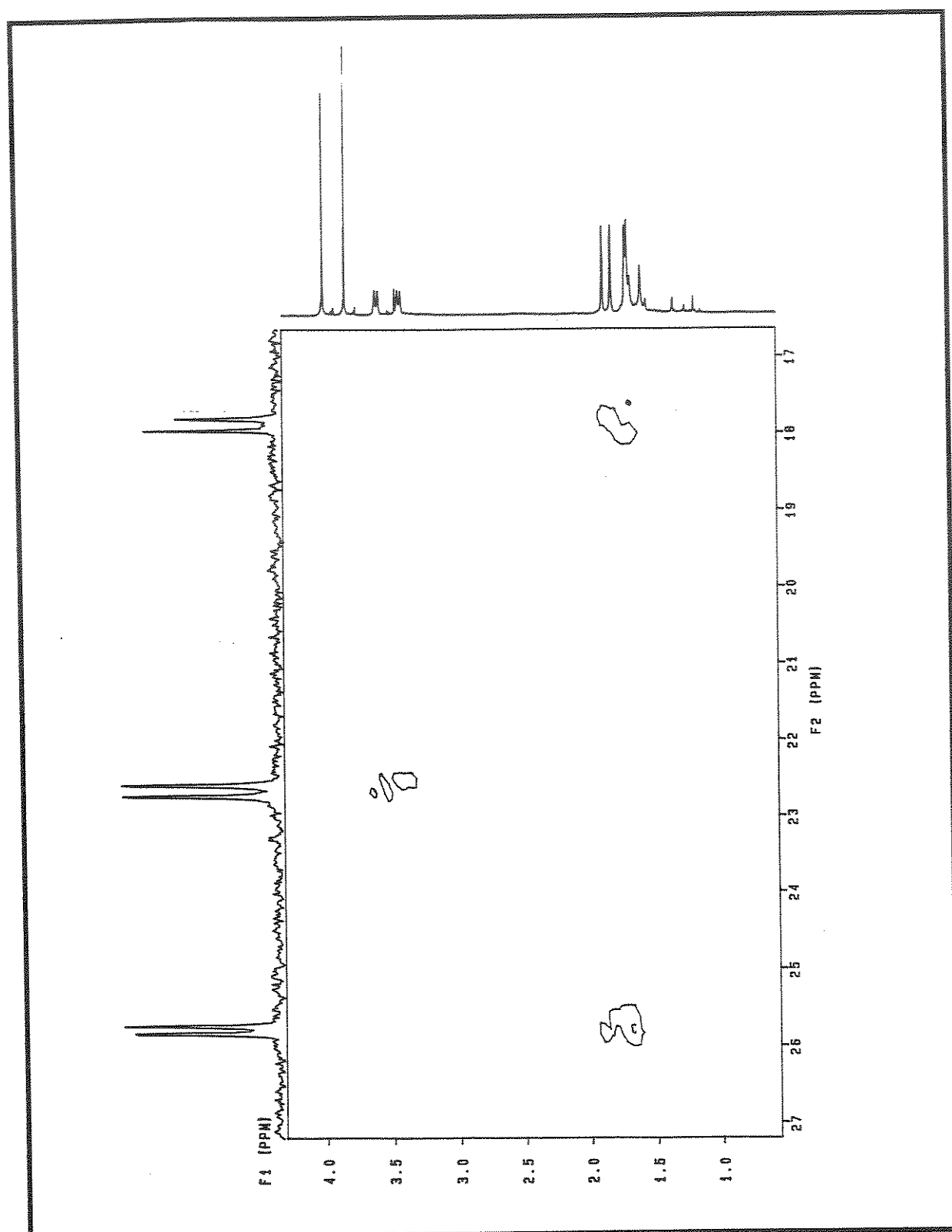
E 107 - Espectro no IV (Kbr) do produto natural 27.



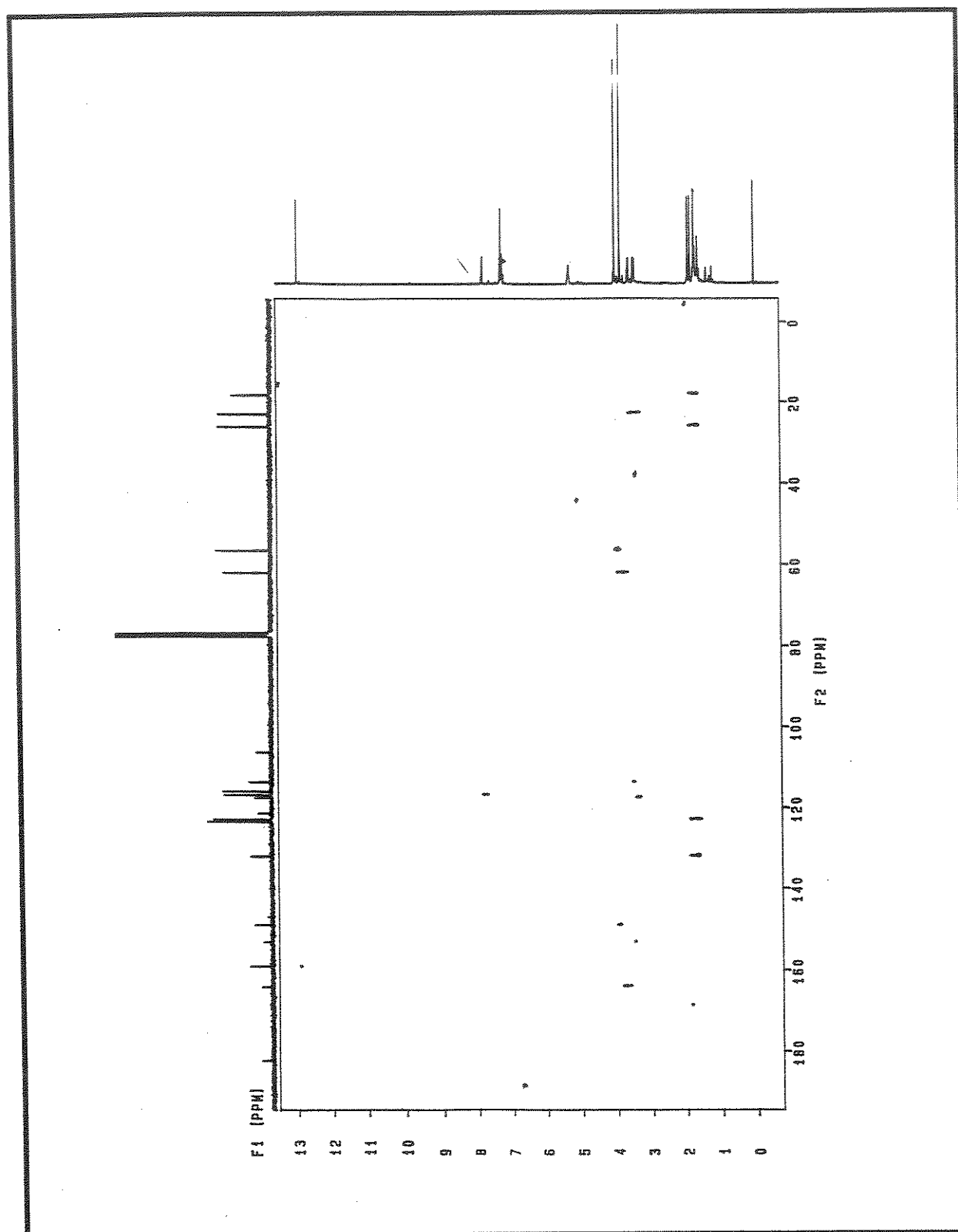
E 108 - Espectro no UV (CH_3CN) do produto natural 27.



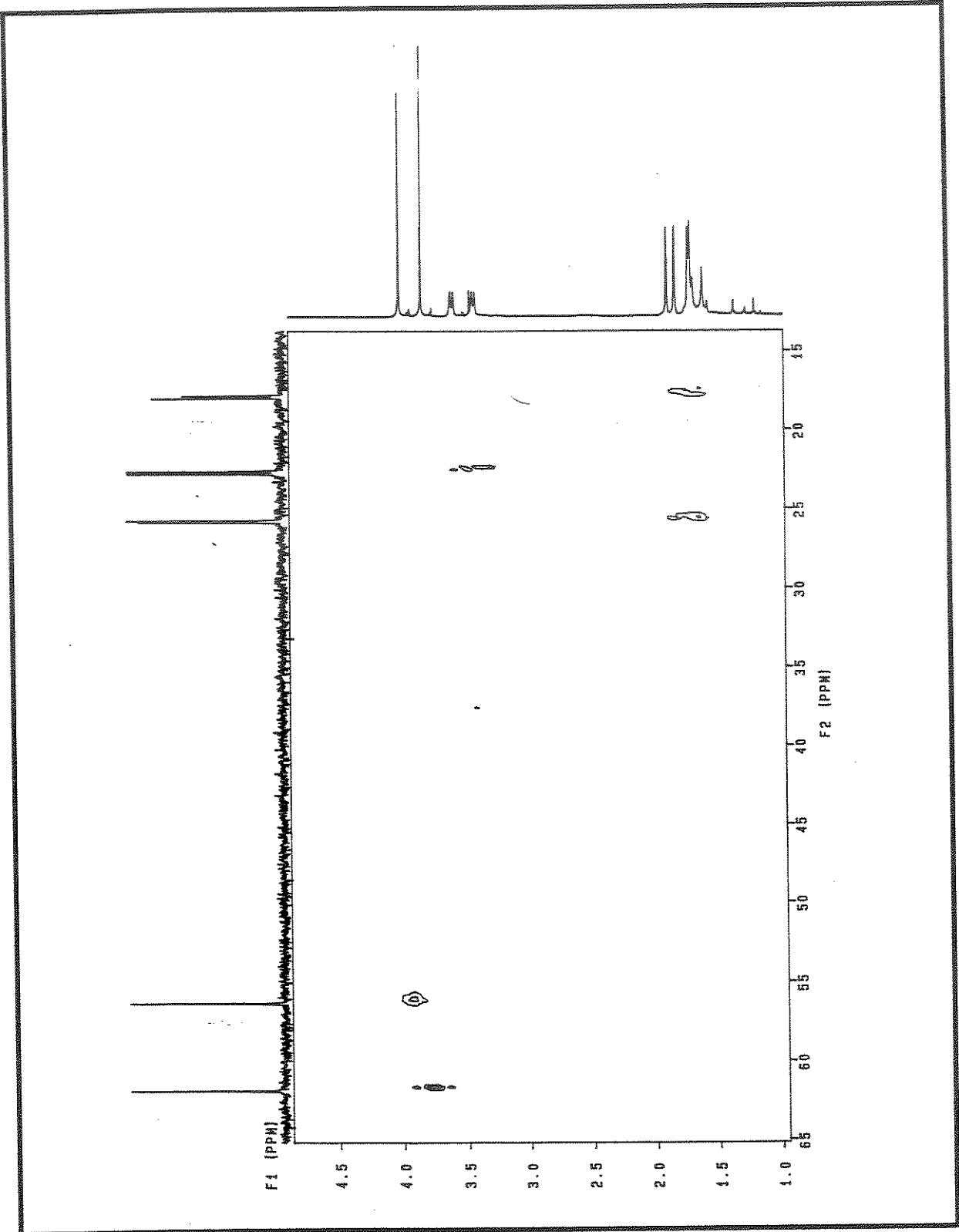
E 109 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - HETCOR) do produto natural 27.



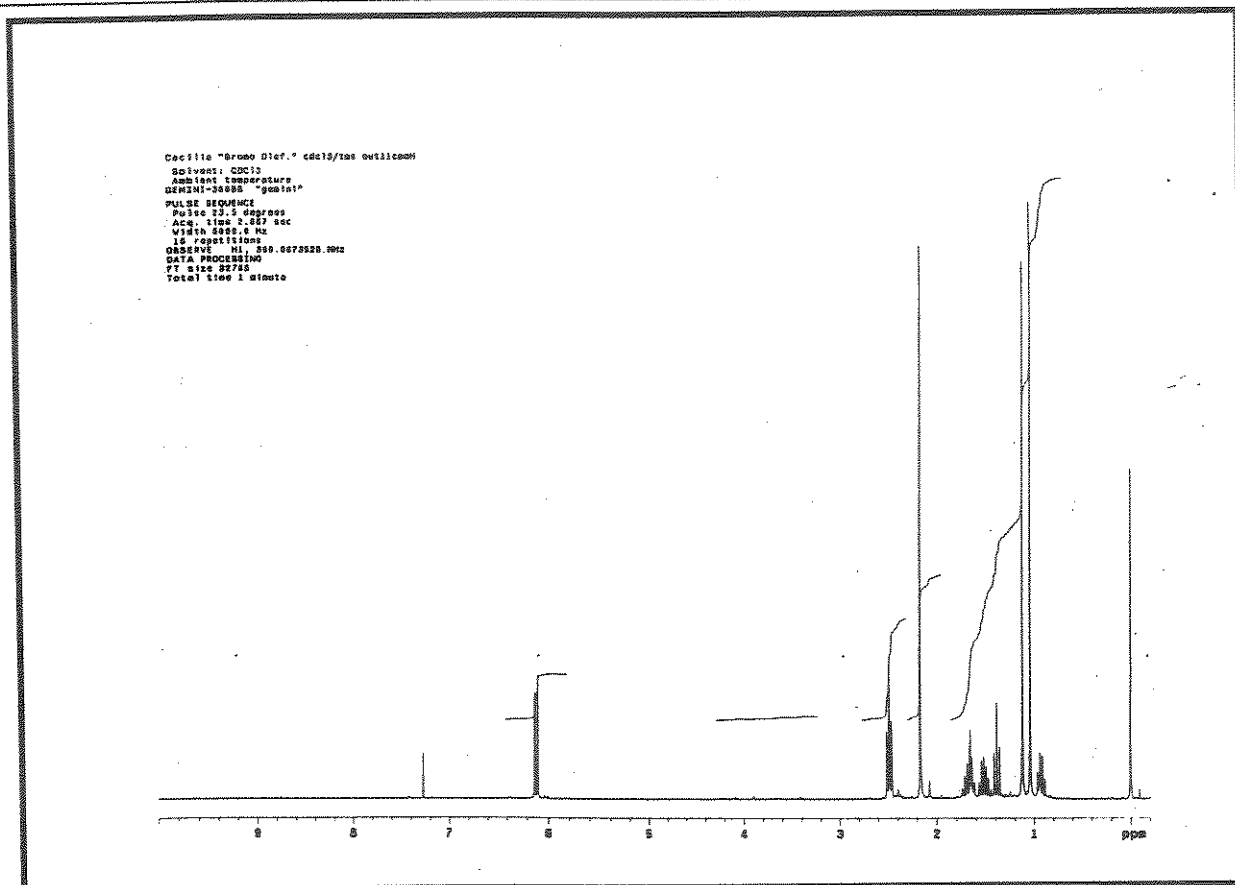
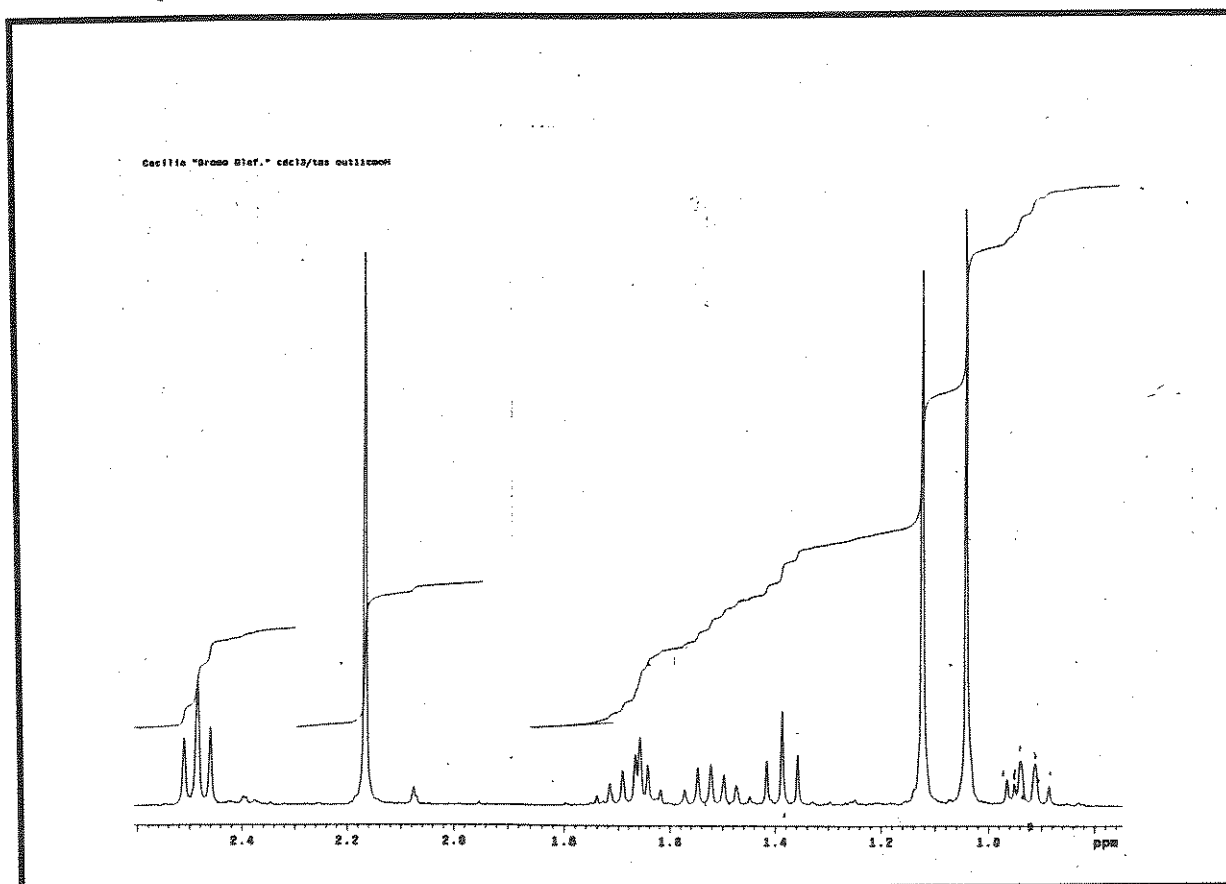
E 110 - Expansão do espectro E-109 do produto natural 27.

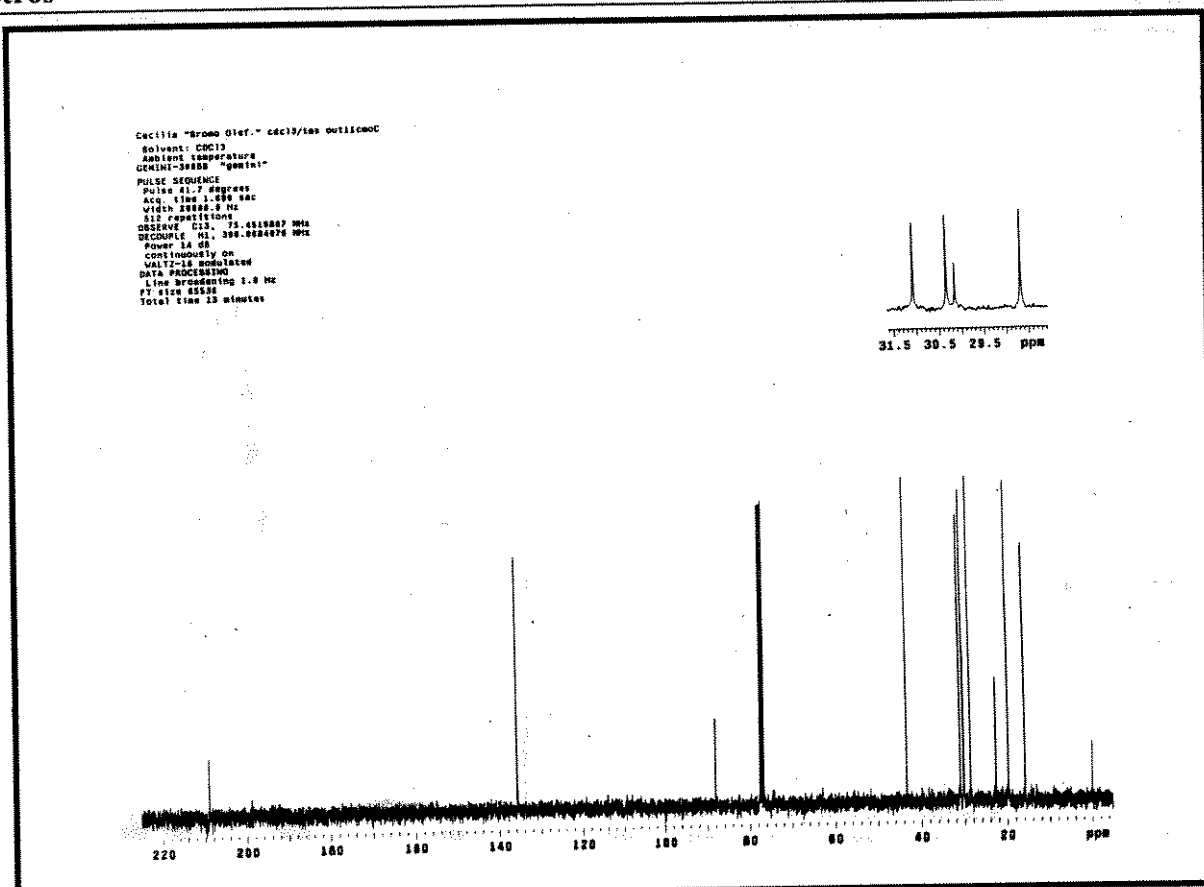
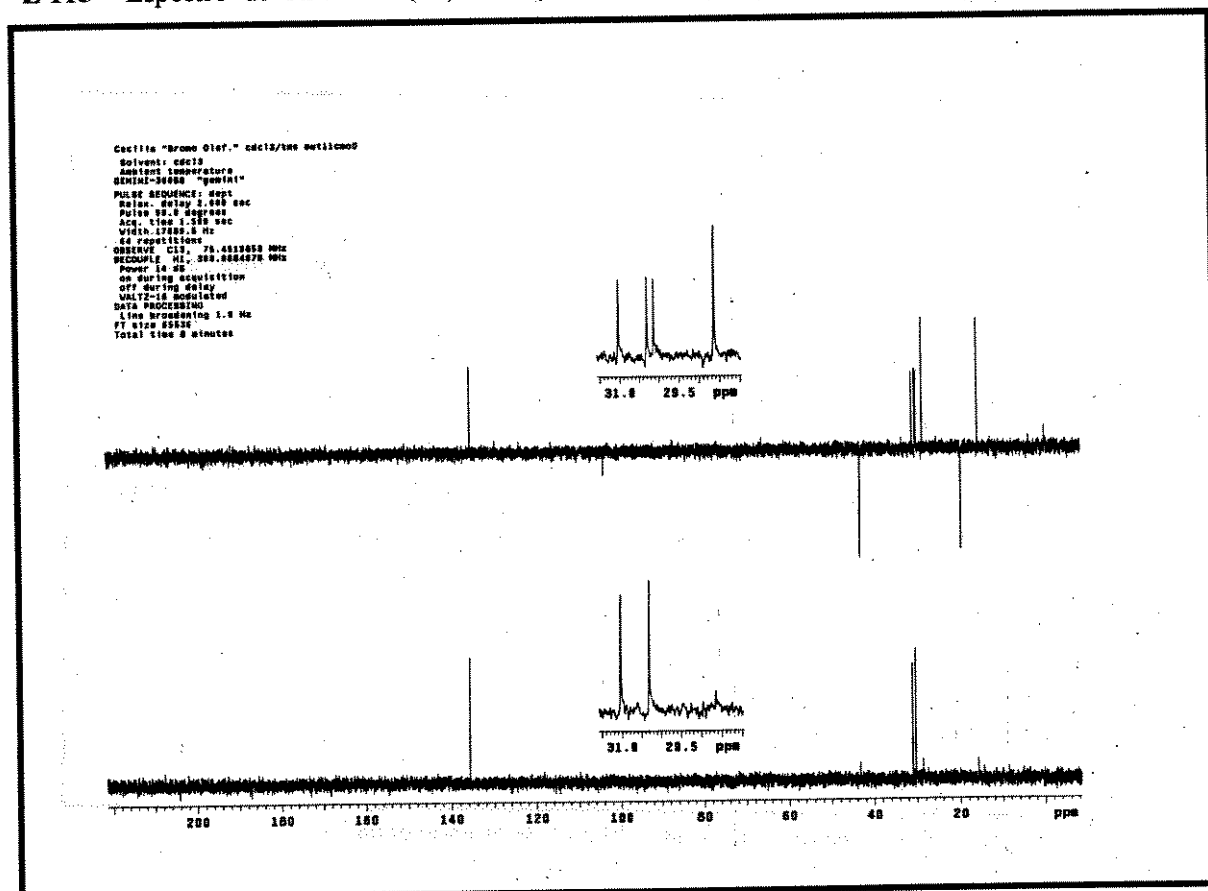


E 111 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C - COLOC) do produto natural 27.

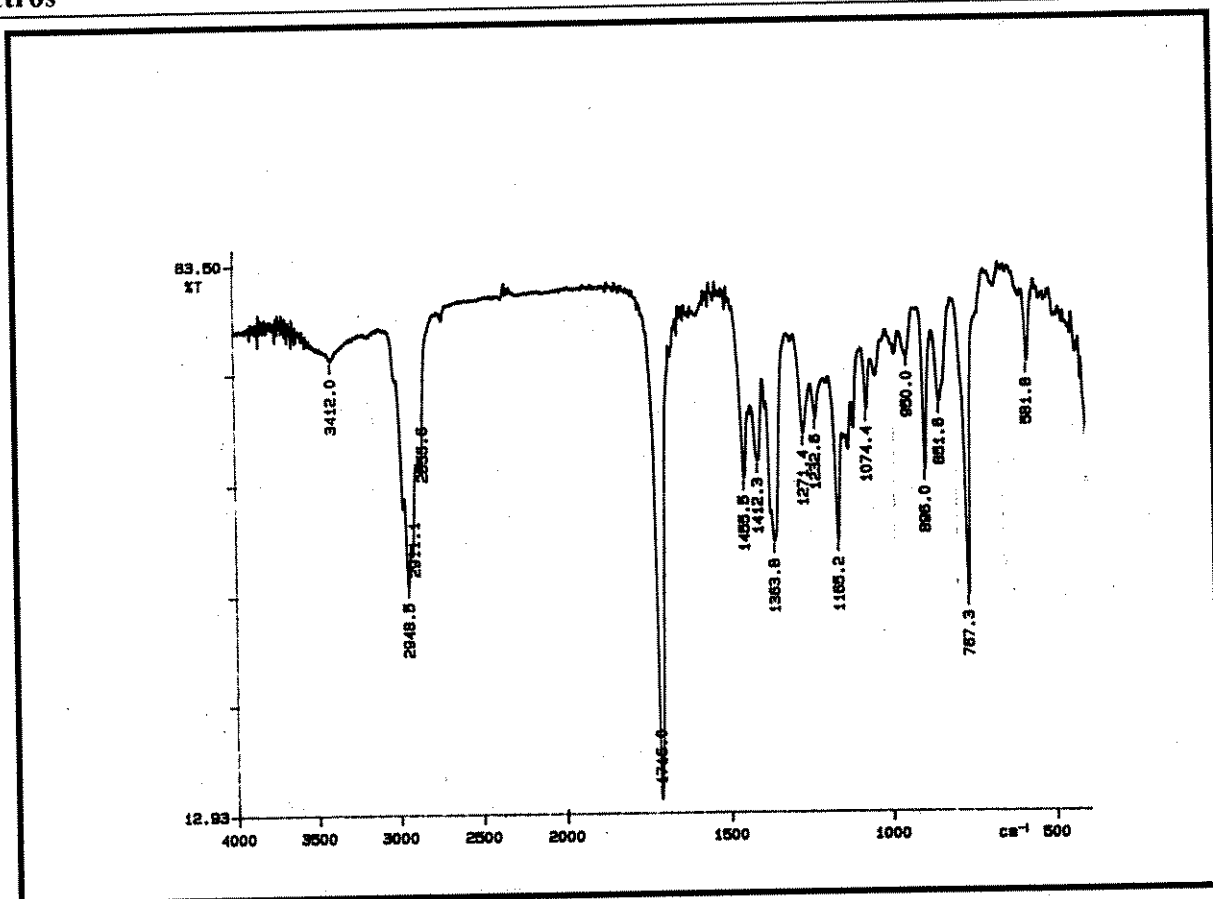


E 112 - Expansão do espectro E-111 do produto natural 27.

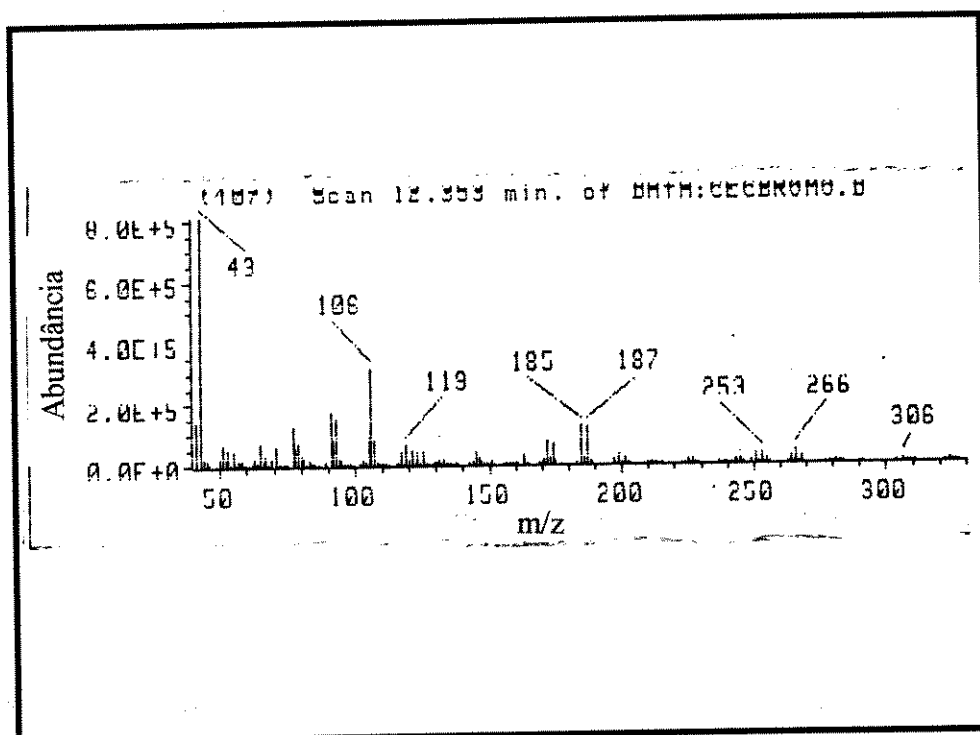
E 113 - Espectro de RMN¹ H (300 MHz, CDCl₃/TMS) da bromoolefina 46E 114 - Expansão do espectro E-109 (δ 2,6 - 0) da bromoolefina 46

E 115 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) da bromoolefina 46

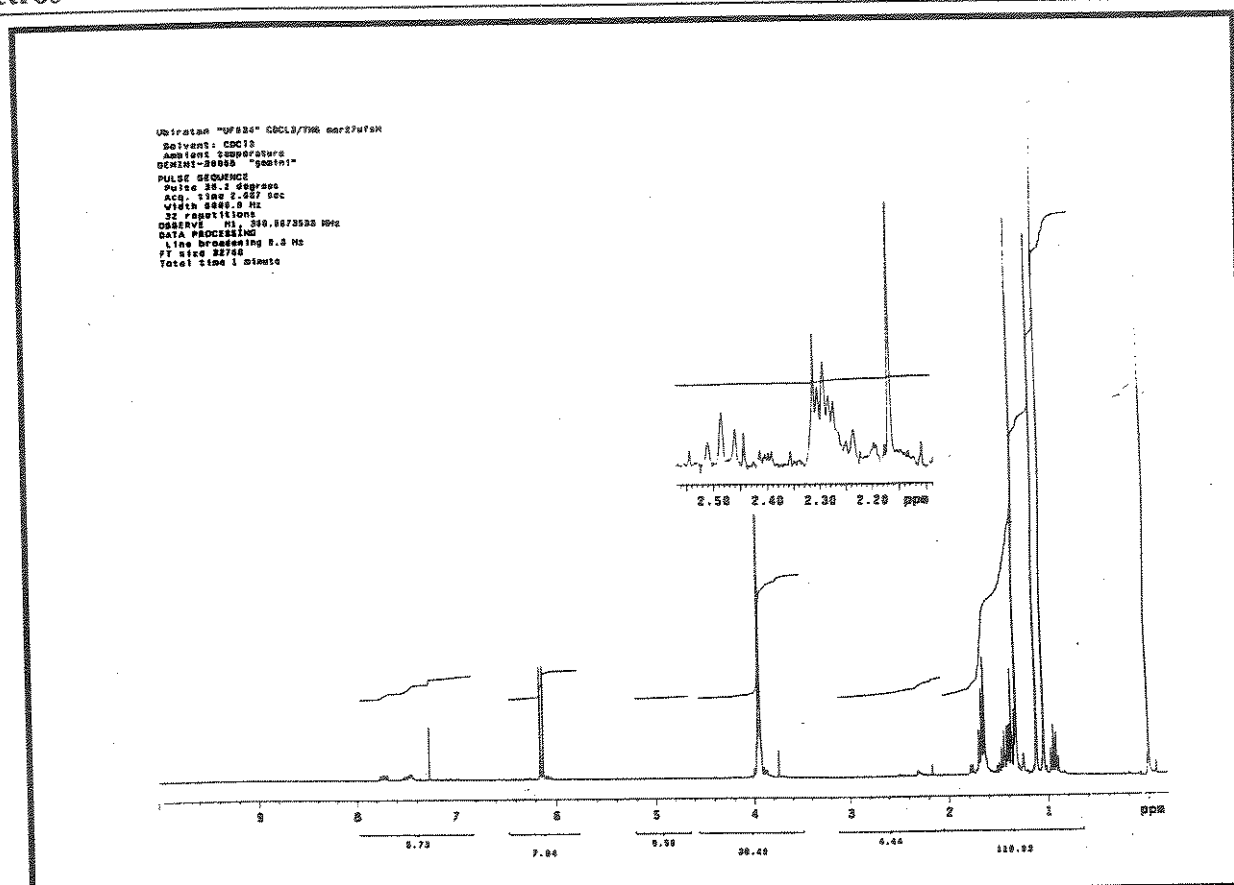
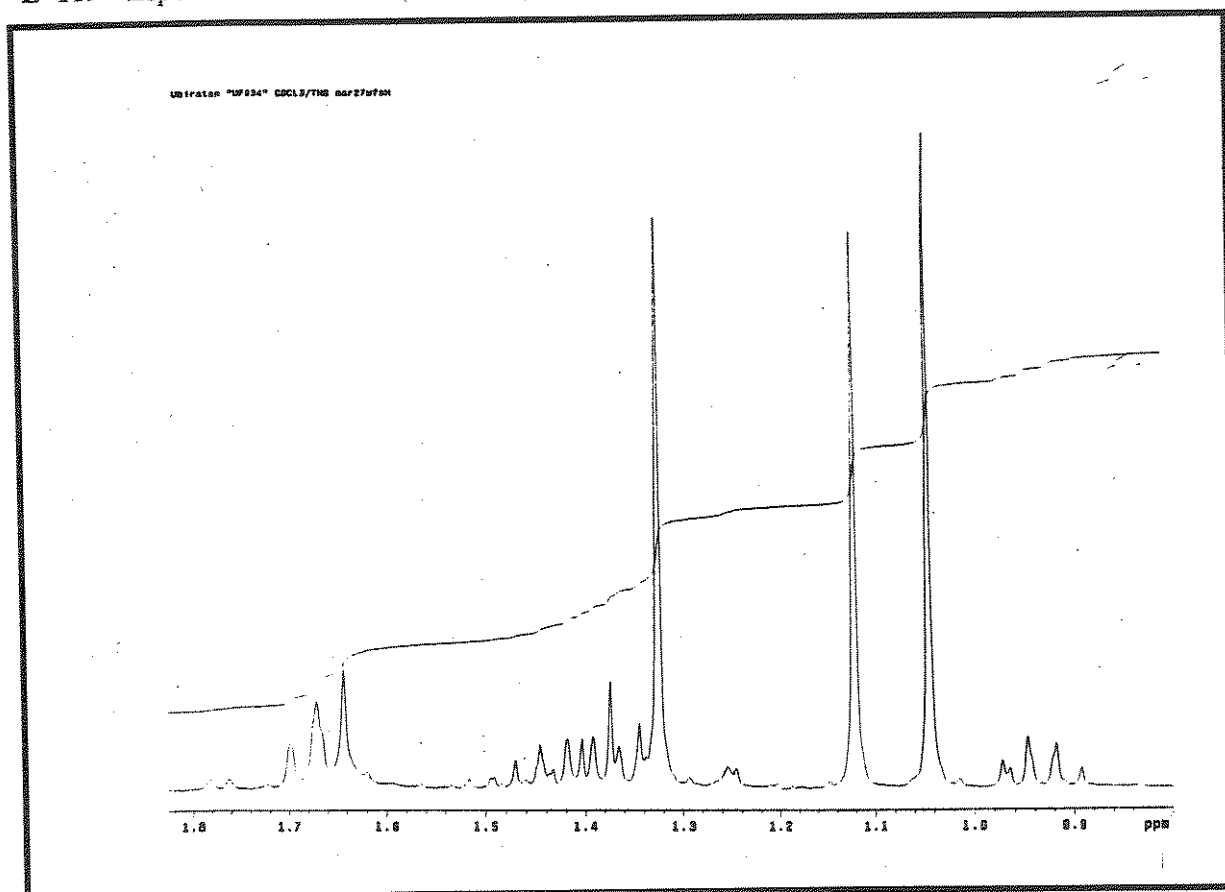
E 116 - Espectro DEPT (130° e 90°) da bromoolefina 46



