

UNICAMP

Estudo de Fragrâncias Amadeiradas da Amazônia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Química

Aluno: Eduardo Mattoso
Orientadora: Prof^ª Dra. Anita J. Marsaioli
Departamento de Química Orgânica

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

M436e Mattoso, Eduardo.
 Estudo de fragrâncias amadeiradas da Amazônia /
 Eduardo Mattoso. – Campinas, SP: [s.n], 2005.

Orientadora: Anita Jocelyne Marsaioli.

Dissertação – Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Química.

1. Biodiversidade. 2. Indústria de aromas.
3. Indústrias de fragrâncias. 4. Óleos essenciais.
I. Marsaioli, Anita Jocelyne. II. Instituto de Química.
III. Título.

Título em inglês: Study on Amazon woody fragrances

Palavras-chaves em inglês: Biodiversity, Flavor industry, Fragrance industry, Essential oils

Área de concentração: Química Orgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Orgânica

Banca examinadora: Profa. Dra. Anita Jocelyne Marsaioli (Orientadora), Prof. Dr. Sebastião Ferreira Fonseca, Dr. José Renato Cagnon

Data de defesa: 29/07/2005

Agradecimentos

Agradeço inicialmente à UNICAMP e ao Instituto de Química pela estrutura disponibilizada a serviço da educação, ciência e tecnologia.

À professora Anita Marsaioli pela orientação e, principalmente, pela paciência.

Ao professor Lauro Barata por permitir a migração para uma nova área de conhecimento e possibilitar minha atuação no mercado de óleos essenciais.

Ao Carmini e ao Wagner pelo apoio durante o início do trabalho.

Ao Prof^o Sebastião e ao Dr. Renato por aceitarem o trabalho de banca, pelas correções, sugestões e comentários.

Aos colegas (hoje amigos!) de laboratório pelo companheirismo e incentivo.

Aos funcionários e prestadores de serviços do IQ que operaram os vários equipamentos necessários à conclusão deste trabalho.

Aos demais professores e funcionários do IQ, que de uma forma ou de outra contribuíram para a finalização desta dissertação.

Muito obrigado a todos!

CURRICULUM VITAE

EDUARDO MATTOSO

Formação Acadêmica

1999 – Bacharel em Física

Instituição: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Unidade: Instituto de Física Gleb Wataghin (IFGW)

Experiência Acadêmica

1998,1999 – Laboratório de Hidrogênio – IFGW – UNICAMP

1999 – Laboratório de Química de Produtos Naturais – Instituto de Química (IQ) – UNICAMP

2001 – Ingresso na pós-graduação (mestrado) – Profº Dr Lauro Barata– IQ – UNICAMP

2003 – Ingresso no grupo da Profª Dra. Anita J. Marsaioli – IQ – UNICAMP.

Experiência Profissional

“*P&D de produtos das folhas de Pau-rosa*” (BASA/Bioamazônia) – Amazônia – 2001

“Conservação e Utilização de Populações Naturais de *Aniba rosaeodora* (Pau-rosa) no estado do Amazonas” (PRODETAB/Embrapa Amazônia Ocidental) – 2001

Fundação da empresa Aromática Produtos Naturais – 2001

Atividade atual

Prestação de serviços e assessoria em prospecção de plantas brasileiras com aplicações industriais.

Desenho e acompanhamento na execução de equipamentos extração.

Consultor voluntário – Associação Vida Verde da Amazônia, Silves – AM.

Desenvolvimento de produtos aromáticos da biodiversidade brasileira para uso em perfumaria e aromaterapia.

Cursos e eventos técnicos

2000 – Curso Brasil Empreendedor – SEBRAE.

2001 – V Jornada Paulista de Plantas Medicinais – UNESP – Botucatu.

2001 – II Reunião Técnica do Pau-rosa – Embrapa Amazônia Ocidental.

2003 – Amazontech: novos rumos para ciência, tecnologia e negócios sustentáveis – Manaus.

2004 – 6º Simpósio Internacional de Aromaterapia Científica e Plantas Medicinais – Grasse – França.

2004 – 5º Centifolia – Congresso Internacional Perfumaria e Matérias Primas Naturais – Grasse – França.

RESUMO

Estudo de fragrâncias amadeiradas da Amazônia

Autor: Eduardo Mattoso

Orientadora: Prof^a Dr^a Anita J. Marsaioli

O trabalho apresenta uma breve descrição do mercado mundial de óleos essenciais dentro da indústria de Aromas e Fragrâncias (A&F). Como será explicitado, os produtos oriundos da flora Brasileira são poucos e estão no mercado há mais de 50 anos. Isto é, apesar de contarmos com uma grande biodiversidade, o número de inovações para o mercado de A&F é insignificante.

Com a proposta de apresentar novos óleos essenciais, estudamos 3 espécies produtoras de material aromático: dois óleos essenciais (*Aniba parviflora* e *Cyperus articulatus*) e um bálsamo (*Protium rubrum*). A análise preliminar dos três materiais nos permitiu selecionar compostos não identificados pela biblioteca do cromatógrafo, motivando o trabalho de isolamento e caracterização por RMN de ^1H e ^{13}C .

Do óleo essencial das folhas de *A. parviflora* foram isolados e caracterizados 3 compostos, sendo um deles ainda não relatado para a família, ou mesmo isolado de plantas brasileiras. Devido à semelhança deste composto com o produto comercial valenceno, isômeros de posição, foi feita a hidratação seletiva deste último com fins de comparação do valor olfativo.

O bálsamo exsudado do caule de *P. rubrum* nos forneceu dois compostos de mesma estrutura básica, também nunca antes isolados no Brasil ou mesmo na família Burseraceae.

O terceiro e último óleo, extraído dos rizomas de *C. articulatus*, nos permitiu isolar, através das respectivas 2,4-dinitrofenil-hidrazonas, um aldeído monoterpênico e uma cetona sesquiterpênica.

ABSTRACT

Study on Amazon woody fragrances

Author: Eduardo Mattoso

Advisor: Prof^a Dra. Anita J. Marsaioli

This work presents a brief description of the essential oils world market inside the Flavor and Fragrances (F&F) industry. As will be explained, the actual Brazilian products are quite a few and are available for more than 50 years. That means, although our fabulous biodiversity, the number of innovations for the F&F market is insignificant.

In an attempt to present new essential oils, we studied 3 aromatic raw material supplier species: two essential oils (*Aniba parviflora* and *Cyperus articulatus*) and a balsam (*Protium rubrum*). The preliminary GC-MS analysis of the three extracts permitted us to select non-identified compounds by the chromatograph library, motivating the isolation and ^1H and ^{13}C NMR characterization work.

From the *A. parviflora* essential oil 3 compounds were isolated and characterized, one of them not yet reported from this family or isolated from Brazilian plants. Due to the similarity of this molecule to the commercial compound valencene, position isomers, a selective hydration was done in this last, for olfactory comparison purposes.

From *P. rubrum* balsam two compounds with the same basic structure were isolated. They were also never before identified in Brazil or from the Burseraceae family.

The third and last oil, extracted from *C. articulatus* roots by steam distillation, gave us, through the respective 2,4-dinitrophenyl-hydrazones, one monoterpenic aldehyde and a sesquiterpenic ketone.

Índice

Índice	xiii
Listagem de abreviaturas.....	xvii
Lista de tabelas.....	xix
Lista de figuras.....	xxi
1 – Introdução	1
1.1 – Mercado global.....	3
1.2 – Brasil.....	4
2 – Formas de apresentação de matérias-primas naturais na indústria de Aromas e Fragrâncias.....	9
3 – Classificação olfativa de matérias-primas.....	15
3.1 – Notas.....	17
3.2 – Acordes.....	21
4 – Revisão bibliográfica das espécies estudadas.....	23
4.1 – <i>Aniba fragans</i> Ducke (Lauraceae).....	25
4.2 – <i>Protium rubrum</i> Cuatrec (Burseraceae)	29
4.3 – <i>Cyperus articulatus</i> L. (Cyperaceae).....	31
5 – Objetivos	33
6 – Resultados e discussão	35
6.1 – <i>Aniba fragans</i> Ducke ou.....	35
6.1.1 – Identificação do composto AF 105.....	40
6.1.2 – Preparação de um isômero de Jinkoh-eremol	51
6.1.3 – Outros compostos isolados do óleo essencial de <i>A. parviflora</i>	55
6.1.3.1 – Pontos principais na caracterização de espatulenol.....	57
6.1.3.2 – Pontos principais na caracterização de β -eudesmol	61
6.1.4 – Conclusão do estudo de <i>Aniba parviflora</i>	63
6.2 – <i>Protium rubrum</i> Cuatrec.....	65
6.2.1 – Identificação do composto PR 192.....	69

6.2.2 – Identificação do composto PR 210	77
6.2.3 - Conclusão do estudo de <i>Protium rubrum</i>	79
6.3 – <i>Cyperus articulatus</i> L.	81
6.3.1 – Identificação de E59F2	86
6.3.1.1 – Atribuição do segmento originado da 2,4-dinitrofenil-hidrazina	90
6.3.1.2 – Atribuição do segmento terpênico	94
6.3.2 – Identificação de E59F15	103
6.3.3 – Conclusão do estudo de <i>Cyperus articulatus</i>	112
7 – Conclusão final	113
8 – Experimental	115
8.1 – Cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada	115
8.1.2 – Detalhamento do procedimento apresentado na Figura 5	115
8.2 – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)	116
8.3 – Espectroscopia no infravermelho	117
8.4 – Dicroísmo circular	117
8.5 – Reações químicas	117
8.5.1 – Trifluoro-acetilação do valenceno	117
8.5.2 – Hidrólise do trifluoro-acetato de valerianila	118
8.5.3 – Formação das 2,4-dinitro-fenil-hidrazonas	118
8.6 – Condições dos experimentos de RMN	119
8.6.1 – Técnicas unidimensionais	119
8.6.2 – Técnicas bidimensionais	120
8.7 – Compostos identificados	122
8.7.1 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de jinkoh-eremol	122
8.7.2 - Dados espectroscópicos e espectrométricos do Espatulanol	123
8.7.3 - Dados espectroscópicos e espectrométricos do β -eudesmol	123
8.7.5 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de 1-isopropenil-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno	124

8.7.6 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de 1-isopropanol-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno	125
8.7.7 - Dados espectroscópicos de α -ciperona-2,4-dinitrofenil-hidrazina	125
8.7.8 - Dados espectroscópicos de mirtenal-2,4-dinitrofenil-hidrazina	126
ANEXO 1	127
ANEXO 2	129
ANEXO 3	131
ANEXO 4	135
ANEXO 5	139
ANEXO 6	141

Listagem de abreviaturas

A&F – aromas e fragrâncias

C₀ – carbono quaternário

CCD – cromatografia em camada delgada

CC – cromatografia em coluna

CG-EM – cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas

COLOC - correlated spectroscopy for long-range couplings

COSY – correlation spectroscopy

d – dubleto

dd – duplo-dubleto

ddd – duplo-duplo-dubleto

dddd – duplo-duplo-duplo-dubleto

DEPT – distortionless enhancement by polarization transfer (incremento sem distorção por transferência de polarização)

DNP – dinitrofenil (do inglês dinitrophenyl)

EM – espectrometria de massas

ftd – falso triplo dubleto

HETCOR – heteronuclear chemical shift correlation (deslocamento químico de correlação heteronuclear)

HMBC – heteronuclear multiple bond coherence (RMN 2D de correlação ¹H-¹³C a múltiplas ligações)

HSQC - heteronuclear single quantum correlation (RMN 2D de correlação ¹H-¹³C a uma ligação)

IV – infravermelho

KI – Kovats index (índice de Kovats ou índice de retenção)

m – multiplete

m/z – relação massa/carga

$M^{\cdot+}$ – íon molecular

MHz – megahertz

nJ – constante de acoplamento a n ligações

qd – quarteto duplo

RMN – ressonância magnética nuclear

s – singleto

sl – singleto largo

Lista de tabelas

Tabela 1: distribuição de vendas de A&F por continente em Junho 2000.....	3
Tabela 2: distribuição de vendas fragrâncias.....	4
Tabela 3: distribuição de vendas de aromas.....	4
Tabela 4: correlação ^1H e ^{13}C de uma ligação (HETCOR) do composto AF 105	45
Tabela 5: compostos identificados no bálsamo de <i>P. rubrum</i>	66
Tabela 6: atribuições dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto PR 192	71
Tabela 7: correlação ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) de E59F2 – 2,4-dinitrofenil- hidrazona.....	89
Tabela 8: correlação ^1H - ^{13}C de uma ligação (HSQC) de E59F15 – 2,4-dinitrofenil- hidrazona.....	107
Tabela 9: compostos identificados no óleo de <i>A.parviflora</i>	127
Tabela 10: compostos identificados no óleo de <i>Cyperus articulatus</i>	141

Lista de figuras

Figura 1: mapa do Estado do Pará e expansão mostrando a região da Estação Experimental da UFRA.....	26
Figura 2: mapa do Estado do Amazonas e expansão mostrando o Município de Silves.	30
Figura 3: mapa do Estado do Pará e expansão mostrando a região metropolitana de Belém e parte do Município de Acará	32
Figura 4: cromatograma de íons totais do óleo essencial de <i>Aniba fragans</i>	37
Figura 5: fluxograma de concentração do composto AF 105 a 80%.....	39
Figura 6: espectro de absorção no infravermelho do composto AF 105.	40
Figura 7: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto AF 105.	41
Figura 8: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do composto AF105.....	42
Figura 9: espectro de RMN de ^{13}C DEPT 90 e 135 do composto AF 105	42
Figura 10: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto AF 105.....	44
Figura 11: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto AF 105.....	44
Figura 12: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HETCOR) do composto AF 105.....	46
Figura 13: expansão do mapa de contorno de RMN bidimensional de correlação ^1H - ^{13}C de longa distância (COLOC) do composto AF 105.....	46
Figura 14: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto AF 105.....	47
Figura 15: NOE gerado pela irradiação do hidrogênio axial em δ_{H} 2,20, no composto AF 105.	48
Figura 16: NOE gerado pela irradiação dos hidrogênios da metila em δ_{H} 0,80, no composto AF 105.	48
Figura 17: estrutura do jinkoh-eremol com deslocamentos químicos (em ppm) dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C	49

Figura 18: fragmentação do composto jinkoh-eremol.....	50
Figura 19: reação de limoneno com ácido tri-fluoro acético resultando em tri-fluoro acetato de terpenila.....	52
Figura 20: reação do valenceno com ácido tri-fluoro acético e posterior hidrólise para obtenção do valerianol.	52
Figura 21: espectro de absorção no infravermelho do valerianol.....	53
Figura 22: espectro de absorção no infravermelho do espatulenol.....	56
Figura 23: espectro de RMN de ^1H de espatulenol.....	56
Figura 24: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de espatulenol.....	58
Figura 25: espectros de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 de espatulenol.	58
Figura 26: espectro de absorção no infravermelho do composto β -eudesmol.	60
Figura 27: espectro de RMN de ^1H de β -eudesmol.	60
Figura 28: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de β -eudesmol.....	62
Figura 29: espectros de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 de β -eudesmol.	62
Figura 30: cromatograma de íons totais do óleo essencial de <i>Protium rubrum</i>	66
Figura 31: espectro de absorção no infravermelho do composto PR 192.	68
Figura 32: espectro de RMN de ^1H do composto PR 192.	68
Figura 33: espectros de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do composto PR 192.	70
Figura 34: espectros de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 do composto PR 192.....	70
Figura 35: mapa de contorno de RMN 2D de correlação ^1H - ^1H (COSY) do composto PR 192.	72
Figura 36: mapa de contorno de RMN 2D de correlação ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto PR 192.....	72
Figura 37: NOE gerado pela irradiação dos hidrogênios da metila em δ_{H} 2,25, no composto PR 192.	74
Figura 38: NOE gerado pela irradiação do hidrogênio em δ_{H} 5,16, no composto PR 192.....	74
Figura 39: espectro de absorção no infravermelho do composto PR 210.	76
Figura 40: espectro total de RMN ^1H do composto PR 210.....	76

Figura 41: espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto PR 210.	78
Figura 42: espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 90 e 135 do composto PR 210.	78
Figura 43: cromatograma de íons totais do óleo de <i>Cyperus articulatus</i>	82
Figura 44: espectro de absorção no infravermelho o composto E59F2.....	85
Figura 45: espectro de RMN de ^1H do composto E59F2.	85
Figura 46: espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto E59F2	87
Figura 47: espectros de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 do composto E59F2..	87
Figura 48: mapa de contorno de RMN 2D correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de uma ligação (HSQC) do composto E59F2.....	88
Figura 49: expansão do espectro de RMN de ^1H na região dos hidrogênios aromáticos de E59F2.....	90
Figura 50: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2.	91
Figura 51: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2.	91
Figura 52: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F2.	93
Figura 53: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (HMBC) de longa distância do composto E59F2.	93
Figura 54: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2	94
Figura 55: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (HMBC) do composto E59F2.	95
Figura 56: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F2.	95
Figura 57: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2.	97
Figura 58: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) do composto E59F2.....	97

Figura 59: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F2.	99
Figura 60: NOE gerado pela irradiação dos hidrogênios da metila em δ_{H} 1,18 no composto E59F2.....	99
Figura 61: NOE gerado pela irradiação do hidrogênio em δ_{H} 2,50 no composto E59F2.	100
Figura 62: NOE gerado pela irradiação do hidrogênio em δ_{H} 2,76 no composto E59F2.	100
Figura 63: NOE gerado pela irradiação do hidrogênio em δ_{H} 2,87 no composto E59F2.	101
Figura 64: espectro de absorção no infravermelho do composto E59F15.	102
Figura 65: espectro de RMN de ^1H do composto E59F15.	103
Figura 66: espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto E59F15.	104
Figura 67: espectro de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 de E59F15	104
Figura 68: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15.	106
Figura 69: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15	106
Figura 70: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15	108
Figura 71: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15	108
Figura 72: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto E59F15.	109
Figura 73: fragmento sugerido a partir das informações fornecidas pelos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C em uma e duas dimensões.	109
Figura 74: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F15.....	110
Figura 75: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F15.	110

Figura 76: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HETCOR) do composto AF 105 adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS	129
Figura 77: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto espatulenol.....	131
Figura 78: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto espatulenol.....	131
Figura 79: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto espatulenol.....	132
Figura 80: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto espatulenol.	132
Figura 81: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto espatulenol.	133
Figura 82: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto espatulenol.....	133
Figura 83: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto β -eudesmol.....	135
Figura 84: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto β -eudesmol.....	135
Figura 85: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto β -eudesmol.	136
Figura 86: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto β -eudesmol.....	136
Figura 87: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto β -eudesmol.....	137
Figura 88: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto β -eudesmol.	137

Figura 89: gráfico de elipsicidade molar x comprimento de onda do composto β -eudesmol.....	138
Figura 90: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto PR192.....	139

1 – Introdução

1.1 – Mercado global

O mercado de aromas e fragrâncias (A&F) movimentou, em 2002, cerca de US\$ 15,1 bilhões, sendo que as dez maiores empresas do setor (Givaudan, IFF, Firmenich, Symrise, ICI (Quest), Takasago, Sensient Flavors, T. Hasegawa, Mane e Danisco) movimentaram 65,5 % do total, ou seja, US\$ 8,3 bilhões¹. Deste valor, cerca de 12 % (US\$ 1,8 bilhões) referem-se ao mercado de óleos essenciais e extratos naturais (resinóides, concretos e absolutos)².

No mesmo período, as exportações brasileiras compreendendo óleos essenciais, extratos vegetais para perfumaria e oleoresinas somaram US\$ 50,8 milhões³, isto representa aproximadamente 2,8 % do mercado global. Entretanto, cerca de US\$ 38,9 milhões referem-se às exportações de óleo de laranja doce, subproduto da expressiva indústria brasileira de suco, a maior do mundo.

Considerando a exportação de produtos voltados primariamente ao mercado de A&F, temos aproximadamente US\$ 11,9 milhões, ou 0,7% do total movimentado. Percentual este devido principalmente aos óleos cítricos como limão, lima, bergamota, pomelo, cidra (US\$ 6,9 milhões) e eucalipto (US\$ 1,8 milhões).

A distribuição de vendas de A&F apresenta-se conforme dados mostrados na **Tabela 1**, indicando forte predominância de blocos formados por países fortemente industrializados e com alto poder de consumo.

Tabela 1: distribuição de vendas de A&F por continente em Junho 2000.

Continente	fatia do mercado (%)	Continente	fatia do mercado (%)
América do Norte	32	Oriente Médio e África	6
Ásia – Pacífico	26	América do Sul	6
Europa Ocidental	25	Europa Oriental	5

¹ http://www.leffingwell.com/top_10.htm, dados de junho 2000.

² SHORT, P.L.; “Reshaping Flavors and Fragrances”, *Chemical & Engineering News* **2002**, 80, 18, pp 32-37.

³ <http://aliceweb.mdic.gov.br/>. MDIC, Secex, soma dos itens de 33011100 até 33019010 mais 33019040.

A indústria de A&F divide-se em dois segmentos principais (dados de 2000):

1. Fragrâncias: é o setor da indústria voltado ao odor de produtos como sabões, sabonetes, cosméticos em geral, desinfetantes, aromatizantes de ambiente e perfumes. Movimenta cerca de 51% do total do mercado, dividido de acordo com a **Tabela 2**.
2. Aromas: é o setor responsável por dar sabor a bebidas e alimentos (**Tabela 3**). Possui legislação própria e mais rigorosa. Apesar da grande semelhança entre as matérias primas de cada segmento, a composição e a concentração de cada ingrediente no produto formulado são muito diferentes.

Tabela 2: distribuição de vendas por família de produtos do mercado de fragrâncias.

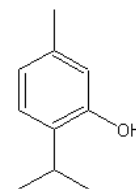
Setor	% do mercado
Sabões e detergentes	34
Cosméticos e <i>toiletries</i>	25
Outros	41

Tabela 3: distribuição de vendas por família de produtos do mercado de aromas.

Setor	% do mercado
Bebidas	31
Salgados	23
Laticínios	14
Outros	32

1.2 – Brasil

Apontado como o País de maior diversidade biológica do mundo, o Brasil pouco tem contribuído com novas matérias primas para a indústria mundial de aromas e fragrâncias. Mesmo com o crescente número de publicações na área de plantas aromáticas, principalmente no Norte e Nordeste, a contribuição efetiva para a geração de renda no País ainda é muito pequena. Vale ressaltar contudo, a ação de um grupo brasileiro que pediu a patente, dos extratos da planta *Lippia sidoides*, conhecida popularmente como alecrim pimenta, para uso em fitoterápicos e fitocosméticos. A planta é produtora de timol (5-metil-2-(1-metil-etil)-fenol), **1**, em alta concentração, um composto fenólico de forte ação bactericida.



1

Atualmente, as exportações brasileiras de produtos nativos, resumem-se a óleo essencial de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*; US\$ 700 mil⁴) e pau santo (*Bulnesia sarmiento*; US\$ 375 mil⁵), bálsamo de copaíba (*Copaifera* sp.; US\$ 340 mil⁶) e sementes de cumaru (*Dipteryx odorata*; US\$ 170 mil⁵). Com estes valores, concluímos que a participação de produtos brasileiros no mercado global em 2002 foi algo próximo de US\$ 1,6 milhões, ou 0,09%.

Ainda há uma pequena exploração de óleo essencial de cabriúva, porém as árvores são abatidas no Paraguai por questões que envolvem a legislação florestal, sendo então processadas e comercializadas no Brasil⁷. Também há uma pequena produção de resinóide de almecega ou breu branco, que é o extrato alcoólico seco da resina exsudada por árvores do gênero *Protium*, abundante na Amazônia, e de óleo essencial de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*).

Até o início da década de 90, havia exploração de canela sassafrás (*Ocotea pretiosa* (Ness) Mez, ex-*O.odorífera* (Vell.) Rohwer; US\$ 480 mil⁸), fonte de safrol **2** para a síntese de heliotropina (piperonal) **3**, butóxido de piperonila **4**, e outros. Contudo, a exploração predatória levou o IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) a incluí-la na lista de espécies ameaçadas de extinção, proibindo a atividade em 1991. Uma fonte alternativa de safrol, muito citada na literatura popular por sua sustentabilidade é a pimenta-longa (*Piper hispidinervium*), piperácea endêmica do estado do Acre, de rápido crescimento e com altos teores de safrol em seu óleo essencial⁹.

⁴ <http://aliceweb.mdic.gov.br/>. MDIC, Secex, 2002.

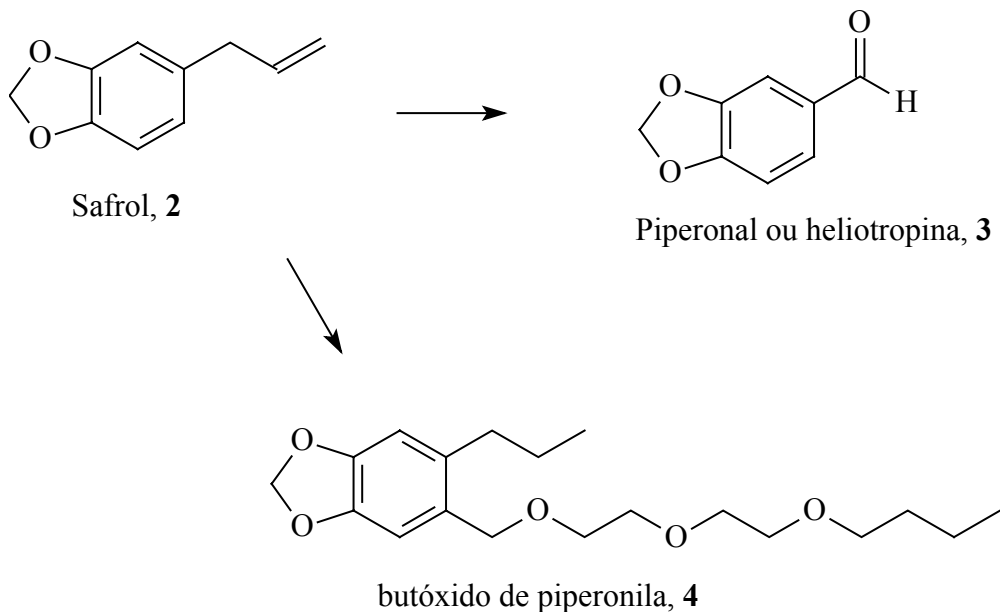
⁵ <http://aliceweb.mdic.gov.br/>. MDIC, Secex, 1999. Não aparece em datas mais recentes.

⁶ <http://aliceweb.mdic.gov.br/>. MDIC, Secex, 1996. Devido à criação da NCM, essas categorias foram inseridas em grupos maiores, impossibilitando o detalhamento.

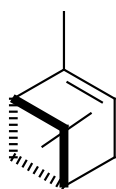
⁷ Dado do produtor.

⁸ <http://aliceweb.mdic.gov.br/>. MDIC, Secex, 1995. Apesar da proibição da exploração em 1991 o produto consta na pauta de exportações até 1996, porém com volume bem menor (US\$ 90 mil).

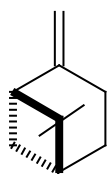
⁹ MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; “Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais”, 1º ed., Goeldi Editoração, **2001**, 136, Belém.



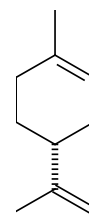
Se a exploração de espécies nativas ainda é incipiente, o mesmo não acontece com algumas plantas introduzidas e bem adaptadas. O País destaca-se na produção de óleo essencial de laranja-doce, fonte de d-limoneno **5**, para a indústria química. O óleo é obtido como um subproduto da expressiva indústria de suco, com exportações da ordem de US\$ 38 milhões. Também destacam-se comercialmente as produções de óleo de eucalipto (US\$ 1,8 milhões) e de terebintina, mistura de alfa e beta-pineno, **6** e **7**, a partir da resina de *Pinus elliottii* (US\$ 9 milhões). Outros óleos cítricos (US\$ 8 milhões) e de coníferas produzidos e comercializados pelo Brasil têm expressão menos significativa.



6

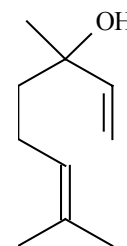


7



5

Os produtos genuinamente brasileiros ainda são frutos de extrativismo florestal (com exceção do alecrim pimenta) e enfrentam os problemas referentes a essa prática. No caso do pau-rosa, fonte de linalol natural¹⁰, **8**, podemos dizer que mesmo com a classificação



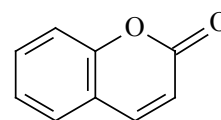
8

¹⁰ O pau-rosa produz o tanto o linalol dextrógiro como o levógiro a rotação óptica aceita comercialmente é +5°.

botânica bem definida pela academia (*Aniba rosaeodora* Ducke), os pau-roseiros, aqueles que fazem a prospecção da espécie para uma destilaria, classificam 4 ou 5 tipos (itaúba, imbaúba, preciosa, mulatinho e abacate) analisando variações na cor e densidade da madeira, cheiro e formato das folhas e frutos, dependendo da região. Faltam dados científicos a respeito de tais informações, mas é conhecida mundialmente a falta de padrão de qualidade no óleo de pau-rosa brasileiro.

Caso análogo se verifica na exportação do bálsamo de copaíba. Apesar de haver grandes diferenças de cor, odor e viscosidade entre os diversos tipos de óleo, o material coletado costuma ser misturado, dificultando a padronização do produto final. Nos últimos anos porém, respondendo às pressões do mercado externo, alguns fornecedores iniciaram uma seleção primária, baseadas em avaliação de odor e aspecto, buscando minorar os efeitos da falta de conhecimento da relação espécie/qualidade de óleo.

O mesmo se verifica no caso do cumaru, rico em cumarina, 9. Em algumas regiões, são coletadas sementes grandes (4-5 cm) que, ao secarem, adquirem coloração preta. Em outras localidades, as sementes recolhidas são pequenas (2-3 cm) de cor



9

castanha quando secas. Segundo os comerciantes, a procura pelas sementes castanhas é maior devido ao elevado teor de cumarina, contudo a classificação botânica é a mesma (*Dipteryx odorata* Willd.).

Nos três casos citados, a ausência de estudos aprofundados e de uma política governamental direcionada e efetiva, impede o uso racional e sustentável destas espécies. A falta de comunicação entre universidades e empresas no Brasil somadas ao baixo nível educacional da população ligada às atividades extrativas são, sem dúvida alguma, grandes empecilhos para a resolução destes problemas.

2 – Formas de apresentação de matérias-primas naturais na indústria de Aromas e Fragrâncias¹¹

¹¹ Informações obtidas de comunicado verbal com profissionais da indústria de A&F.

As matérias-primas naturais usadas pela indústria de A&F podem ser classificadas em:

Óleo essencial: originado a partir da passagem de vapor, pressurizado ou não, através de material vegetal e por prensagem ou raspagem da casca, sendo estas últimas um caso exclusivo dos cítricos. Apresenta-se como um líquido de baixa viscosidade, densidade entre 0,8 e 1,2 g/ml, de coloração variada do incolor como a terebintina (destilado de resina de *Pinus elliottii*) até o preto como óleo de Cadê (*Juniperus oxycedrus*). Constituem-se basicamente de mono e sesquiterpenos. Como exemplos de óleos essenciais conhecidos citamos a lavanda (flores), o eucalipto (folhas), o vetiver (raízes), a canela (tronco e folhas) e o zimbro (frutos).

Concreto: recebe esse nome o extrato produzido com solventes de baixa polaridade. Nos primórdios da perfumaria, o concreto era produzido com uma mistura de gorduras de origem animal através da técnica ‘enfleurage’. As flores de aroma mais delicado eram colocadas sobre uma fina camada de gordura fria e trocadas periodicamente por um período que podia chegar a 60 dias. As flores mais resistentes podiam ser maceradas na gordura quente, acelerando o processo extrativo para 2 ou 3 dias. Hoje são usados solventes como hexano, ciclohexano, acetona e diclorometano. É um produto gorduroso que contém, além das moléculas voláteis que compõe o aroma, todas as ceras e triglicérides da planta. Por questões de solubilidade é pouco usado como tal, sendo basicamente um intermediário para a obtenção do absoluto.

Absoluto: é o resultado da extração etanólica do concreto. Desta forma, consegue-se separar a maior parte do material graxo e olfativamente inerte, obtendo-se um produto com alta concentração de compostos voláteis. Os absolutos figuram entre os produtos mais caros da perfumaria e são cada vez mais substituídos por composições sintéticas por questões de preço, dificuldades de incorporação e

estabilidade de cor. Como exemplo, citamos os absolutos de jasmim, mimosa e folhas de violeta.

Resinóide: é simplesmente um extrato etanólico seco. Inicialmente produzido a partir de resinas como incenso, mirra e olíbano. Hoje é usado genericamente para designar o extrato etanólico de qualquer matéria-prima como, por exemplo, a baunilha.

Óleo-resina: é uma denominação mais usada na área de aromas. Assim como o resinóide, a óleo-resina é simplesmente um extrato etanólico. Vale ressaltar que este extrato contém particularidades que não estão presentes nos óleo essenciais, mas que têm suma importância para a aromatização de alimentos. Como exemplo, citamos o caso do gengibre, das pimentas e do curry.

Extratos CO₂, propano/butano e gases fluorados: a extração com gás carbônico pressurizado é uma boa alternativa à extração com solventes orgânicos.

Suas principais vantagens são a seletividade e a ausência de resíduo de solvente no produto extraído. Através desta técnica, podemos obter tanto um produto semelhante ao óleo essencial, líquido e solúvel em misturas polares, como um produto semelhante ao concreto, mais graxo e de polaridade mais baixa. Como desvantagem, podemos citar o alto custo dos equipamentos, que devem ser dimensionados para trabalhar a uma pressão de até 350 bar.

Hidrocarbonetos como propano e butano também são usados como agentes extratores com bastante sucesso. Além de serem gases naturais e baratos, trabalham em pressões muito inferiores ao gás carbônico, diminuindo bastante o custo com dimensionamento de equipamentos. Por outro lado, sua alta inflamabilidade exige cuidados com segurança que acabam anulando os benefícios anteriores.

A extração com gases fluorados surgiu no final da década de 1980 e vários modelos foram testados. O gás mais promissor até o momento é o HFC134a ou

1,1,1,2-tetrafluoreto (CH₂FCF₃). Além de operar à pressão da ordem de 5 bar, é um gás não inflamável e atóxico. A extração de material vegetal com o gás HFC134a é patenteada pelo pesquisador britânico Dr. Peter Wilde através da empresa Advanced Phytonics Limited. Atualmente, apenas a empresa tailandesa Phurua Natural Oils, também de propriedade do Dr. Wilde, trabalha com esse método de extração. Vale ressaltar que apesar do gás em questão ser de origem sintética, o material extraído é considerado totalmente natural.

3 – Classificação olfativa de matérias-primas

Atualmente, um perfumista tem cerca de 3000 matérias primas à disposição entre naturais (óleos essenciais, concretos , absolutos, resinóides e bálsamos) e sintéticos. Classificar olfativamente as diversas matérias primas não é uma tarefa fácil e muito menos definitiva, pois possuem características variadas que as incluem em mais de uma família olfativa. Além disso, por ser uma classificação totalmente subjetiva, está sujeita a percepções e opiniões pessoais de avaliadores e perfumistas das mais diferentes origens. Aqui apresentamos a classificação olfativa de notas e acordes encontrada no site osmoz¹².

3.1 – Notas

O termo nota é usado para classificar as matérias primas, que misturadas adequadamente formarão um acorde. Segundo a classificação da osMoz as notas podem ser classificadas em 16 famílias:

Ambarada

Originalmente produzida a partir da secreção estomacal de baleias cachalote, é a única nota de origem animal que não causa danos à espécie. Possui características quentes, sensuais e delicadas.

Ex: ambergris, ambrette, angélica.

Animal

Devido a baixa volatilidade, são usadas como notas de fundo, conferindo sensualidade à fragrância. Por questões econômicas e ecológicas, estão sendo substituídas por análogos sintéticos.

Ex: castoreum (*Castor fiber*) e civet (*Viverra civettina*).

¹² <http://www.osmoz.com>

Aquática

Uma classificação recente. Remete a quedas d'água, mar e vento. É transparente, fresca, natural e persistente. Em sua maioria são compostos de origem sintética.

Ex: alga (*Fucus vesiculosus*).

Aromática

Responsável por características viris e enérgicas, muito usadas para produtos masculinos.

Ex.: lavanda, alecrim, camomila, feno grego, thuia e eucalipto.

Balsâmica

Notas amadeiradas e doces, comumente usadas para composições de notas orientais.

Ex. baunilha, benjoim e cabriúva.

Florais

A própria natureza da família floral torna seu uso essencial em perfumaria feminina. A grande variação olfativa permite a criação de notas que evoquem desde inocência (lírio do vale) até a sensualidade mais carnal (tuberosa e ilangue-ilangue).

Ex.: jasmim, mimosa, narciso, néroli, rosa, palma-rosa.

Verde

As notas verdes tornaram-se mais conhecidas a partir da metade da década de 20 (séc XX). Denotam natureza, frescor e juventude.

Ex.: galbanum, jacinto e cassis.

Herbal

Muito usada em produtos cosméticos masculinos por suas características frescas, limpas e revigorantes.

Ex.: manjeriço, menta, manjerona, poejo, orégano.

Hisperídica ou cítrica

É composta por óleos extraídos por expressão a frio da casca de cítricos. De características frescas e revigorantes, são usadas como notas de topo em composições perfumísticas.

Ex.: laranja, limão, bergamota, mandarina, toranja.

Íris

Esta elegante família consiste de notas de violeta e outras mais sutis como a própria íris. São usadas apenas em fragrâncias finas e de muito prestígio, devido ao alto custo.

Ex.: violeta, íris, sementes de cenoura.

Couro

É uma das notas mais antigas. Tem um caráter doce, defumado, de alcatrão usado em composição de tendências Chipre.

Ex.: cedro Atlas, estoracal.

Musgo

Lembra floresta, húmus, terra úmida com matéria orgânica. Confere substância, calor e riqueza à fragrância.

Ex.: bálsamo de gurjun, musgo de carvalho (oak moss), musgo de árvore (tree moss).

Musk

É uma nota essencial em perfumaria por suas propriedades difusoras e poder de permanência. Originalmente, fazia-se uma tintura com as glândulas abdominais do veado almiscarado macho, que era sacrificado para tal. Fragrância semelhante pode ser encontrada em bovinos, patos, besouros, jacaré e outros.

Ex.: veado almiscarado.

Especiarias

São notas ligadas aos temperos culinários e a algumas flores como encarnação. Conferem caráter, calor e corpo à fragrância.

Ex.: pimenta do reino, cravo, pimenta da Jamaica, canela folhas, noz moscada.

Tabaco

De característica doce, de serragem, com toques de mel. Confere maciez e riqueza a uma fragrância.

Ex.: arnica, cera de abelhas, erva mate, feno.

Madeiras

Notas de madeira serrada. Muito utilizada em perfumaria masculina. Confere masculinidade à fragrância.

Ex.: cedro Virginia, pinho, patchouli, sândalo, vetiver, amyris.

3.2 – Acordes

O acorde por sua vez, é o resultado da mistura equilibrada de diversas notas. Dividem-se em 4 categorias femininas e 4 masculinas, que são as mesmas usadas para designar a família olfativa de um perfume acabado.

Femininos

Chipre

Possui notas amadeiradas, de musgo e florais, podendo incluir traços de couro e frutas.

Subgrupos: floral e frutado.

Cítrico

São composições a partir de notas cítricas e derivadas de laranja como flor de laranja doce, *petitgrain* e néroli.

Subgrupo: aromático.

Floral

É a maior família incluindo desde *bouquets* florais complexos até notas simples.

Subgrupos: aldeídico, aquático, encarnado, frutado, verde, muguet, jasmim, laranja-tuberosa, rosa-violeta, amadeirado-musk.

Oriental

Também chamada de âmbar, são composições quentes e sensuais compostas de musk, baunilha, madeiras associadas a notas florais e especiadas.

Subgrupos: floral, spice, baunilha, madeira.

Masculinos

Aromático

Acordes compostos majoritariamente por alecrim, sálvia, tomilho e lavanda, complementados com notas cítricas ou spice.

Subgrupos: aquático, *fougère*, fresco e rústico.

Cítrico

Composto de notas de laranja, bergamota, toranja, limão tangerina, etc...com características frescas e leves. A primeira “Água de Colônia” pertence a essa categoria. O caráter masculino é dado por notas aromáticas e especiadas.

Subgrupo: aromático.

Oriental

Caracterizados por notas ambaradas, de tabaco, resinosas, spice, amadeiradas e abaunilhadas formando acordes intensos e sofisticados, muitas vezes refrescados com cítricos e aromáticos.

Subgrupos: *fougère*, spice, amadeirado.

Amadeirado

Acordes com notas de madeiras como sândalo, patchouli dando calor e opulência; e cedro e vetiver com toques mais secos. São acordes quentes e elegantes que podem conter traços de notas cítricas e aromáticas.

Subgrupos: aquático, aromático, Chipre, floral-musk, especiado.

4 – Revisão bibliográfica das espécies estudadas

4.1 – *Aniba fragans* Ducke (Lauraceae)

Espécie arbórea, característica de floresta pluvial, solos argilosos e não inundáveis. As árvores atingem até 30m e todas as suas partes são aromáticas; casca pardo-amarelada, folhas coriáceas, inflorescência lateral de até 2,5 cm de comprimento, multifloral, de flores pequenas, cúpula do fruto espessa, ferrugínea, fruto do tipo baga, de aproximadamente 25 x 20 mm, cor vinho-escuro quando maduro.

A família lauraceae é composta por cerca de 52 gêneros e 1900 espécies¹³ bem distribuídas pelos trópicos. São reconhecidamente plantas aromáticas, pois tanto a madeira como as folhas possuem óleo essencial. Como exemplo de lauráceas usadas na indústria de A&F podemos citar o louro (*Laurus nobilis*), a canela (*Cinnamomum zeylanicum*), a cânfora (*Cinnamomum camphora*) e o sassafrás (*Ocotea pretiosa*). Aniba é um gênero presente apenas no neotrópico, principalmente na região amazônica. O pau-rosa, *A. rosaeodora*, é a espécie mais conhecida do gênero em função do óleo essencial extraído de seu tronco e largamente usado em aromas e fragrâncias internacionais.

A espécie *A. fragans* é uma árvore de médio porte, encontrada nos arredores de igarapés da floresta amazônica ocidental. Frequentemente confundida com o pau-rosa (*A. rosaeodora* Ducke) pela semelhança das folhas e flores, esta espécie apresenta aroma diferenciado tanto no tronco como nas folhas. Sua casca é comercializada no mercado Ver-O-Peso, em Belém-PA, com o nome de macacaporanga ou louro rosa. Sua infusão é usada nos tradicionais banhos-de-cheiro, comuns na época dos festejos de São João (Junho).

Dados do Departamento de Ciências Florestais da UFRA (Universidade Federal Rural da Amazônia, ex-FCAP) tratam esta espécie como *A. fragans*, porém a literatura existente é escassa e não foram encontradas citações de ocorrência desta espécie fora

¹³ <http://www.rbgbkew.org.uk/herbarium/ftela/laur.html> - Royal Botanical Garden - Kew.

do Estado do Pará. Entretanto, foi encontrada espécie muito semelhante, tanto morfológica quanto olfativamente, na região de Silves-AM, Amazônia Ocidental.

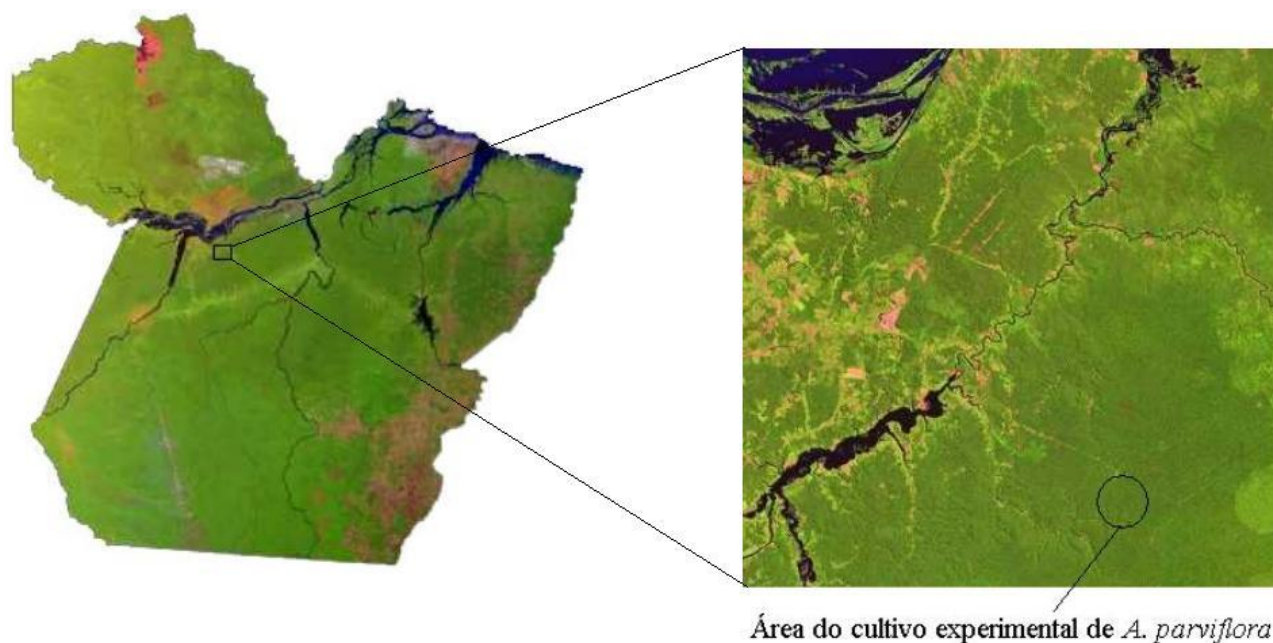
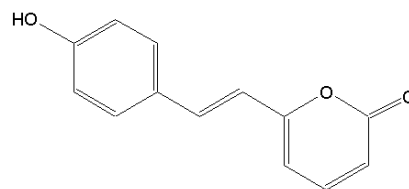


Figura 1: mapa do Estado do Pará e expansão mostrando a região da Estação Experimental da UFRA e a área que circunda o plantio experimental de *A. parviflora*.

Após consulta ao botânico do INPA Ms José Eduardo L. S. Ribeiro, que nos apresentou uma revisão para o gênero *Aniba*, verificamos a sinonímia entre *A. fragans* e *A. parviflora* em artigo de Kubitzki e Renner¹⁴. Originalmente, foram descritas pelo taxonomista Adolpho Ducke como espécies distintas. O critério de diferenciação foi, entre outras características morfológicas, a fragrância exalada pelas folhas e pela casca da planta.

A literatura científica contém diversos artigos que relatam o isolamento de neolignanas¹⁵, flavonóides¹⁶, estirilpironas, ésteres e amidas¹⁷ de Lauraceas nativas do Brasil. Uma pesquisa bibliográfica na rede mundial de computadores indicou erroneamente *A. parviflora* (louro rosa) como sinonímia de *A. roseaodora* (pau-rosa), mostrando que, ainda hoje, há problemas na identificação correta da espécie da qual o óleo de pau-rosa é extraído, principalmente no mercado externo.

Em periódicos indexados foram encontrados apenas 2 artigos citando *A. parviflor*, ambos relatando a presença de 6-(4'-hidroxi-*trans*-estiril)-2-pirona^{18,19}, **10**. Há ainda uma publicação no livro de resumos da Reunião Anual Sociedade Brasileira de Química 2003, relatando a presença das kavapironas²⁰ di-hidrometisticina, **11**, e iangoninas, **12-a**, **12-b**. Uma análise cromatográfica do óleo essencial de *A. fragans* extraído de



10

¹⁴ KUBITZKI, K.; RENNER, S.; "Lauraceae I (*Aniba* and *Aiouea*)", *Flora Neotropica* **1982**, 31, 125.

¹⁵ FERNANDES, J.B.; GOTTLIEB, O.R.; MAIA, J.G.S.; "Neolignans from an *Aniba* species", *Phytochemistry* **1976**, 15 (6), 1033-1036.

¹⁶ ROSSI, M.H.; YOSHIDA, M.; MAIA J.G.S.; "Neolignans, styrylpyrones and flavonoids from an *Aniba* species", *Phytochemistry* **1997**, 45(6), 1263-1269.

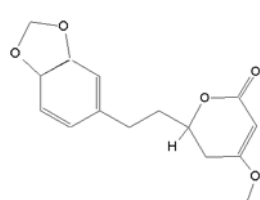
¹⁷ BARBOSA-FILHO J.M.; YOSHIDA, M.; GOTTLIEB, O.R.; BARBOSA, R.C.S.B.C.; GIESBRECHT, A. M.; YOUNG, M.C. M.; "Benzoyl esters and amides, styrylpyrones and neolignans from the fruits of *Aniba riparia*", *Phytochemistry* **1987**, 26(9), 2615-2617.

¹⁸ BITTENCOURT, A.M.; GOTTLIEB, O.R.; MORS, W.B.; MAGALHÃES, M.T.; MAGESWARAN, S.; OLLIS, W.D.; SUTHERLAND, I.O.; "The natural occurrence of 6-styryl-2-pyrones and their synthesis", *Tetrahedron* **1971**, 27 (5), 1043-1048.

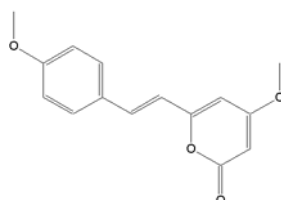
¹⁹ REZENDE, C.M.A.M.; VON BÜLOW, M.V.; GOTTLIEB, O.R.; PINHO, S.L.V.; ROCHA, A.I.; "The 2-pyrones of *Aniba* species", *Phytochemistry* **1971**, 10 (12), 3167-3172.

²⁰ LUCA, A. N.; NUNOMURA, S. M.; YOSHIDA, M.; "Kavapironas de *Aniba parviflora* (Meissn.) Mez", Livro de Resumos SBQ, **2003**, São Paulo.

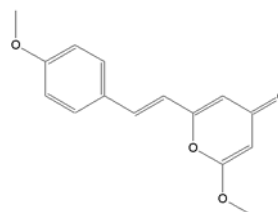
material botânico da Estação Experimental de Curuá-una (**Figura 1**) foi publicada por Maia *et al.* (2001)²¹.



11



12-a



12-b

O óleo essencial de macacaporanga foi apresentado a uma empresa da área de A&F em 2001 que, através de CG-EM identificou um álcool sesquiterpênico (5% de abundancia relativa) cujo padrão de fragmentação não foi reconhecido pela biblioteca especializada da empresa, gerando o interesse no seu isolamento e caracterização.

²¹ MAIA, J.G.S.; ZOGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; “Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais”, 1º ed. Goeldi Editoração, **2001**, 52, Belém.

4.2 – *Protium rubrum* Cuatrec (Burseraceae)

Espécie arbórea, de 6 a 30 metros de comprimento, diâmetro de tronco variando de 10 a 45 cm, folhas compostas, folíolos coriáceos, elípticos ou oblanceolados, inflorescências localizadas próximo ao ápice dos ramos, congestas, compreendendo minúsculas e delicadas flores de aproximadamente 1 a 3 mm de comprimento, quando abertas.

A família Burseraceae compreende aproximadamente 600 espécies arbóreas com distribuição pantropical, sendo a Amazônia, o Oeste da África e o Arquipélago Malasiano os centros de diversidade da família. O gênero *Protium* possui cerca de 35 espécies, das quais 90% ocorrem em regiões tropicais. Aproximadamente 15 espécies de *Protium* encontram-se espalhadas pela Amazônia. Algumas ocorrem no Planalto Brasileiro e, outras, na mata Atlântica. Porém a grande concentração de espécies e indivíduos dá-se na Amazônia. O breu vermelho, ou *Protium rubrum*, pode ser encontrado em áreas de terra firme, em savanas e áreas de transição entre esses dois ambientes nos estados do Pará, Amazonas, Amapá, Rondônia, Mato Grosso e nos países vizinhos Colômbia, Venezuela e Guianas²².

A família é reconhecida como produtora de resina aromática usada em aromatização e na medicina popular. Seus espécimes mais conhecidos são o incenso (*Boswellia carteri*) e a mirra (*Commiphora abyssinica*, *C. molmol*). O gênero *Protium* mantém a característica de exsudar uma resina terpênica de seu tronco. Nas espécies encontradas no Brasil já foram identificados cumarinas, mono, sesqui e tri-terpenos^{23,24,25}. Por hidrodestilação das resinas é obtido óleo essencial composto mono e sesquiterpenos com relatada atividade biológica.

²² DALY, D.C.B.; “A taxonomic revision of *Protium* (Burseraceae) in eastern Amazonia and the Guianas”, Tese de Doutorado, 1987, City University of New York, N.Y..

²³ SIANI, A.C.; RAMOS, M.F.S.; LIMA JR., O.M.; SANTOS, R.R.; FERREIRA, E.F.; SOARES, R.O.A.; ROSAS, E.C.; SUSUNAGA, G.S.; GUIMARAES, A.C.; ZOGHBI, M.G.B.; HENRIQUES, M.G.M.O.; “Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*”, *Journal of Ethnopharmacology* 1999, 66, 57–69.

²⁴ ALMEIDA, E.X.; CONSERVA, L.M.; LEMOS, R. P. L.; “Coumarins, coumarinolignoids and terpenes from *Protium heptaphyllum*”, *Biochemical Systematics and Ecology* 2002, 30, 685–687.

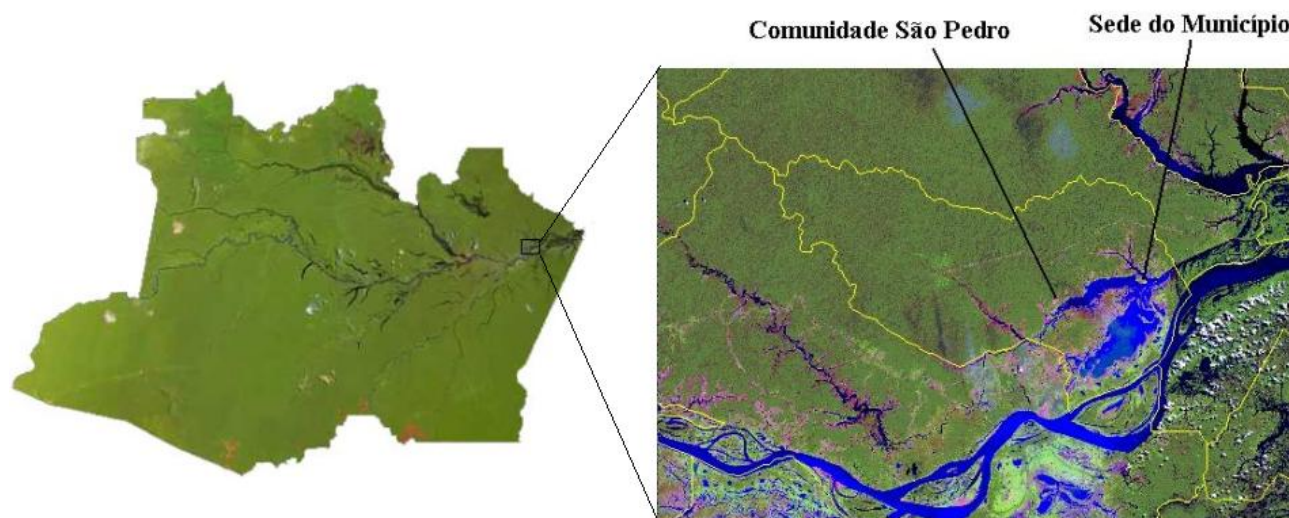


Figura 2: mapa do Estado do Amazonas e expansão mostrando o Município de Silves, sua cidade sede, na Ilha de Silves, e a Comunidade São Pedro, onde foi encontrado o exemplar de breu vermelho, cujo bálsamo foi estudado no presente trabalho.

Não foram encontrados relatos da composição química desta espécie. É apresentada na literatura como espécie rara²⁶. O bálsamo analisado é proveniente de um exemplar encontrado na região de Silves - AM, mais precisamente na comunidade São Pedro na confluência do igarapé Capivara com o rio Urubu (**Figura 2**). A árvore foi cortada para a implantação de um cultivo de mandioca. Do interior de seu tronco, verteu abundantemente mais de 1 litro de oleoresina translúcida, castanha avermelhada, de odor balsâmico e aromático. Uma amostra botânica estéril foi coletada e entregue aos cuidados do botânico José Eduardo L. S. Ribeiro, no INPA em Manaus. A identificação foi feita pelo norte americano Douglas C. Daly (New York Botanical Garden, EUA), especialista em Burseraceae. Um outro exemplar foi encontrado no Vale do Jari, distrito de Monte Dourado, município de Almeirim – PA. É pouco conhecido pela população local, porém quando identificado, recebe o nome de breu vermelho devido à coloração de sua entrecasca.

²⁵ SUSUNAGA, G.S.; SIANI, A.C.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F.; “Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*”, *Fitoterapia* **2001**, 72(6), 709-711.

²⁶ RIBEIRO, J. E. L. S. e colaboradores, “Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central”, 1º ed., INPA, **1999**, Manaus.

4.3 – *Cyperus articulatus* L. (Cyperaceae)

Planta perene, rizomatosa, de colmos circulares, às vezes, trígonos na região próxima ao ápice, 1-2 m de comprimento, com septos transversais conspícuos. Bainhas, geralmente, sem lâminas foliares. De 2 a 4 brácteas das inflorescências, eretas, inflorescências arredondadas ou subumbeladas, espiguilhas laxamente ascendentes, linear-elípticas, comprimidas, castanho-claras; 3 estames; 3 estigmas; aquênios trígonos, 1,0 - 1,6 mm de comprimento, apiculados, sésseis, com superfície pontuada²⁷.

A família Cyperaceae é composta por cerca de 70 gêneros e 4000 espécies. São plantas herbáceas, de pequeno porte, conhecidas por sua agressividade, sendo *C. rotundus* (tiririca) a erva daninha mais disseminada e nociva do mundo²⁸. O gênero *Cyperus* é composto por cerca de 900 espécies entre terrestres, aquáticas e semi-aquáticas.

Integrada a cultura popular na região amazônica, principalmente em Belém-PA, com o nome de pripioca, piripirioca ou mesmo pipioca, esta espécie é citada como *Kilinga odorata*, *Cyperus odoratus* e *Cyperus rotundus* em trabalhos publicados pela UFPA (Universidade Federal do Pará) e MPEG (Museu Paraense Emilio Goeldi). Porém segundo Lorenzi²⁹, cada uma destas três nomenclaturas refere-se a uma espécie diferente. A pripioca é cultivada na comunidade de Boa Vista, município de Acará-PA (**Figura 3**, p.32), em pequenos plantios que servem à demanda do mercado Ver-O-Peso em Belém. Em 2003, estimulados pela demanda criada pela Natura para sua linha de perfumes, esta e outras duas comunidades iniciaram o cultivo de pripioca em grande escala.

A amostra botânica do material estudado foi identificada pela taxonomista Dr^a Maria Aparecida Donizete de Faria, pesquisadora associada do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA em Manaus. A espécie é freqüente em zonas tropicais

²⁷ Descrição botânica da Dr^a Maria Aparecida Donizete de Faria, pesquisadora associada do INPA (Manaus).

²⁸ LORENZI H., “Plantas Daninhas do Brasil”, 3º Ed, Editora Plantarum, **2000**, 251, Nova Odessa.

²⁹ LORENZI H., “Plantas Daninhas do Brasil”, 3º Ed, Editora Plantarum, **2000**, 244, 251, 252, Nova Odessa.

e temperadas, sendo encontrada em estado selvagem tanto na América como na África. É valorizada pela população por suas propriedades aromáticas e medicinais³⁰.

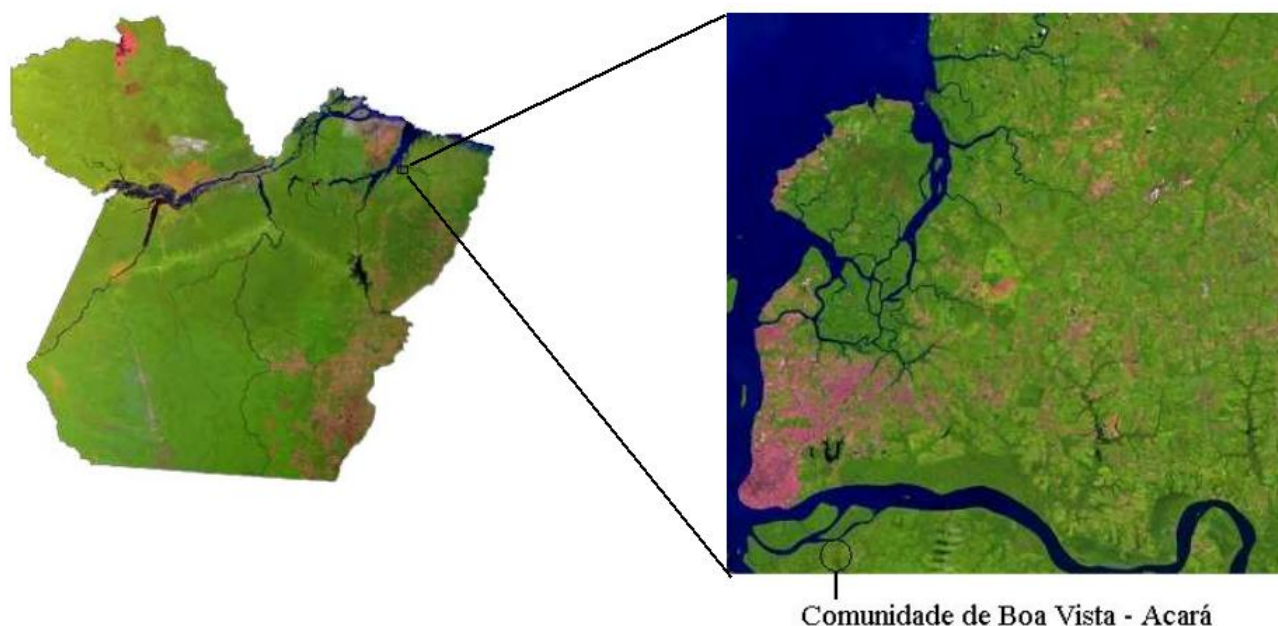


Figura 3: mapa do Estado do Pará e expansão mostrando a região metropolitana de Belém e parte do Município de Acará, onde foram encontrados os plantios de *C. articulatus*.

Analogamente ao caso de *A. parviflora*, análises por CG-EM equipado com bibliotecas especializadas em compostos voláteis não identificaram algumas moléculas do óleo essencial, despertando o interesse para o presente estudo. As cetonas presentes no óleo essencial de *C. articulatus* já foram alvo de atenção da comunidade científica entre os anos de 1960 e 1970^{30,31,32}, através de suas respectivas dinitro-fenil-hidrazonas. Há ainda outras publicações datadas de 1988 sobre o mesmo tema^{33,34}.

³⁰ COUCHMAN, F.M.; PINDER, A.R.; BROMHAM, N.H.; "Studies on the essential oil of *Cyperus articulatus* L.", *Tetrahedron* **1964**, 20, 2037-2045.

³¹ HIKINO, H.; AOTA, K.; TAKEMOTO, T.; "Identification of ketones in *Cyperus*", *Tetrahedron* **1967**, 23, 2169-2172.

³² NEVILLE, G.A.; NIGAM, I.C.; "Identification of ketones in *Cyperus* (NMR and mass spectral examination of the 2,4-dinitrophenylhydrazones)", *Tetrahedron* **1968**, 24, 3891-3897.

³³ NYASSE, B.; TIH, R.G.; SONDENGAM, B.L.; MARTIN, M.T.; BODO, B.; "Isolation of α -corymbolol, an eudesmane sesquiterpene diol from *Cyperus articulatus*", *Phytochemistry* **1988**, 27(1), 179-181.

³⁴ NYASSE, B.; TIH, R.G.; SONDENGAM, B.L.; MARTIN, M.T.; BODO, B.; "Mandassidione and other sesquiterpenic ketones from *Cyperus articulatus*", *Phytochemistry* **1988**, 27(10), 3319-3321.

5 – Objetivos

1. Identificar e caracterizar novas matérias primas da biodiversidade brasileira para a indústria de fragrâncias.
2. Isolar e identificar moléculas em óleos essenciais de *Aniba fragans*, *Protium rubrum* e *Cyperus articulatus*.
3. Avaliar o potencial olfativo dos óleos essenciais e compostos isolados estudados.

6 – Resultados e discussão

6.1 – *Aniba fragans* Ducke ou *Aniba parviflora* (Meissner) Mez

O óleo estudado foi extraído de folhas e galhos finos proveniente da Estação Experimental de Curuá-una (**Figura 1**), Município de Prainha, Estado do Pará, órgão pertencente à Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). O material foi transportado por via fluvial, da Estação Experimental até a cidade de Santarém, onde foi extraído em um destilador de ferro com capacidade para 3000 litros, com rendimento de 0,2 %. O tempo entre o momento da poda e a destilação foi de 3 dias. A água usada na destilação foi fornecida por poço artesiano na própria destilaria. O óleo foi filtrado e seco com Na₂SO₄ anidro cerca de 5 dias após sua extração.

O perfil cromatográfico é apresentado na **Figura 4**, abaixo.

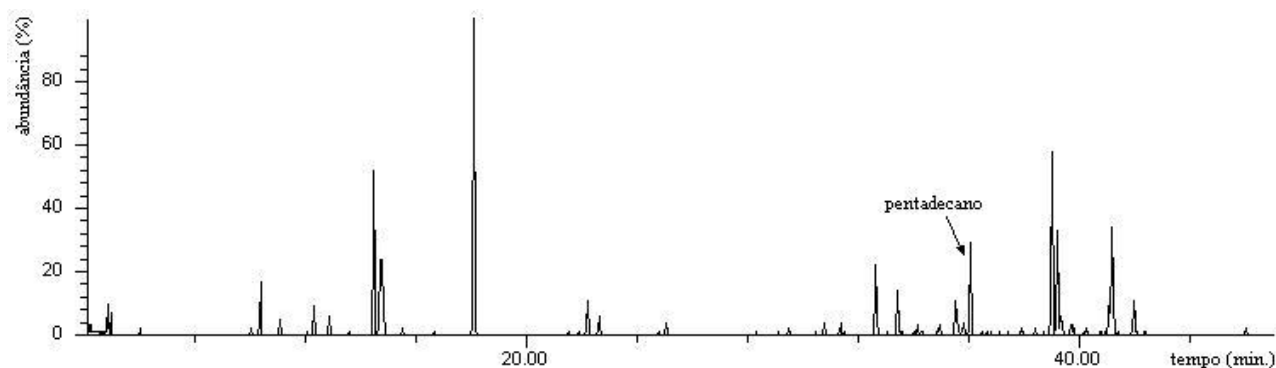


Figura 4: cromatograma de íons totais do óleo essencial de *Aniba fragans* co-injetado com pentadecano, coluna HP5, condições 50°C (2 min), 50-290 (3°C•min⁻¹), 290 °C (5 min), fluxo de He a 0,7 ml•min⁻¹ e injetor a 200 °C.

A análise de CG-EM, apresentada na **Tabela 9** (ANEXO 1, p.127), revelou a presença dos hidrocarbonetos monoterpênicos α -pineno, β -pineno, α -felandreno, β -felandreno, p-cimeno, mirceno, E- β -ocimeno; dos monoterpênos oxigenados como eucaliptol, linalol e α -terpineol; dos hidrocarbonetos sesquiterpênicos como β -cariofileno, aromadendreno, germacreno D, β -selineno, biciclogermacreno; e dos sesquiterpênos oxigenados espatulenol, óxido de cariofileno, α -eudesmol e β -eudesmol; entre outros de menor concentração. Olfativamente, o óleo de

macacaporanga possui notas de saída aromáticas levemente especiadas e notas de fundo amadeiradas e balsâmicas.

Os compostos identificados apresentam ainda a seguinte distribuição cromatográfica:

Monoterpenos hidrocarbonetos (39,51 %); entre 6,76 – 12,98 min..

Monoterpenos oxigenados (16,78 %); entre 10,57 – 17,47 min..

Sesquiterpenos hidrocarbonetos (24,11 %); entre 24,34 – 32,63 min..

Sesquiterpenos oxigenados; (18,55 %); entre 32,41– 40,24 min..

O álcool sesquiterpênico não identificado pela empresa Givaudan (Casa de Fragrâncias de origem suíça), também não o foi pela biblioteca do equipamento disponível ao grupo (Wiley 275) ou pelo índice de Kovats. Detectado como o pico de número 58 de acordo com a **Tabela 9** (ANEXO 1, p.127) e denominado de AF 105, o composto apresentou íon molecular M^{+} 222, pico base m/z 105 e estava presente na concentração de 5%.

Após alguns insucessos no isolamento envolvendo diversas técnicas, obtivemos 2 mg do composto concentrado em 80% através da metodologia apresentada no fluxograma da **Figura 5**. Numa segunda tentativa de isolamento, com 80 ml de óleo essencial, a separação na coluna 1 foi precedida de uma destilação fracionada. O resultado foi satisfatório possibilitando o acúmulo de 60 mg do composto a 93% de pureza.

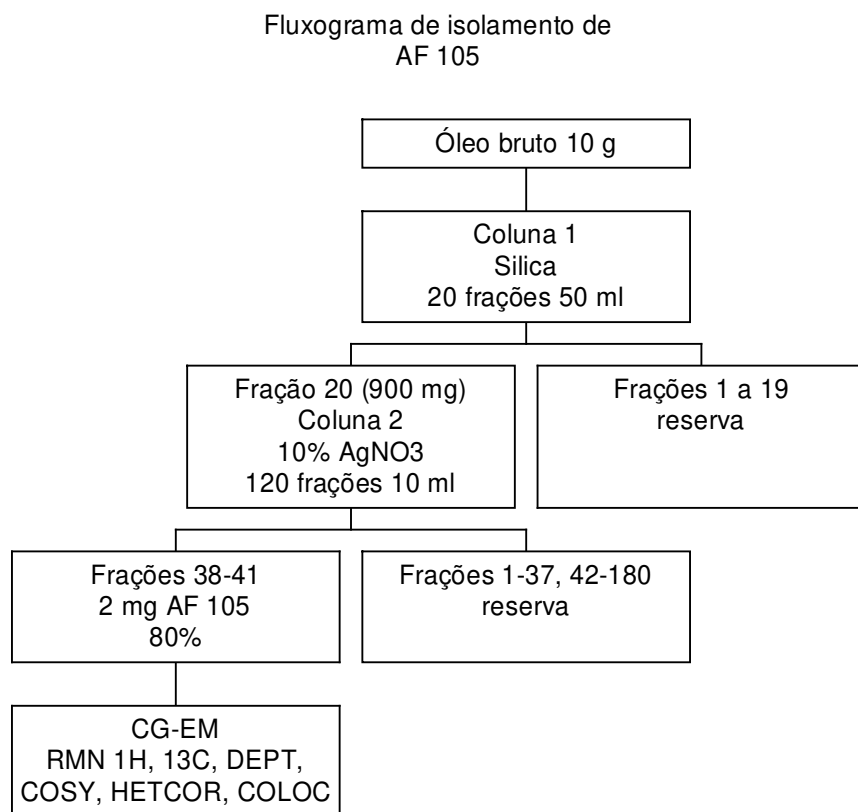


Figura 5: fluxograma das etapas que permitiram a concentração do composto AF 105 a 80%.

6.1.1 – Identificação do composto AF 105

O espectro obtido pelo experimento de absorção no infravermelho (**Figura 6**), nos mostra, além dos sinais característicos de deformações axiais ($2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$) e angulares ($650\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$), um sinal largo em 3385 cm^{-1} , representando estiramento de grupos O-H ligados por pontes de hidrogênio e um sinal fraco em 1640 cm^{-1} , indicando estiramento da ligação C=C. A ausência de sinais típicos de estiramento de carbonila na região de $1600\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ nos e de estiramento de hidrogênios aromáticos entre $1400\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$, nos leva a crer que o composto AF 105 é um álcool.

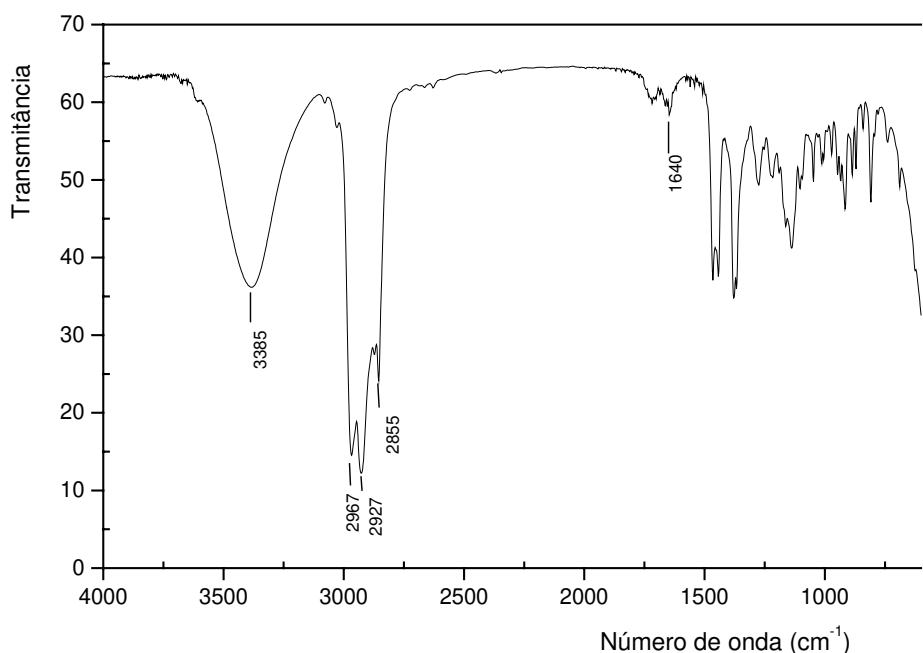
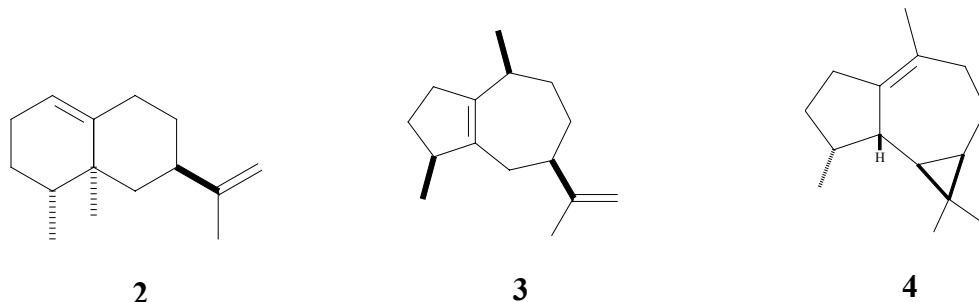


Figura 6: espectro de absorção no infravermelho do composto AF 105.

O Índice de Kovats ($KI=1626$) e o espectro de massas nos sugerem um provável sesquiterpeno de íon $M^{\bullet+} 222$. O fragmento de m/z 204 caracteriza a eliminação de uma molécula de H_2O , fato bastante comum em álcoois terciários. Estes dados são compatíveis com a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$, que representa um álcool

sesquiterpênico com número de insaturações (ou anéis) igual a 3^{35} ($15-13+1=3$). Comparações do espectro de massas obtido com outros disponíveis na literatura³⁶ revelaram uma certa semelhança nos padrões de fragmentação, sugerindo uma certa analogia estrutural entre AF105 e valenceno **2**, guaiano, **3**, ou viridifloreno, **4**.



Através do espectro de RMN de ^1H , apresentado na **Figura 7**, descartamos a hipótese de viridifloreno, devido à ausência de sinais típicos de hidrogênios ligados a grupo ciclopropil ($0,40 \leq \delta_{\text{H}} \leq 1,00$).

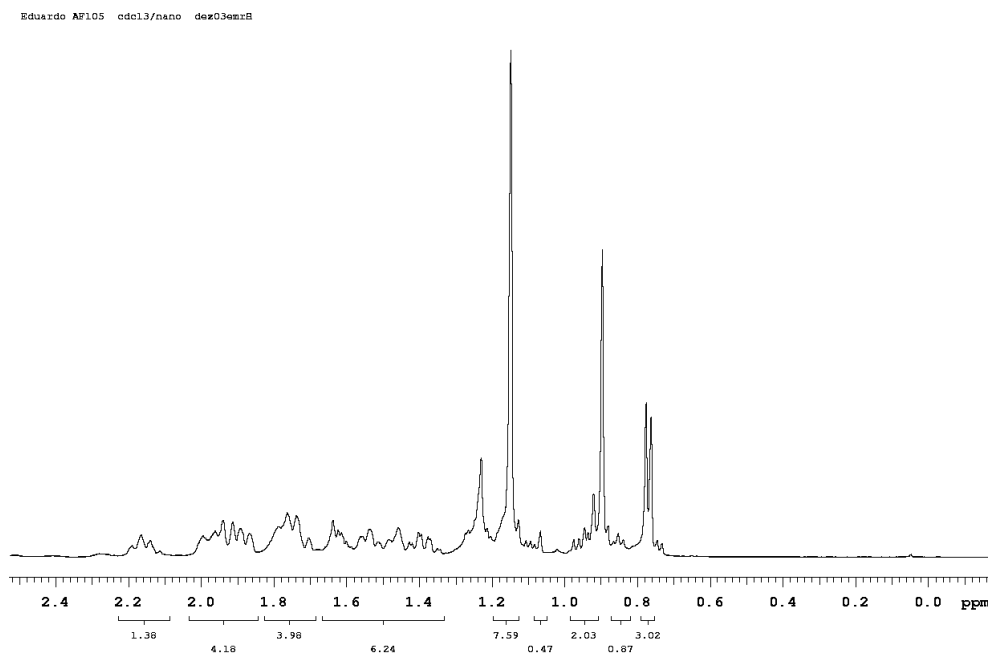


Figura 7: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto AF 105 obtido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

³⁵ SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B.; "Organic Chemistry", 8th Edition, Wiley, **2004**, p. 318, Indianapolis.

³⁶ ADAMS, R. P., "Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy", 2 ed., Allured Publishing Corporation, **1995**, Carol Stream.

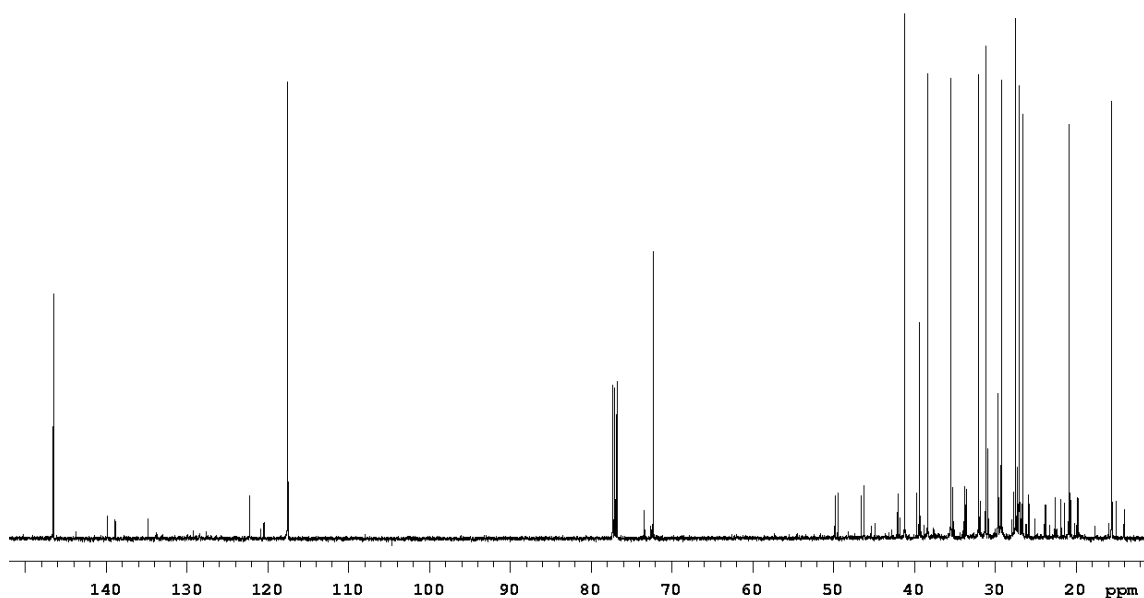
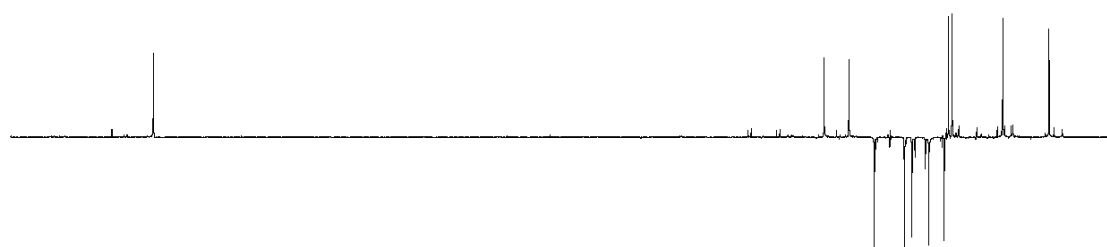


Figura 8: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do composto AF105 obtido a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

DEPT 135



DEPT 90

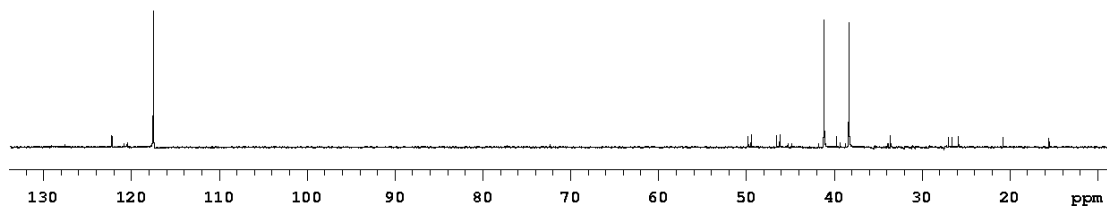


Figura 9: espectro de RMN de ^{13}C DEPT 90 e 135 do composto AF 105 adquiridos a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

Percebemos inicialmente os sinais de um hidrogênio vinílico e 4 metilas, sendo 3 delas ligadas a carbonos quaternários (δ_H 0,93; 1,18; 1,19; singletos) e uma ligada a um carbono terciário (δ_H 0,80; dubleto $^3J \approx 6\text{Hz}$). Os sinais restantes apresentam-se pouco definidos, dificultando as atribuições. Pelos espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT 90 e 135 apresentados na **Figura 8** e **Figura 9**, notamos dois carbonos em sistemas π em δ_C 146,48 (quaternário) e δ_C 117,49 (terciário). Temos ainda um C carbinólico em δ_C 72,29, também quaternário, mostrando que o álcool em questão é do tipo terciário. Temos ainda 4 metilas, 5 metilenos e 3 metinos, além de um terceiro C quaternário.

A correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura 10** e **Figura 11**, p.44), entre os hidrogênios vinílico em δ_H 5,32 e alílicos em δ_H 2,01 e δ_H 1,77 nos indica sua relação vicinal, e por correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (HETCOR) de uma ligação, determinamos os carbonos correspondentes (**Figura 12**, p.46).

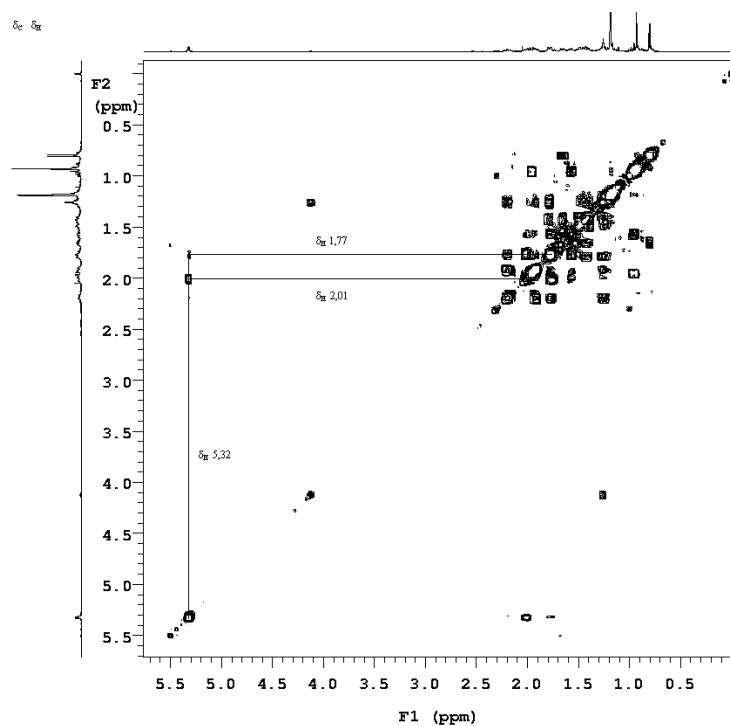


Figura 10: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto AF 105 (CDCl_3/TMS) adquirido a 499,88 MHz.

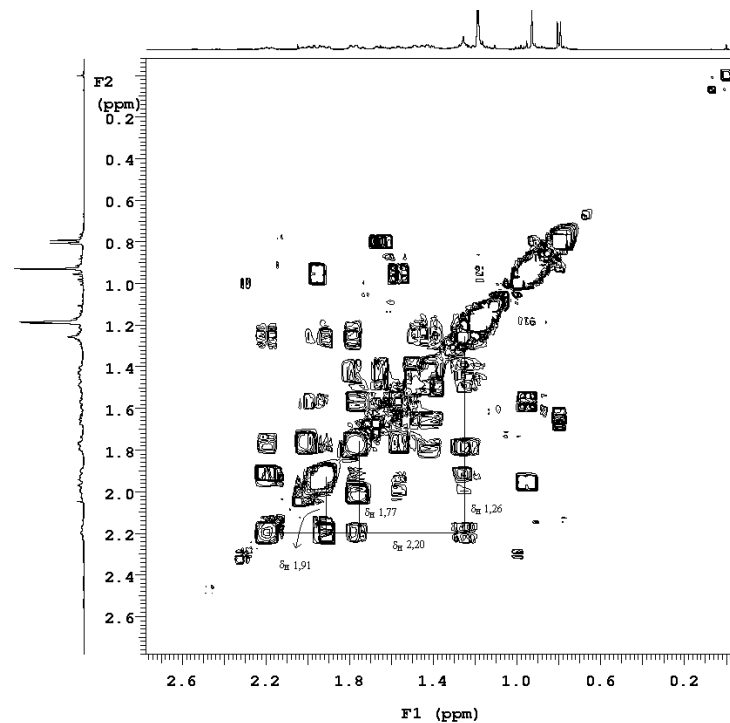
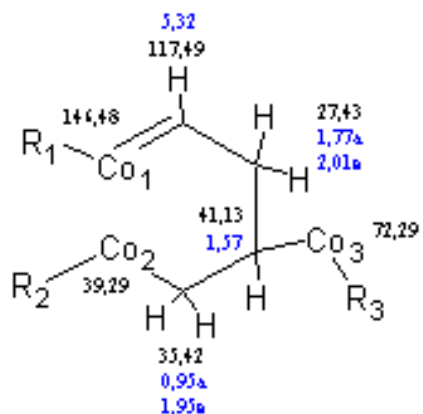


Figura 11: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto AF 105 (CDCl_3/TMS) adquirido a 499,88 MHz.

Tabela 4: atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C obtidos através do mapa de contorno RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HETCOR) do composto AF 105 em solução de CDCl_3/TMS adquiridos a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente.