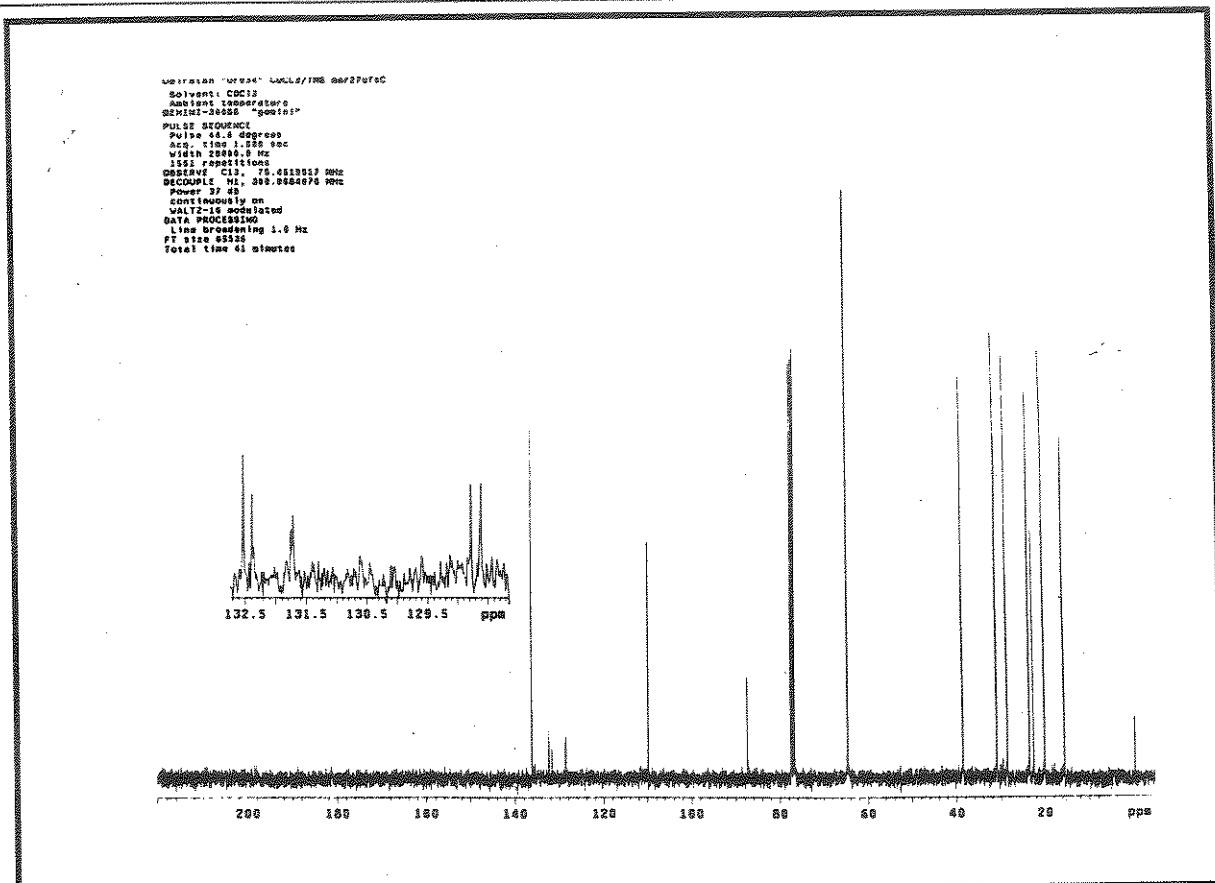
E 117 - Espectro de IV (filme) da bromoolefina : 46



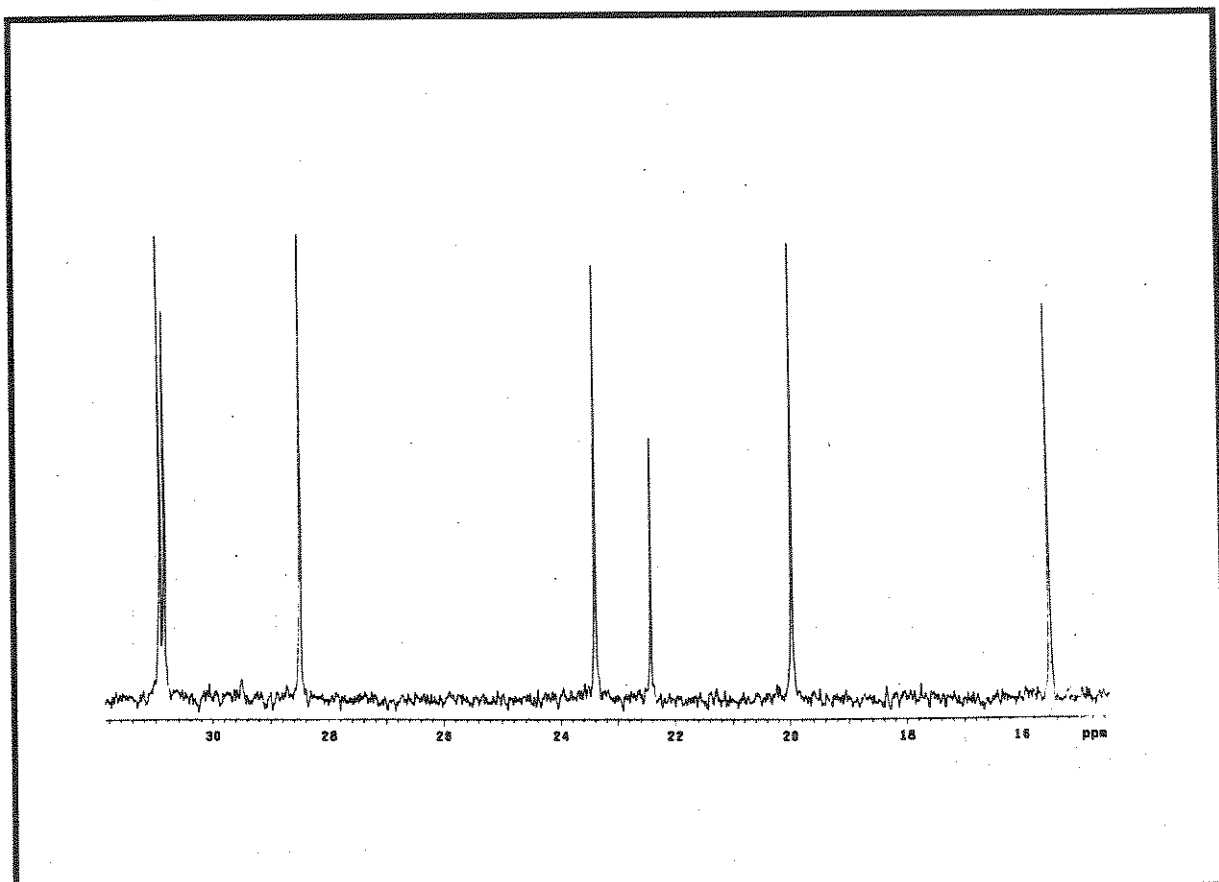
E 118 - Espectro de massas (70 eV) da bromoolefina 46

E 119 - Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) da bromoolefina 46a

E 120 - Expansão do espectro E-119 (1,9 - 0) da bromoolefina 46a

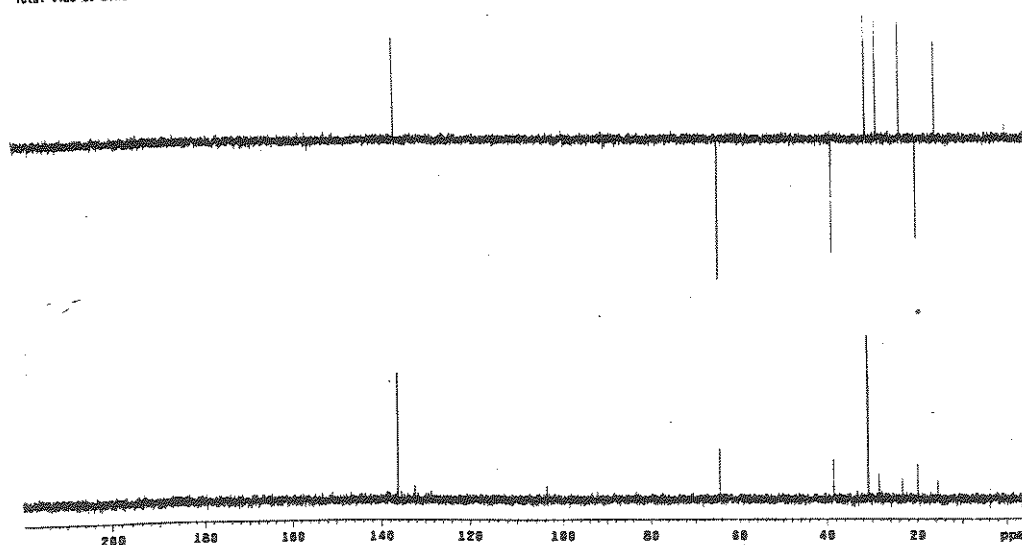


E 121 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) da bromoolefina 46a

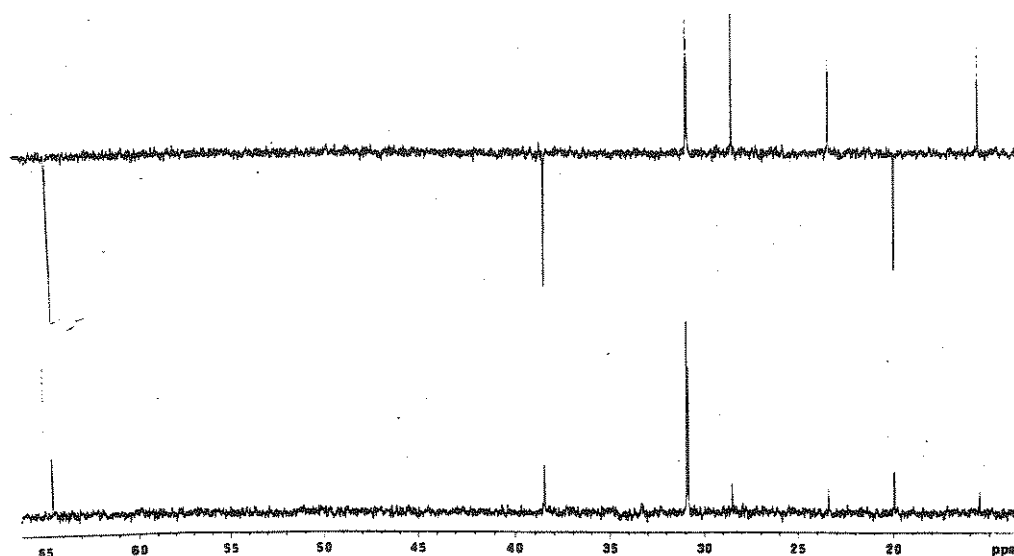


E 122 - Expansão do espectro E-121 (32 - 15) da bromoolefina 46a

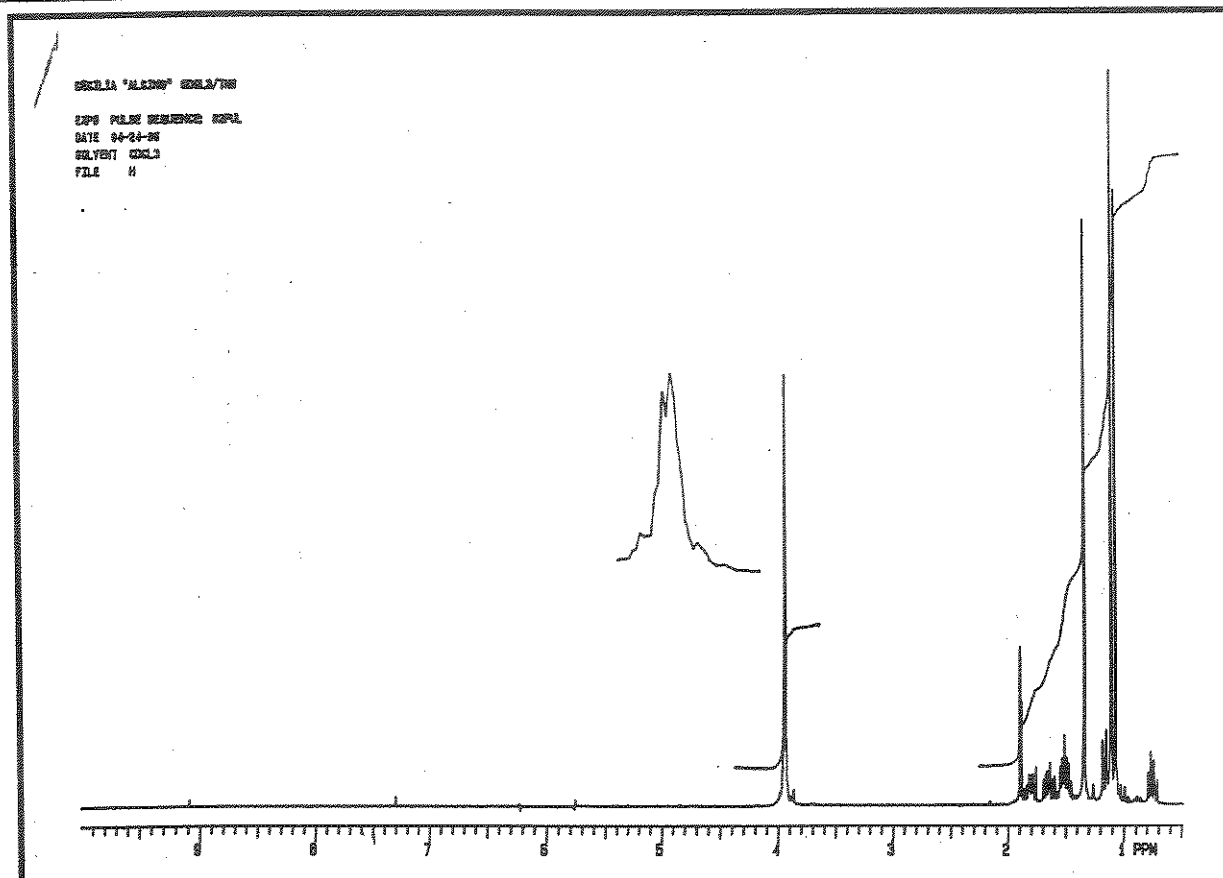
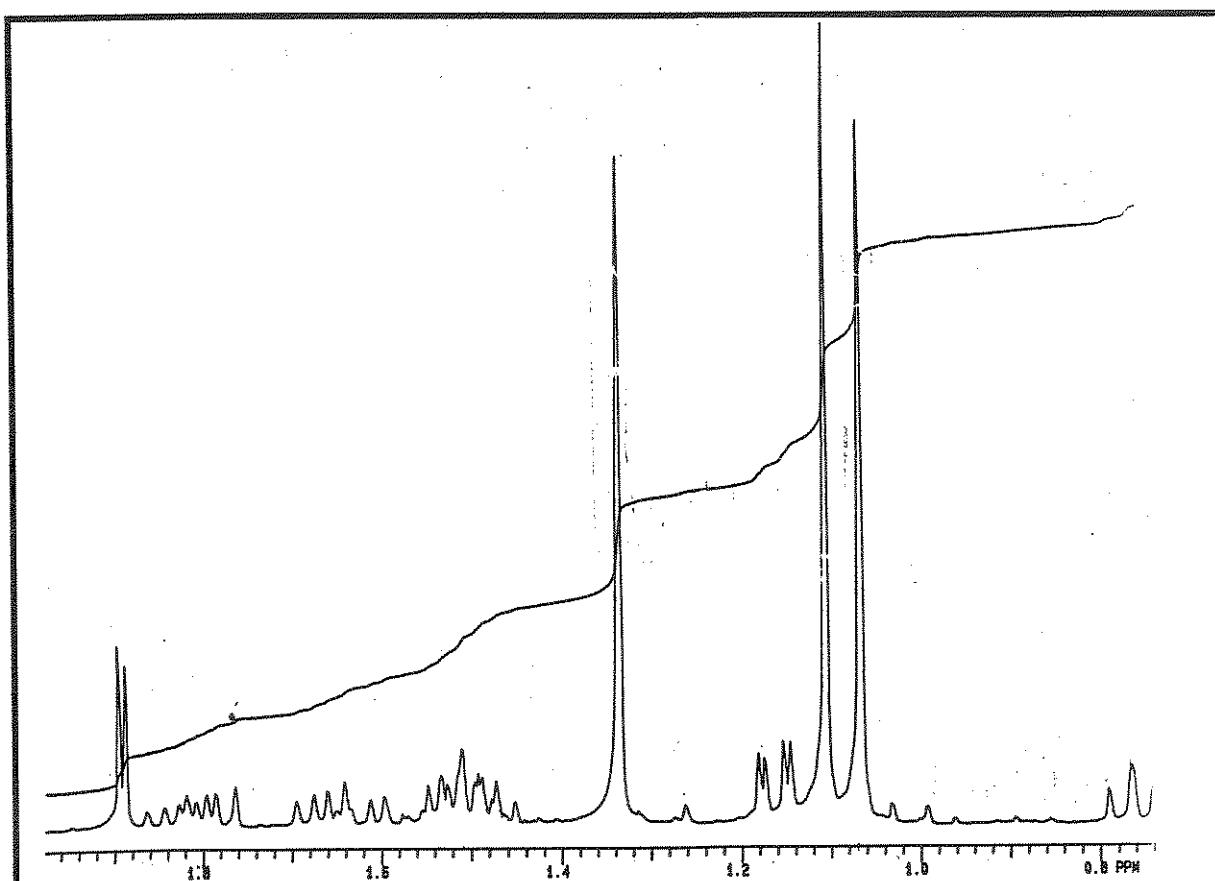
Solvent: d₂O
Ambient temperature
QNP1H-20000 "pentam"
Pulse sequence: zgpg30
Solen delay 1.500 sec
Pulse 90.0 degrees
Acc. time 1.010 sec
Width 20000.0 Hz
140 repetitions
OBSERVE F2: 75.4818000 MHz
DECOUPLE H1: 200.9084070 MHz
Power 37.05
on during acquisition
off during delay
VATZ-18 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 65536
Total time 30 minutes



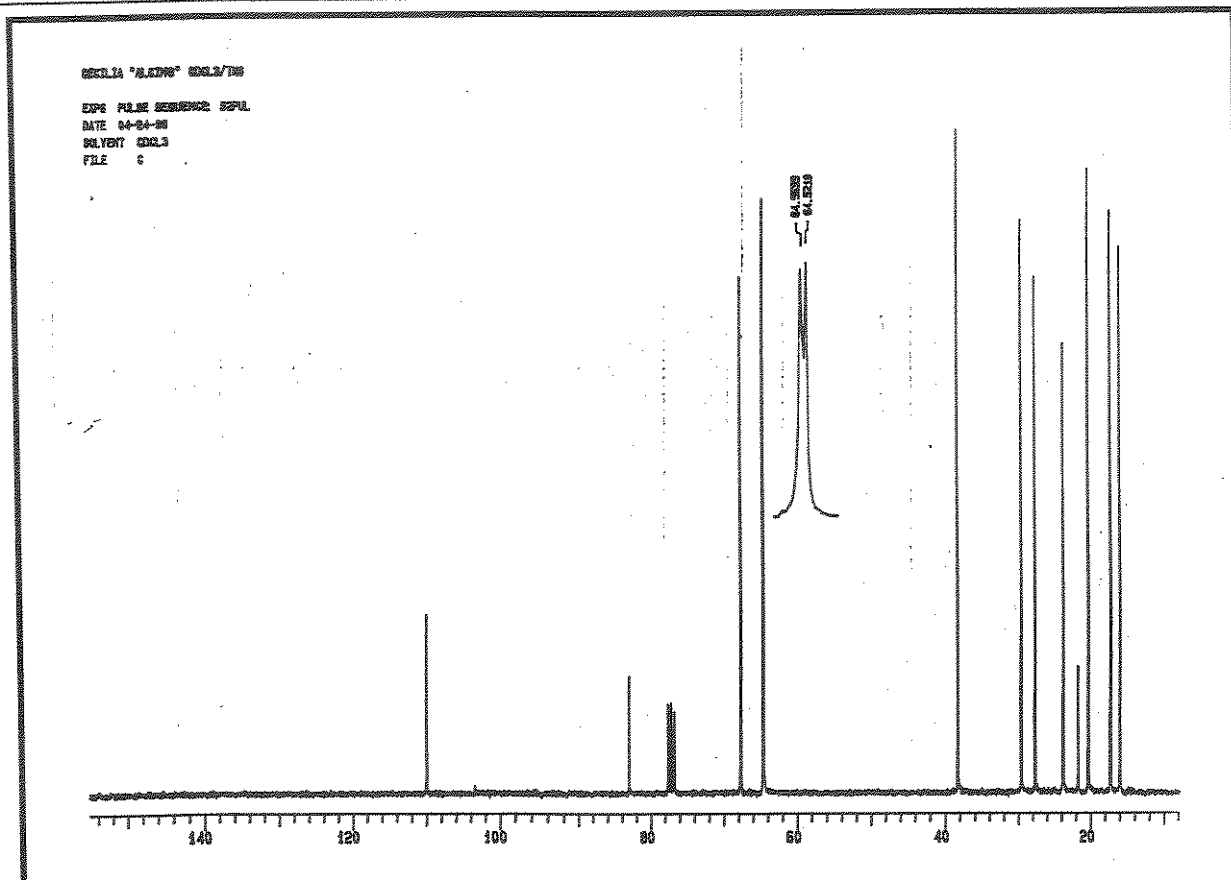
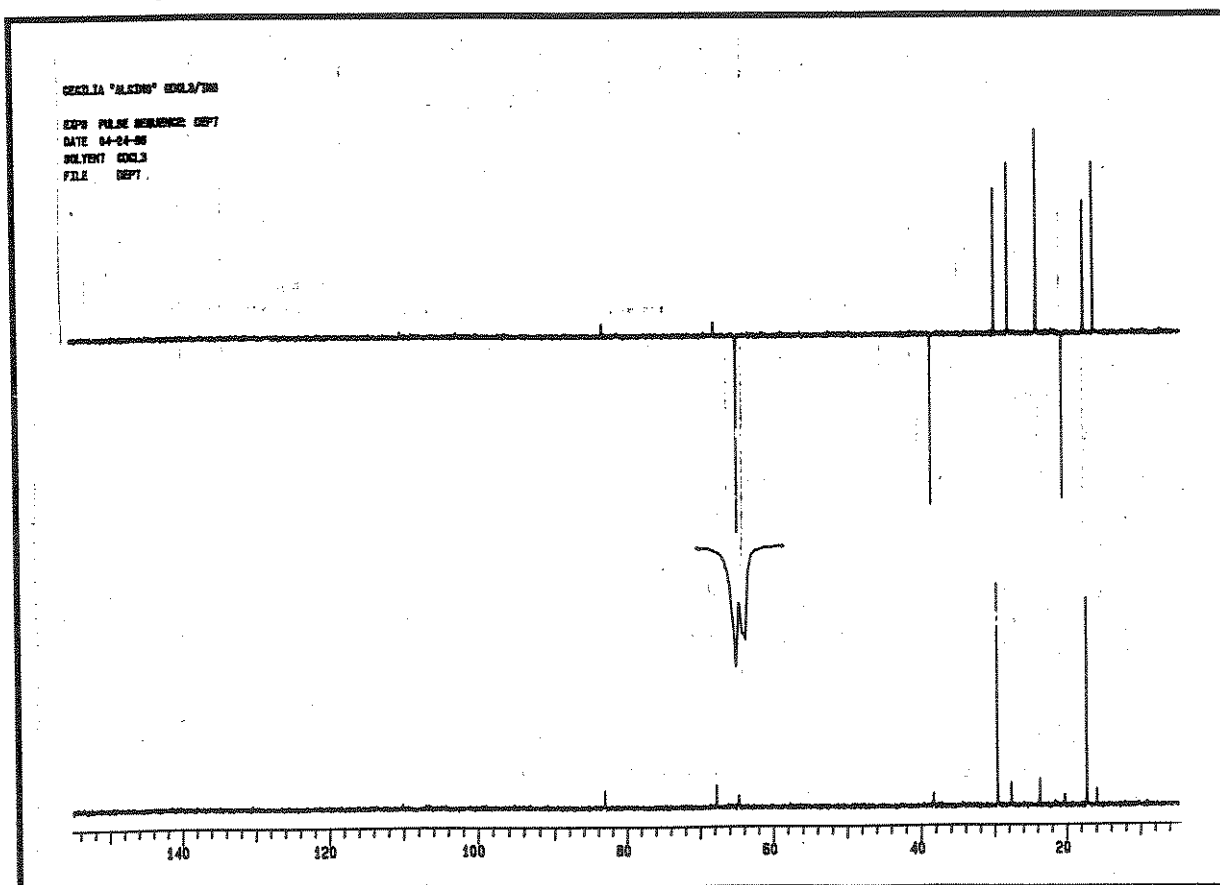
E 123 - Espectro DEPT (135° e 90°) da bromoolefina 46a

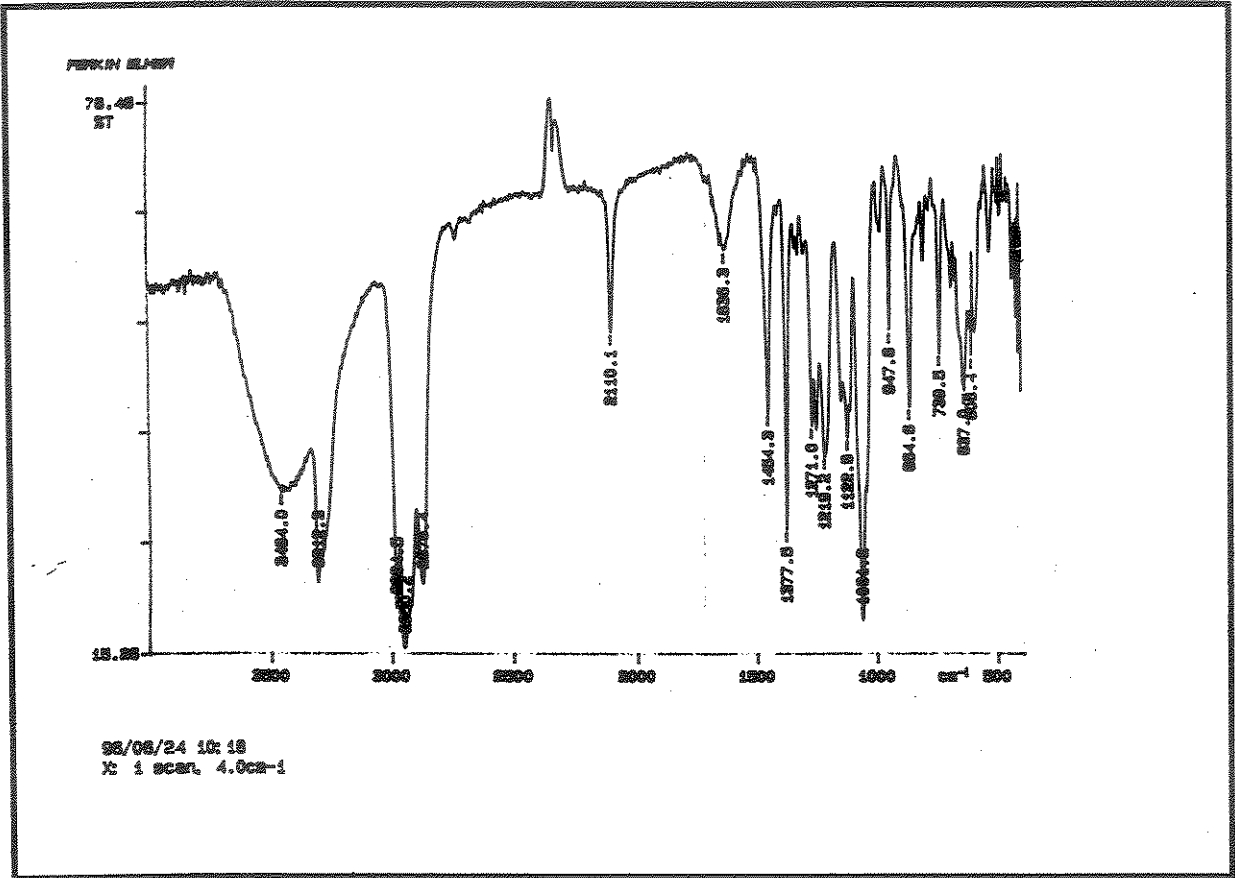


E 124 - Expansão do espectro E-123 (65 - 15) da bromoolefina 46a

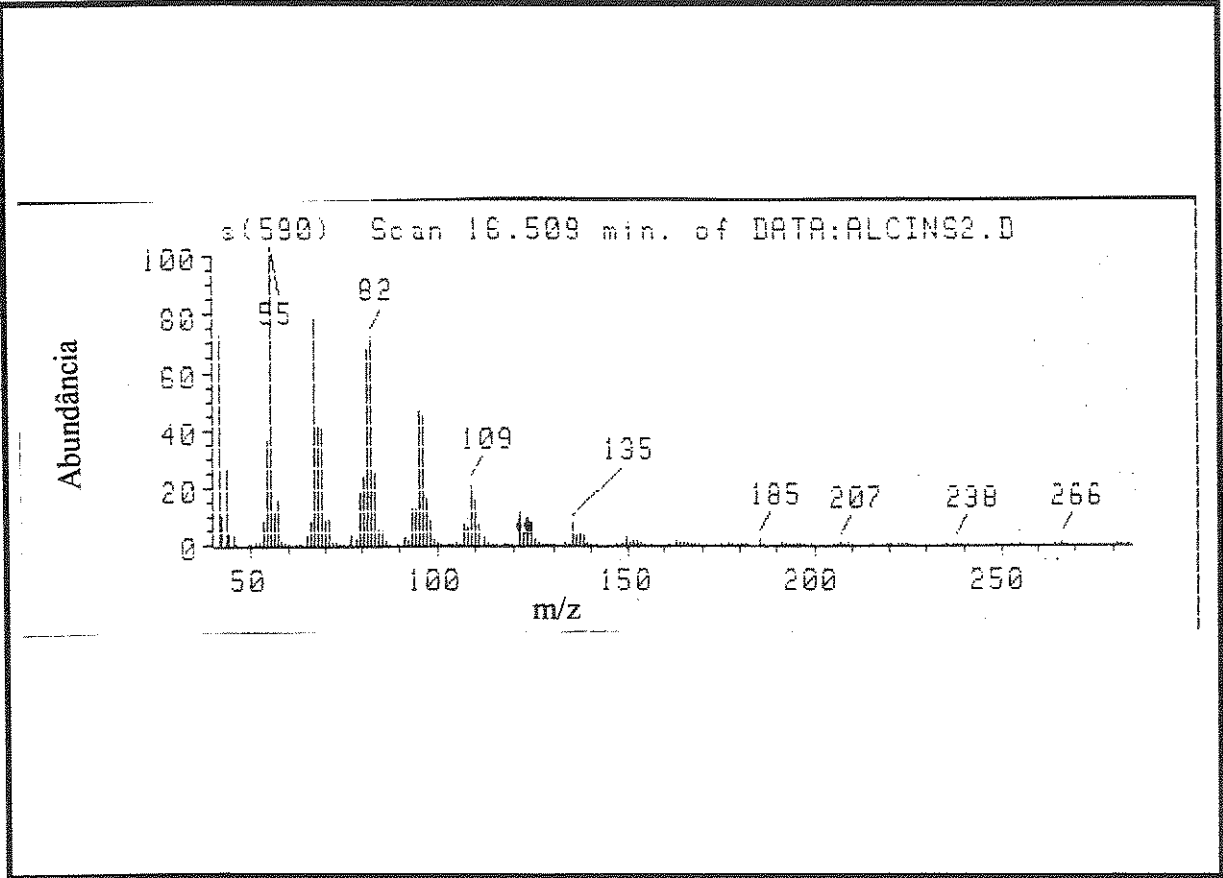
E 125 - Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do alcino 40a