Nº	δ_{C} (ppm)	CH_X	δ_{H} (ppm)
12	15,52	CH_3	0,80 (3H, d, $J=6,5$ Hz, H-12)
13	20,76	CH_3	0,93 (3H,s, H-13)
10	26,56	CH_3	1,18 (3H,s, H-10)
11	26,97	CH_3	1,19 (3H,s, H-11)
3	27,43	CH_2	2,01 (1H, m, H-3e); 1,77 (1H, m, H-3a)
6	29,19	CH_2	1,77 (1H, m, H-6a); 1,26 (1H, m, H-6e)
7	31,13	CH_2	1,42 (1H, m, H-7a); 1,50 (1H, m, H-7e)
5	31,97	CH_2	2,20 (1H, ddd, $^2J = ^3J_{\text{H5a-H6a}} = 13$ Hz, $^3J_{\text{H5a-H6e}} = 3,5$ Hz, H-5a); 1,91 (1H, m, H-5e)
1	35,42	CH_2	1,95 (1H, m, H-1e); 0,95 (1H, m, H-1a)
8	38,30	CH	1,65 (1H, m, H-8)
8a	39,29	C_0	---
2	41,13	CH	1,57 (1H, dddd, $^3J_{\text{H2-H3a}} = ^3J_{\text{H2-H1a}} \approx 13$ Hz, $^3J_{\text{H2-H1e}} = 5$ Hz, $^3J_{\text{H2-H3e}} = 3$ Hz; H-2)
9	72,29	C_0	---
4	117,49	CH	5,32 (1H, d, $^3J=5,8$ Hz; H-4a)
4a	146,48	C_0	---



A

Assim, alternando informações extraídas dos espectros de RMN de correlação homonuclear (^1H - ^1H -COSY) e heteronuclear (^1H - ^{13}C -HETCOR) (ANEXO) foi possível evidenciar a presença do **fragmento A**.

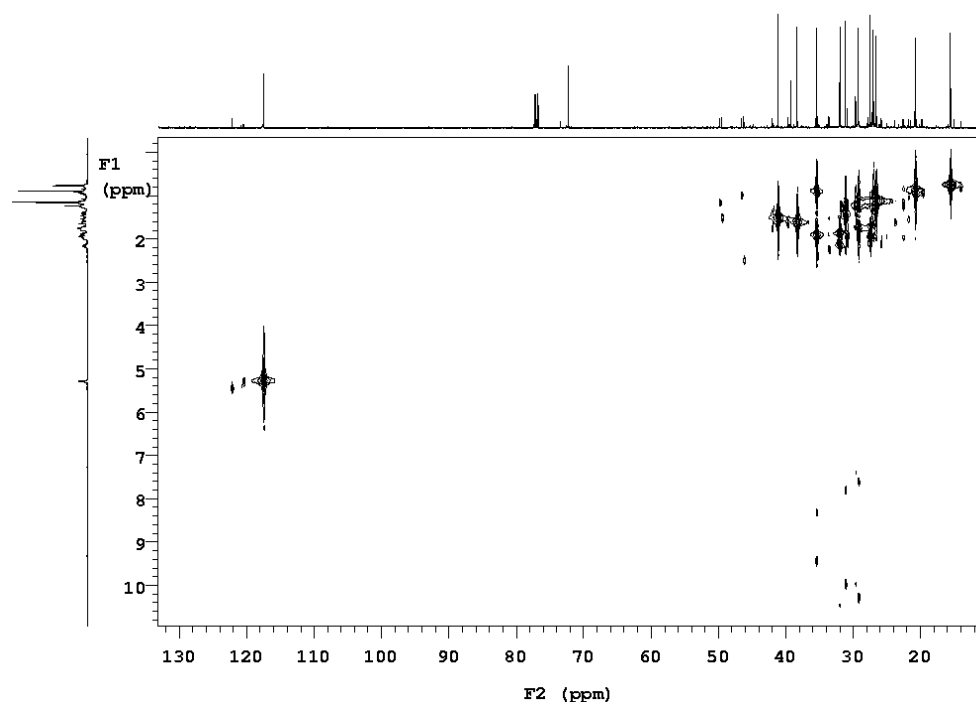


Figura 12: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HETCOR) do composto AF 105 adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

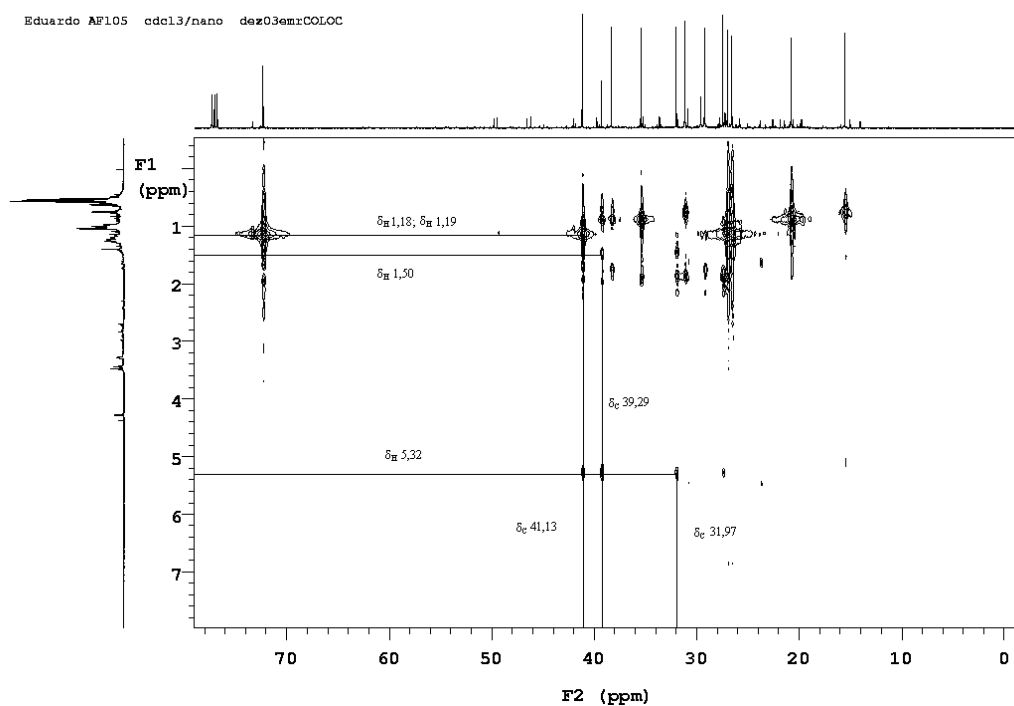


Figura 13: expansão do mapa de contorno de RMN bidimensional de correlação ^1H - ^{13}C de longa distância (COLOC) do composto AF 105 em CDCl_3 , obtido a 499,88 MHz e 125,71MHz respectivamente.

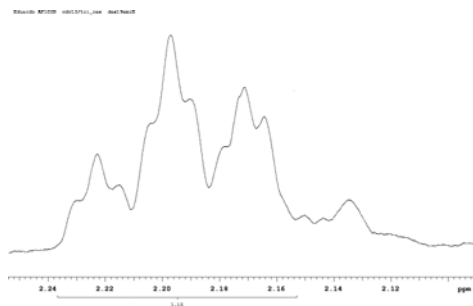
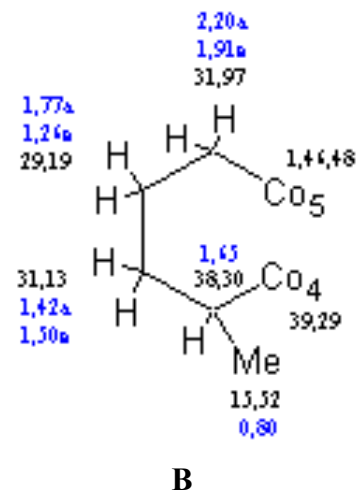


Figura 14: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto AF 105, na região de δ_{H} 2,20, adquirido a 499,88 MHz.

Na sequência, o hidrogênio alílico em δ_{H} 2,20, representado no espectro de RMN de ^1H por um falso tripleto (duplo-duplo-dublete - **Figura 14**), apresenta correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY com outros 3 núcleos em δ_{H} 1,91; δ_{H} 1,77; δ_{H} 1,26 (**Figura 11**), sendo que o primeiro (δ_{H} 1,91) é o hidrogênio geminal (HETCOR, **Figura 12**).

Novamente, alternando informações dos espectros de RMN de correlação homonuclear (^1H - ^1H -COSY) e heteronuclear (^1H - ^{13}C -HETCOR), chegamos ao **fragmento B**. A estrutura plana do composto é finalizada através do espectro de correlação heteronuclear de longa distância ^1H - ^{13}C (COLOC) (**Figura 13**), onde os sinais em (δ_{C} 31,97, δ_{H} 5,32); (δ_{C} 39,29, δ_{H} 1,50) representam a junção dos **fragmentos A e B** e os sinais em (δ_{C} 41,13, δ_{H} 1,18 e 1,19) indicam



a ligação do anel B com o radical isopropanol-il. Com estes dados, e comparando os deslocamentos químicos de outros sesquiterpenos descritos na literatura, sugerimos inicialmente uma estrutura bicíclica [4,4,0] com uma dupla ligação na fusão dos anéis **A e B**, permitindo que estes assumam posições cadeira e semicadeira respectivamente. Desta forma, é possível sugerir a configuração relativa (axial/equatorial) dos substituintes através dos acoplamentos dos hidrogenios, concluindo que os hidrogênios em δ_{H} 1,57 (H-2) e δ_{H} 1,65 (H-8) estão em posição axial. Logo, tanto o grupo isopropanol-il quanto a metila em δ_{C} 15,52 (δ_{H} 0,80) estão em posição equatorial.

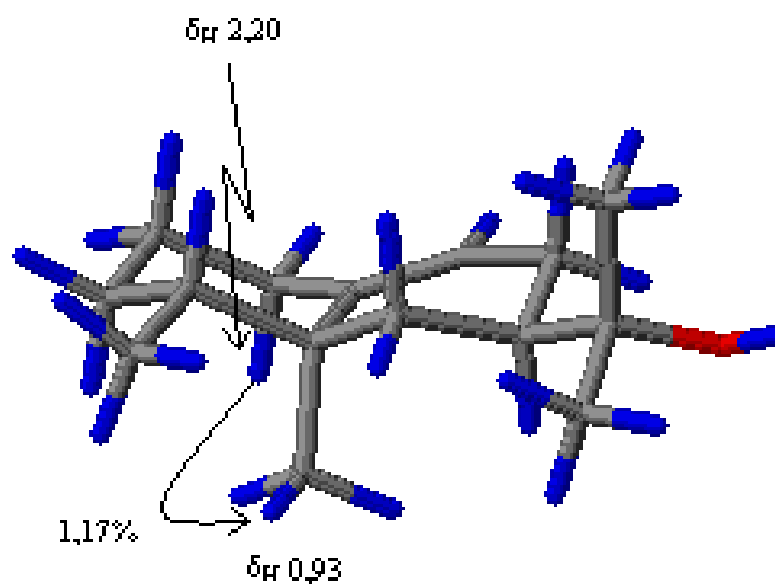


Figura 15: incidindo um pulso seletivo no hidrogênio axial em $\delta_H 2,20$, observamos um incremento de 1,17 % no sinal da metila angular 13 do composto AF 105.

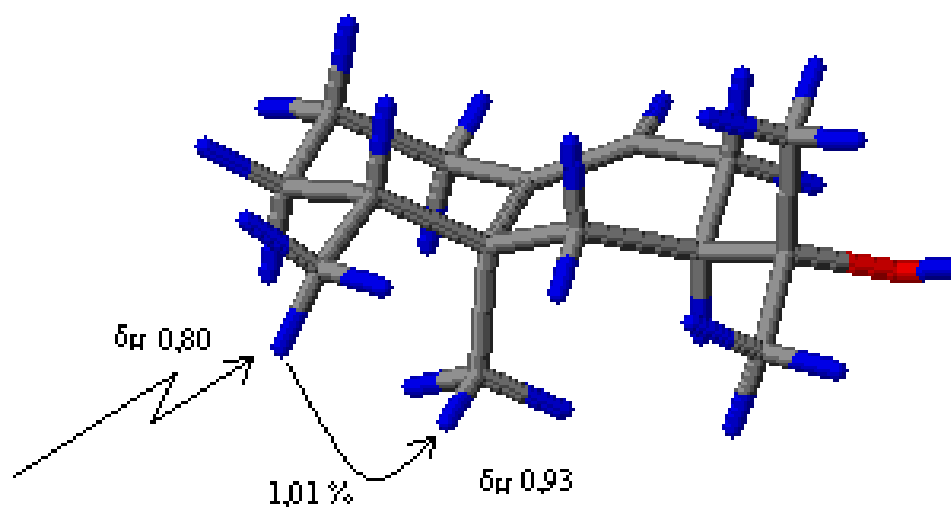


Figura 16: incidindo um pulso seletivo na metila em $\delta_H 0,80$, observamos um incremento de 1,01 % no sinal da metila angular 13 do composto AF 105.

A estereoquímica relativa da metila em δ_C 20,76 foi determinada em um experimento de NOE (NOESY 1D) pela incidência de um pulso seletivo sobre o hidrogênio axial H-5a (δ_H 2,20). O resultado foi um incremento de 1,17% no singlete em δ_H 0,93 (**Figura 15**), indicando a configuração *cis* entre o hidrogênio em questão e a metila. Analogamente, irradiando a metila em δ_H 0,80, notamos um incremento de 1,01% na intensidade do singlete em δ_H 0,93 (**Figura 16**). Isto demonstra que as duas metilas possuem uma configuração relativa 1,2 *cis*, encerrando a determinação estrutural relativa do composto.

Desta forma, as análises por RMN de 1H e ^{13}C $\{^1H\}$ em uma e duas dimensões (DEPT 90 e 135, COSY, HETCOR, COLOC e NOESY 1D), a rotação óptica específica e a comparação dos deslocamentos de ^{13}C fornecidas pela literatura nos permitiram sugerir que o composto em questão é o 2-[(2R, 8R,8aS)-8,8a-dimetil-1,2,3,5,6,7,8, 8a-octa-hidronaftalen-2-il]-propan-2-ol, de nome popular Jinkoh-eremol⁴⁰.

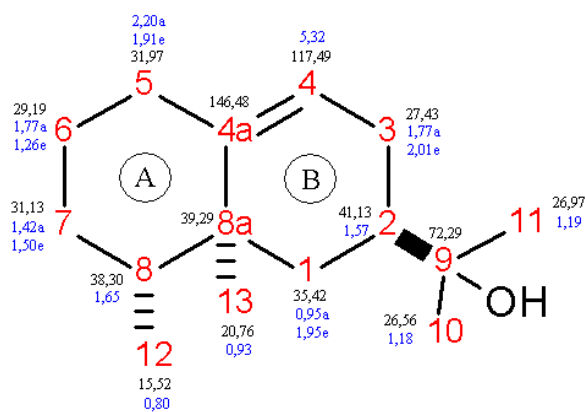


Figura 17: estrutura do jinkoh-eremol com deslocamentos químicos (em ppm) dos sinais de RMN de 1H e de ^{13}C .

A estrutura, juntamente com os deslocamentos dos sinais (em ppm) nos experimentos de RMN de 1H e ^{13}C , é apresentada na **Figura 17**. A série de fragmentações que resulta no pico base de m/z 105 do espectro de massas é apresentada na (**Figura 18**, p. 50).

Em termos olfativos, o composto apresenta odor floral, levemente amadeirado e com características ambaradas. Não foi encontrado qualquer fornecedor comercial do composto em questão, seja para a indústria de A&F ou para a indústria química³⁷.

³⁷ 2000 Allured's Flavor and Fragrance Materials, Allured Publishing Corporation, 2000, EUA; <http://www.merck.com>; <http://www.sigmaaldrich.com>; <http://www.acros.be>.

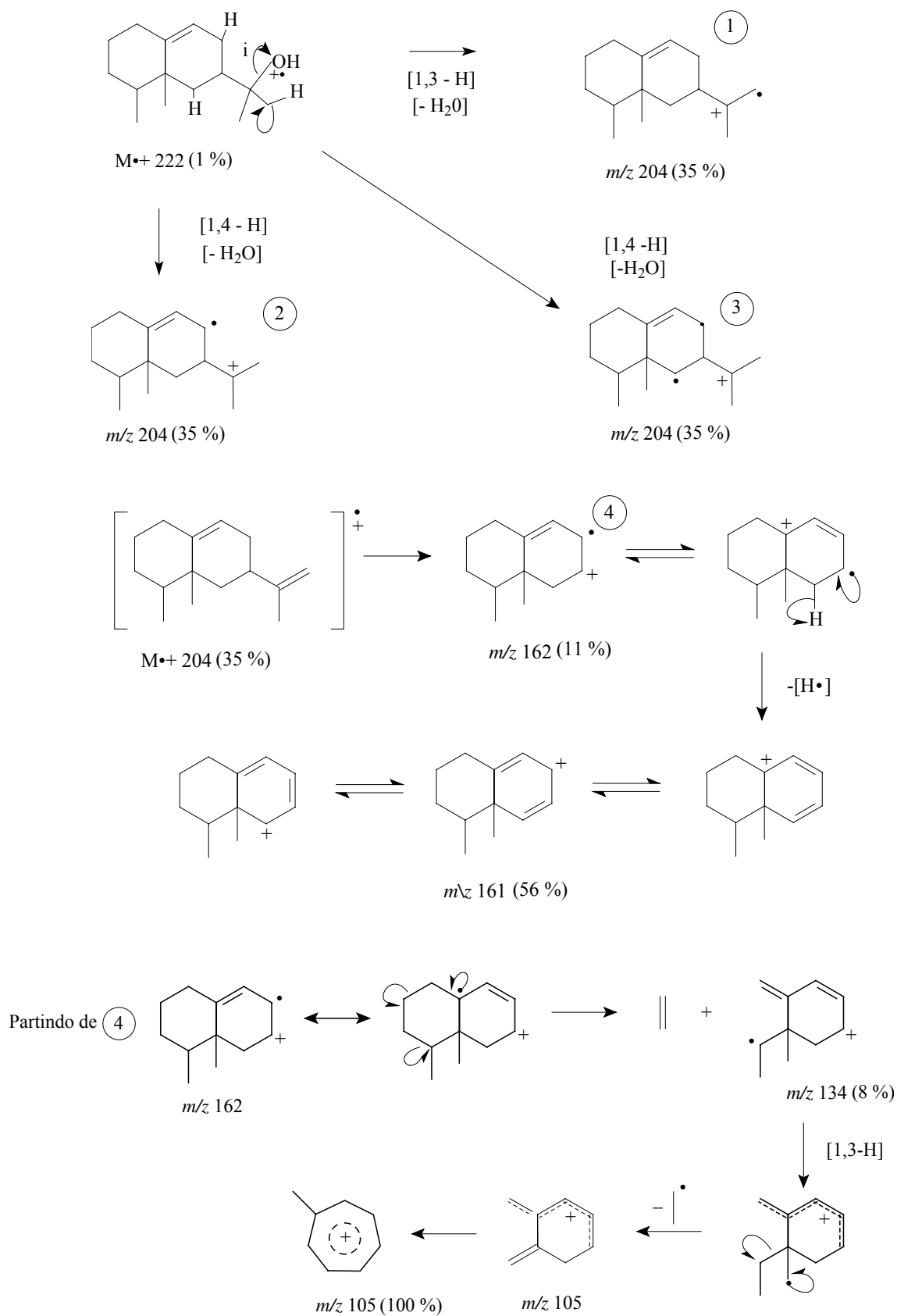
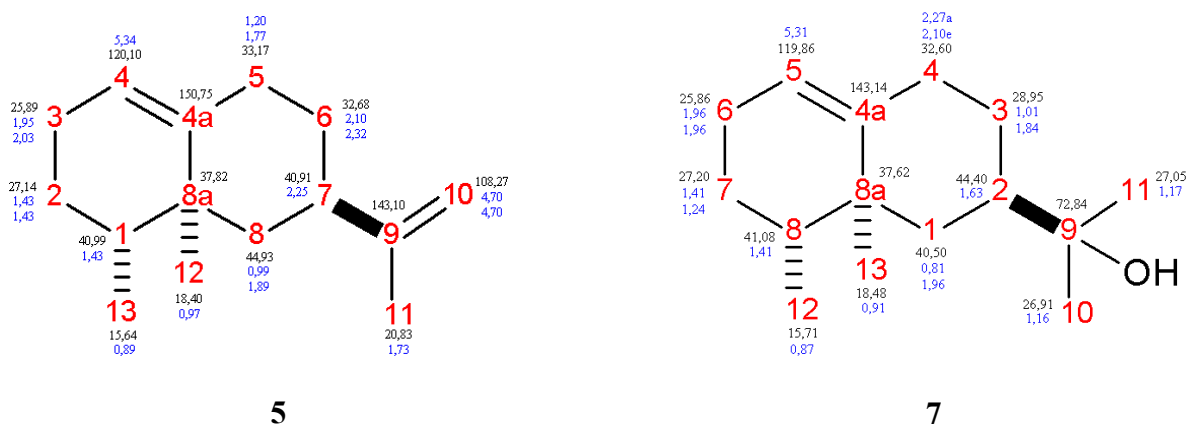


Figura 18: fragmentação do composto jinkoh-eremol isolado do óleo essencial de *A. parviflora* originando o pico base de m/z 105.

A comparação da rotação óptica específica deste composto, $[\alpha]_D^{22} - (5,4 \pm 0,9)^\circ$ (CHCl_3 , c. 5,1) com dados da literatura^{38,39,40} revelam uma certa discrepância de valores, que pode ser atribuída aos diferentes excessos enantioméricos em cada uma das amostras. Contudo, os artigos consultados tratam do composto levógiro, resultado análogo ao nosso.

6.1.2 – Preparação de um isômero de Jinkoh-eremol

Dada a semelhança do composto jinkoh-eremol com hidrocarboneto sesquiterpênico de nome comercial valenceno, **5**, encontrado em óleos cítricos, foi feita a hidratação seletiva da dupla terminal do segundo com fins de comparação do valor olfativo. O composto obtido recebe o nome de valerianol, **7**. As atribuições dos deslocamentos químicos do valenceno e do valerianol foram determinadas através de RMN de ^1H e de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ em uma e duas dimensões. Os resultados obtidos para o valerianol foram comparados com dados disponíveis na literatura⁴¹.



³⁸ ITOKAWA, H.; MORITA, H.; WATANABE, K.; MIHASHI, S.; IITAKA, Y.; "Agarofuran-, Eudesmane- and Eremophilane- Type sesquiterpenoids from *Alpinia japonica* (Thunb.) Miq.", *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33(3), 1148-1153. $[\alpha]_D -14,9^\circ$ (CHCl_3 , c. 0,45)

³⁹ ISHIHARA, M.; TSUNEYA, T.; UNEYAMA, K.; "Fragrant sesquiterpenes from agarwood", *Phytochemistry* **1993**, 33(5), 1147-1155. $[\alpha]_D^{29} -74,5^\circ$ (CHCl_3 , c.1,33)

⁴⁰ NAKANISHI, T.; YAMAGATA E.; YONEDA, K.; "Jinkoh-eremol and Jinkohol II, Two New Sesquiterpene alcohols from agarwood", *J.Chem. Soc.Perkin Trans I* **1983**, 601-604. $[\alpha]_D - 66^\circ$ (CHCl_3 , c. 0,13)

⁴¹ ARANTES, S.F.; HANSON, J.R.; HITCHCOCK, P.B.; "The hydroxylation of the sesquiterpenoid valerianol by *Mucor plumbeus*", *Phytochemistry* **1999**, 52 (6), 1063-1067.

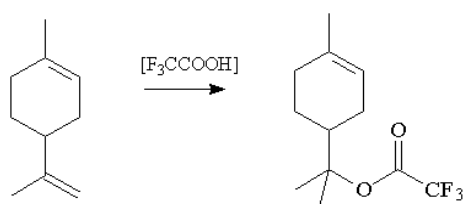


Figura 19: reação de limoneno com ácido tri-fluoro acético resultando em tri-fluoro acetato de terpenila.

A adição seletiva de uma molécula de água a uma dupla ligação em posição terminal, seguindo a regra de Markovnikov, pode ser realizada através de reações com sais de mercúrio. Entretanto a aplicação desta reação em larga escala envolveria quantidades significativas de material poluente (Hg), contrariando a tendência da “química verde”

ou ecologicamente correta. Num levantamento das informações disponíveis na literatura, encontrou-se metodologia descrita por Mattos *et al.* (2004)⁴² na qual, a partir de limoneno e de ácido tri-fluoro acético, obtém-se tri-fluoro acetato de terpenila (**Figura 19**).

Utilizando o mesmo procedimento descrito para o limoneno, foi feita a reação do valenceno com ácido tri-fluoro acético, resultando no tri-fluoro acetato de valerianila, **6**. Uma posterior hidrólise básica, forneceu- nos o valerianol (**Figura 20**).

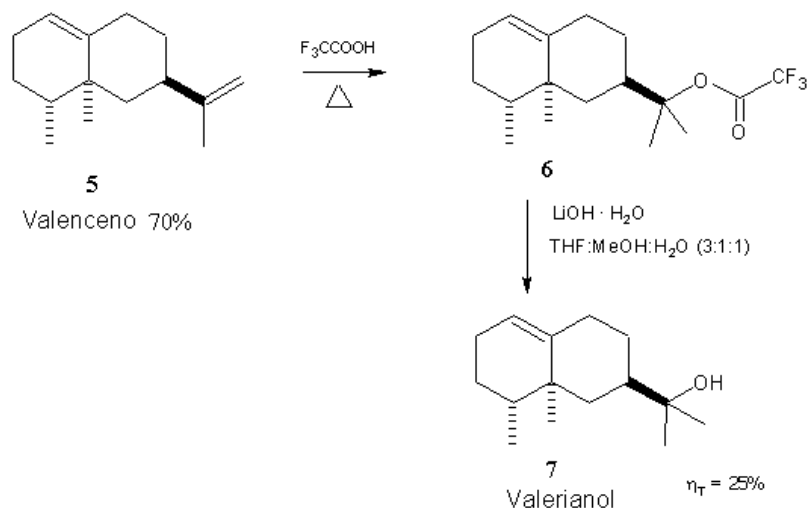


Figura 20: reação do valenceno com ácido tri-fluoro acético e posterior hidrólise para obtenção do valerianol.

⁴² MATTOS, M.C.S.; COELHO, R.B.; SANSEVERINO, A.M.; “Chemospecific Preparation of Both Enantiomers of alpha-Terpinyl Trifluoroacetate”, *Synth. Commun.* **2004**, 34, 525-529.

A análise do composto por absorção no infravermelho (**Figura 21**) mostrou uma banda larga de absorção em 3386 cm^{-1} , típica de estiramento de OH ligados por ponte de hidrogênio. A ausência do sinal típico de estiramento de carbonila entre 1600 cm^{-1} e 1800 cm^{-1} mostra que a reação de hidrólise foi bem sucedida. Em 1665 cm^{-1} temos sinal referente ao estiramento da ligação C=C.

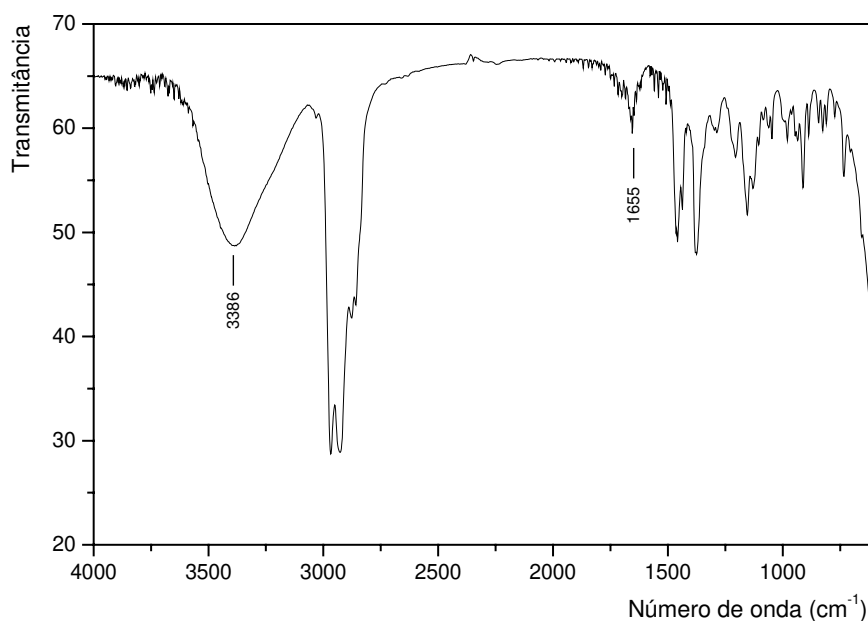


Figura 21: espectro de absorção no infravermelho do valerianol.

O valerianol é um constituinte do óleo essencial de *Valeriana officinalis* L. (Valerianaceae), Jommi *et al* (1969)⁴³, família com representantes autóctones na América, Europa e Ásia. Pode estar presente em concentrações de até 34 %⁴⁴.

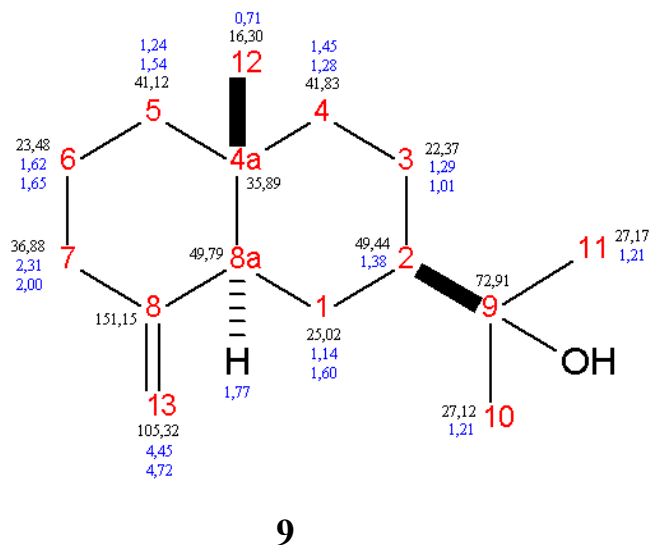
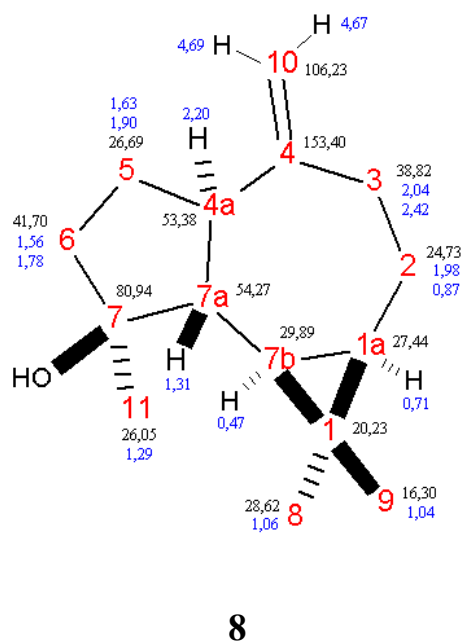
A comparação olfativa entre os compostos jinkoh-eremol e valerianol revelou grande semelhança olfativa, sendo que o primeiro apresenta um caráter floral mais distinto que o segundo. Por sua vez, o valerianol apresenta traços balsâmicos mais acentuados.

⁴³ JOMMI, G.; KREPINSKY, J.; HEROUT, V.; SORM, F.; *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* **1969**, 34, 593, citado por ARANTES, F.A.; HANSON, J.R.; HITCHCOCK, P.B.; "The hydroxylation of the sesquiterpenoid valerianol by *Mucor plumbeus*", *Phytochemistry* **1999**, 52 (6), 1063-1067.

⁴⁴ BOS, R.; WOERDENBAG, H.J.; HENDRIKS, H.; SCHEFFER, J.J.C.; "Composition of the essential oils from underground parts of *Valeriana officinalis* L. s.l. and several closely related taxa", *Flavor and Fragrance Journal* **1998**, 12 (5), 359-370.

6.1.3 – Outros compostos isolados do óleo essencial de *A.parviflora*

O procedimento descrito para isolar o jinkoh-eremol nos permitiu isolar e caracterizar outros dois compostos bastante comuns em óleos essenciais: espatulenol, **8** e β -eudesmol, **9**. Ambos os compostos aparecem na listagem com a composição centesimal do óleo bruto de *A.parviflora*, porém os compostos isolados não foram identificados pela biblioteca do equipamento, motivando-nos a dar sequência no processo de identificação via RMN. As atribuições foram feitas através da análise dos espectros de RNM de ^1H e de ^{13}C em uma e duas dimensões, do espectro de massas e por comparação com dados da literatura^{45,46}.



⁴⁵ GOUD, T.V.; REDDY, N.S.; KRISHNAYAH, P.; VENKATESWARLU, Y.; "Spathulenol: a rare sesquiterpene from soft coral *Sinularia kavarattiensis*", *Biochem. Syst. Ecol.* **2002**, 30, 493-495.

⁴⁶ MASH, E.A.; FRYLING, J.A.; "Homochiral ketals in organic synthesis. Enantioselective synthesis of (+)- β -Eudesmol", *J.Org.Chem* **1987**, 52, 3000-3003.

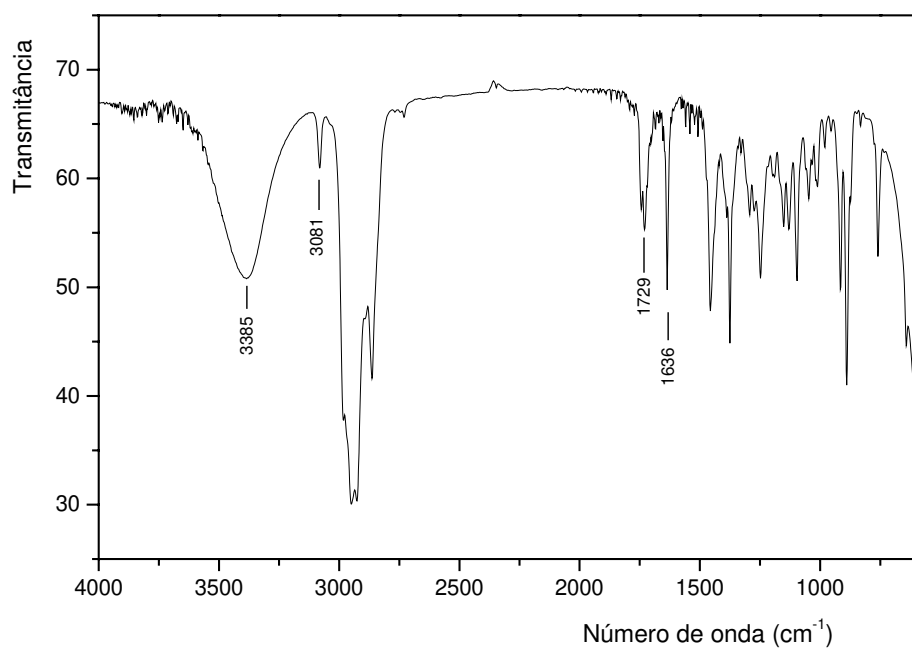


Figura 22: espectro de absorção no infravermelho do espatulenol.

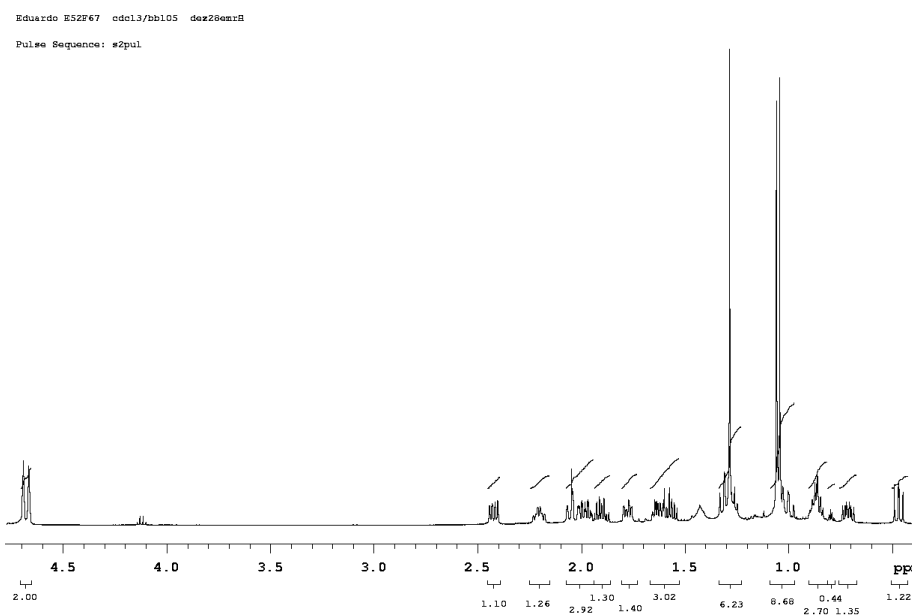


Figura 23: espectro de RMN de ¹H de espatulenol, adquirido a 488,99 MHz em CDCl₃/TMS.

6.1.3.1 – Pontos principais na caracterização de espatulenol

A análise por CG-EM revelou um composto com índice de Kovats 1576 e íon molecular $M^+ 220$, porém a sugestão da biblioteca não foi conclusiva, com índices de certeza inferiores a 50%, o que nos fez enviar a molécula isolada para análise de RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional. Ainda assim, os dados obtidos por CG-EM nos permitiram sugerir a fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ e um composto com número de insaturação (ou anéis) igual a 4.

Os sinais mais significativos do espectro de IV mostrado na **Figura 22** referem-se ao estiramento da ligação O–H, de hidroxilas ligadas por pontes de hidrogênio intermolecular em 3385 cm^{-1} e ao estiramento de hidrogênio vinílico terminal 3081 cm^{-1} . Somadas, as informações obtidas por CG-EM e IV nos mostram que o composto é um álcool sesquiterpênico.

Os espectro de RMN de ^1H (**Figura 23**) nos mostra um duplo-dublete em δ_{H} 0,47 característico de hidrogênio ligado a ciclopropano com acoplamentos de 9,5 Hz com o hidrogênio H-7a e 12 Hz com o H-1a (ver **8**). A seu lado, em δ_{H} 0,71, temos o outro hidrogênio ligado ao ciclopropano H-1a representado por um duplo-duplo-dublete. Vemos ainda duas metilas em δ_{H} 1,04 e 1,06 além de uma terceira um pouco mais desprotegida em δ_{H} 1,29. Em δ_{H} 4,67 e δ_{H} 4,69 vemos os sinais dos hidrogênios ligados à dupla terminal com um acoplamento da ordem de 1 Hz.

Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT 90 e 135 (**Figura 24** e **Figura 25**, p. 58) nos mostram ainda 3 metilas, 5 metilenos, 4 metinos e 3 carbonos quaternários. Somando as informações obtidas por CG-EM e por RMN ^1H podemos afirmar que o referido composto apresenta 1 ligação dupla terminal e 3 anéis, sendo um deles de 3 membros. O perfil cromatográfico do óleo de macacaporanga apresentada na **Tabela 9** (ANEXO 1, p.127) apresenta o composto espatulenol que possui as características do composto isolado.

Eduardo E52F67 cdcl3/bb105 dez28emrC
Pulse Sequence: s2pul

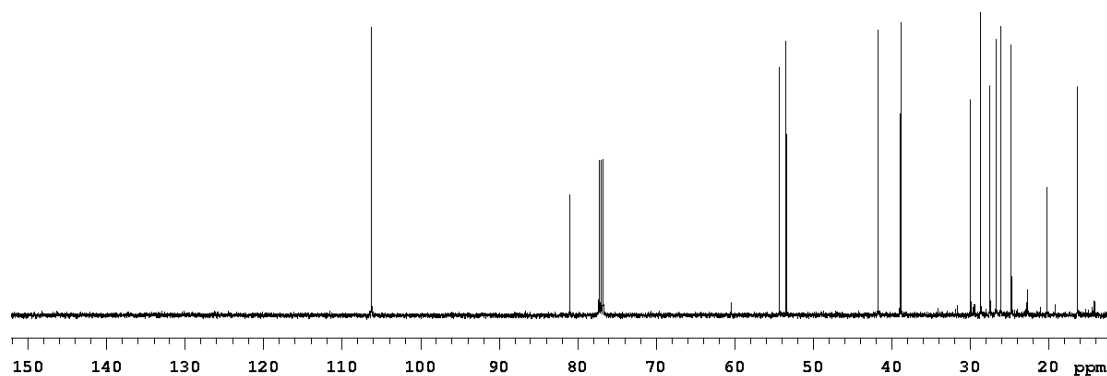


Figura 24: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de spatulenol adquirido a 488,99 MHz em CDCl_3/TMS .

Eduardo E52F67 cdcl3/bb105 dez28emrD
Pulse Sequence: dept

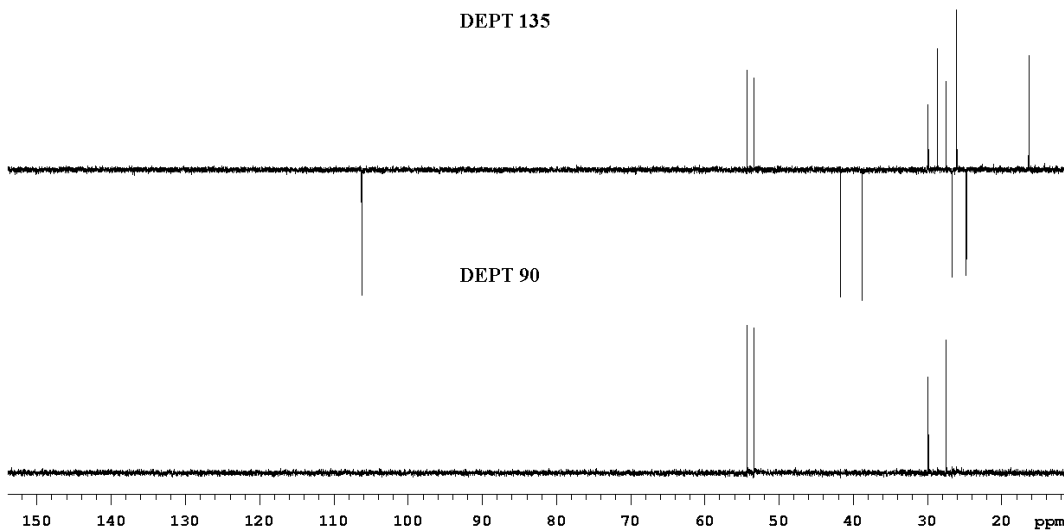


Figura 25: espectros de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 de spatulenol adquiridos a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

A confirmação estrutural foi feita através das correlações apresentadas nos espectros de RMN bidimensional ^1H - ^1H -COSY e ^1H - ^{13}C -HSQC e HMBC (ANEXO 2, p.129) e de comparação com dados disponíveis em literatura.

Vale notar a diferença de cerca de 12 ppm nos deslocamentos químicos das metilas geminais 8 e 9. Isto é justificado ao analisarmos o ambiente eletrônico em torno de cada uma. A metila de número 9, alfa ao plano, está espacialmente próxima à hidroxila ligada a C-7, rica em elétrons os quais acabam por proteger eletronicamente a região circunvizinha. Além disso, temos ainda um efeito pseudo *gauche* entre a mesma metila e o carbono de número 2, causando proteção por efeito gama⁴⁷.

A rotação óptica medida foi de $[\alpha]_D^{22}$ $(+10,5 \pm 0,6)^\circ$, (CDCl_3 , c. 1,3), sendo que a literatura consultada apresenta valor de $[\alpha]_D$ $(+7,2)^\circ$ (CDCl_3 , c. 1,3)⁴⁸.

⁴⁷ BREITMEIER, E.; VOELTER, W.; Carbon 13 NMR Spectroscopy, 3º ed., Graphischer Betrieb Konrad Triltsch, **1987**, Würzburg.

⁴⁸ TRINGALI, C; PIATTELLI, M.; SPATAFORA, C.; “Sesquiterpenes and geranylgeranylglycerol from the brown algae *Taonia lacheana* and *Taonia atomaria* f. ciliata: their chemotaxonomic significance”, *Phytochemistry* **1995**, 40 (3), 827-831.

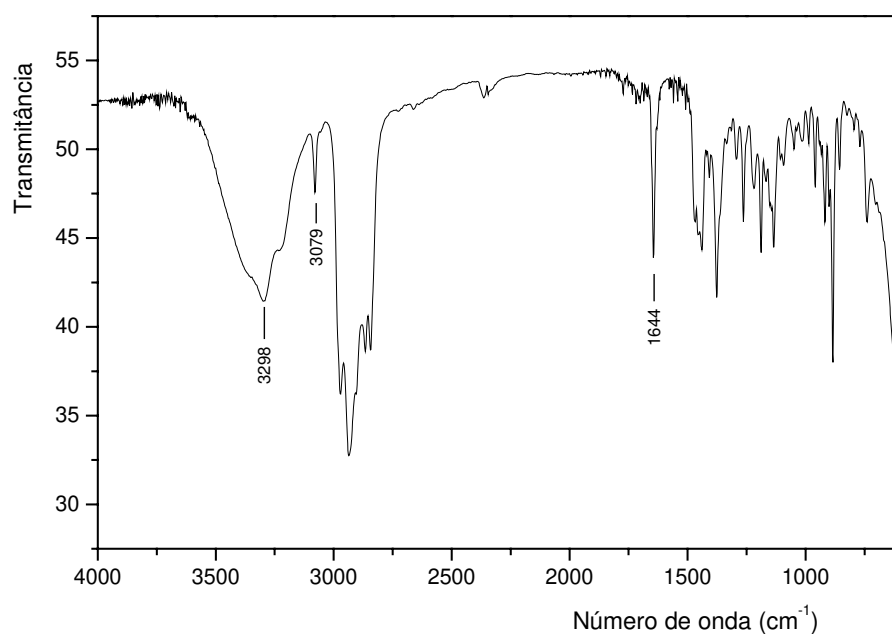


Figura 26: espectro de absorção no infravermelho do composto β -eudesmol.

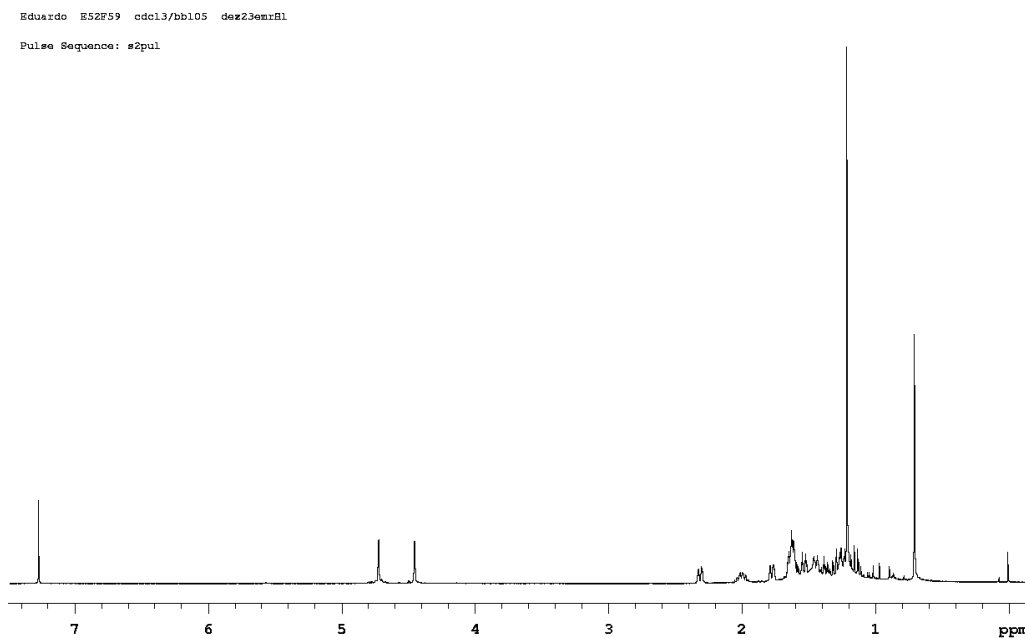


Figura 27: espectro de RMN de ¹H de β -eudesmol adquirido a 499,88 MHz em CDCl₃/TMS.

6.1.3.2 – Pontos principais na caracterização de β -eudesmol

Analogamente ao composto anterior, a sugestão da biblioteca do equipamento para a molécula isolada não foi conclusiva e a amostra foi enviada para análise por RMN de ^1H e ^{13}C uni e bidimensional.

Por CG-EM obtivemos o índice de Kovats de 1649 e íon molecular $\text{M}^{\bullet+} 222$, dados que nos levaram a sugerir a fórmula molecular de $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ e número de insaturações ou anéis igual a 3, analogamente ao composto jinkoh-eremol.

Os sinais mais significativos do espectro de IV mostrado na **Figura 26** são relativos ao estiramento de uma banda de OH em 3298 cm^{-1} (ligados por ponte de H intermolecular), da dupla ligação em 1644 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$) e 3079 cm^{-1} ($\text{C}-\text{H}$).

Pela análise do espectro de RMN de ^1H (**Figura 27**) vemos os sinais de 3 metilas sendo uma em $\delta_{\text{H}} 0,71$, H-12 (ver **9**), e as outras duas superpostas em $\delta_{\text{H}} 1,21$. Temos também o sinal de hidrogênios de metileno terminal em $\delta_{\text{H}} 4,45$ e $\delta_{\text{H}} 4,72$ com acoplamento da ordem de 1 Hz. Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT 90 e 135 (**Figura 28** e **Figura 29**, p. 62) nos mostram sinais de 3 metilas, sendo duas superpostas em $\delta_{\text{H}} 27,12$, 7 metilenos, 3 metinos e 3 carbonos quaternários, sendo um carbinólico em $\delta_{\text{C}} 72,91$, H-9, um sp^2 em $\delta_{\text{C}} 151,15$, H-13 e o terceiro na junção dos anéis em $\delta_{\text{C}} 35,89$, H-4a.

Os dados fornecidos pelas análises em CG-EM, IV e RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ nos permitem concluir que o composto em questão é um álcool bicíclico com uma dupla ligação em posição terminal. Novamente recorremos à **Tabela 9** (ANEXO 1, p.127), onde há um composto com as características apresentadas: β -eudesmol. A confirmação estrutural foi feita a partir da análise dos espectros de ^1H e ^{13}C bidimensionais (ANEXO 4, p.135) e de dados disponíveis na literatura.

Devido à pequena quantidade de amostra disponível ($\sim 5\text{ mg}$) não foram feitas medidas de rotação óptica ($[\alpha]_D$), e sim um experimento de dicroísmo circular. O gráfico resultante é apresentado na **Figura 87**, p.93 (ANEXO 4). A ausência de um

padrão deste composto não nos permitiu determinar qual o enantiômero em questão. Contudo, o espectro fica registrado para eventual comparação.

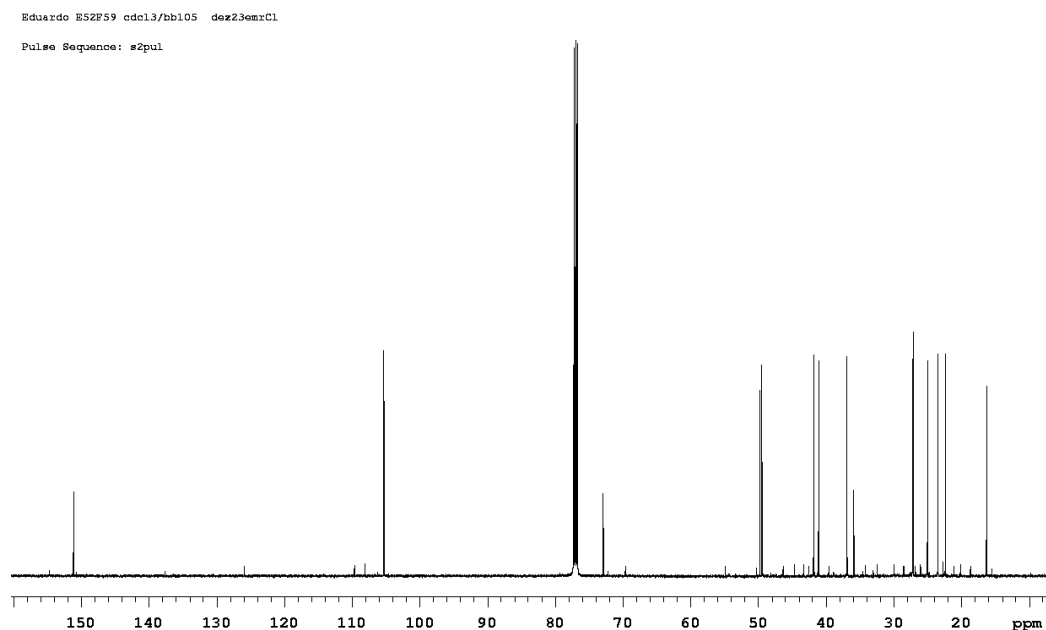


Figura 28: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de β -eudesmol adquirido a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

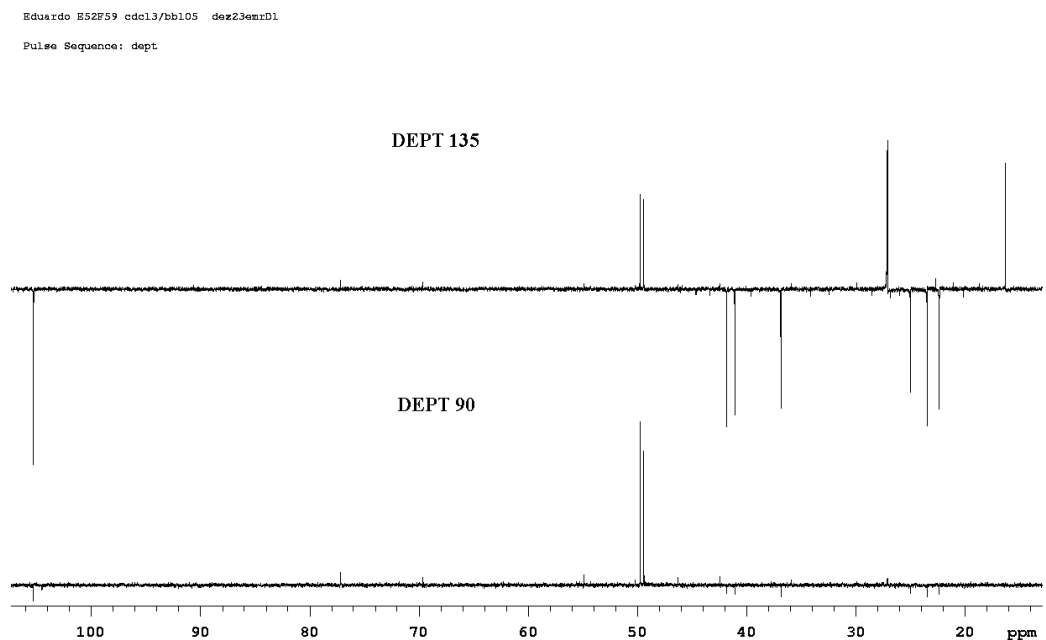


Figura 29: espectros de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 de β -eudesmol adquiridos a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

6.1.4 – Conclusão do estudo de *Aniba parviflora*

O composto AF 105 isolado de *Aniba parviflora* e agora denominado jinkoh-eremol foi isolado e caracterizado primeiramente em 1983, a partir de planta do gênero *Aquilaria*, provavelmente *Aquilaria malaccensis* Benth (problemas de identificação botânica), família *Thymelaeaceae*, nativas do sul e sudeste da Ásia. Há relatos de efeitos deste composto sobre o sistema nervoso central de ratos⁴⁹ e sobre receptores de dopamina D2 e serotonina 5-HT2A⁵⁰, o que pode sugerir o uso deste óleo essencial como um calmante nas práticas de aromaterapia. Não foram encontradas referências do isolamento, ou mesmo de detecção por CG-EM, do composto em plantas brasileiras ou mesmo em espécies de *Lauraceae*. A dificuldade de detecção encontrada por bibliotecas de espectrometria de massas, é justificada pela baixa frequência do composto em produtos comerciais de grande escala, constatada, até o presente estudo, apenas em óleos do gênero *Aquilaria*, onde pode estar entre os constituintes majoritários⁵¹.

⁴⁹ OKUGAWA, H.; UEDA, R.; MATSUMOTO, K.; KAWANISHI, K.; KATO, K.; “Effect of Jinkoh-eremol and Agaspirol from Agarwood on the Central Nervous System in Mice”, *Planta Med.* **1996**, 62, 2-6.

⁵⁰ OKUGAWA, H.; UEDA, R.; MATSUMOTO, K.; KAWANISHI, K.; KATO, K.; “Effects of sesquiterpenoids from “Oriental incenses” on acetic acid-induced writhing and D2 and 5-HT2A receptors in rat brain”, *Phytomedicine* **2000**, 7(5), 417-422.

⁵¹ MEIER, M.; KOHLENBERG, B.; BRAUN, N.A.; “Isolation of anisyl acetone from agarwood oil”, *Journal of Essential Oil Research* **2003**, 15(1), 54-56.

6.2 – *Protium rubrum* Cuatrec

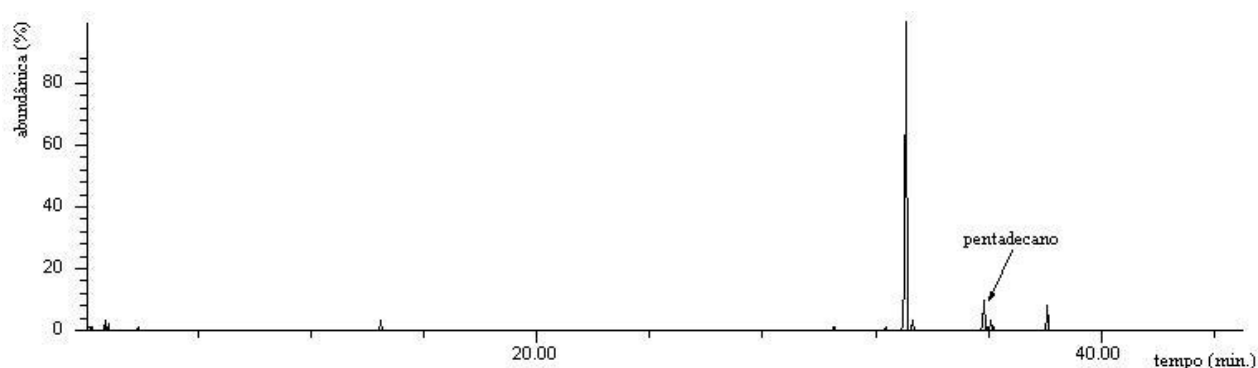


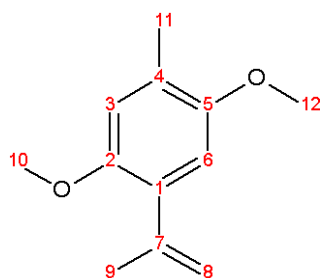
Figura 30: cromatograma de íons totais do óleo essencial de *Protium rubrum* co-injetado com pentadecano, coluna HP5, condições 50°C (2 min), 50-290 (3°C•min⁻¹), 290 °C (5 min), fluxo de He a 0,7 ml•min⁻¹ e injetor a 200 °C.

Tabela 5: compostos identificados no bálsamo de *P. rubrum* por CG-EM. Em negrito estão os compostos de interesse deste trabalho. Compostos não identificados aparecem como NI.

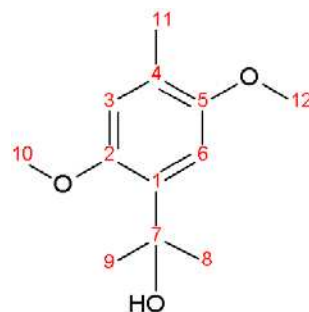
Nº	Tr	Área %	KI calculado	KI literatura	Composto (% de similaridade do EM)
1	14,60	1,85	1030	1031	Limoneno (99)
2	30,65	0,77	1375	1376	alfa-copaeno (97)
3	31,83	0,32	1401	1398	Cipereno (90)
5	32,5	0,65	1418	1415	Z-alfa-bergamopteno (95)
6	33,18	84,18	1434	-	PR 192
7	33,42	2,17	1440	-	NI
8	34,79	0,30	1472	-	NI
9	35,94	0,00	1500	1500	Pentadecano
10	36,06	0,69	1503	-	NI
11	36,19	2,16	1506	1509	beta-bisaboleno (95)
12	36,30	0,85	1509	1515	Z-gama-bisaboleno
13	38,19	6,07	1557	-	PR 210

O espectro de CG-EM (**Figura 30**), revelou dois compostos de fragmentação bastante semelhante e que não foram identificados pela biblioteca do equipamento ou por pesquisa bibliográfica baseada nos índices de retenção. Um deles é majoritário, presente cerca de 84 %, de $M^{+\bullet}$ 192, denominado PR 192. O segundo composto, PR 210, apresenta $M^{+\bullet}$ 210 estava presente em cerca de 6 %. A composição do óleo é apresentada na **Tabela 5**.

Após a análise do óleo bruto por CCD, optamos pela separação dos composto usando coluna de sílica gel. Obtivemos enriquecimento de 90% de PR 192 e 92% de PR 210. O material foi enviado para espectroscopia de RMN de ^1H e de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ em uma e duas dimensões. A partir da fragmentação de massas e dos espectros de RMN, sugerimos a fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2$ para PR 192 e $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3$ para PR 210. O cálculo do número de insaturações ($12 - 8 + 1 = 5$) nos mostra que PR192 é um composto altamente insaturado, sugerindo a presença de um anel aromático (4 insaturações) e uma ligação dupla. No caso de PR 210 o número de insaturações calculado foi de 4 ($12 - 9 + 1 = 4$). A análise dos dados obtidos nos experimentos supracitados nos levou a identificar o composto PR 192 como 1-isopropenil-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno, **10**. Por sua vez, o composto PR 210 foi identificado como 1-isopropanol-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno, **11**.



10



11

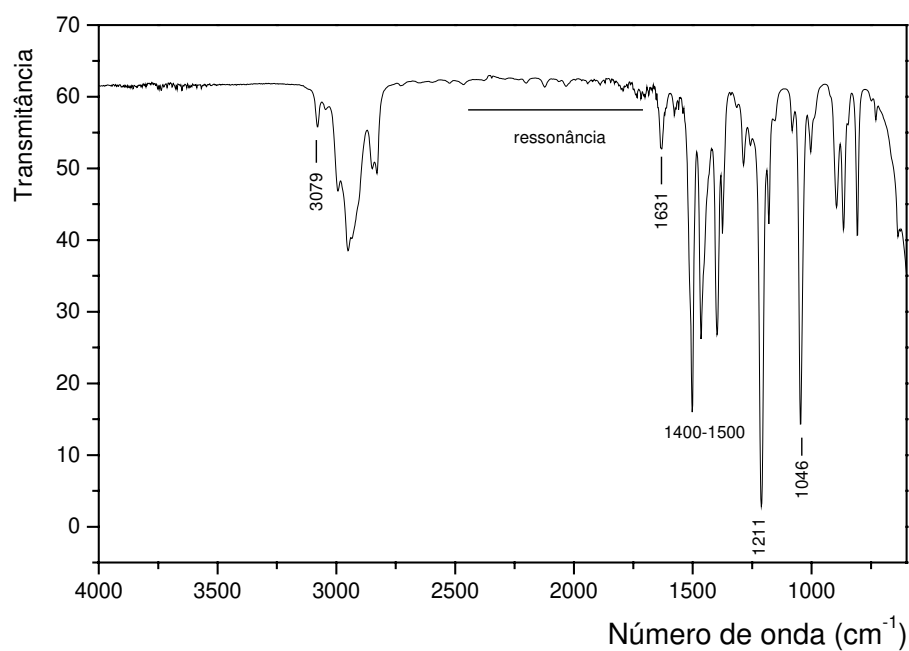


Figura 31: espectro de absorção no infravermelho do composto PR 192.

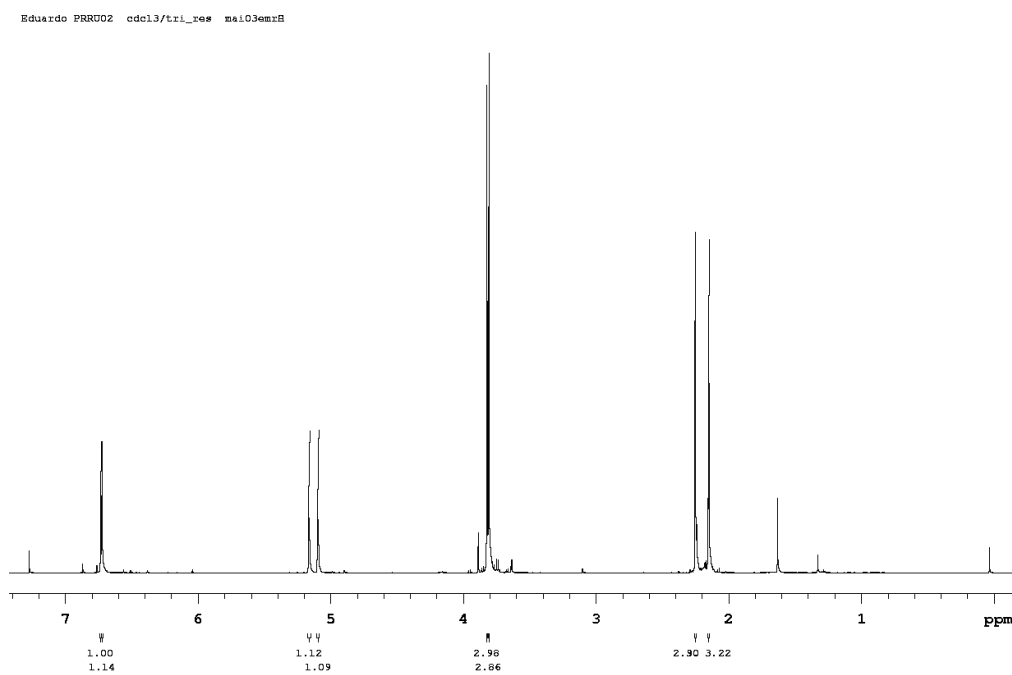


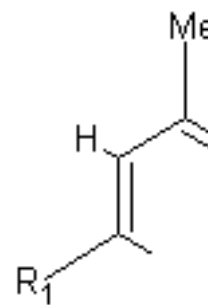
Figura 32: espectro de RMN de ¹H do composto PR 192 adquirido a 499,88 MHz em CDCl₃/TMS.

6.2.1 – Identificação do composto PR 192

O espectro de absorção no infravermelho mostrado na **Figura 31** nos mostra sinais em 3079 cm^{-1} , característico de estiramento C-H de ligação dupla em posição terminal e 1631 cm^{-1} relativo a estiramento C=C. Sinais típicos de estiramento de ligação dupla em anel aromático, bem como vibrações do esqueleto são percebidas na região de $1400\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$. Entre 2000 e 1650 cm^{-1} , temos sinais de ressonância, também típicos de anéis aromáticos. Por fim, vemos sinais de estiramento assimétrico de ligações do tipo C–O–C em 1211 cm^{-1} e simétrico em 1046 cm^{-1} .

Os espectros de RMN de ^1H (**Figura 32**), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (**Figura 33**, p. 70) e DEPT 90 e 135 (**Figura 34**, p. 70) nos permitem identificar duas metilas ($\delta_{\text{C}} 16,10$; $\delta_{\text{C}} 23,23$; $\delta_{\text{H}} 2,15$; $\delta_{\text{H}} 2,25$), um metileno ($\delta_{\text{C}} 114,74$; $\delta_{\text{H}} 5,10$; $\delta_{\text{H}} 5,16$), duas metoxilas ($\delta_{\text{C}} 55,94$; $\delta_{\text{C}} 56,28$; $\delta_{\text{H}} 3,81$; $\delta_{\text{H}} 3,82$), além de dois hidrogênios aromáticos ($\delta_{\text{H}} 6,72$; $\delta_{\text{H}} 6,73$). Notamos ainda, que o composto apresenta 5 carbonos quaternários ($\delta_{\text{C}} 126,14$; $\delta_{\text{C}} 130,52$; $\delta_{\text{C}} 144,32$; $\delta_{\text{C}} 150,22$; $\delta_{\text{C}} 151,50$). Na região dos hidrogênios aromáticos, notamos apenas dois singletos ($\delta_{\text{H}} 6,72$; $\delta_{\text{H}} 6,73$) indicando um anel tetrasubstituído e H's em carbonos não adjacentes. A presença de um quinto carbono quaternário nos remete à idéia de um grupo isopropenil como um dos substituintes do anel aromático. Isso é confirmado através da correlação ^1H - ^1H COSY (**Figura 35**, p. 72) entre os hidrogênios vinílicos e a metila cujos hidrogênios estão mais protegidos ($\delta_{\text{H}} 5,10$ e $\delta_{\text{H}} 5,16$; $\delta_{\text{H}} 2,15$; 4J).

Temos ainda no espectro de ^1H - ^1H COSY, uma correlação entre um hidrogênio aromático ($\delta_{\text{H}} 6,73$) e a metila de H's mais desprotegidos ($\delta_{\text{H}} 2,25$) através de um acoplamento benzílico (4J). Por fim, não há outros sinais ligados a este, o que nos leva a propor o fragmento **12**. O substituinte R_1 pode ser uma metoxila ou o isopropenil.



12

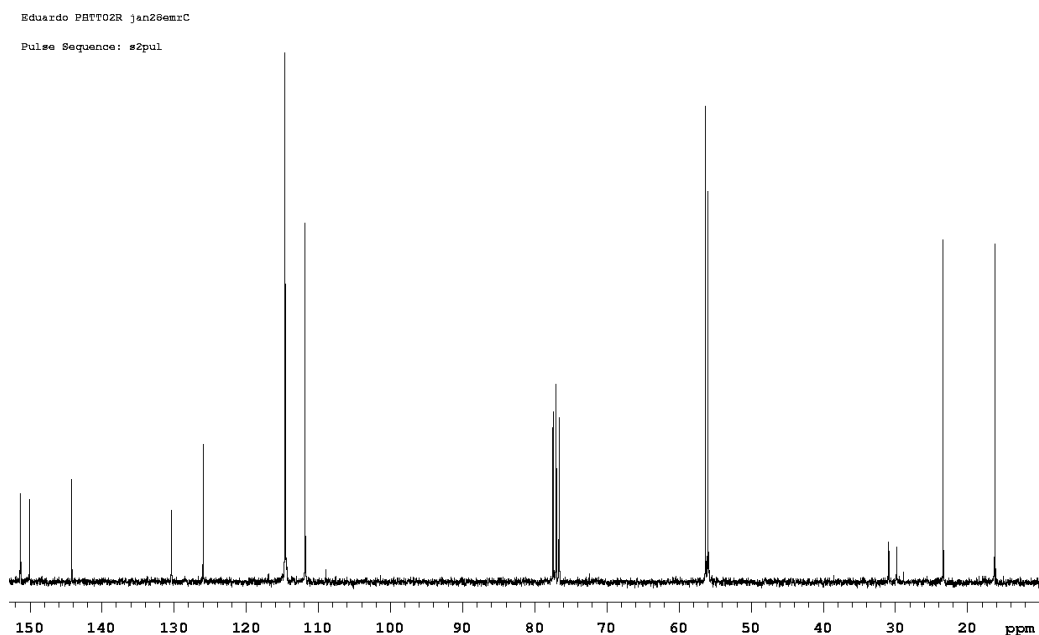


Figura 33: espectros de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto PR 192 obtidos a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

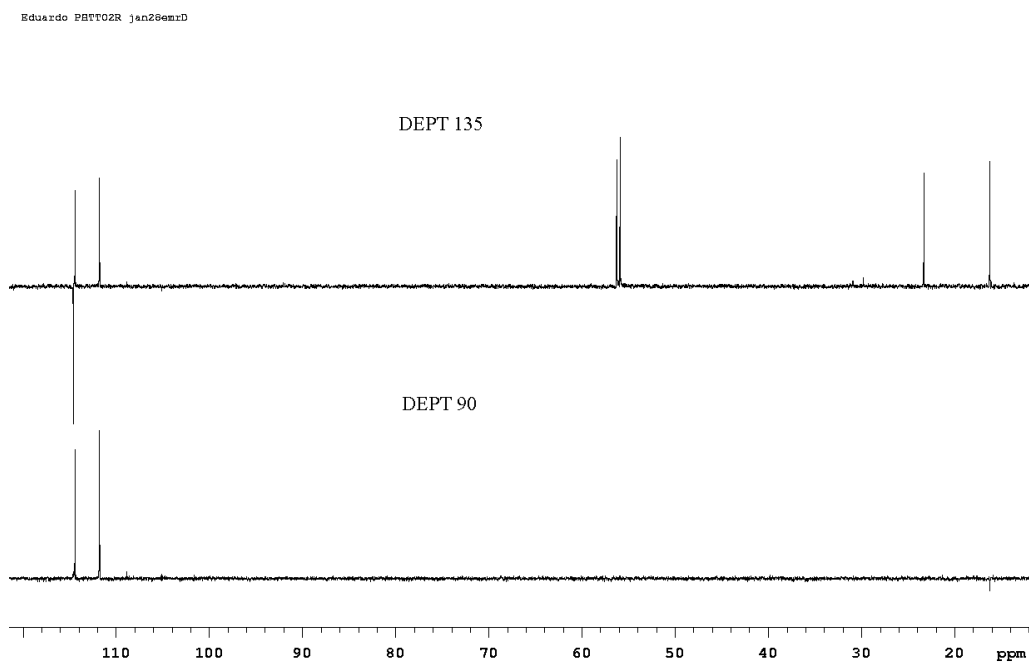


Figura 34: espectros de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 do composto PR 192 obtidos a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

Os dados obtidos a partir do mapa de contorno de RMN de correlação ^1H - ^{13}C (HSQC, **Figura 90**, ANEXO 5, p.139) são apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 6: atribuições dos sinais de RMN de ^1H e de ^{13}C do composto PR 192 em solução de CDCl_3 com TMS adquiridos a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente.

Nº	δ_{C} (ppm)	CH_x	δ_{H} (ppm)
11	16,10	CH_3	2,25 (3H, s, H-11)
9	23,23	CH_3	2,15 (3H,m, H-9)
10	55,94	CH_3	3,81 (3H, s, H-10)
12	56,28	CH_3	3,82 (3H, s, H-10)
3	111,94	CH	6,73 (1H,s, H-3)
6	114,59	CH	6,72 (1H,s, H-6)
8	114,74	CH_2	5,10 (1H, m, H-8z); 5,16 (1H, qd, $^2J=1,5$ Hz; $^3J=2,1$ Hz, H-8e)
4	126,14	C_0	
7	130,52	C_0	
1	144,32	C_0	
2	150,22	C_0	
5	151,50	C_0	

Analisando as correlações entre ^1H e ^{13}C reveladas no espectro de RMN de correlação ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) (**Figura 36**, p. 72), vemos a correlação entre o carbono da metila sobre o anel (δ_{C} 16,10, C-4) e um hidrogênio aromático (δ_{H} 6,73, H-3). Temos ainda, correlações entre o carbono vinílico (δ_{C} 114,74) e os H's da metila em δ_{H} 2,15; e entre o C aromático em δ_{C} 114, 59 e a metila em δ_{H} 2,25. Há ainda uma correlação entre o C em δ_{C} 126,14 e um H aromático em δ_{H} 6,73.

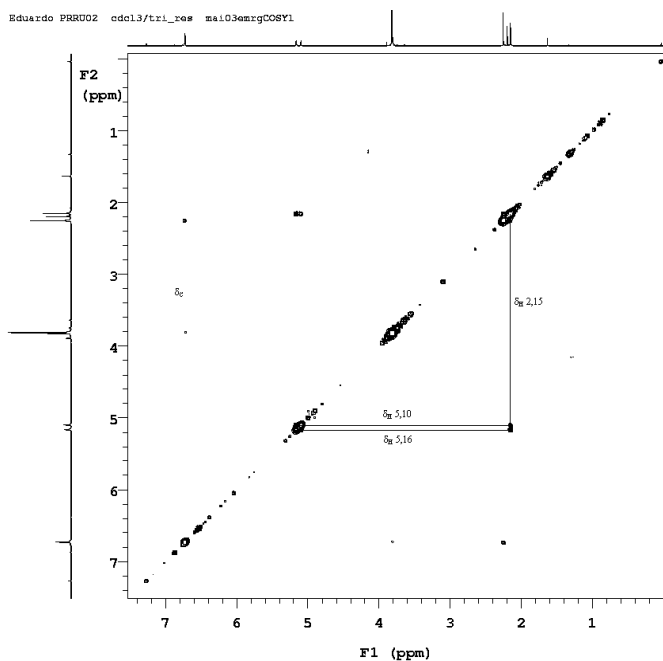


Figura 35: mapa de contorno de RMN 2D de correlação ^1H - ^1H (COSY) do composto PR 192 obtido a 499,88 MHz (CDCl_3/TMS).

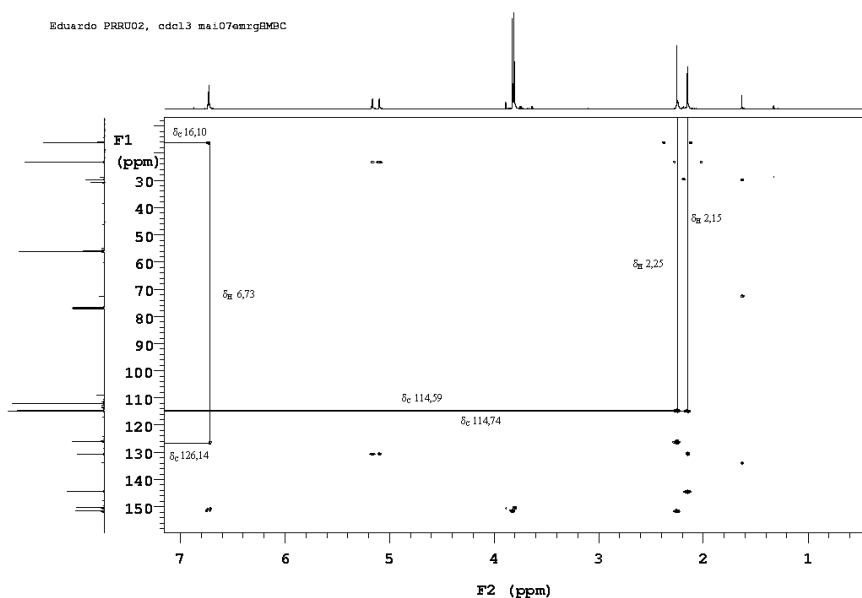
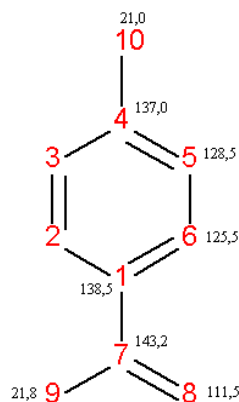


Figura 36: mapa de contorno de RMN 2D de correlação ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto PR 192, obtido a 499,88 MHz (CDCl_3/TMS) e 125,71 MHz respectivamente.

Também há acoplamento de longa distância entre o carbono quaternário (δ_C 126,14), e os hidrogênios da metila sobre o anel em δ_H 2,25 (H-11), justificando sua atribuição como C-4. O carbono em δ_C 150,22 apresenta correlação 3J com H-6 (δ_H 6,72) e com os H's da metoxila em δ_H 3,81, sendo classificado como C-2. Usando dados do espectro de 1H - ^{13}C HSQC temos que o carbono ligado à metoxila em δ_H 3,81 apresenta δ_C 56,28, logo, é o C-10. Já o carbono em δ_C 151,50 apresenta correlação de longa distância 3J com o H aromático H-3 (δ_H 6,73), com os H's da metoxila em δ_H 3,82 e com os H's da metila em δ_H 2,25. Isso nos leva a classificá-lo como C-5. Sabemos ainda pelo espectro 1H - ^{13}C HSQC, que os H's da metoxila em δ_H 3,82 estão ligados ao C de δ_C 55,94, designado então como C-12.

As demais correlações presentes no espectro 1H - ^{13}C HMBC não nos permitem atribuir os deslocamentos químicos dos carbonos 1 e 7 (ver **10**, p.63) de maneira inequívoca. Desta forma, utilizamos-nos de comparações com dados de RMN disponíveis na literatura para o composto 1-isoprepenil-4-metilbenzeno, **13**, o que nos sugere atribuir o valor de δ_C 130,52 ao carbono 1 e o valor de δ_C 144,32 ao carbono 7.



13

Eduardo PRR002 cdcl3/tri_res msl14emrNOESY1D2
Pulse Sequence: NOESY1D

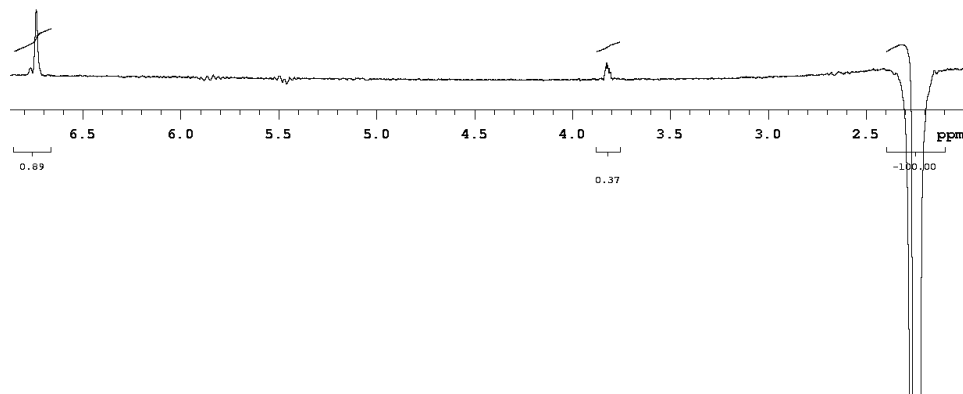


Figura 37: a diferença de espectros de NOE (NOESY1D) com incidência de pulso seletivo em δ_H 2,25 a 499,88 MHz.

Eduardo PRR002 cdcl3/tri_res msl14emrNOESY1D3
Pulse Sequence: NOESY1D

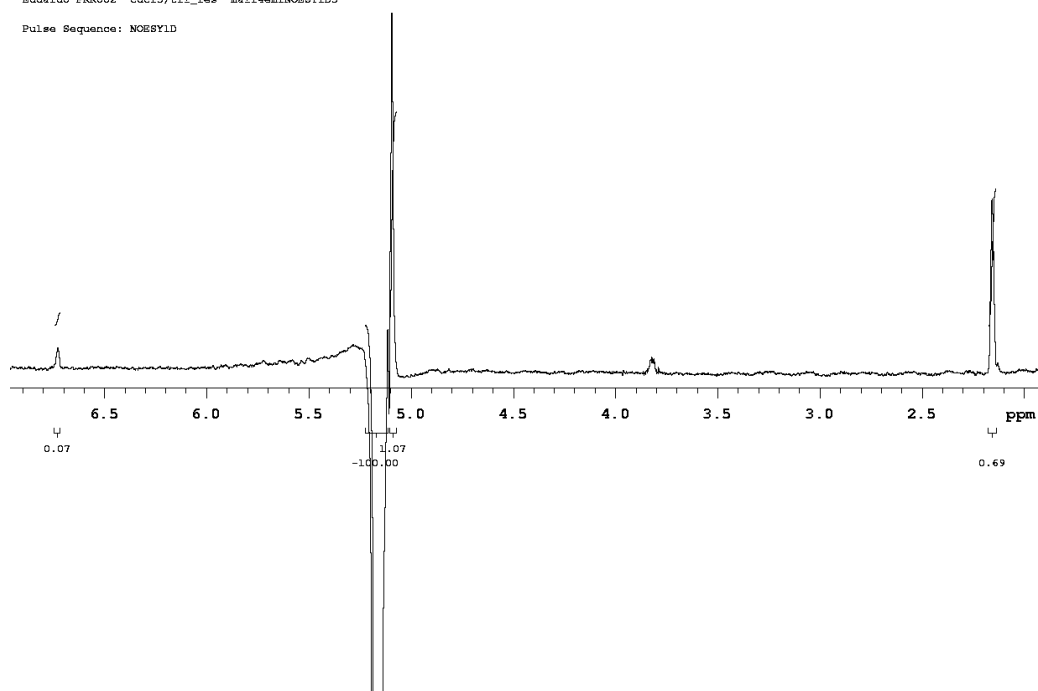
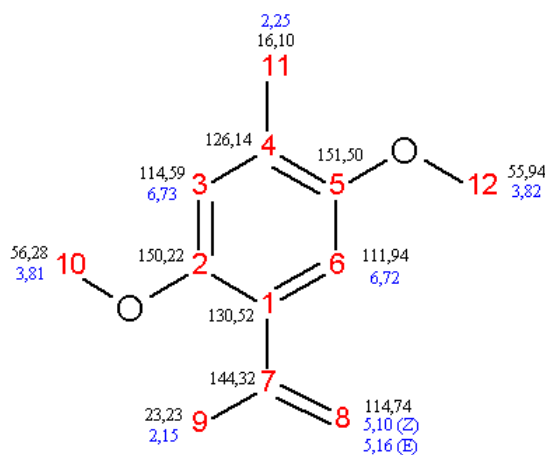


Figura 38: diferença de espectros de NOE (NOESY1D) com incidência de pulso seletivo em δ_H 5,16 a 499,88 MHz.

Um experimento de NOE (NOESY1D) nos permitiu confirmar as atribuições dos hidrogênios aromáticos e vinílicos afirmadas na **Tabela 6**. Foi incidido um pulso seletivo em δ_H 2,25, que resultou num incremento do sinal em δ_H 6,73 (0,89%) (**Figura 37**, p. 74). Ao incidirmos um novo pulso seletivo em δ_H 5,16, notamos incrementos nos sinais em δ_H 2,15 (0,69%), 5,10 (1,07%), 6,72 (0,07%) (**Figura 38**, p. 74).

Assim, pudemos atribuir os deslocamentos de carbono e hidrogênio como apresentado em **14**.



14

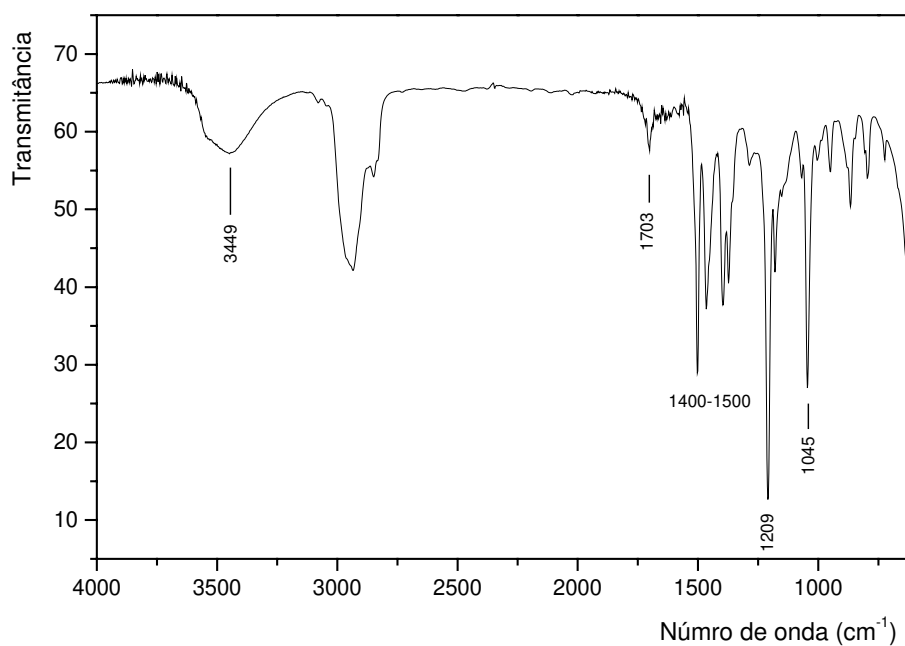


Figura 39: espectro de absorção no infravermelho do composto PR 210.