E 126 - Expansão do espectro E-125 (2,0 - 0,7) do alcino 40a

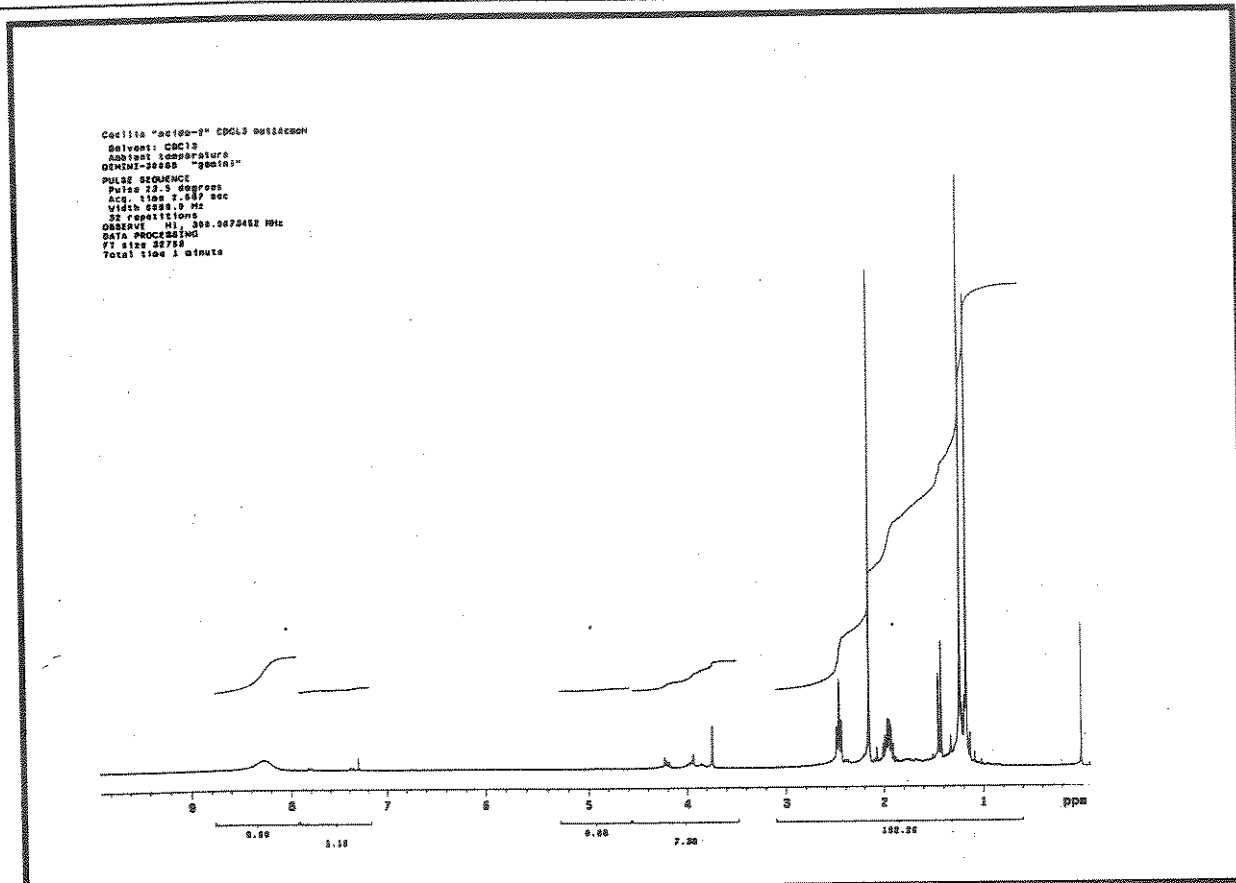
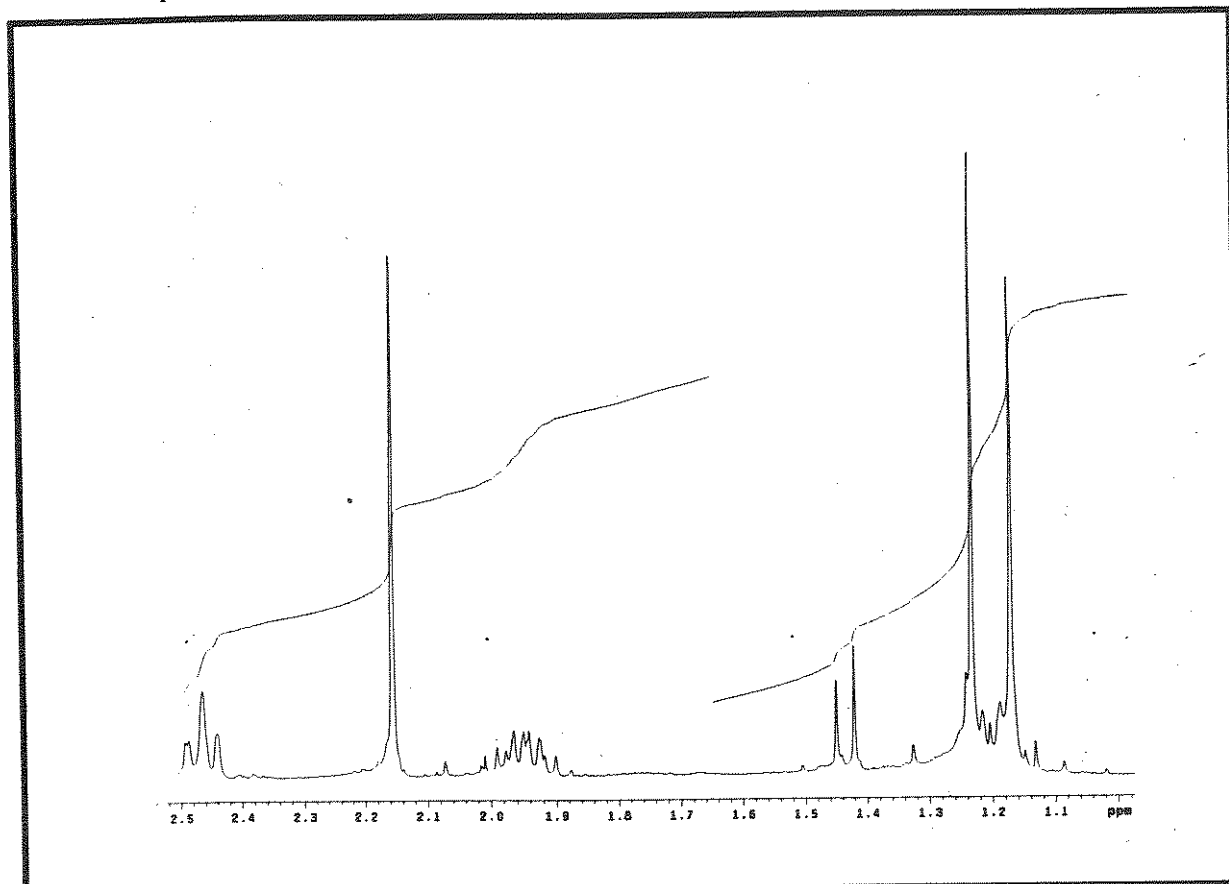
E 127 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do alcino 40aE 128 - Espectro DEPT (135° e 90°) do alcino 40a



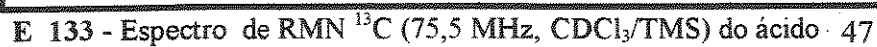
E 129 - Espectro no IV (filme) do alcino 40a

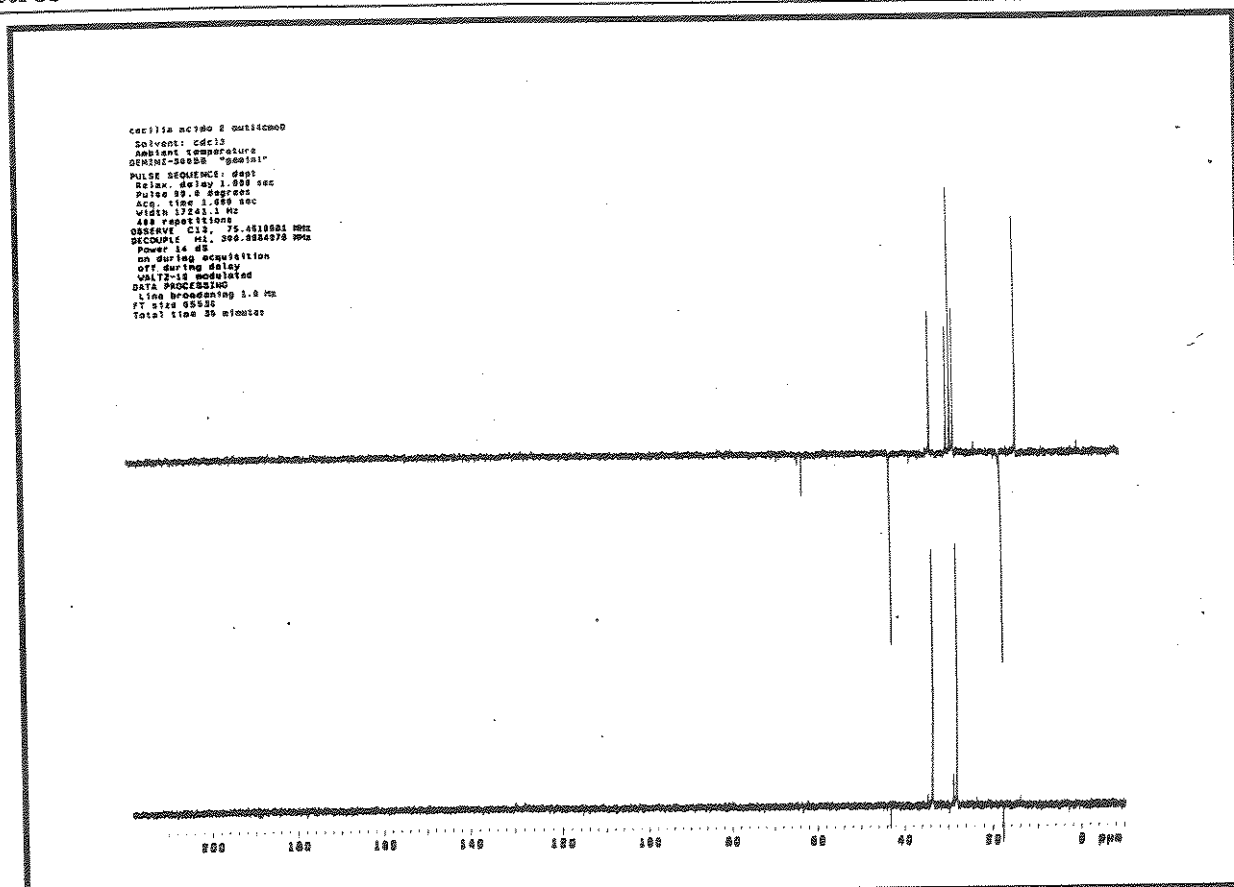


E 130 - Espectro de massas (70 eV) do alcino 40a

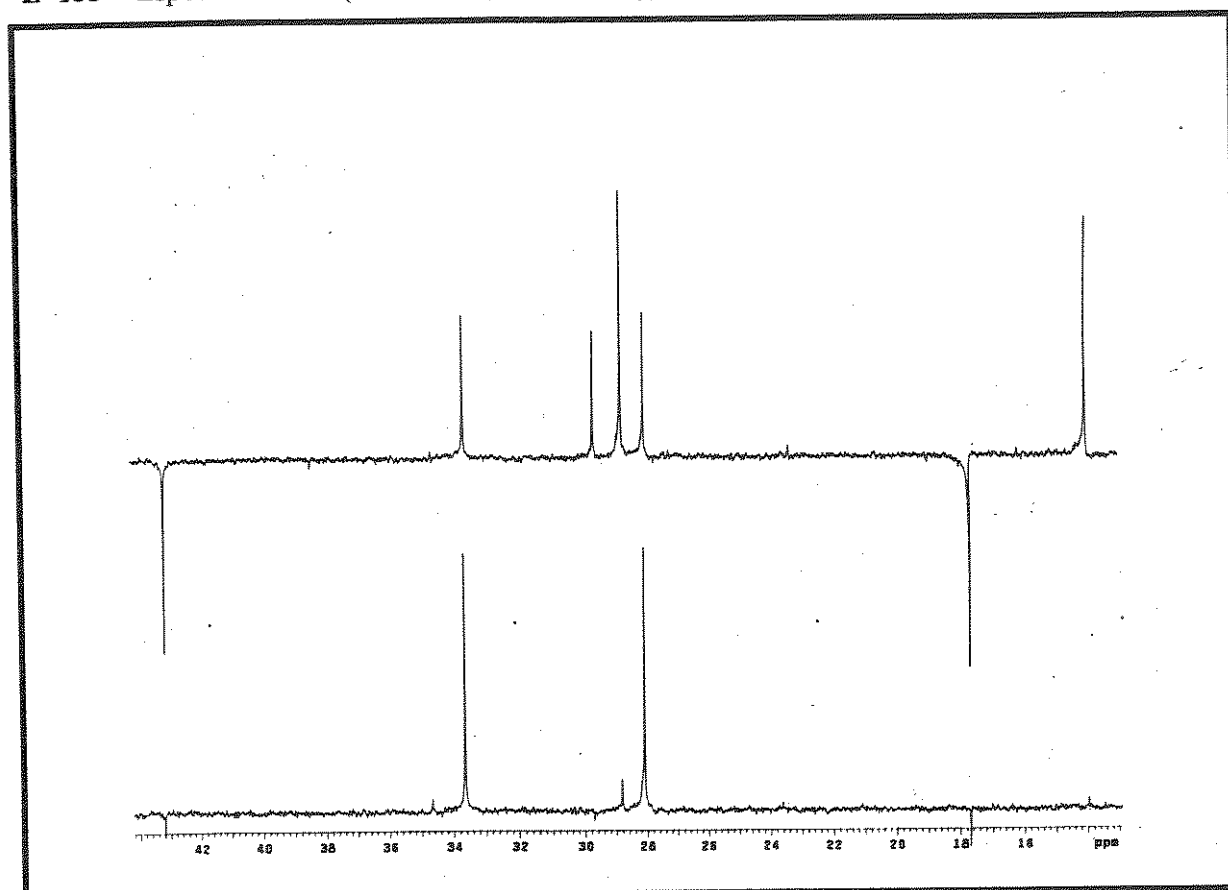
E 131 - Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) do ácido 47

E 132 - Expansão do espectro E-131 (2,0 - 0) do ácido 47

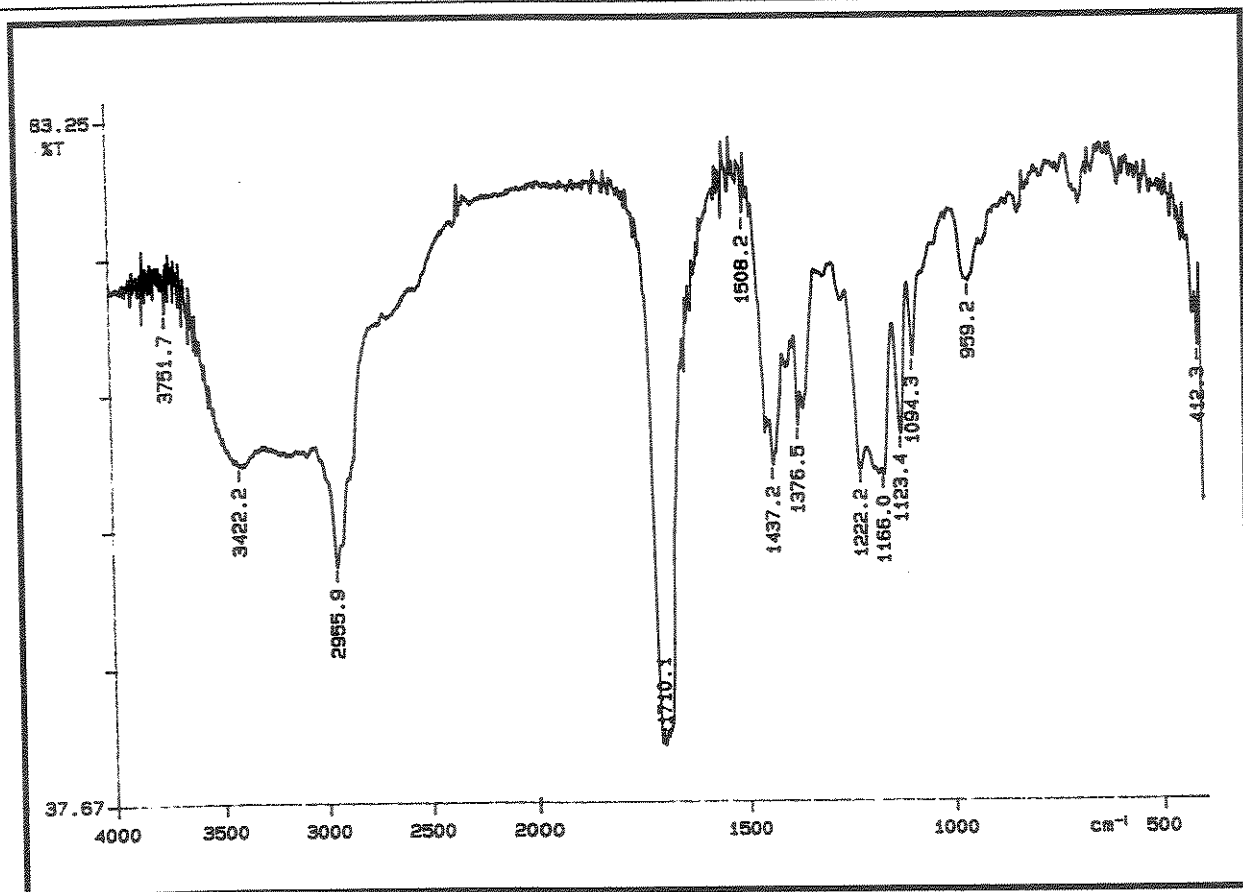




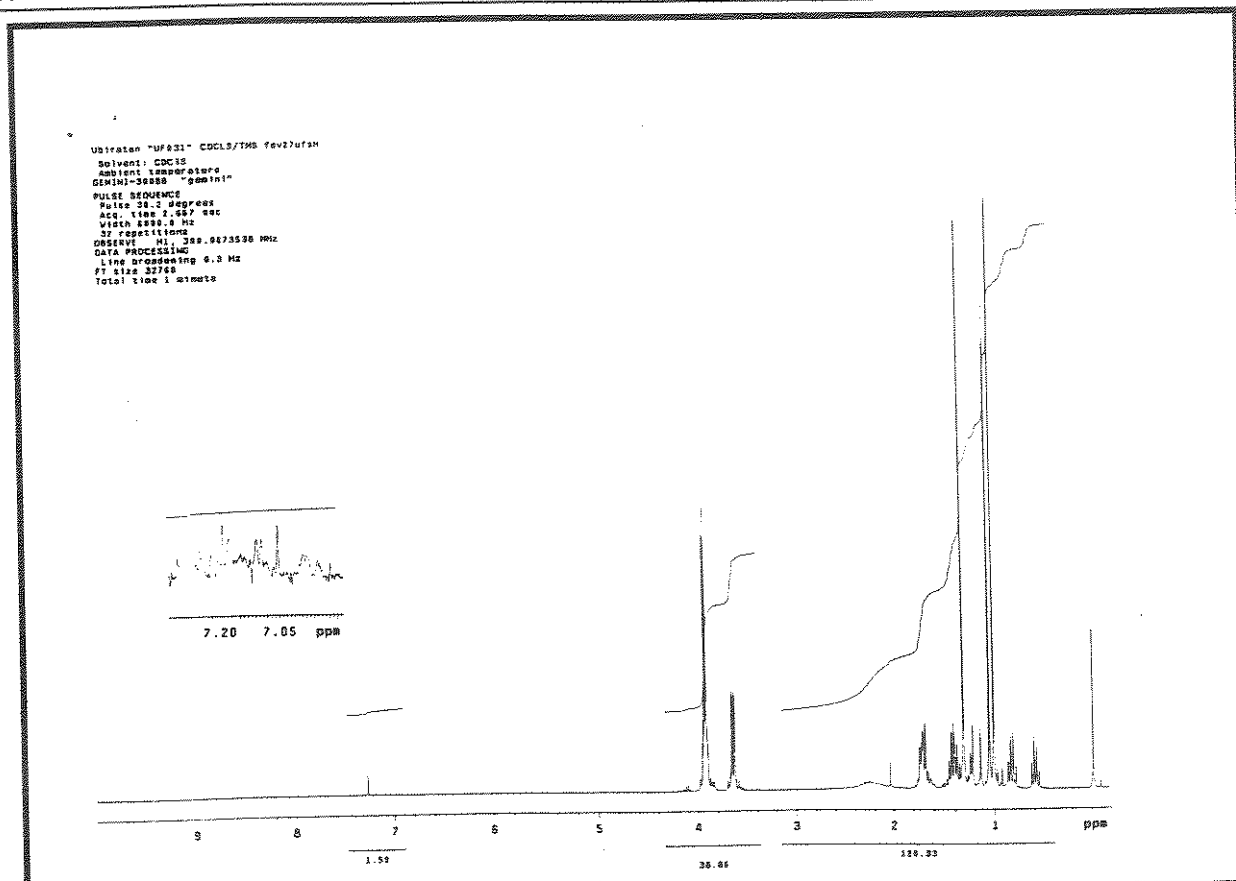
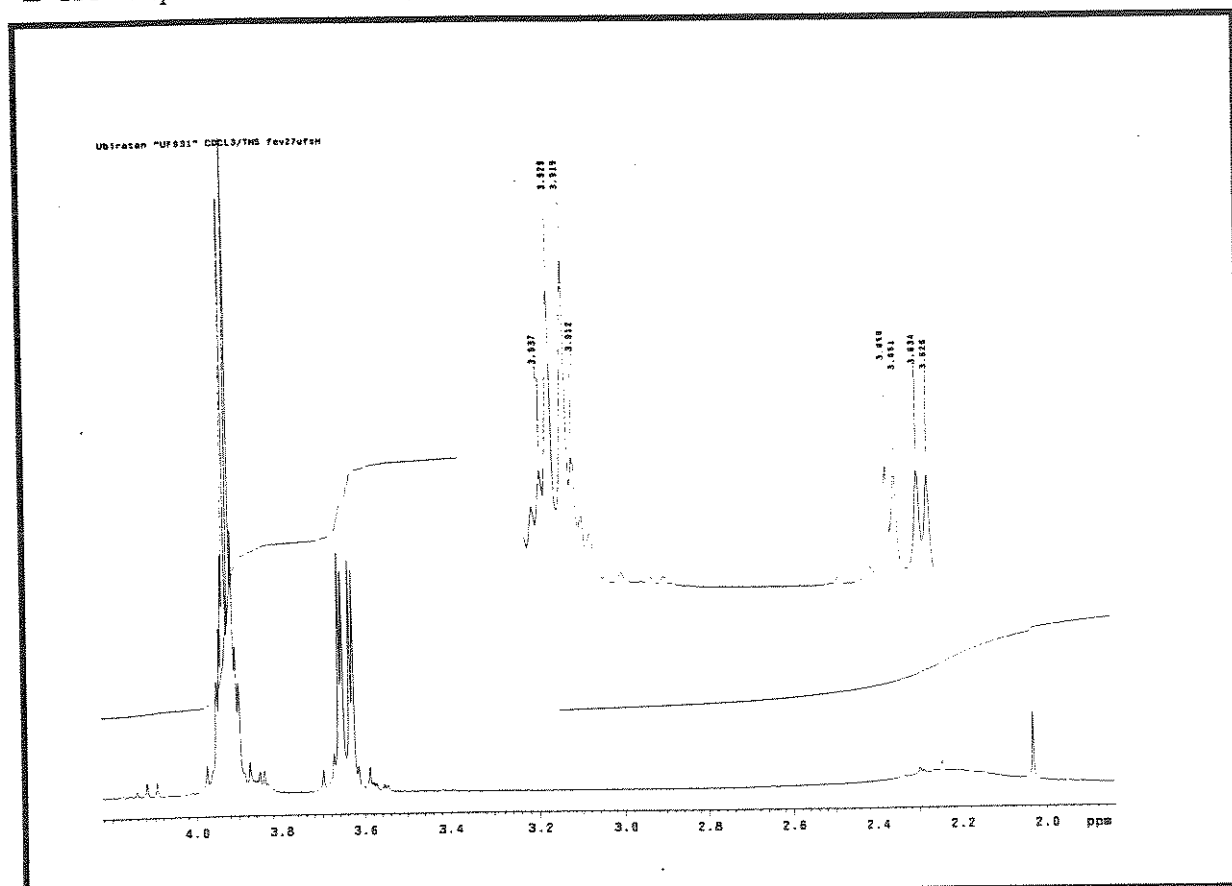
E 135 - Espectro DEPT (135° e 90°) do ácido 47



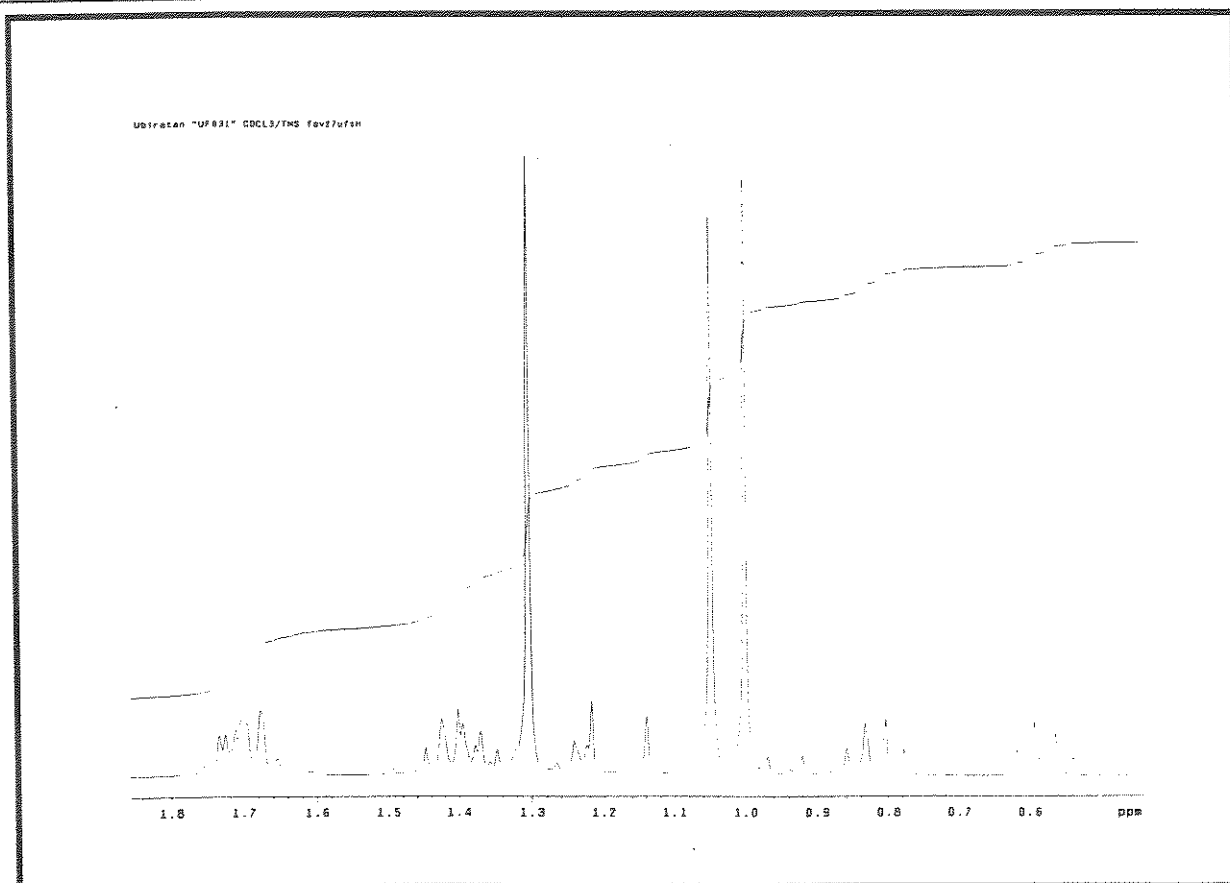
E 136 - Expansão do espectro E-135 (44 - 14) do ácido 47



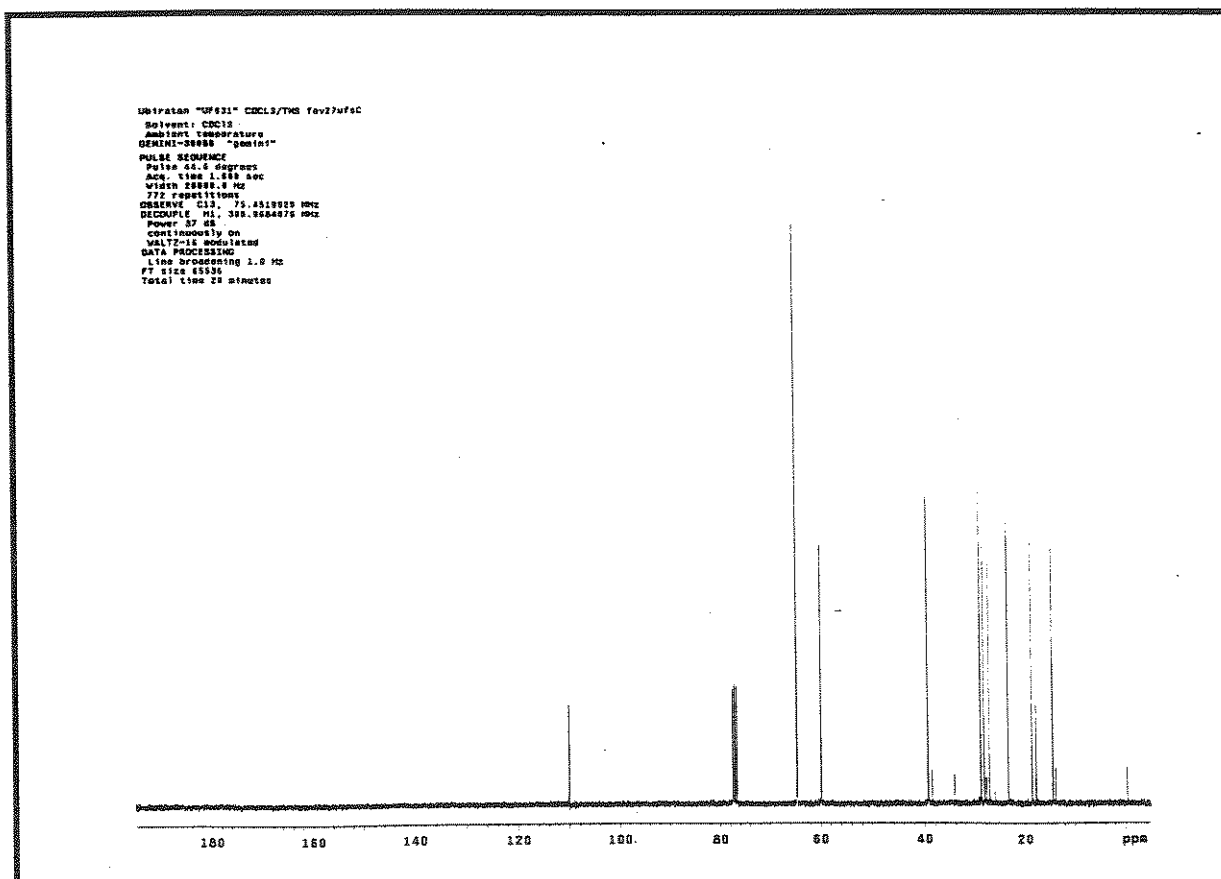
E 137 - Espectros no IV (filme) do ácido 47

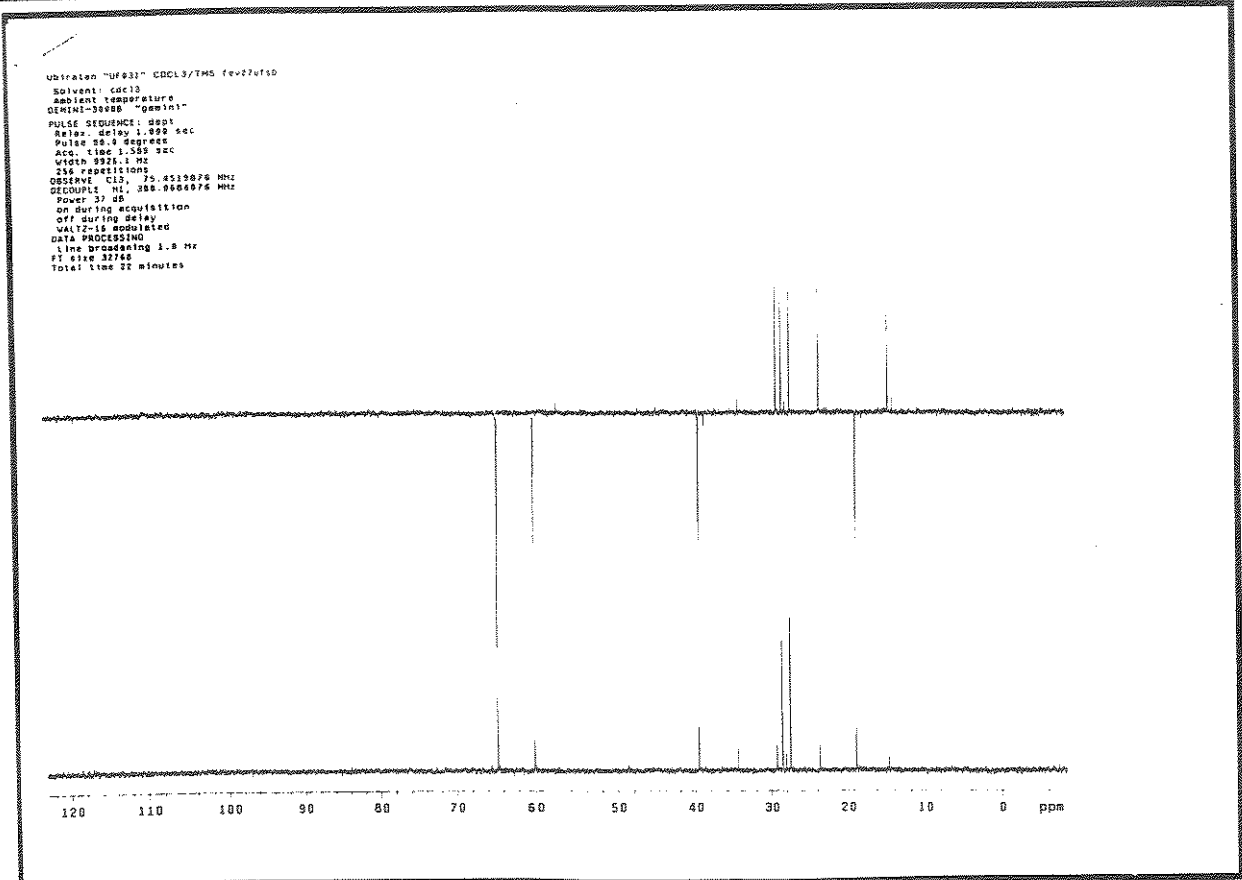
E 138 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do álcool 48