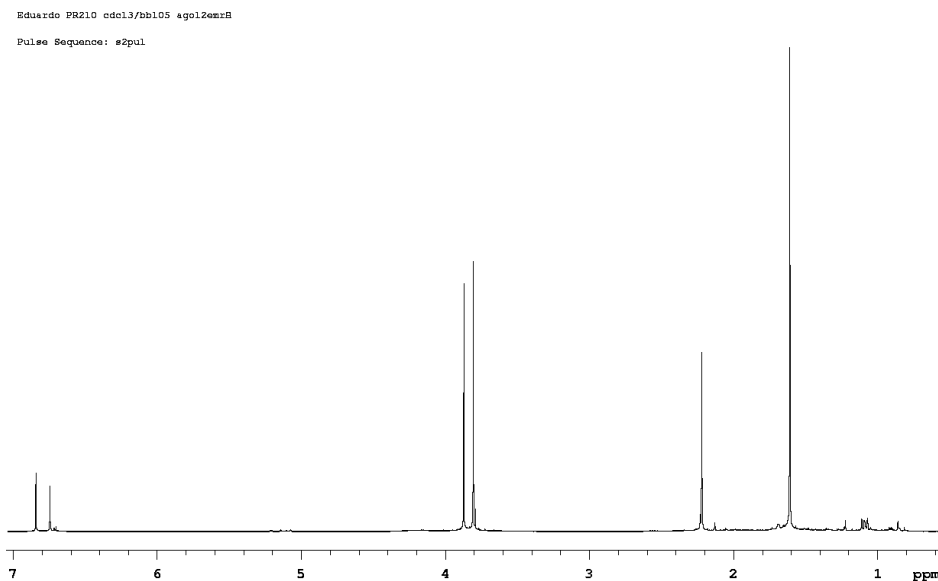


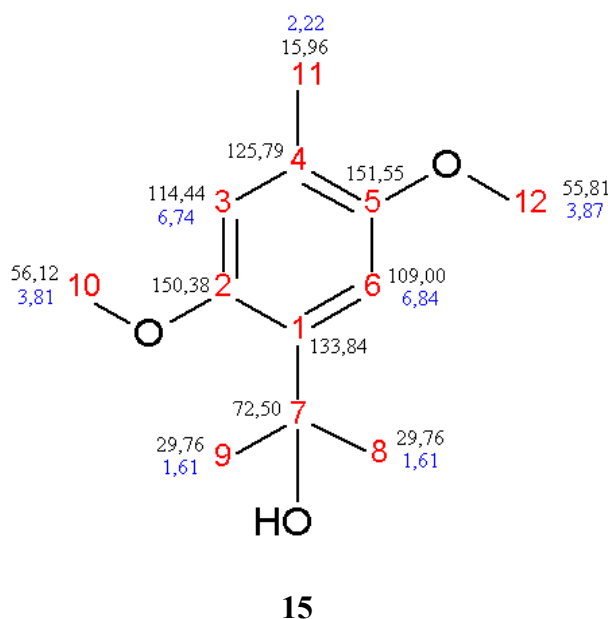
Figura 40: espectro total de RMN ¹H do composto PR 210 adquirido a 499,88 MHz (CDCl₃/TMS).

6.2.2 – Identificação do composto PR 210

A análise do espectro de absorção no infravermelho apresentado na **Figura 39** nos mostra um pico largo na região de 3448 cm^{-1} relativo ao estiramento de ligações O–H de hidroxilas ligadas por ponte de hidrogênio. Assim como para o composto anterior, PR 192, o espectro de infravermelho de PR 210 apresenta sinais típicos de estiramento de ligação dupla em anel aromático, bem como vibrações do esqueleto na região de $1400\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$. Sinais de estiramento de ligações do tipo C–O–C aparecem em 1209 cm^{-1} (assimétrico) e em 1045 cm^{-1} (simétrico).

A fragmentação de massas (apresentada em 8.7.6, p.125) e os espectros de RMN ^1H (**Figura 40**), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (**Figura 41**, p. 78) e DEPT 90 e 135 (**Figura 42**, p. 78) do composto PR 210, mostraram-se muito semelhantes ao composto anterior, PR 192, exceto pela ausência da dupla ligação no grupo isopropenílico (δ_{H} 5,10 e 5,16, δ_{C} 114,74, 144,32). Por outro lado, temos a presença de duas metilas em δ_{H} 1,61; δ_{C} 29,76 e um carbono carbinólico em δ_{C} 72,50., justificando a sugestão do composto 1-isopropanol-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno, **15**.

A comparação das atribuições do composto **14** com seu análogo hidratado **15**, comprova-nos a correta atribuição do carbono 1.



Eduardo PR210 cdc13/bb105 ago12emrC
Pulse Sequence: s2pul

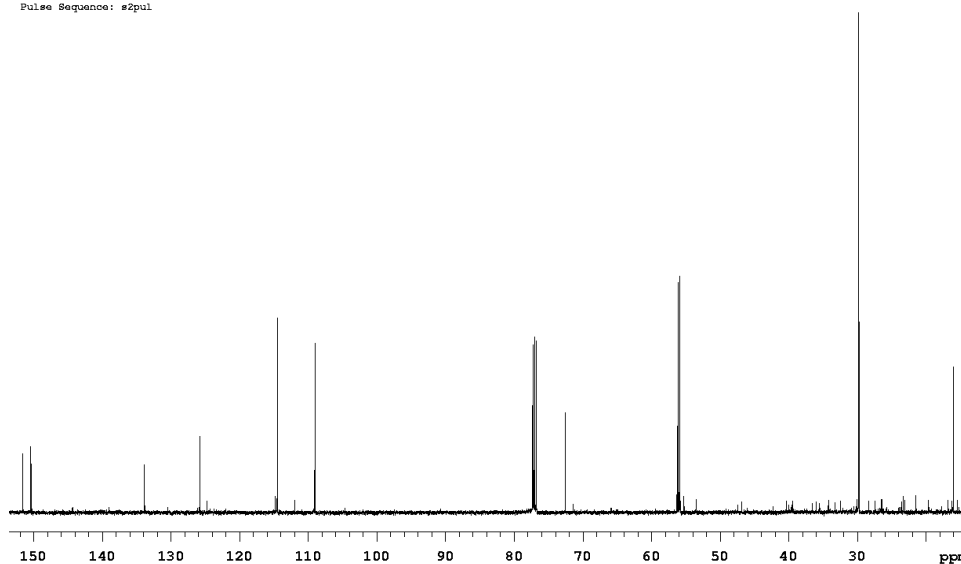


Figura 41: espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto PR 210 adquiridos a 125,71 MHz (CDCl_3/TMS).

Eduardo PR210 cdc13/bb105 ago12emrD
Pulse Sequence: dept

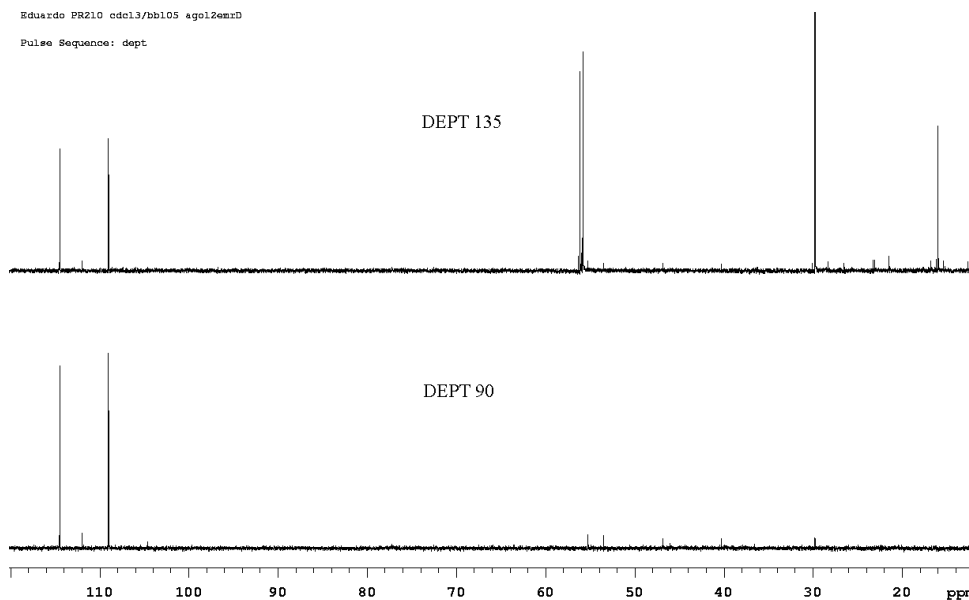


Figura 42: espectro de RMN de ^{13}C e DEPT 90 e 135 do composto PR 210 adquiridos a 125,71 MHz (CDCl_3/TMS).

6.2.3 - Conclusão do estudo de *Protium rubrum*

Os compostos aromáticos isolados da espécie *Protium rubrum* identificados como 1-isopropenil-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno e 1-isopropanol-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno, aparentemente sem nomenclatura comum, foram citados como derivados de timol, **1**, presentes na espécie indiana *Calea pilosa* Baker⁵², Compositae. Sua síntese é apresentada em artigo de 1988⁵³.

Vale notar que não foram encontradas ocorrências dos compostos em questão em espécies do gênero *Protium*, ou mesmo na família Burseraceae. Olfativamente, o composto **14** apresenta-se pouco intenso, com leve característica amadeirada. Por outro lado, seu análogo hidratado, **15**, possui odor de caráter amadeirado lembrando madeira seca, vetiver e copaíba.

⁵² METWALLY, M.A.; KING, R.M.; "A thymol derivative from *Calea pilosa*", *Indian J. Chem. B.* **1985**, 24(9), 982-982.

⁵³ SUDALAI, A.; RAO, G.S.K.; "Synthesis of Two Monoterpenic Hidroquinone Dimethyl Ethers Occuring in *Calea pilosa* Baker", *Indian J. Chem. B.* **1989**, 28(6), 520-521.

6.3 – *Cyperus articulatus* L.

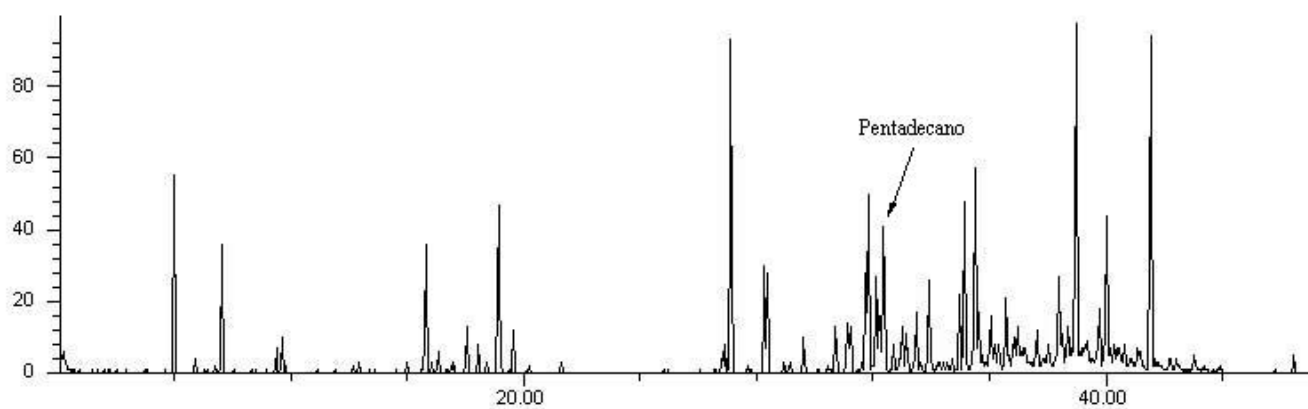


Figura 43: cromatograma de íons totais do óleo essencial de *Cyperus articulatus* co-injetado com pentadecano, coluna HP5, rampa de aquecimento de 50 - 250°C (3°C•min⁻¹), 250 °C (5 min), fluxo de He a 0,7 ml•min⁻¹ e injetor a 200 °C.

Matrizes de *Cyperus articulatus* foram trazidas da comunidade de Boa Vista no município de Acará – PA e cultivadas em Campinas. O material foi plantado em terreno pobre, arenoso e bem drenado na região de Santa Maria, distrito de Joaquim Egídio, município de Campinas – SP e colhido após 8 meses. O óleo essencial foi extraído por arraste a vapor com pressão interna de 1 kgf/cm² (acima da pressão atmosférica ambiente) a partir de 5 kg de tubérculos triturados, o que gerou 13 g de óleo essencial marrom claro com odor amadeirado (rendimento de 0,26 %).

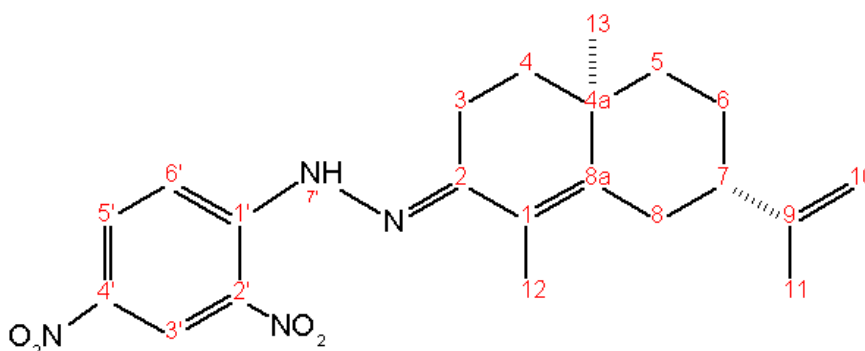
Seu perfil cromatográfico e o resultado da análise qualitativa por EM são apresentados na **Figura 43** e **Tabela 10** (ANEXO 6, p.141) respectivamente. A análise dos dados revela que o óleo é composto por hidrocarbonetos monoterpênicos como alfa e beta-pineno, pelo monoterpene aldeídico alfa-mirtenal, além de hidrocarbonetos sesquiterpênicos como alfa-copaeno, cipereno, beta-selineno e (Z)-calameno, alfa-calacoreno e a cetona sesquiterpênica alfa-ciperona. Entretanto, notamos incompatibilidades entre a fragmentação de massas de alguns compostos de [M+•] 218 (sesquiterpenos carbonílicos), a sugestões da biblioteca Wiley 275 e seus respectivos índices de KOVATS. Isso nos motivou a iniciar o processo o isolamento e caracterização destes compostos, na busca de estruturas inéditas.

Tentativas de isolamento através de coluna de sílica gel não foram bem sucedidas. Derivatizações com p-dinitro-fenil-hidrazina⁵⁴ não deram o resultado esperado, uma vez que as eventuais hidrazonas formadas não precipitaram. Obtivemos sucesso ao utilizarmos a 2,4-dinitrofenil-hidrazina (2,4-DNP-hidrazina), seguindo metodologia disponível na literatura. A quantidade de cristais obtidos foi muito inferior à esperada, uma vez que a reação foi bem sucedida, conforme verificado por CCD. Acreditamos que houve alguma interação das hidrazonas formadas com os demais compostos não carbonilados presentes na fração, o que atrapalhou a cristalização. Na tentativa de concentrar o produto reacional, e considerando que sua polaridade deveria ser maior que a dos demais compostos terpênicos da fração, fizemos sucessivas extrações líquido-líquido envolvendo hexano e acetonitrila. A

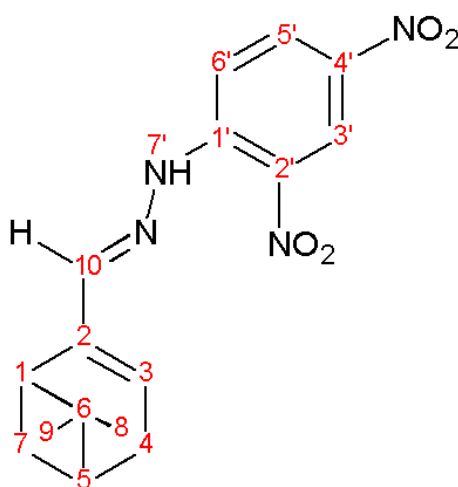
⁵⁴ VOGEL, A.; Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 4º ed., Longman, 1978, Nova Iorque, EUA

fração extraída com acetonitrila apresentou alto teor de 2,4-DNP-hidrazona (qualificação por CCD). A separação foi feita em coluna de sílica gel, resultando no isolamento de dois compostos. Os compostos foram enviados para análise por CG-EM, porém não foram obtidos quaisquer sinais no detector do EM.

Na sequência, foram feitos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C em uma e duas dimensões. A análise dos dados nos permitiu identificar as hidrazonas E59F2 e E59F15 como derivados da cetona sesquiterpênica ciperona, **16** e do aldeído monoterpênico mirtenal, **17**, previamente identificados no óleo bruto.



16



17

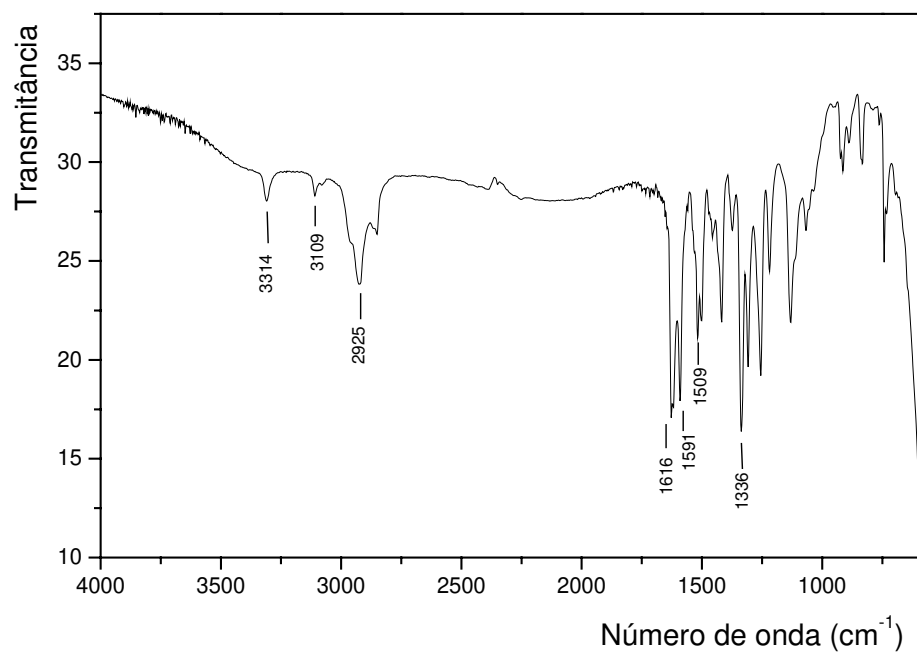


Figura 44: espectro de absorção no infravermelho o composto E59F2.

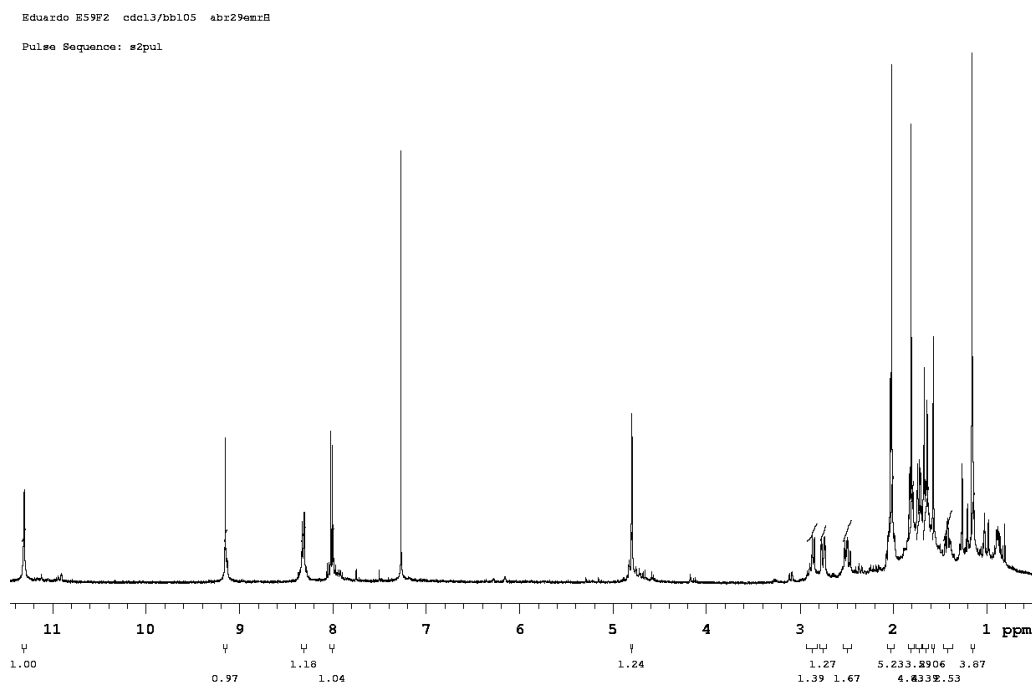


Figura 45: espectro de RMN de ¹H do composto E59F2 obtido a 499,88 MHz em CDCl₃/TMS.

6.3.1 – Identificação de E59F2

A análise do espectro de absorção no infravermelho do composto E59F2 (**Figura 44**) nos mostra o estiramento de ligações N-H em 3314 cm^{-1} , de ligações C-H de hidrogênios aromáticos em 3109 cm^{-1} , além dos estiramentos simétricos e assimétricos de metilas e metilenos na região de $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$. Temos também sinais em 1616 cm^{-1} e 1590 cm^{-1} referentes a deformações angulares da ligação N-H. Em 1509 cm^{-1} e 1336 cm^{-1} , aparecem sinais relativos ao estiramento assimétrico e simétrico de ligações N=O respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H do composto E59F2 apresentado na **Figura 45** nos permite identificar rapidamente, sinais característicos de hidrogênios aromáticos da 2,4-dinitrofenil-hidrazona (2,4-DNP-hidrazona) em δ_{H} 8,01 (dubleto), δ_{H} 8,31 (duplo-dubleto), δ_{H} 9,15 (dubleto) e δ_{H} 11,12 (singleto). Em relação ao composto original, os sinais mais evidentes referem-se a 3 metilas em δ_{H} 1,18, δ_{H} 1,82, δ_{H} 2,04 e um hidrogênio vinílico em δ_{H} 4,80.

Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, DEPT 90 e DEPT 135 mostrados na **Figura 46** e **Figura 47** respectivamente, nos mostram que a hidrazona em questão possui 21 carbonos sendo 3 metilas em δ_{C} 12,62, δ_{C} 20,73 e δ_{C} 22,75, 6 metilenos em δ_{C} 21,21, δ_{C} 27,02, δ_{C} 32,52, δ_{C} 36,28, δ_{C} 41,63, δ_{C} 109,05, 4 metinos em δ_{C} 45,92, δ_{C} 116,59, δ_{C} 123,63, δ_{C} 129,96, e 8 carbonos quaternários. O número de carbonos identificados somados à ausência de um sinal entre δ_{H} 7 e δ_{H} 8 no espectro de RMN de ^1H (característico de 2,4-DNP-hidrazona de aldeído⁵⁵), leva-nos a sugerir que o composto E59F2 seja uma 2,4-DNP-hidrazona derivada de cetona sesquiterpênica.

⁵⁵ MOGHIMI, A.; RASTEGAR, M. F.; GHANDI, M.; “2,4-Dinitrophenylhydrazine-benzo-9-crown-3”, *Molecules* **2000**, 5, M175.

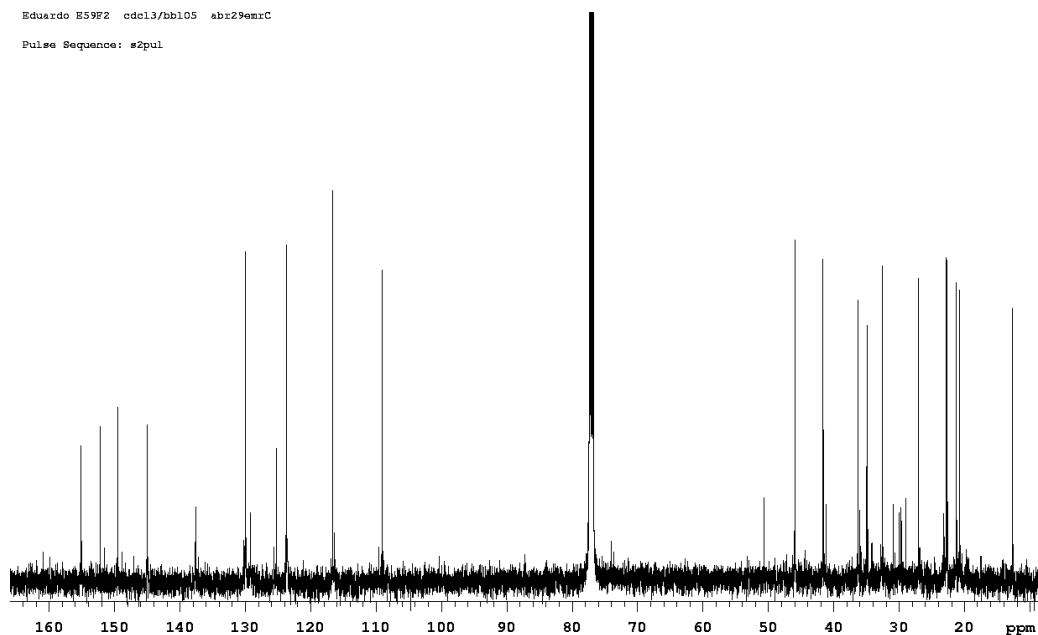


Figura 46: espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do composto E59F2 adquirido a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

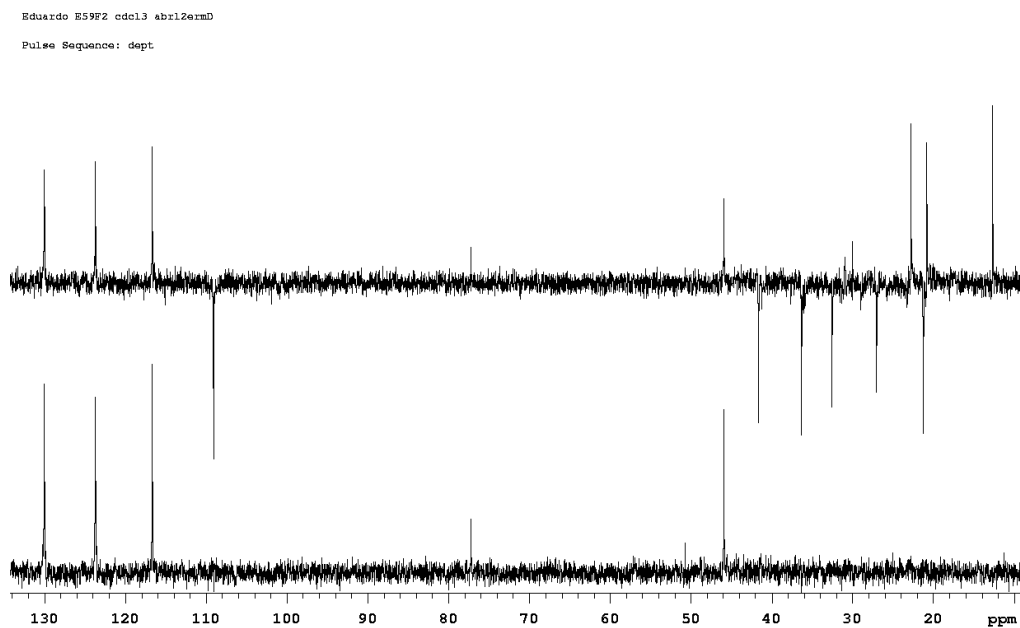
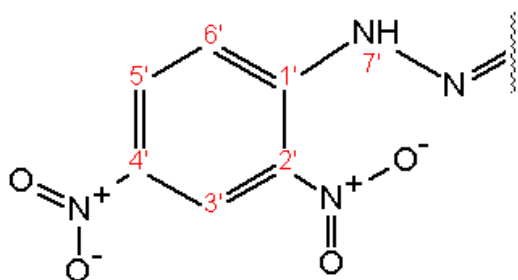


Figura 47: espectros de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 do composto E59F2 adquiridos a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

O mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) apresentado na **Figura 48** nos permitiu montar a **Tabela 7** relacionando cada carbono do composto aos respectivos hidrogênios.



18

A fim de facilitar a interpretação dos dados relativos ao composto em questão, faremos inicialmente a atribuição do segmento conhecido da molécula, que corresponde à 2,4-DNP-hidrazina, **18**.

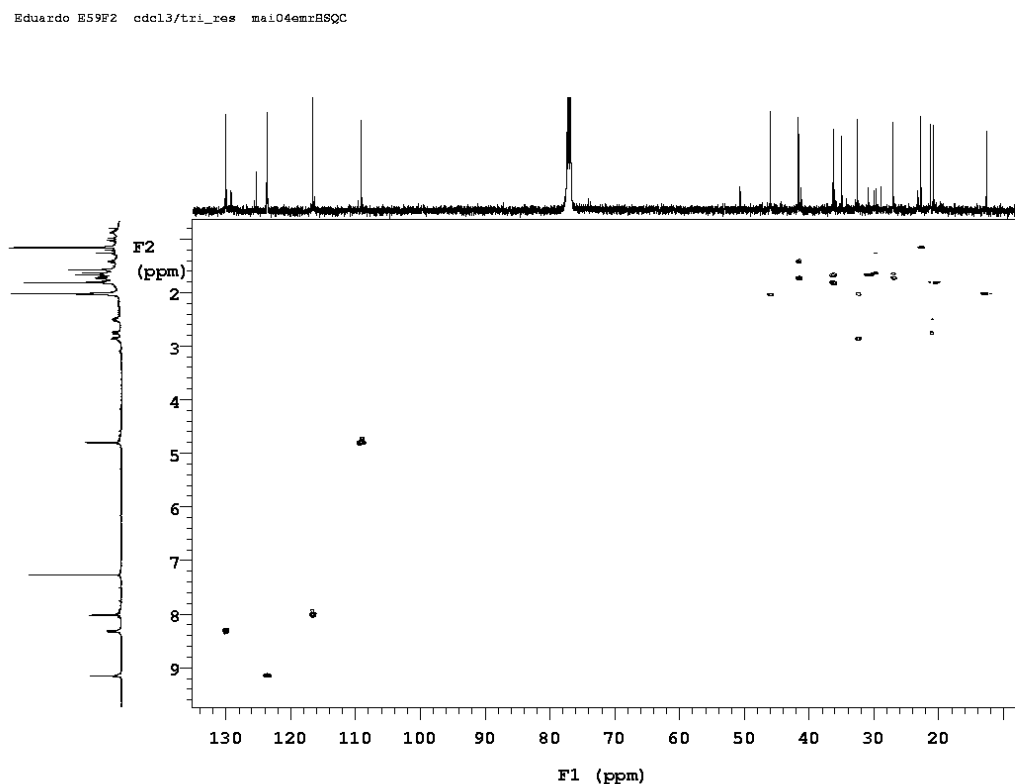


Figura 48: mapa de contorno de RMN 2D correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de uma ligação (HSQC) do composto E59F2 adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente em CDCl_3/TMS .

Tabela 7: correlação ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) de E59F2 – 2,4-dinitrofenil-hidrazona.

Nº	δ_{C} (ppm)	Tipo	δ_{H} (ppm)
12	12,62	CH ₃	2,02 (3H, s, H-12)
11	20,73	CH ₃	1,81 (3H, s, H-11)
3	21,21	CH ₂	2,50 (1H, m, H-3a); 2,76 (1H, ddd, $^2J_{\text{H3e-H3a}}=16$ Hz; $^3J_{\text{H3e-H4}}=5$ Hz, $^3J_{\text{H3e-H4}}=2$ Hz, H-3e)
13	22,75	CH ₃	1,18 (3H, s, H-13)
6	27,02	CH ₂	1,65 (1H, m, H-6a); 1,73 (1H, m, H-6e)
8	32,52	CH ₂	2,87 (1H, dd, $^2J_{\text{H1e-H1a}}=10$ Hz, $^3J_{\text{H1e-H2}}=2$ Hz, H-8e); 2,03 (1H, m, H-8a)
4a	34,93	C ₀	
4	36,28	CH ₂	1,65 (1H, m, H-4a) ; 1,81 (1H, m, H-4e)
5	41,63	CH ₂	1,42 (1H, td, $^2J_{\text{H5a-H5e}}\sim^3J_{\text{H5a-H6a}}=12$ Hz; $^3J_{\text{H5a-H6e}}=3$ Hz, H-5a); 1,73 (1H, m, H-5e)
7	45,92	CH	2,03 (1H, m, H-7)
10	109,05	CH ₂	4,80 (2H, sl, H-10)
6'	116,59	CH	8,01 (1H, d, $^2J=14$ Hz, H-6')
3'	123,63	CH	9,15 (1H, d, $^3J=5$ Hz, H-3')
1	125,20	C ₀	
8a	129,20	C ₀	
5'	129,96	CH	8,32 (1H, dd, $^2J=14$ Hz, $^3J=5$ Hz, H-5')
2'	137,58	C ₀	
4'	144,99	C ₀	
9	149,50	C ₀	
2	152,19	C ₀	
1'	155,16	C ₀	

6.3.1.1 – Atribuição do segmento originado da 2,4-dinitrofenil-hidrazina

Os sinais na região de aromáticos presentes no espectro de RMN de ^1H apresentado na **Figura 45** (p. 85) e expandidos na **Figura 49** nos mostram, através da multiplicidade dos sinais, as posições relativas dos hidrogênios 3', 5', 6' no anel (δ_{H} 8,01 dubleto, $^2J = 14$ Hz, H-6'; δ_{H} 8,32, duplo-dubleto, $^2J = 14$ Hz, $^3J = 5$ Hz, H-5'; e δ_{H} 9,15 dubleto, $^3J = 5$ Hz, H-3').

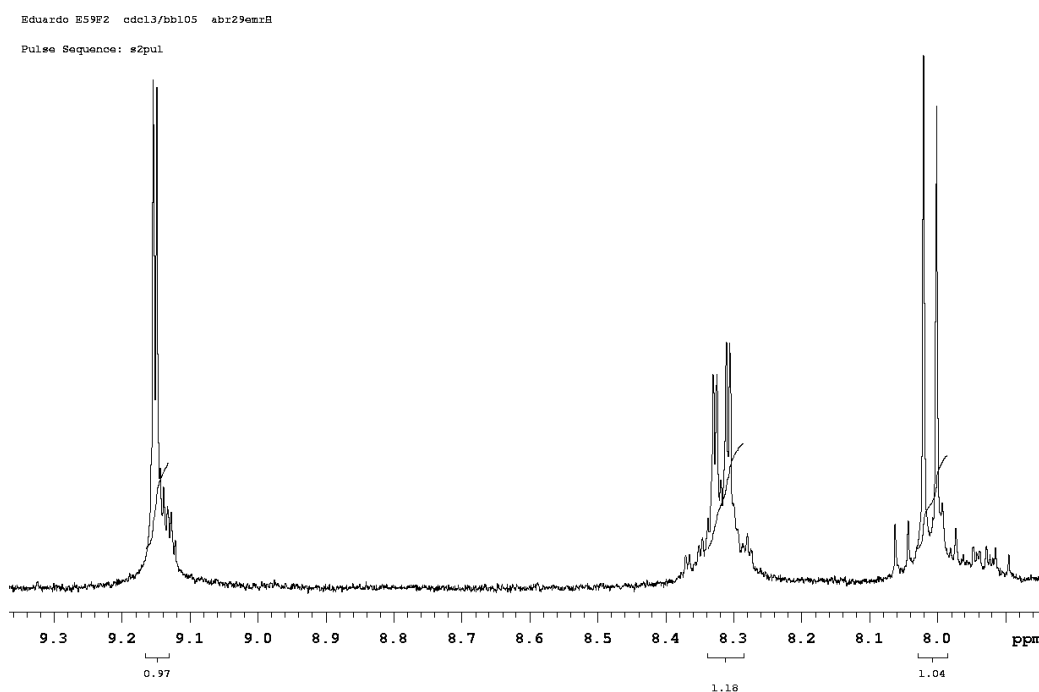


Figura 49: expansão do espectro de RMN de ^1H na região dos hidrogênios aromáticos de E59F2 obtido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

As correlações mostradas no mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (**Figura 50**, p. 91) e sua expansão na região de hidrogênios aromáticos (**Figura 51**, p. 91) nos confirmam a atribuição dada acima através das correlações entre δ_{H} 8,01 (H-6'): δ_{H} 8,32 (H-5') e δ_{H} 8,32: δ_{H} 9,13 (H-3'). Os carbonos quaternários faltantes têm seus deslocamentos químicos determinados através das correlações apresentadas no mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC (**Figura 52**, p. 93).

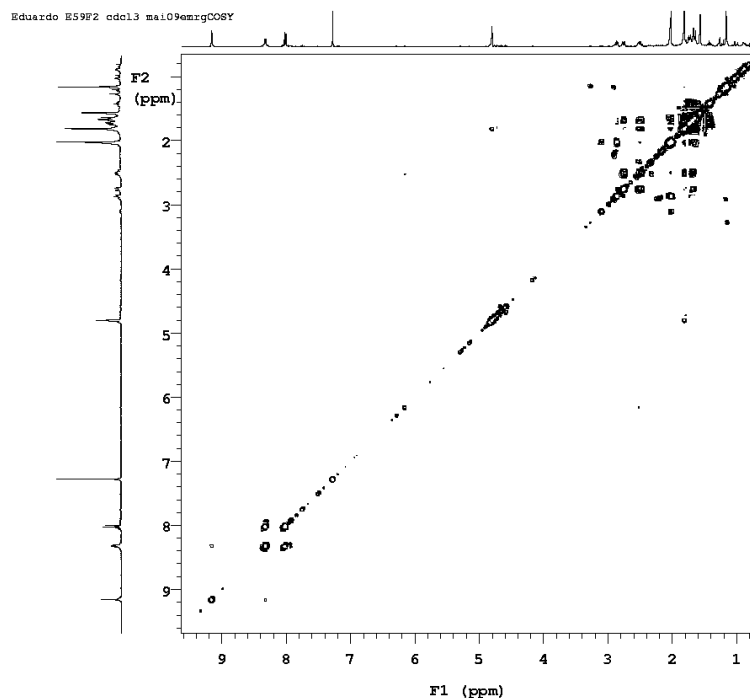


Figura 50: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2 adquirido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

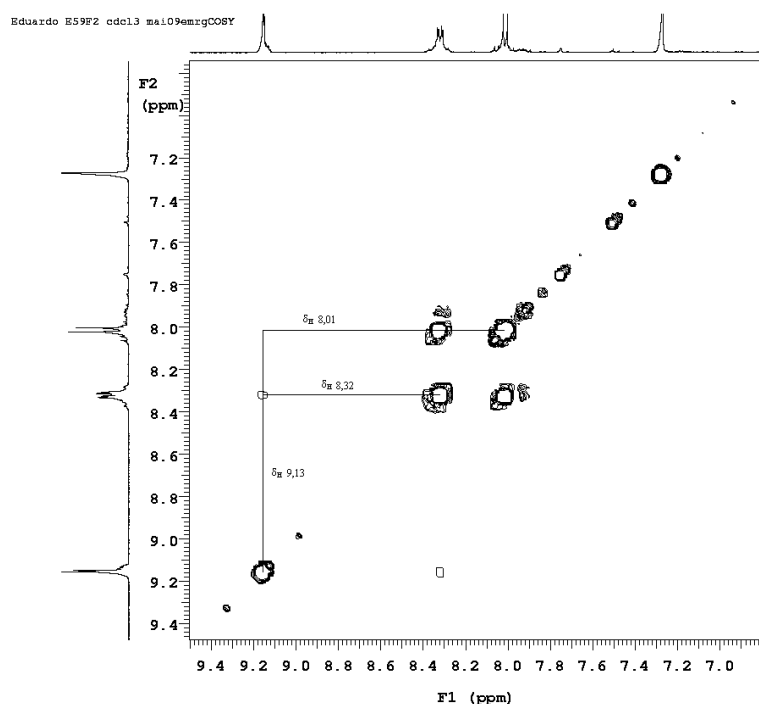
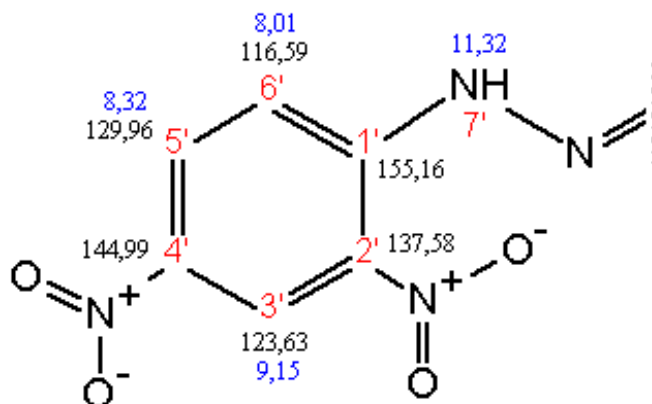


Figura 51: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2 adquirido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

A correlação verificada entre o hidrogênio em δ_H 8,32 (H-5') e o carbono em δ_C 144,99 (**Figura 53**, p. 93), sugere-nos que o referido carbono seja C-4'. De maneira análoga, ao carbono de δ_C 137,58 (δ_C 137,58: δ_H 8,01) atribuímos a posição C-6'.

Desta forma, para a atribuição do carbono C1', temos as opções de δ_C 152,19 ou δ_C 155,16 que são os carbonos mais desprotegidos do espectro. Porém o sinal em δ_C 152,19 apresenta correlação heteronuclear de longa distância com os hidrogênios da metila em δ_H 1,18, nos indicando que tal carbono é parte da molécula original e não do segmento adicionado. Assim, atribuímos ao carbono C-1' o deslocamento químico de δ_C 155,16, o que nos leva a atribuição final do segmento relativo à 2,4-dinitrofenil-hidrazina, **19**.



19

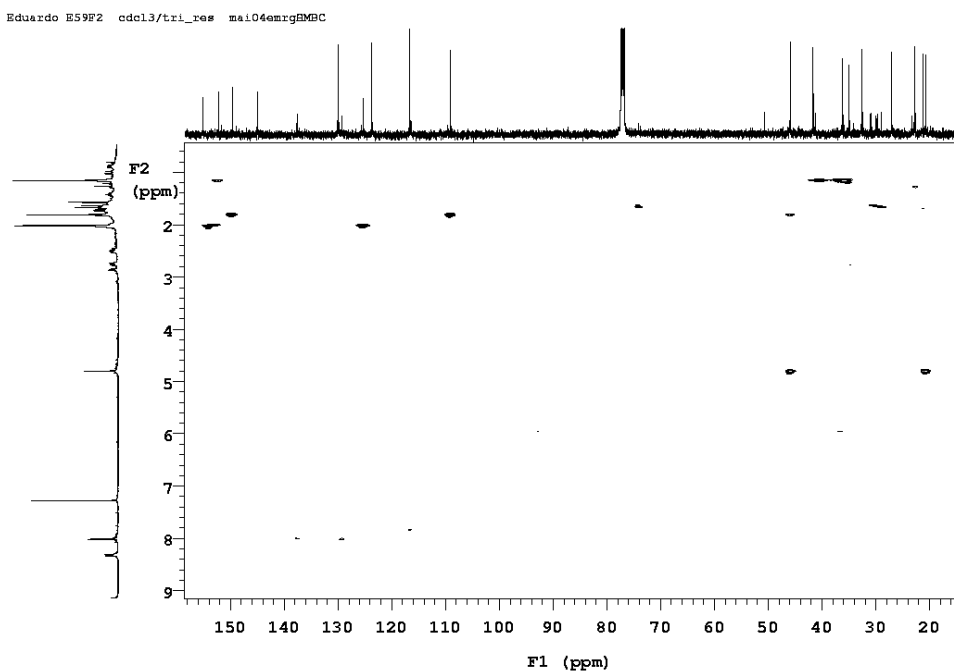


Figura 52: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F2, adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente, em CDCl_3/TMS .