E 139 - Expansão do espectro E-138 (4,2 - 1,9) do álcool 48

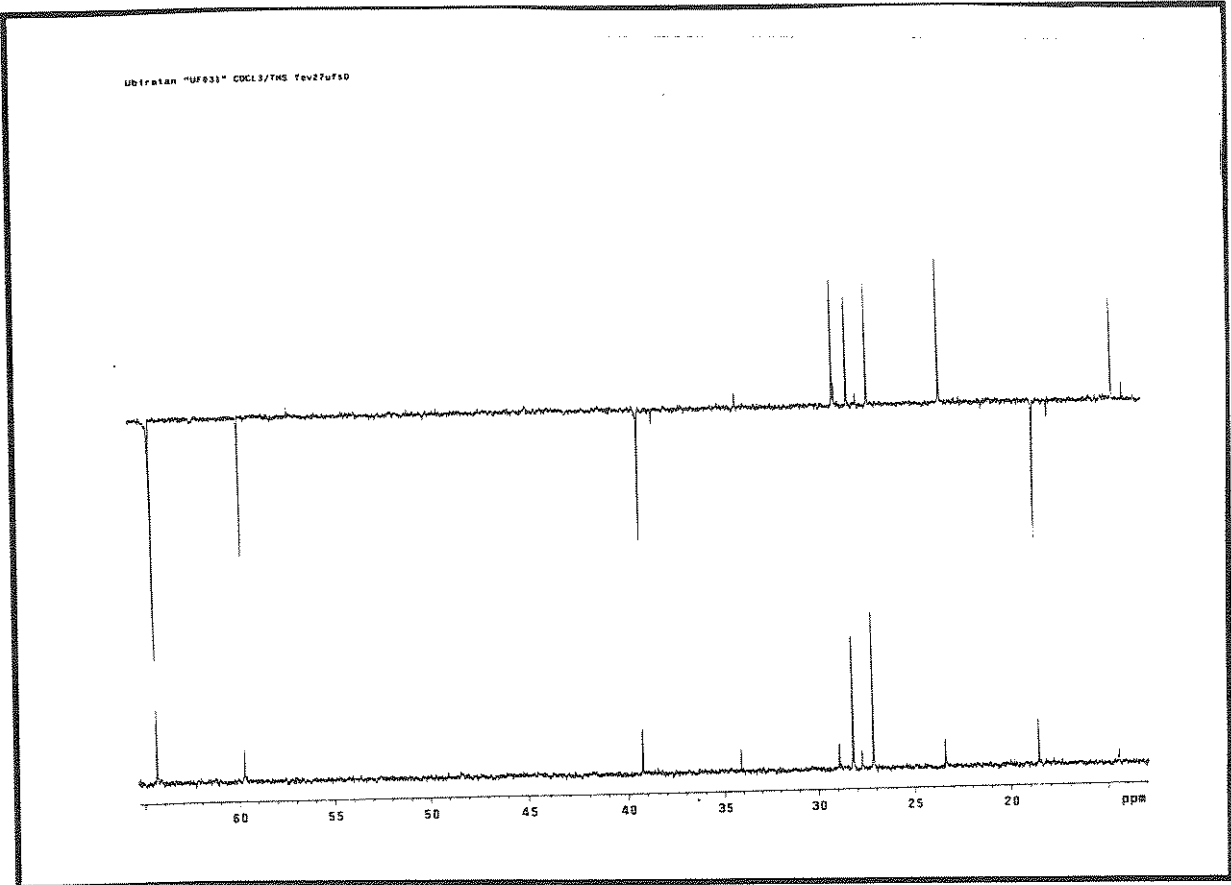


E 140 - Expansão do espectro E-139 (1,9 - 0) do álcool 48

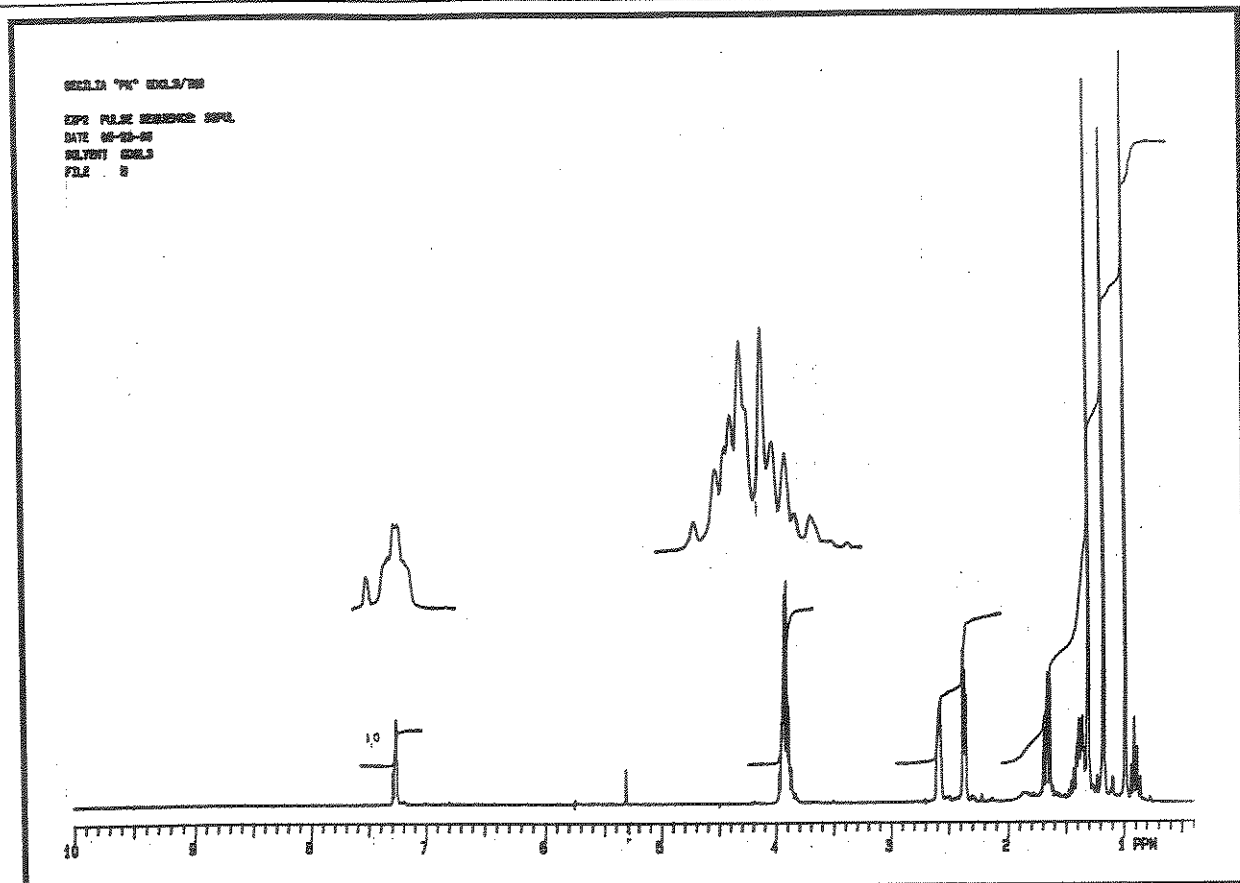
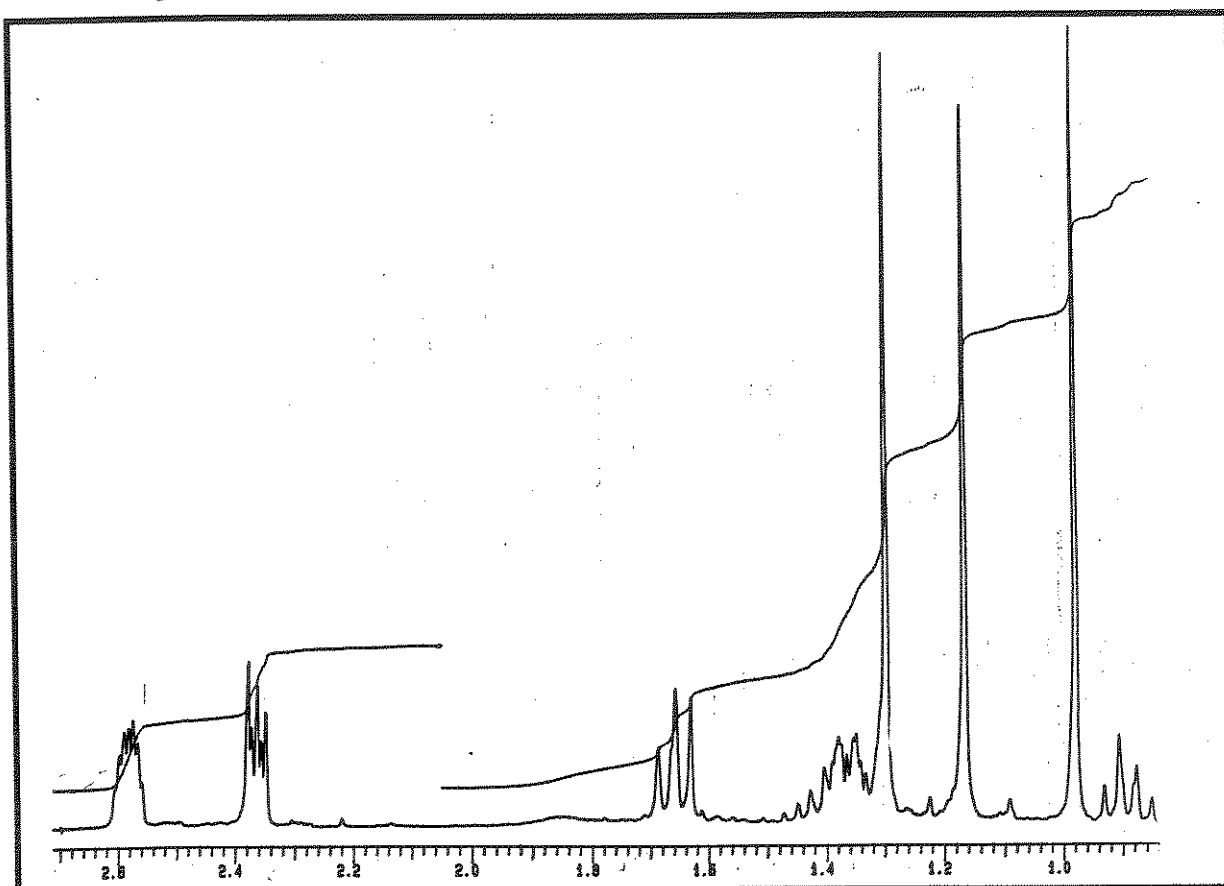
E 141 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do álcool 48



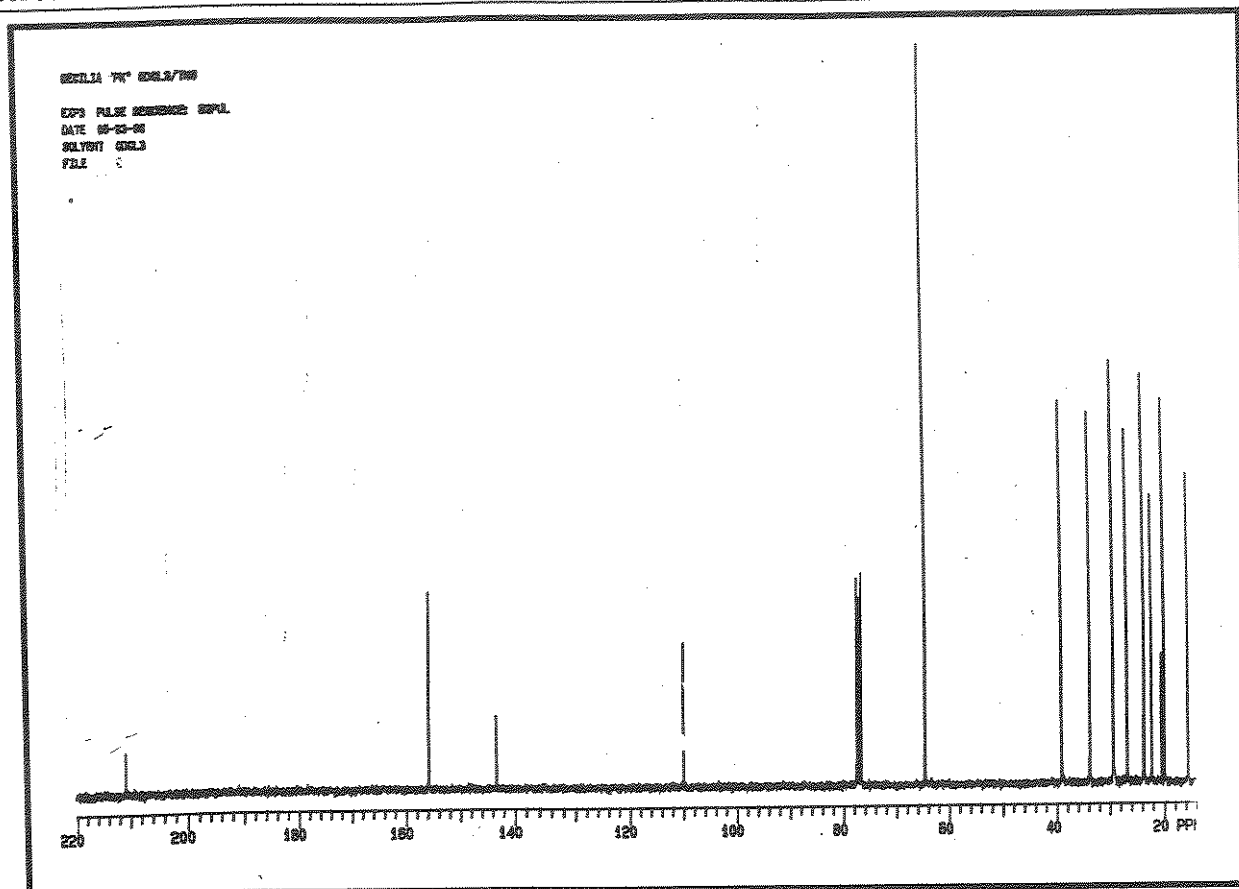
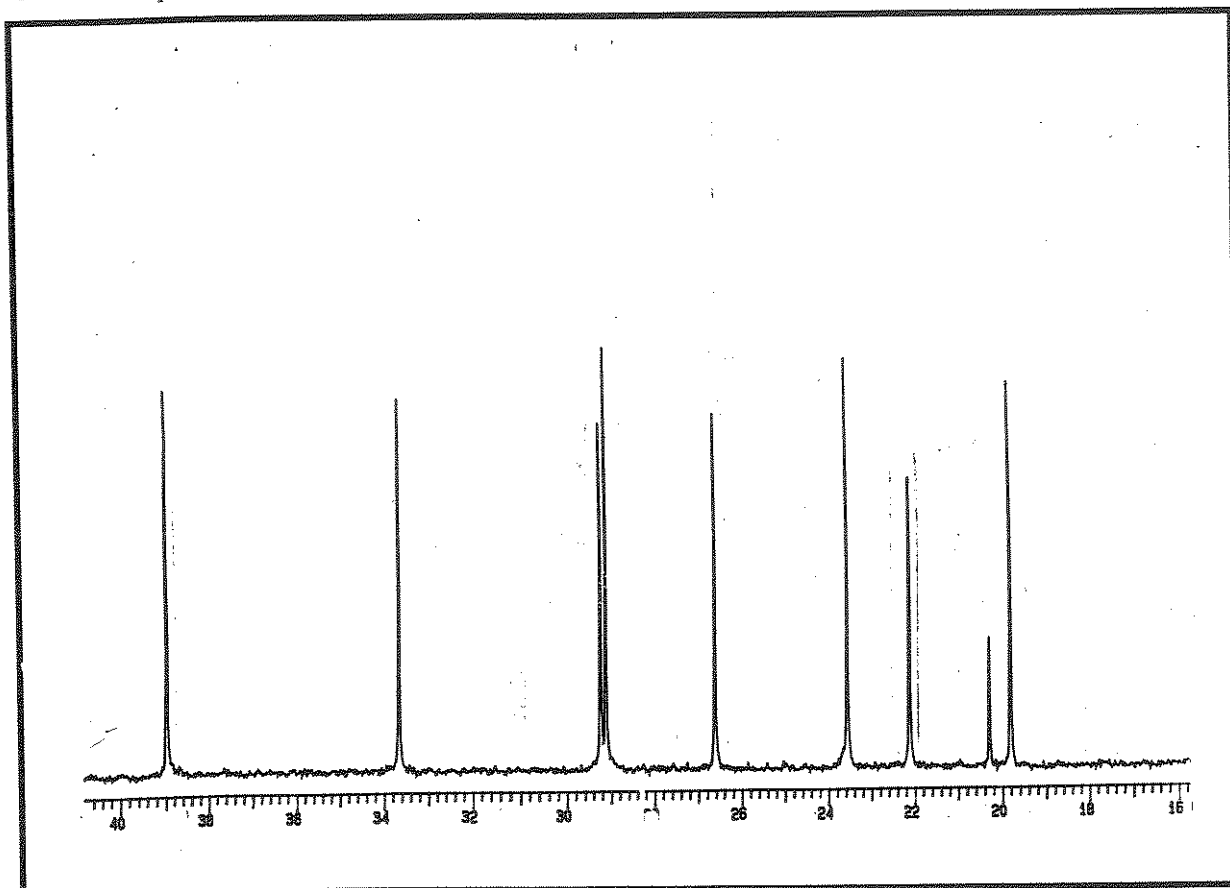
E 142 - Espectro DEPT (135° e 90°) do álcool 48



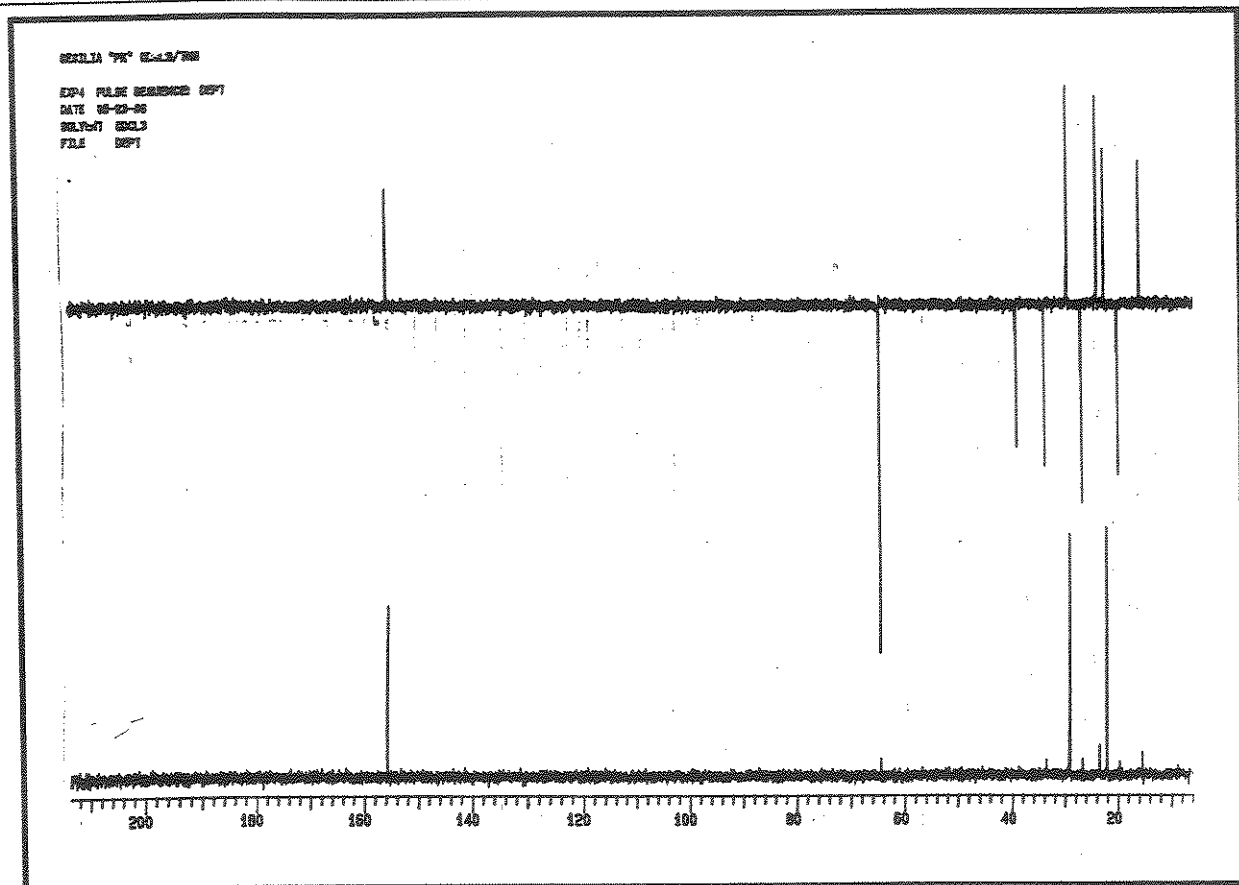
E 143 - Expansão do espectro E-142 (70 - 0) do álcool 48

E 144 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) da nor-tailoriona 38a

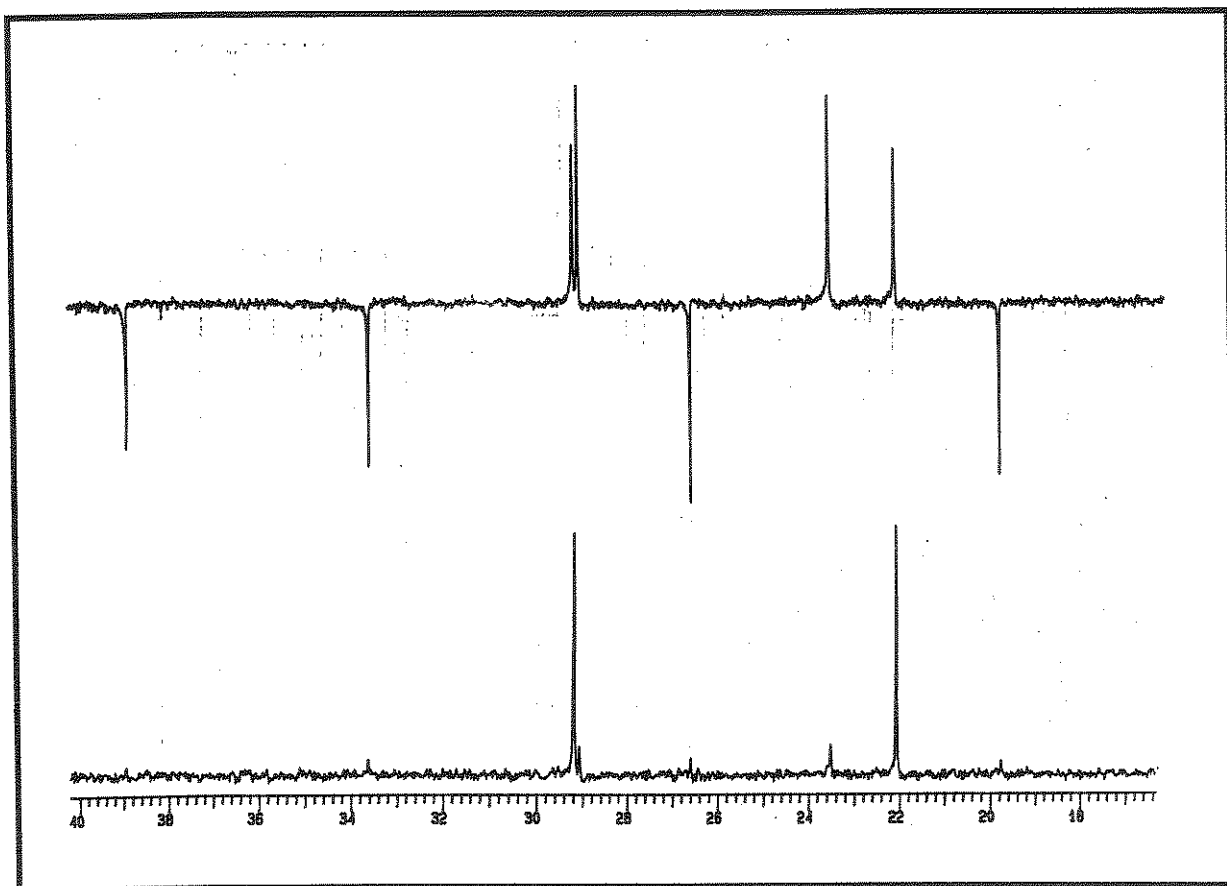
E 145 - Expansão do espectro E-144 (2,5 - 0,8) da nor-tailoriona 38a

E 146 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) da nor-tailoriona 38a

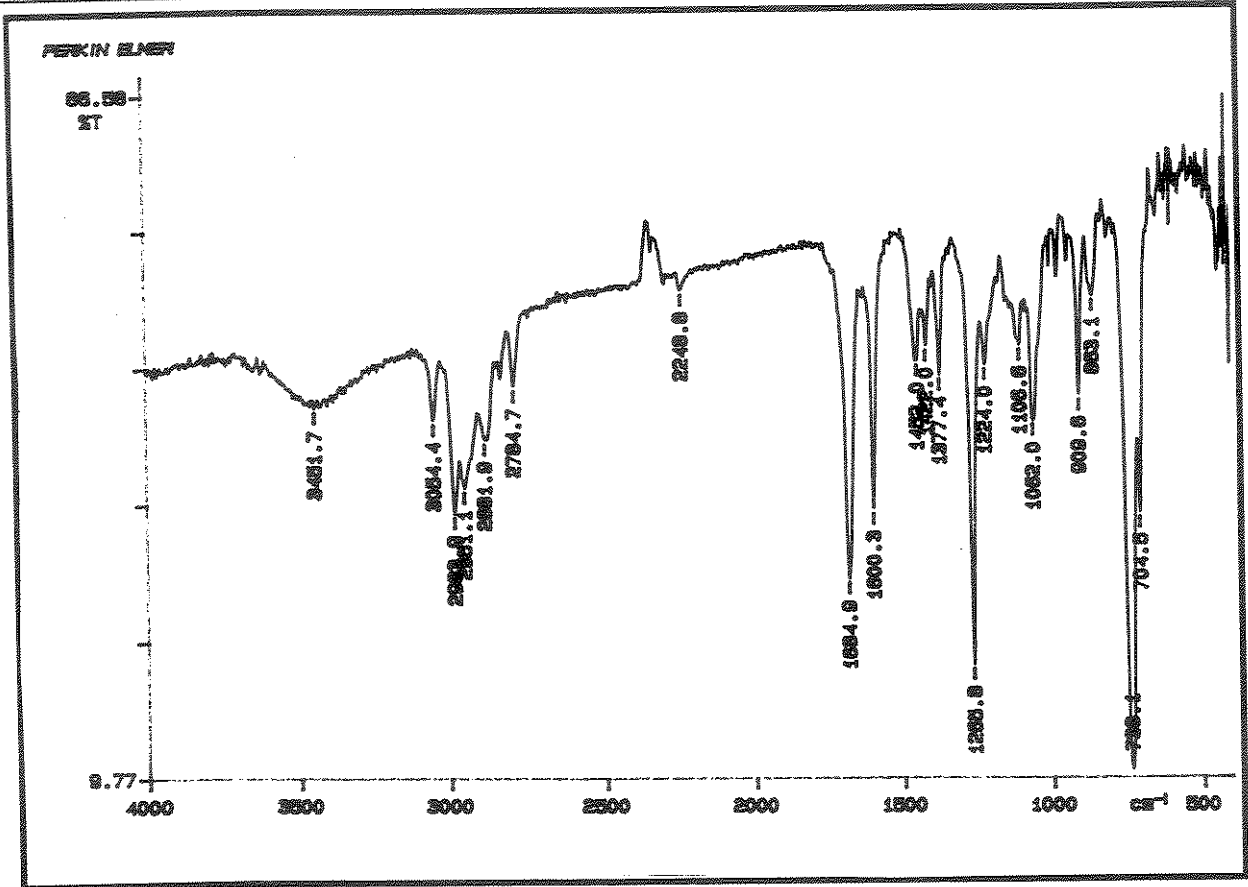
E 147 - Expansão do espectro E-146 da nor-tailoriona 38a



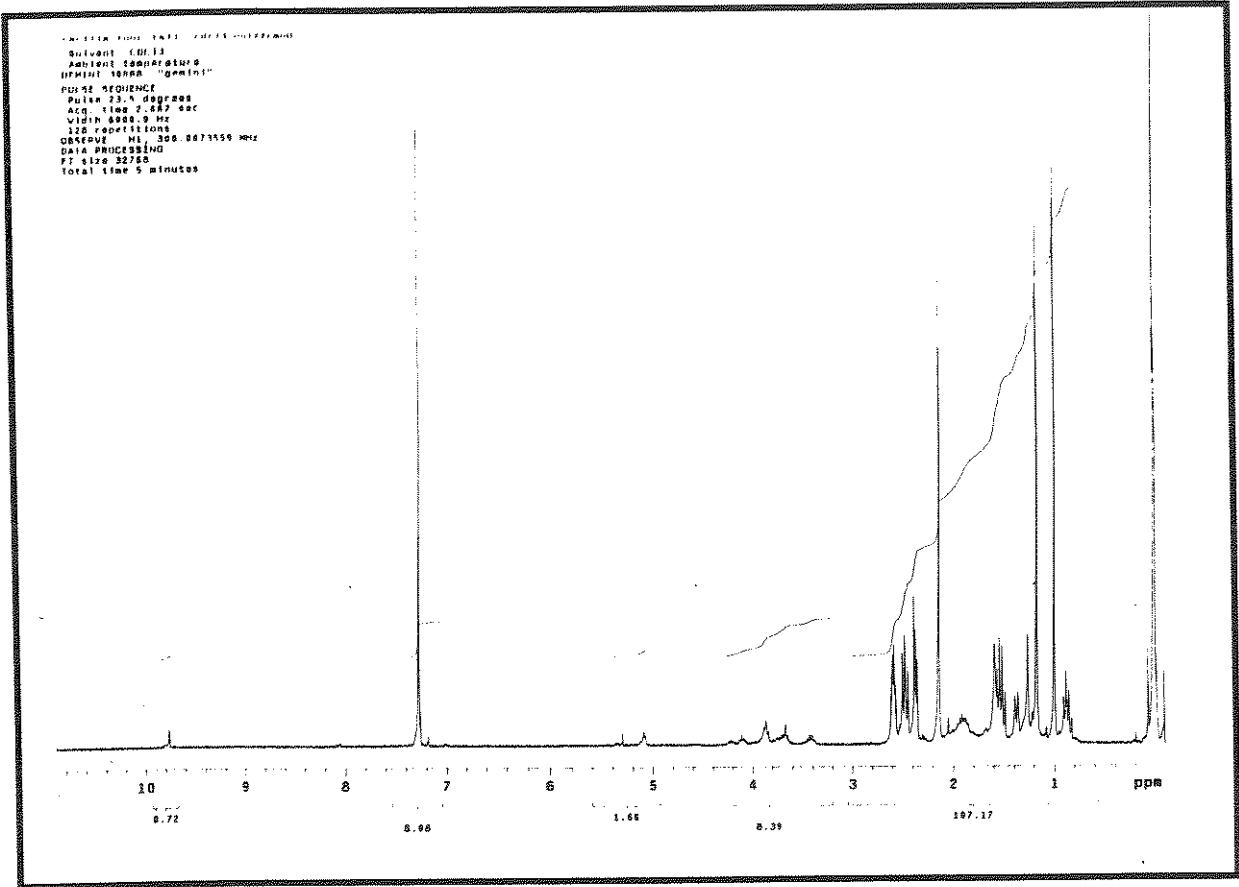
E 148 - Espectro DEPT (135° e 90°) da nor-tailoriona 38a



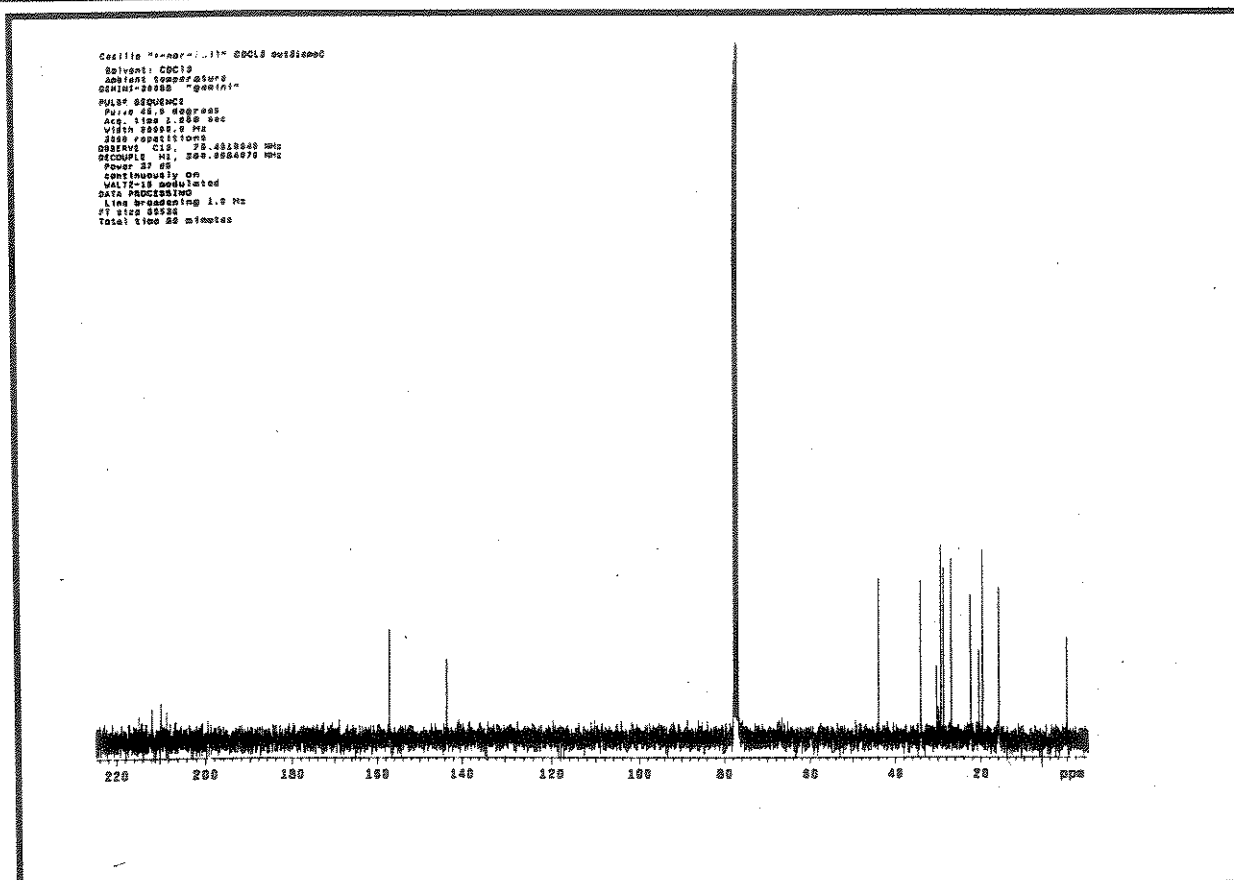
E 149 - Expansão do espectro E-148 (40 - 16) da nor-tailoriona 38a



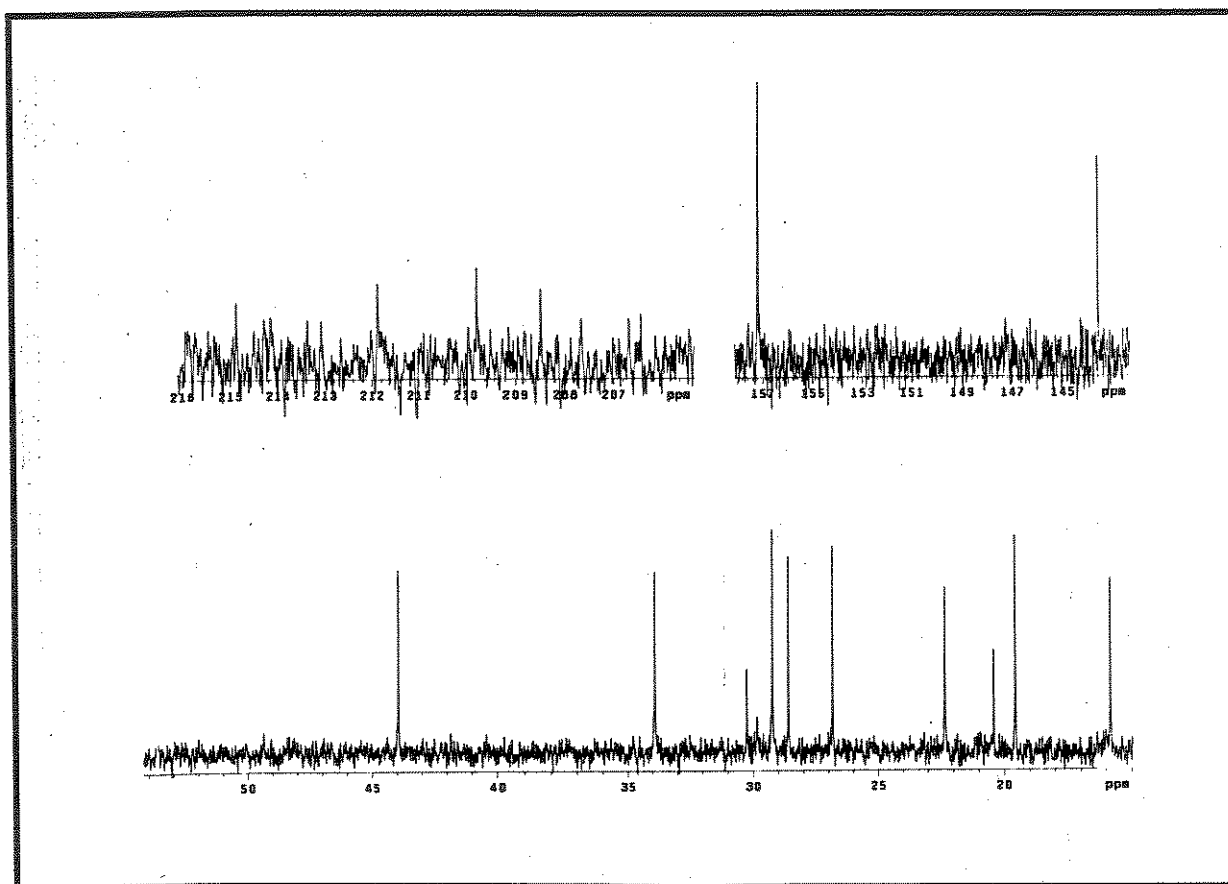
E 150 - Espectro de IV (filme) da nor-tailoriona 38a.



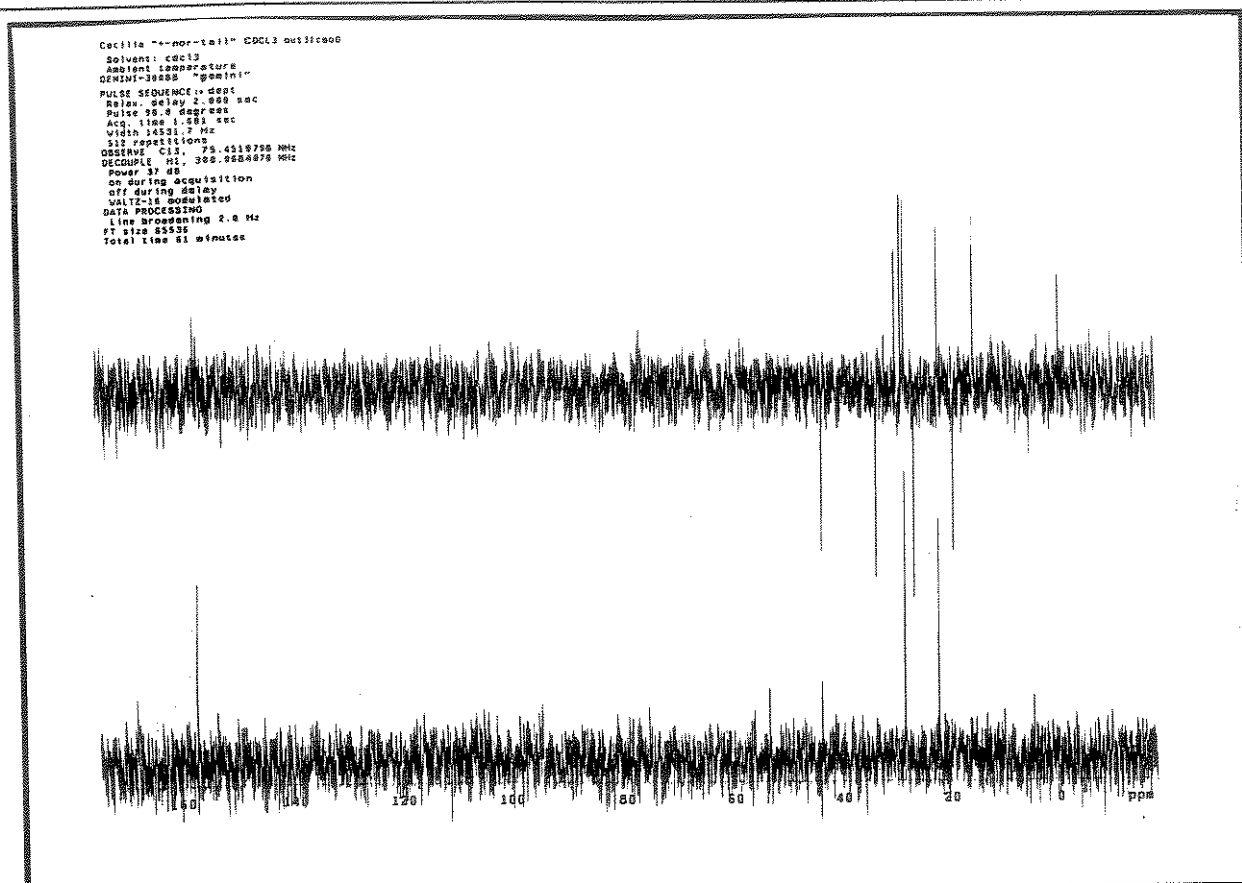
E 151 -Espectro de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃/TMS) da nor-tailoriona 38.



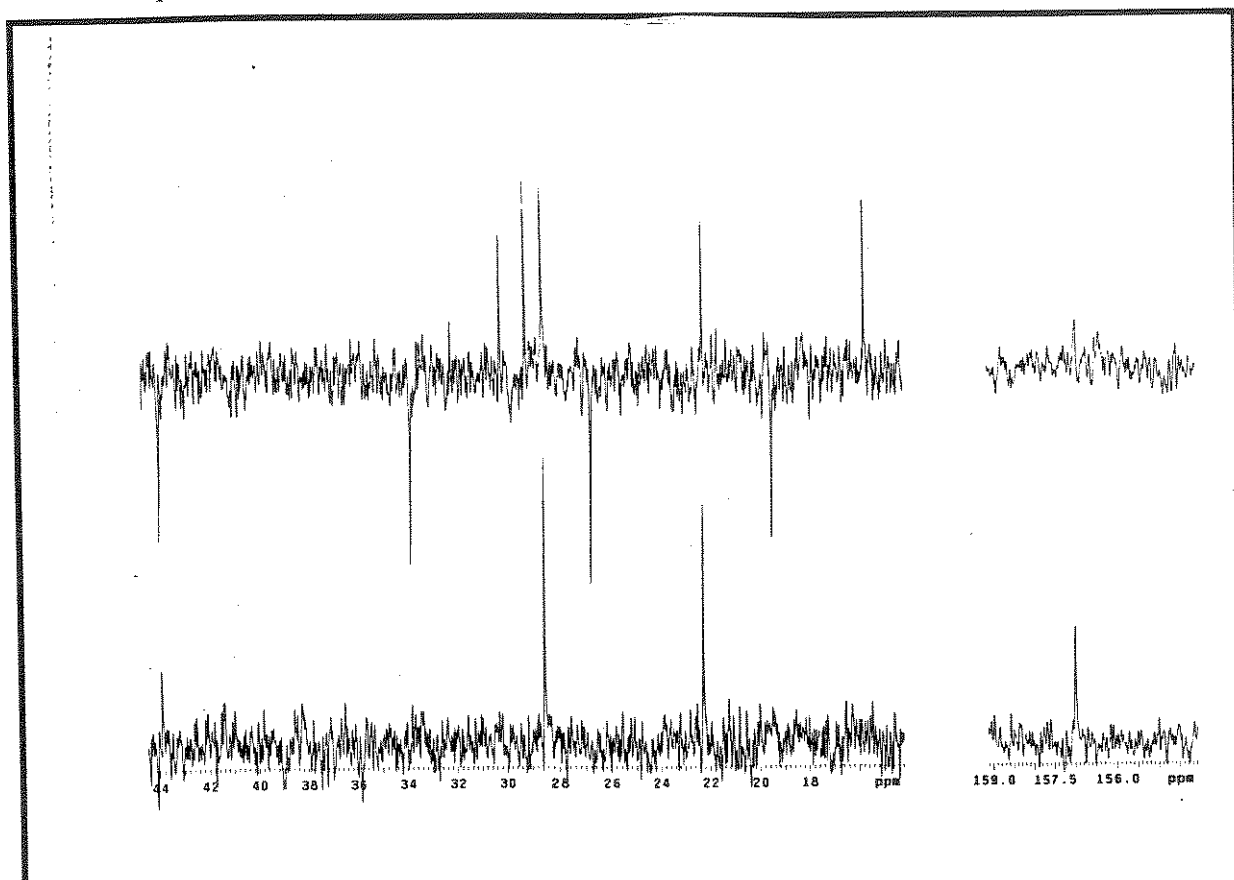
E 152 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) da nor-tailoriona 38.



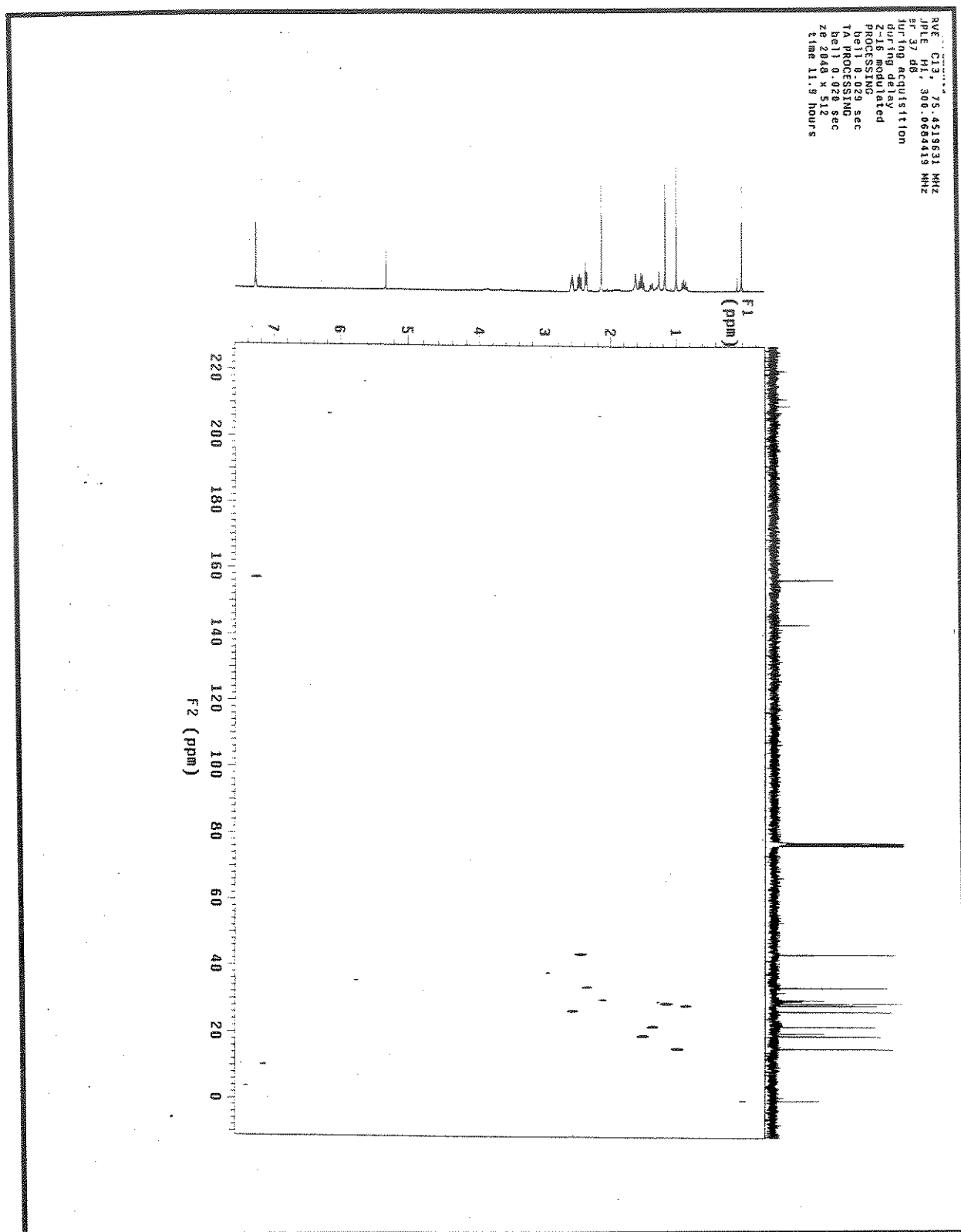
E 153 - Expansão do espectro E-152 da nor-tailoriona



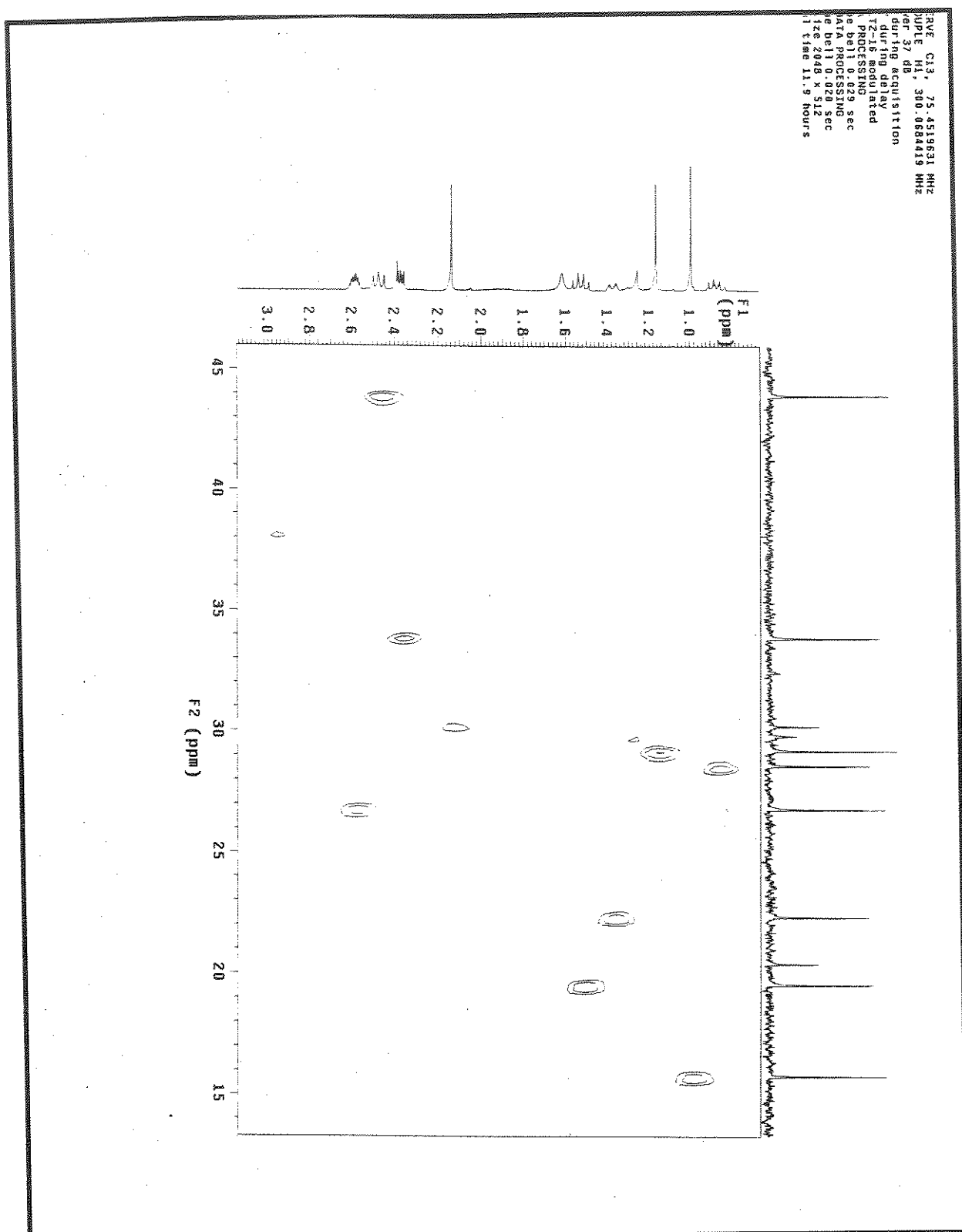
E 154 - Espectro DEPT (135° e 90°) da nor-tailoriona 38.



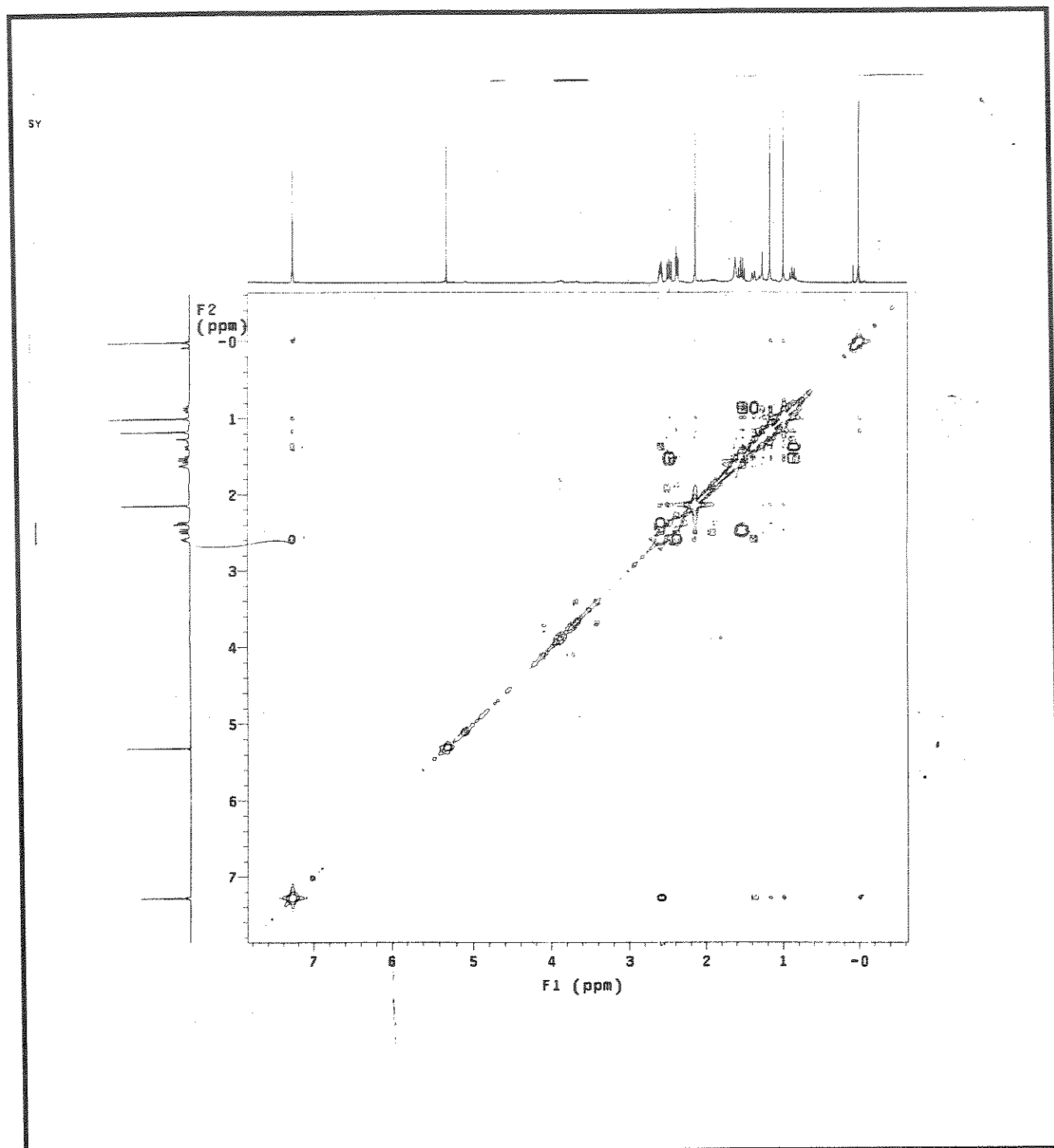
E 155 - Expansão do espectro E-154 da nor-tailoriona 38.



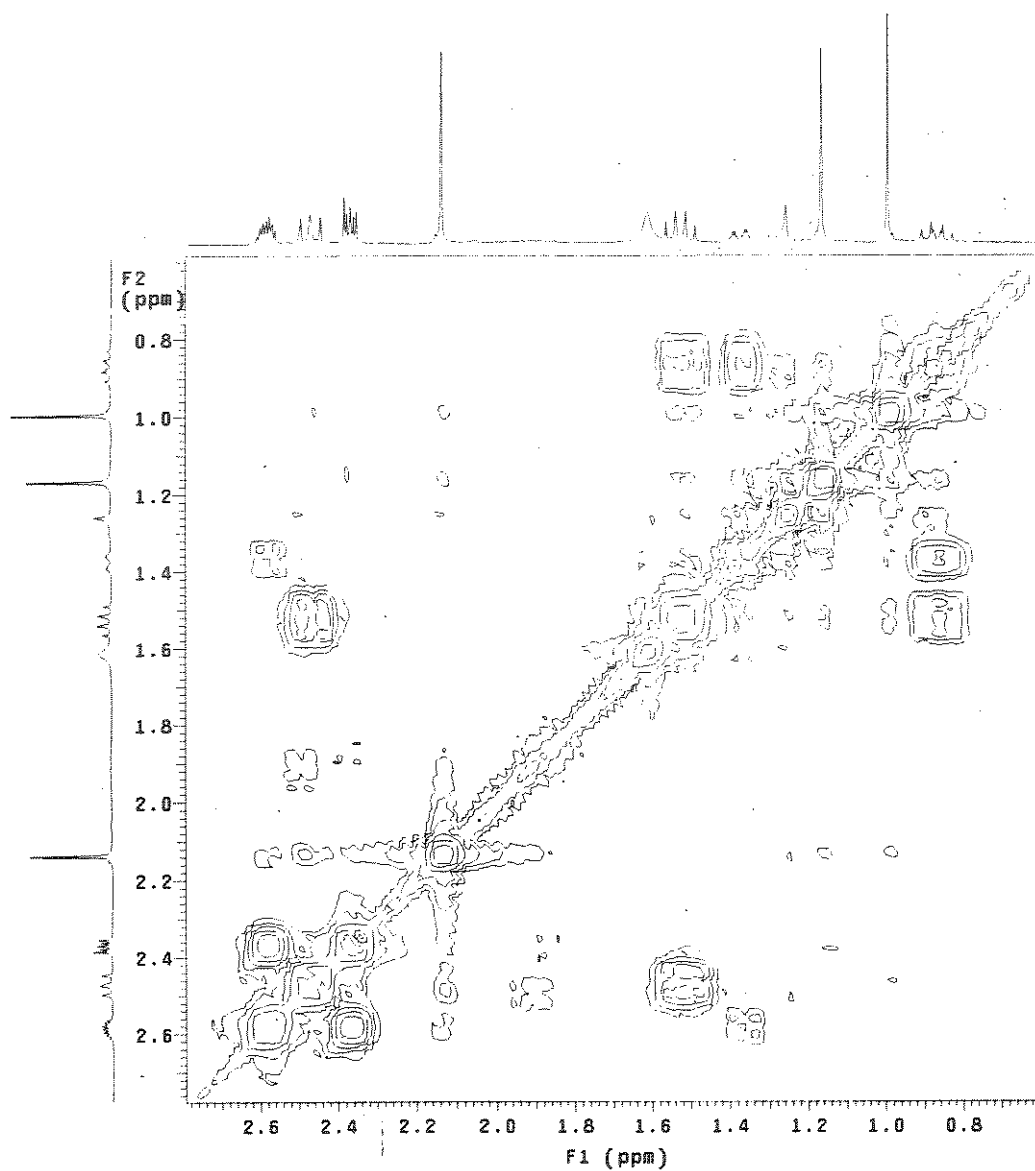
E 156 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C -HETCOR) da nor-tailoriona 38.



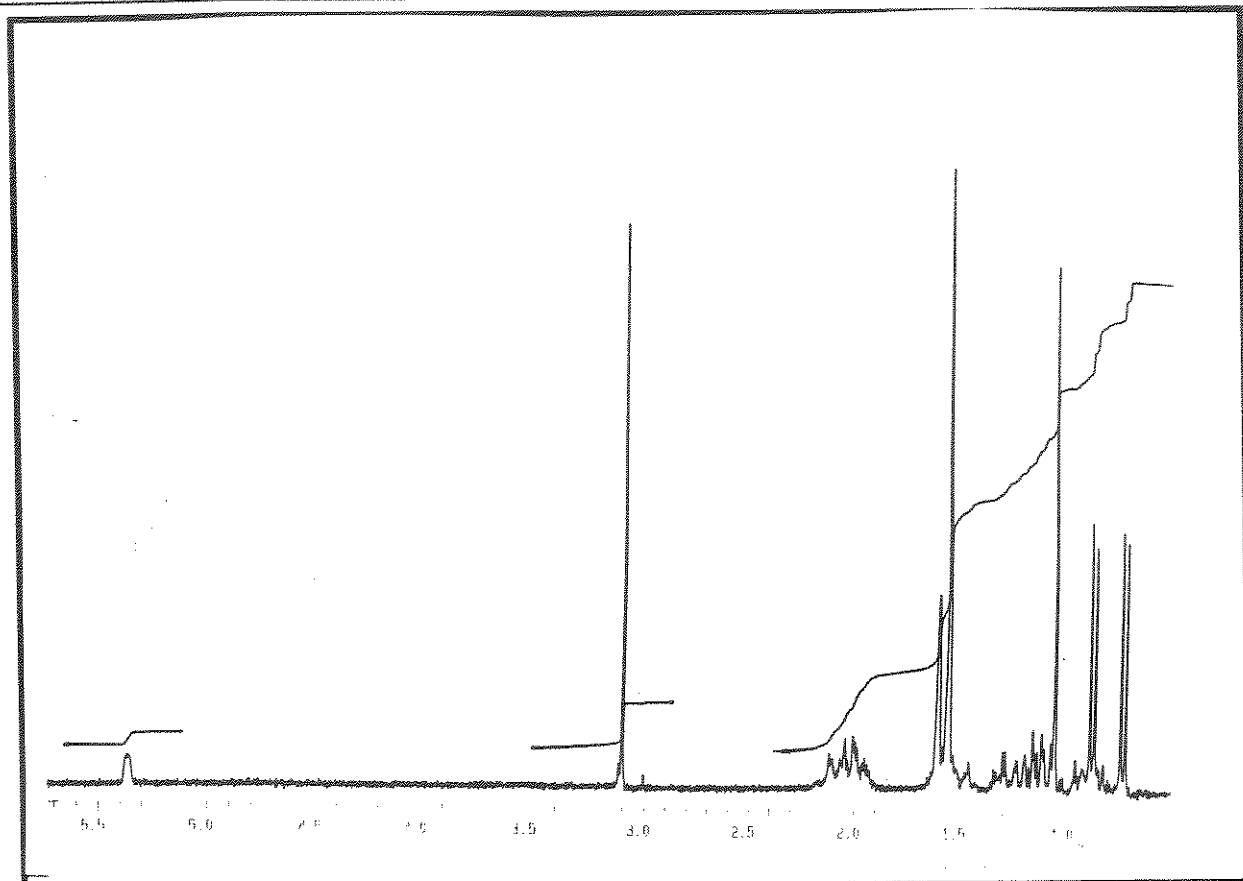
E 157 - Expansão do espectro E-156 da nor-tailoriona 38.



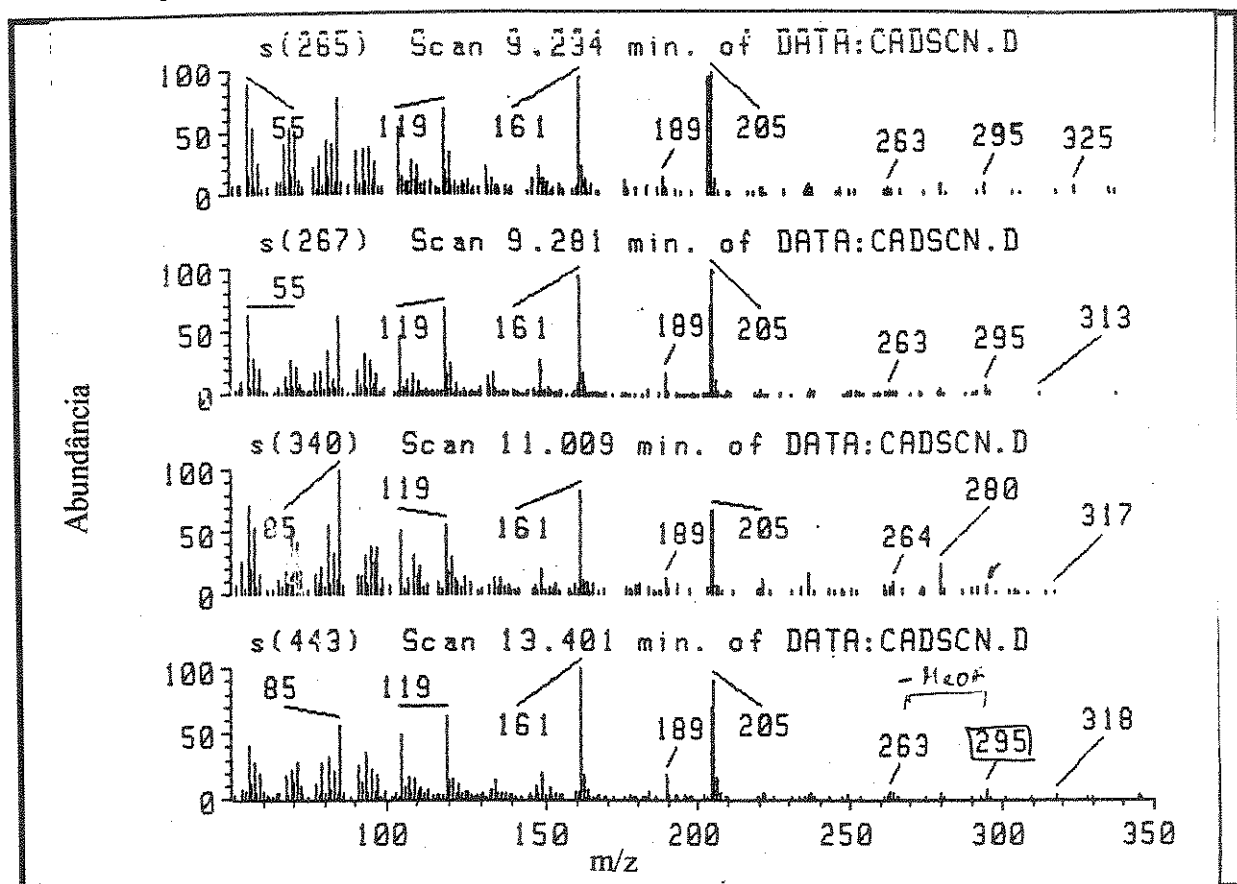
E 158 - Espectro 2D (^1H , ^1H , COSY) da nor-tailoriona 38.



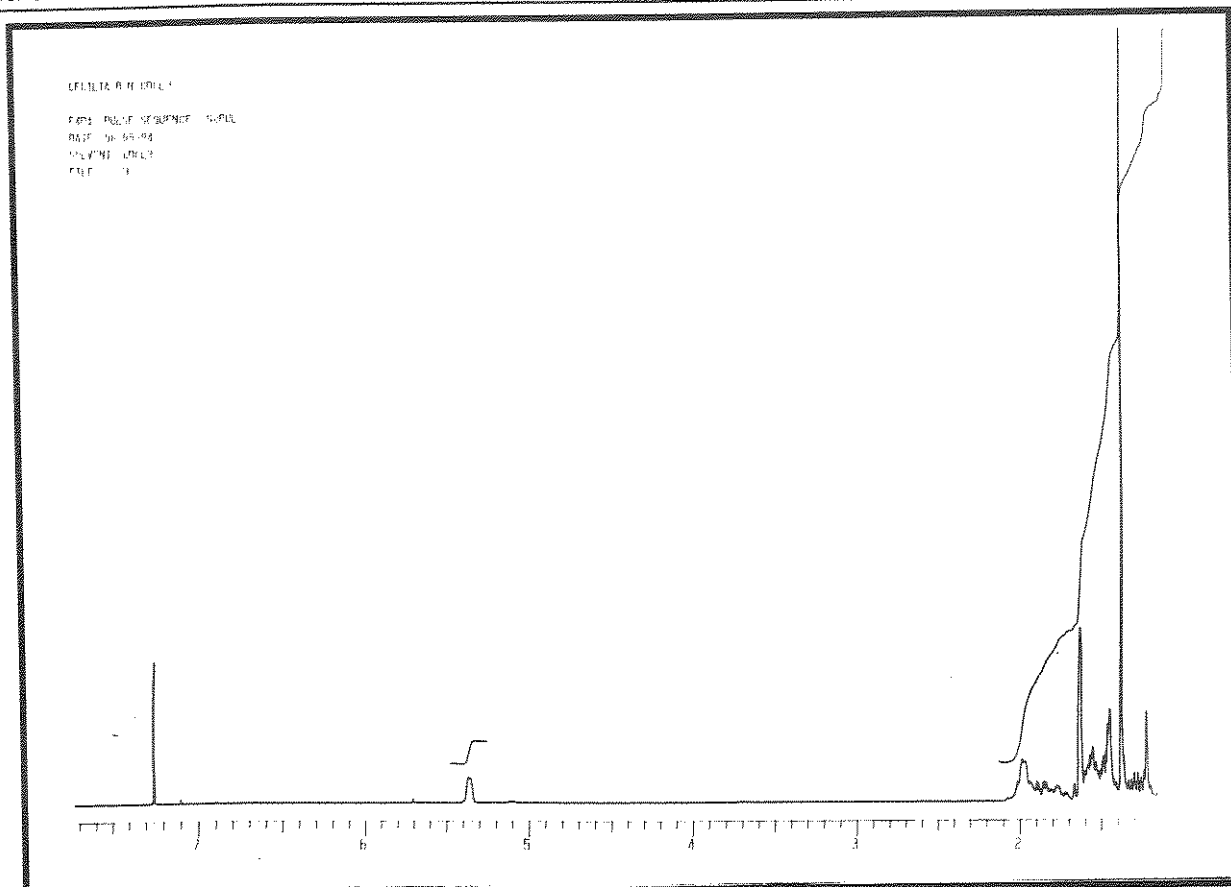
E 159 - Expansão do espectro E-158 da nor-tailoriona 38.



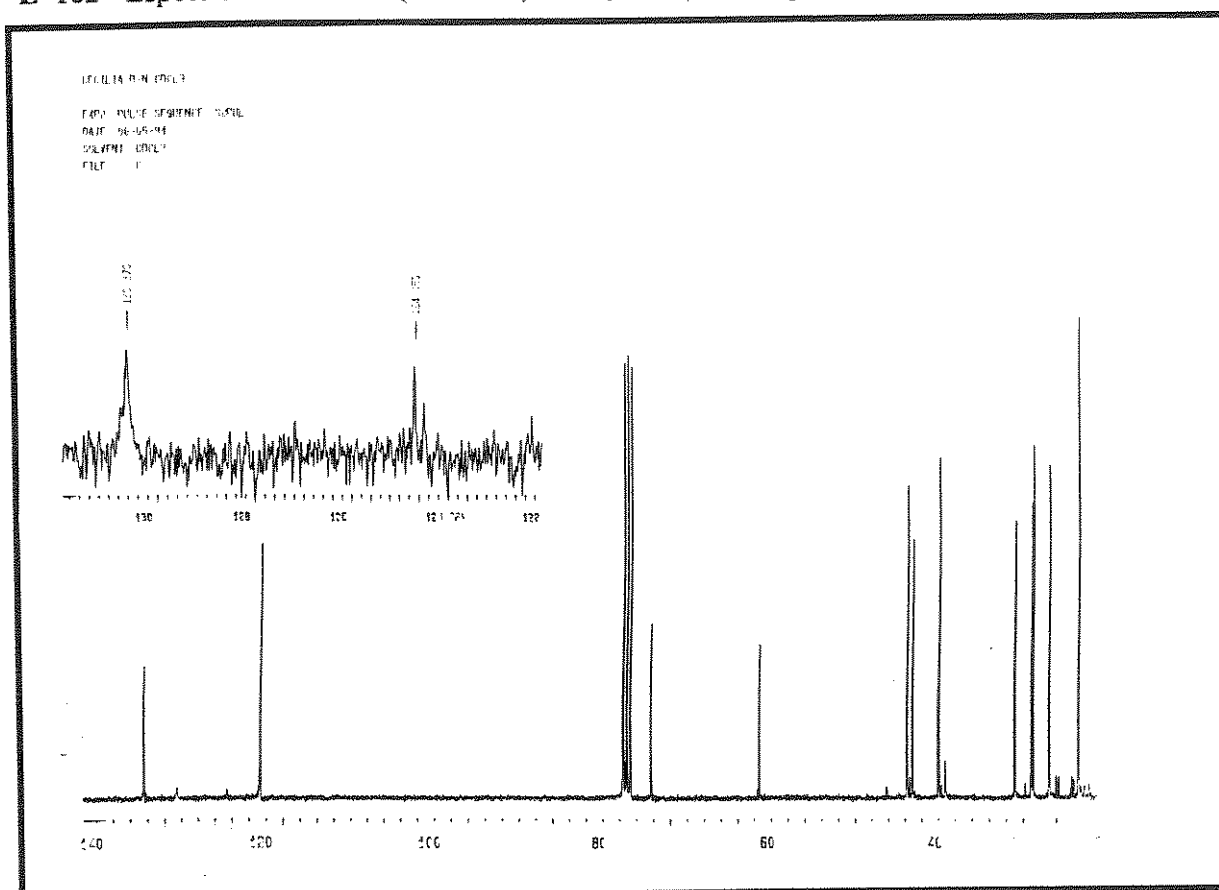
E 160 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do composto 85.