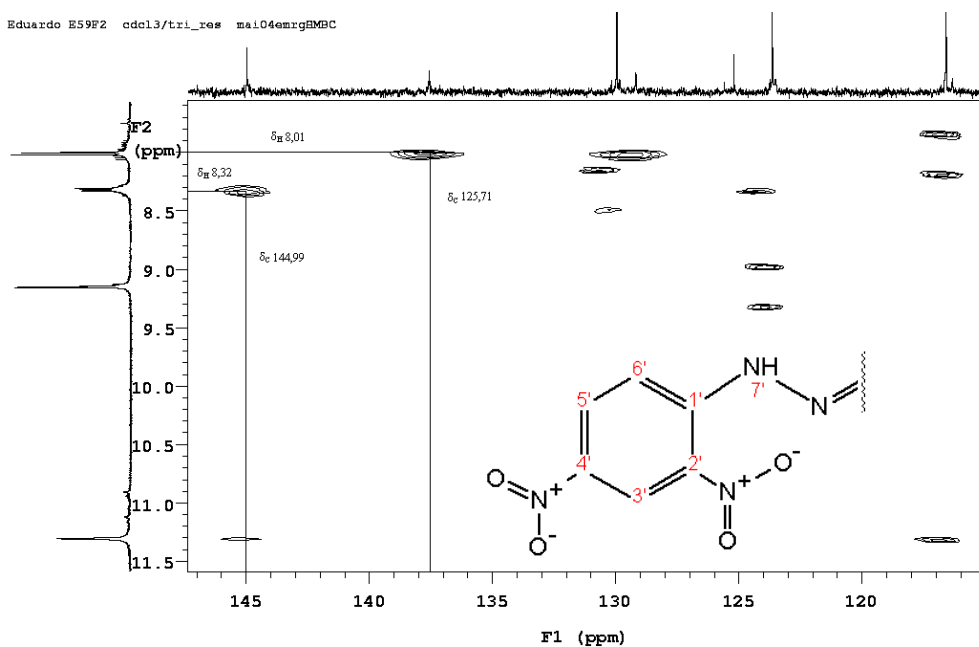


Figura 53: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (HMBC) de longa distância do composto E59F2, adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente (CDCl_3/TMS).

6.3.1.2 – Atribuição do segmento terpênico

Partindo dos hidrogênios vinílicos em δ_H 4,80 (H-10) no mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear 1H - 1H (**Figura 54**), observamos correlação com os hidrogênios metílicos em δ_H 1,81 (H-11) e correlação heteronuclear 1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) com os carbonos em δ_C 20,73 (C-11) e δ_C 45,92 (C-7) (**Figura 55**, p. 95). Analogamente, os hidrogênios metílicos em δ_H 1,81 também apresentam correlação a longa distância (HMBC) com o carbono em δ_C 149,50 (C-9) (**Figura 56**, p. 95).

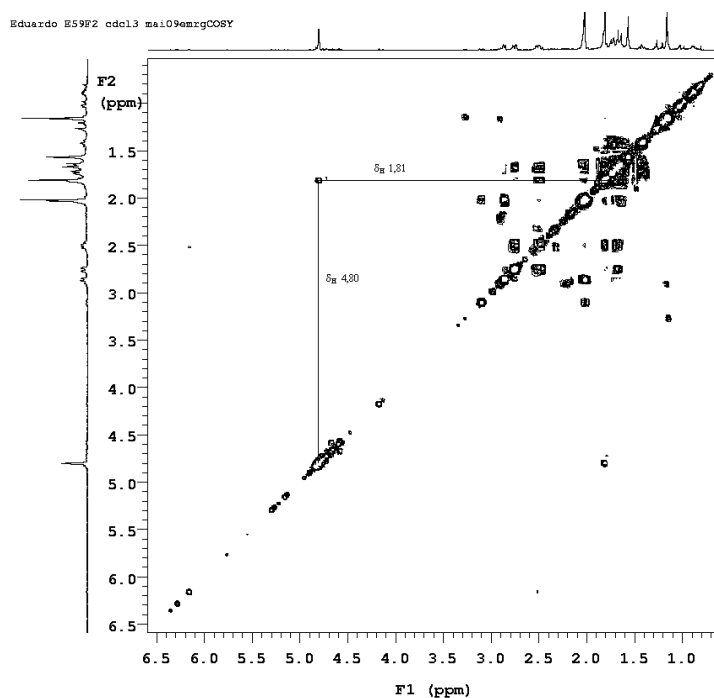


Figura 54: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear 1H - 1H (COSY) do composto E59F2 obtido a 499,88 MHz em $CDCl_3$ /TMS.

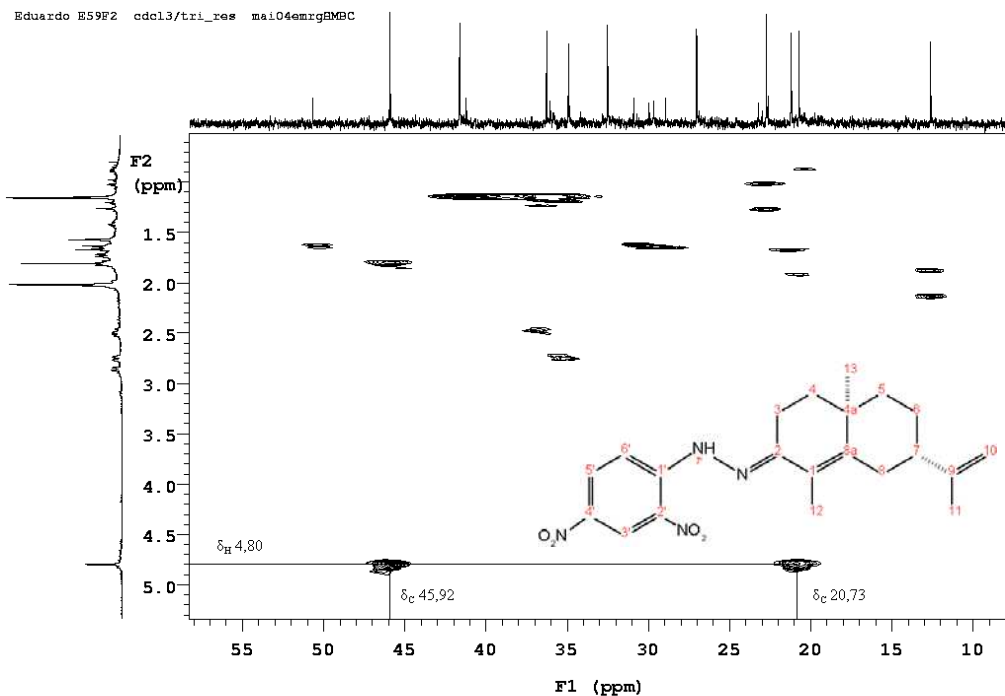


Figura 55: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C (HMBC) do composto E59F2 adquirido a 499,88 Mhz e 125,71 MHz respectivamente em CDCl_3/TMS .

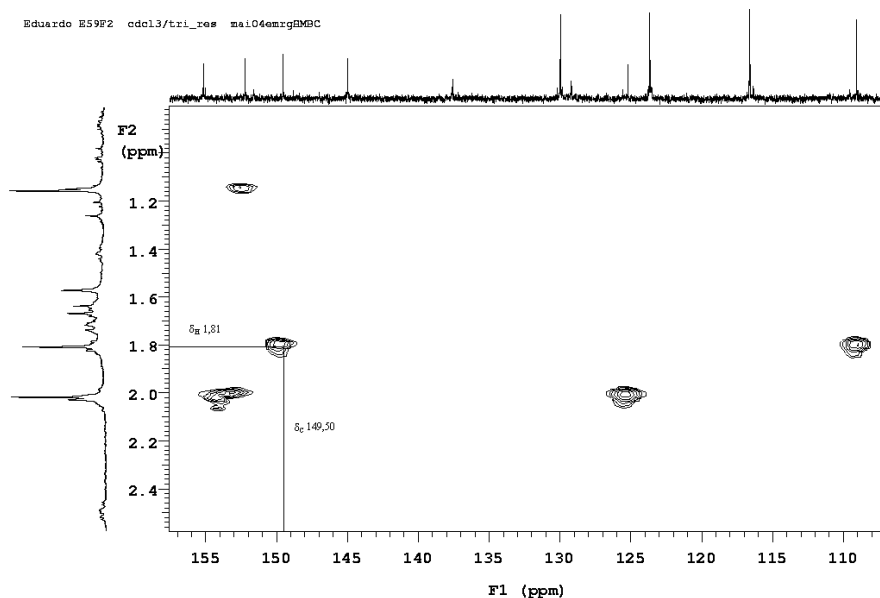
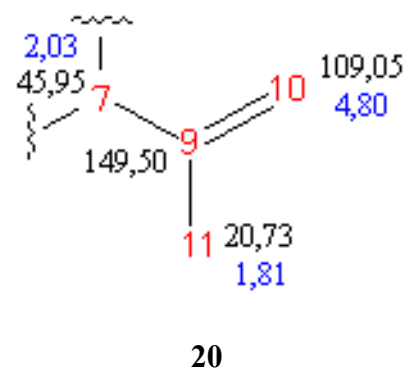


Figura 56: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F2 adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente em CDCl_3/TMS .

Desta forma, evidenciamos a presença de um fragmento isopropenílico na molécula, **20**. Não há outras correlações heteronucleares a partir de C-7 e as correlações presentes no mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear (^1H - ^1H -COSY) na região de δ_{H} 2,03 representam mais de um hidrogênio (superposição de sinais), o que nos impede de identificar suas correlações de maneira confiável.



As correlações homonucleares ^1H - ^1H entre 4 hidrogênios metilênicos em δ_{H} 2,76: δ_{H} 2,50 (δ_{C} 21,21, C-3) e δ_{H} 1,65: δ_{H} 1,81 (δ_{C} 36,28, C-4) (**Figura 57**, p. 97) nos permitem inferir a presença de um segmento de 2 carbonos CH_2 cujos hidrogênios não apresentam outras correlações homonucleares, formando um sistema isolado de 4 spins. A conexão deste sistema com o restante da molécula foi possível através das correlações heteronucleares a longa distância (HMBC) entre o hidrogênio em δ_{H} 2,76 (H-4_{eq}) e o carbono em δ_{C} 34,93 (C-4a). O carbono C-4a tem ainda correlação de longa distância (HMBC) com os hidrogênios da metila em δ_{H} 1,18 (H-13) (**Figura 58**, p. 97).

A continuação deste segmento pode ser verificada através das correlações heteronucleares de longa distância (HMBC) dos hidrogênios da metila, δ_{H} 1,18 (H-13), com o carbonos metilênicos em δ_{C} 41,63 ($\delta_{\text{H}_{5a}}$ 1,42: $\delta_{\text{H}_{5e}}$ 1,73, C-5) e δ_{C} 36,28 ($\delta_{\text{H}_{4a}}$ 1,65: $\delta_{\text{H}_{4e}}$ 1,81, C-4) (**Figura 58**, p. 97). O hidrogênio em δ_{H} 1,42 (H-5) por sua vez, apresenta correlação homonuclear ^1H - ^1H com hidrogênios diastereotópicos em δ_{H} 1,65 (H-6_{ax}) e δ_{H} 1,73 (H-6_{eq}) (**Figura 57**, p. 97) sugerindo que os carbonos em δ_{C} 41,63 (δ_{H} 1,42: δ_{H} 1,73, C-5) e δ_{C} 27,02 (δ_{H} 1,65: δ_{H} 1,73, C-6) são adjacentes.

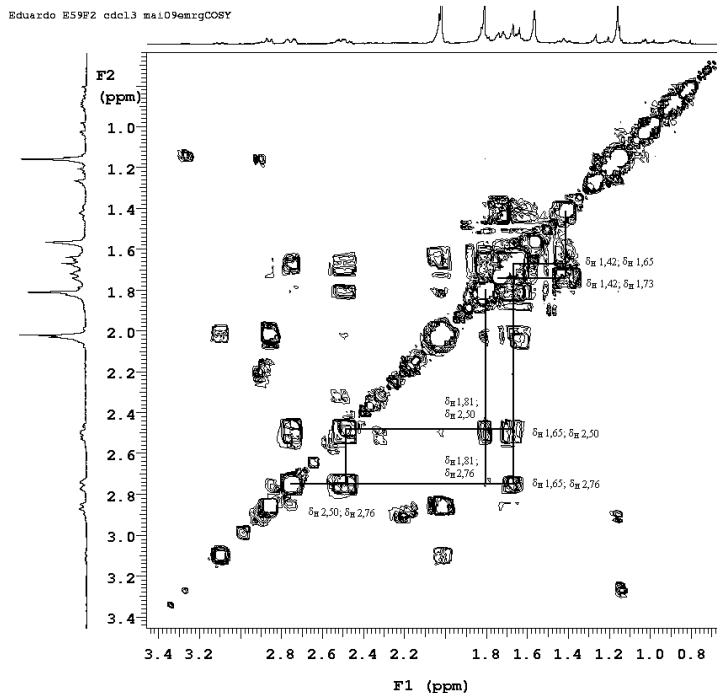


Figura 57: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F2 obtido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

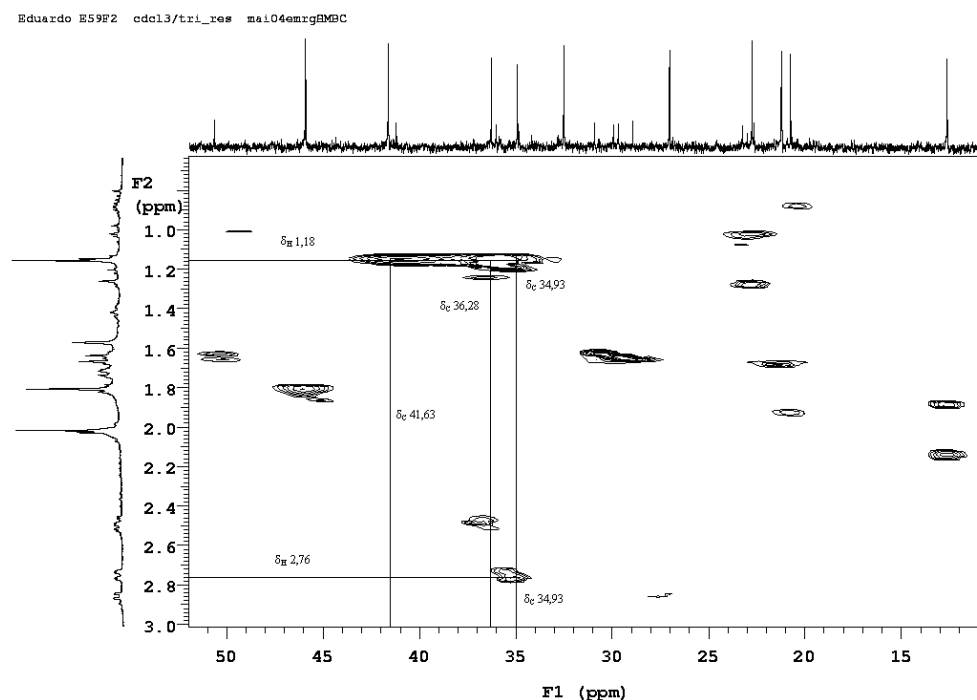
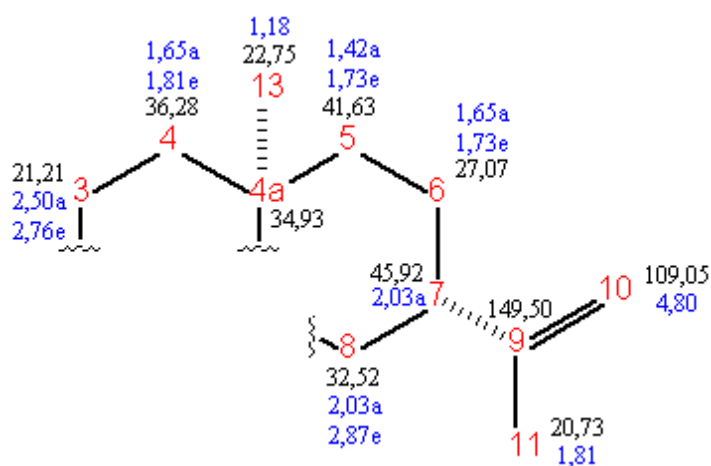


Figura 58: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a longa distância (HMBC) do composto E59F2 adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente em CDCl_3/TMS .

De acordo com a **Tabela 7** (p. 89), a região entre 2,00 e 2,05 apresenta superposição de sinais relativos a uma metila (H-12), um metino (H-7) e um hidrogênio diastereotópico de C-8. Após algumas tentativas envolvendo um eventual acoplamento do hidrogênio em δ_H 1,65 com os hidrogênios da metila (H-12), concluímos que a correlação homonuclear em δ_H 1,65: δ_H 2,03 refere-se ao acoplamento deste com o hidrogênio metínico H-7, ligado ao carbono em δ_C 45,92. Vale lembrar que é neste carbono em δ_C 45,92 (C-7) que está ligado o grupo isopropenil, conforme visto em **20**. Há ainda, uma correlação homonuclear 1H - 1H em δ_H 2,03: δ_H 2,87 referente à correlação entre o já mencionado H-7 e o hidrogênio vicinal ligado a

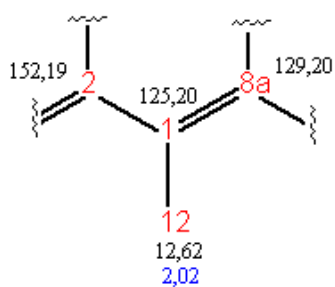


21

C-8 em posição axial, H-8_{ax}. As posições relativas dos hidrogênios no anel foram estimadas pela multiplicidade dos sinais, considerando acoplamentos pseudo di-axiais (fortes, ~ 10 Hz) e pseudo axiais-equatoriais (fracos, ~ 2-5 Hz) e confirmadas por experimentos de NOE (NOESY 1D) apresentados

adiante. Assim, pudemos atribuir os sinais relativos ao fragmento **21**.

Para concluirmos a estrutura do composto, voltamos ao espectro de RMN 2D de correlação heteronuclear 1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) mostrado na **Figura 59** (p. 99), onde notamos correlações entre os hidrogênios da metila em δ_H 2,02 (H-12) e os carbonos de δ_C 125,20 (C-1) e δ_C 152,19 (C-8a).



22

Consideramos ainda a existência de um carbono quaternário em δ_C 129,20, C-8a (ver **16**, p.79), que por não apresentar qualquer correlação 1H - ^{13}C , nos sugere uma ligação dupla tetra-substituída, dando origem ao

fragmento 22.

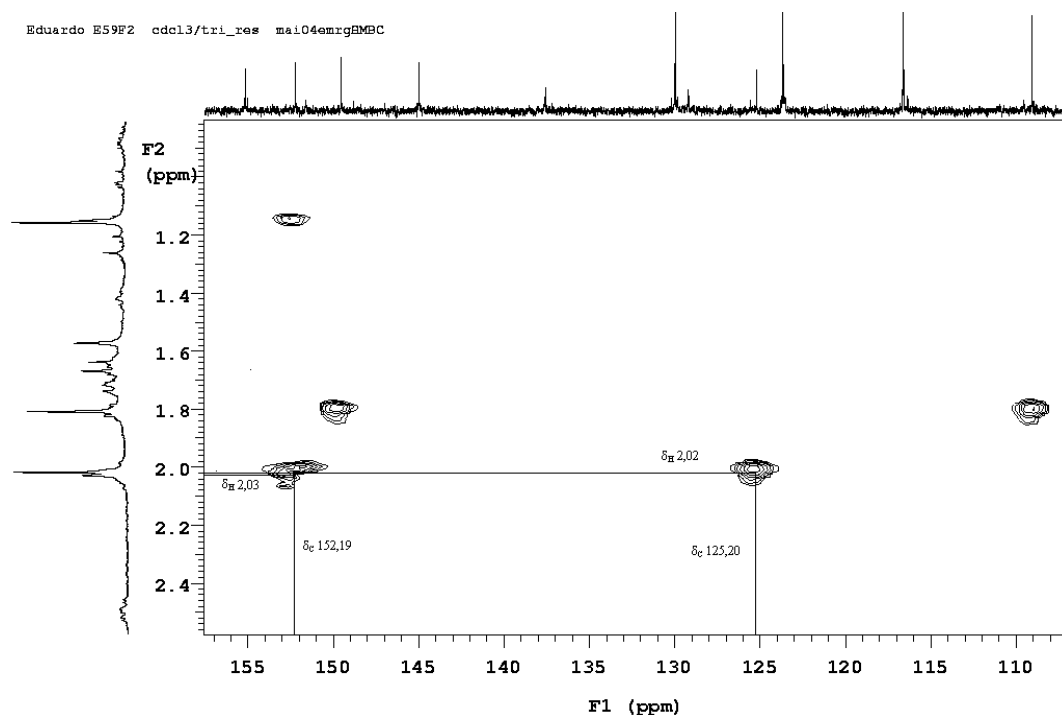


Figura 59: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F2 adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente em CDCl_3/TMS .

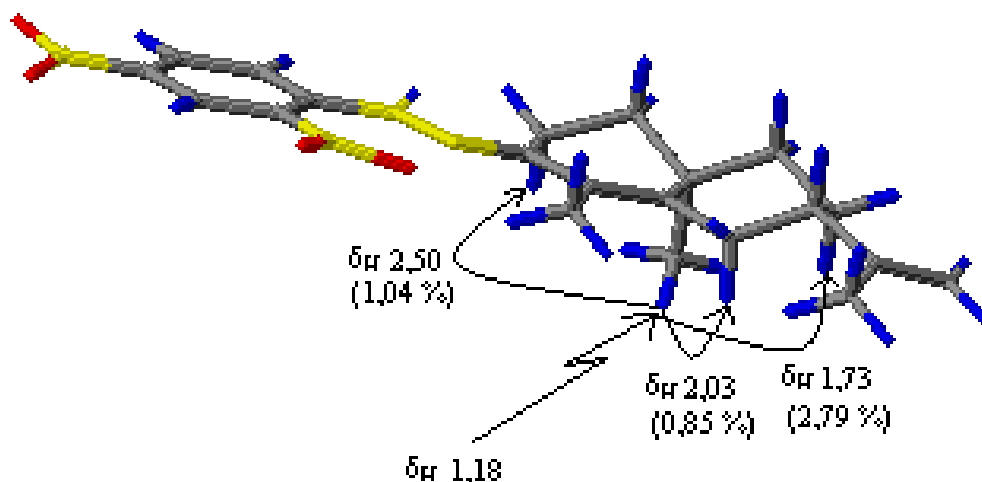


Figura 60: representação dos resultados da irradiação dos hidrogênios da metila em δ_{H} 1,18, em um experimento de NOE (NOESY 1D) em CDCl_3/TMS .

Para confirmar as atribuições sugeridas, foram feitos experimentos de NOE (NOESY-1D). À irradiação do sinal da metila H-13 em δ_H 1,18 (**Figura 60**) temos incrementos em δ_H 1,73 (H-6_{ax}) (2,79 %), δ_H 2,03 (H-8_{ax}) (0,85 %) e δ_H 2,50 (H-3_{ax}) (1,04 %).

Irradiando o sinal do hidrogênio H-3_{ax} em δ_H 2,50, os principais incrementos aparecem em δ_H 11,32 (H-7') (2,18 %), δ_H 1,81 (H-4_{eq}) (2,65 %) e δ_H 1,65 (H-4_{ax}) (0,64 %), como mostrado na **Figura 61**.

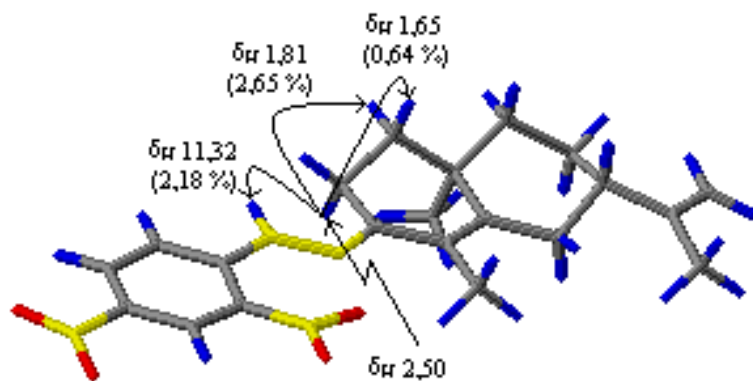


Figura 61: representação do resultado da irradiação do hidrogênio em δ_H 2,50 (H-3_{ax}) em um experimento de NOE (NOESY 1D) em CDCl₃/TMS.

Ao irradiarmos o hidrogênio em δ_H 2,76 (H-3_{eq}) os incrementos mais significativos aparecem em δ_H 11,32 (H-7') (9,35 %) e δ_H 1,65 (H-4_{ax}) (2,85 %), 1,81 (H-4_{eq}) (2,09 %) conforme apresentado na **Figura 62**.

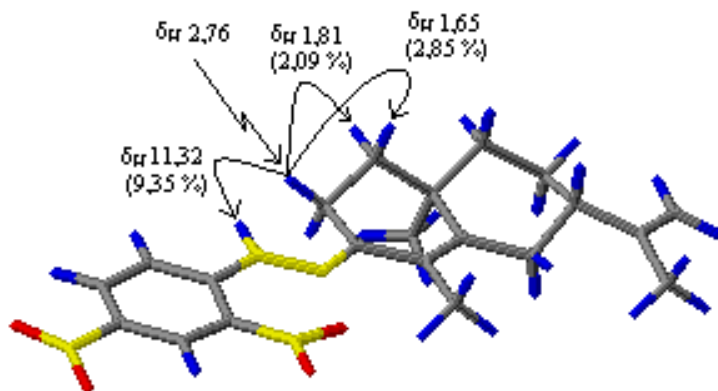


Figura 62: representação do resultado da irradiação do hidrogênio em δ_H 2,76 (H-3_{eq}) em um experimento de NOE (NOESY 1D) em CDCl₃/TMS.

Tanto a irradiação de H-3_{ax} (δ_H 2,50 - **Figura 61**) como a irradiação de H-3_{eq} (δ_H 2,76 - **Figura 62**) nos dão incrementos significativos para o hidrogênio H-7' em δ_H 11,32, revelando que o composto apresenta configuração E (no caso de configuração Z poderia haver incremento no sinal da metila em δ_H 2,02, H-12). O incremento observado no sinal dos hidrogênios H-13 da metila em δ_H 1,18, aparece apenas quando a irradiação ocorre em δ_H 2,50, H-3_{ax}. Isso nos mostra que a metila C-13 e o hidrogênio H-3_{ax} estão do mesmo lado do plano (*cis*).

Há ainda, incrementos nos sinais dos hidrogênios vicinais H-4_{ax} e H-4_{eq}, tanto na irradiação em δ_H 2,50 (H-3_{ax}), quanto em δ_H 2,76 (H-3_{eq}). Porém, enquanto o incremento no sinal do hidrogênio em δ_H 1,81 tem magnitude semelhante nos dois casos (2,65 % para irradiação em δ_H 2,50 e 2,09 % para irradiação em δ_H 2,76), o incremento no sinal do hidrogênio em δ_H 1,65, H-4_{ax}, é maior quando a irradiação ocorre em δ_H 2,76 (2,65 % contra 0,64 %). Isso nos confirma as posições relativas entre eles, de modo que os hidrogênios em δ_H 2,50 e δ_H 1,65, espacialmente mais distantes, encontram-se em posição pseudo-axial, H-3_{ax} e H-4_{ax}, respectivamente.

Ao irradiarmos o hidrogênio em δ_H 2,87, notamos um grande incremento em δ_H 2,02 (18,13 %), singlete, relacionado à metila C-12, nos indicando tratar-se de H-8 em posição equatorial (**Figura 63**).

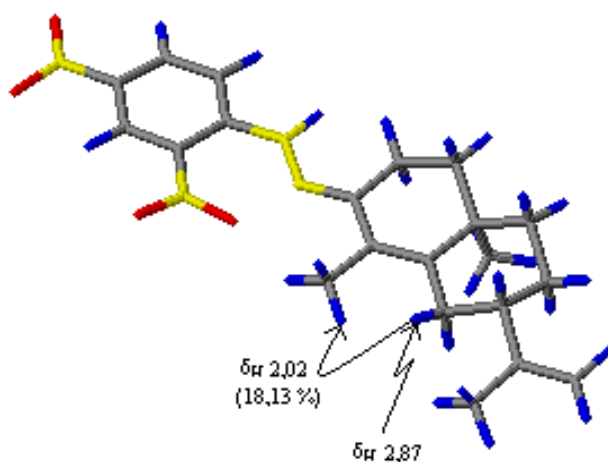


Figura 63: representação do resultado da irradiação do hidrogênio em δ_H 2,87 em um experimento de NOE (NOESY 1D) em CDCl₃/TMS.

Unindo os fragmentos 19, 21 e 22, podemos sugerir a estrutura **23**, 7-isopropenil-1,4a-dimetil-3,4,4a,5,6,7,8-hepta-hidronaftalen-(3H)-(2',4'-dinitrofenil-hidrazona) para o composto isolado E59F2.

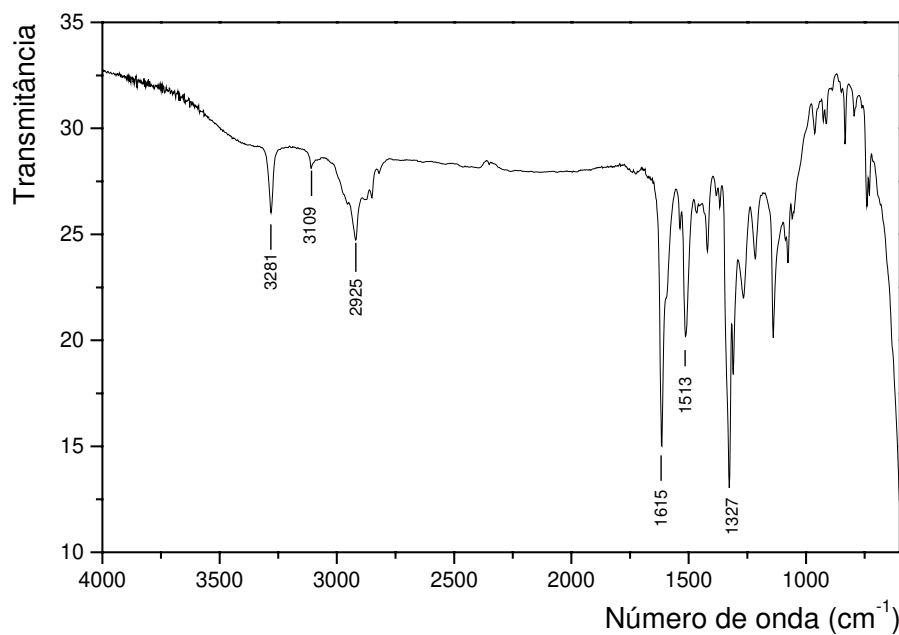
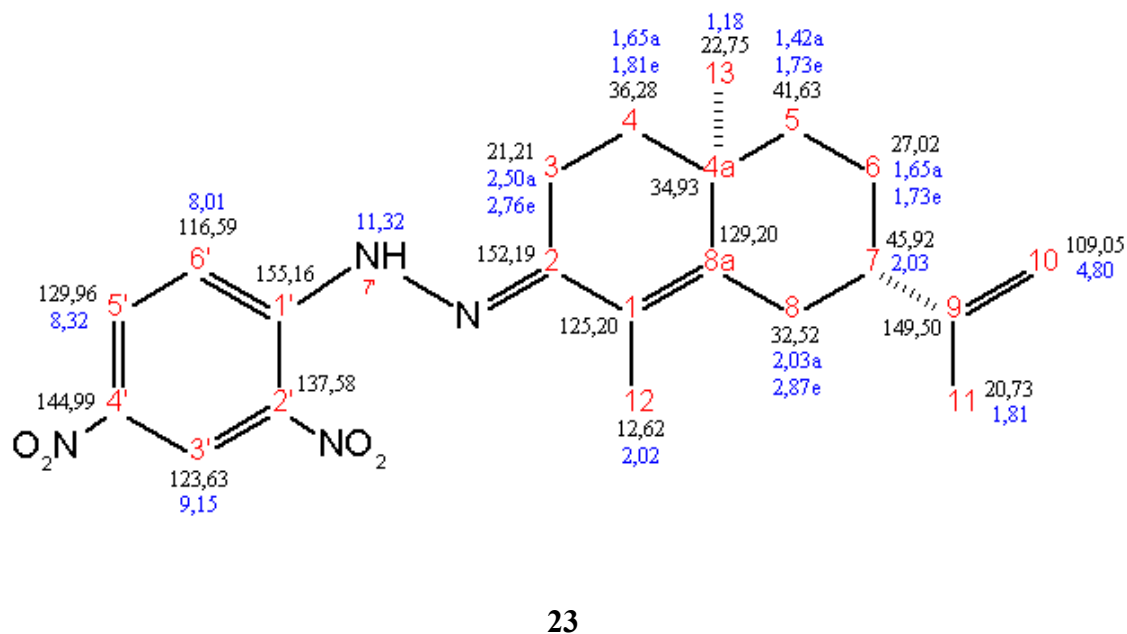


Figura 64: espectro de absorção no infravermelho do composto E59F15.

6.3.2 – Identificação de E59F15

O espectro de absorção no infravermelho (**Figura 64**) nos mostra, de forma semelhante ao observado no espectro de IV da hidrazona anterior, o estiramento de ligações N-H em 3281 cm^{-1} , de ligações C-H de hidrogênios aromáticos em 3109 cm^{-1} , além dos estiramentos simétricos e assimétricos de metilas e metilenos na região de $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$. Temos ainda um sinal em 1615 cm^{-1} referente a deformação angular da ligação N-H e estiramento assimétrico e simétrico de ligações N=O em 1513 cm^{-1} e 1310 cm^{-1} respectivamente.

O espectro de RMN de ^1H apresentado na **Figura 65** nos permite identificar rapidamente os sinais característicos dos hidrogênios aromáticos da 2,4-DNP-hidrazona em δ_{H} 7,93 (dublete), δ_{H} 8,31 (duplo-dublete), δ_{H} 9,13 (dublete largo) e δ_{H} 11,12 (singlete).

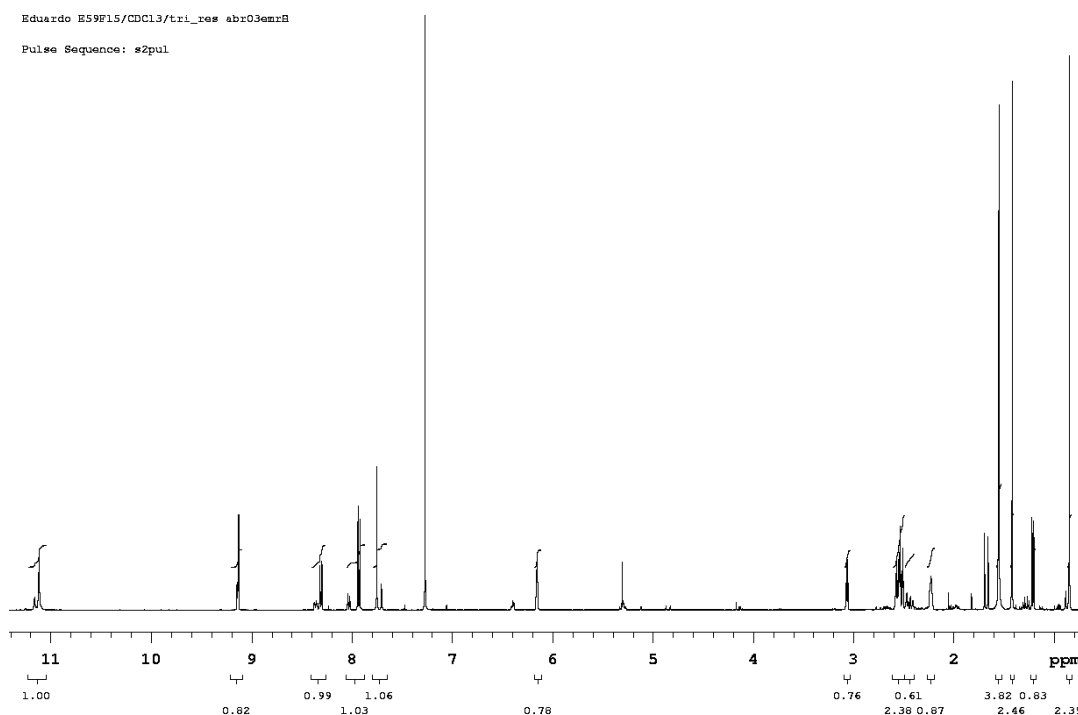


Figura 65: espectro de RMN de ^1H do composto E59F15 adquirido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

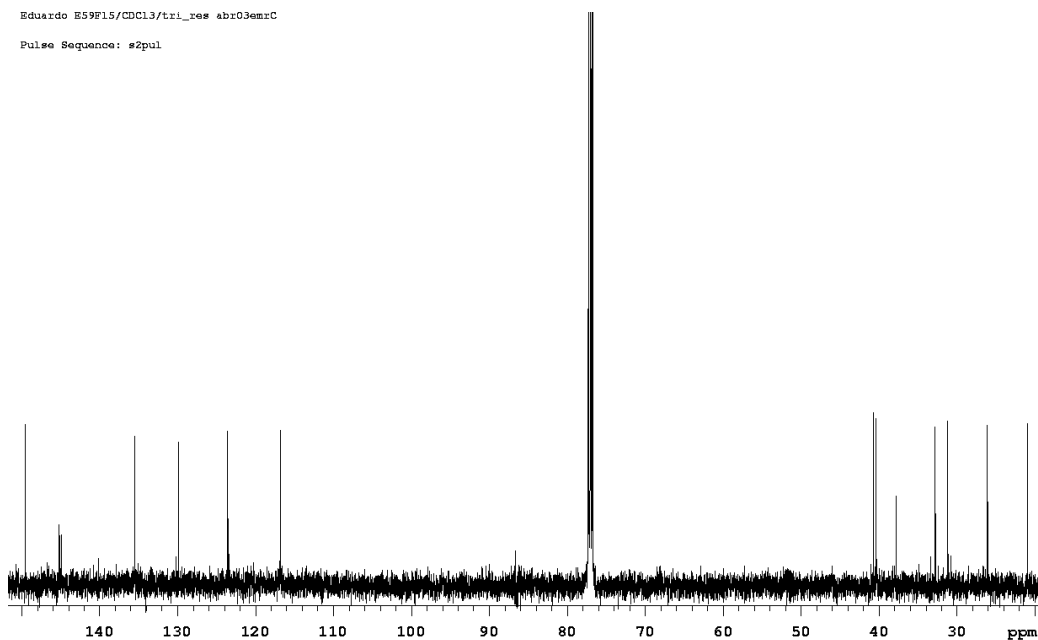


Figura 66: espectro de RMN de ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ do composto E59F15 adquirido a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

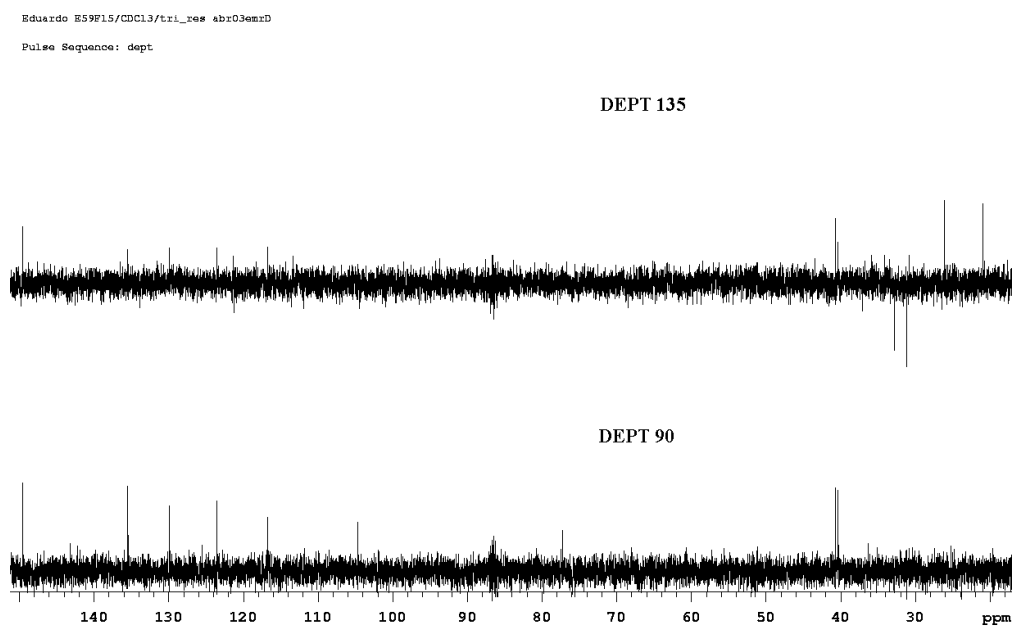
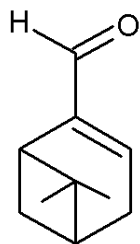


Figura 67: espectro de RMN de ^{13}C DEPT 90 e DEPT 135 do composto E59F15 adquirido a 125,71 MHz em CDCl_3/TMS .

O sinais do segmento terpênico mais evidente estão em δ_H 0,85 (singleto) e δ_H 1,40 (singleto) indicando a presença de duas metilas; em δ_H 3,06 (duplo-triplete), um hidrogênio; em δ_H 6,16, mostrando um hidrogênio vinílico e em δ_H 7,75 (singleto), referente a um hidrogênio que poderia caracterizar uma 2,4-DNP-hidrazona de aldeído. É interessante notar que na região dos hidrogênios aromáticos há sinais duplicados (pouco intensos), revelando a existência dos dois isômeros (*cis* e *trans*) da DNP-hidrazona. De acordo com a literatura consultada⁵⁶ os sinais mais desprotegidos referem-se ao isômero (E), favorecido termodinamicamente.

A análise dos espectros de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ e DEPT 90 e 135 apresentados na **Figura 66** e **Figura 67** respectivamente, nos mostra um composto de 16 carbonos, sendo 6 originários da 2,4-DNP-hidrazina. Identificamos ainda duas metilas em δ_C 20,94 e δ_C 26,05; dois metilenos em δ_C 31,15 e δ_C 32,77 e 7 carbonos metínicos (3 referem-se ao anel aromático). Restam então, 5 carbonos quaternários, 3 deles da 2,4-DNP-hidrazona.

Com essas informações iniciais, podemos afirmar que o composto que originou o derivado em questão parece ser um aldeído de fórmula molecular $C_{10}H_{14}O$ e número de insaturações ou anéis igual a 4. Uma consulta à listagem de compostos identificadas por CG-EM do óleo bruto, **Tabela 10** (ANEXO 6, p.141), nos revela a presença do aldeído mirtenal, **24**, que apresenta as características supracitadas.



24

A estrutura do mirtenal foi confirmada através dos mapas de contorno de RMN bidimensionais de correlação homonuclear 1H - 1H COSY, e heteronuclear 1H - ^{13}C HSQC e 1H - ^{13}C HMBC. Através do experimento de 1H - ^{13}C HSQC, determinamos as ligações entre carbonos e hidrogênios apresentadas na **Tabela 8** (p. 107).

⁵⁶ TAYYARI, S. F.; SPEAKMAN, J. L.; ARNOLD, M. B.; CAI, W.; BEHFOROUZ, M.; "A comprehensive investigation of variations in melting ranges and NMR data of 2,4-dinitrophenylhydrazine derivatives"; *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1998**, 2, 2195.

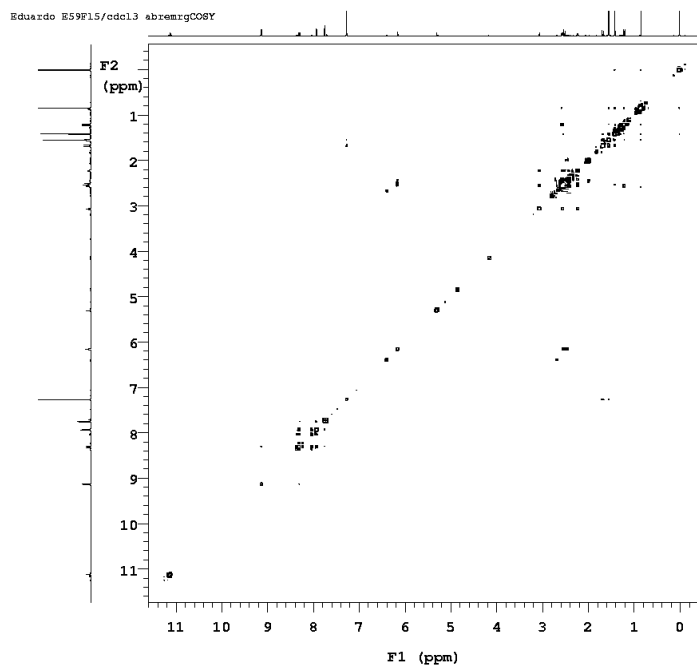


Figura 68: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15 adquirido a 499,88MHz em CDCl_3/TMS .