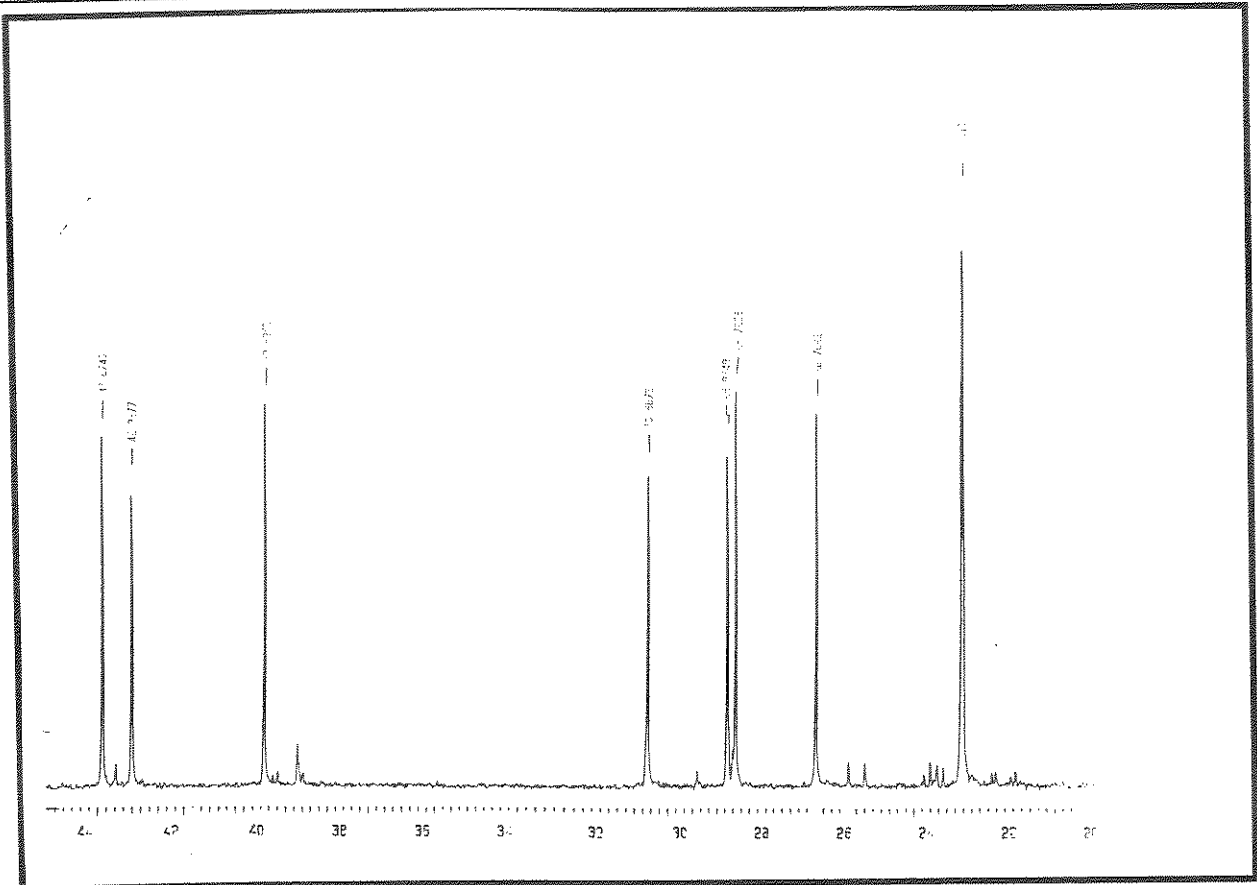
E 161 - Espectro de massas da mistura de compostos 86a, 86b, 87a, 87b



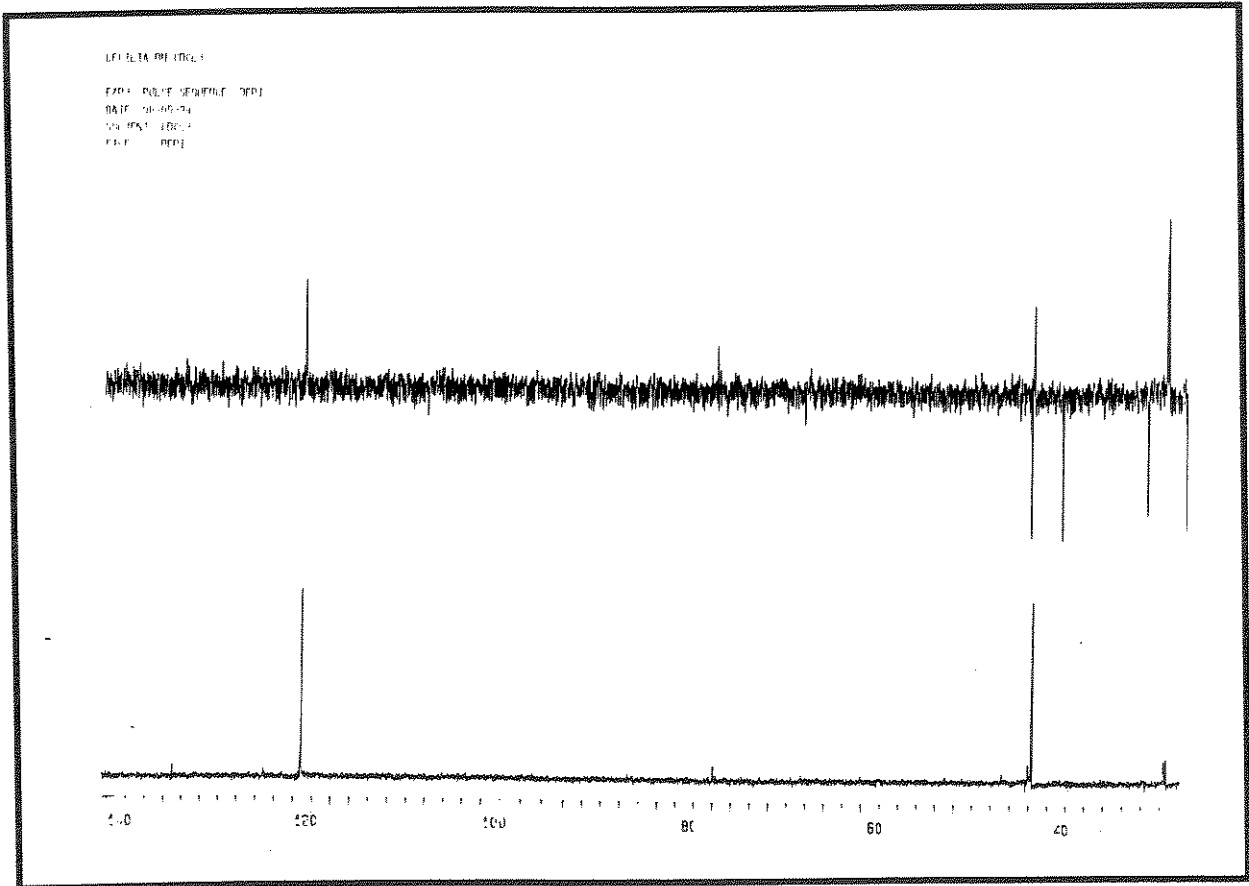
E 162 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do composto 88.



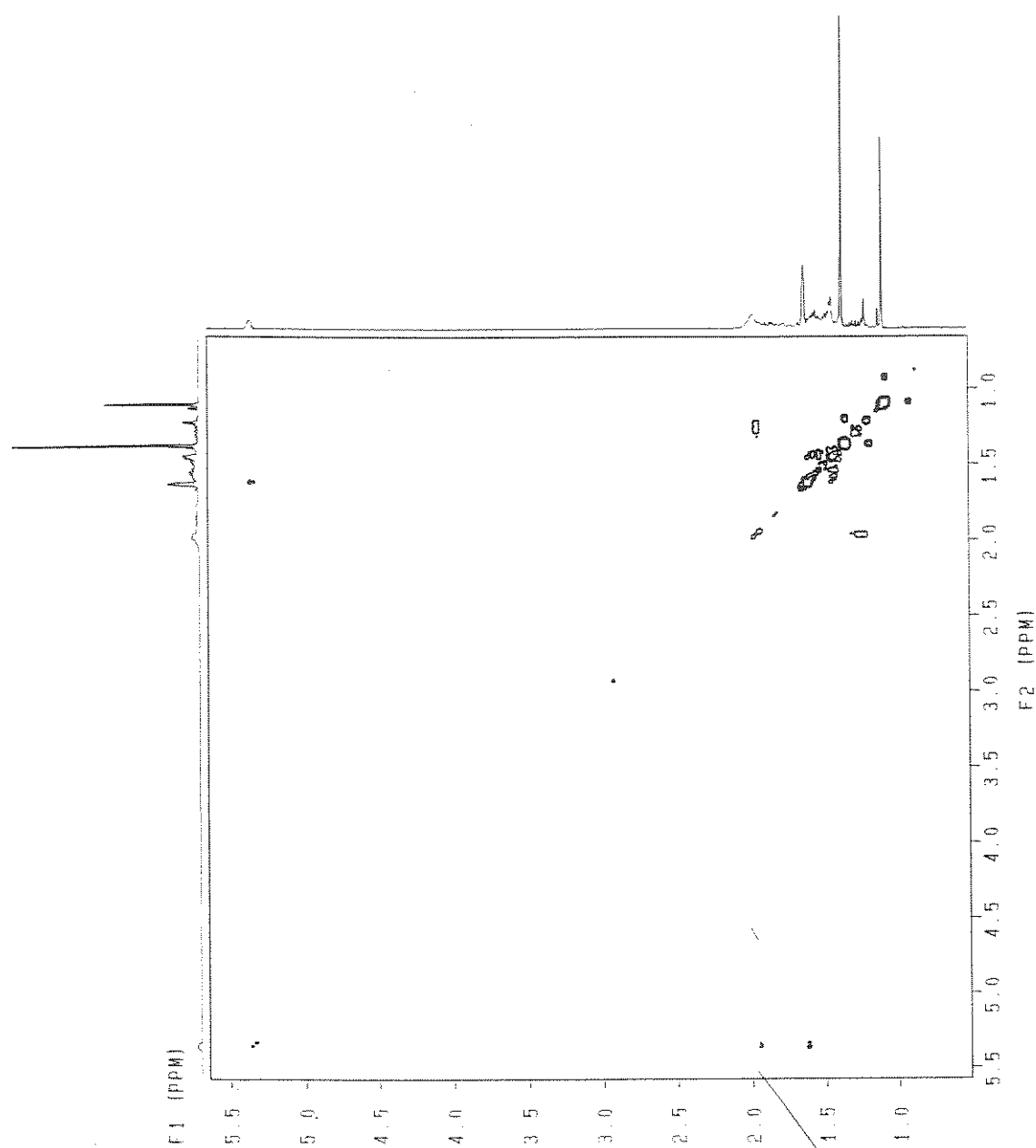
E 163 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do composto 88.



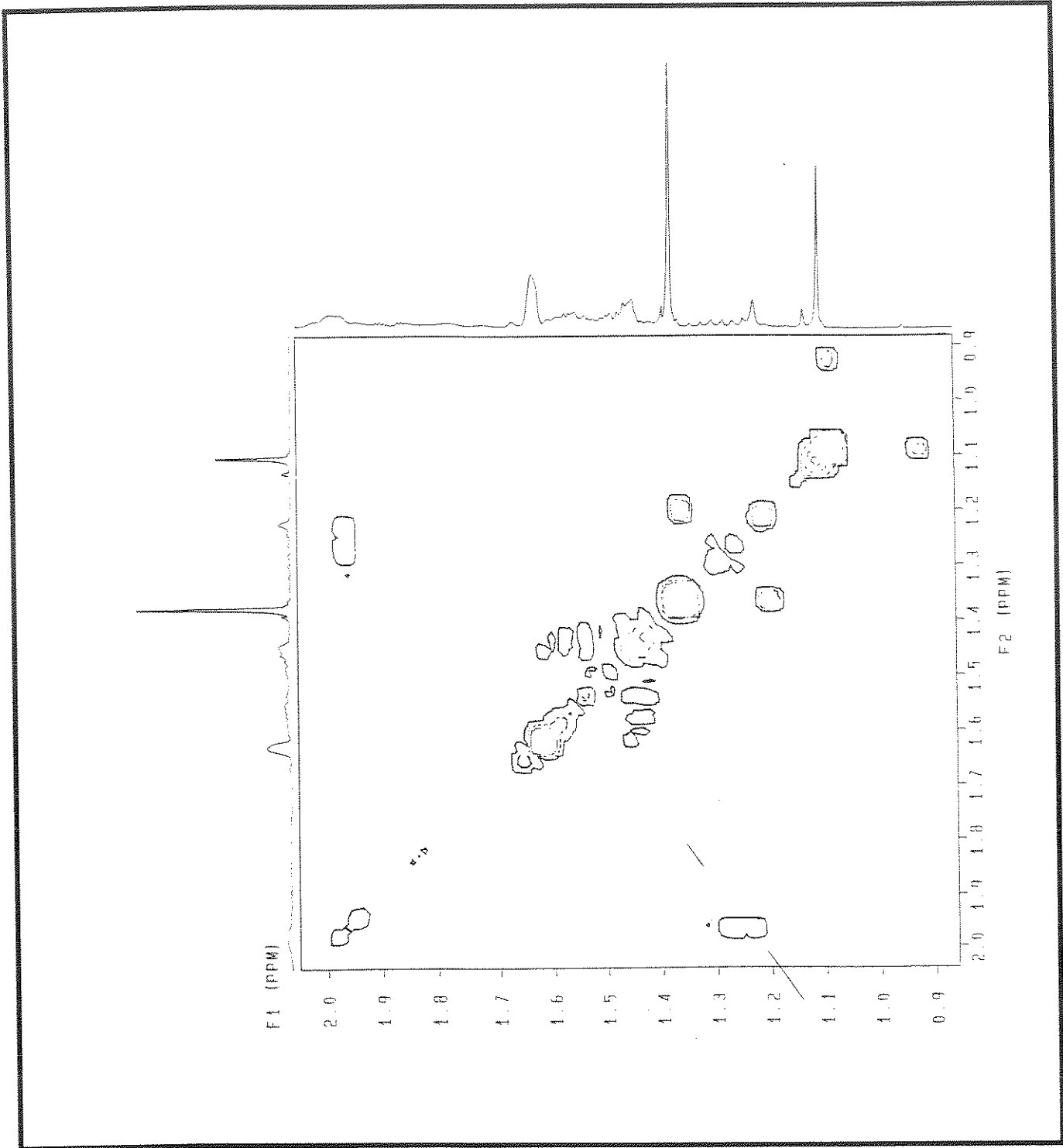
E 164 - Expansão do espectro E-163 (45 - 20) do composto 88.



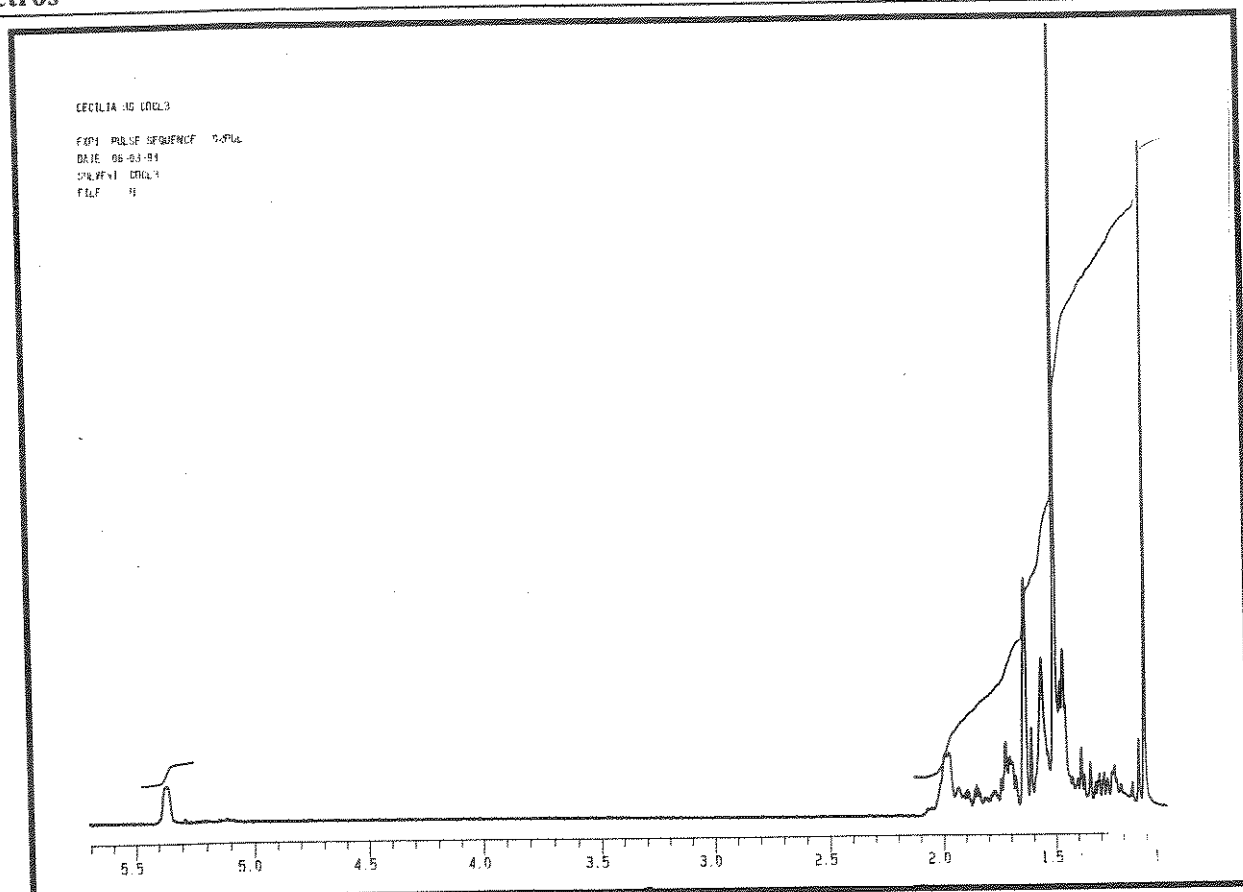
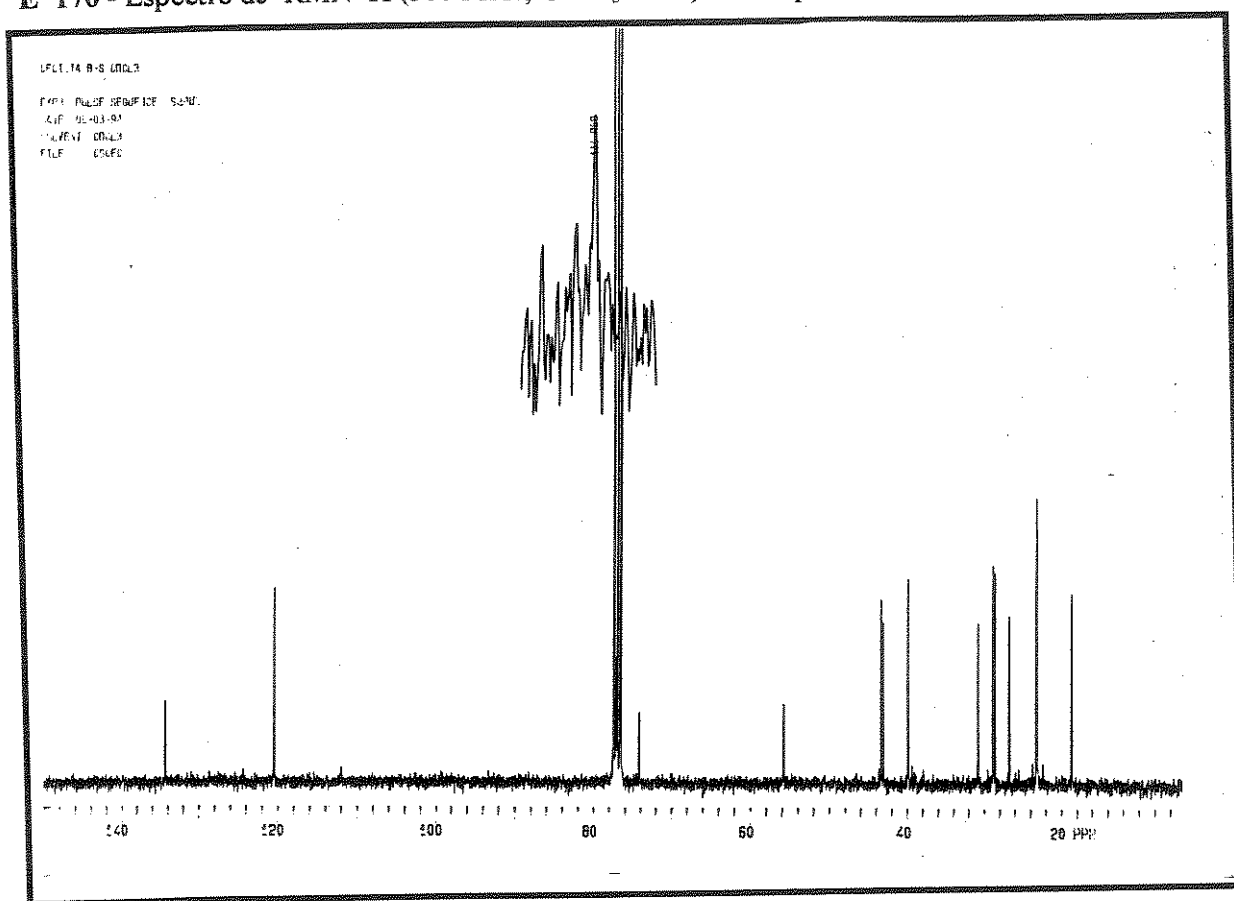
E 165 - Espectro DEPT (135° e 90°) do composto 88.

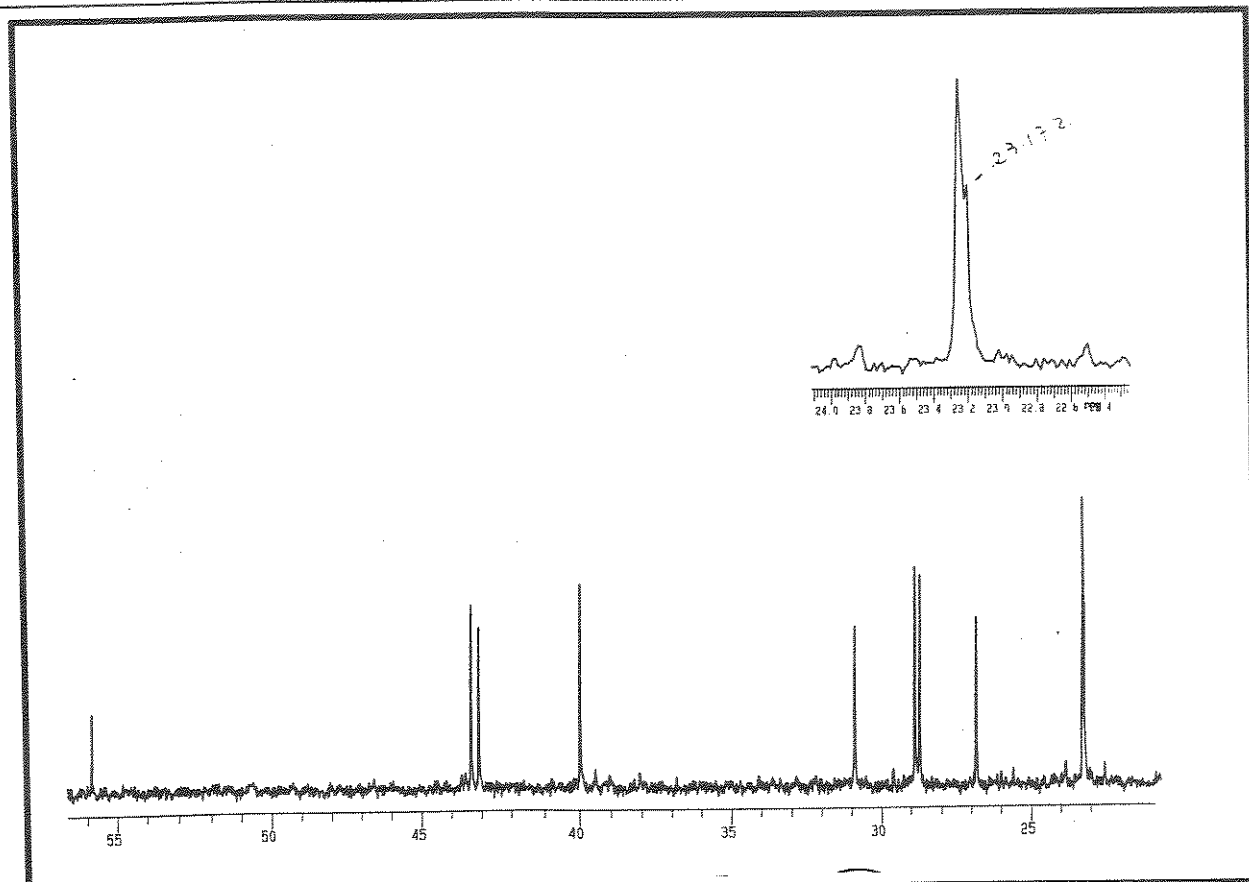


E 166 - Espectro 2D (^1H , ^1H , COSY) do composto 88.

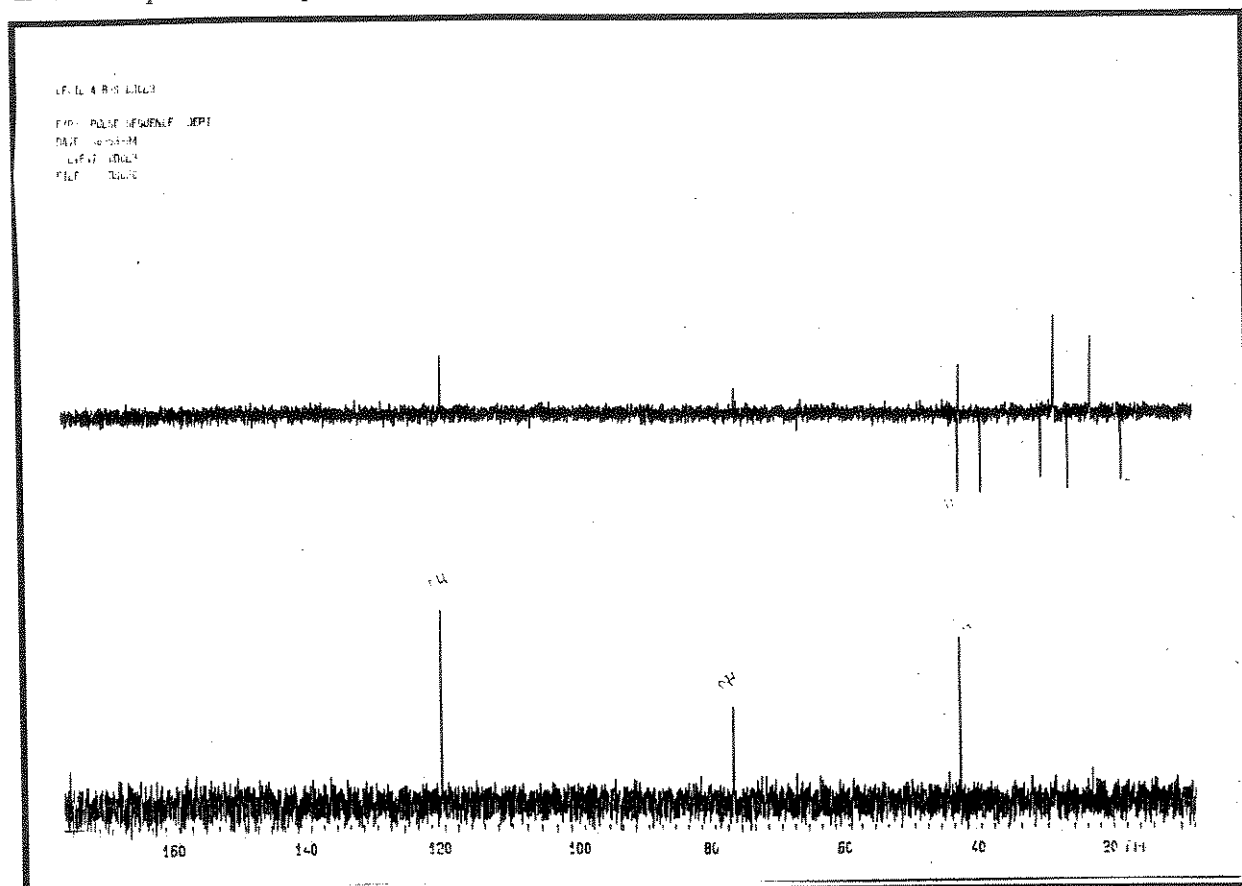


E 167 - Expansão espectro E-166 do composto 88.

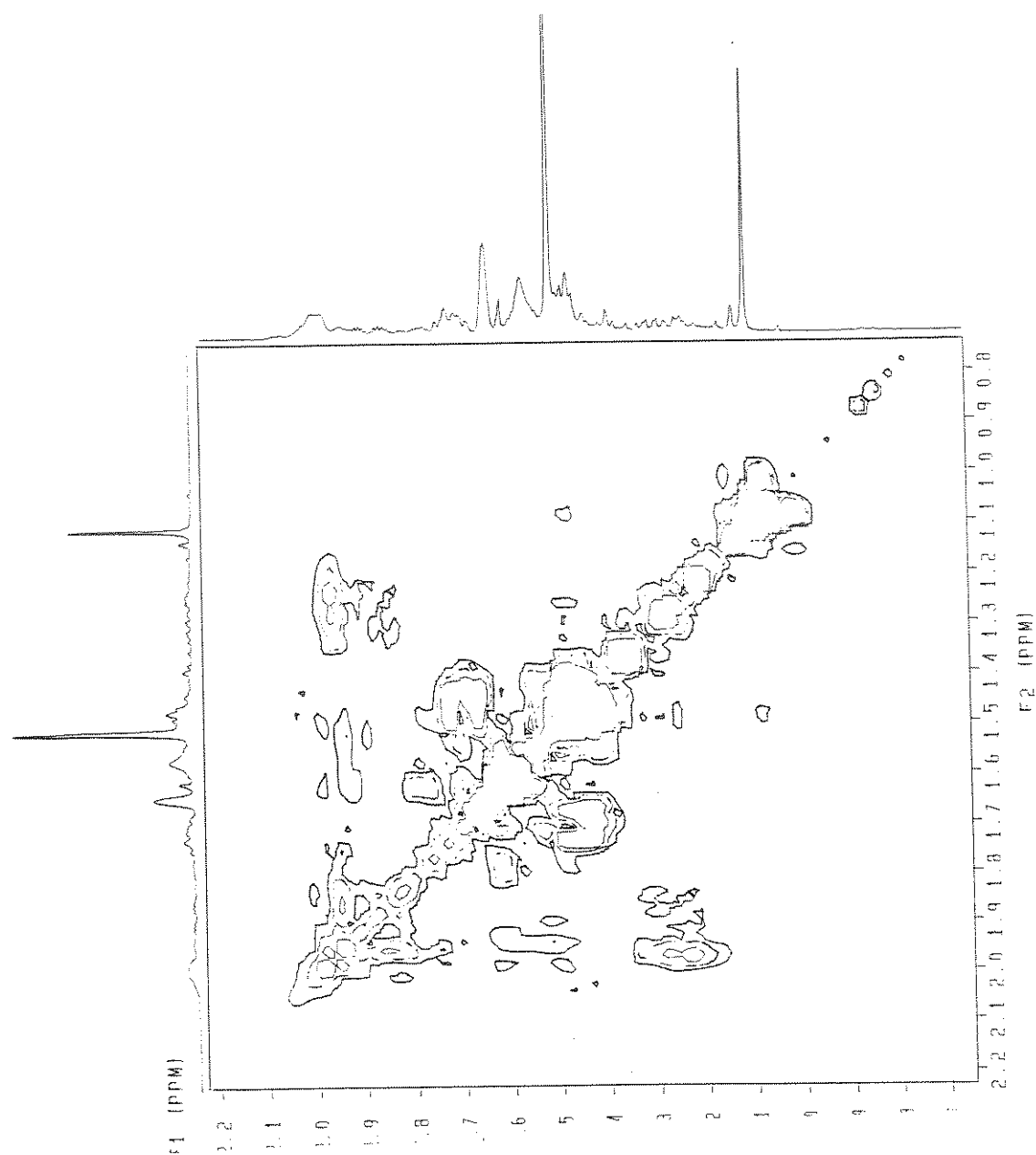
E 170 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do composto 89.E 171 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) do composto 89.



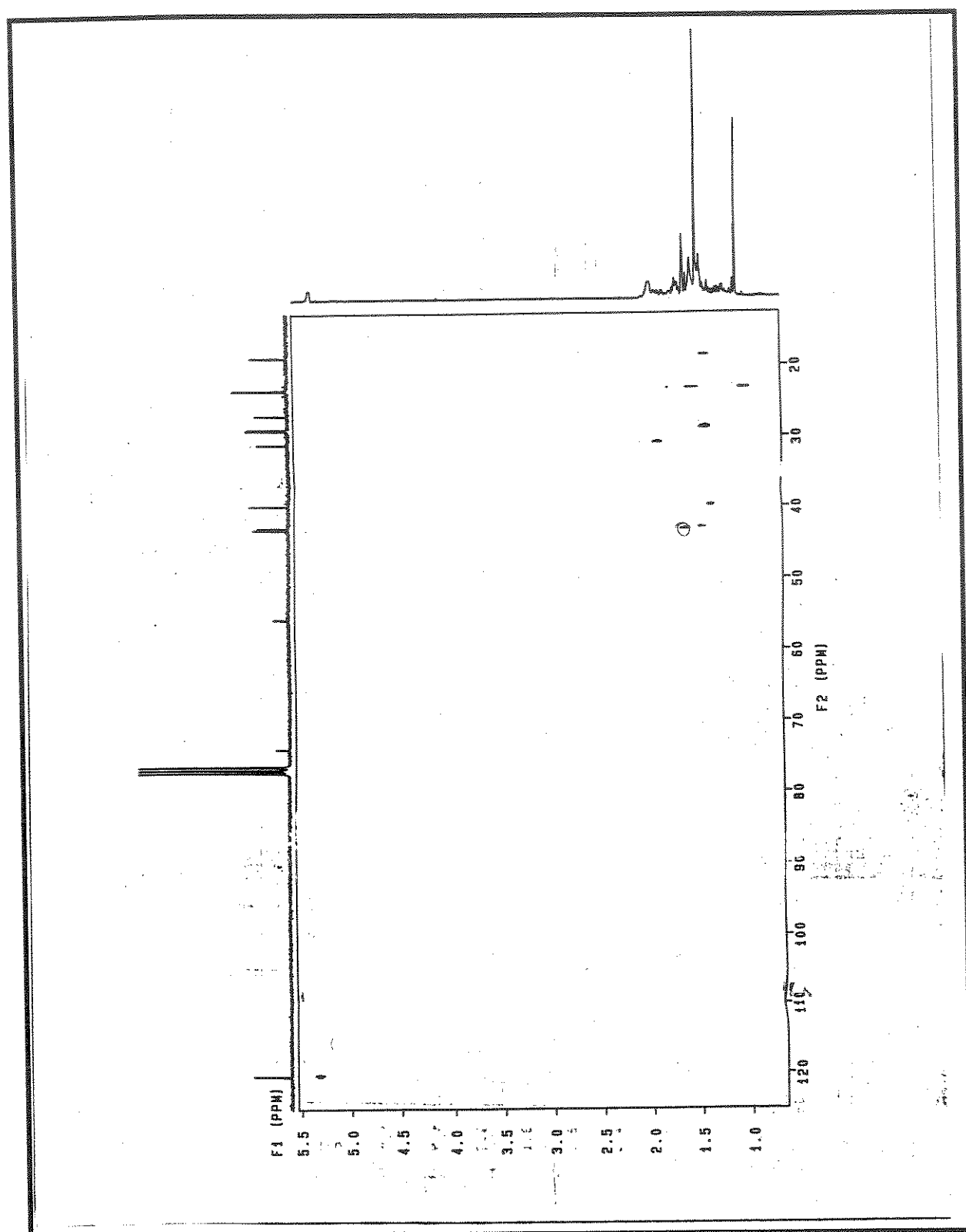
E 172- Expansão do espectro E-171 (56 - 20) do composto 89.



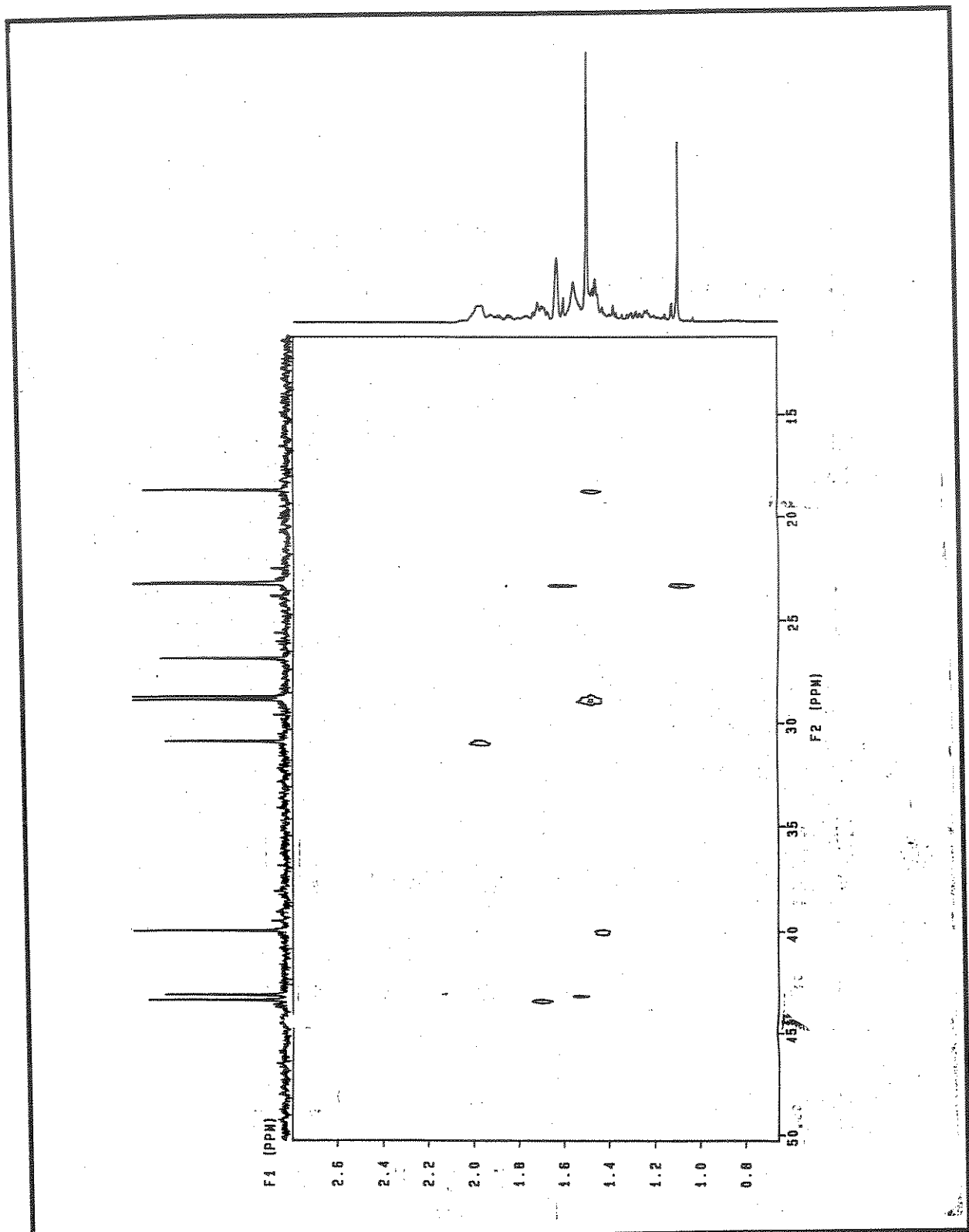
E 173 - Espectro DEPT (135° e 90°) do composto 89.



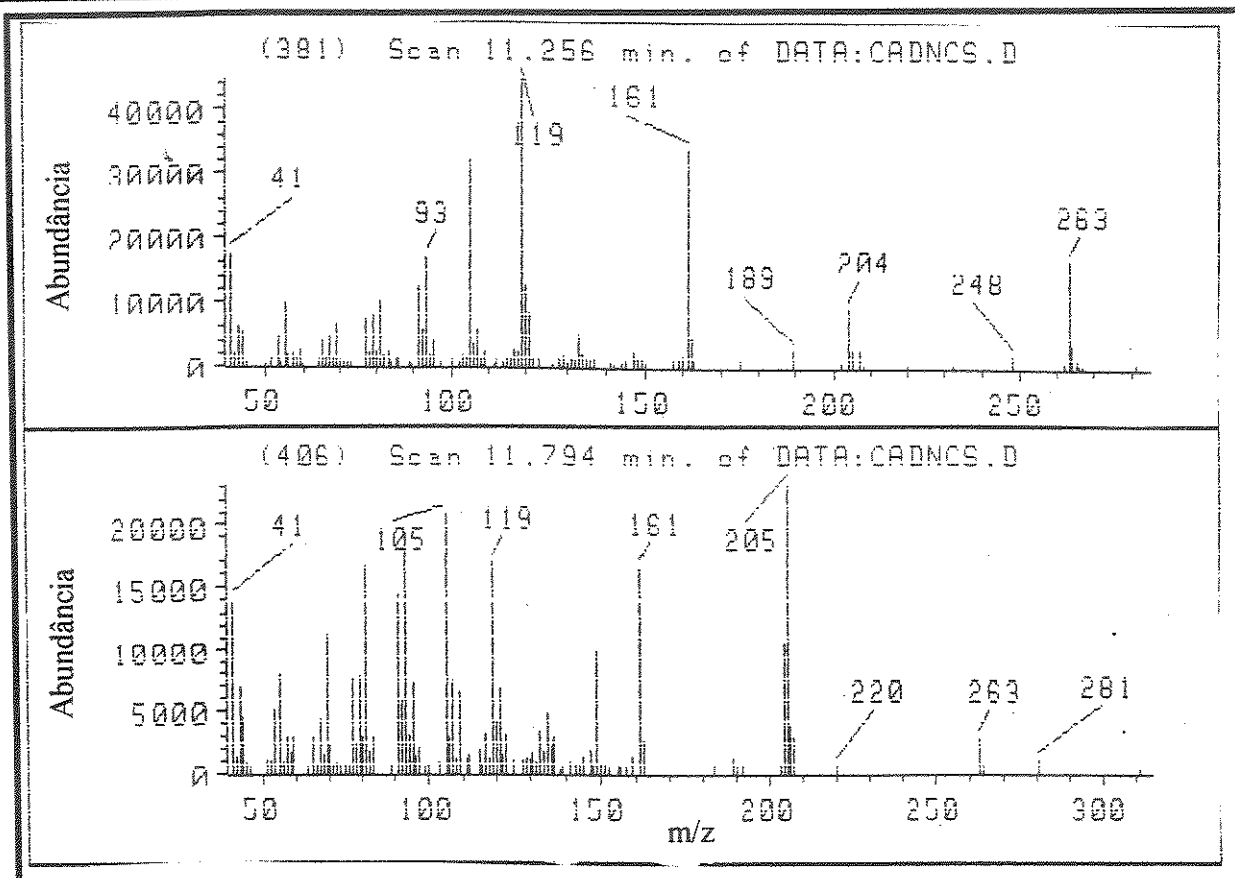
E 174 - Espectro 2D (^1H , ^1H , COSY) do composto 89.



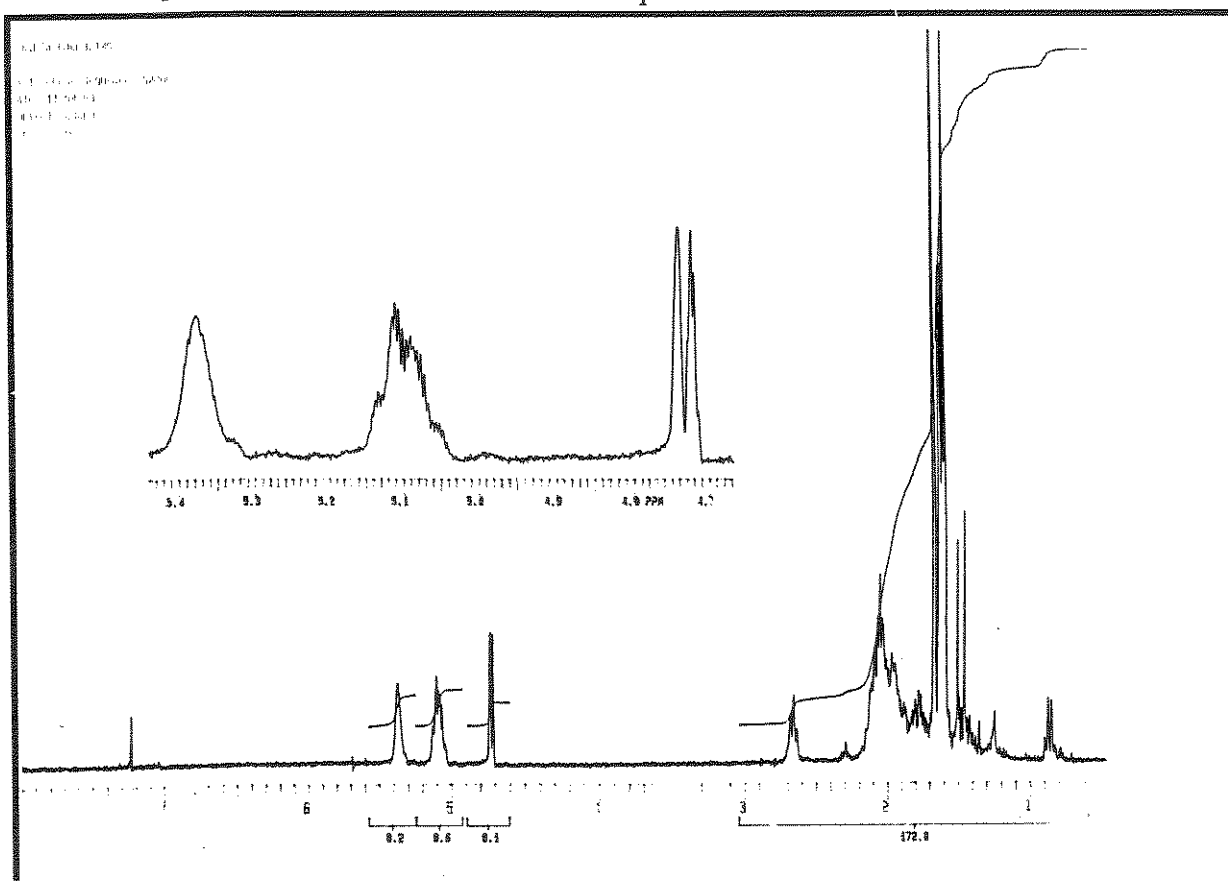
E 175 - Espectro 2D (^1H , ^{13}C -HETCOR) do composto 89.

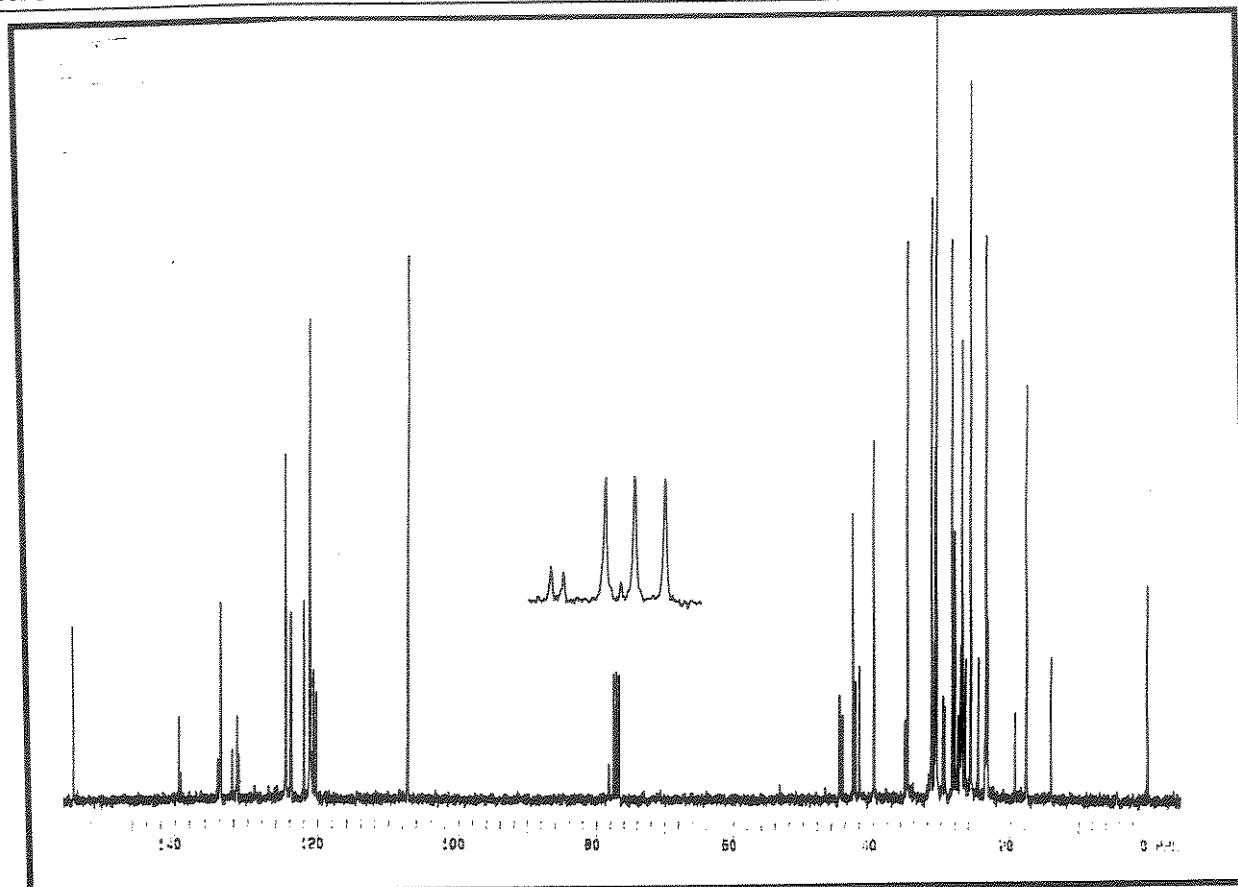


E 176 - Expansão do espectro E-175 do composto 89.

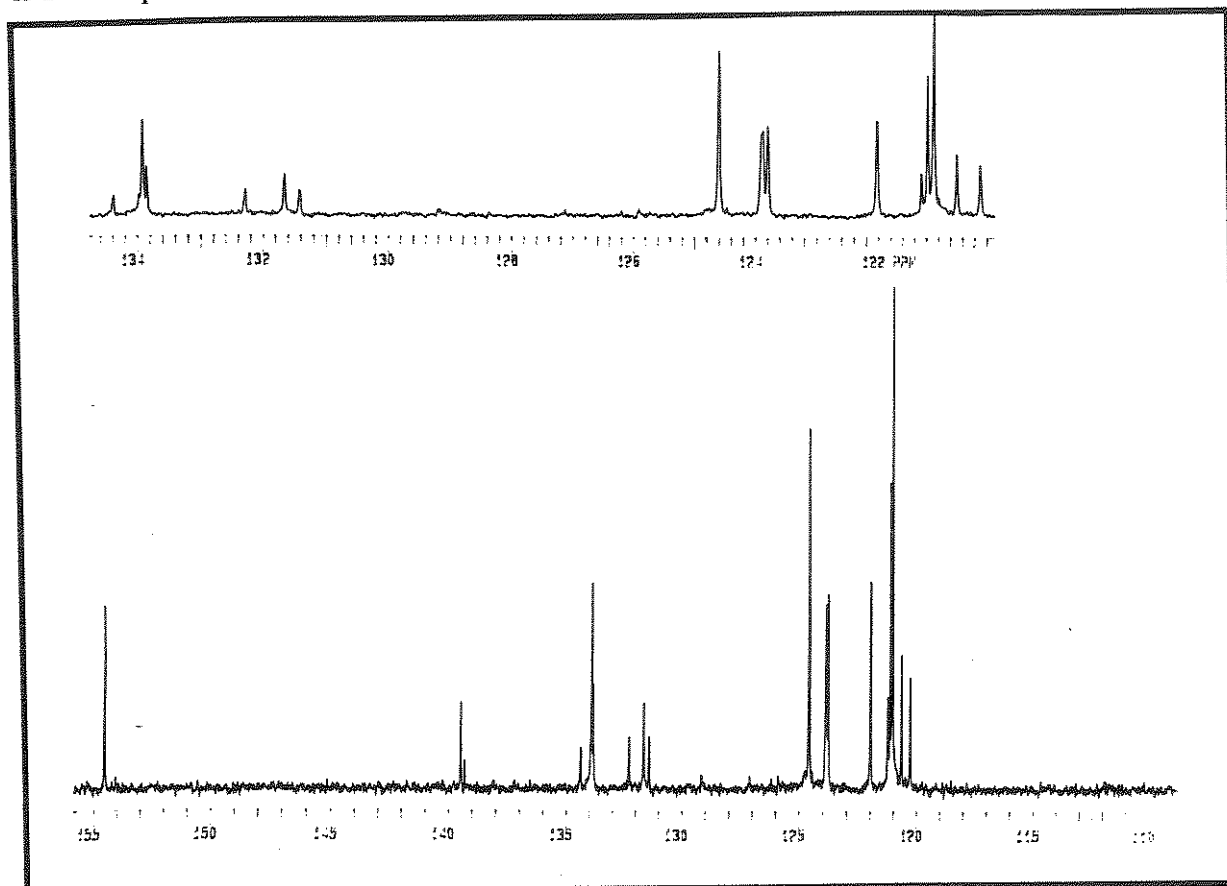


E 177 - Espectro de massas da mistura de compostos 90a e 90b

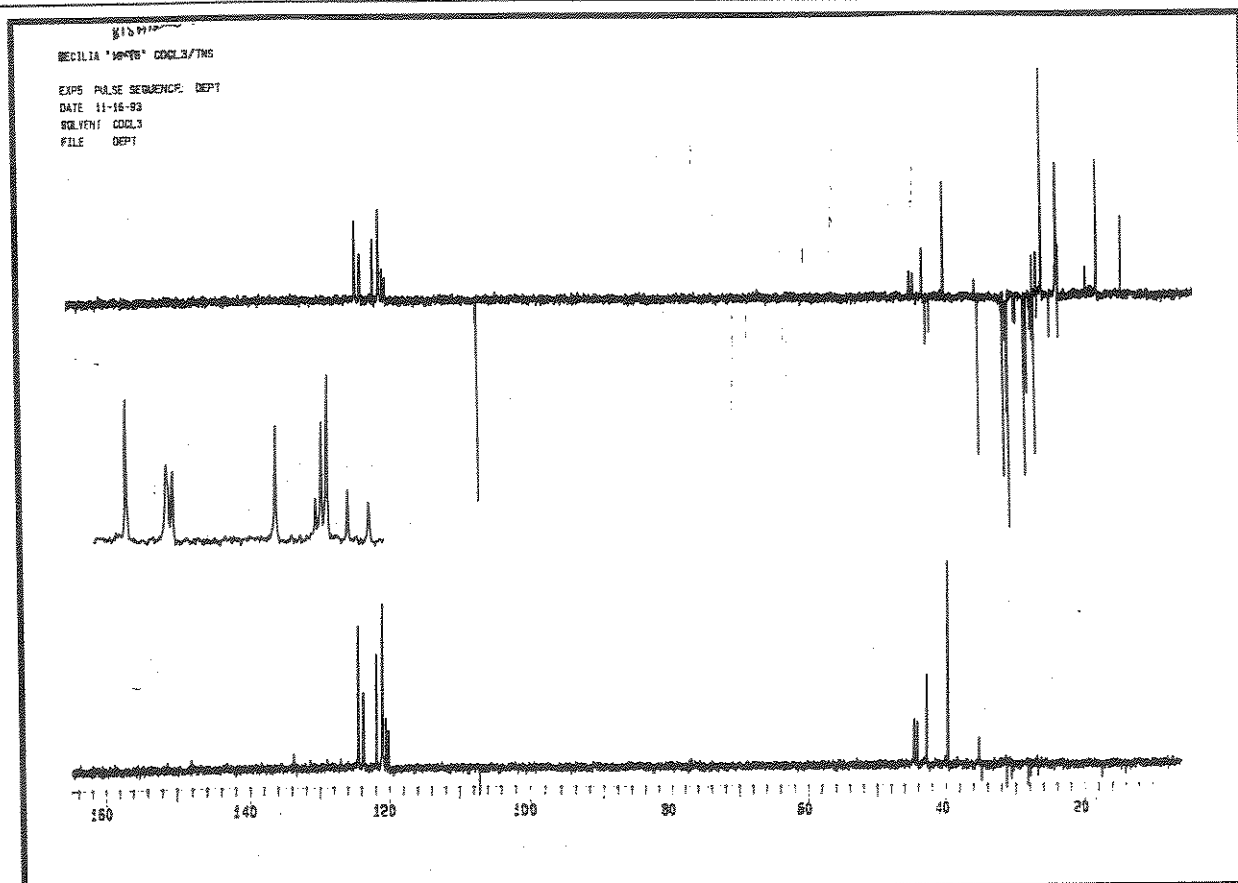
E 178 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) da mistura de bisaboleno 83(a, b, c).



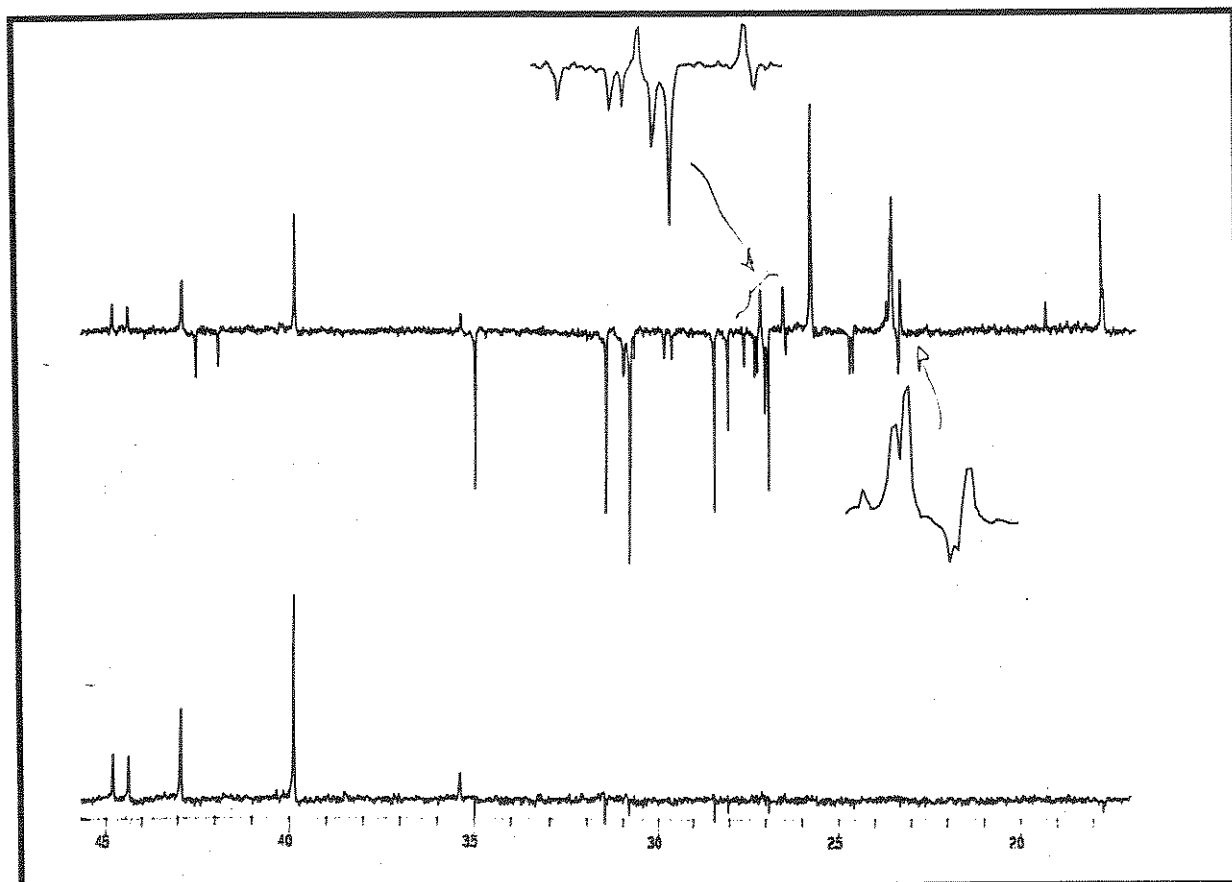
E 179 - Espectro de RMN^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) da mistura de bisaboleno 83 (a, b, c).



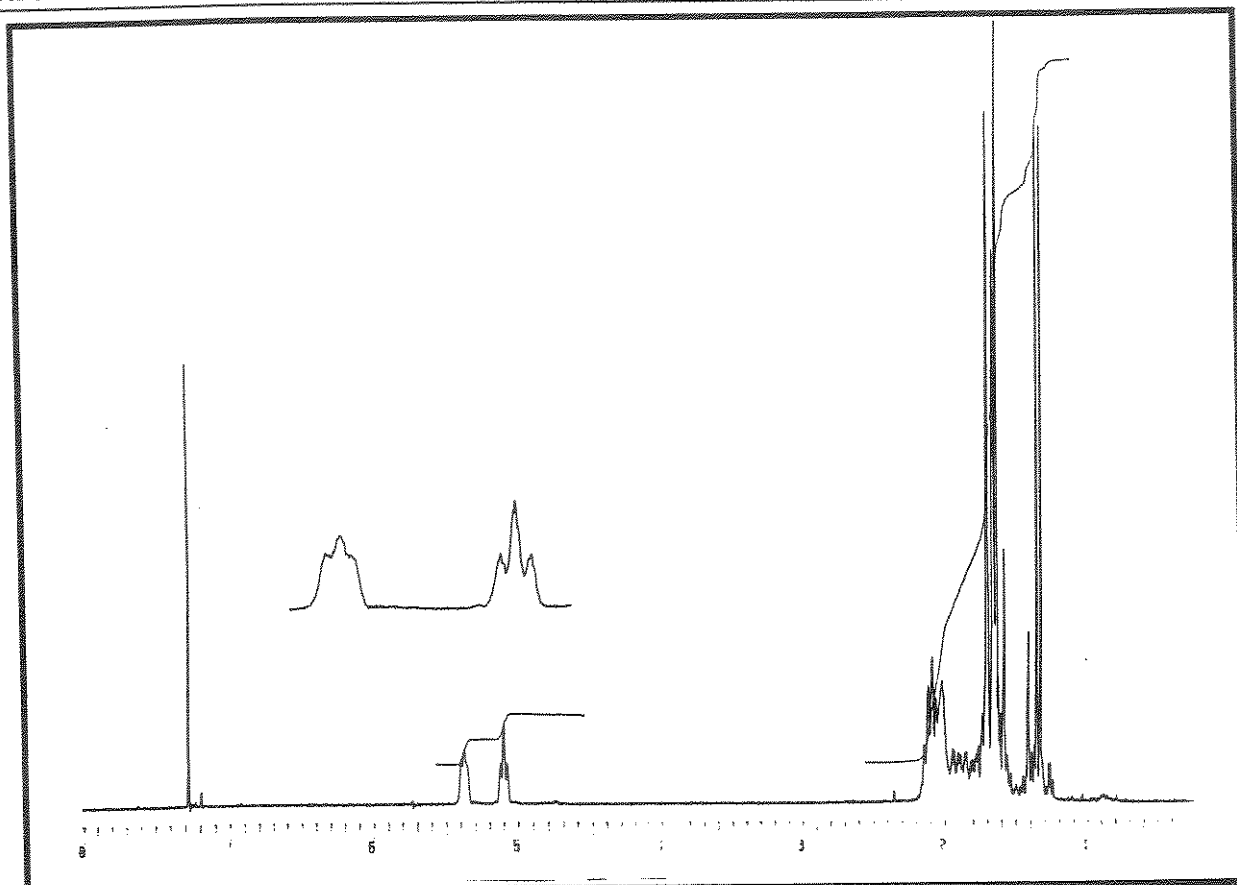
E 180 - Expansão do espectro E-179 da mistura de bisaboleno 83 (a, b, c).



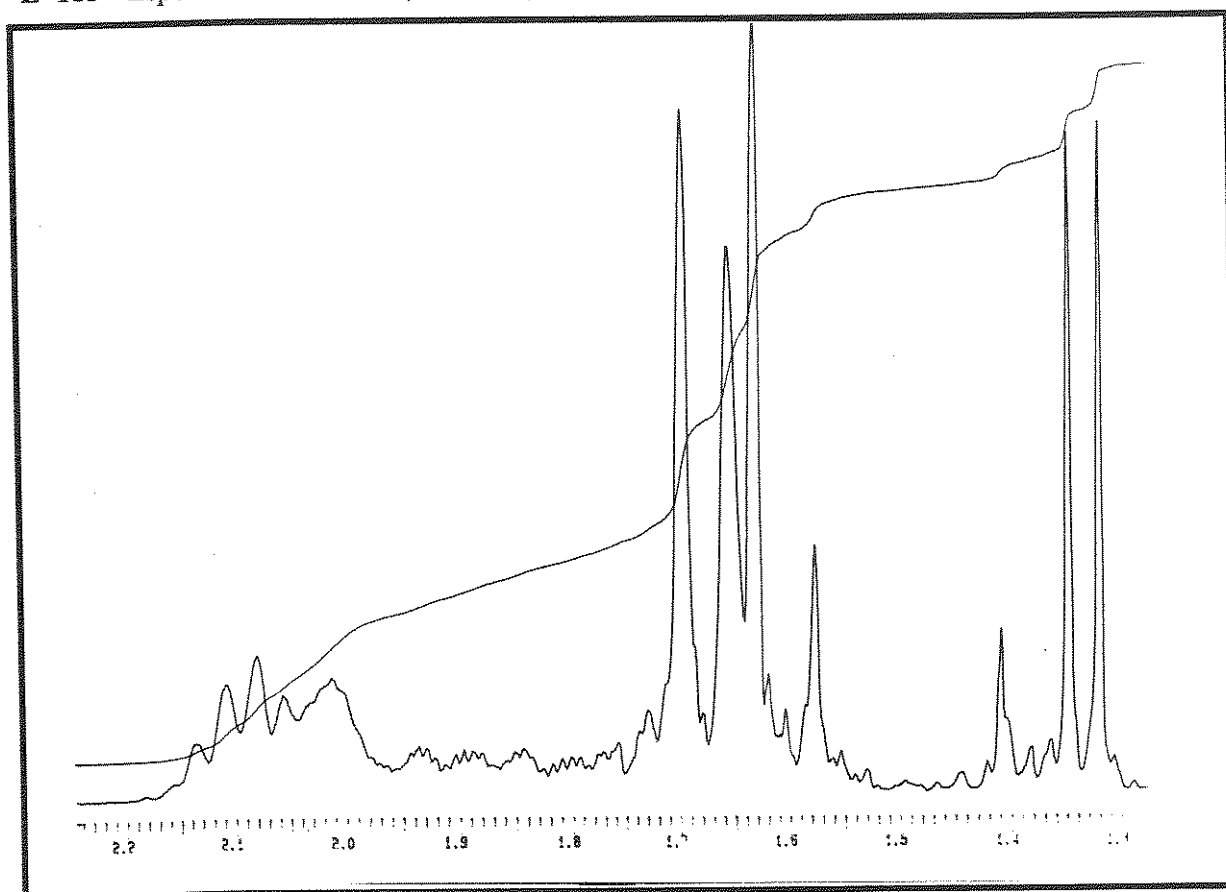
E 181 - Espectro DEPT (135° e 90°) da mistura de bisaboleno 83 (a, b, c).



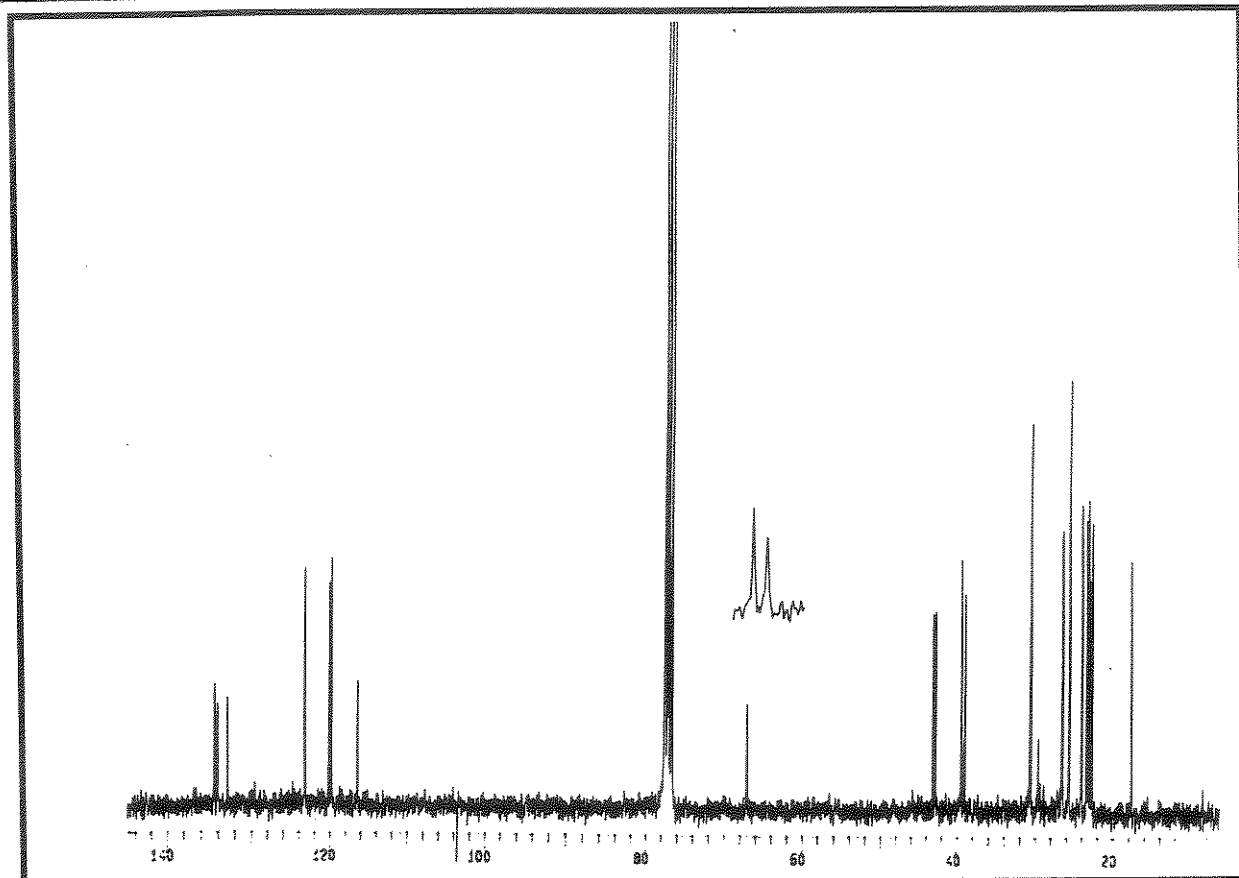
E 182 - Expansão do espectro E-181 da mistura de bisaboleno 83 (a, b, c).



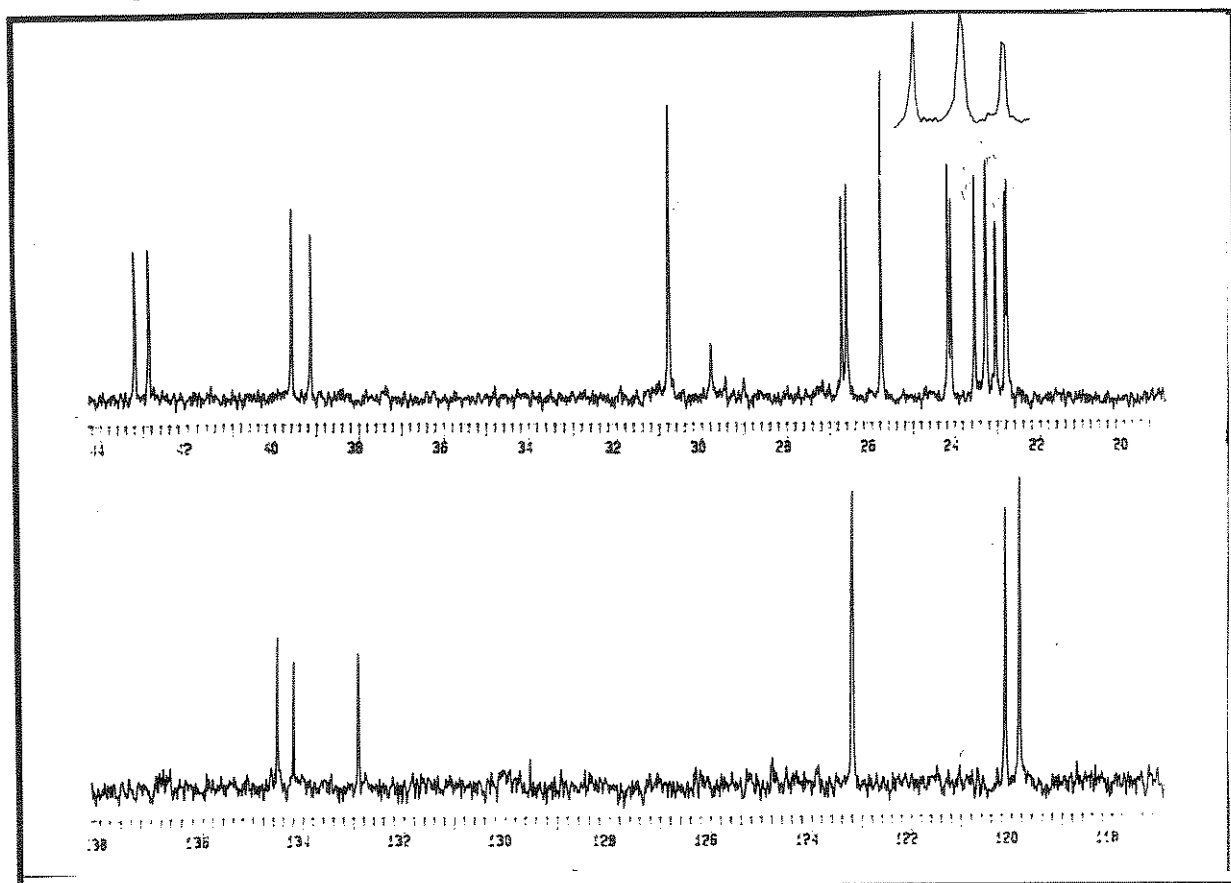
E 183 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) da mistura de compostos 84 (a e b).