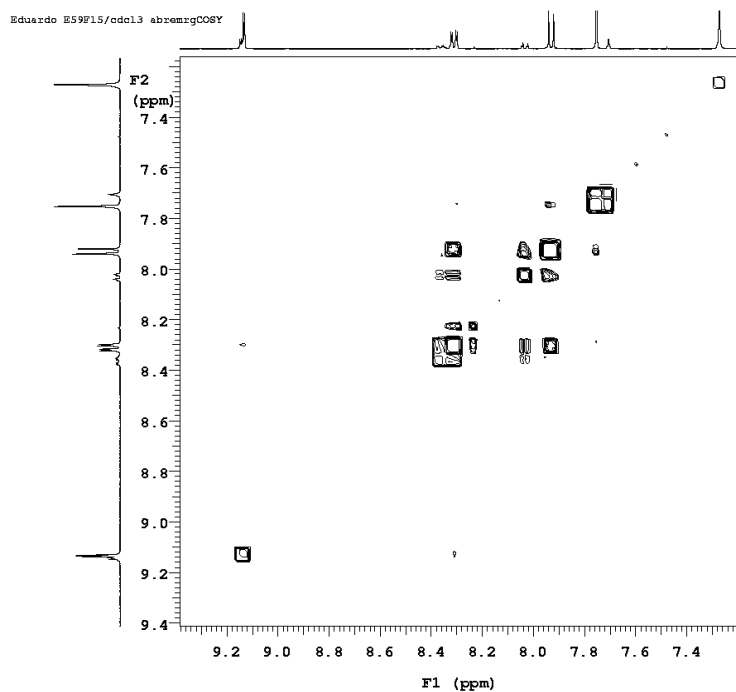


Figura 69: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15 adquirido a 499,88MHz em CDCl_3/TMS .

Tabela 8: correlação ^1H - ^{13}C de uma ligação (HSQC) de E59F15 – 2,4-dinitrofenil-hidrazona.

	C	Tipo	H
8	20,94	CH ₃	0,85 (3H, s, H-8)
9	26,05	CH ₃	1,42 (3H, s, H-9)
7	31,15	CH ₂	1,21 (1H, d, $^2J = 9$ Hz, H-7 _{exo}); 2,54 (3H, m, H-7 _{endo} , H-4 _{endo} , H-4 _{exo})
4	32,77	CH ₂	2,54 (3H, m, H-4 _{endo} , H-4 _{exo} , H-7 _{endo})
6	37,80	C ₀	
1	40,38	CH	3,06 (1H, ftd, $^3J_{\text{H1-H7exo}} \sim ^3J_{\text{H1-H7endo}} = 6$ Hz; $^4J_{\text{H1-H5}} = 1$ Hz, H-1)
5	40,72	CH	2,22 (1H, m, H-5)
6'	116,72	CH	7,93 (1H, d, $^3J_{\text{H6'-H5'}} = 10$ Hz, H-6')
3'	123,54	CH	9,13 (1H, d, $^4J_{\text{H3'-H5'}} = 3$ Hz, H-3')
5'	129,87	CH	8,31 (1H, dd, $^3J_{\text{H5'-H6'}} = 10$ Hz; $^4J_{\text{H5'-H3'}} = 3$ Hz, H-5')
3	135,44	CH	6,1 (1H, s, H-3)
2'	137,83	C ₀	
4'	144,87	C ₀	
2	145,16	C ₀	
10	149,50	CH	7,75 (1H, s, H-10)
1'	Não detectado	C ₀	

O espectro de RMN de correlação homonuclear ^1H - ^1H COSY (**Figura 68**) e sua expansão (**Figura 69**) nos mostram sinais na região de 7-9 ppm referentes ao segmento aromático-nitrogenado da 2,4-DNP-hidrazona E59F15, com exceção do sinal em δ_{H} 7,75 referente ao hidrogênio aldeídico. Não faremos um detalhamento das correlações homo e heteronucleares envolvendo os sinais do segmento relativo à 2,4-DNP-hidrazona, uma vez que isso foi feito anteriormente para o composto E59F2 e as eventuais diferenças são bastante pequenas.

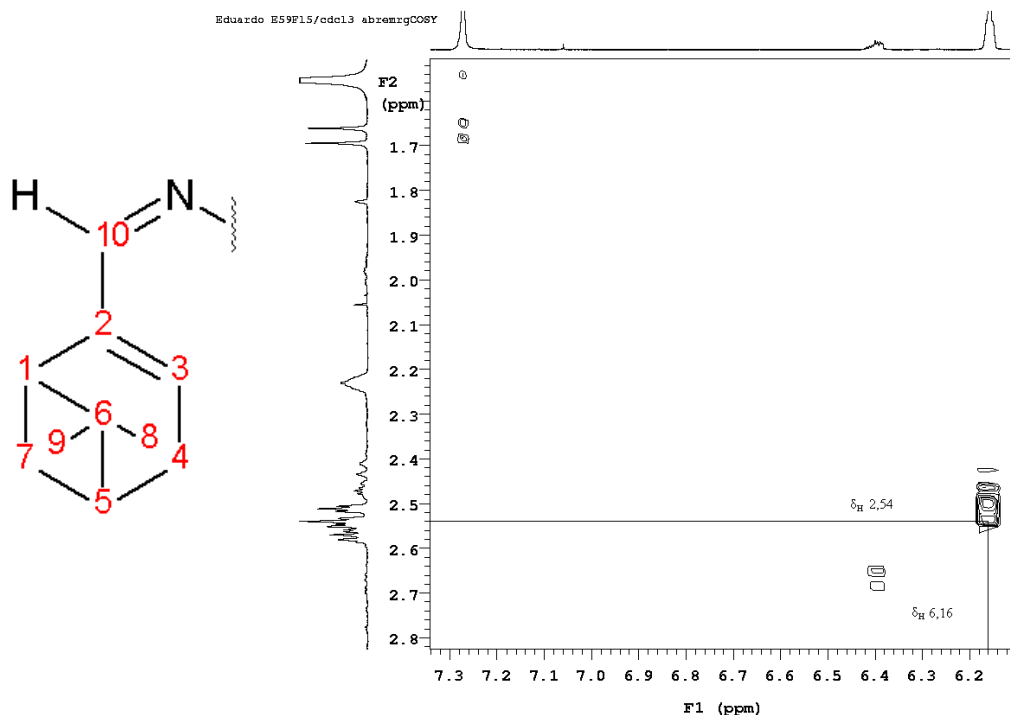


Figura 70: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15 adquirido a 499,88MHz em CDCl_3/TMS .

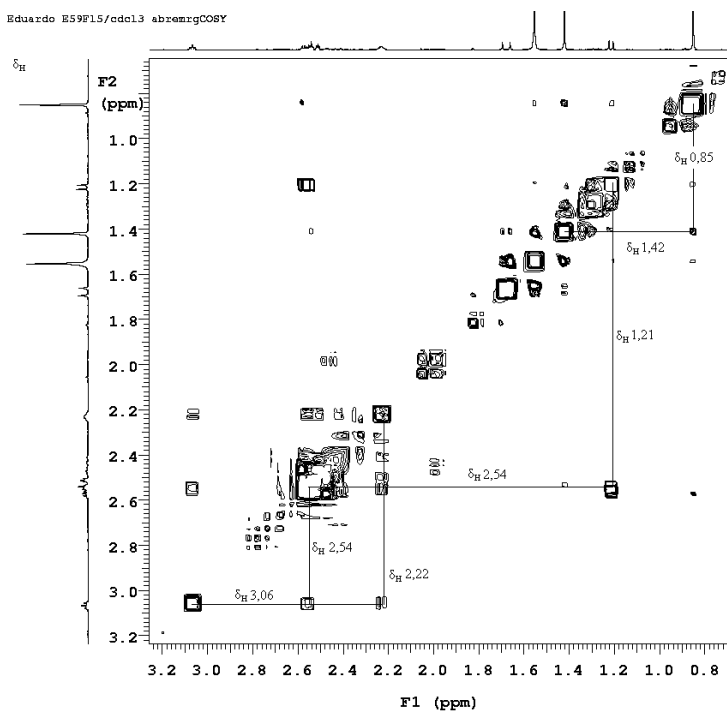


Figura 71: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto E59F15 adquirido a 499,88MHz em CDCl_3/TMS .

As expansões do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) apresentadas na **Figura 70** e **Figura 71** nos mostram correlações relativas ao segmento terpênico da molécula. Partindo do hidrogênio vinílico em δ_{H} 6,16 temos correlação com um multipeto na região de δ_{H} 2,54 (**Figura 70**), o qual, segundo a integração do espectro de RMN de ^1H , refere-se a 3 hidrogênios.

Temos ainda correlação dos hidrogênios em δ_{H} 2,54 (H-4, H-7_{endo}, 3H) com o hidrogênio em δ_{H} 2,22 (H-5) (**Figura 71**). Este hidrogênio em δ_{H} 2,22 também apresenta correlação pouco intensa com o outro hidrogênio metínico em δ_{H} 3,06 (H-1).

Pela expansão do espectro de RMN de ^1H na região δ_{H} 3,06 (**Figura 72**), vemos um falso tripleto-duplo com um pequeno acoplamento da ordem de 1 Hz, que indica um acoplamento em “W” entre os hidrogênios H-1 e H-5. Temos ainda correlação homonuclear ^1H - ^1H do hidrogênio em δ_{H} 3,06 com outro em δ_{H} 2,56 (H-7) (**Figura 71**), justificando o acoplamento de 6 Hz observado na **Figura 72**. O mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H da **Figura 71** nos mostra também um acoplamento fraco das metilas em δ_{H} 0,85 (H-8) e 1,42 (H-9).

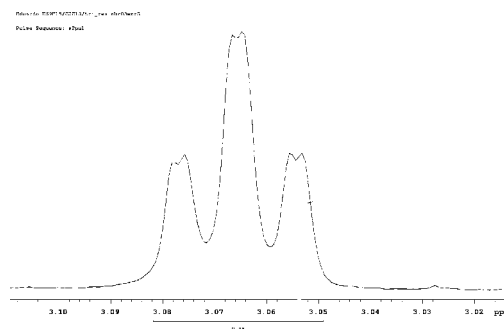


Figura 72: expansão do espectro de RMN de ^1H do composto E59F15, obtido a 499,88 MHz em CDCl_3/TMS .

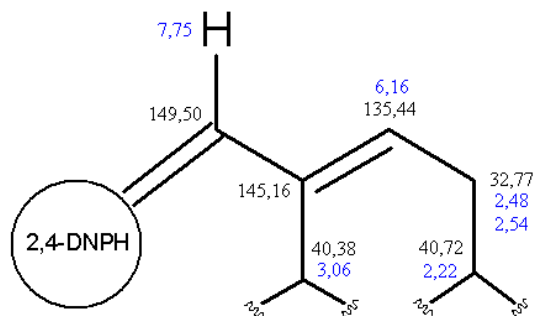


Figura 73: fragmento sugerido a partir das informações fornecidas pelos experimentos de RMN de ^1H e ^{13}C em uma e duas dimensões.

Pelo mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distancia (HMBC) (**Figura 74**, p. 110) notamos correlação entre o hidrogênio em δ_{H} 7,75 (H-10), e os carbonos quaternários sp^2 em δ_{C} 145,16 (C-2), δ_{C} 135,44 (C-3), e com o carbono metínico em δ_{C} 40,38 (C-1). Isso nos permite sugerir um segmento de estrutura similar à apresentada na **Figura 73**.

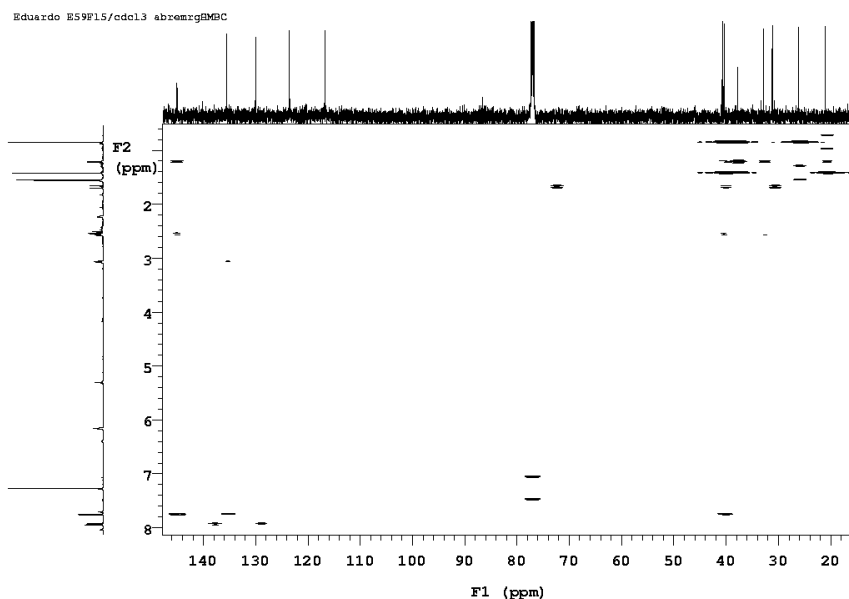


Figura 74: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F15 adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente, em CDCl_3/TMS .

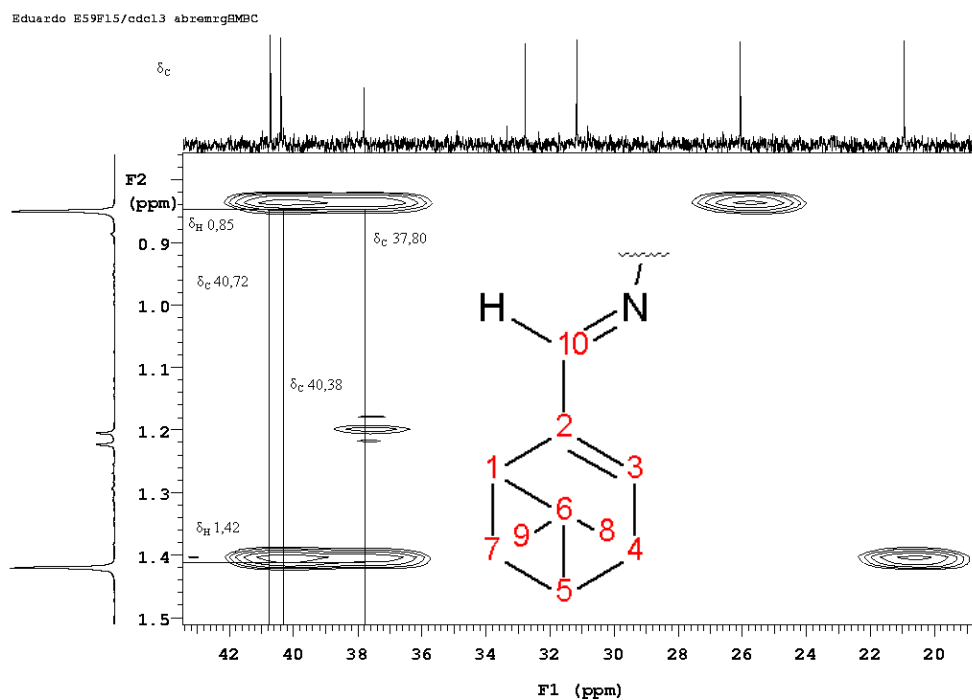
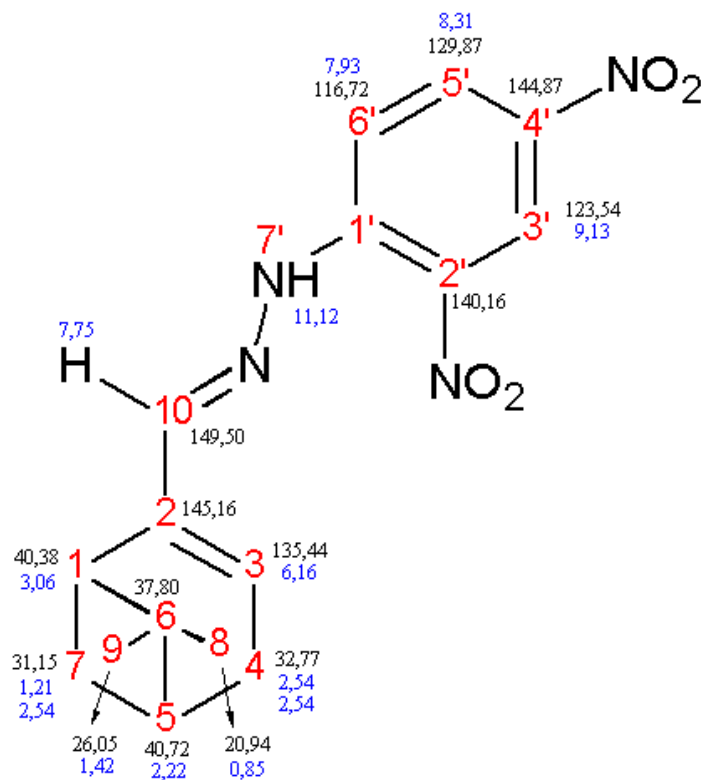


Figura 75: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C de longa distância (HMBC) do composto E59F15 adquirido a 499,88 MHz e 125,71 MHz respectivamente, em CDCl_3/TMS .

A expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C HMBC (**Figura 75**) mostra sinais entre os carbonos em δ_{C} 37,80 (C-6), δ_{C} 40,38 (C-1) e δ_{C} 40,72 (C-5) e os hidrogênio das metilas em δ_{H} 0,85 (H-8) e δ_{H} 1,42 (H-9). Vemos também sinais de um hidrogênio em δ_{H} 1,21 (H-7) acoplado a dois carbonos, um deles em δ_{C} 32,77 (C-4) e o outro em δ_{C} 37,80 (C-6). Com estes dados em mãos, sugerimos a estrutura do mirtenal-2',4'-DNP-hidrazona, **25**, para o composto E59F15.



25

6.3.3 – Conclusão do estudo de *Cyperus articulatus*

A reação da fração enriquecida de compostos carbonílicos com a 2,4-DNP-hidrazina foi bem sucedida e nos permitiu isolar dois compostos carbonílicos: um aldeído e uma cetona. Após a reação com 2,4-DNP-hidrazina a separação dos compostos em coluna de sílica não pôde ser acompanhada por CG-EM, o que nos levou a isolar dois compostos previamente identificados no óleo bruto (**Tabela 8**, p.107).

A contribuição olfativa do mirtenal e da α -ciperona não pôde ser avaliada, uma vez que isolamos as respectivas 2,4-DNP-hidrazonas. Entretanto o isolamento destes compostos permitirá futuramente a determinação de suas configurações absolutas, possibilitando um maior entendimento da contribuição olfativa de cada composto no óleo completo.

7 – Conclusão final

O trabalho desenvolvido apresentou resultados positivos em relação à ampliação do conhecimento da composição do óleo essencial extraído das folhas de *Aniba parviflora*. O composto isolado, agora identificado como jinkoh-eremol, não fora descrito anteriormente em literatura nacional, seja proveniente de plantas nativas ou introduzidas. Tampouco foram encontrados relatos de sua presença na família botânica da qual foi isolado (Lauraceae). A avaliação olfativa do composto isolado nos permitiu estimar, ainda que subjetivamente, sua contribuição para o valor olfativo do óleo essencial bruto.

O trabalho desenvolvido com o bálsamo de *Protium rubrum* nos permitiu conhecer um produto originário da flora brasileira, com potencial de aplicação na indústria de fragrâncias e, até então, não descrito na literatura científica. Analogamente ao caso anterior, não foram encontradas referências aos compostos isolados do bálsamo de *P.rubrum* na literatura nacional, em espécies originárias da flora brasileira, ou mesmo dentro da família Burseraceae.

A tentativa de isolar compostos não identificados pela biblioteca do espectrômetro de massas no óleo essencial de pripioca nos levou ao isolamento de derivados de 2,4-DNP-hidrazona de dois produtos conhecidos: mirtenal e α -ciperona. Entretanto somente com a determinação da configuração absoluta dos compostos poderemos ter um melhor entendimento do valor olfativo de cada um no óleo bruto.

Todo o trabalho de isolamento e análise, envolvendo diferentes técnicas como IV, CG-EM e RMN, bem como as etapas reacionais envolvidas no trabalho, esterificação, hidratação e formação de hidrazonas, deram-nos a oportunidade de trabalhar com metodologias até então não dominadas, em virtude da formação acadêmica deste aluno. Desta forma, acredito que o trabalho, como um todo, trouxe muito mais propriedade à minha atuação como profissional no mercado de A&F.

8 – Experimental

8.1 – Cromatografia em coluna (CC) e cromatografia em camada delgada (CCD)

As colunas foram feitas com sílica gel de granulometria de 0,035-0,070 mm e diâmetro do poro de 6nm da marca Acros. A relação sílica:amostra variou de 30:1 a 100:1 e as frações recolhidas tinham o volume de metade da massa de sílica usada (ex: 30 g sílica → frações de 15 ml). As colunas de separação foram eluídas com gradiente de solvente, exceção feita ao óleo de *P. rubrum* que devido a sua simplicidade foi concentrado com a metodologia flash⁵⁷ e apenas um solvente (Hexano/Acetato de etila, 8/2).

As placas de CCD utilizadas foram da marca Merck, com refletância para luz ultravioleta de 254 nm. Os diversos solventes usados como hexano, acetato de etila, diclorometano, metanol e clorofórmio foram da marca Synth com qualidade PA destilados no laboratório. As placas preparativas foram montadas no próprio laboratório com espessura de 1mm, de sílica de placa da marca Acros sobre lamina de vidro.

A visualização dos compostos em CCD foi verificada após irradiação de luz ultravioleta (UV) no comprimento de onda de 254 e 365 nm, seguida de pulverização com revelador de terpenos (*p*-anisalaldeído/H₂SO₄/HOAc (0,5:1,0:0,5), seguida de aquecimento.

8.1.2 – Detalhamento do procedimento apresentado no fluxograma da Figura 5

Em uma coluna (coluna 1) de vidro de 40 mm de diâmetro foram colocados 100 g de sílica da marca Acros (altura de 210 mm, volume de sílica: 270 ml) e 10 g de óleo essencial de *A. parviflora*. Foram eluídos 100 ml de cada mistura de solventes na

⁵⁷ CASEY, M., LEONARD, J., LYGO, B., PROCTER, G.; Advanced Practical Organic Chemistry, Blackie & Son Ltd, 1990, 166.

seguinte ordem: hexano 100 %; hexano – diclorometano 1 %; hexano – diclorometano 2 %; hexano – diclorometano 5 %; hexano – diclorometano 10%; hexano – diclorometano 20 %; hexano – diclorometano 50 %; diclorometano 100 % (2x); diclorometano – metanol 50 % (2x); metanol 100% (2x). O processo nos forneceu 20 frações de 50 ml. O composto AF 105 foi encontrado na fração 20 de massa 2,3 g.

A segunda coluna de sílica foi preparada com 22,5 g de sílica gel Acros adicionado a de 2,5 g de AgNO_3 . O nitrato de prata foi solubilizado em água destilada e misturado à sílica. A suspensão foi posta para secar em sistema de aquecimento e vácuo, na ausência de luz. A coluna de vidro foi envolvida em papel alumínio para evitar a luminosidade. A mistura sílica + nitrato foi colocada na coluna usando benzeno como solvente de arraste, também em ambiente de pouca luminosidade.

Foram usados 440 mg da fração 20 e as frações recolhidas tinham 10 ml. O gradiente de solventes foi o seguinte: 500 ml benzeno; 200 ml benzeno – diclorometano 0,5 %; 100 ml benzeno – diclorometano 1,5 %; 100 ml benzeno – diclorometano 3 %; 100 ml benzeno – diclorometano 5 %; 200 ml benzeno – diclorometano 10 %; 100 ml benzeno – diclorometano 15 %; 50 ml benzeno – acetato de etila 5 %; 50 ml benzeno – acetato de etila 10 %; 50 ml benzeno – acetato de etila 20 %; 50 ml benzeno – acetato de etila 50 %; 50 ml benzeno – metanol 5 %; 50 ml benzeno – metanol 10 %; 50 ml benzeno – metanol 20 %. O monitoramento das frações foi feito por CG-EM. O composto AF 105 foi encontrado nas frações 38, 39, 40 e 41, resultando em 2 mg a 80 % de pureza.

8.2 – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Os óleos foram analisados em um cromatógrafo Hewlett Packard 6890, acoplado a um espectrômetro de massas Hewlett Packard 5973; coluna capilar de sílica fundida do tipo J & W Scientific HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) cuja fase estacionária consiste de 5% de fenil-metil-silicone; hélio de alta pureza foi empregado

como gás de arraste; ionizador por impacto de elétrons a 70 eV a 280°C na interface, seletor de massas quadrupolar e detecção por célula eletromultiplicadora.

As amostras de óleos brutos foram dissolvidas em acetato de etila, a concentração aproximada de 5 mg/ml, e os compostos isolados a cerca de 1 mg/ml. Todas as amostras foram co-injetadas com padrão interno de pentadecano solubilizado em hexano a 0,1 mg/ml. As amostras injetadas consistiram em misturas de 0,8 µl da solução do material a ser analisado e 0,2 µl da solução de pentadecano, retirados diretamente com a microseringa. A rampa de aquecimento foi:

50°C (2 min.) 50°C → 210°C (3°C·min⁻¹) → 290°C (30°C·min⁻¹)(5 min.)
totalizando 60,33 minutos por injeção.

8.3 – Espectroscopia no infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram adquiridos empregando-se um espectrofotômetro Perkin-Elmer 298 e 1660 FTIR. Como padrão de referência, utilizamos a absorção em 1601 cm⁻¹ de um filme de poliestireno fornecido pelo fabricante.

8.4 – Dicroísmo circular

A amostra de β-eudesmol foi analisada em um espectropolarímetro da marca JASCO modelo J-720 à concentração de 2,25·10⁻³ M, em célula de vidro de 10 mm de comprimento solubilizada em etanol Synth 99,5%, à temperatura de 20 °C. O comprimento de onda da radiação incidente variou de 205 a 250 nm, a 100 nm/min., totalizando 16 acumulações para a amostra.

8.5 – Reações químicas

8.5.1 – Trifluoro-acetilação do valenceno

Dois gramas de valenceno comercial da marca Acros foram solubilizados em 20 ml de hexano. A mistura foi homogeneizada acrescentando-se então 1,6 gramas de

ácido trifluoro-acético. Imediatamente a solução passou de incolor para violeta. A mistura permaneceu em agitação magnética a cerca de 50 °C por 120 minutos. Devido ao baixo rendimento verificado por CCD, a reação foi mantida por mais 24 horas a temperatura ambiente.

A mistura foi lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio (NaHCO_3), extraída com acetato de etila e seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). O solvente foi evaporado inicialmente em evaporador rotativo e posteriormente em linha de gás N_2 . O produto gerado, trifluoro-acetato de valerianila, foi isolado através de cromatografia em coluna.

8.5.2 – Hidrólise do trifluoro-acetato de valerianila

A 31,8 mg de trifluoro-acetato de valerianila foram adicionados 4 ml de solvente da seguinte maneira: 2,4 ml de tetra-hidrofurano, 0,8 ml de metanol, 0,8 ml água. Após homogeneização, adicionou-se 16,8 mg de hidróxido de lítio hidratado ($\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$). A mistura permaneceu sob agitação a temperatura ambiente por 2 horas.

Foi então, lavada com solução de ácido clorídrico a 10 %, extraída com acetato de etiala e seca com sulfato de sódio. O solvente foi removido de maneira análoga à reação anterior. O álcool formado, valerianol, foi isolado por cromatografia em coluna.

8.5.3 – Formação das 2,4-dinitro-fenil-hidrazonas

O reagente foi preparado com 250 mg de 2,4-dinitrofenil-hidrazina em 5 ml de metanol e 0,5 ml de ácido sulfúrico. Foi então, lentamente adicionado a 1 g de óleo de pripioca em um balão. Seguiu-se leve agitação e repouso. Após 1 hora o balão encontrava-se com uma pequena quantidade de cristais precipitados. Neste ponto deu-se a extração líquido-líquido, seguida de cromatografia em coluna.

8.6 – Condições dos experimentos de RMN

Todas as amostras foram solubilizadas em CDCl_3 com tetrametilsilano a 0,03 %. Os experimentos foram realizados em ambiente com ar condicionado ($20^\circ\text{C} \leq t \leq 25^\circ\text{C}$) nos espectrômetros Varian INOVA-500 ($B_0 = 11,7 \text{ T}$), operando a 499,88 MHz para ^1H e 125,71 MHz para ^{13}C ou Gemini 300P-Varian ($B_0 = 7,05 \text{ T}$), operando a 300,07 MHz para ^1H e 75,45 MHz para ^{13}C . O equipamento Varian INOVA-500 é equipado com sondas de 5 mm para detecção direta e indireta (ambas com acessórios de gradiente de campo linear pulsado localizado na coordenada z), pulso seletivo e estações de trabalho Sun para processamento de espectros via rede. Para desacoplamentos em faixa larga, foram utilizados métodos de pulsos compostos (seqüências WALTZ e MLEV).⁵⁸

As amostras foram analisadas em tubos de vidro de 5 mm de diâmetro. O sinal de deutério do solvente foi utilizado como trava.

Os experimentos unidimensionais foram adquiridos utilizando “softwares” padrões Varian sob condições típicas, como seguem. Os espectros foram processados nas estações de dados utilizando o programa VNMR do equipamento (Varian, Inc.).

8.6.1 – Técnicas unidimensionais

RMN de ^1H

Os espectros de RMN de ^1H foram adquiridos com pulsos de 30° (largura: 2,5-4,0 μs), largura de varredura de 8 kHz (número de pontos 32 K), tempos de aquisição (at) e espera de reciclagem (d1) de 3,0 s e 1,0 s, respectivamente. Foram acumuladas cerca de 32-64 transientes e a resolução digital do espectro de 0,25 Hz/ponto. Os deslocamentos químicos foram registrados em ppm, tomando-se como padrões de referência interna o tetrametilsilano 0,03% (TMS, 0,00 ppm).

⁵⁸ a) GUNTHER, H.; NMR Spectroscopy, 2ed., John Wiley & Sons, **1994**, Chichester, cap. 6 e 10. b) SANDERS, J. K. M.; HUNTER, B. K.; Modern NMR Spectroscopy - A Guide for Chemists, 2ed. Oxford University Press, **1994**, Oxford, cap. 4, 6 e 8. c) BRAWN, S.; KALINOWSKI, H. O.; BERGER, S.; 150 and more Basic NMR Experiments - a practical course, 2ed., Wiley, **1998**, Weinheim, cap. 6, 10 e 12.

RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$

Os espectros de RMN de ^{13}C foram adquiridos com pulsos de 45° (largura: 4-6 μs), empregando desacoplamento em faixa larga (seqüência de WALTZ), sob uma janela de 32 kHz, com um número de 64 k pontos (tempo de aquisição: 1-2 s) e tempo de espera para reciclagem (d1) de 2,0-3,0 s. Nestes experimentos foram acumulados entre 256 a 5000 transientes, com resolução digital de 1,0 Hz/ponto. Os deslocamentos químicos foram registrados em δ (ppm), tomando-se como padrões de referência interna o tetrametilsilano (TMS, δ_{C} 0,00) ou CDCl_3 (δ_{C} 77,00).

RMN de ^{13}C (DEPT)

A diferenciação entre os carbonos metílicos, metilênicos, metínicos e carbonos não ligados a hidrogênios, foi estabelecida via aquisição de espectros de DEPT (90° e 135° , onde CH_3 e CH = sinal positivo, CH_2 = sinal negativo e C_0 = ausente). Os parâmetros empregados na aquisição dos espectros de DEPT foram praticamente os mesmos de RMN de ^{13}C , com exceção do número de transientes (nt = 128-1024). A resolução digital média foi de 1,0 Hz/ponto, para um número de dados de cerca de 30 k pontos.

8.6.2 – Técnicas bidimensionais

RMN de ^1H - ^1H gCOSY

Os experimentos de g-COSY⁵⁹ foram adquiridos com uma seqüência de pulsos padrão 90° - 90° e gradientes de campo pulsados. Os espectros foram obtidos sob janela espectral de 4 KHz em ambas as dimensões, com um conjunto de pontos de 1K e 128 incrementos (FIDs). Foram adquiridos entre 16 e 32 transientes para cada bloco de 128 FIDs, com tempos de aquisição e espera para reciclagem de 0,1-0,2 e 1,0 s, respectivamente. Antes da transformada de Fourier, ambos domínios (F_1 e F_2) foram

⁵⁹ a) HURD, R. E.; *J. Magn. Reson.* **1990**, 87, 422. b) KIENLIN, M.; MOONEN, C. T. W.; TORN, A.; *J. Magn. Reson.* **1991**, 93, 423.

multiplicados por uma função seno seno e preenchidos com zeros para 1K, produzindo uma matriz quadrada de dados (1K x 1K). A transformada de Fourier foi aplicada e os dados transformados foram então simetrizados.

RMN de ^1H - ^{13}C g-HSQC

Os experimentos de correlações heteronucleares foram obtidos através da seqüência de g-HSQC⁶⁰ com auxílio de gradientes de campo pulsados. O desacoplamento dos átomos de carbono durante a aquisição foi realizado com uma seqüência GARP. Os sinais de hidrogênios ligados a ^{13}C foram filtrados (separados) daqueles ligados a ^{12}C através da seqüência TANGO.⁶¹ O tempo de mistura para a transferência de polarização foi calculado a partir de $^1J_{\text{C,H}} = 140$ Hz. Foram empregadas larguras espectrais de 4 KHz em F_2 (número de dados: 1 K pontos) e 14 KHz em F_1 . Para cada bloco de 128 incrementos foram adquiridos entre 48 e 64 transientes. Os tempos de aquisição e espera para reciclagem foram de 0,15-0,20 e 1,5 s, respectivamente. Antes de aplicar a transformada de Fourier, os dados foram multiplicados em ambas dimensões por uma função do tipo seno seno e sofreram previsão linear em F_1 para 256 pontos, seguida de preenchimento com zeros para 1 K pontos.

RMN de ^1H - ^{13}C g-HMBC

Os experimentos de correlações heteronucleares foram obtidos através da seqüência de g-HSQC⁶² com auxílio de gradientes de campo pulsados. Os sinais de hidrogênios ligados a ^{13}C foram filtrados (separados) daqueles ligados a ^{12}C através da seqüência TANGO.⁶³ O tempo de mistura para a transferência de polarização foi calculado a partir de $^1J_{\text{C,H}} = 10$ Hz. Foram empregadas larguras espectrais de 6 KHz

⁶⁰ a) BODENHAUSEN, G.; RUBEN, D.; *J. Chem. Phys. Lett.* **1980**, 69, 185. b) BODENHAUSEN, G.; RUBEN, D. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10663.

⁶¹ WIMPERIS, S.; FREEMAN, R.; *J. Magn. Reson.* **1984**, 58, 348.

⁶² a) BODENHAUSEN, G.; RUBEN, D.J.; *Chem. Phys. Lett.* **1980**, 69, 185. b) BODENHAUSEN, G.; RUBEN, D. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10663.

⁶³ WIMPERIS, S.; FREEMAN, R.; *J. Magn. Reson.* **1984**, 58, 348.

em F_2 (número de dados: 2 K pontos) e 28 KHz em F_1 . Para cada bloco de 128 incrementos foram adquiridos entre 128 e 256 transientes. Os tempos de aquisição e espera para reciclagem foram de 0,15-0,20 e 1,5 s, respectivamente. Antes de aplicar a transformada de Fourier, os dados foram multiplicados em ambas dimensões por uma função do tipo seno seno e sofreram previsão linear em F_1 para 256 pontos, seguida de preenchimento com zeros para 2 K pontos.

8.7 – Compostos identificados

8.7.1 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de jinkoh-eremol

RMN de ^1H (499,88 MHz; CDCl_3/TMS) δ : 0,80 (3H, d, $^3J = 6,5$ Hz, H-12); 0,93 (3H, s, H-13); 0,95 (1H, H-1a); 1,18 (3H, s, H-10); 1,19 (3H, s, H-11); 1,26 (1H, m, H-6e); 1,42 (1H, q*, $^2J_{\text{H7a-H7e}} = ^3J_{\text{H7a-H6a}} = ^3J_{\text{H7a-H8}} = 12,2$ Hz, $^3J_{\text{H7a-H6e}} = 4,5$ Hz, H-7a); 1,50 (1H, m, H-7e); 1,57 (1H, dddd, $^3J_{\text{H2-H3a}} = ^3J_{\text{H2-H1a}} = 13$ Hz, $^3J_{\text{H2-H1}} = 5$ Hz, $^3J_{\text{H2-H3e}} = 3$ Hz; H-2); 1,65 (1H, m, H-8); 1,77 (2H, m, H-3a, H-6a); 1,91 (1H, dt*, $^2J = 12,5$ Hz, $^3J_{\text{H5e-H6a}} = ^3J_{\text{H5e-H6e}} = 2,5$ Hz, H-5e); 1,95 (1H, dd, $^2J = 13,3$ Hz, $^3J_{\text{H1e-H2}} = 2,5$ Hz, H-1e); 2,01 (1H, m, H-3e); 2,05 (1H, s, OH); 2,20 (1H, bt*, $^2J = ^3J_{\text{H5a-H6a}} = 13$ Hz, H-5a); 5,32 (1H, d, $^3J_{\text{H4-H3a}} = ^3J_{\text{H4-H3e}} = 6,0$ Hz, H-4)

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 15,52 (CH_3 , C-12); 20,76 (CH_3 , C-13); 26,56 (CH_3 , C-10); 26,97 (CH_3 , C-11); 27,43 (CH_2 , C-3); 29,19 (CH_2 , C-6); 31,13 (CH_2 , C-7); 31,97 (CH_2 , C-5); 35,42 (CH_2 , C-1); 38,30 (CH , C-8); 39,29 (C_0 , C-8a); 41,13 (CH , C-2); 72,29 (C_0 , C-9); 117,49 (CH , C-4); 146,48 (C_0 , C-4a).

IV (filme) ν_{max} (cm^{-1}): 3385, 2967, 2927, 2855, 1466, 1442, 1378.

CG/EM: 222 [$\text{M}^{\bullet+}$] (1), 204 (35), 189 (34), 161 (66), 147 (32), 133 (19), 119 (15), 105 (100), 91 (34), 59 (35), 43 (22).

KI = 1626.

$[\alpha]_D^{22} = -(5,4 \pm 0,9)^\circ$, (CHCl_3 , c. 5,1).

8.7.2 - Dados espectroscópicos e espectrométricos do Espatuleno

RMN de ^1H (499,88 MHz; CDCl_3/TMS) δ : 0,47 (1H, dd, $^2J_{\text{H}7\text{b}-\text{H}7\text{a}} = 12 \text{ Hz}$; $^2J_{\text{H}7\text{b}-\text{H}1\text{a}} = 10 \text{ Hz}$, H-7b); 0,71 (1H, m, H-1a); 0,87 (1H, m, H-2); 1,04 (3H, s, H-9); 1,06 (3H, s, H-8); 1,29 (3H, s, H-11); 1,31 (1H, dd, $^2J_{\text{H}7\text{a}-\text{H}7\text{b}} \sim ^2J_{\text{H}7\text{a}-\text{H}4\text{a}} = 10 \text{ Hz}$, H-7a); 1,56 (1H, m, H-6); 1,63 (1H, , H-5); 1,78 (1H, ddd, H-6); 1,90 (1H, , H-5); 1,98 (1H, , H-2); 2,04 (1H, ft, $^2J \sim ^3J_{\text{H}3-\text{H}2} = 12 \text{ Hz}$, H-3); 2,20 (1H, ddd, $^3J_{\text{H}4\text{a}-\text{H}7\text{a}} \sim ^3J_{\text{H}4\text{a}-\text{H}5} = 10 \text{ Hz}$; $^3J_{\text{H}4\text{a}-\text{H}5'} = 6$, H-4a); 2,42 (1H, dd, $^2J = 12 \text{ Hz}$; $^3J_{\text{H}3-\text{H}2} = 6 \text{ Hz}$, H-3); 4,67 (1H, d, $^2J = 1 \text{ Hz}$, H-10Z); 4,69 (1H, sl, H-10E).

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 16,30 (CH_3 , C-9); 20,23 (C_0 , C-1); 24,73 (CH_2 , C-2); 26,05 (CH_3 , C-11); 26,69 (CH_2 , C-5); 27,44 (CH , C-1a); 28,62 (CH_3 , C-8); 29,89 (CH , C-7b); 38,82 (CH_2 , C-3); 41,70 (CH_2 , C-6); 53,38 (CH , C-4a); 54,27 (CH , C-7a); 80,94 (C_0 , C-7); 106,23 (CH_2 , C-10); 153,40 (C_0 , C-4).

IV (filme) ν_{max} (cm^{-1}): 3385, 3081, 2950, 2927, 2864, 1743, 1729, 1636, 1456, 1375.

CG/EM: 220 [$\text{M}^{\bullet+}$] (3), 205 (46), 202 (49), 187 (45), 159 (100), 145 (51), 131 (74), 117 (42), 119 (44), 105 (58), 91 (68), 79 (34).

KI = 1576

$[\alpha]_D^{22} = (10,5 \pm 0,6)^\circ$, (CHCl_3 , c. 1,3)

8.7.3 - Dados espectroscópicos e espectrométricos do β -eudesmol

RMN de ^1H (499,88 MHz; CDCl_3/TMS) δ : 0,71 (3H, s, H-12); 1,01 (1H, s, H-3); 1,14; (1H, m, H-1a); 1,21 (6H, s, H-10, H-11); 1,28 (3H, m, H-3, H-4, H-5); 1,38 (1H, m, H-2); 1,45 (1H, m, H-4); 1,54 (1H, ftd, $^2J \sim ^3J_{\text{H}5\text{a}-\text{H}6\text{a}} = 12 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H}5\text{a}-\text{H}6\text{e}} = 3 \text{ Hz}$, H-5a); 1,62 (3H, m, H-1e, H-6, H-6'); 1,77 (1H, dd, $^3J_{\text{H}8\text{a}-\text{H}1\text{a}} = 12 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H}8\text{a}-\text{H}1\text{e}} = 3 \text{ Hz}$, H-8a); 2,00 (1H, m, H-7a); 2,31 (1H, m, H-7e); 4,45 (1H, d, $^2J = 1,5$, H-13); 4,72 (1H, d, $^2J = 1,5$, H-13).

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 16,30 (CH_3 , C-12); 22,37 (CH_2 , C-3); 23,48 (CH_2 , C-6); 25,02 (CH_2 , C-1); 27,12 (CH_3 , C-10); 27,17 (CH_3 , C-11); 35,89 (C_0 , C-4a); 36,88 (CH_2 , C-7); 41,12 (CH_2 , C-5); 41,83 (CH_2 , C-4); 49,44 (CH , C-2); 49,79 (CH , C-8a); 72,91 (C_0 , C-9); 105,32 (CH_2 , C-8); 151,15 (C_0 , C-13).

IV (filme) $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3298, 3079, 2971, 2935, 2844, 1644, 1441, 1376.

CG/EM: 222 [$\text{M}^{\bullet+}$] (4), 204 (100), 189 (80), 161 (92), 149 (89), 133 (66), 121 (59), 105 (92), 93 (82), 91 (86), 79 (73).

KI = 1649

8.7.4 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de Valerianol

RMN de ^1H (499,88 MHz; CDCl_3/TMS) δ : 0,81 (1H, H-); 0,87 (3H, H-12); 0,91 (3H, H-13); 1,01 (1H, H-3); 1,16 (3H, H-10); 1,17 (3H, H-11); 1,24 (1H, H-7); 1,41 (2H, H-7, H-8); 1,63 (1H, H-2); 1,84 (1H, H-3); 1,96 (3H, H-1, H-6, H-6'); 2,10 (1H, H-4e); 2,27 (1H, H-4a); 5,31 (1H, H-5).

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 15,71 (CH_3 , C-12); 18,48 (CH_3 , C-13); 25,86 (CH_2 , C-6); 26,91 (CH_3 , C-10); 27,05 (CH_3 , C-11); 27,20 (CH_2 , C-7); 28,95 (CH_2 , C-3); 32,60 (CH_2 , C-4); 37,62 (C_0 , C-8a); 40,50 (CH_2 , C-1); 41,08 (CH , C-8); 44,40 (CH , C-2); 72,84 (C_0 , C-9); 119,86 (CH , C-5); 143,14 (C_0 , C-4a).