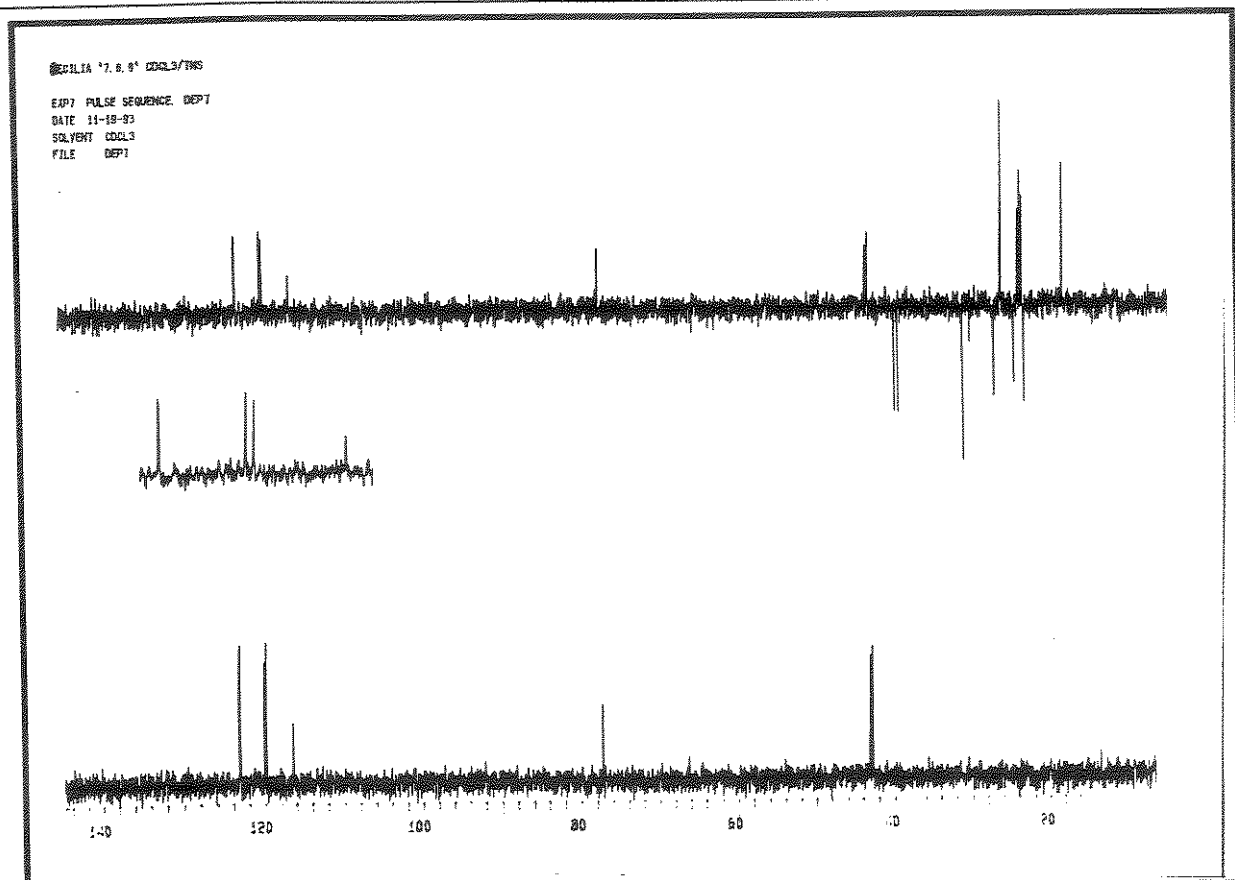
E 184 - Expansão do espectro E-183 da mistura de compostos 84 (a e b).



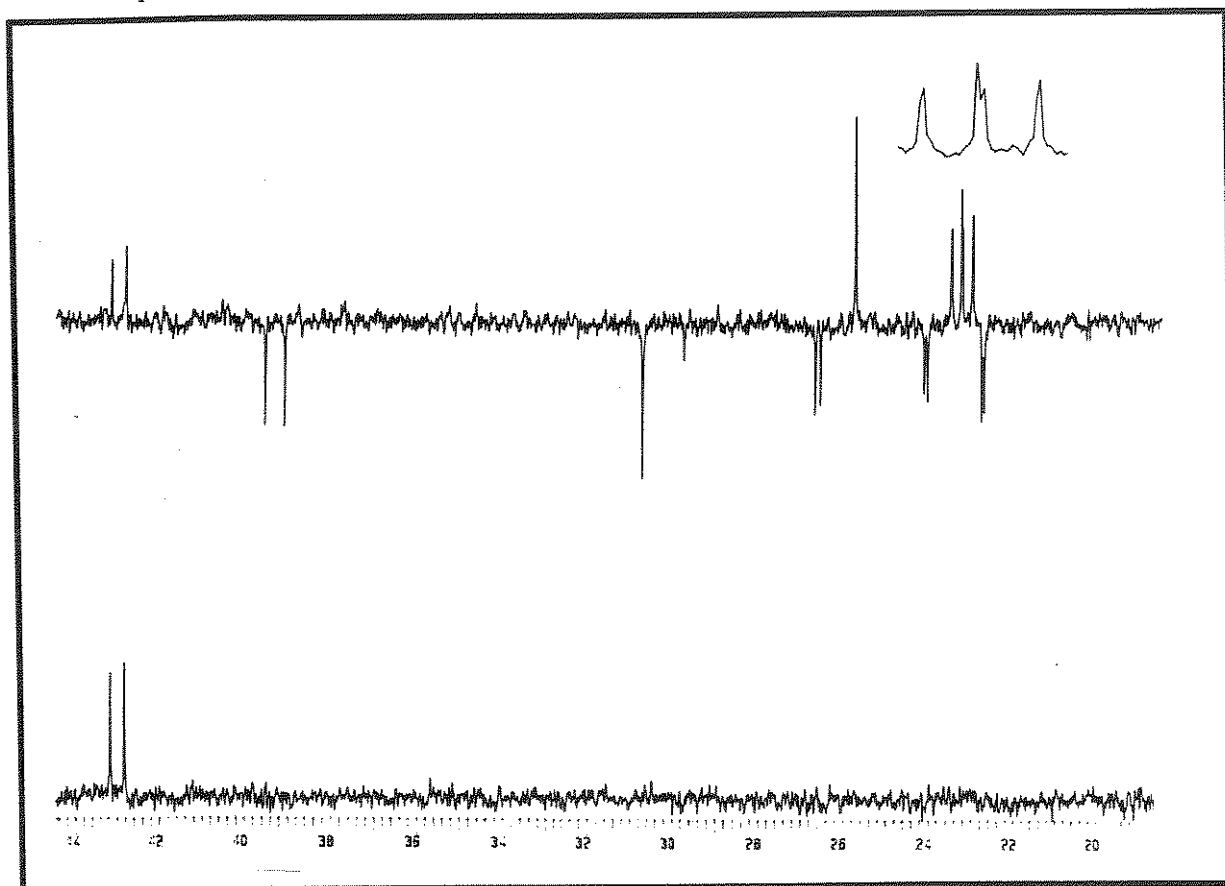
E 185 - Espectro de RMN ^{13}C (75,5 MHz, CDCl_3/TMS) da mistura de compostos 84 (a e b).



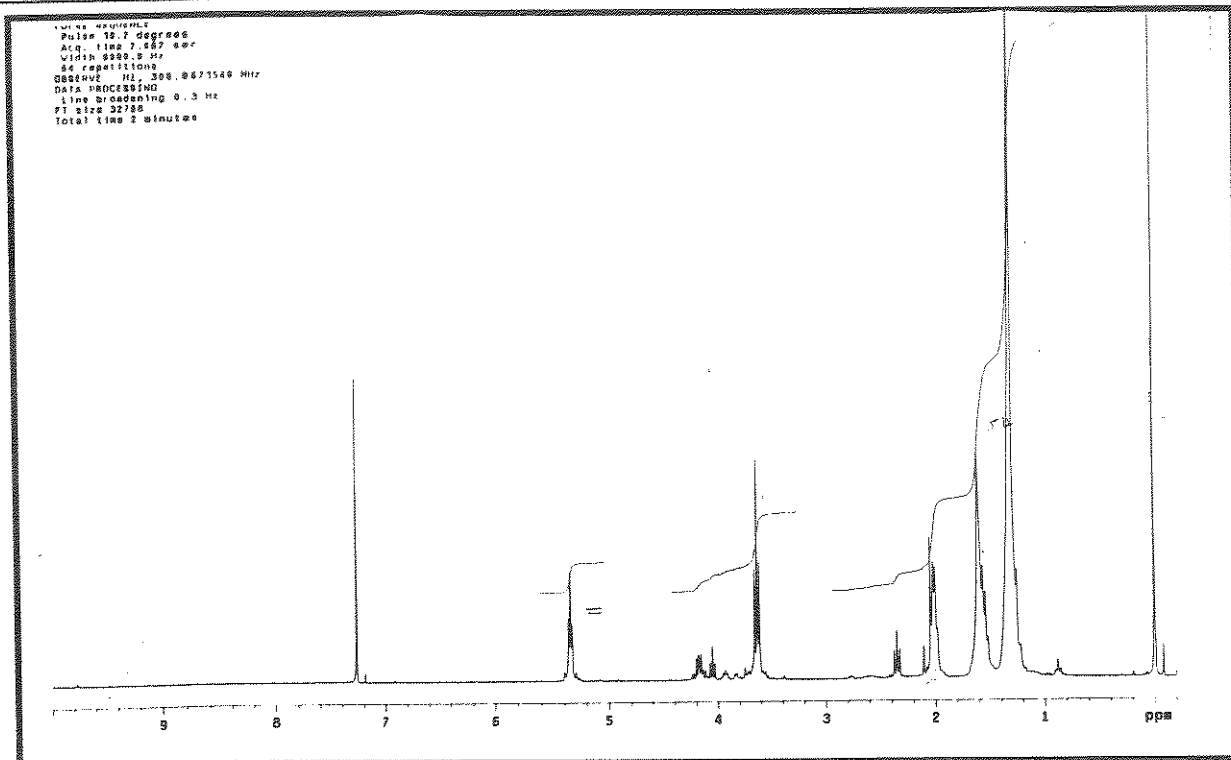
E 186 - Expansão do espectro E-185 da mistura de compostos 84 (a e b).



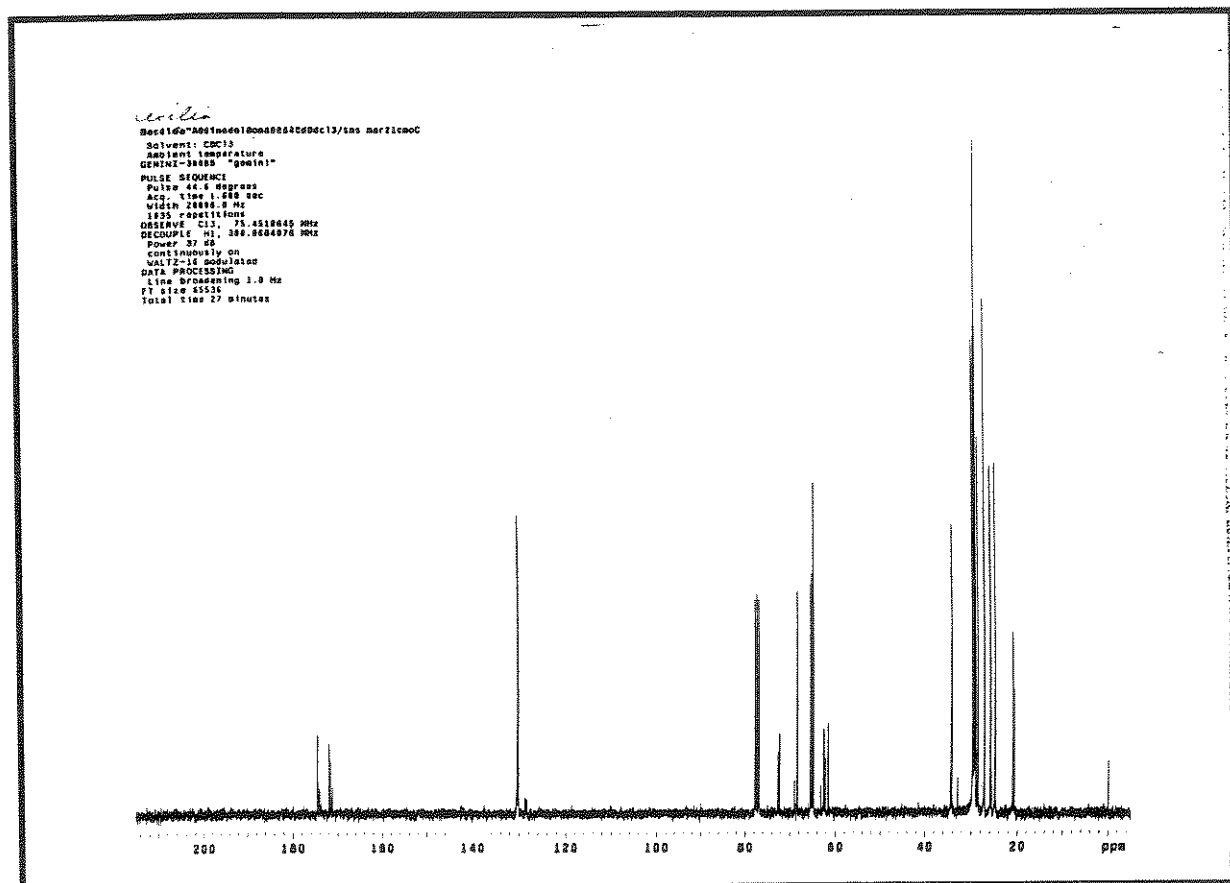
E 187 - Espectro DEPT (135° e 90°) da mistura de compostos 84 (a e b).



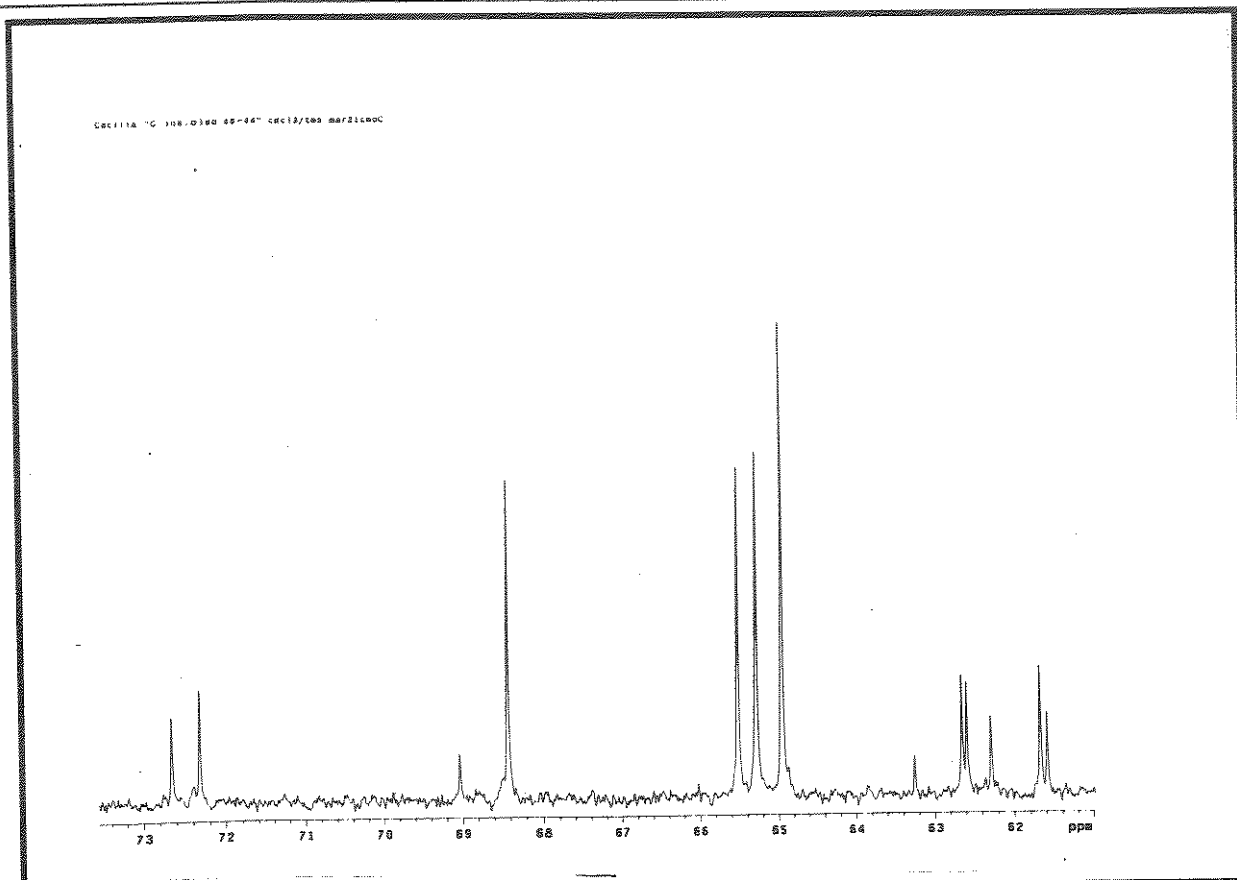
E 188 - Expansão do espectro E-187 da mistura de compostos 84 (a e b).



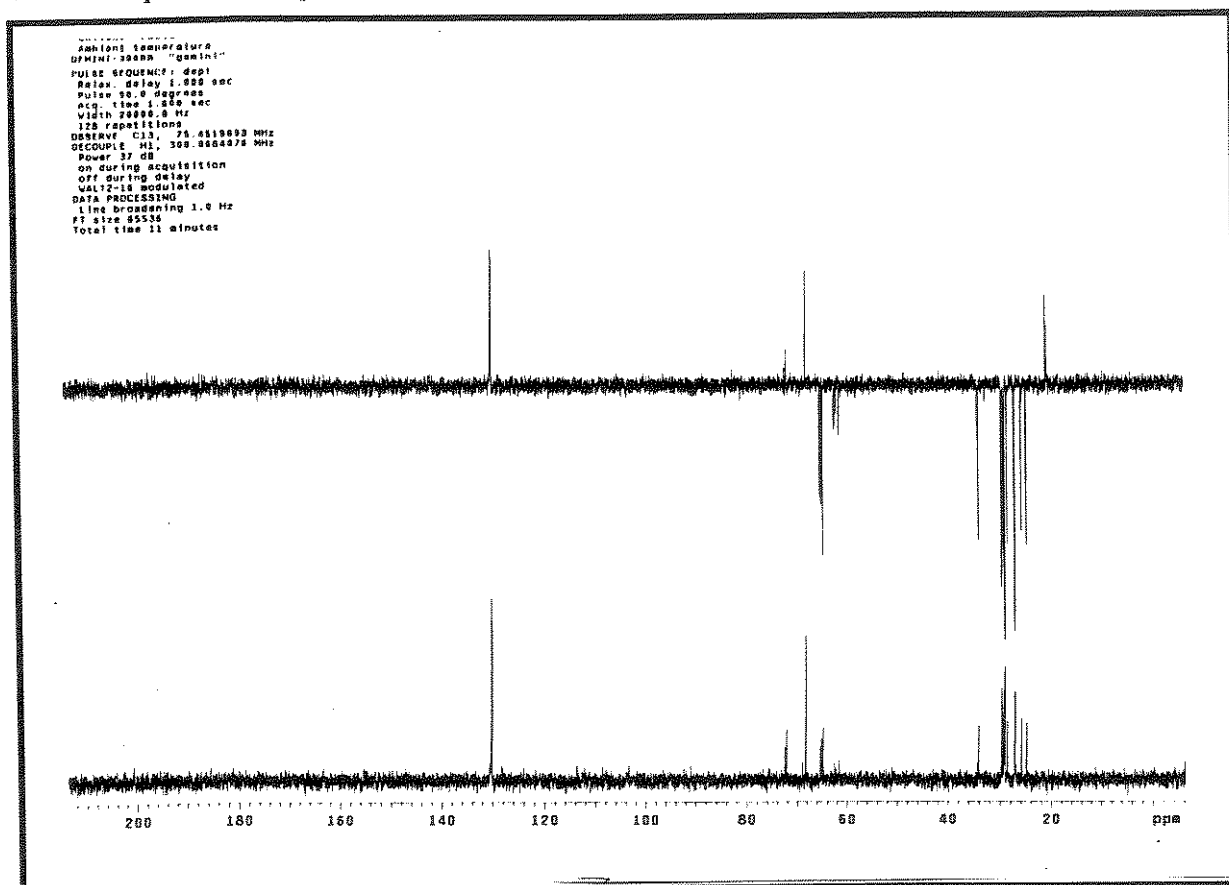
E 189 - Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3/TMS) do óleo estaminal da espécie de *Clusia gradiflora* masculina.



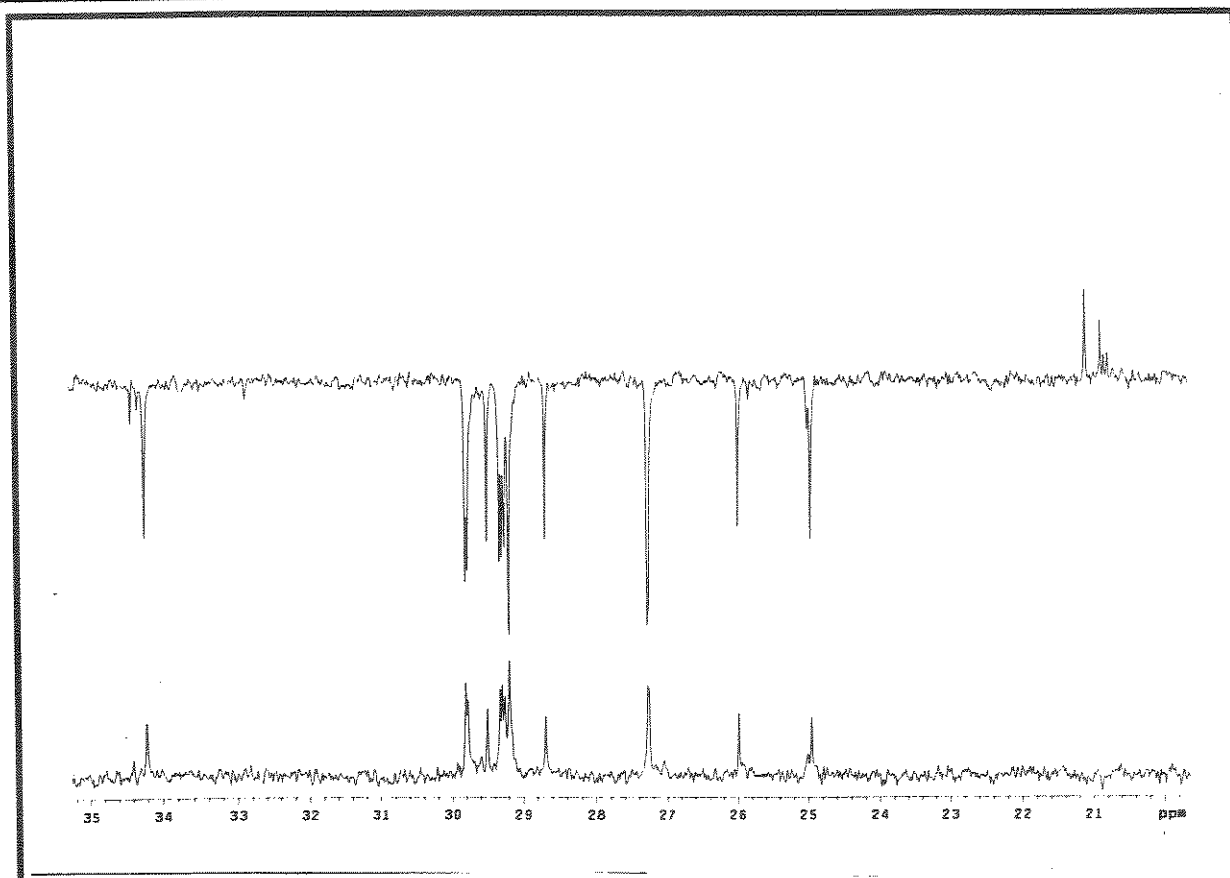
E 190 - Espectro de RMN ^{13}C (75,7 MHz, CDCl_3/TMS) do óleo estaminal da espécie de *Clusia gradiflora* masculina.



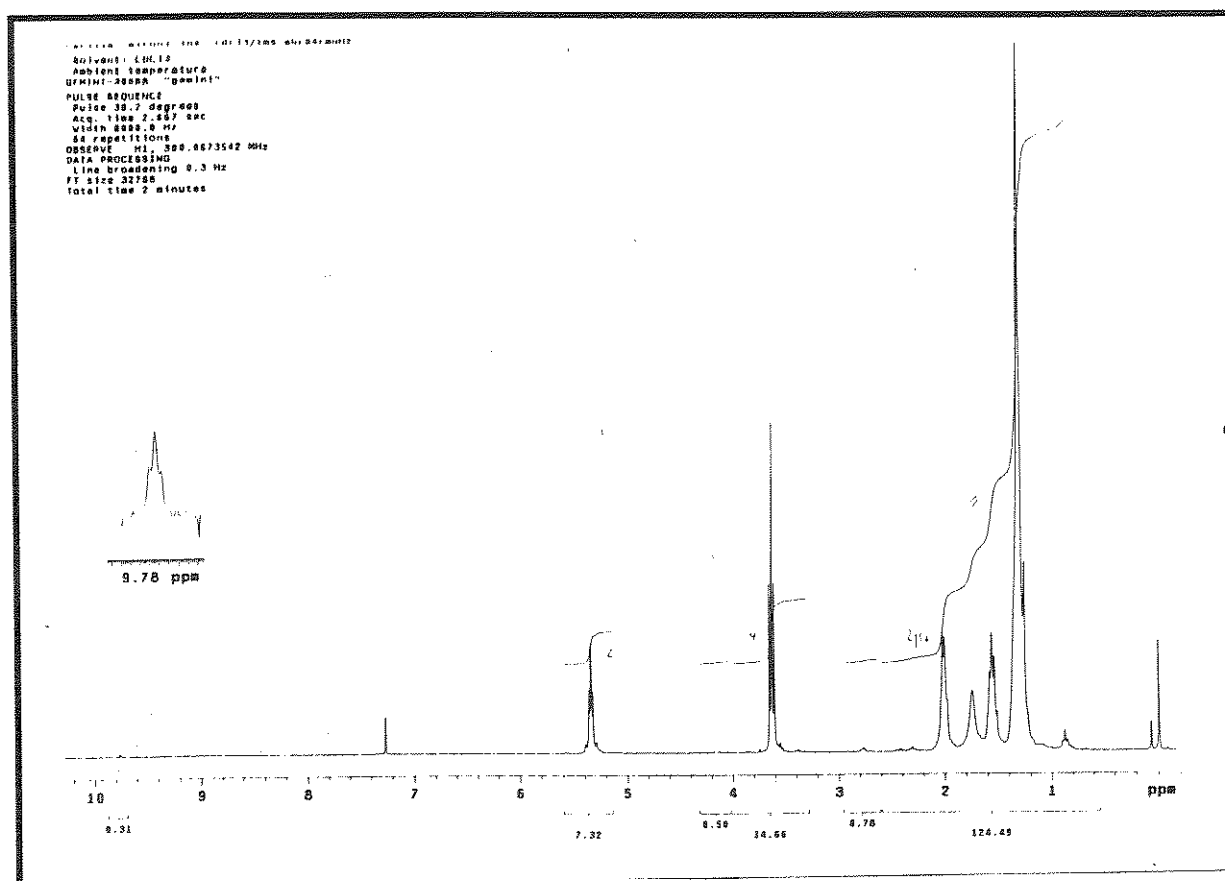
E 191 - Expansão do espectro E-190 do óleo estaminal da espécie de *Clusia gradiflora* masculina.



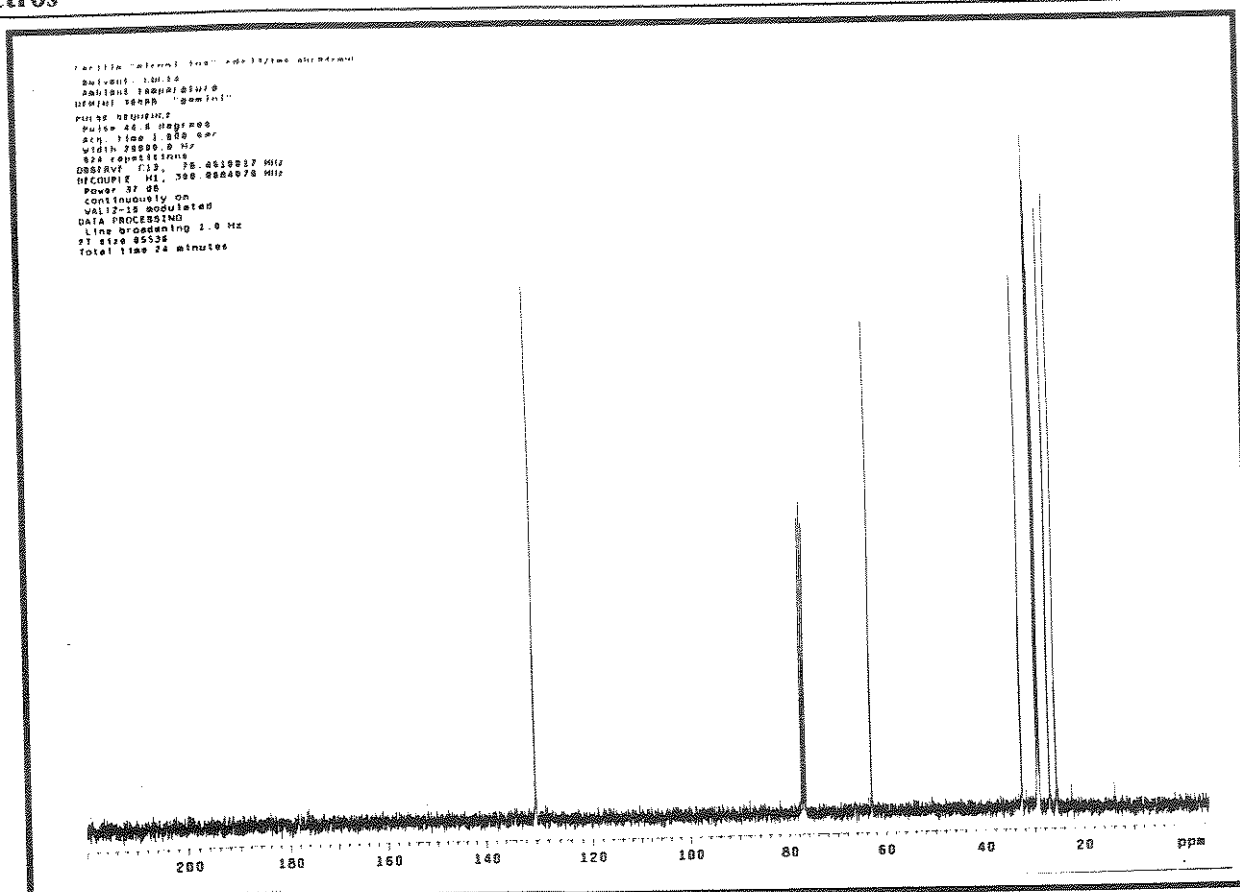
E 192 - Espectro DEPT(135° e 90°) do óleo estaminal da espécie de *Clusia gradiflora* masculina.



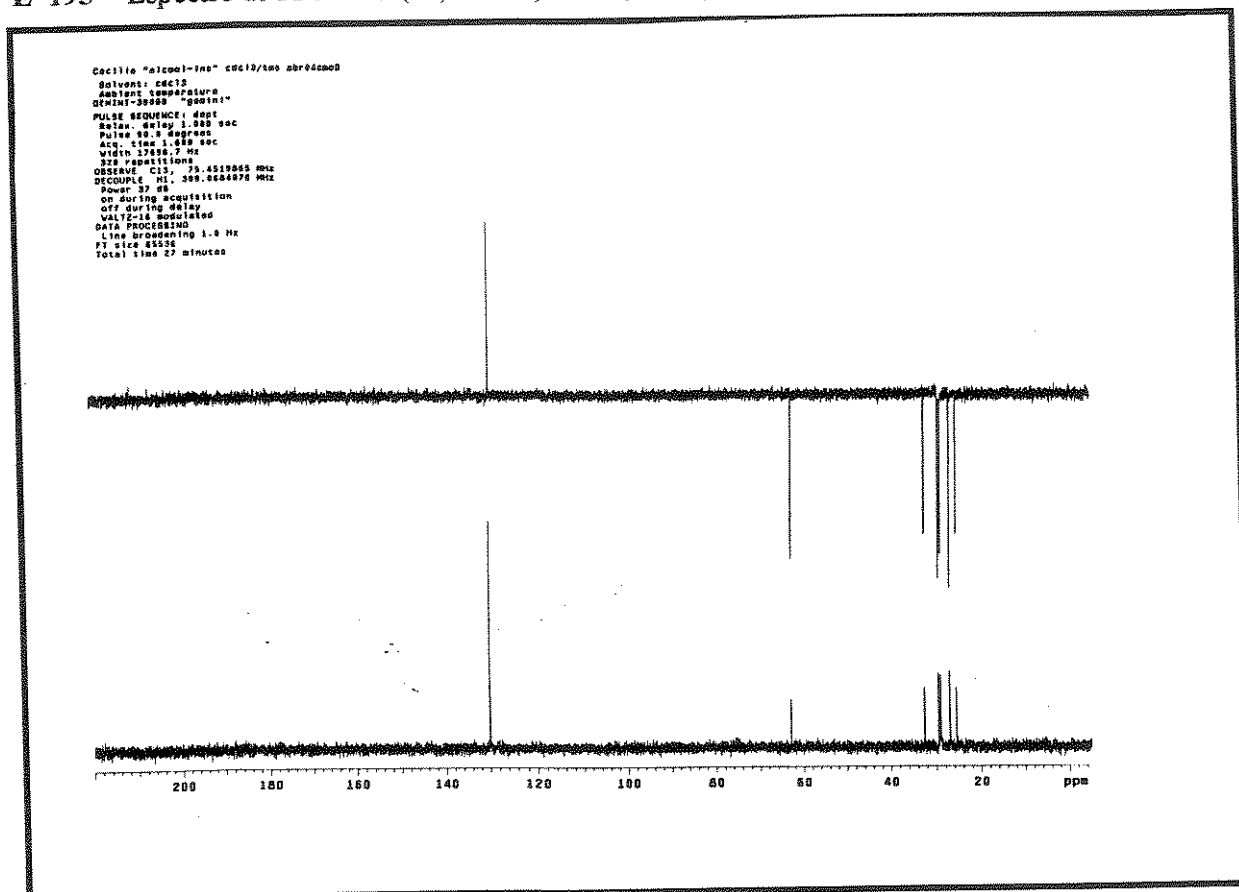
E 193 - Expansão do espectro E-192 do óleo estaminal da espécie de *Clusia gradiflora* masculina.



E 194 - Espectro de RMN ¹H(300 MHz, CDCl₃/TMS) do álcool 28.



E 195 - Espectro de RMN¹³ C (75,5 MHz, CDCl₃/TMS) do álcool 28.



E 196 - Espectro DEPT (135° e 90°) do álcool 28.