IV (filme) $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): 3386, 2967, 2927, 2876, 1480, 1437, 1375.

CG/EM: 222 [$\text{M}^{\bullet+}$] (1), 204 (35), 189 (15), 161 (100), 149 (14), 135 (24), 119 (15), 107 (18), 105 (18), 93 (16), 91 (18), 59 (29).

KI = 1631⁶⁴

8.7.5 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de 1-isopropenil-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno

RMN de ^1H (499,88 MHz; CDCl_3/TMS) δ : 2,15 (3H, m, H-9); 2,25 (3H, s, H-11); 3,81 (3H, s, H-10); 3,82 (3H, s, H-12); 5,10 (1H, m, H-8e⁶⁵); 5,16 (1H, dq deformado, ²J= 1,5 Hz, ⁴J= 2,1 Hz, H-8z); 6,72 (1H, s, H-3); 6,73 (1H, s, H-6).

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 16,10 (CH_3 , C-11); 23,23 (CH_3 , C-9); 55,94 (CH_3 , C-12); 56,28 (CH_3 , C-10); 111,94 (CH , C-6); 114,59 (CH , C-3); 114,74

⁶⁴ Segundo MORONGIU, B.; PIRAS, A.; PANI, F.; PORCEDDA, S.; BALLERO, M.; "Extraction, separation and isolation of essential oils from natural matrices by supercritical CO₂", *Flavour Frag. J.* **2003**, 18, 505-509, KI = 1633

⁶⁵ As posições relativas dos hidrogênios do sistema vinílico referem-se ao anel. Logo H-8z está do mesmo lado do anel e H-8e do lado oposto.

(CH₂, C-8); 126,140 (C₀, C-4); 130,52 (C₀, C-1); 144,32 (C₀, C-7); 150,22 (C₀, C-2); 151,50 (C₀, C-5).

IV (filme) $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3079, 2994, 2950, 2832, 1630, 1502, 1465, 1398, 1375.

CG/EM: 192 [M^{•+}] (100), 177 (78), 162 (19), 161 (11), 149 (36), 147 (15), 134 (11), 119 (16), 105 (8), 91 (30), 77 (14), 65 (10), 51 (7).

KI = 1434.

8.7.6 - Dados espectroscópicos e espectrométricos de 1-isopropanol-2,5-dimetoxi-4-metilbenzeno

RMN de ¹H (499,88 MHz; CDCl₃/TMS) δ : 1,61 (6H, s, H-8, H-9); 2,22 (3H, s, H-11); 3,81 (3H, s, H-10); 3,87 (3H, s, H-12); 6,74 (1H, s, H-3); 6,84 (1H, s, H-6).

RMN de ¹³C (125,71 MHz, CDCl₃/TMS) δ : 15,96 (CH₃, C-11); 29,76 (2 CH₃, C-8 e C-9); 55,81 (CH₃, C-12); 56,12 (CH₃, C-10); 72,50 (CH, C-7); 109,00 (CH, C-6); 114,44 (CH₂, C-3); 125,79 (C₀, C-4); 133,84 (C₀, C-1); 150,38 (C₀, C-2); 151,55 (C₀, C-5).

IV (filme) $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3448, 2934, 2852, 1502, 1465, 1396, 1373.

CG/EM: 210 [M^{•+}] (10), 195 (27), 192 (100), 177 (75), 162 (18), 161 (11), 149 (34), 147 (13), 134 (10), 119 (15), 105 (8), 91 (29), 77 (13), 65 (10), 51 (6).

KI = 1557.

8.7.7 - Dados espectroscópicos de α -ciperona-2,4-dinitrofenil-hidrazina

RMN de ¹H (499,88 MHz; CDCl₃/TMS) δ : 1,18 (3H, s, H-13); 1,42 (1H, td, ²J_{H5a-H5e} ~ ³J_{H5a-H6a} = 12 Hz; ³J_{H5a-H6e} = 3 Hz, H-5ax); 1,65 (1H, m, H-4ax, H-6ax); 1,73 (1H, m, H-5eq, H-6eq); 1,78 (1H, m, H-4eq); 1,81 (3H, s, H-11); 2,02 (3H, s, H-12); 2,03 (1H, m, , H-7, H-8ax); 2,50 (1H, m, H-3ax); 2,76 (1H, ddd, ²J_{H3e-H3a} = 16 Hz; ³J_{H3e-H4} = 5 Hz, ³J_{H3e-H4} = 2 Hz, H-3eq); 2,87 (1H, dd, ²J_{H1e-H1a} = 10 Hz, ³J_{H1e-H2} = 2 Hz, H-8eq); 4,80 (2H, sl, H-10); 8,01 (1H, d, ²J = 14 Hz, H-6'); 8,32 (1H, dd, ²J = 14 Hz, ³J = 5 Hz, H-5'); 9,15 (1H, d, ³J = 5 Hz, H-3').

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 12,62 (CH_3 , C-12); 20,73 (CH_3 , C-11); 21,21 (CH_2 , C-3); 22,75 (CH_3 , C-13); 27,02 (CH_2 , C-6); 32,52 (CH_2 , C-8); 34,93 (C_0 , C-4a); 36,28 (CH_2 , C-4); 41,63 (CH_2 , C-5); 45,92 (CH , C-7); 109,05 (CH_2 , C-10); 116,59 (CH , C-6'); 123,63 (CH , C-3'); 125,20 (C_0 , C-1); 129,20 (C_0 , C-8a); 129,96 (CH , C-5'); 137,58 (C_0 , C-2'); 144,99 (C_0 , C-4'); 149,50 (C_0 , C-9); 152,19 (C_0 , C-2); 155,16 (C_0 , C-1').

IV (filme) ν_{max} (cm^{-1}): 3314, 3109, 2925, 2856, 1616, 1591, 1509, 1418, 1336, 1308, 1256, 1219, 1131, 1061.

8.7.8 - Dados espectroscópicos de mirtenal-2,4-dinitrofenil-hidrazina

RMN de ^1H (499,88 MHz; CDCl_3/TMS) δ : 0,85 (3H, s, H-8); 1,42 (3H, s, H-9); 1,21 (1H, d, $^2J = 9$ Hz, H-7_{exo}); 2,54 (3H, m, H-7_{endo}, H-4_{endo}, H-4_{exo}); 2,54 (3H, m, H-4_{endo}, H-4_{exo}, H-7_{endo}); 3,06 (1H, ftd, $^3J_{\text{H1-H7exo}} \sim ^3J_{\text{H1-H7endo}} = 6$ Hz; $^4J_{\text{H1-H5}} = 1$ Hz, H-1); 2,22 (1H, m, H-5); 7,93 (1H, d, $^3J_{\text{H6'-H5'}} = 10$ Hz, H-6'); 9,13 (1H, d, $^4J_{\text{H3'-H5'}} = 3$ Hz, H-3'); 8,31 (1H, dd, $^3J_{\text{H5'-H6'}} = 10$ Hz; $^4J_{\text{H5'-H3'}} = 3$ Hz, H-5'); 6,1 (1H, s, H-3); 7,75 (1H, s, H-10);

RMN de ^{13}C (125,71 MHz, CDCl_3/TMS) δ : 20,94 (CH_3 , C-8); 26,05 (CH_3 , C-9); 31,15 (CH_2 , C-7); 32,77 (CH_2 , C-4); 37,80 (C_0 , C-6); 40,38 (CH , C-1); 40,72 (C_0 , C-5); 116,72 (CH , C-6'); 123,54 (CH , C-3'); 129,87 (CH , C-5'); 135,44 (CH , C-3); 137,83 (C_0 , C-2'); 144,87 (C_0 , C-4'); 145,16 (C_0 , C-2); 149,50 (CH , C-10); não detectado (C_0 , C-1');

IV (filme) ν_{max} (cm^{-1}): 3281, 3109, 2925, 1615, 1513, 1416, 1327, 1310, 1212, 1140, 1071.

ANEXO 1

Tabela 9: compostos identificados no óleo de *A.parviflora* por CG/EM. O composto de interesse deste trabalho está marcado em negrito. Compostos não identificados aparecem como NI.

Nº	Tr	Área %	Ki calculado	Ki literatura	Composto (% de similaridade do EM)
1	6,62	0,31	-	931	alfa-tuieno (94)
2	6,82	2,86	-	939	alfa-pineno (96)
3	7,30	0,80	-	953	Camfeno (98)
4	8,20	0,21	-	976	Sabineno (96)
5	8,28	1,52	-	980	beta-pineno (97)
6	8,90	1,70	-	991	Mirceno (96)
7	9,36	7,98	1001	1005	alfa-felandreno (95)
8	9,58	0,15	1006	1011	delta-3-careno (97)
9	9,84	0,18	1012	1018	alfa-terpineno (98)
10	10,18	4,02	1020	1026	p-cimeno (95)
11	10,36	15,12	1024	1031	beta-felandreno (93)
12	10,42	0,86	1026	1033	Eucaliptol (99)
13	10,79	0,16	1034	1040	<i>cis</i> -beta-ocimeno (97)
14	11,21	3,81	1044	1050	<i>trans</i> -beta-ocimeno (98)
15	11,59	0,31	1053	1062	gama-terpineno (99)
16	12,84	0,34	1082	1088	Terpinoleno (98)
17	13,50	14,60	1097	1098	Linalool (97)
18	16,18	0,16	1160	1165	Borneol (90)
19	16,71	0,25	1172	1177	Terpine-4-ol (96)
20	17,33	0,90	1186	1189	alfa-terpineol (91)
21	24,19	0,43	1345	1351	alfa-cubebano (98)
22	25,07	0,14	1366	1372	alfa-ilangueno (99)
23	25,14	0,11	1368	1373	Isoledeno (97)
24	25,25	0,49	1370	1376	alfa-copaeno (99)
25	25,97	0,52	1387	1391	beta-elemenno (99)
26	26,66	0,16	1404	1409	alfa -gurjuneno (99)
27	27,05	6,05	1413	1418	beta-cariofileno (99)
28	27,41	0,20	1423	1432	beta-gurjuneno (96)
29	27,63	0,12	1428	-	NI
30	27,82	1,79	1433	1439	Aromadendreno (99)
31	28,09	0,36	1439	-	NI
32	28,40	0,79	1447	1454	alfa-humuleno (98)
33	28,70	0,60	1455	1461	Alloaromadendreno (99)
34	29,40	0,70	1472	1477	gama-muuruleno (96)
35	29,54	0,97	1475	1480	Germacrene D (98)
36	29,72	1,23	1480	1485	beta-selineno (99)
37	29,82	0,17	1482	-	NI
38	30,19	6,75	1492	1494	Biciclogermacrene (98)
39	30,52	0	1500	1500	Pentadecano (referência)
40	30,81	0,53	1507	1508	E,E, alfa-farneseno (99)

41	30,87	0,28	1509	1499, 1513	alfa-amorfenol (96), gama-cadineno (95)
42	31,29	0,80	1520	1524	delta-cadineno (99)
43	32,27	0,39	1546	1549	Elemol (91)
44	32,48	0,81	1551	1556	Germacreno B (99)
45	32,59	0,11	1554	-	NI
46	32,89	0,47	1562	1564	Nerolidol (E) (90)
47	33,05	0,14	1566	-	NI
48	33,31	4,13	1573	1576	Espatulenol (99)
49	33,47	2,16	1577	1581	Óxido cariofileno (95)
50	33,80	0,36	1586	1590	Viridiflorol
51	33,90	0,37	1588	-	NI
52	34,09	0,49	1593	1595	Guaiol (98)
53	34,20	0,45	1596	-	NI
54	34,43	0,25	1602	-	NI
55	34,61	0,14	1607	-	NI
56	34,83	0,27	1613	-	NI
57	34,98	0,33	1617	-	NI
58	35,31	5,05	1626	-	AF 105
59	35,58	0,59	1634	1639 ⁶⁶	iso-espatulenol (91)
60	35,73	0,30	1638		NI
61	35,96	1,03	1644	1649	beta-eudesmol (98)
62	36,08	1,27	1648	1652	alfa-eudesmol (97)
63	36,26	0,16	1653	-	NI
64	36,59	0,37	1661	-	NI
65	40,10	0,12	1761	1762	Benzoato de benzila (98)
Recuperado		99,19			

⁶⁶ FOKIALAKIS, N.; MAGIATIS, P.; MITAKU S., Essential Oil Constituents of *Valeriana italica* and *Valeriana tuberosa*. Stereochemical and Conformational Study of 15-Acetoxyvaleranone, Naturforsch, **2002**, 57, 791-796.

ANEXO 2

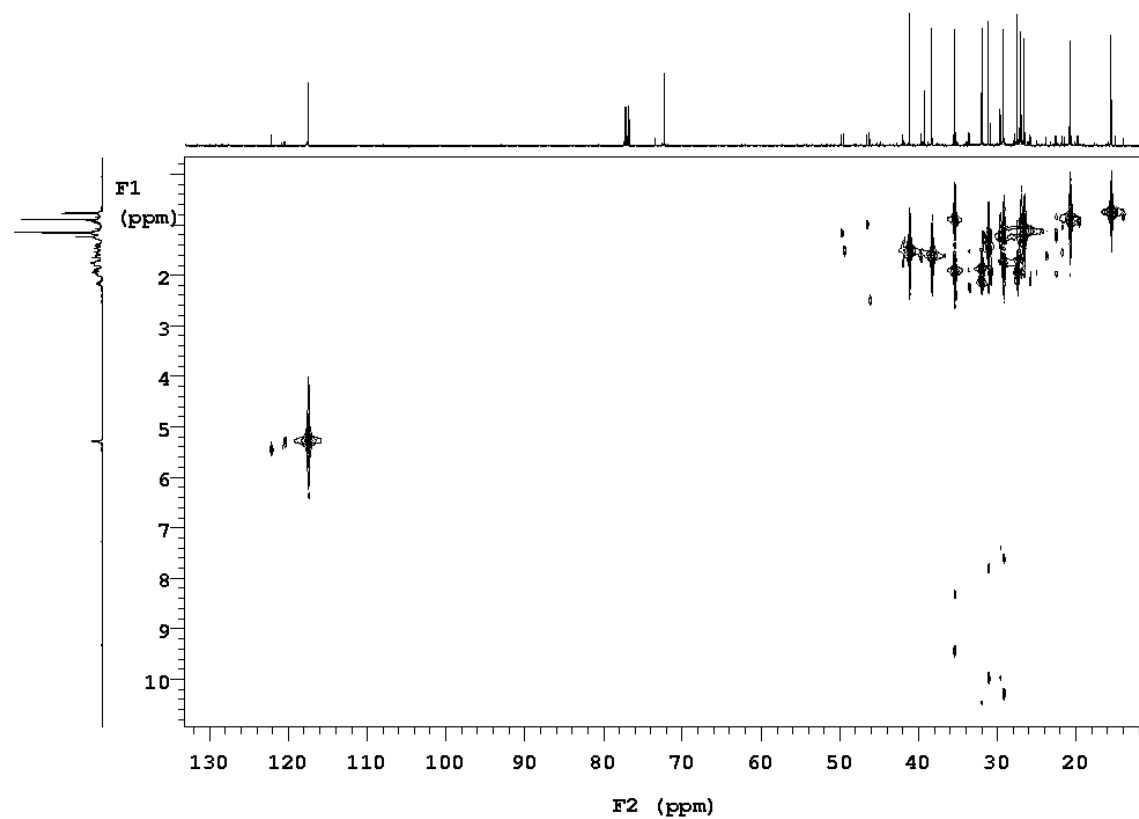


Figura 76: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HETCOR) do composto AF 105 adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

ANEXO 3

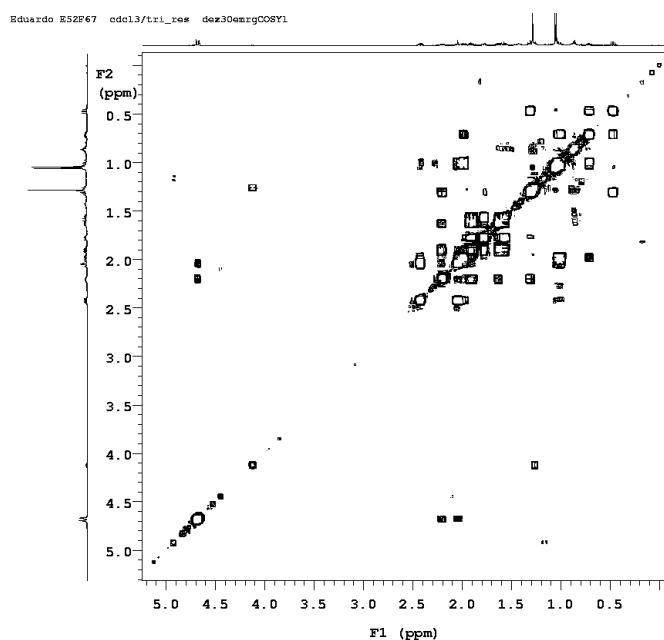


Figura 77: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto espatulenol adquirido a 488,99 MHz em CDCl_3/TMS .

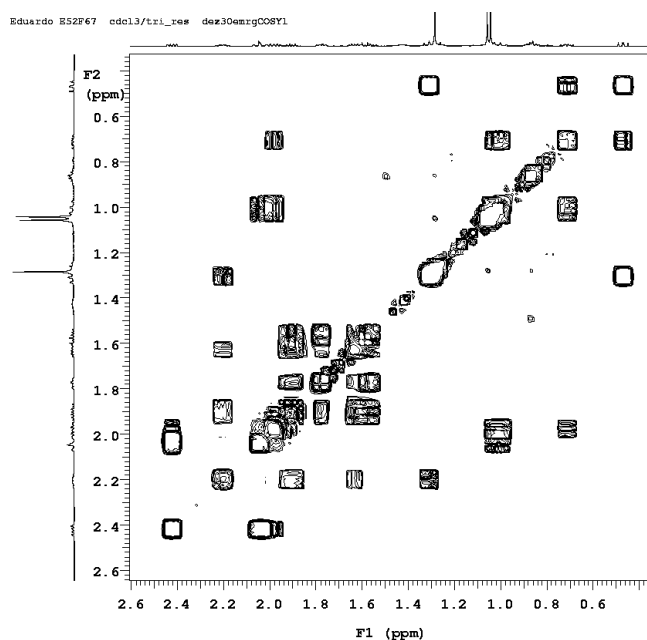


Figura 78: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto espatulenol adquirido a 488,99 MHz em CDCl_3/TMS .

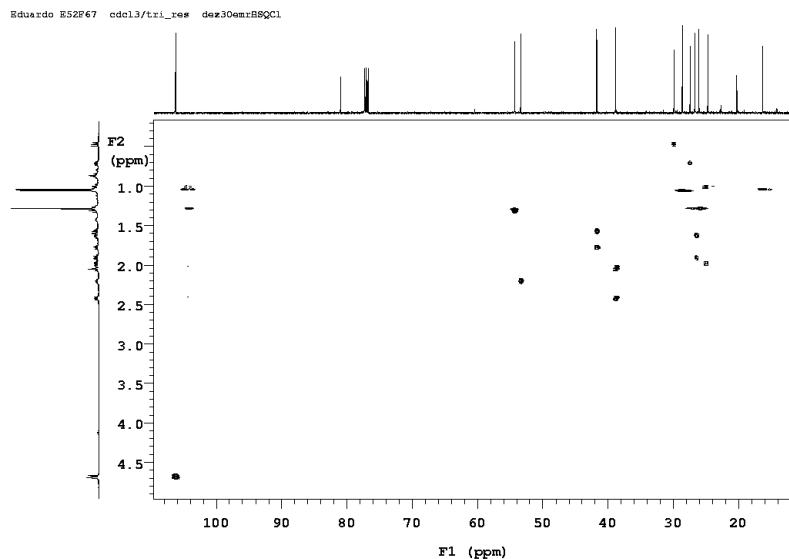


Figura 79: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto espatulenol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

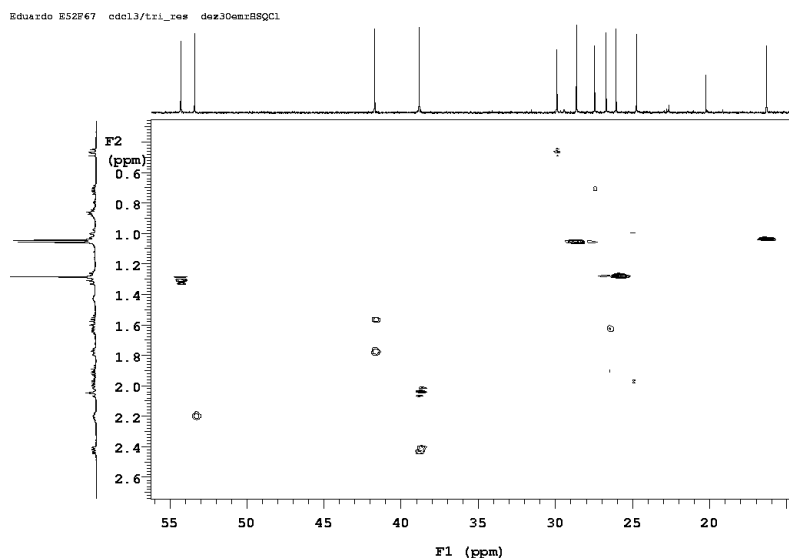


Figura 80: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto espatulenol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

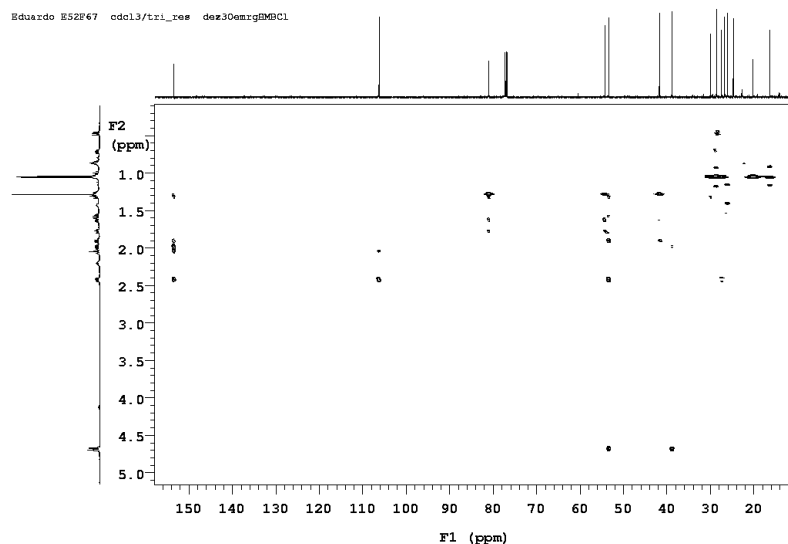


Figura 81: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto espatulenol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

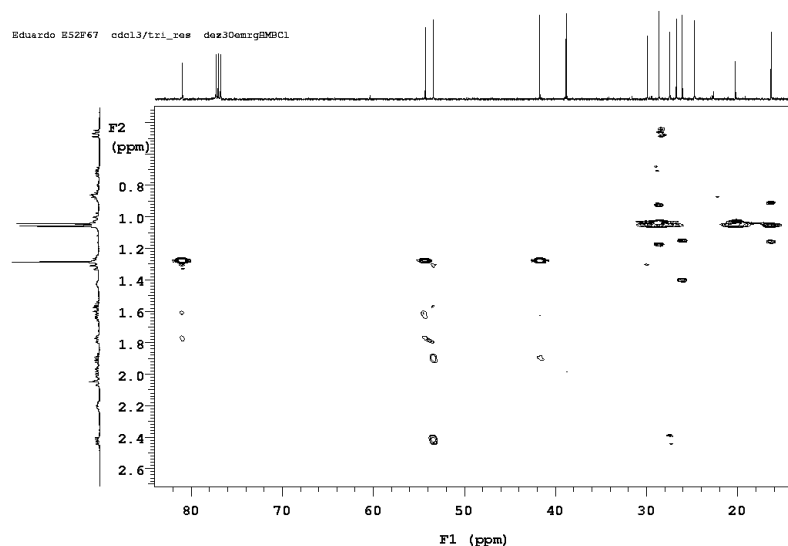


Figura 82: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto espatulenol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

ANEXO 4

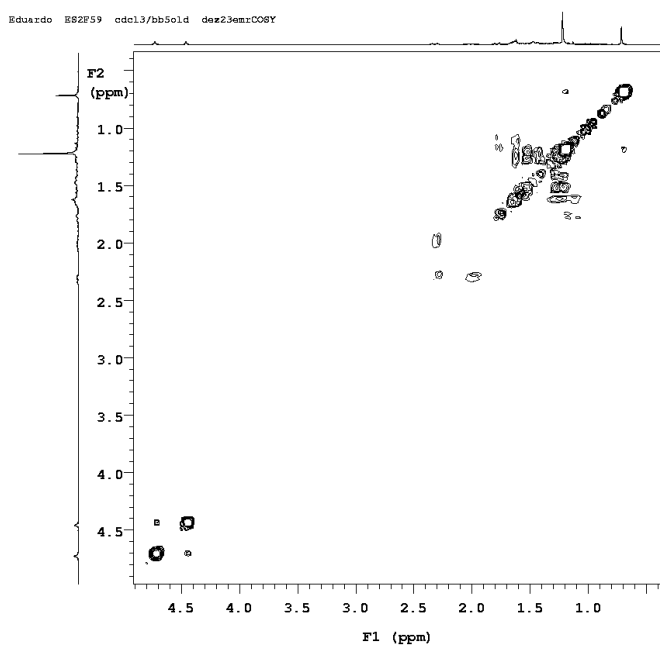


Figura 83: mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto β -eudesmol adquirido a 488,99 MHz em CDCl_3/TMS .

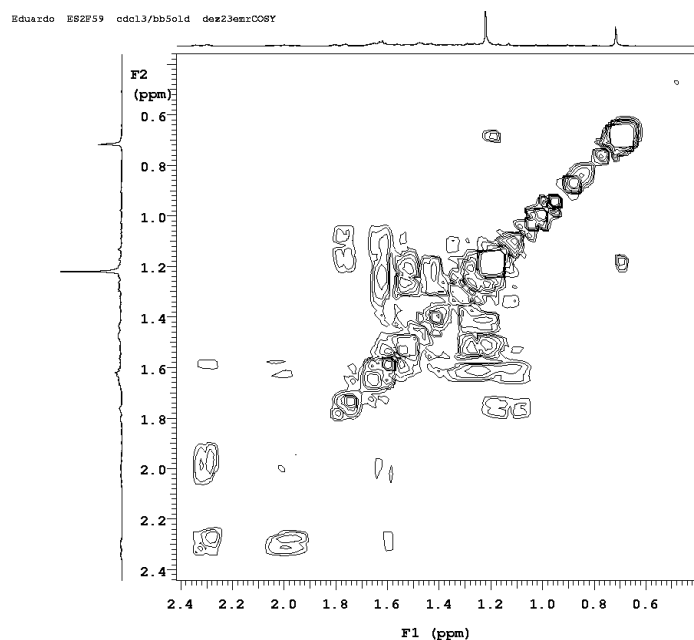


Figura 84: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação homonuclear ^1H - ^1H (COSY) do composto β -eudesmol adquirido a 488,99 MHz em CDCl_3/TMS .

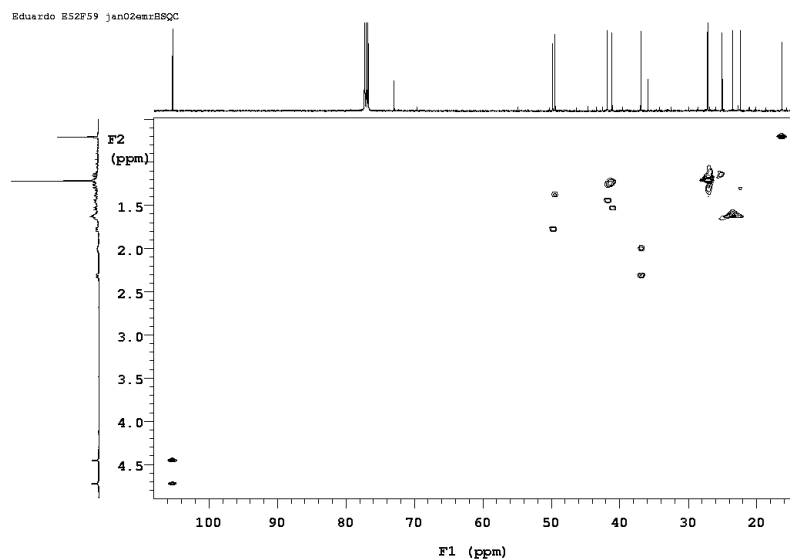


Figura 85: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto β -eudesmol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

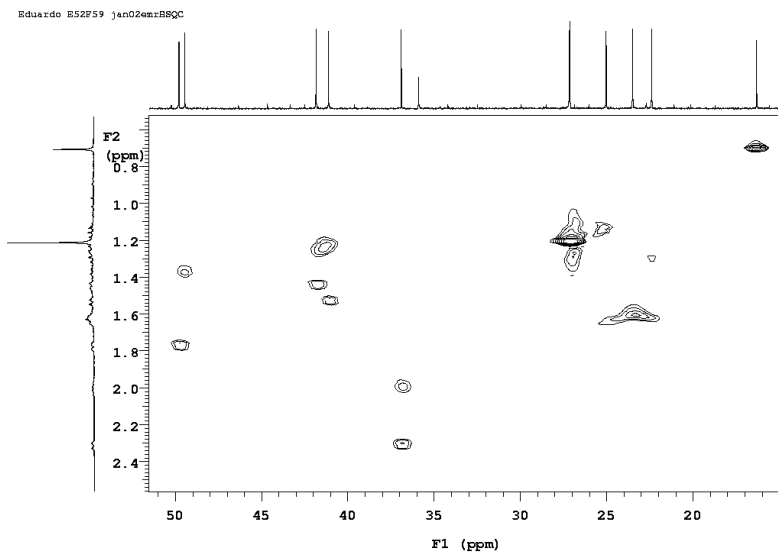


Figura 86: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto β -eudesmol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

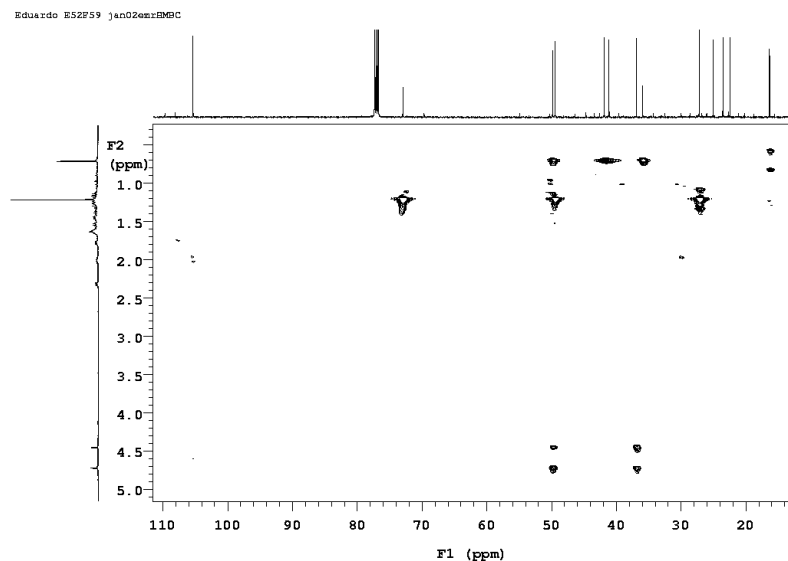


Figura 87: mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto β -eudesmol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

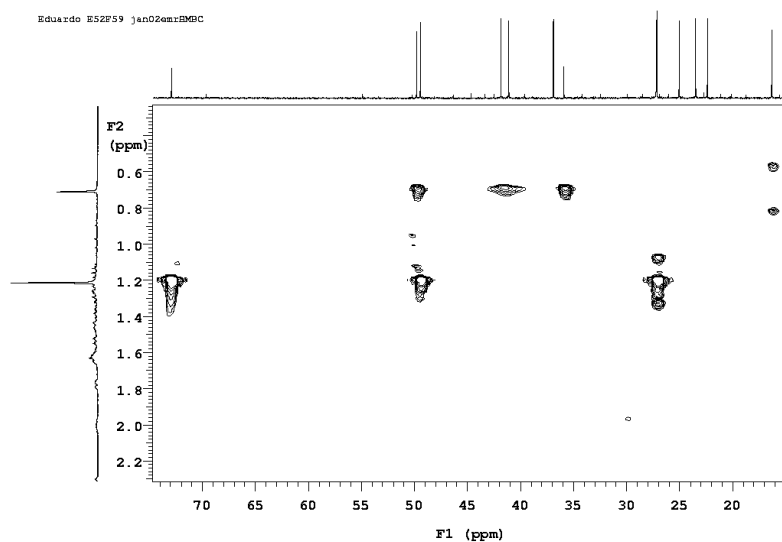


Figura 88: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a múltiplas ligações (HMBC) do composto β -eudesmol adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

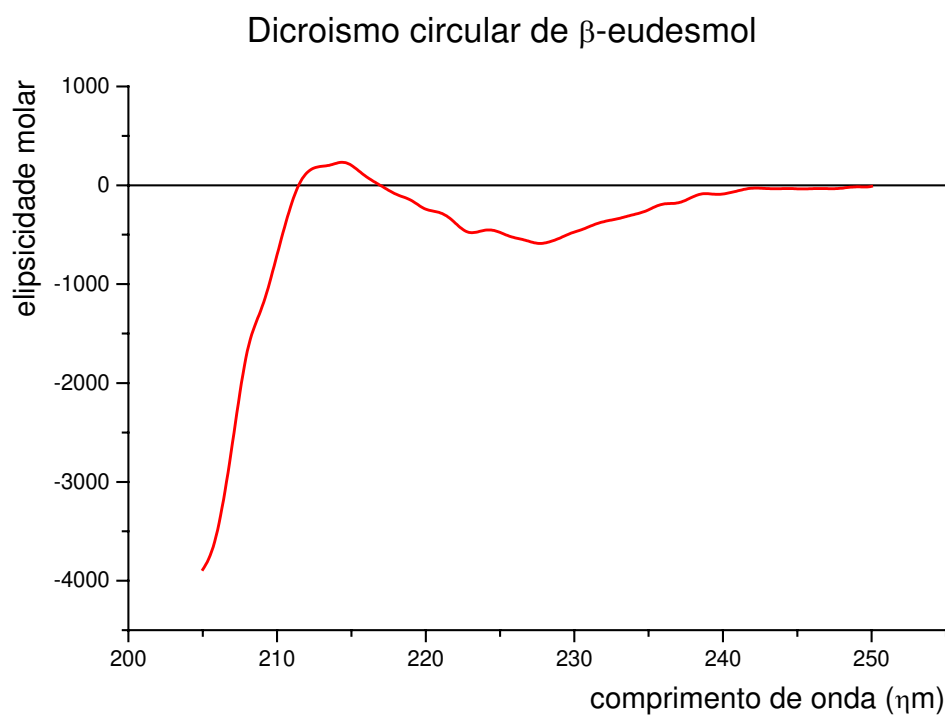


Figura 89: gráfico de elipsicidade molar x comprimento de onda do composto β -eudesmol adquirido em concentração de $2,25 \cdot 10^{-3}$ M.

ANEXO 5

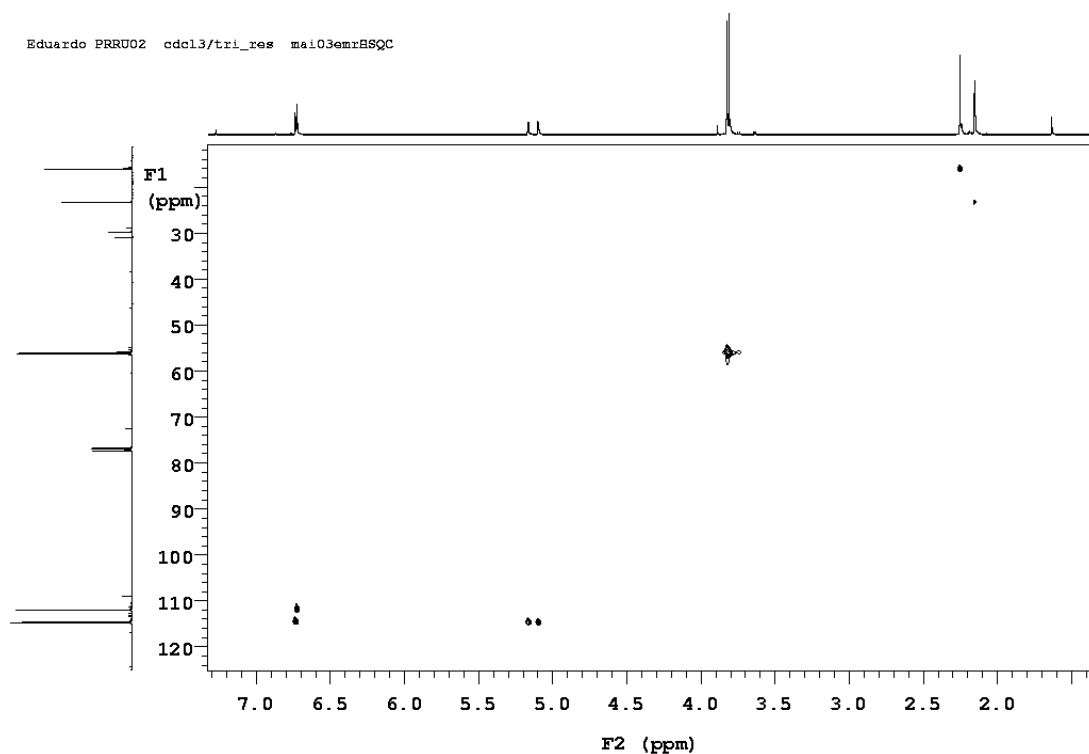


Figura 90: expansão do mapa de contorno de RMN 2D de correlação heteronuclear ^1H - ^{13}C a uma ligação (HSQC) do composto PR192 adquirido a 488,99 MHz e 125,71 respectivamente, em CDCl_3/TMS .

ANEXO 6

Tabela 10: compostos identificados no óleo essencial de *Cyperus articulatus* L.. Compostos não identificados aparecem como NI.

Nº	Tr	Área % corrigida	Ki calculado	Ki literatura	Composto (% de similaridade do EM)
1	8,00	2,45	932	939	alfa pineno (97)
2	8,73	0,16	952	967	Verbeneno (94)
3	9,44	0,11	971	976	Sabineno (97)
4	9,64	1,73	977	980	beta pineno (97)
5	10,10	0,08	990	-	NI
6	10,7	0,08	1005	-	NI
7	11,52	0,34	1024	1022	o-cimeno (97)
8	11,71	0,55	1028	1031	Limoneno (98)
9	11,84	0,10	1031	1033	1,8 cineol (97)
10	12,96	0,07	1057	-	NI
11	13,56	0,07	1071	-	NI
12	14,16	0,11	1085	1088	alfa terpinoleno
13	14,36	0,17	1090	1089	p-cimenil (96)
14	16,01	0,19	1126	1125	alfa canfoleno aldeído (83)
15	16,53	0,09	1138	1137	Nopinona (87)
16	16,64	2,27	1140	1139	<i>trans</i> -pinocarveol (95)
17	16,86	0,18	1145	1144	<i>trans</i> -verbenol (64)
18	17,08	0,38	1150	-	NI
19	17,39	0,09	1156	-	NI
20	17,53	0,15	1160	-	NI
21	17,62	0,19	1161	1162	Pinocarvona (91)
22	18,05	0,79	1171	1066	p-menta-1,5-dien-8-ol (83)
23	18,46	0,47	1180	1177	Terpineol 4 (96)
24	18,75	0,25	1186	-	NI
25	19,14	3,22	1195	1193	Mirtenal (74)
26	19,26	0,14	1197	1193, 1200	(Z) ou (E) dihidrocarvona (97)
27	19,65	0,76	1206	1204	Verbenona (97)
28	20,20	0,11	1218	1217	<i>trans</i> -carveol (94)
29	21,32	0,27	1243	1242	Carvona (94)
30	26,59	0,09	1362	-	NI
31	26,84	0,42	1368	1368	Cicloisossativeno (98)
32	26,93	0,43	1370	-	NI
33	27,12	5,81	1374	1376	alfa copaeno (99)
34	27,71	0,16	1388	1391	beta elemeno (91)
35	27,80	0,06	1390	-	NI
36	28,28	1,92	1401	1398	Cipereno (94)
37	28,38	1,74	1404	-	NI
38	28,97	0,19	1418	1418	beta cariofileno (99)

39	29,17	0,19	1423	-	NI
40	29,63	0,65	1434	1439	alfa guaieno (99)
41	30,12	0,11	1446	-	NI
42	30,46	0,15	1454	-	NI
43	30,55	0,07	1456	-	NI
44	30,71	1,08	1460	-	NI
45	31,12	0,61	1470	-	NI
46	31,14	0,79	1470	-	NI
47	31,25	0,98	1473	-	NI
48	31,50	0,08	1479	-	NI
49	31,63	0,18	1482	-	gama selineno (93)
50	31,75	1,77	1485	-	3,5,dimetoxi-2-metil naftaleno (90)
51	31,84	3,36	1487	1485	beta selineno (99)
52	32,13	2,21	1494	1494	alfa selineno (99)
53	32,24	1,15	1497	-	NI
54	32,37	0,00	1500	1500	Pentadecano (99)
55	32,71	0,48	1509	-	NI
56	32,94	0,20	1514	-	NI
57	33,01	0,92	1516		NI
58	33,15	0,91	1520	1521	cis calameno (97)
59	33,39	0,15	1526	-	NI
60	33,49	1,15	1528	-	NI
61	33,66	0,26	1533	-	NI
62	33,91	1,79	1539	1542	alfa calacoreno (94)
63	34,00	0,22	1541	-	NI
64	34,29	0,41	1549	--	NI
65	34,43	0,19	1552	-	NI
66	34,55	0,15	1555	1521	cis calameno (96)
67	34,59	0,10	1556	-	NI
68	34,73	0,21	1560		1,2 dihidro-1,1, 6 trimetil naftaleno (80)
69	34,98	1,44	1566	-	NI
70	35,14	3,26	1570	1576	Espatulenol (38)
71	35,51	4,06	1580	1581	Óxido de cariofileno (95)
72	35,63	1,24	1583		NI
73	35,76	0,37	1586	1584	beta copaen-4-alfa-ol (64)
74	36,04	1,54	1593		NI
75	36,19	0,62	1597		NI
76	36,31	0,71	1600	-	NI
77	36,58	1,53	1607	-	NI
78	36,67	0,29	1610	-	NI
79	36,85	1,00	1614	-	NI
80	36,97	1,16	1618	-	NI
81	37,15	0,67	1622	-	NI
82	37,23	0,69	1625	-	NI
83	37,63	0,97	1635	-	NI
84	37,85	0,49	1641	-	NI

85	38,03	0,84	1646	-	NI
86	38,38	2,44	1656	-	NI
87	38,51	0,86	1659	-	NI
88	38,71	1,47	1664	-	NI
89	38,84	0,40	1668	-	NI
90	38,98	7,31	1671	-	oxo-alfa- ilangueno (58)
91	39,15	0,56	1676	-	NI
92	39,27	0,50	1679	-	NI
93	39,34	0,91	1681	-	NI
94	39,78	1,65	1693	-	NI
95	40,03	3,67	1700	1756	aristolona (86)
96	40,15	0,46	1703	-	NI
97	40,30	0,73	1707	-	NI
98	40,46	0,88	1712	-	NI
99	40,65	0,69	1717	-	NI
100	40,86	0,46	1723	-	NI
101	41,10	0,55	1730	-	NI
102	41,18	0,35	1732		NI
103	41,53	6,28	1742	-	alfa ciperona (95)
104	41,72	0,17	1747	-	NI
105	41,81	0,08	1750	-	NI
106	42,22	0,31	1761	-	NI
107	42,43	0,29	1767	-	NI
108	42,52	0,14	1770	-	NI
109	43,04	0,51	1784	-	NI
110	43,37	0,09	1794	-	NI
111	43,93	0,15	1810	1800	nootkatona (91)
112	46,46	0,28	1884	-	NI